

B(A)亚型的血清学特点研究

马会敏¹ 史景莉¹ 燕备战¹ 闫慧¹

[摘要] 目的:分析 B(A)亚型的血清学主要特点及其红细胞 A 抗原性质。方法:对本实验室检测发现的 6 例疑似 B(A)亚型标本进行详细的血清学检测和分子生物学检测。结果:6 例标本均经分子生物学检测证实为 B(A)亚型,其中 5 例为 B(A)04,1 例为 B(A)02;此 6 例 B(A)亚型主要血清学特点是红细胞除与抗 B 呈正常凝集强度的反应外,与高效价单克隆抗 A 有明显反应,但与人源抗 A 或稀释到效价低于 256 的单克隆抗 A 在室温不反应;反定型反应格局与正常 B 型反应格局一致;此 6 例 B(A)亚型红细胞与人源抗 A 血清在室温不反应,在 4℃ 孵育后能够反应;与 B 型献血员标本在室温和 37℃ 交叉配血多数都能配合。结论:B(A)亚型人红细胞上 A 抗原为冷反应型抗原,但其抗原性质尚待进一步研究。

[关键词] B(A)亚型;人源抗 A 血清;血清学特点;冷反应型抗原

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2021.02.009

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Analysis of serological characteristics of 6 cases of B(A) blood group

MA Huimin SHI Jingli YAN Beizhan YAN Hui

(Department of Blood Transfusion, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou, 450003, China)

Abstract Objective: To analyze the main serological characteristics of B(A) subtype and the nature of red blood cell A antigen. **Methods:** Six cases of suspected B(A) subtype specimens detected in our laboratory were subjected to detailed serological and molecular biological tests. **Results:** Six specimens were confirmed to be B(A) subtype by molecular biology tests, 5 cases were B(A) 04 and one case was B(A) 02. The main serological characteristics of these 6 cases was that their red blood cells had obvious reactions with high titer monoclonal anti-A, but did not react with human-derived anti-A or monoclonal anti-A diluted to a titer of less than 256 at room temperature, in addition to the normal agglutination reaction with anti-B. The reverse-typing was consistent with that of normal bloodgroup B. These 6 cases of B(A) subtype red blood cells did not react with human-derived anti-A serum at room temperature, but were able to react after incubation at 4℃. Most cross-matching with donors of B blood group at room temperature or at 37℃ were compatible. **Conclusion:** Antigen A on B(A) human red blood cells may be a cold-reactive antigen, and its antigenic properties need further study.

Key words B(A) subtype; human anti-A antibody; serological characteristics; cold reaction antigen

ABO 血型系统是最早发现的人类红细胞血型系统,与红细胞的输注关系最为密切。同时 ABO 血型的变异也是临床输血实验室最常遇到的疑难问题。B(A)亚型是比较罕见的 ABO 血型,但同时也是相对比较常见的 ABO 亚型。一般认为 B(A)亚型形成的分子生物学基础是在正常 B 基因基础上发生了单碱基突变,致使其表达产物除具有 B 糖基转移酶活性外,还具有少量 A 糖基转移酶活性。因而在血型鉴定时,其红细胞上除能检测到 B 抗原外,也能检测到 A 抗原;且其血清往往含有抗 A 及抗 A₁,因此其红细胞上 A 抗原性质令人疑惑不解。近年来我实验室发现了 6 例 B(A)亚型患者,对其血清学特点进行了较为详细的检测和分析,并较为深入地进行了其 A 抗原反应性的检测,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 对象

2018 年 8 月—2019 年 8 月在我院就诊患者或

进行健康体检者的血型检测标本,共有 6 例疑似 B(A)亚型,女 5 例,男 1 例;年龄 27~70 岁;其中 3 例不孕症患者,1 例健康体检者,1 例肝硬化患者,1 例呼吸衰竭患者。血清学检测和分子生物学检测均经患者知情同意。

1.2 仪器与试剂

使用 GRIFOL 全自动血型配血系统进行微柱凝胶卡式法血型初检和交叉配血。

ABO 正定型用单克隆抗 A、抗 B(北京金豪制药股份有限公司);ABO 反定型用红细胞包括 A₁ 细胞、B 细胞、O 细胞(北京金豪制药股份有限公司);抗 AB(DIAGAST, FRANCE);抗 H 单克隆抗体(上海血液生物医药有限责任公司);抗 A₁(上海血液生物医药有限责任公司);A₂ 细胞(上海血液生物医药有限责任公司)。人源抗 A(3~5 人份混合健康 B 型献血员血浆)。微柱凝胶血型检测卡(DG GEL ABO-CDE, GRIFOLS. S. A);微柱凝胶抗人球蛋白检测卡(DG GEL Coombs, GRIFOLS. S. A);聚凝胺试剂(中山生科试剂仪器有限公司);

¹河南省人民医院输血科(郑州,450003)

DNA 抽提试剂盒(TIANamp Blood DNA kit,北京天根);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 法),江苏中济万泰生物医药有限公司];ABO 6,7 外显子测序试剂盒(江苏中济万泰生物医药有限公司)。

1.3 血型检测

先使用 GRIFOL 全自动血型检测仪进行微柱凝胶卡式法血型检测;后进行手工试管法血型复检。正定型加做红细胞与人源抗 A、与抗 H、抗 A₁、与单克隆抗 AB、与倍比稀释后的单克隆抗 A 试剂的反应;反定型加做患者血清与试剂 A₂ 细胞反应。所有试验按照试剂说明书进行。

1.4 红细胞 A 抗原反应性检测

1.4.1 与单克隆抗 A 抗体反应检测 将单克隆抗 A 抗体进行倍比稀释,与患者红细胞直接离心观察反应情况。

1.4.2 与人源抗 A 反应检测 患者红细胞

与 3 人份混合人源抗 A 血清分别在常温、4℃ 及 37℃ 条件下孵育 15 min,离心观察其反应情况。

1.4.3 吸收放散试验 各患者红细胞与 3 人份混合人源抗 A 血清进行吸收放散试验,检测红细胞弱 A 抗原。

1.4.4 交叉配血 被检患者标本分别与 3 人份健康 B 型献血员标本进行盐水法、聚凝胺法、微柱凝胶抗人球蛋白卡式法交叉配血。若与其中任一献血员标本配血不合则认为与 B 型献血员标本配血不合。

1.4.5 分子生物学检测 全血 DNA 抽提后送江苏中济万泰生物医药有限公司进行 ABO 基因分型和 6、7 外显子测序分析。

2 结果

2.1 血型检测结果及患者标本基因分型结果

6 例血清学疑似 B(A)亚型者经基因分型均为 B 型,进一步进行 6、7 外显子测序确定 5 例为 B(A)04 亚型,1 例为 B(A)02 亚型,见表 1、表 2。

表 1 6 例 B(A)亚型的血清学特征

| | 卡式法 | | | | 试管法 | | | | | | | 基因分型 | |
|------|-----|-----|-------------------|------|--------|--------|-----|------|-----|-------------------|-------------------|------|-------------|
| | 抗 A | 抗 B | A ₁ 细胞 | B 细胞 | MO 抗 A | HU 抗 A | 抗 B | 抗 AB | 抗 H | A ₁ 细胞 | A ₂ 细胞 | | B 细胞 |
| 标本 1 | 4+ | 4+ | 4+ | - | 3+ | - | 4+ | 4+ | 4+ | 3+ | 2+ | - | B(A)02/O01 |
| 标本 2 | 3+ | 4+ | 4+ | - | 2+ | - | 4+ | 4+ | 3+ | 4+ | 1+ | - | B(A)04/O01 |
| 标本 3 | 3+ | 4+ | 3+ | - | 2+ | - | 4+ | 4+ | 4+ | 3+ | 2+ | - | B(A)04/O01 |
| 标本 4 | 2+ | 4+ | 4+ | - | 1+ | - | 4+ | 4+ | 4+ | 3+ | 1+ | - | B(A)04/O02 |
| 标本 5 | 3+ | 4+ | 4+ | - | 2+ | - | 4+ | 4+ | 2+ | 2+ | 1+ | - | B(A)04/B101 |
| 标本 6 | 2+ | 4+ | 2+ | - | 1+ | - | 4+ | 4+ | 3+ | 2+ | - | - | B(A)04/O01 |

注:MO 抗 A:单克隆抗 A;HU 抗 A:人源抗 A。

表 2 单克隆抗 A 倍比稀释后效价及与 B(A)亚型各样本反应情况

| | 单克隆抗体稀释后效价 | | | | | |
|------|------------|------|-----|-----|-----|----|
| | 2048 | 1052 | 512 | 256 | 128 | 64 |
| 标本 1 | 3+ | 2+ | 1+ | ± | - | - |
| 标本 2 | 2+ | 1+ | ± | - | - | - |
| 标本 3 | 2+ | 1+ | ± | - | - | - |
| 标本 4 | 1+ | ± | - | - | - | - |
| 标本 5 | 2+ | 1+ | ± | - | - | - |
| 标本 6 | 1+ | ± | - | - | - | - |

2.2 患者红细胞 A 抗原反应性检测

单克隆抗 A 倍比稀释到效价低于 128 时,与 6 例患者红细胞均不反应。6 例 B(A)亚型红细胞与人源抗 A 在室温和 37℃ 均不反应,但在 4℃ 孵育 15 min 后能够反应。6 例 B(A)亚型红细胞均可吸收并放散人源抗 A 抗体,见表 2、表 3。

2.3 交叉配血

6 例 B(A)亚型患者与 B 型献血员标本使用盐水法、聚凝胺法和抗人球卡式法交叉配血主次侧均

相合,见表 4。

表 3 人源抗 A 与 B(A)亚型各样本反应情况

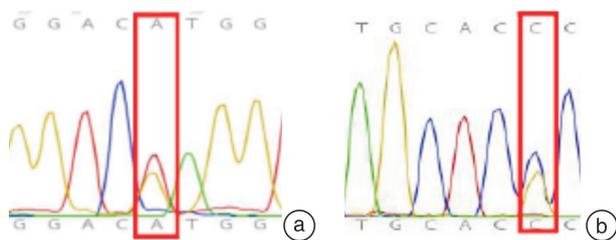
| 序号 | 4℃ | 室温 | 37℃ |
|------|----|----|-----|
| 标本 1 | 1+ | - | - |
| 标本 2 | 1+ | - | - |
| 标本 3 | 2+ | - | - |
| 标本 4 | 1+ | - | - |
| 标本 5 | 2+ | - | - |
| 标本 6 | 1+ | - | - |

表 4 各样本与 B 型献血员样本交叉配血情况

| | 盐水法 | | 聚凝胺法 | | 卡式法 | |
|------|-----|----|------|----|-----|----|
| | 主侧 | 次侧 | 主侧 | 次侧 | 主侧 | 次侧 |
| 标本 1 | - | - | - | + | - | - |
| 标本 2 | - | - | - | - | - | - |
| 标本 3 | - | - | - | - | - | - |
| 标本 4 | - | - | - | - | - | - |
| 标本 5 | - | - | - | - | - | - |
| 标本 6 | - | - | - | - | - | - |

2.4 基因测序

检测 B(A)02 和 B(A)04 的突变位点,见图 1。



a: B(A)04 基因突变位点 EXON7 640 位 A>G 单核苷酸替代; b: B(A)02 基因突变位点为 EXON7 700 位 C>G 单核苷酸替代。

图 1 B(A)亚型基因突变位点

3 讨论

B(A)亚型在亚洲人中的发病率较高,上海血液中心对上海地区的弱 ABO 表型进行基因检测发现 ABO 亚型检出率约 0.015%,其中 B(A)亚型的检出最为常见,基因频率以 B(A)04 最高,为 1.6/10 万,其次是 B(A)02(0.78/10 万)^[1-2]。与 B101 相比,B(A)04 在第 7 外显子 640 位出现 A>G 的单碱基突变,导致第 214 位氨基酸由甲硫氨酸 Met 到缬氨酸 Val 的改变;而 B(A)02 等位基因是在第 7 外显子 700 位出现 C>G 的单碱基突变,导致第 234 位氨基酸由脯氨酸 Pro 到丙氨酸 A_{1a} 的改变^[3]。

B(A)亚型的形成机制可能是 B 等位基因在正常 B 基因序列基础上发生单碱基突变,变异的 B 基因的编码产物除具有 B 糖基转移酶活性外,尚具有少量 A 糖基转移酶活性^[4]。笔者对 6 例标本的检测发现 6 例 B(A)亚型血清中均存在能与 A₁ 细胞反应的抗 A 抗体,且该抗体与 A₁ 细胞在微柱凝胶卡式法及试管法均表现为正常强度的凝集,因此反定型表现为正常的 B 型,这一点有助于区分其与 A_{sub}B 或 cisAB 血型不同。正定型使用微柱凝胶卡检测与抗 A 出现较强的凝集,试管法中与单克隆抗体出现弱于卡式法的凝集。但 6 例标本红细胞与人源抗 A 抗体均不凝集,这一点与许多研究 B(A)血型的文献不太一致^[5]。B(A)亚型红细胞与抗 A₁ 不反应,与抗 H 反应强于正常 B 型,接近 O 型红细胞与抗 H 的反应强度,此特点有助于判定其为 ABO 亚型。

鉴于我室检测到的 6 例 B(A)亚型标本红细胞与单克隆抗体发生凝集反应,而与人源抗 A 不反应。为了进一步研究 B(A)亚型红细胞上 A 抗原反应特点,将单克隆抗 A 进行倍比稀释,发现当单克隆抗体倍比稀释到抗体效价为 256 时,仅 1 例标本红细胞与该浓度单克隆抗体有阳性反应,其他标本仅与抗体效价 512 以上的单克隆抗体反应。人源抗 A 抗体效价一般较低,很难达到 128,推测这是 6 例标本红细胞与人源抗 A 均不凝集的原因之

一。试验显示 B(A)亚型与人源抗 A 在 4℃ 孵育后有凝集反应,且能够吸收和放散人源抗 A 抗体,显示出其红细胞 A 抗原的冷反应性。此点在国内文献中鲜有报道。有研究对 B(A)型红细胞进行单克隆抗 A 抗体的吸收放散试验,证明 B(A)血型人红细胞能够吸收放散单克隆抗 A 抗体,但是否能够吸收放散人源多克隆抗 A 鲜有文献报道。

另外,试验显示 5 例 B(A)亚型人血清与 A₂ 红细胞均发生凝集反应,说明其血清有抗 A 抗体,这一点与 A 亚型人血清中常会有抗 A₁ 抗体而没有抗 A 抗体有矛盾之处,且该抗体不与 B(A)型人自身红细胞上的弱 A 抗原反应,这是 B(A)亚型红细胞 A 抗原性质令人困惑的地方。该试验仅显示出其 A 抗原具有冷反应性,尚无法解答以上困惑。

B(A)亚型标本与 B 型献血员标本盐水试管法和抗人球蛋白卡式法交叉配血中完全相合,凝聚胺法配血仅 1 例检测到次侧不合,或许因为 B(A)亚型患者红细胞上的 A 抗原为冷反应抗原,因此常规在室温和 37℃ 的配血方法不能检出 B(A)亚型患者红细胞上的 A 抗原性。但 B(A)亚型患者输注正常 B 型血是否安全尚待探讨。此次研究根据文献报道^[6],给 B(A)型患者输注 B 或 O 型洗涤红细胞,AB 型血浆是更为安全可靠的。

总之,检测到 B(A)亚型红细胞上 A 抗原为冷反应型抗原,与人源抗 A 在 4℃ 孵育后反应,并能够吸收放散人源抗 A 抗体,这是多数文献没有阐明的地方。另外,根据此次的研究,B(A)亚型主要血清学特点是红细胞除与抗 B 呈正常凝集强度的反应外,与高效价单克隆抗 A 有明显反应,但与人源抗 A 或经一定程度稀释的单克隆抗 A 在室温不反应;反定型反应格局与正常 B 型反应格局一致,根据此血清学特点已基本能够判定为 B(A)亚型。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Huang H, Jin S, Liu X, et al. Molecular genetic analysis of weak ABO subgroups in the Chinese population reveals ten novel ABO subgroup alleles [J]. Blood Transfus, 2019, 17(3): 217-222.
- [3] 王凤敏,章旭. B(A)血型的分子机制分析[J].中华医学遗传学杂志,2018,35(6):894-896.
- [4] 刘长利,苗天红,刘亚庆,等. B(A)血型等位基因分型研究[J].中国输血杂志,2012,25(5):429-431.
- [5] 段福才,宋宁,田力,等.罕见 B(A)血型的血清学及基因检测研究[J].中国实验血液学杂志,2013,21(2):478-480.
- [6] 王超,李素萍,吴学忠,等. B(A)血型的鉴定及其患者输血的探讨[J].中国实验血液学杂志,2015,23(4):1147-1151.

(收稿日期:2020-07-08)