

2020年辽宁省科学技术奖提名项目公示内容

一、基本情况

项目名称: 血小板血型资料库的建立、相关研究及应用

主要完成单位: 辽宁省血液中心

主要完成人: 李剑平、李晓丰、段生宝、林凤秋、章旭、李勇、张
坤莲

提名奖项及等级: 科技进步奖三等奖

二、项目简介

血小板输注是血小板减少或功能缺陷导致出血性疾病最有效的治疗和预防方法。很多疾病需要长期、反复输注血小板治疗。反复输注血小板的患者常常会发生免疫性血小板输注无效,导致出血无法有效预防和控制,进而可引起患者死亡。

免疫性血小板输注无效的解决办法就是给患者输注血型抗原相同或相容的血小板。实现供受者血小板血型抗原相同或相容有两个难题,一是因为血小板表面具有复杂的血型系统,所以很难准确鉴定血小板血型;二是因为血小板血型具有高度多态性,所以很难

找到血型匹配的血小板供者。

为了解决这二个难题，项目组从 2004 年开始，开展血小板血型多态性分子遗传机制的研究、免疫学及分子生物学检测方法的研发及血小板供者人类白细胞抗原（HLA）资料库、人类血小板特异性抗原（HPA）资料库和 CD36 抗原资料库的建库工作。经过 10 余年的研究，取得了一系列创新性成果。

1. 在血小板血型分子遗传学和群体遗传学研究中有很多创新性成果。(1)在国际上最先发现 HLA 新等位基因 18 个，新等位基因序列被收录到国际基因数据库 GenBank 中，并获得世界卫生组织 HLA 因子命名委员会命名。新等位基因的发现，为准确鉴定血小板 HLA 血型奠定了基础，进而为血小板供者 HLA 资料库的建立奠定了基础(2)最先发现 CD36 新等位基因 15 个收录在国际基因数据库 GenBank 中，CD36 新等位基因的发现，为准确鉴定 CD36 血型奠定了基础。(3) CD36 抗原缺失分为 I 型（CD36 抗原在血小板和其他细胞上都缺失）和 II 型（CD36 抗原仅在血小板上缺失），目前 I 型缺失的分子遗传学机制已经明确，但是 II 型缺失的机制并不清楚。通过研究，项目组发现了血小板 CD36 抗原 II 型缺失分子遗传学机制的线索，提出了新的假说。

2. 研发了血小板抗体检测试剂和方法。为了准确诊断血小板输注无效，研发了“固相凝集法血小板抗体检测试剂”、“用于血小板特异性抗体检测的新型免疫层析技术”、“冻干型血小板抗体筛

检细胞”，获得发明专利 1 项，实用新型 1 项。相关专利产品开展了临床试验。

3. 在血小板血型分子遗传学研究的基础上，研发及改进优化了血小板血型基因检测方法。研发了白细胞回收技术，使提取的 DNA 和 RNA 纯度及质量明显增加。研发、改进优化了血小板血型基因检测方法，建立了血清学检测技术和基因检测技术（包括 PCR-SSP、PCR-SSO、Luminex 流式微珠杂交技术、基因测序技术）并用血小板血型检测体系，使血小板血型鉴定和血小板配型更加准确、血小板输注更加精准。

4. 建立了在临床上具有重要意义的血小板血型资料库。建立了辽宁人群血小板供者 HLA 资料库、辽宁人群 HPA 资料库及辽宁人群 CD36 抗原资料库。资料库具有查询、检索和血型自动选择、匹配功能。目前录入血小板捐献者资料 3800 余份。

该项目发表论文 34 篇，其中 SCI 论文 19 篇，累计影响因子 44；发明专利 1 项，实用新型专利 3 项；血小板方面专著 1 部。该项目在 70 余家单位获得应用，取得很好应用效果。在沈阳地区的应用效果特别显著，通过血小板血型的准确鉴定，应用资料库的精准配型，血小板输注无效的病人得到有效治疗，每年沈阳地区血小板特配患者达 500 余人次，挽救了众多患者的生命，产生了显著的社会效益。

三、客观评价

(一) 科技查新报告结论

1. 关于 HLA 新等位基因方面: 本课题组发现血小板血型抗原的 HLA 新等位基因 18 例, HLA-B*08: 57、HLA-B*07: 110、HLA-B*55: 46、HLA-A*11: 101、HLA-B*55: 50、HLA-B*35: 168、HLA-A*24: 02: 50、HLA-B*40: 167、HLA-B*15: 226N、HLA-B*46: 28、HLA-B*15: 01: 23、HLA-B*67: 01: 03、HLA-A*01: 127、HLA-B*50: 31、HLA-B*13: 64、HLA-B*51: 01: 41、HLA-A*11: 01: 46、HLA-B*46: 01: 08。Genbank 登录号分别为: GU370890、HM989017、HM989018、HQ896938、HQ896937、JF827299、JF827301、JF827302、JF827300、JF827304、JF827303、KC462567、KC462570、KC462569、KC473550、KC473549、KC473555、KC473554, 以上均由本课题组提交并获国际 Genbank 收录。

2. 关于现血小板血型抗原的 CD36 新突变基因方面: 基因数据库 GenBank 中登录号码为 KP406922、KP406923、KM275214、KP406921、KM275213、KM275216、KY296110、KP406925、KP406924、KP687336、KP687340、KP687338、KP687341、KP687342、KP687339 的基因序列均为本课题组提交并获国际 Genbank 收录。

3. 关于建立辽宁地区辽宁人群血小板 HLA 资料库: 本课题组报道建立辽宁人群血小板 HLA 资料库。中文文献中有肇庆地区、海南地区等各地区建立人群血小板 HLA 资料库的相关报道, 未见其他相同中文文献报道; 外文文献中有江苏等地 HLA 资料库的文献报道; 关于辽宁地区, 可见建立大连人群血小板 HLA 资料库的报道, 但晚

于本课题组报道。

4. 关于辽宁地区辽宁人群血小板 HPA 资料库：本课题组报道建立辽宁人群血小板 HPA 资料库。中文文献中，有重庆地区、邯郸地区血小板 HPA 基因频率数据库和供者库的报道，有辽宁大连地区血小板捐献者 HPA 分型资料库的报道，但晚于本课题组发表；外文文献中，有建立中国汉族人群血小板 HPA 资料库的报道，未见其他与本课题组相同文献报道。

5. 关于 II 型 CD36 缺失者基因突变的研究：中文文献中，本课题组报道了 CD36 抗原新等位基因 1142T>G 序列分析的研究。此外，有文献报道不同地区、不同类别人群中 CD36 缺失频率及其分子基础研究，研究发现多个基因位点突变。外文文献中，有文献报道不同国家、不同地区、不同种族、不同人群 CD36 的表达多样性调查和 CD36 频率缺失与突变的研究报道。

本课题组采用新引物设计建立 CD36 抗原基因及新基因测序方法，发现 II 型 CD36 缺失者基因内含子 3 发生连锁突变（点位为 51137T>del、52329A>T、52833G>C、53250T>C、54262C>A、54363G>A、54797T>C、55589G>A、55593A>del、56167T>C、56396C>A、57572T>C），除本课题组报道外，中外文文献中未见其他相同文献报道。

（二）文献收录与被引用检索证明：该项目发表论文 34 篇，其中 SCI 论文 19 篇，总影响因子达 44.028。

（三）验收意见及国内同行评价：

1. 沈阳市科技局组织专家对项目组承担的沈阳市科学技术计划项目“血小板 CD36 抗原基因突变的分子生物学研究及应用”（项目编号：F13-220-9-16）进行了验收，项目专家验收意见包括：该项目成功建立了 CD36 基因编码区的基因测序方法，完成了 514 人份的 CD36 基因编码区的基因测序，在国际上首次发现 CD36 新的变异基因 16 例，被 GenBank 收录；调查了沈阳地区汉族献血人群中血小板 CD36 基因变异的分布频率和抗原缺失水平，丰富了本地区群体遗传学资料，建立了 CD36 抗原阴性献血者资料库，可为血小板输注无效症患者及时提供配合的血小板，具有极大的社会效益。验收专家组一致同意通过验收。

2. 辽宁省科技厅组织专家对项目组承担的 2016 年度辽宁省自然科学基金指导计划项目“II 型 CD36 抗原缺失分子机制的研究”（项目编号：201602438）进行了验收，项目专家验收意见包括：该项目完成了全部预期研究目标。在研究水平及创新性方面自主建立，在国际上首次发现多个 CD36 新突变基因，填补国际空白；调查了 I 型和 II 型 CD36 缺失在辽宁人群中频率和分布，与国内外其他地区人群的分布差异；阐述了 II 型 CD36 缺失的分子机制，具有原始创新的重大发现，科学研究水平居同领域先进地位；研究方法和路线规划合理，项目完成情况好；在国外刊物发表 1 篇 SCI，形成技术研究报告，培养了人才；经费筹措得力，按照合同约定落实，经费管理和使用规范合理，对我国该领域研究具有重大科学意义，

应用前景好。验收专家组一致同意通过验收。

（四）国内重要科技奖励

第二完成人李晓丰作为项目负责人主持的“辽宁人群血小板血型抗原基因的遗传多态性研究及应用”项目，在2017年中华医学会临床输血学分会和中国医师协会输血科医师分会共同举办的第一届全国“临床输血创新项目”中脱颖而出，项目荣获“临床输血创新项目”。

四、推广应用情况

1. 血小板基因检测技术的应用

第一完成人通过在中国医师协会输血科医师分会主办的“全国第十一届输血医学学术年会”血小板分会场、中华医学会临床输血学分会第一届学术年会大会专题讲座、中国输血协会血站管理工作委员会主办的“中国输血协会血站管理工作委员会第四届年会暨第二届中国血型工作会议”、浙江省血液中心举办的国家级继续教育项目“血型系统分子免疫遗传学新进展”和江西省输血协会举办的国家继续医学教育项目“新时期输血安全与有效性进展培训班”专题讲座对项目研究成果“血小板血型资料库的建立、相关研究及应用”向医院输血科和采供血机构进行了培训推广，学员总数超过3000人。迄今已有70余家单位将该项目的血小板基因检测技术，应用于日常血小板检测工作，降低或避免了血小板输注的免疫性风险。

2. 血小板血型资料库的应用

该项目建立的血小板血型资料库已经在沈阳地区超过 70 家医院进行了应用，通过在血小板血型资料库中查找合适血小板资料，为血小板输注患者，特别是血小板输注无效患者、输血后血小板减少性紫癜及新生儿同种免疫性血小板减少症患者提供血型配合的血小板。第一完成人作为中国医师协会输血科医师分会副会长共同发起成立了中国输血医学大数据联盟，并任副主任委员。该项目建立的血小板血型资料库将并入中国输血医学大数据，为保障血小板输血安全和血小板输注疗效提供数据支撑。

3. 血小板血型实体库的应用

该项目通过血清学检测技术和基因检测技术，建立了 3800 余例血小板志愿捐献者的 HLA、HPA 和 CD36 抗原的基因资料库。应用资料库的精准配型，血小板输注无效的病人得到有效治疗，每年沈阳地区血小板特配患者达 500 余人次，挽救了众多患者的生命，达到了良好的临床治疗效果。

4. 专利产品的应用推广

为准确诊断血小板输注无效，进行了“血小板抗体检测的免疫荧光层析试纸条及检测方法”的研发，进行了“检测血小板制品细菌污染的层析试纸条”的研发，获得了国家发明专利和实用新型专利，研发了“固相凝集法血小板抗体检测试剂”、“冻干型血小板抗体筛检细胞”等，保障了血小板精准输注，相关专利产品开展了

临床试验和推广应用。在血小板血型分子遗传学研究的基础上，研发及改进优化了血小板血型基因检测方法。研发了白细胞回收技术，使提取的 DNA 和 RNA 纯度及质量明显增加。研发、改进优化了血小板血型基因检测方法，建立了血清学检测技术和基因检测技术（包括 PCR-SSP、PCR-SSO、Luminex 流式微珠杂交技术、基因测序技术）并用血小板血型检测体系，使血小板血型鉴定和血小板配型更加准确、血小板输注更加精准。获得发明专利 1 项，实用新型 3 项，具有良好的应用效果及推广前景。

5. 项目研究成果被研究人员引用参考

该项目发表论文 34 篇，其中 SCI 论文 19 篇，总影响因子达 44，相关研究成果可供国内外研究人员借鉴参考。

6. 项目发表著作被研究人员引用参考

该项目发表著作《实用血小板免疫生物学》一部，起到了良好的推广应用效果，供国内外研究人员借鉴参考。

五、主要知识产权证明目录

知识产权类别	知识产权具体名称	国家(地区)	授权号	授权日期	证书编号	权利人	发明人	发明专利有效状态
发明专利	一种血小板抗体检测的免疫荧光层析试纸条及检测方法	中国	ZL 2013 1 0251098 .3	2016-01-20	1907044	中国科学院苏州生物工程技术研究所	段生宝, 李勇, 尹焕才, 王红梅, 丁少华, 田晶晶, 陈晔洲, 史素霞, 李冬	生效

实用新型专利	一种血小板的抗体检测免疫荧光层析试纸条	中国	ZL 2013 2 0361672 .6	2014-05-21	3574088	中国科学院苏州生物医学工程研究所	段生宝, 李勇, 尹焕才, 王红梅, 丁少华, 田晶晶, 陈晔洲, 史素霞, 李冬	生效
实用新型专利	白细胞回收装置	中国	ZL 2008 2 0012601 .4	2009-01-28	1169758	李剑平	李剑平, 刘显智, 李归翼	终止
实用新型专利	一种检测血小板制品细菌污染的层析试纸条	中国	ZL 2014 2 0799728 .0	2015-06-03	4338111	中国科学院苏州生物医学工程研究所	田晶晶, 李勇, 蒙青林, 陈晔洲, 丁少华, 王红梅, 段生宝, 魏双施	生效
论文	辽宁地区血小板志愿捐献者HPA基因资料库的建立	中国	中国输血杂志, 2009, 22 (12): 997-998	2009-12-01			李晓丰, 李剑平	
论文	血小板捐献者HLA资料库的建立	中国	中国输血杂志, 2011, 24 (4): 331-333	2011-04-01			张坤莲, 陈阳, 李晓丰, 章旭, 李剑平	
论文	血小板 CD36 新等位基因 1142T>G 的序列分析及确认	中国	中国组织工程研究, 2015, 19 (50): 8184-8189	2016-03-22			林凤秋, 李晓丰, 邵超鹏, 李剑平	
论文	A string of 12 mutations in intron 3 is a new clue associated with type II CD36 deficiency	中国	TRANSFUSION, 2019, 59(3): 1159-1161	2019-05-01			林凤秋, 李晓丰, 李伟伟, 周助人, 李剑平	
论文	Detection of a novel HLA-B*46 allele, HLA-B*46:01:08, in a Chinese	中国	HLA: Immune Response Genetics, 2019, 94(6): 5	2019-12-01			李晓丰, 章旭, 林凤秋, 张坤莲, 李剑平	

	platelet donor		14-516				
专著	实用血小板免疫生物学	中国	科学出版社，2013. 4, ISBN: 9787030371119	2013-04-01			李勇, 李一, 段生宝, 张捷, 李剑平
主要完成人情况							
主要完成单位及创新推广贡献							

六、主要完成人情况

1.李剑平：第 1 完成人，中心副主任，工作单位和完成单位均为辽宁省血液中心，项目负责人、立项、技术研发和指导，血小板血型分子遗传学和群体遗传学研究、血小板血型基因检测方法体系的研发，HLA 和 CD36 新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定和申报，血小板血型资料库的建立及应用，血小板抗体检测试剂和方法的研发，改进优化血小板血型的基因检测方法，调查辽宁地区血小板捐献者 HLA 和 HPA 的分布频率，论文撰写等。对应“四、主要科技创新”所列的(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)所有 7 项科技创新。

2.李晓丰：第 2 完成人，实验室主任，主任技师，工作单

位和完成单位均为辽宁省血液中心，与第一完成人共同完成了科研立项，部分实验方案实施和指导，血小板血型基因检测方法体系的研发，HLA 和 CD36 新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定和申报，血小板血型资料库的建立及应用，血小板抗体检测试剂和方法的研发，改进优化血小板血型的基因检测方法，调查辽宁地区血小板捐献者 HLA 和 HPA 的分布频率，论文撰写等。对应“四、主要科技创新”所列的(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)所有 7 项科技创新。

3.段生宝：第 3 完成人，副主任，副研究员，工作单位和完成单位均为中国科学院苏州生物医学工程技术研究所,为准确诊断血小板输注无效、输血后血小板减少性紫癜、新生儿同种免疫性血小板减少症，进行了“血小板抗体检测的免疫荧光层析试纸条及检测方法”的研发，进行了“检测血小板制品细菌污染的层析试纸条”的研发，获得了国家发明专利和实用新型专利，研发了“固相凝集法血小板抗体检测试剂”、“冻干型血小板抗体筛检细胞”等，保障了血小板精准输注；参与编写著作《实用血小板免疫生物学》，推广应用效果良好。对应“四、主要科技创新”所列第（5）项科技创新。

4.林凤秋：第 4 完成人，主任技师，工作单位和完成单位均为辽宁省血液中心，与第一完成人共同完成了血小板血型分子遗传学和群体遗传学研究、血小板血型基因检测方法体系的

研发,HLA 和 CD36 新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定,血小板抗体检测试剂和方法的研发,改进优化血小板血型的基因检测方法,论文撰写等。对应“四、主要科技创新”所列的7项创新点中的第(1)、(2)、(3)、(5)、(6)项科技创新。

5.章旭:第5完成人,主任技师,工作单位和完成单位均为辽宁省血液中心,第一完成人共同完成了血小板血型分子遗传学和群体遗传学研究、血小板血型基因检测方法体系的研发,HLA 新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定,血小板血型资料库的建立及应用,血小板抗体检测试剂和方法的研发,改进优化血小板血型的基因检测方法,调查辽宁地区血小板捐献者HLA 和 HPA 的分布频率,论文撰写等。对应“四、主要科技创新”所列的7项创新点中的第(1)、(4)、(5)、(6)、(7)项科技创新。

6.李勇:第6完成人,副总工程师,研究员,工作单位和完成单位均为中国科学院苏州生物医学工程技术研究所,为准确诊断血小板输注无效、输血后血小板减少性紫癜、新生儿同种免疫性血小板减少症,进行了“血小板抗体检测的免疫荧光层析试纸条及检测方法”的研发,进行了“检测血小板制品细菌污染的层析试纸条”的研发,获得了国家发明专利和实用新型专利,研发了“固相凝集法血小板抗体检测试剂”、“冻干型血小板抗体筛检细胞”等,保障了血小板精准输注;参与编

写著作《实用血小板免疫生物学》，推广应用效果良好。对应“四、主要科技创新”所列第（5）项科技创新。

7.张坤莲：第7完成人，科主任，主任医师，工作单位和完成单位均为辽宁省血液中心，第一完成人共同完成了血小板血型分子遗传学和群体遗传学研究、血小板血型基因检测方法体系的研发，HLA新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定，血小板血型资料库的建立及应用，血小板抗体检测试剂和方法的研发，调查辽宁地区血小板捐献者HLA和HPA的分布频率，论文撰写等。对应“四、主要科技创新”所列的7项创新点中的第(1)、(4)、(5)、(7)项科技创新。

七、完成单位及创新推广贡献

辽宁省血液中心作为本项目的第一完成单位提供硬件设施保障，组织保障，人员保障，组织项目立项、评估和考核，及时帮助解决项目实施过程中遇到的困难，保证资金使用，保证项目应用推广等。

中国科学院苏州生物医学工程技术研究所作为本项目的第二完成单位，进行了血小板抗体检测的免疫荧光层析试纸条及检测方法的研发，以及检测血小板制品细菌污染的层析试纸条的研发，获得了国家发明专利和实用新型专利，并在国内外进行了推广和应用。在合作进行血小板其他相关研究和应用方面，也提供了人员、财力、物力等的保障和组织协调，保证了项目

的顺利完成和推广应用。

八、完成人合作关系说明

1. 李剑平，本项目第一完成人，辽宁省血液中心副主任，输血医学研究所所长，完成了项目的总体设计，科研立项，实验方案实施和指导，血小板血型分子遗传学和群体遗传学研究、血小板血型基因检测方法体系的研发，HLA 和 CD36 新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定和申报，血小板血型资料库的建立及应用，血小板抗体检测试剂和方法的研发，改进优化血小板血型的基因检测方法，调查辽宁地区血小板捐献者 HLA 和 HPA 的分布频率，论文撰写等。

2. 李晓丰，本项目第二完成人，辽宁省血液中心输血医学研究所主任，与第一完成人共同完成了科研立项，部分实验方案实施和指导，与第一完成人共同完成了科研立项，部分实验方案实施和指导，血小板血型基因检测方法体系的研发，HLA 和 CD36 新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定和申报，血小板血型资料库的建立及应用，血小板抗体检测试剂和方法的研发，改进优化血小板血型的基因检测方法，调查辽宁地区血小板捐献者 HLA 和 HPA 的分布频率，论文合著，共同立项，共同立项，共同技术研发及应用等。

3. 段生宝，本项目第三完成人，中国科学院苏州生物医学工程技术研究所副研究员，与第一完成人共同技术研发及应用，

为准确诊断血小板输注无效、输血后血小板减少性紫癜、新生儿同种免疫性血小板减少症，进行了“血小板抗体检测的免疫荧光层析试纸条及检测方法”的研发，进行了“检测血小板制品细菌污染的层析试纸条”的研发，获得了国家发明专利和实用新型专利，研发了“固相凝集法血小板抗体检测试剂”、“冻干型血小板抗体筛检细胞”，专著合著，共同技术研发及应用等。

4. 林凤秋，本项目第四完成人，辽宁省血液中心输血医学研究所主任技师，与第一完成人共同完成了血小板血型分子遗传学和群体遗传学研究、血小板血型基因检测方法体系的研发，HLA 和 CD36 新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定，血小板抗体检测试剂和方法的研发，改进优化血小板血型的基因检测方法，论文合著，共同立项，共同技术研发及应用等。

5. 章旭，本项目第五完成人，辽宁省血液中心输血医学研究所主任技师，与第一完成人共同完成了血小板血型分子遗传学和群体遗传学研究、血小板血型基因检测方法体系的研发，HLA 新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定，血小板血型资料库的建立及应用，血小板抗体检测试剂和方法的研发，改进优化血小板血型的基因检测方法，调查辽宁地区血小板捐献者 HLA 和 HPA 的分布频率，论文合著，共同立项，共同技术研发及应用等。

6. 李勇，本项目第六完成人，中国科学院苏州生物医学工程技术研究所研究员，与第一完成人共同技术研发及应用，为准确诊断血小板输注无效、输血后血小板减少性紫癜、新生儿同种免疫性血小板减少症，进行了“血小板抗体检测的免疫荧光层析试纸条及检测方法”的研发，进行了“检测血小板制品细菌污染的层析试纸条”的研发，获得了国家发明专利和实用新型专利，研发了“固相凝集法血小板抗体检测试剂”、“冻干型血小板抗体筛检细胞”，专著合著，共同技术研发及应用等。

7. 张坤莲，本项目第七完成人，辽宁省血液中心输血医学研究所主任医师，与第一完成人共同完成了血小板血型分子遗传学和群体遗传学研究、血小板血型基因检测方法体系的研发，HLA 新等位基因和罕见稀有血型的发现、鉴定，血小板血型资料库的建立及应用，血小板抗体检测试剂和方法的研发，调查辽宁地区血小板捐献者 HLA 和 HPA 的分布频率，论文合著，共同立项，共同技术研发及应用等。