

- 胞亚群及相关细胞因子水平变化[J]. 山东医药, 2016, 56(9): 69-70.
- [9] SCHMITT J, STADLER E, KÜSTER D, et al. Medical care and treatment of allergic rhinitis; a population-based cohort study based on routine healthcare utilization data [J]. *Allergy*, 2016, 71(6): 850-858.
- [10] DONEGA V, NIJBOER C H, VAN VELTHOVEN C T, et al. Assessment of long-term safety and efficacy of intranasal mesenchymal stem cell treatment for neonatal brain injury in the mouse [J]. *Pediatr Res*, 2015, 78(5): 520-526.
- [11] 柴若楠, 宁可, 刘静, 等. 吡嘧司特钾对变应性鼻炎患者血清 IL-4、IL-12 含量的影响 [J]. *中国临床实用医学*, 2016, 7(2): 47-49.
- [12] TILLE K S, WHITE K M. Acupuncture for seasonal allergic rhinitis; is it ready for prime time? [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2015, 115(4): 258-259.
- [13] 柴若楠, 史亮, 谢华, 等. 变应性鼻炎患者血清 IL-12 及 IL-31 水平测定及其临床意义 [J]. *中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志*, 2015, 23(4): 241-243.
- [14] MCDONALD J L, SMITH P K, SMITH C A, et al. Effect of acupuncture on house dust mite specific IgE, substance P, and persistent allergic rhinitis symptoms [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2016, 116(6): 497-505.

(收稿日期: 2017-07-30 修回日期: 2017-10-07)

• 短篇论著 •

1 例 B_X 血型个体的家族遗传分析及临床输血探讨

梁结玲¹, 骆宏², 曾月婷¹, 莫水群¹, 蔡肇丽¹, 邓雪薇¹

(1. 广东省肇庆市第一人民医院输血科, 广东肇庆 526021; 2. 广州血液中心临床输血研究所, 广州 510095)

摘要:目的 对 1 例 B_X 血型个体及其家系成员血型进行分析, 以阐明其血型遗传特征、保证临床输血安全。方法 采用微柱凝胶法和试管法检测先证者及其家系成员的 ABO 血型、吸收放散试验确认亚型抗原物质、中和抑制实验检测唾液血型物质; 扩增 ABO 基因 6、7 外显子并对扩增产物进行直接测序, 并对测序结果进行比对。结果 先证者及其儿子为 B_X 型; 先证者父亲和弟弟为 B 型; 先证者母亲及其配偶为 O 型; 测序结果显示先证者及儿子、父亲的 ABO 等位基因第 7 外显子在 B101 基础上发生 695T>C 突变, 比对人类血型抗原基因突变数据库, 该等位基因为 Bw11。结论 鉴定了 1 例 B_X 型患者及其家系成员的血型和等位基因型, 血清学方法结合分子生物学方法对于准确鉴定 ABO 血型和降低亚型患者输血风险有重要意义。

关键词: 血型; 等位基因; 测序; 临床输血**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.03.039**文章编号:** 1673-4130(2018)03-377-03**中图法分类号:** R394**文献标识码:** B

ABO 血型亚型的复杂性容易造成临床血型的误判, 容易给临床输血工作带来安全隐患。因此, 正确鉴定 ABO 血型非常重要。近期笔者从临床送检 ABO 正反定型不符标本中检出 1 例 B_X 血型, 进行了血型血清学、家系遗传及分子生物学背景研究, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 先证者某孕妇, 女, 32 岁, 汉族, 广东肇庆市人, 孕期监测, G3P2A0。2016 年 8 月来肇庆市第一人民医院进行产前检查, 发现 ABO 血型正反不符, 检测结果如下: 正定型为 O 型; 反定型为 B 型。先证者 2008 年住院产子时 ABO 血型鉴定为: B 型、Rh(D) 阳性。既往身体健康, 否认家族遗传病史和输血史。为进一步明确其血型及家系遗传背景, 同步采集了其父母、弟弟、配偶及儿子的外周血液各 5 mL, 乙二胺四乙酸(EDTA) 抗凝。

1.2 试剂与仪器 单克隆抗-A、抗-B 血型定型试剂(长春博讯生物技术公司, 批号 20160201), 抗-H(上海血液生物医药公司, 批号 20150129), 抗人球蛋白试剂(上海血液生物医药公司, 批号 20165002), 聚凝胺试剂(贝索生物技术有限公司, 批号 116031); 低离子/抗人球蛋白微柱凝胶检测卡(瑞典达亚美, 批号 505310713); A_{cell}(A 型红细胞)、B_{cell}(B 型红细胞)、O_{cell}(O 型红细胞)(上海血液生物医药公司, 批号 20160628); DNA 抽提试剂盒(KURABO, 日本), Premix PrimeSTAR HS(大连宝生物公司, 批号 A3301A), LIZ500 DNA ladder(美国 ABI 公司, 批号 1302343); ABI9700 型 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司), 凝胶电泳仪(Bio-Rad 公司)。

1.3 血型血清学试验 ABO 血型正反定型、吸收放散试验、血型物质检查均按照《中国输血技术操作规程(血站部分)》^[1]和相应的试剂说明书进行操作。

1.4 唾液血型物质检测 唾液血型物质检测 按照《中国输血技术操作规程(血站部分)》中“唾液中 HAB 血型物质测定”实验方法^[1]进行检测。

1.5 基因组 DNA 提取 用 DNA 提取试剂盒抽提先证者及家系成员血样标本的基因组 DNA,所有操作均严格按照试剂说明书进行。

1.6 ABO 基因外显子 6、7 的扩增和直接测序 提

取与扩增参考文献报道的方法操作^[2],PCR 产物交上海生物工程有限公司测序。

1.7 交叉配血试验 按瑞典达亚美试剂说明书进行操作。

2 结 果

2.1 血型血清学结果及唾液血型物质检测 见表 1。

表 1 家系成员的血型血清学鉴定结果及唾液血型物质检测结果

家系成员	温度	判定血型	红细胞 ABH 抗原的检测						血清抗体检测					放散结果	唾液血型物质
			微柱凝胶法		试管法				微柱凝胶法		试管法				
			抗-A	抗-B	抗-A	抗-B	抗-H	抗-AB	A _{cell}	B _{cell}	A _{cell}	B _{cell}	O _{cell}		
先证者父亲	室温	B	-	+	-	4+	4+	4+	4+	-	4+	-	-	NT	BH
	4℃		*	*	-	4+	4+	4+	*	*	4+	-	-	*	*
先证者母亲	室温	O	-	-	-	-	4+	-	4+	4+	4+	4+	-	NT	H
	4℃		*	*	-	-	4+	-	*	*	4+	4+	-	*	*
先证者弟弟	室温	B	-	+	-	4+	4+	4+	4+	-	4+	-	-	NT	BH
	4℃		*	*	-	4+	4+	4+	*	*	4+	-	-	*	*
先证者	室温	B _x	-	-	-	-	4+	-	4+	-	3+	-	-	B	H
	4℃		*	*	-	+	4+	-	*	*	3+	+	-	*	*
先证者丈夫	室温	O	-	-	-	-	4+	-	4+	4+	4+	4+	-	NT	H
	4℃		*	*	-	-	4+	-	*	*	4+	4+	-	*	*
先证者儿子	室温	B _x	-	-	-	+	4+	+	4+	-	4+	+	-	B	H
	4℃		*	*	-	2+	4+	2+	*	*	4+	2+	-	*	*

注: NT 为未检测; * 表示此项无数据

2.2 分子生物学结果 先证者及其父亲、儿子的 ABO 等位基因第 7 外显子在 B₁₀₁ 基础上发生 695T>C 突变,见图 1。比对人类血型抗原基因突变数据库,该等位基因为 B_{w11}。6 名家系成员其基因型结果:先证者、先证者儿子为 B_{w11}/O₁₃ 外;先证者父亲为 B_{w11}/B₁₀₁;先证者弟弟为 B₁₀₁/O₁₃;先证者母亲、先证者丈夫均为 O₁₃/O₁₃。

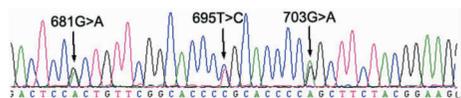


图 1 先证者及其儿子、父亲第 7 外显子中检出 695T>C 点突变(箭头示位点突变)

2.3 家系遗传背景分析 家系 3 代 6 人中有 2 人为 B_x 血型;先证者、先证者儿子;2 人为 B 血型:先证者父亲和先证者弟弟;2 人为 O 血型:先证者母亲和先证者丈夫。见图 2。

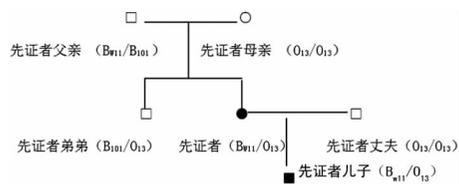


图 2 先证者家系血型遗传图

2.4 交叉配血试验结果 先证者与 B 型血交叉配血

结果主次侧阴性,配血相合;先证者与 O 型血交叉配血结果主侧阴性,次侧阳性(4+);先证者与 O 型洗涤红细胞配血结果主侧阴性。

3 讨 论

ABO 亚型中 B 亚型要少于 A 亚型^[3],但近年 B 亚型报道有增多趋势^[4-7]。先证者在 2008 年曾被误判为 B 型,本次实验室条件下正定型表现为与抗-A 和抗-B 均无凝集;反定型表现为与 A_{cell} 有凝集、B_{cell} 无凝集、4℃ 增强正定型表现为与抗-A 无凝集,抗-B 有弱凝集;反定型表现为与 A_{cell} 有凝集、B_{cell} 有弱凝集。4℃ 增强后易造成血型正、反定型相符的假象,从而导致误判该血型为 B 型。但实际凝集强度明显弱,未达到要求(试管法:正定型“4+”,反定型“≥2+”)^[8]。本次先证者的血清学试验结果表明,先证者及其儿子(血型是 B_{w11}/O₁₃)在室温条件下及 4℃ 增强条件下其正反定型与先证者父亲(血型是 B_{w11}/B₁₀₁)和先证者弟弟(血型是 B₁₀₁/O₁₃)在室温条件下及 4℃ 增强条件下其正反定型有不同的表现,唾液血型物质检测结果表明先证者及其儿子与先证者父亲和先证者弟弟的结果也有所不同。分子生物学方法检测发现 6 名家系成员的基因型分别为:先证者父亲为 B_{w11}/B₁₀₁,先证者弟弟为 B₁₀₁/O₁₃,先证者母亲、先证者丈夫均为 O₁₃/O₁₃。先证者、先证者儿子为 B_{w11}/O₁₃,先证者及

其父亲、儿子的 ABO 等位基因第 7 外显子在 B₁₀₁ 基础上发生 695T>C 突变。比对人类血型抗原基因突变数据库,该等位基因为 B_{w11}。ABO 亚型的变异基础是基因改变,本研究发现不同的基因类型可表现出不同的血清学类别,同种血清学类别中都可包含了多种不同的基因类型。根据家系遗传背景分析证实先证者的 B 基因的突变来源于父亲,并遗传给儿子。学者们研究发现同种血清学类别中都可包含了多种不同的基因类型,如 B_x 可有不同的突变位点 905A>G、695T>C、588C>G 等^[9-10]。因为血清学表现存在个体差异,所以相同的基因型可产生略有不同的血清学结果。另外血清学检测也容易受主客观因素的影响,因此单纯用血清学方法确定 ABO 亚型无法做到精确。向东^[8]建议最好能够应用基因定型方法进行确认,进行核苷酸测序可直接获知特定亚型基因。但分子生物学检测具有费用昂贵、耗时长等缺点,随着检测技术的发展和提高,相信分子生物学检测会越来越应用在临床。谭淑玲等^[4]学者对如何提高对 B 亚型的正确鉴定提出了 6 点建议。这几点建议适用于 ABO 血型及亚型的鉴定中,需要强调的是必须严谨对待实验结果,当实验结果与标准有丝毫相异时应寻找更先进的检测手段去确证,如分子生物学手段进行鉴定。

先证者的交叉配血结果因与 B 型红细胞相合容易让临床输注 B 型红细胞,但亚型患者输血原则是在没有不规则抗-A 或抗-B 的情况下,尽可能选择同型输注;如果难以找到同亚型血源,或患者血浆中含有不规则抗-A 或抗-B,则选择 O 型洗涤红细胞进行输注。ABO 亚型受血者输入血浆及冷沉淀时应选择 AB 型或亚型对应的正常血型,但输入血小板时,只能

选择亚型对应的正常血型,因为输入血小板的同时会有较多血浆(每治疗量约 200 mL)输入,输入 O 型或 AB 型分别可能致血浆中的抗体或血小板上 AB 抗原与受血者不相容。为确保输血的安全,正确分析血型是最关键的步骤。当出现正反定型不符时,应该结合血清学及分子生物学方法正确判定血型,进而保障患者的输血安全。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 中国输血技术操作规程(血站部分)[M]. 天津:天津科学技术出版社,1997.
- [2] 骆宏,林健伟,林树德,等. 类孟买血型两例的分子遗传机制研究[J]. 中华检验医学杂志,2012,35(9):815-819.
- [3] 胡丽华. 临床输血血检验[M]. 北京:人民卫生出版社,2015.
- [4] 谭淑玲,周先果,申卫东. B 亚型血型 9 例血清学特征及鉴定方法[J]. 广西医学,2012,34(8):1004-1005.
- [5] 孙晓琳,关晓珍,于洋,等. 36 例 ABO 血型亚型检测及血清学分析[J]. 临床输血与检验,2012,14(3):215-218.
- [6] 郭俊勇,郭如华,刘玉振,等. 罕见的 Bel 亚型及其家系调查[J]. 中国输血杂志,2007,20(1):60-61.
- [7] 陈尚良,曾月婷,廖扬勋,等. Bel 亚型伴冷凝集误判为 O 型 1 例[J]. 临床输血与检验,2011,13(2):180-182.
- [8] 向东. ABO 亚型的检测[J]. 中国输血杂志,2010,23(8):577-580.
- [9] 苏宇清,喻琼,梁延连,等. 罕见 B 放散型分子遗传背景的分析[J]. 中国输血杂志,2009,22(6):446-449.
- [10] 韩斌,刘培燕,刘晓华,等. 三例 Bx02 亚型的血清学及分子生物学研究[J]. 中华医学遗传学杂志,2017,34(1):65-67.

(收稿日期:2017-07-20 修回日期:2017-09-28)

(上接第 335 页)

- [14] 郭严,顾兵,沈翰,等. 一种用于结核杆菌检测的痰液处理液:CN105274185A[P]. 2016-01-27.
- [15] 蔡兰,邹先进,罗凯. 实时荧光定量 PCR 检测常见性传播疾病病原体基因[J]. 中国优生与遗传杂志,2001,9(1):27-28.
- [16] 葛蕾,王进雅,诸留珍,等. 荧光定量 PCR 法检测儿童肺泡灌洗液肺炎支原体 DNA 的临床意义[J]. 江苏医药,2016,42(10):1177-1178.
- [17] 袁春,黄长形,连建奇. PCR 测肝硬腹水中细菌 DNA 的研究[J]. 透析与人工器官,2007,18(1):20-24.
- [18] 李国玉,陈勇,陈金弟,等. 乳汁前处理对乙型肝炎病毒 DNA 检测结果的影响[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(7):802-803.
- [19] 祝兴元,覃亚斌,刘云花,等. 巨细胞病毒潜伏感染在母婴及乳汁传播中的影响[J]. 中国优生与遗传杂志,2011,19(9):36-37.
- [20] 洪玲,魏艳. 荧光定量 PCR 法与涂片抗酸染色检测胸水

结核杆菌方法比较[J]. 大家健康,2014,8(11):54.

- [21] 贾力. 实时荧光定量 PCR 检测 EV71 肠道病毒在不同类型样本中检测率的分析[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(5):1092-1094.
- [22] 黄慧谦,吴驰,陈建波,等. 实时荧光 PCR 检测儿童肺结核粪便中 Mtb-DNA 的效果评价[J]. 中国防痨杂志,2012,34(5):315-318.
- [23] 戴二黑,李京湘,杜宗敏,等. 逆转录套式 PCR 检测粪便样本中的 SARS 冠状病毒[J]. 微生物学免疫学进展,2004,32(4):22-25.
- [24] 王海,周蕾,张永乐,等. 实时荧光定量 PCR 检测手足口病肠道病毒 71 型与柯萨奇病毒 16 型临床分析[J]. 中华医院感染学杂志,2014,24(24):6074-6075.
- [25] 李万水,陈松,涂政. 粪便 DNA 提取及检验[J]. 中国法医学杂志,2004,19(4):219-221.

(收稿日期:2017-08-20 修回日期:2017-10-26)