

• 个案分析 •

内蒙地区罕见 cis-AB01/ O01 血清学与基因分型研究——附 1 例报告

王春海¹, 王文梅^{2△}, 黄华亮¹

(1. 内蒙古包钢医院输血科, 内蒙古包头 014010; 2. 内蒙古科技大学包头医学院
第一附属医院重症医学科, 内蒙古包头 014010)

关键词: cisAB 亚型; 基因分型; 血型血清学; 基因测序
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2019. 11. 033 中图法分类号: R457. 1+1
文章编号: 1673-4130(2019)11-1406-03 文献标识码: C

ABO 血型系统抗原的基因位于第 9 条染色体上, 基因名为 ABO, 其 DNA 链长为 19. 5 kb, 是人类发现的第 1 个血型系统^[1]。而 ABO 血型亚型是由 ABO 基因变异形成, A 基因变异形成 A 亚型, B 基因变异形成 B 亚型, O 基因变异形成新的 O 等位基因, ABO 亚型包括 A3、Ax、Ael、Aw、Am、B3、Bx、Bel、Bw、cisAB、B(A)。通常情况下, AB 型个体一条染色体携带 A 基因, 另一条染色体携带 B 基因, 称为反式 AB 型。但顺式 AB 型(cisAB 型)是一种独特的 ABO 表型, A 基因和 B 基因位于同一条染色体上遗传给子代^[2]。这种特殊遗传方式常常造成 ABO 正反定型不符, 降低了输血的有效性和安全性, 因此, 正确鉴定 cisAB 血型是保证安全输血的前提^[3]。

现将本院 1 例 cisAB 血型患者的血型血清学与基因分析结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者, 男, 61 岁, 右髋骨疼痛, 活动受限 2 年, 拟行择期手术, 既往有输血史, 常规备血, Ortho AutoVuet 全自动血型及配血分析系统鉴定结果: 正定型 AB, 反定型 A, 正反定型不符, 进一步作血型血清学检查, 同时重新采集患者样本, 外送江苏中济万泰生物医药有限公司诺贝尔奖研究院做 ABO 基因分型及测序(样本号 W126)。

1.2 仪器与试剂 Ortho AutoVuet 全自动血型及配血分析仪、台湾贝索离心机、水浴箱; 抗-A、抗-B、RhD(IgM)血型定型试剂、筛选红细胞、抗-H 试剂、抗-A1 试剂, 上海血液医药生物有限公司; ABO 反定型, 长春博德生物技术有限责任公司; 抗 A、B 试剂 法国; ABO 基因分型试剂盒: 人类红细胞 ABO 血型基因分型试剂盒(荧光 PCR)批号 20180226, 江苏中济万泰生物医药有限公司, 以上所有试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 ABO 血型血清学试验 ABO 血型鉴定、抗-H 测定、抗-AB、抗体筛选、唾液试验等血型血清学检测, 均严格按照文献[4-5]操作。

1.3.2 ABO 基因分型及测序 由江苏中济万泰生物医药有限公司诺贝尔奖研究院鉴定。

2 结果

2.1 ABO 血型结果 该例患者正定型 AB 型(B 抗原表达强度较弱, 呈混合视野), 反定型为 A 型, 正反定型不符, 初判定为 AB 亚型产生了抗-B 或 B 抗原减弱伴同种抗体; 同时正定型与抗-A1 为 0、与抗-AB 为 +++++、与抗-H 为 +++, 反定型与 B 细胞为 +, 说明该抗体可能为抗-B 抗体, 结合病史, 疑似 cisAB 型, 需做基因检测进行确定。结果见表 1。

表 1 ABO 血型血清学鉴定结果

血型试剂	抗-A	抗-B	抗-A1	抗-AB	抗-D	A1 细胞	B 细胞	O 细胞	自身对照	抗-H		
										患者	成人 B 细胞对照	成人 O 细胞对照
微柱玻璃珠卡	4+	mf	/	/	4+	0	1+	/	/	/	/	/
盐水试管法	4+	1+	0	4+	4+	0	1+	0	0	3+	1+	4+

注: mf 为混合外观, 0 为无反应性

2.2 抗体筛选试验 盐水试管法结果呈阴性, 抗人球蛋白法结果呈阴性; 反定型 3 个献血者 B 细胞均为 +, 3 个献血者 O 细胞均为阴性。两个试验结合起来

分析可以看出患者抗体并非 ABO 以外的同种抗体, 而是不规则抗-B。

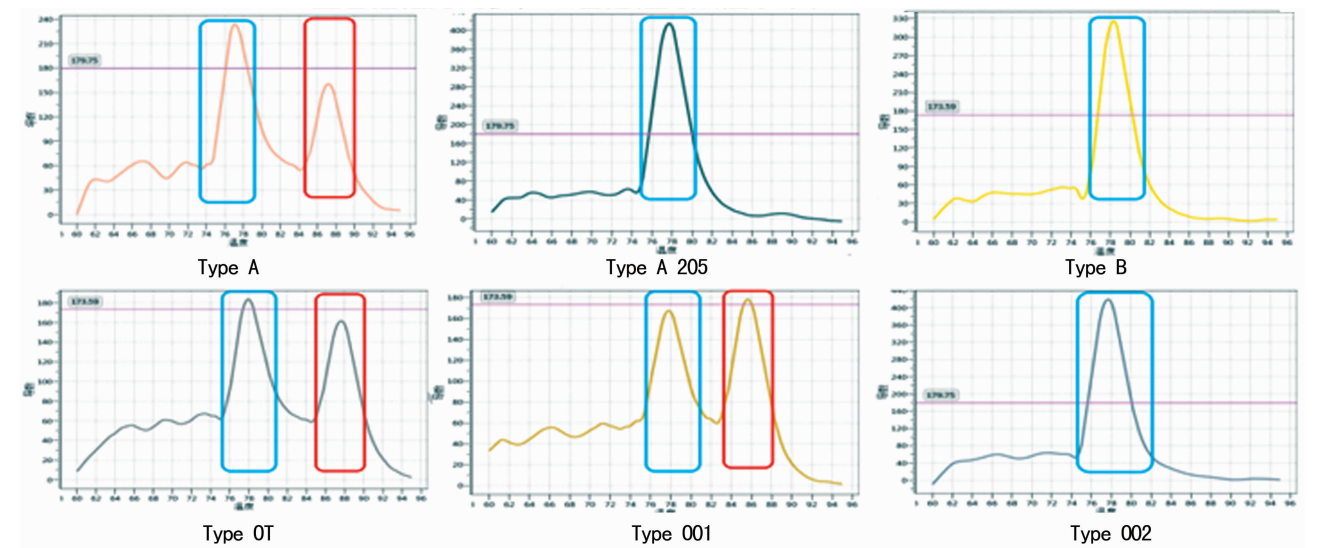
2.3 唾液试验结果 结果显示为分泌型, 唾液中含

△ 通信作者, E-mail: yfyicuwm@126. com.
本文引用格式: 王春海, 王文梅, 黄华亮. 内蒙地区罕见 cis-AB01/ O01 血清学与基因分型研究——附 1 例报告[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(11): 1406-1408.

有 A、H 物质和弱分泌 B 物质。

2.4 ABO 基因分型结果 该例患者标本(W126)的荧光 PCR 分型, Type A 出现阳性条判断为 A, 非

A205; Type OT、Type O01 出现阳性条判断为 O01 (见图 1)。ABO 基因分型结果为: A/O01。



注: 蓝色框框为内参, 红色框框为阳性条

图 1 基因分型结果

2.5 ABO 基因测序结果 该例患者标本(W126)的基因测序结果在外显子 6 的 297A/A 未有突变, 261 处缺失 G, 形成 261 前面连续出现套峰, 这两点属于 O01 基因特征性序列。而在外显子 7 又出现 467C>T、803G>C 两处突变, 符合 cis-AB01 型基因特征。依据测序结果推出该例标本的基因型为 cisAB01/

O01。ABO 基因全测序结果见图 2、3。

Reference	Exon6					Exon7								
	261	297	467	526	646	657	681	703	771	796	803	829	930	
A1, O1, I	G	A	C	G	T	C	G	G	C	C	G	G	G	
A102	G	A	T	C	T	C	G	G	C	C	G	G	G	
B101	G	C	C	T	T	C	G	A	C	A	C	G	A	
O01	del	A	C	C	T	C	G	C	C	C	C	G	G	
O02	del	G	C	C	A	C	A	G	C	T	C	C	A	
cis-AB01	G	A	T	C	T	C	G	G	C	C	C	G	G	
W126	A0	AA	GT	CC	TT	CC	GG	GG	CC	CC	CC	GG	GG	
W126-cis-AB01	G	A	T	C	T	C	G	G	C	C	C	G	G	
W126-O01	del	A	C	C	T	C	G	G	C	C	C	G	G	

图 2 ABO 基因全测序结果

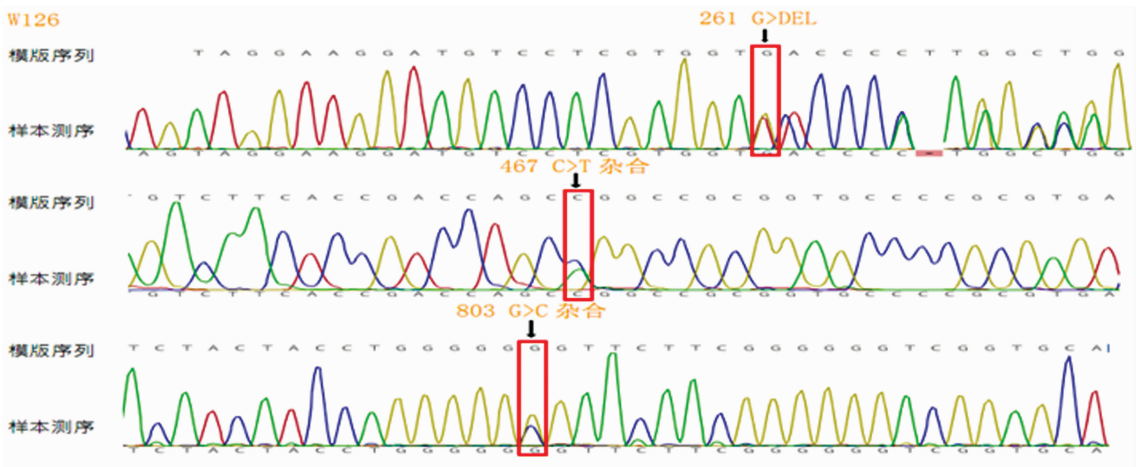


图 3 基因突变点截图

2.6 最终判定结果 综合血清学和基因检测可以确定为 cis-AB, 基因分型符合 cis-AB01/O01。

3 讨论

cisAB 是一种极为罕见的亚型, 在人群中出现的概率非常低, 大约是 1/580 000~1/170 000。有文献报告, 一般在 1 000 000 例日本人中找到 14 例, 比例为 0.0014%, 而在 112 710 例受检 AB 型中, 比例为 0.012%^[6]。1965 年 YAMAGUCHI 等^[7]报道 A2B3 血型, 该家族成员的 A2 和 B3 基因在同一染色体上。

当一单倍型的 A 糖苷转移酶基因发生一点或多点突变时或者 B 糖苷转移酶基因发生一点或多点突变时, 造成该基因编码的糖苷转移酶同时催化两种底物分别加到 L-岩藻糖上形成 A 和 B 抗原, 形成的 AB 型叫 cisAB^[8], 出现 cisAB 有 2 种可能: 一是基因的不等交换, 使得一条染色体上的 A 基因与另一条染色体上的 B 基因组成了新的 cisAB 基因, 并且携带正常的遗传信息; 另一种情况是 A 基因或 B 基因发生突变, 使基因编码产物同时具有 A 和 B 抗原。1990 年, ABO 基

因被克隆和测序后, cisAB 血型的分子遗传模式逐步被人类研究并揭示。造成 cisAB 表现型的主要原因和 A、B 基因 7 号外显子的点突变有关^[2]。

到目前为止, cisAB 等位基因一共有 8 型, 分别为 01、02、03、04、05、06、07、08 型, 还有一种 cisAB 01var 型^[9]。cisAB01 主要特征是 803G>C、467C>T 两点突变^[10]。该例患者在外显子 6 的 297A/A 未有突变, 261 处缺失 G, 形成 261 前面连续出现套峰, 这两点属于 O01 基因特征性序列。而在外显子 7 又出现 467C>T、803G>C 两处突变, 符合 cis-AB01 型基因特征^[9]。外显子序列符合 cisAB01/O01 杂合特征, 即 cisAB01 与 O01 杂合, 基因分型及测序应为 cis-AB01/O01。cisAB01/O01 基因型占 cisAB 血型基因型总数的 66.7%^[1]。cisAB/O 基因型, 一条是单倍型 AB 型, 另一条是单倍型 O 型, 形成 cisAB 血型的血清学结果具有一定的特点。当 cisAB 基因与 O 基因杂合时, 血清学常表现为 A2B3: (1) cisAB 细胞上 A 抗原虽然经常被认为是 A2, 但 A 抗原强度强于 A2B, 弱于 A1B; (2) cisAB 细胞几乎无例外地表达弱的 B 抗原性, 类同 B3 表型; 与免疫性 A 型血清反应较强, 与自然发生的血清抗 B 弱凝集或不凝集; (3) cisAB 细胞有很强的 H 抗原性, 与 O 细胞反应强度相当, 达到十十十的强度; (4) cisAB 人血清中总是有弱抗-B 存在^[5]。血型血清学试验中: 正定型抗-A 凝集(十十十), 抗-A1 不凝集(0), 这是 A2 抗原的表现; 同时抗-B 弱反应, 并呈混合视野(mf); 反定型中有较弱的抗-B(+), 依据抗体筛选试验、反定型 3 个献血者 B 细胞和 3 个献血者 O 细胞结果判断, 该抗体并非 ABO 以外的同种抗体, 而是不规则抗-B, 抗-H 明显比正常 B 型增强, 这是 B3 抗原的表现。该患者标本的血清学特征具有 A2B3 的特征^[5]。

cisAB 血清学特征 A2B3 必须与下列 2 种情况相区别, (1) 与 ABx 或 AxB 区别^[11]: ABx 或 AxB 常常是因 cisAB 等位基因与另一正常 A 或 B 等位基因杂合时, 有抗原剂量效应, 而抗-H 不增强或较弱, 与抗-H 反应凝集强度一般弱于 O 细胞与抗-H 的反应程度^[12-13]; (2) 与获得性 B 区别: 获得性 B 与疾病有关, 只表现在 A 型红细胞上, 在血型鉴定时, 出现类似于 AB 型的反应格局。获得性 B 抗原的个体血液中只含有抗-B 抗体, 但不与获得性 B 细胞反应, 获得性 B 抗原可能减弱 A 型抗原的抗原性, 因此, 获得性 B 消失后, 红细胞 A 抗原性增强^[5]。

由于各种因素的影响, 根据血清学表现, cisAB 血型很难被确定, 因为弱抗 B 的存在会导致 ABO 正反定型不符, 极易导致血型错判。在临床检测过程中往往表现为血型定型和交叉配血困难, 输血时, 配血不相合, 可引起溶血性输血反应, 对于该例患者, 其血清中有抗-B 抗体, 故不能输注 B 型红细胞, 以输注 O 型

洗涤红细胞和 AB 型血浆为佳, 或自体输血。考虑到该例患者输血适应症完全符合贮存式自体输血, 与手术前 3 天采集自体血 400 mL, 术中进行回输, 术后无不良反应。

据不完全统计, 该例患者 cis-AB01/O01 亚型属内蒙地区首次报道。鉴于该患者因家庭原因未同意调查其遗传情况, 故未做家系调查。

综上所述, 依据 cisAB 的血清学反应格局并不能正确确定 cisAB 亚型, 必须靠分子生物学技术(如 ABO 基因分型)才能区别, 条件允许情况下可以做家系调查, 只有准确无误地鉴定 cisAB 血型, 才能做到安全输血, 防治输血不良反应的发生。

参考文献

- [1] 赵晖, 姜悦, 闫芳, 等. 遗传性 CisAB 血型的血清学和基因型特征研究——附 1 例家系报告[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(1): 18-21.
- [2] 桂荣, 张志昇, 王勇军. 输血相容性检测及疑难病例分析[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 20.
- [3] 金沙, 蔡晓红, 刘曦, 等. 上海地区献血人群 cisAB 和 B(A) 血型的研究[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(12): 1198-1201.
- [4] 叶应抚, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规范[M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 246-270.
- [5] 李勇, 马学严. 实用血液免疫学: 血型理论和实验技术[M]. 北京: 科学技术出版社, 2006.
- [6] GEOFF D. Human Blood Groups [M]. Second Edition, UK, Blackwell Science Ltd a Blackwell Publishing Company, 2002: 39-42.
- [7] YAMAGUCHI H, OKUBO Y, HAZAMA F. Another Japanese A2B3 blood-group family with the propositus having O-group father[J]. Proc Jpn Acad, 1966, 42(1): 517-520.
- [8] 孙玉芹, 吴晓黎, 孙迪, 等. cisAB 血型家系分析 1 例[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(1): 82.
- [9] 王晓华, 马玲, 王恩波, 等. CisAB01 血型的血清学及基因型分析——附 2 例报告[J]. 临床血液学杂志, 2017, 30(2): 161-163.
- [10] YAMAMOTO F, MCNEILL P D, KOMINATO Y, et al. Molecular genetic analysis of the ABO blood group system: 2. Cis-AB alleles[J]. Vox Sang, 1993, 64(2): 120-123.
- [11] 郭忠慧, 向东, 朱自严, 等. 中国汉族人群检出新的 B(A) 641T>C 等位基因[J]. 中国输血杂志, 2006, 19(1): 17-20.
- [12] 庄文华, 庄彩梅. cisAB 与 AxB 血型个案检测分析[J]. 临床输血与检验, 2014, 16(4): 434-435.
- [13] 王北元, 杨帆, 焦立新. AXB 型引起血型正反不符 1 例[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(12): 2054-2055.