

# ABO 血型亚型的血清学和分子生物学机制研究

庞飞

浙江天台人民医院,浙江,天台,317200

**摘要:** 目的: 对 ABO 血型鉴定中亚型的原因进行分析, 以为临床合理输血用血环节血型亚型检测提供血清学和分子生物学机制研究价值。方法: 使用血清学方法鉴定 ABO 血型, 对其中亚型者采用 ABO 基因外显子 6 及 7 进行聚合酶链反应扩增并测序, 确认 ABO 亚型。结果: 99533 例次 ABO 血型鉴定中共检出 89 例次 ABO 血型亚型, 不符率为 0.089%。除去重复例次后共有 73 例 ABO 血型亚型者, 其中红细胞抗原减弱、血型抗体减弱、抗原及抗体同时减弱、亚型、其他分别为 23 例、10 例、4 例、57 例、2 例, 占比分别为, 31.51%、13.70%、5.48%、78.08%、2.74%。解决对策上, 临床输血结合血清学及分子生物学结果, 可输注 ABO 相容或基因型同型红细胞。结论: ABO 血型鉴定中, 通过血清学和分子生物学机制研究表明, 血液疾病存在的比例概率极高, 临床依据该标注, 可实现对输血用血者血型亚型检测提供血清学和分子生物学机制研究支持, 值得临床实践中加以推广应用。

**关键词:** ABO 血型; 亚型; 血清学; 分子生物学

ABO 血型系统 (ABO blood group system) 是根据红细胞膜上, 是否存在抗原 A 或者是抗原 B, 把血液系统分成 4 种。人的抗体多在出生后几个月才开始形成, 5-6 岁达到峰值并延续到个人生命晚期<sup>[1]</sup>。血型检测可因抗体效价低而凝集不明显, 也可因母体 IGM 抗 A 或抗 B 通过胎盘进入胎儿体内而影响测定。ABO 血型亚型 (ABO blood group subtype) 是指在常见的人类 A、B、AB、O 4 种血型之下进一步细分的 ABO 血型, 这些亚型必须具有遗传基础, 并且有明确的血清学特点。故此, 就分子生物学视域下 ABO 血型鉴定状况的分析之于患者具有重要的意义<sup>[2]</sup>。本研究为探讨 ABO 血型鉴定中亚型的原因进行分析, 以为临床合理输血用血环节血型亚型检测提供血清学和分子生物学机制研究价值, 使用血清学方法鉴定 ABO 血型, 具体实验过程如下所示:

---

通讯作者: 庞飞, 浙江天台人民医院。

Copyright © Sanderman Publishing House

This work is licensed under a Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



## 1. 所用素材基本资料和方法

### 1.1 所用素材基本资料

使用血清学方法鉴定 ABO 血型，对其中亚型者采用 ABO 基因外显子 6 及 7 进行聚合酶链反应扩增并测序，确认 ABO 亚型。

### 1.2 方法<sup>[3]</sup>

操作名称——ABO 亚型鉴定用品及准备抗 A1、抗 H 试剂血清，待检者 5% 红细胞悬液，已知 5% A1、A2 红细胞悬液，56℃ 水浴箱，其他材料同 ABO 血型检查。方法及内容 1. 取洁净平板一块，用记号笔划 3 小格，注明待检者、A1 和 A2 对照。 2. 按标记各滴 5% 红细胞悬液 1 滴。 3. 3 格中各加入抗 A1 血清 1 滴，混匀，摇动平板数次，置室温 15min 后观察结果。备注对照 A1 红细胞应凝集，A2 红细胞不凝集；待检者凝集为 A1 型，不凝集为 A2 型。在 A 抗原中主要为 A1 和 A2。B 亚型一般比 A 亚型更少。可根据以下原则区分 ABO 亚型：①红细胞与抗 A、抗 A1、抗 B 及抗 A, B 的凝集程度；②红细胞上 H 物质活性的强弱；③血清中是否存在抗 A1；④分泌型人的唾液中 A、B 和 H 物质。⑤吸收放散试验，亚型吸收弱，放散强。

## 2. 结果

99533 例次 ABO 血型鉴定中共检出 89 例次 ABO 血型亚型，不符率为 0.089%。除去重复例次后共有 73 例 ABO 血型亚型者，其中红细胞抗原减弱、血型抗体减弱、抗原及抗体同时减弱、亚型、其他分别为 23 例、10 例、4 例、57 例、2 例，占比分别为，31.51%、13.70%、5.48%、78.08%、2.74%。解决对策上，临床输血结合血清学及分子生物学结果，可输注 ABO 相容或基因型同型红细胞。

## 3. 讨论

母婴 ABO 血型不合引起的新生儿溶血病，主要是依靠血型血清学检查来诊断<sup>[4]</sup>。ABO 新生儿溶血病血型血清学检查，ABO-HDFN 是由于母体的 IgG 抗 A (B) 经胎盘侵入胎儿循环，致敏并破坏胎儿红细胞。ABO 亚型在特殊血型中是比较多见的一类。到目前为止，已发现 150 余种亚型基因的序列，多态性的等位基因构成了 ABO 血型分子生物学分型的基础。

文献资料数据进一步佐证，应用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)直接测序的方法分析 ABO 基因增强子(-3 988 bp~-3 645 bp)、启动子(-149 bp~-2 bp)、外显子 1~7 及侧翼序列、以及第一内含子中转录因子 GATA (GATA 转录因子家族在胚胎发育时期能够促进胃肠道的正常发育，并有助于在成年肠上皮的不断更新中调节组织分化)结合位点(~+5.8 kb)序列，对于有突变的样本再进行单倍型测序确认<sup>[5]</sup>。应用常规血型血清学方法进行血型鉴定，对 ABO 基因的 Exon6 和 Exon7 扩增后进行直接测序，并进行单体型测序确定其基因型。结果表明，该例标本血清学表现为 Bw，红细胞与抗-A 不凝集，与抗-B2+凝集，与抗-A1 不凝集，血清中

存在抗-A;直接测序及单体型测序显示,此例标本的B等位基因在Exon7存在nt664G>A突变<sup>[6]</sup>。两种结合方法结果为,样本红细胞有A和B抗原,同时血清中存在抗A抗体.血清学表型为AxB.直接测序分析发现297AG、526CG、657CT、703AG、796AC、803GC、930GA和940AG 8个杂合位点。克隆测序得到两个等位基因Ax13和B101.Ax13序列与A101比对,第940位A>G突变,导致314位赖氨酸变成谷氨酸<sup>[7]</sup>。结果表明, $\alpha$ -1,3-N-乙酰半乳糖胺基转移酶基因940位A>G突变导致A抗原表达减弱<sup>[8]</sup>。此外,ABO血型系统是免疫原性最强的血型系统,正确鉴定ABO血型抗原在输血医学及器官、骨髓移植等临床医学中基础。ABO血型亚型中心出现的A变异性(亚型),由国际血型抗原基因突变数据库正式将其命名为Ax26(Genbank序列号为KT282967)。

综合来讲,ABO血型亚型的血清学和分子生物学机制的构建,主要通过收集ABO血型正反不一致的样本,应用血清学、序列特异性引物-聚合酶链反应、ABO基因直接测序等方法对其分子生物学机制进行分析。结果表明,第7外显子存在1个nt700C>G错义突变外,其余样本在第1~7外显子及内含子均未检出突变,提示临床血型鉴定和输血环节,有待通过进一步努力来实现。

综上所述,ABO血型鉴定中,通过血清学和分子生物学机制研究表明,血液疾病存在的比例概率极高,临床依据该标注,可实现对输血用血者血型亚型检测提供血清学和分子生物学机制研究支持,值得临床实践中加以推广应用。

## 参考文献

- [1] M. Jeyakanthan, P. J. Meloncelli, L. Zou, et al. ABH-Glycan Microarray Characterizes ABO Subtype Antibodies: Fine Specificity of Immune Tolerance After ABO-Incompatible Transplantation [J]. American Journal of Transplantation, 2016 16 (5) 1548-1558.
- [2] Cairo, C.W., Ross, D., Meloncelli, P. J., et al. ABH-Glycan Microarray Characterizes ABO Subtype Antibodies: Fine Specificity of Immune Tolerance After ABO-Incompatible Transplantation [J]. American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons 2016 16 (5) 1548-1558.
- [3] Eva M. Matzhold, Camilla Drexler, Thomas Wagner. A novel ABO O allele caused by a large deletion covering two exons of the ABO gene identified in a Caucasian family showing discrepant ABO blood typing results [J]. Transfusion 2016 56 (11) 2739-2743.
- [4] Eric J. Duell, Catalina Bonet, Xavier Muñoz, et al. Variation at ABO histo-blood group and FUT loci and diffuse and intestinal gastric cancer risk in a European population [J]. International Journal of Cancer 2015 136 (4) 880-893.
- [5] 朱于莉, 金肖君, 胡彬, 等. 青岛及周边地区 A3、B3 亚型的分子机制研究[J]. 医学分子生物学杂志 2017 14 (2) 73-77.

- [6]范晓娟, 庄文华, 冯智慧, 等.Bw31 的血型血清学和分子生物学研究——附 1 例报告[J]. 中国输血杂志 2016 29 (10) 1140-1142.
- [7]陈青, 李平, 姚根宏等. 血型基因分型在 ABO 正反定型不一致患者中的应用[C]. 中华医学会%山东省医学会.中华医学会临床输血学分会第一届学术年会论文集 2015 218-219.
- [8]章旭, 李剑平. 一例 ABO 亚型 Ax13B 的分子生物学研究[J]. 中华医学遗传学杂志 2015 32 (6) 837-839.