

## ABO 亚型案例报道专刊——O 亚和类孟买

2020 年 1 月

### 编者导读:

类孟买血型是一种罕见的稀有血型，其特点为红细胞上 H 抗原完全或部分缺失，日常检测中易导致漏检或者误判为 O 型，从而给输血带来安全隐患。本月期刊检索了国内公开报道的 O 亚型和类孟买优秀文献，对中国人群存在的 O 亚型是否产生抗体，中国人群类孟买类型，产生抗体及输血策略等内容进行汇总，以便读者阅读。在此郑重感谢所有文章作者所做出的努力及贡献，编者仅为收录方便学习，无观点诱导及评判，亦无商业目的。

共计 22 篇文献，主要内容如下:

#### (一) O 亚 (7 篇)

1、O 亚型样本 34 例，为 O04 (4 例)，O05 (5 例)，O06 (2 例)，O07 (5 例)，O11, O31, O50, O56, O61 (3 例)，Ov1 (参考 O01: 336A>G)，Ov2 (参考 O01: 336A>G, 306C>T)，Ov3 (参考 O01: 520G>A)，Ov4 (参考 O01: 861T>C)，Ov5 (参考 O01: 950A>G)，A468G(O01)，G489A(O02)，T526C(O02)，T1104G(O02)，C467T(无 261delG) (2 例)。注: 未注明的都是 1 例。

2、未发现明确产生抗体的 O 亚型。

3、提出对应输血策略 0 篇。

#### (二) 类孟买 (15 篇)

1、类孟买样本 33 例，为 h1/h1 (7 例)，h1/h2 (7 例)，h1/h3 (1 例)，h1/h9 (1 例)，h1/649G>T (1 例)，h1/35C>T, 423G>A (1 例)，h1/hnew(35C>T、293C>T) (1 例)，h2/h2 (3 例)，h2/649G>T (1 例)，h3/h3 (9 例)，649G>T/293C>T (1 例)。

2、除 1 例 h3/h3 外，其他类孟买样本均可明确产生抗体。

3、提出对应输血策略 9 篇。

## 目录

|  |    |
|--|----|
| 1 《Single-tube Multiplex PCR-SSCP Analysis Distinguishes 7 Common ABO Alleles and Readily Identifies New Alleles》 .....  | 1  |
| 2 《ABO 血型中的一个新变异 O1 等位基因的鉴定》 .....   | 2  |
| 3 《Molecular Polymorphism of O Alleles in the Chinese Han Population》 .....  | 5  |
| 4 《Distribution of ABO Blood Group Allele and Identification of Three Novel Alleles in the Chinese Han Population》 ..... | 8  |
| 5 《中国四川眉山地区汉族人群 ABO 血型分子遗传背景研究》 .....  | 10 |
| 6 《罕见 B(A)04/O31 亚型 1 例》 .....   | 12 |
| 7 《PCR 测序技术在 ABO 亚型鉴定和丙酮酸激酶缺乏症诊断中的应用》 .....  | 14 |
| 8 《Molecular Genetic Analysis for the para-Bombay Blood Group Revealing Two Novel Alleles in the FUT1 Gene》 .....        | 17 |
| 9 《类孟买血型鉴定 1 例》 .....  | 19 |
| 10 《FUT1 基因突变个体的表型及分子遗传学研究》 .....  | 22 |
| 11 《类孟买血型的鉴定及输血对策探讨》 .....   | 24 |
| 12 《贵阳市 1 例稀有血型类孟买 Bmh 的检测分析》 .....  | 26 |
| 13 《1 例类孟买血型的血清学特征及家系分析》 .....   | 28 |
| 14 《 $\alpha$ -(1,2)-岩藻糖基转移酶基因的 DNA 双链突变形类孟买型分析》 .....   | 31 |
| 15 《罕见 Ah 类孟买血型的鉴定》 .....  | 35 |
| 16 《佤族家系中发现罕见类孟买血型 2 例》 .....  | 37 |
| 17 《类孟买血型鉴定与输血策略研究》 .....  | 40 |
| 18 《由 ABO 正反定型不符发现类孟买血型》 .....   | 44 |
| 19 《一例 Bmh 类孟买血型的基因分析》 .....   | 47 |
| 20 《一例类孟买血型 FUT1 新等位基因的鉴定》 .....   | 50 |
| 21 《罕见类孟买 Amh Rh Del 血型的鉴定和输血策略分析》 .....   | 52 |
| 22 《1 例类孟买血型的鉴定及分子机制研究》 .....  | 56 |

# ABO 亚型案例报道专刊——O 亚和类孟买

(编辑: 艾丽萍, 刘玉莲, 张悦)

## 1 《Single-tube Multiplex PCR-SSCP Analysis Distinguishes 7 Common ABO Alleles and Readily Identifies New Alleles》

作者: S P Yip

来源: Blood. 2000;95(4):1487 - 1492.

### 摘要:

ABO 血型是临床上最重要的血型系统。阐明 ABO 基因多态性的分子基础可以在不进行家系研究的情况下确定基因型。本文介绍了一种新的方法, 通过聚合酶链反应(PCR)同时扩增 ABO 基因第 6 外显子的 3 个片段和第 7 外显子的 5'和 3'端, 然后进行单链构象多态性(SSCP)分析。该多路复用 PCR-SSCP 方法可同时分析 9 个核苷酸位置 261, 297, 467, 526, 646, 657, 681, 1059, 和 1096 的碱基变化, 使得可以单管单泳道的形式鉴别 7 种常见等位基因(A(1), A(1v), A(2), B, O(1), O(1v), and O(2))。每个等位基因以一组 3 个单倍型特异性 SSCP 模式为特征。对中国人(n = 125)和欧洲白人(n = 98)的样本进行分析, 其基因型与血清学表型一致或可以明确推断。15 个样本(2 个中国人和 13 个白种欧洲人)各携带至少 1 个罕见等位基因。这些等位基因大部分是新基因, 有些可能是基因内重组产生的。该技术是迄今为止报道的最简单、最快速、信息量最大的方法, 而且很容易识别新的等位基因。

### 标本来源:

中国供者的样本(n=125)此前已进行了血清学和基因分型, 基因分型使用从外显子 6 扩增的 PCR 产物的变性梯度凝胶电泳(DGGE)。

### ABO 血型基因 DNA 测序结果:

使用 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 和 ABI PRISM 310 Genetic Analyzer 测序外显子 6、内含子 6 和外显子 7。

| 等位基因 | 中国人例数 | 突变情况 (参考序列: A1)  |
|------|-------|--|
| O1   | 81    | c.261delG  |
| O1v  | 54    | c.106G>T; c.188G>A; c.189C>T; c.220C>T; c.261delG; c.297A>G;<br>c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A |
| O2   | 0     | c.297A>G; c.526C>G; c.802G>A; c.1096G>A  |
| Ov1  | 1     | c.261delG; c.646T>A; c.681G>A; c.771C>T; c.829G>A  |
| Ov4  | 1     | c.261delG; c.579T>C  |

### 讨论:

O2 不具有在 O1 和 O1v 中发现的 nt 261 缺失, 它与 A1 等位基因的不同之处在于 4 个 nt 替换, 297、526、802 和 1096, 导致 2 个氨基酸替换。这两个氨基酸的替换可以消除体外表达的转移酶的活性。中国人没有发现 O2 等位基因, 日本人和韩国人也没有发现, 这表明这种等位基因可能非常罕见, 甚至在东方人中不存在。有趣的是, 这种等位基因也没有在美洲印第安人身上发现。虽然不是很常见, 但在欧洲白人中发现这种等位基因的频率为 0.0102, 与报道的其他欧洲白人的频率(0.017 至 0.037)相当。

新 O 等位基因 (Ov1-Ov7) 都存在 nt 261G 缺失。此外, 这些新 O 等位基因的大多数的碱基变化位于 nt261 下游。这是因为 nt261G 缺失导致的移码突变, 将下游序列从选择压力下释放出来, 因此容易发生更多的突变, 却不会进一步改变表型 (一个截断的产物)。Ov1 和 Ov4 在中国人群中发现, 其他 (Ov2, Ov3, Ov5-7) 在欧洲白人中发现。Ov1 和 Ov4 分别与一项日本研究报道的 \*O202 和 \*O102 等位基因相对应。Ov1 可能是 O1 和 O1v 的杂交等位基因, 由 O1 和 O1v 之间发生基因内重组产生。Ov4 是在 O1 的基础上有额外的碱基变化。

随着 ABO 等位基因越来越多地在 DNA 水平上被分析, 文献中报道了越来越多的杂交等位基因, 并提示可能是通过内含子 6 或外显子 7 的重组产生的。Chi 和 chi-like 序列被认为与重组有关, 并在内含子 6 的 3' 端发现。根据这些发现, 有人提出 ABO 基因可能在内含子 6 和外显子 7 周围存在重组热点。许多 SNP 在内含子 6 (大约 1 kb 大小) 中被识别, 它们的单倍型被发现对常见的 ABO 等位基因具有特异性。因此, 编码区和内含子 6 的完全测序将阐明这些新识别的等位基因的特征, 并阐明通过基因内重组如何产生这些杂交等位基因。

## 2 《ABO 血型中的一个新变异 O1 等位基因的鉴定》

作者: 邓志辉 喻琼 吴国光 梁延连 苏宇清 魏天莉

**摘要：**

目的 鉴定中国人群的 ABO 血型新等位基因。

方法 ABO 血清学定型、PCR-SSP 基因定型、基因克隆和测序分析。

结果 一个血型血清学为 A2 亚型、PCR-SSP 基因定型为 A2O1 的健康捐血者，其 O1 基因单倍体的 2 个碱基发生了缺失突变，即第 6 外显子区域中 261 位 g 缺失和第 7 外显子区域中 496 位 A 缺失。该等位基因与 ABO\*O101 基因序列的差异在于 496 位 A 缺失。

结论 该等位基因是一个与 O1 基因相关的新变异等位基因，GenBank 的注册号为 AY374123。

**标本来源：**

研究对象来自一名广东汉族的健康捐血者，其 ABO 血型为 A2 型的个体。

**血清学结果：**

见表 3，血清学定型为 A2 型。

**表 3 血型血清学检测结果**

| 正定型 |                  |     |     | 反定型            |                |                |
|-----|------------------|-----|-----|----------------|----------------|----------------|
| 抗 A | 抗 A <sub>1</sub> | 抗 B | 抗 H | A <sub>C</sub> | B <sub>C</sub> | O <sub>C</sub> |
| 4+  | 0                | 0   | 3+  | 0              | 4+             | 0              |

**PCR-SSP 检测结果：**

使用美国 G&T 公司的 ABO 基因分型试剂盒，检测的 ABO 基因包括 A1、A2、O1、O2、B、A201、A202、A203。检测 A204 基因的引物，系使用 Primer Express Software (ABI 公司) 自行设计。PCR-SSP 结果为 A204O1。

**ABO 血型基因 DNA 克隆和测序结果：**

用 ABI 3100 测序仪检测外显子 6 和 7。以正常 A101、O1 样本序列对照，对该捐血者 ABO 基因第 6、第 7 外显子进行序列分析。一条单倍体为 261G、297A、467T、496A、1009G，可以定为 A204 等位基因。另一条单倍体为 261 位 G 缺失、297A、467C、496 位 A 缺失、1009A，不能确定为何种 O 等位基因。

**讨论：**

我们对中国汉族人群变异的 ABO 亚型的分子遗传背景进行了系统的研究，以期通过基因克隆和测序阐明基因突变的分子生物学基础，推测某个氨基酸对于催化区域糖基转移酶活性水平或特异性的影响。本研究在 1 个 A2 型志愿捐血者中，发现 1 个与 O1 基因相关的新变异等位基因，已获 GenBank 的注册 (AY374123)。

任何 ABO 等位基因产生的突变导致 ABO 基因产物转运 N-乙酰半乳糖胺或半乳糖到寡糖受体上的能力完全丧失，就可以把该突变的基因称为 O 等位基因。业已报道的 O 等位基因有 26 种，根据碱基突变的特点，可分为 O1、O2、O3、O4、O5、杂合体等 6 大类。O1 基因突变种类最多，包含了 15 种变异型，其共同特点是在第 6 外显子的 261 位 G 缺失，导致阅读框移位，在 nt353、354、355 位提前产生终止密码子，肽链合成于 118 位氨基酸终止，这样 O1 基因编码了 1 个催化区失活的蛋白质。O2 基因不存在 261 位 G 缺失；但在第 7 外显子的 802G>A 突变，导致 268 位氨基酸由甘氨酸变成精氨酸，由于该蛋白区域涉及酶的活性位点，影响了酶与底物的结合而导致酶的完全失活。其他 O 等位基因未发现 261 位 G 缺失，但又不同于 O2 基因。O3 基因在 798 至 804 位的 7 个鸟苷酸之间有一个鸟苷酸插入，结果 269 位到 353 位的氨基酸序列发生了完全变化。O4 等位基因由于在第 2 外显子的第 87、88 位之间，有一鸟苷酸插入，导致阅读框移位，第 56 密码子变为终止密码子。O5 基因是在 322C>T 突变，直接产生了终止密码子。还有一些 O 等位基因，是缺失了 261 位碱基的 O1 基因与 A 或 B 基因的杂合体。

本研究发现的 O1 新等位基因，与 ABO\*A101 等位基因相比，其特点是：在 261 位 G 缺失，无 297 位的突变，496 位 A 缺失。该等位基因除了在 496 位 A 缺失外，其余核苷酸序列与 ABO\*O101 等位基因的序列相一致；但业已报道的 O 等位基因中尚未出现 496 位 A 缺失的变异类型，因此，本研究把它定为新变异的 O1 等位基因。496 位 A 缺失突变以往的文献未见报道，本研究首次发现 496 位 A 缺失存在一血清学 A2 型个体的 O1 等位基因，而该个体 A204 等位基因上不存在 496 位 A 缺失。这个 O1 新等位基因由于第 6 外显子的 261 位 G 缺失，提前产生终止密码子，肽链合成于 118 位氨基酸终止，因此 496 位 A 缺失不会改变糖基转移酶的无催化功能性质。但 A 和 B 基因中是否有 496 位 A 缺失及有何生物学意义和影响，还有待进一步观察和研究。

# 3 《Molecular Polymorphism of O Alleles in the Chinese Han Population》

作者： Bao-Cheng Yang 等

来源： Ann Clin Lab Sci. 2007;37(1):71 - 74.

## 摘要：

ABO 血型系统是输血医学中最重要的系统。O 型血在中国汉族人中很常见，但是各种 O 型等位基因的分布是未知的。从中国汉族人群中随机选取 100 例 O 型表型个体，研究 ABO 基因座 O 型等位基因的外显子 6 和外显子 7 序列。在需要时，克隆一些样本并对其进行跨外显子 6 和外显子 7 的测序。在中国人群中发现了 8 个 O 等位基因。大多数具有两个常见的 O01 或 O02 等位基因。ABO\*O01 等位基因频率为 0.47, ABO\*O02 等位基因频率为 0.495。其中一人具有 O05 等位基因。5 个等位基因被发现与迄今报道的所有等位基因不同。其中 4 个等位基因与 O01 等位基因(4 个中的 1 个)或 O02 等位基因(4 个中的 3 个)在 A468G、G489A、T526C 或 T1104G 处有 1 个点突变。第五个等位基因不同于 O01 等位基因，因为它没有 nt261G 缺失，但有 C467T 突变。这种新的等位基因出现在 2 个人身上。有报道 O03 等位基因在其他人群中出现频率低于 5%，但这里未被检测到。但在中国人中首次发现了不存在 261G 缺失的新型 O 等位基因。当然，在中国人群中会发现更多的 O 型等位基因。

## 标本来源：

在深圳血液中心随机选取 100 例中国汉族 O 表型供体。抽取静脉血样本(5ml)到 EDTA 管中。

## ABO 血型基因 DNA 测序结果：

用 ABI PRISM BigDye 终止循环测序反应试剂盒(Applied Biosystems)和 ABI PRISM 3100 DNA 测序仪直接测序外显子 6 和外显子 7。

Table 1. Distribution of O genotypes in 100 Han Chinese subjects.

| Genotype                       | No. of subjects | Genotype frequency (%) | Expected Value        | $\chi^2$ |
|--------------------------------|-----------------|------------------------|-----------------------|----------|
| <i>O01/O01</i>                 | 18              | 18                     | 22.09                 | 1.0869   |
| <i>O01/O02</i>                 | 53              | 53                     | 46.53                 | 0.8997   |
| <i>O02/O02</i>                 | 22              | 22                     | 24.5025               | 0.2256   |
| <i>O02/O05</i>                 | 1               | 1                      | <i>O02/Ov</i> : 3.465 | 0.6194   |
| <i>O02/O02</i> (T1104G)        | 1               | 1                      |                       |          |
| <i>O01/O02</i> (G489A)         | 1               | 1                      | <i>O01/Ov</i> : 3.29  | 0.8888   |
| <i>O01/O01</i> (A468A)         | 1               | 1                      |                       |          |
| <i>O01O02</i> (T526C)          | 1               | 1                      |                       |          |
| <i>O01/Ov</i> (no206G-, C467T) | 2               | 2                      |                       |          |
| <i>Ov/Ov</i>                   | 0               | 0                      | 0.1225                | 0.1225   |

## 讨论:

迄今为止, 至少有 56 个不同的 O 等位基因已被鉴定。ABO 基因的外显子 6 和外显子 7 编码了 77% 的蛋白质和 91% 的催化活性部分。因此, 有超过 40 个等位基因是根据外显子 6 和外显子 7 序列定义的, 有时包括内含子 6。O 等位基因多样化的机制包括等位基因间交换、核苷酸(nt)缺失、插入和替代。与 A101 等位基因相比, 主要 O 等位基因(O01)在 nt261 处单核苷酸缺失, 导致框架转移, 从而形成不同的氨基酸序列, 并在 nt118 处形成一个终止密码子, 因此 O 等位基因编码截断的、无催化活性的蛋白。另一个主要 O 等位基因(O02)在 O01 基础上有 9 个突变: nt106G>T, 188G>A, 189C>T, 220C>T, 297A>G, 646T>A, 681G>A, 771C>T, 829G>A。另一个 O 等位基因(O03)缺少 G261 缺失, 但有一个突变(G802A), 可能通过改变其糖结合位点使酶失活。大多数 O 型等位基因由等位基因 O01 和 O02 的点突变衍生, 并且在 nt261 处都有鸟嘌呤的缺失。从理论上讲, 任何等位基因发生导致翻译后的蛋白质完全丧失将 N-乙酰半乳糖胺或半乳糖转移到其寡糖受体的能力的点突变, 都会构成 O 型等位基因。研究 O 等位基因多态性具有重要意义。不同的民族有自己的 O 型等位基因遗传特征。研究 ABO 基因中非活性等位基因的高度多样性为阐明该基因的进化和选择在维持人群中该多样性中所起的作用提供了宝贵的机会。最近的数据提供了证据表明, 非缺失的 O 等位基因可以产生可检测到的数量的 A 抗原。O 型表型在中国汉族人群中较为常见, O 型等位基因的发生率为 64%, 但各种 O 型等位基因的分布情况尚不清楚。通过对 100 例中国人 ABO 基因 O 型等位基因的外显子 6 和外显子 7 序列分析, 确定了 5 个新的 O 型等位基因。

所有的 O 等位基因都是根据血型抗原基因突变数据库中描述的非正式命名法命名的。对研究的 100 人进行核苷酸序列分析, 将其分为 8 个基因型。表 1 列出了这些中国汉人的 O 基因型的分布。O 个体的基因型频率处于哈迪-温伯格平衡。在中国人群中发现了 8 个 O 等位基因。93 个个体有两个 O01 或 O02 等位基因。

ABO\*O01 等位基因频率为 0.47, ABO\*O02 等位基因频率为 0.495。1 例个体存在 O05 等位基因, 在 O01 等位基因的基础上存在 nt297G。5 个 O 等位基因不同于目前为止所有已报告的等位基因。其中 4 个等位基因与 O01 等位基因(4 个中的 1 个)或 O02 等位基因(4 个中的 3 个)在 A468G、G489A、T526C 或 T1104G 处有 1 个点突变。第 5 个等位基因与 O01 等位基因不同, 没有 nt261G 缺失但有 C467T 突变。这一新等位基因在河南和湖南的 2 个个体中分别出现。O05 等位基因的相对频率为 0.005, 新 O 等位基因的相对频率为 0.03。

Nt468、489、526 和 1104 突变位于非编码区和 nt352 后, 不影响 O 等位基因的翻译。与其他 O1 等位基因一样, 这些新的等位基因编码截断的、无功能的酶。新的 O 型等位基因的生物学和进化意义有待进一步阐明。

O05 等位基因首次在广东个体中发现, 同时具有 O01 等位基因(G261 缺失)和 B101 等位基因(297G)的序列特征。在本研究中未检测到 O03 等位基因, 有报道该等位基因在其他人群中出现的频率低于 5%。但是在本研究中首次发现了一个新的没有 261G 缺失的 O 等位基因。到目前为止, 在 56 个已报告的 O 等位基因中, 中国人群中只发现 5 个 O 等位基因: O09, O10, O12, O13, O56。该 5 个等位基因都有 nt261G 缺失。在早期的报道中, 在中国没有发现无 nt261G 缺失的 O 等位基因。

所有报道 O 等位基因中, 有 12 个证明没有 nt261G 缺失但存在其他突变。在这 12 个 O 等位基因中, 只有 2 个有 467 C > T 突变。O08 等位基因同时具有 A2 等位基因(C467T 和 C1060 缺失)和 Ael 等位基因(G800 插入)的序列特征。相比 A101 或 A102 (467 C > T), O14 和 O15 等位基因有一个非同义替换, 产生 A1 表型。O19 和 O20 等位基因分别有 A-O02 和 B-O02 的嵌合序列, 从外显子 6 到外显子 7, 其中重组断点在内含子 6 内或附近。

已报道 6 个没有 G261 缺失的 O 等位基因。O48 和 O49 均发生 Gly229Asp(nt G689A), O48 有 Arg217Cys(nt C649T), O49 无 Arg217Cys(nt C649T)。O50 发生 nt488C>T, 导致在氨基酸 163 处苏氨酸(Thr)变为蛋氨酸(Met)。

O51、O52 和 O53 是具有无义突变的 A1 样等位基因, 分别在 nt88、nt322 和 nt542 位上导致过早截断。

在先前研究的中国汉族中, 仅发现 2 个等位基因(即 O01 和 O02); 其频率在 Puttinen 为 0.59 O01 和 0.41 O02, 在 Fujio 为 0.51 O01 和 0.49 O02; 仅发现 3 个基因型: O01/O01、O02/O02 和 O01/O02。我们的数据表明, 除 O01 或 O02 外, 其他等位基因的最大频率为 0.03, 接近报道的 0.033, 但与 Yip 发现的 0.008 的频率不同。

从中国汉族人群中随机选取 100 例 O 表型个体, 在其 ABO 基因座的 O 型等位基因外显子 6 和外显子 7 序

列中，我们发现 2 例无 nt261G 缺失，但 nt467 存在错义突变。nt467 C>T 导致氨基酸 156 位 Pro 变为 Leu。已知该突变对降低酶活性影响不大，因为该多态性存在于 A102 和 A103 等位基因中，而这两种基因在中国人中普遍存在。

结果表明，中国人群 O 表型的分子遗传背景具有异质性。本文报道的 5 种罕见等位基因均为孤立病例。肯定会在中国人身上发现更多的 O 型等位基因。

## 4 《Distribution of ABO Blood Group Allele and Identification of Three Novel Alleles in the Chinese Han Population》

作者: Zhu F, et al

来源: Vox Sang. 2010; 98(4): 554 - 559.

### 摘要:

背景: ABO 血型系统在输血中具有重要的临床意义。ABO 血型的分子特征具有重要的临床和人类学意义。在此,我们确定了 ABO 等位基因的分布,并在中国汉族人群中发现了三个新的等位基因。研究设计和方法:采用标准血清学技术对 417 名中国汉族个体进行 ABO 血型表型检测。采用聚合酶链反应序列分型(PCR-SBT)对 ABO 基因的外显子 6 到 7 进行测序,分析 ABO 基因型和等位基因。用 PCR-SBT 分析 ABO 基因的内含子 5 和 6 的多态性。用 Dynabeads M-270 链亲和素方法分离包括新等位基因的两个单倍型。结果:所有样本的 ABO 基因型与表型一致。根据外显子 6 和 7 的核苷酸序列,共鉴定出 14 个等位基因,包括 5 个常见等位基因(A101、A102、B101、O01、O02)、6 个已知稀有等位基因(A205、B110、O04、O05、O07、O50)和 3 个新等位基因(B112、CisAB06、O61)。这三个新的等位基因出现的频率分别为 0.12%、0.12%和 0.36%。结论:研究了中国汉族人群 ABO 等位基因的频率分布。我们鉴定了 14 个等位基因,包括 3 个新的等位基因。

### 标本来源:

在浙江省血液中心,随机抽取了 417 名志愿献血者的外周血样本。供血者均为汉族。

### 血清学结果:

A 型(121 份, 29.02%), B 型(117 份, 28.06%), O 型(142 份, 34.05%), AB 型(37 份, 8.87%)。

#### ABO 血型基因 DNA 测序结果:

外显子 6~7 直接测序确定的 ABO 基因型与血清学表型一致。

| O 等位基因 | 例数 |
|--------|----|
| O04    | 3  |
| O05    | 2  |
| O07    | 3  |
| O50    | 1  |
| O61    | 3  |

O04、O05、O07 在第 261 位均有一个 G 缺失。O04 比 O01 多了 579 T>C, O05 比 O01 多了 297 A>G。O04 在 3 个杂合个体中被发现, 2 个 A102 / O04 和 1 个 O02 / O04。O05 是在 2 个 O02 / O05 个体中发现的。除核苷酸 721(T>C)外, O07 与 O02 具有相同的序列。O50 是一个无缺失的 O 等位基因, 在一个非典型 O 表型的个体(O01/O50)中发现, 与 A101 相比, 在 297(A > G)、488(C > T)、526(C > G)、802(G > A)和 1096(G > A)处有 5 个碱基取代, 使 4 个氨基酸发生变化(Pro74Ser、Thr163Met、Arg176Gly 和 Gly268Arg)。在 2 个 O 型个体(O01 / O61)和 1 个 B 型个体(B101 / O61)中发现了新的 O 型等位基因 O61。与 O01 相比, 该等位基因在外显子 7 有 743 G>C。

#### 讨论:

O04、O05 和 O07 在许多人群中出现频率较低。O05 曾在中国汉族人群中被描述过一次, 在 100 个 O 型个体中发现。此外, 在我们的研究中, O04 和 O07 在中国汉族人群中首次被报道。不具有 261delG 特征的 O 等位基因通常被称为非缺失型 O 等位基因, 这在所有人群中都非常罕见。在这项研究中发现了一个非缺失的 O 等位基因 O50。虽然非缺失型的 O 等位基因不能导致阅读框移位产生成熟前肽, 但非保守性的氨基酸替代 Gly268Arg 可能使 O50 编码的酶失活, 因为它位于假定的核苷酸糖结合位点。743C > G 首次在外显子 7 中发现。尽管 O61 中的 743C > G 会导致氨基酸替换(Cys248Ser), 但 O61 中的 261 缺失也会导致非功能性酶的产生。

# 5 《中国四川眉山地区汉族人群 ABO 血型分子遗传背景研究》

作者：张嵘

来源：《中国医学科学院输血研究所硕士学位论文》2012 年 5 月

## 摘要：

目的：分析四川眉山地区汉族供血人群 ABO 血型表型及基因型分布情况，了解其 ABO 血型分子遗传背景特点。

方法：四川省眉山市中心血站采集的 500 例随机样本提取基因组 DNA 后，扩增 ABO 基因包含第 6, 7 外显子、部分第 5 内含子、第 6 内含子和部分 3'-UTR 基因片段在内的共计 2488bp 的片段，对产物纯化并进行直接测序，测序结果用软件比对分析后确定其基因型；部分样本进行克隆测序，分离单倍体后确定其基因型。

结果：500 例四川眉山地区汉族人群 ABO 血型表型分布情况：A 型为 157 例，占 31.4%； B 型为 139 例，占 27.8%； O 型为 162 例，占 32.4%； AB 型为 42 例，占 8.4%。表型分布中 O 型最多，其次为 A 型、B 型，AB 型最少。500 例样本中 499 例样本基因型与表型相符，一例样本基因型与表型不符，其表型为 B 型，基因型为 CisAB06/O01。四川眉山地区汉族人群中检测到 35 种基因型，频率大于 1%的基因型为 17 种。500 例样本中共发现 16 种 ABO 等位基因，除去 5 种常见的等位基因 A101, A102, B101, O01 和 O02 外，还检测到 11 种其他等位基因，其中 A 基因 5 种：A104, A105, A106, A201 和 A205； B 基因 2 种：B110 和 Bw03； O 基因 3 种：O05, O07 和 O11； 以及一个罕见等位基因 CisAB06。实验结果显示人群中最常见的等位基因是 O01 (32.8%)，其次是 O02 (22.5%)， A 基因中 A102 频率大于 A101，A105 在四川眉山地区汉族人群中也较为常见。

结论：统计分析了四川眉山地区汉族供血人群 ABO 血型表型和基因型分布情况，并获得该地区汉族人群的 ABO 等位基因多态性数据。四川眉山地区汉族供血人群 ABO 血型表型分布特点符合 ABO 血型在中国的分布特点，即从北向西南方向，B 基因频率逐步下降而 O 基因频率逐步升高；该人群 ABO 等位基因分布与浙江汉族人群无明显差异。

## 标本来源：

采自 2011 年 2 月-5 月四川省眉山市中心血站的随机无偿献血者，经填写资料询问表确认其民族为汉族。所有样本经献血者知情同意后采用 EDTA 抗凝真空采血管采集 5mL 静脉血液。样本总数为 500 例。其中男性 267 例，女性 233 例，年龄在 18~54 岁之间，中位数为 36 岁。

#### 血清学结果:

A 型为 157 例，占 31.4%；B 型为 139 例，占 27.8%；O 型为 162 例，占 32.4%；AB 型为 42 例，占 8.4%。表型分布中 O 型最多，其次为 A 型、B 型，AB 型最少。

#### ABO 血型基因 DNA 测序结果:

全自动核酸测序仪: 3130 genetic analyzer; 3730 genetic analyzer (ABI 公司, 美国); 测序反应试剂盒: Bigdye Terminator V3.1 (ABI 公司, 美国)。通过双向测序反应获得 ABO 基因序列, 与 GenBank 中的 NC\_000009.11 序列进行比对, 确定样本基因型。500 例样本中共发现 16 种 ABO 等位基因, 除去 5 种常见的等位基因 A101, A102, B101, O01 和 O02 外, 还检测到 11 种其他等位基因, 其中 A 基因 5 种: A104, A105, A106, A201 和 A205; B 基因 2 种: B110 和 Bw03; O 基因 3 种: O05, O07 和 O11; 以及一个罕见等位基因 CisAB06。O 等位基因具体例数见下表。

| O 等位基因 | 例数 |
|--------|----|
| O05    | 2  |
| O07    | 2  |
| O11    | 1  |

在 500 例样本中共发现 8 个新等位基因, 其中 5 个为 O 等位基因(暂定义为 Ov1, Ov2, Ov3, Ov4, Ov5), 3 个为 A 等位基因。5 个新的 O 等位基因与 O01 序列相比, 外显子序列完全一致, 仅在内含子区域存在个别碱基的突变, Ov1 基因在第 5 内含子存在 336A>G 碱基突变; Ov2 基因在第 5 内含子存在 336A>G 和 306C>T 碱基突变; Ov3 基因在第 5 内含子存在 520G>A 碱基突变; Ov4 和 Ov5 基因在第 6 内含子上分别存在 861T>C 和 950A>G 碱基突变。

#### 讨论:

四川眉山地区汉族供血人群发现 16 种 ABO 等位基因, A101, A102, B101, O01, O02 是该人群常见的 5 种等位基因。通常以 A101 作为参考序列。O01 与 A101 等位基因编码序列基本一致, O01 基因第 6 外显子 261 位核苷酸 G 缺失, 第 5 内含子存在 336G>A 突变, 第 6 内含子存在 784G>A 突变; O02 基因除 261 位 G 缺失, 还有 297A>G, 646T>A, 681 G>A, 771 C>T 和 829G>A 五个碱基替换, 第 5 内含子测序区域碱基突变

位点如下：306C>T, 450C>A, 527G>A, 第 6 内含子碱基突变位点包括：89T>A, 163T>C, 188G>A, 226C>T, 235C>G, 446A>G, 493T>C, 717G>A, 786A>G, 891A>G, 950A>G, 1011A>G, 1013G>A; O05 等位基因在测序区域内除第 7 外显子外均与 O02 相同, 第 7 外显子与 A101 序列相同, 未检测到突变, O05 与 O02 第 5 和第 6 内含子序列基本相同, O05 第 6 内含子不包含 1011 和 1013 位点的突变; O07 与 O11 等位基因在 O02 基因序列上存在一个碱基替换: O07 为 721 C>T, O11 为 542G>A, O07 和 O11 与 O02 第 5 和第 6 内含子序列相同。以上这些 O 等位基因均存在 261 位碱基 G 缺失, 该碱基缺失引起了阅读框移位, 肽链合成在 117 位氨基酸终止, 产生一条短肽链, 编码的蛋白质无催化结构域, 因此没有糖基转移酶活性。本研究中 O05 和 O07 基因频率与浙江汉族人群中报道的基因频率相似, 杨宝成等也报道了 O05 基因, 提示 O05 和 O07 基因在中国汉族人群较其他罕见 O 基因频率高。本研究首次在中国汉族人群中报道 O11 基因, 德国人群中也有 O11 基因的报道。

## 6 《罕见 B(A)04/O31 亚型 1 例》

作者: 韩斌 冯智慧 刘培燕 王明民

来源: 《中国输血杂志》 2015 年 9 月第 28 卷第 9 期

### 摘要:

目的: 对 1 例血清学定型为 AwB 型的血液标本进行 ABO 基因检测, 探讨其分子遗传学基础。

方法: 采用 PCR-SSP 方法对血清学定型困难的 1 例标本进行 ABO 基因分型, 并对其 ABO 基因第 6、7 外显子扩增后, 进行直接测序及单体型测序, 确定其基因型。

结果: 此例标本血清学表现为 AwB, 红细胞与抗-A 2+凝集, 与抗-B 4+凝集, 与抗-A1 不凝集, 血清中存在抗-A; PCR-SSP 基因分型显示为 B/O1; 直接测序和单体型测序显示: 此例标本其 B 等位基因在第 7 外显子存在 nt640A>G 突变, 其 O 等位基因在第 7 外显子存在 nt529G>A 突变。

结论: 经测序和血清学结果证实, 此例标本为罕见的 B(A)04/O31 亚型。

### 标本来源:

标本来源于青岛市一医院, 于 2014 年 10 月送检, 女, 26 岁, 汉族。

### 血清学结果:

**表 1 血清学检测结果**

| 效价 | 正定型(试剂) |     |                  |      |     | 正定型(人源) |     | 反定型              |                  |    |    |
|----|---------|-----|------------------|------|-----|---------|-----|------------------|------------------|----|----|
|    | 抗-A     | 抗-B | 抗-A <sub>1</sub> | 抗-AB | 抗-H | 抗-A     | 抗-B | A <sub>1</sub> c | A <sub>2</sub> c | Bc | Oc |
|    | 2+      | 4+  | 0                | 4+   | 4+  | 2+      | 4+  | 3+               | 1+               | 0  | 0  |

**PCR-SSP 检测结果:**

使用 ABO 基因分型试剂盒(Readygene)检测此标本为 B/O1 杂合基因型。

**直接测序分析:**

使用 3100-Avant 型全自动 DNA 序列分析仪(美国 ABI)。此标本在 Exon6 表现为 261G/del 杂合, 在 Exon7 表现为 526C/G、529G/A、640A/G、646A/T、657C/T、681A/G、703G/A、771C/T、796C/A、803G/C、829A/G、930G/A、1096G/A 杂合。与 B101/O102 标准序列比对, 发现其分别在 529 位核苷酸发生 G>A 的单碱基突变, 以及在 640 位核苷酸发生 A>G 的单碱基突变。

**ABO 第 6、7 外显子单体型测序结果:**

此标本 1 条单体型序列与 B101 比对, 发现其在第 640 位碱基存在 A>G 的突变; 另外 1 条单体型序列与 O102 比对, 发现其在第 529 位碱基存在 G>A 突变。经检索基因突变数据库, 此标本基因型为罕见的 B(A)04/O31 型。

**讨论:**

在临床中, 会遇到一些抗原性较弱的 ABO 亚型或变异型, 在血清学试验中表现为红细胞 A 或/和 B 抗原弱表达, 同时血清中可能会存在弱的抗体。这些亚型虽然罕见, 但会给临床血型鉴定及交叉配血带来困难。近期我们对本实验室收集的 ABO 正、反定型不符标本进行了筛选和鉴定, 对其中 1 例疑似 B(A)型标本进行了进一步分子生物学研究, 证实其 2 条单体型序列分别为 B(A)04 及 O31, 其中 O31 在国内属首次报道。O31 型是 1 种比 B(A)更为罕见的 ABO 亚型, 国内目前未曾有报道, 在国际上由 Francis Roubinet 等于 2001 年首次报道。O1 等位基因在第 6 外显子 nt261 位发生单碱基 G 缺失, 导致阅读框移位, 在 nt353、354、355 位提前产生终止密码子, 肽链的合成于 118 位氨基酸终止。此例标本 O 基因与 O102 相比在 nt529 位发生单碱基突变 G>A, 同时此例标本的 B(A)04 等位基因上不存在 nt529 处的碱基突变。由于肽链的合成于 118 位氨基酸终止, 因此 nt529 位的 G>A 不会改变糖基转移酶的无催化功能性质。至于在 A 和 B 基因中是否存在

nt529 位的碱基突变及有无生物学意义，尚需在实践中进一步发现与研究。

## 7《PCR 测序技术在 ABO 亚型鉴定和丙酮酸激酶缺乏症诊断中的应用》

作者：李慧敏

来源：《上海交通大学硕士学位论文》2015 年 5 月

### 摘要：

ABO 血型系统是临床输血医学和移植医学中最重要的血型系统，ABO 血型的各种亚型造成临床血型鉴定困难，某些情况下可能使患者无法及时接受输血治疗或器官移植，延误治疗时机，甚至严重威胁患者生命。丙酮酸激酶缺乏症是一种常见的红细胞酶缺陷性疾病，主要引起慢性非球形红细胞溶血性贫血，为常染色体隐性遗传。PCR 测序采用传统的 Sanger 测序法，其本身所具有的准确性高、易于标准化操作等优点使其被广泛的应用于临床检验诊断，大大提高了诊断的特异性和灵敏度。本研究主要是通过 PCR 测序技术对临床工作中遇到的 ABO 血型系统亚型及单基因遗传病给予基因诊断。通过收集先证者临床信息，对先证者临床表型进行分析，收集患者外周血进行 DNA 的提取，设计引物进行 PCR 扩增、测序，进而利用生物信息学软件对先证者基因型进行分析，实现 PCR 技术在临床检验诊断中的应用。在对一例 B(A)亚型的研究中，发现该患者 ABO 基因存在多个变异，其第 6 外显子区存在 261del 和 c.297A>G 二处杂合变异，第 7 外显子区存在 c.526C>G、c.640A>G、c.646T>A、c.657C>T、c.681G>A、c.703G>A、c.771C>T、c.796C>T、c.803G>C、c.829G>A、c.930G>A 十一处杂合变异，以 A101 等位基因为标准序列进行比较，对照 Blood Group Antigen Gene Mutation Database 进行 ABO 等位基因突变分析，判断患者血型为 B(A)04/O06 血型。在对一例丙酮酸激酶缺乏症的研究中，发现先证者 PKLR 基因的 7 号外显子和 9 号外显子分别存在 c.941T>C 和 c.1183G>C 的复合杂合突变，先证者父亲和姐姐均为 c.1183G>C 杂合突变，先证者母亲为 c.941T>C 杂合突变，蛋白分析预测软件表明两个突变均引起蛋白结构的改变及酶活力的降低。

### 标本来源：

患者女，8 月龄，拟手术入上海儿童医学中心儿外科，术前血型血清学检查发现 ABO 血型正反定型不符。患者血培养阴性，输血相关传染病指标检查均阴性。采集患者静脉血标本，以 0.109mol/L 柠檬酸钠 1:9 抗

凝。用于抽提 DNA，-80℃冻存。

### 血清学结果:

试管法中，患者红细胞与单克隆抗 A 抗体反应呈现阳性(++)，与人源抗 A 抗体反应呈现阳性(++)，与单克隆抗 B 抗体反应为强阳性(++++)，与人源抗 B 抗体反应为强阳性，与单克隆抗 H 抗体反应为强阳性(++++)，见表 6。同时将 O 细胞，B 细胞与单克隆抗 H 抗体反应作为对照，结果分别为强阳性(++++)和阳性(++)。

表 6.患儿的血型血清学试验结果  
Table 6.The serological test results for patient's blood type

| 方法              | 单克隆抗 A | 单克隆抗 B | 人源抗 A | 人源抗 B | 单克隆抗 H | A1 细胞 | B 细胞 | O 细胞 | 直接抗球蛋白 | 间接抗球蛋白 |
|-----------------|--------|--------|-------|-------|--------|-------|------|------|--------|--------|
| 试管法             | ++     | ++++   | ++    | ++++  | ++++   | ++    | -    | -    | -      | -      |
| 微柱凝集法           | ++     | ++++   | /     | /     | /      | ++    | -    | -    | -      | -      |
| 正常 AB 型对照 (试管法) | ++++   | ++++   | ++++  | ++++  | +      | -     | -    | -    | -      | -      |

注: +示阳性; -示阴性; /示未做此实验

### ABO 血型基因 DNA 测序结果:

使用 ABI 3730 DNA 测序仪。对患儿 DNA 的第 6、7 外显子及其侧翼序列进行基因测序，并进行 PCR 产物的克隆与测序，其结果与 Blood Group Antigen Gene Mutation Database 进行比较。以 A101 为标准序列，发现存在以下碱基位点的杂合突变及多态性，见表 7。由于 6 号外显子存在移码突变，故同时将其进行反向测序。通过 ABO 基因第 6、7 外显子序列分析最终确定其基因型为 B(A)04/O06。并通过 PCR 产物的克隆测序发现多态性位点 261del、c.646T>A、c.681G>A、c.771C>T、c.829G>A 位于同一等位基因，多态性位点 c.297A>G、c.526C>G、c.657C>T、c.703G>A、c.796C>T、c.803G>C、c.930G>A 及突变位点 c.640A>G 位于同一等位基因。

表 7. E6 和 E7 中的变异位点

Table 7. The mutation sites of exon 6 and exon 7

| 外显子 | 碱基突变位点    | 氨基酸改变       | 等位基因   |
|-----|-----------|-------------|--------|
| E6  | c.261delG | frame-shift | O06    |
| E6  | c.297A>G  | no change   | B(A)04 |
| E7  | c.526C>G  | p.C175W     | B(A)04 |
| E7  | c.640A>G  | p.M214V     | B(A)04 |
| E7  | c.646T>A  | p.F216I     | O06    |
| E7  | c.657C>T  | no change   | B(A)04 |
| E7  | c.681G>A  | no change   | O06    |
| E7  | c.703G>A  | p.G235S     | B(A)04 |
| E7  | c.771C>T  | no change   | O06    |
| E7  | c.796C>A  | p.L266M     | B(A)04 |
| E7  | c.803G>C  | c.G268A     | B(A)04 |
| E7  | c.829G>A  | p.V277M     | O06    |
| E7  | c.930G>A  | no change   | B(A)04 |

#### 讨论:

ABO 血型存在三个等位基因, 分别是 A、B 和 O, 包含长度不等的 7 个外显子和 6 个内含子。其中该基因的第 6 和第 7 外显子包括了 77% 的基因编码序列, 也包括了 91% 的糖基转移酶催化区域序列。ABO 血型亚型的出现主要是由于糖基转移酶基因第 6 和第 7 外显子基因位点发生了突变, 减低或改变了酶的活性, 导致红细胞上表达的 A 或 B 抗原的种类或数量发生改变, 血型血清学正反定型不符。目前也有文献报道, ABO 基因的第一内含子内部有一个红细胞特异的调控原件, 被命名为+5.8-kb 位点, 位于距离转录起始位点+5653 到+6154 之间, 该位点的活性调节依赖于与转录因子 GATA-1/2 的结合, 当该位点发生碱基突变或缺失时, 这些突变会下调来自于 B-和 A-等位基因的转录, 导致 B-和 A-抗原的弱表达, 产生 B-和 A-亚型。另有文献报道, ABO 基因上游启动子的一段碱基缺失(-35\_-18del)与 ABO 亚型有关, 该文献作者认为可能是由于启动子的碱基缺失影响到转录因子与其结合, 使启动子的转录活性降低, 进而影响到糖基转移酶的活性。

本例报道的为 B(A)04/O06 亚型, 理论上 B(A)血型个体绝大多数基因型应该是 B(A)/O 的杂合型, 但亦出现过 B(A)/A1 型的报道。而 B/B 纯合型也有过报道, 为同时具有 B(A)02 型等位基因和 B101 型等位基因, 可能表达部分正常的 B 型抗原并同时具有一些 B(A)血型特征。

ABO 血型系统是临床输血医学和移植医学中最重要的血型系统, ABO 血型的各种亚型造成临床血型鉴定困难, 某些情况下可能使患者无法及时进行输血治疗或器官移植, 延误治疗时机, 甚至严重威胁患者生命。

近年来，血型基因分型技术作为一种分子诊断技术，是在分子生物学技术的快速发展中建立起来的，与血型血清学实验相比，它具有很多的优点和长处，其优势主要体现在不受血清中自身抗体、不规则抗体的影响；其次，不受受检者自身所患疾病的影响。当遇到临床血清学血型鉴定困难时，血型基因分型的快速性和准确性更使其可以作为解决这类问题的首选方法。因此，基因分型法具有血清学无法比拟及不可替代的优势。

## 8 《Molecular Genetic Analysis for the para-Bombay Blood Group Revealing Two Novel Alleles in the FUT1 Gene》

作者：Xiao-Hong Cai, Sha Jin, Xi Liu, Liang-Feng Fan, Qiong Lu, Dong Xiang

来源：Blood Transfus. 2011;9(4):466 - 468.

### 标本来源：

将 17 个无血缘关系的类孟买表型的中国人和 100 个随机选择的中国人的静脉血标本收集到干试管和含有 3.2%柠檬酸三钠的试管中。

### 血清学结果：

17 名类孟买型个体的血清学特征：首先，无法检测到红细胞上的 H 抗原，红细胞上的 A/B 抗原明显减少(大多数个体红细胞上的 A/B 抗原仅能通过吸收放散法检测出)；其次，通过 Le (a - b+)血型或唾液中存在的 ABH 物质证明是分泌型；第三，类孟买个体血清均含有抗 H。

### PCR-SSP 检测结果：

使用 Ready Gene ABO SSP kit (Inno-Train GmbH, Kronberg, Germany)。

**Table I** - Phenotypes and genotypes of 17 Chinese para-Bombay individuals.

| No. | Haemagglutination |    |   |       | Absorption-elution |   | Anti-H in serum | Phenotypes *                                       | Genotypes |                              |   |
|-----|-------------------|----|---|-------|--------------------|---|-----------------|--|-----------|------------------------------|---|
|     | A                 | B  | H | Lewis | A                  | B |                 |  | ABO       | FUT1                         | FUT2  |
| 1   | -                 | -  | - | a-b-  | -                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>B</sup> -secretor <sup>#</sup> | O'B       | FUT1 547delAG/FUT1 547delAG  | Se <sup>357</sup> Se <sup>357</sup>         |
| 2   | -                 | -  | - | a-b+  | -                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>B</sup> -secretor              | O'B       | FUT1 547delAG/FUT1 547delAG  | Se <sup>357</sup> Se <sup>357</sup>         |
| 3   | -                 | -  | - | a-b+  | +                  | - | +               | O <sub>h</sub> <sup>A</sup> -secretor              | O'A       | FUT1 547delAG/FUT1 547delAG  | Se <sup>357</sup> Se <sup>357</sup>         |
| 4   | -                 | -  | - | a-b+  | -                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>B</sup> -secretor              | O'B       | FUT1 547delAG/FUT1 547delAG  | Se <sup>357</sup> Se <sup>357</sup>         |
| 5   | -                 | -  | - | a-b+  | -                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>B</sup> -secretor              | O'B       | FUT1 547delAG/FUT1 880delTT  | Se <sup>357</sup> ,Se <sup>357,716</sup>    |
| 6   | -                 | -  | - | a-b+  | +                  | - | +               | O <sub>h</sub> <sup>A</sup> -secretor              | AA        | FUT1 547delAG/FUT1 880delTT  | Se <sup>357</sup> Se <sup>357,716</sup>     |
| 7   | -                 | -  | - | a-b+  | -                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>B</sup> -secretor              | O'B       | FUT1 547delAG/FUT1 880delTT  | Se <sup>357</sup> Se <sup>357,716</sup>     |
| 8   | -                 | -  | - | a-b+  | +                  | - | +               | O <sub>h</sub> <sup>A</sup> -secretor              | O'A       | FUT1 547delAG/FUT1 880delTT  | Se <sup>357</sup> ,Se <sup>357,716</sup>    |
| 9   | -                 | -  | - | a-b+  | +                  | - | +               | O <sub>h</sub> <sup>A</sup> -secretor              | O'A       | FUT1 547delAG/FUT1 880delTT  | Se <sup>357</sup> ,Se <sup>357,716</sup>    |
| 10  | -                 | -  | - | a-b+  | -                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>B</sup> -secretor              | O'B       | FUT1 547delAG/FUT1 880delTT  | Se <sup>357</sup> Se <sup>357,716</sup>     |
| 11  | -                 | -  | - | a-b+  | -                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>B</sup> -secretor              | O'B       | FUT1 547delAG/FUT1 658T      | Se <sup>357</sup> Se <sup>357</sup>         |
| 12  | 1+                | 2+ | - | a-b+  | +                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>AB</sup> -secretor             | AB        | FUT1 547delAG/FUT1 649T      | Se <sup>357</sup> Se                        |
| 13  | -                 | -  | - | a-b+  | +                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>AB</sup> -secretor             | AB        | FUT1 547delAG/FUT1 35T, 423A | Se <sup>357</sup> Se <sup>357,385</sup>     |
| 14  | -                 | -  | - | a-b+  | +                  | - | +               | O <sub>h</sub> <sup>A</sup> -secretor              | O'A       | FUT1 880delTT/FUT1 880delTT  | Se <sup>357,716</sup> Se <sup>357,716</sup> |
| 15  | -                 | -  | - | a-b+  | +                  | - | +               | O <sub>h</sub> <sup>A</sup> -secretor              | O'A       | FUT1 880delTT/FUT1 880delTT  | Se <sup>357,716</sup> Se <sup>357,716</sup> |
| 16  | -                 | -  | - | a-b+  | -                  | + | +               | O <sub>h</sub> <sup>B</sup> -secretor              | O'B       | FUT1 658T/FUT1 658T          | Se <sup>357</sup> Se <sup>357</sup>         |
| 17  | 1+                | -  | - | a-b+  | +                  | - | +               | O <sub>h</sub> <sup>A</sup> -secretor              | O'A       | FUT1 649T/FUT1 293           | Se <sup>357</sup> Se <sup>357,385</sup>     |

-: absent; +: present; 1+ to 4+: present according to forward typing agglutination strength with monoclonal antisera; \*: ABO phenotypes were determined by adsorption and elution tests; #: B/H substances were detected in the saliva sample of n. 410.

### DNA 测序结果:

使用 ABI 377 sequencer (Applied Biosystems, CA, USA)对整个 FUT1 编码区进行 DNA 直接测序和 TA 克隆,发现了两个新的等位基因: FUT1 649T (649G>T, V217F, GenBank N. GQ336988)和 FUT1 35T, 423A (35C>T, A12V; 423G>A, W141X, GenBank N. HQ699894), 还发现 4 个先前报道的缺陷型 FUT1 等位基因: FUT1 547delAG、FUT1 880delTT、FUT1 658T、FUT1 293T。通过 DNA 测序分析,这两种新的突变并没有在 100 个随机的中国人中被发现,这说明它们是突变,而不是中国人常见的单核苷酸多态性。本研究共检测到 4 个 FUT2 等位基因:Se、Se357、Se357,716 和 se357,385。

### 讨论:

H 抗原是红细胞上 A、B 抗原的前体。ABO 基因决定 A 和 B 抗原,而 $\alpha$ -(1,2)-岩藻糖基转移酶基因 FUT1

(或 H)和 FUT2 (Se)决定 H 抗原。在类孟买血型中，红细胞不表达 ABH 抗原，但唾液中存在 ABH 物质。类孟买型的产生可能是由于一个无活性 FUT1 基因与一个正常的 FUT2 基因同时存在，或者是由于一个突变的 FUT1 基因与或不与一个活性 FUT2 基因同时存在。在本研究中，我们报道了 17 个类孟买基因型，在其中发现两个新的 FUT1 突变。因此，截至 2011 年 2 月，已经发现 39 个 FUT1 非功能等位基因影响该酶的活性，包括这里报道的 2 个。

Se357 和 se357,385 等位基因在亚洲人群中很常见。在我们的研究中，Se357,716 等位基因仅与 FUT1 880delTT 等位基因一起被发现，在中国东南部类孟买个体中也有发现。FUT2 基因分析结果与受试者的分泌状态一致。

G649T 突变导致 Val217Phe。引入 Phe 的突变通过引起正常氨基酸和突变氨基酸之间的体积差异来扰乱多肽链的结构。Val217 在不同物种的 FUT1 酶中高度保守，这可能意味着 Val217 对 FUT1 酶的表达和/或活性至关重要。然而，值得注意的是，只有在发现 FUT1 649T 等位基因时，才能通过直接凝集检测到红细胞上的 AB 抗原，这可能意味着 FUT1 649T 中 V217F 的替换对 H 酶的影响要小于 FUT1 658T 中 R220C 的替换。在 FUT1 35T, 423A 等位基因中，35C>T 替换是中国人群中一个单核苷酸多态性，而 423G>A 突变可能通过促进相应 mRNA 的选择性降解而导致 H 的缺失。除了 G>A 突变发生在核苷酸 422 处外，之前有报道称终止密码子位于 1412 处。我们推测，核苷酸 422-423 的位置可能是 H 基因突变的热点。

总之，我们在类孟买个体中发现了两个新的非功能性 FUT1 等位基因(FUT1 649T 和 FUT1 35T, 423A)。423G>A 突变沉默 H 基因，649G>T 突变通过氨基酸替换 V217F 影响编码的 2- $\alpha$ -岩藻糖基转移酶的效率。

## 9 《类孟买血型鉴定 1 例》

作者：林杰 蔡晓红 范亮峰

来源：《中国输血杂志》 2012 年 06 月第 25 卷第 06 期

### 标本来源：

患者，女，32 岁，汉族，籍贯上海，无输血史，无药物史。系上海国妇婴保健院妇产科患者，P1G0，怀孕 18 周到医院检查，检测血型时发现 ABO 血型正反定型结果不符，遂于 2011 年 6 月送至上海市血液中心做进一步鉴定。

血清学结果:

(1) ABO 正反定型

表 1 患者 ABO 正反定型结果

|    | 正定型 |     |      |     | 反定型 |    |    |      |
|----|-----|-----|------|-----|-----|----|----|------|
|    | 抗-A | 抗-B | 抗-AB | 抗-H | Ac  | Bc | Oc | 自身 c |
| 效价 | 0   | 0   | 0    | 0   | 4+  | 0  | 0  | 0    |

(2) 吸收放散试验

1)患者红细胞吸收放散试验: 取患者和随机混合 3 人份 O 型浓缩红细胞各 2ml(Oc 在此作为对照), 分别加入源抗-B 试剂 2ml 混合, 4℃吸收 30min, 然后冰盐水洗 6 次再 56℃热放散, 以检测放散液中的 ABO 系统抗体。

2)患者血清吸收放散试验: 取患者血清 1ml。与 1 人份混合 O 型浓缩红细胞 1ml 混合, 4℃吸收 30min, 然后冰盐水洗 6 次再 56℃热放散, 分别检测吸收上清液、细胞放散液中的 ABO 系统抗体。结果确定该红细胞上存在 B 抗原。O 型细胞与患者血清的吸收放散试验中, 放散液与 Bc、Oc、脐血 Oc 分别反应的格局符合抗-HI 的特点, 见表 2。

表 2 患者红细胞和血清的吸收放散试验结果

|         |           | 患者红细胞 + 抗-B |             | 患者血清 + O 型细胞 |          |
|---------|-----------|-------------|-------------|--------------|----------|
|         |           | 患者红细胞放散液    | Oc 放散液 (对照) | Oc 吸收上清液     | Oc 吸收放散液 |
| Bc      | 室温        | 2+          | 0           | 0            | 0        |
|         | 4℃ 10 min | 3+          | 0           | 0            | 0        |
| Oc      | 室温        | /           | /           | 0            | 0        |
|         | 4℃ 10 min | /           | /           | 0            | 1+       |
| Oc (脐血) | 室温        | /           | /           | 0            | 0        |
|         | 4℃ 10 min | /           | /           | 0            | 0        |

(3) 患者 Lewis 血型鉴定

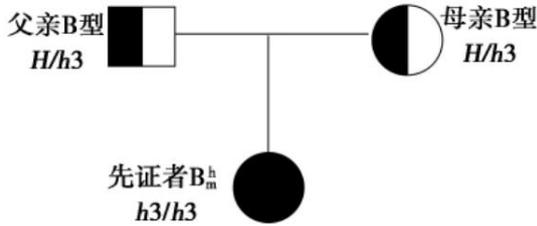
测定结果为 Le(a-b+), 证明患者为分泌型。

FUT1(H)基因的测序分析:

患者 FUT1 基因编码序列 658C→T 错义突变, 即 nt658 CGC>TGC, 使精氨酸(Arg)→半胱氨酸(Cys)。根据上述结果, 确定患者血型为 Bhm。

### 家系调查:

经 ABO 血型鉴定, 该先证者父亲和母亲都为 B 型, 且是同样的杂合子(H/h3), 此患者类孟买血型 B<sub>h</sub><sup>m</sup> 是由于分别从父母处遗传得到 h3 基因所致。



注:全黑表示 h 基因纯合,半黑表示 H/h 基因杂合

图 2 先证者家系调查

### 讨论:

我们对上海国妇婴保健院 ABO 定型困难而送检的孕妇血样进行了 ABO 血型鉴定, 发现其为类孟买血型(B<sub>h</sub><sup>m</sup>), 并对其做了进一步的血清学、基因测序及家系调查。

H 抗原缺乏血型在不同人群中的分布差异较大, 总体上东方人的出现频率要比西方人高。中国台湾地区类孟买血型的比例大约为 1:8000~1:10000, 香港地区为 1:15620。据池泉等报道, 福建与台湾地区相似, 具有较高的类孟买血型频率, 但其他省份大规模筛查的数据尚未见到。本例患者是类孟买型(B<sub>h</sub><sup>m</sup>), 其为 1 类罕见的红细胞血型, 属于 Hh 血型系统, 其主要特征为, 红细胞 H 抗原全部或部分缺失, 而分泌液中可能存在或不存在 H 抗原。

本患者的特点是 B 抗原极弱, 通过吸收放散试验才被检出; 抗-HI 也极弱, 只在 4℃ 的情况下出现弱反应。以往报道的类孟买型, 虽然 A 或 B 抗原大幅度减弱, 但均可以用正定型检出。B<sub>h</sub><sup>m</sup> 型红细胞上的微量 B 抗原被认为是来自于血清中糖脂类血型物质的吸附。据报道, 类孟买血型个体即 H 缺陷的分泌型(hh, SE), 其 Lewis 血型表现为 Le(a-b+)或者 Le(a-b-), 而不会表现为 Le(a+b-)。当 SE 位点为 Sew 时, 则表现为 Le(a+b+)。本患者由于标本来源限制, 未对其唾液等分泌物检测血型物质, 但检测其 Lewis 血型结果为 Le(a-b+), 可反证其为分泌型个体。

类孟买型是由于 FUT1 基因突变所引起, 目前发现的类孟买型个体 FUT1 基因突变有 26 种。有报道, H 缺陷型红细胞多数为某 1 种突变的纯合子, 也有部份为 2 种不同突变的杂合状态。本例个体为 FUT1 基因编码序列 658C→T 突变, 导致精氨酸(Arg)→半胱氨酸(Cys), 属错义突变。突变后所形成 H 位点的隐性基

因为已报道的 h3 基因，基因型为 h3h3 纯合子。

有文献报道，和其它由稀有隐性基因纯合子所形成的表现型一样，H 缺乏表现型个体的父母常常有很近的亲缘关系。我们调查得知，本例先证者父母是姨表兄妹，属近亲结婚。父母的血型都是正常的 B 型，但都携带有 h3 基因，因此先证者的 B<sub>h</sub>m 是分别从父母处遗传到 h3 基因而形成的纯合子 h3h3 基因型，以致红细胞表面 H 抗原不能形成或缺乏，进而无法使 B 基因产物转变成 B 抗原。

#### **输血策略：**

由于类孟买血型属于罕见血型，不仅存在相对应的抗-A 或抗-B，通常还存在抗-H 或抗-HI，有的 37℃ 还有活性。向东等认为当类孟买型患者需要输血时，ABO 血型的选择应考虑到患者抗-A、-B、-H 的实际情况，即选择 37℃ 与患者血清反应最弱的 ABO 血型进行输血。本例患者抗-HI 很弱，且在 37℃ 没有活性，如果要输血应该可以输注 B 型或 O 型红细胞，但也要选择与患者血清反应最弱的进行输注。我们认为如果有条件的话，此类患者最好选择 H 抗原缺乏的自体输血或者同型输血。

## **10 《FUT1 基因突变个体的表型及分子遗传学研究》**

作者：何保仁 申卫东 莫秋红 杨亚丽 刘学军 李恒聪

来源：《广西医学》2013 年 1 月第 35 卷第 1 期

#### **摘要：**

目的：研究 FUT1 基因突变的分子生物学基础。

方法：通过常规血清学方法和基因分型方法检测先证者及其家系成员的红细胞血型，用 PCR 方法扩增 FUT1 基因并测序，测序结果与参考序列(GeneBank: Z69587)比对分析。

结果：测序结果显示，先证者为 FUT1 基因 C658T 纯合突变，先证者的父母、姐姐和儿子为杂合突变，妻子和妹妹无突变。

结论：FUT1 基因 C658T 突变是导致 H 抗原缺失的原因之一。

#### **标本来源：**

在征得先证者及其家属同意后，采集先证者及其父母、姐姐、妹妹、妻子和儿子等 7 人的静脉血，每人 5ml，5%的 EDTA 抗凝。

### ABO 血型检测结果:

先证者的红细胞与抗 B、抗 H 做吸收试验, 其放散液与 Bc、Oc 均不反应。

唾液血型物质测定: 先证者及其父母、姐妹均为分泌型, 唾液中分泌 B 物质, 不分泌 H 物质。

先证者的血型正反定型不符, 基因分型为 B 型, 其妻子为 O 型, 其他人的血型为 B 型。见表 1。

通过 ABO 血型基因分型试剂盒(美国 G&T 公司)检测 ABO 基因型。

表 1 ABO 血型检测结果

| 姓名  | 正定型 |     |      |     |                   |                   | 反定型 |    |    |     | 基因型 |
|-----|-----|-----|------|-----|-------------------|-------------------|-----|----|----|-----|-----|
|     | 抗 A | 抗 B | 抗 AB | 抗 H | 抗 L <sup>ca</sup> | 抗 L <sup>cb</sup> | Ac  | Bc | Oc | 自 c |     |
| 先证者 | -   | -   | -    | -   | -                 | 3+                | 3+  | -  | -  | -   | O/B |
| 妻子  | -   | -   | -    | 3+  | 2+                | -                 | 4+  | 4+ | -  | -   | O/O |
| 儿子  | -   | 3+  | 4+   | W+  | 1+                | 1+                | 未测  | 未测 | 未测 | 未测  | O/B |
| 父亲  | -   | 4+  | 4+   | 1+  | -                 | 3+                | 4+  | -  | -  | -   | O/B |
| 母亲  | -   | 4+  | 4+   | W+  | -                 | 3+                | 4+  | -  | -  | -   | O/B |
| 姐姐  | -   | 4+  | 4+   | 1+  | -                 | 3+                | 4+  | -  | -  | -   | O/B |
| 妹妹  | -   | 4+  | 4+   | 1+  | 2+                | 1+                | 4+  | -  | -  | -   | O/B |

### FUT1 基因测序结果:

用 BigDye 3.1 sequencing Kit 试剂盒(美国 ABI 公司)进行正反方向测序。对 7 个样本的 PCR 产物测序结果显示, 先证者、其父母、姐姐和儿子等 5 个样本的 FUT1 基因的 658 碱基位点发生 C>T 突变, 其中先证者为纯合子, 其父母、姐姐和儿子为杂合子, 妻子和妹妹无突变。

### 讨论:

FUT1 基因(又称 H 基因)编码 365 个氨基酸组成的 $\alpha(1,2)$ 岩藻糖基转移酶, 使岩藻糖与前身物质支链末端的半乳糖相连接形成 H 抗原。FUT1 缺陷被认为是引起孟买和类孟买型的主要分子机理。从 1994 年 Kelly 等首次证实类孟买型是由于 FUT1 基因突变引起, 至今已报告与红细胞上 H 抗原缺陷有关的突变有近 43 种, 包括错义、缺失和插入突变等。笔者在新生儿溶血检测实验中发现 1 例孩子的父亲(先证者)血型正反定型不符的病例, 进一步测序分析发现是由于 FUT1 基因的 658 位点突变引起。

FUT1 基因全长 7 380bp, 位于 19 号染色体长臂上, 有 4 个外显子, 编码蛋白的序列位于第 4 个外显子, 由 1 098 个碱基组成。FUT1 基因编码的 365 个氨基酸组成 $\alpha(1,2)$ 岩藻糖基转移酶, 将岩藻糖基连接到前体核心糖链支链末端的半乳糖上, 形成 H 抗原。H 抗原与 ABO 血型关系密切, 是 A 和 B 抗原的前身物质, N-乙酰半乳糖胺基转移酶或半乳糖基转移酶进一步将 N-乙酰半乳糖胺基或半乳糖基连接到 H 抗原末端  $\beta$ -半乳糖上分别形成 A 或 B 血型抗原。本病例中, 先证者的血型正反定型不符是由于 FUT1 基因 C658T 错义突

变引起红细胞 H 抗原缺失, 该突变将导致第 220 位精氨酸(Arg)→半胱氨酸(Cys), 推测 220 位氨基酸的取代可能导致蛋白功能的改变, 降低岩藻糖基转移酶的生物活性。国内上海、浙江、福建、云南等地均有发现 FUT1 基因 C658T 突变的报告, 但在广西尚属首次。经咨询得知先证者一家均为壮族, 提示广西壮人群和中国其他地区人群的 FUT1 基因可能有相似的遗传突变特征。

H 抗原缺陷型在人群中比较罕见, 其血清学表现与经典的 ABO 血型有很大差异, 使其在临床输血前检查时常常造成定型困难, 不容易找到相合的血液, 因此建立相应的冰冻红细胞制品以及献血者资料的建档和共享具有十分重要的临床意义。对壮族人群中的 H 抗原缺陷型进行分子生物学的系统研究, 有助于阐明 H 抗原和相应的 FUT1 基因的分子基础及遗传异质性, 对我国壮族人群血型基因结构和特征的了解, 以及在输血医学、人类学和法医学等领域的应用, 具有重要的意义。

## 11 《类孟买血型的鉴定及输血对策探讨》

作者: 陈萍 沈雨青 张水木

来源: 《临床血液学杂志》2016 年 29 卷 6 期

### 标本来源:

患者, 男, 34 岁, 慢性乙型肝炎患者。血型鉴定时发现正反定型不符, 遂进一步补充血清学试验加以鉴定。

### 血清学结果:

#### (1) ABO 正反定型、RH 血型及不规则抗体筛查

患者 ABO 正反定型不符, 正定型为 O 型, H 抗原阴性; 反定型抗 A 凝集强度 4+, 抗 B<2+, 不规则抗体筛查 I、II、III 组细胞均阳性见表 1。

表 1 ABO 正反定型、RH 血型及不规则抗体筛查

| 温度/℃ | 正定型 |     |     |     | 反定型 |     |    |      | 不规则抗体筛查 |      |       |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|------|---------|------|-------|
|      | 抗 A | 抗 B | 抗 D | 抗 H | Ac  | Bc  | Oc | 自身 c | I c     | II c | III c |
| 4    | 0   | 0   | 4+  | 0   | 4+  | 2+  | 3+ | +    | 3+      | 3+   | 3+    |
| 22   | 0   | 0   | 4+  | 0   | 4+  | 1+  | 2+ | 0    | 2+      | 2+   | 2+    |
| 37   | 0   | 0   | 4+  | 0   | 4+  | +/- | 1+ | 0    | 1+      | 1+   | 1+    |

#### (2) 吸收放散试验

患者红细胞与人源抗 B 血清的吸收放散液与 B 型标准红细胞在 4℃ 集强度 2+, 22℃、37℃ 凝集强度 1+。与

人源抗 A 血清的吸收放散液与 A 型标准红细胞无凝集。

(3) 唾液 ABH 血型物质鉴定

患者唾液中检出 B 血型物质、H 血型物质，未检出 A 物质。

(4) Lewis 血型测定

Lewis 血型为 Lewis(a-b+)、分泌型。

**血型基因结果：**

送上海血液中心血型参比室鉴定 FUT1 基因型和 Se 血型基因。FUT1 基因型是 h2 纯合子、Se 基因型是 Se357 纯合子。

**抗 H 试剂体外溶血试验：**

抗 H 试剂（效价 32）倍比稀释分别与 3 个 O 型献血员混合红细胞孵育 4h 后 2 倍、4 倍稀释管肉眼可见溶血，18h 后 6 个稀释管均发生不同程度溶血，溶血程度随稀释倍数增高而递减，见表 2。

表 2 抗 H 试剂体外溶血试验

|              | 抗 H 抗血清稀释度 |      |      |      |      |      | 阳性 | 阴性  |
|--------------|------------|------|------|------|------|------|----|-----|
|              | 2          | 4    | 8    | 16   | 32   | 64   | 对照 | 对照  |
| 与 O 细胞凝集强度   | 4+         | 3+   | 2+   | +    | +/-  | 0    |    |     |
| 肉眼观察体外溶血试验结果 | 重度溶血       | 重度溶血 | 轻度溶血 | 轻度溶血 | 轻度溶血 | 轻度溶血 | 溶血 | 无溶血 |

**讨论：**

类孟买血型是罕见的稀有血型，东方人出现频率比西方人高，中国台湾地区类孟买的比例约为 1/8000，香港地区为 1/15620，泰国频率为 1/5000。本例患者红细胞上未检出 H 抗原，通过吸收放散试验证实有 B 抗原，唾液中检出 B 物质、H 物质，Lewis 血型为 Le(a-b+)可证实为分泌型，符合类孟买 Bh 分泌型血清学特点，上海血液中心血型参比室鉴定其 FUT1 基因为 h2 纯合子、Se 基因为 Se357 纯合子确证为类孟买血型。其抗-H 在室温及 37℃均有活性，输血时要加以重视。目前已知，类孟买型是由于 FUT1 基因的突变所引起，形成类孟买血型的血清学特点为红细胞上 ABH 抗原缺乏或弱表达，不被大多数抗-A、抗-B、抗-H 抗体凝集，血清中有抗-A 或抗-B 以及强弱不等的抗-H 或抗-HI，与标准 A、B、O 红细胞有反应，唾液中通常有 ABH 物质，Lewis 血型为 Le(a-b+)或 Le(a-b-)。因此在血型鉴定中正反定型不符的格局最为常见，需要注意的是 O 型类孟买可表现为正反定型相符，易误定为 O 型，应在血型反定型试验中增加标准 O 型红细胞来预防漏检。类孟买血型血清学定型以抗-H、唾液血型物质检测为主要依据，可结合抗-AB 血清、吸收放散试验结

果为发现该血型的辅助依据。

### 输血策略：

类孟买患者的输血方案有文献报道认为多数类孟买血型血清中的抗体弱，在难于找到相同类孟买血型供者或不具自体输血条件时，输血方案可根据患者抗-A、抗-B、抗-H的情况，选择输O型或ABO同型，并且在37℃与患者血清无反应或反应性最弱的红细胞输注。本文中抗-H试剂体外溶血试验证明同种抗体的溶血能力与抗体剂量有关，且即使剂量已弱至不出现凝集的同种抗体仍有较强的溶血活性。本例类孟买Bh分泌型因患者自动出院，未采集足够血样进一步体外溶血试验，尚无法确认该人源抗H的体外溶血强度。笔者认为该患者抗-H在室温及37℃均有活性，输血方案应同型输注，紧急输血时若无法找到同型供者，在以抢救生命为第一原则的前提下，可用最小剂量的ABO同型红细胞，同时使用激素减缓溶血速度，输注过程密切观察血清胆红素、尿胆红素、血红蛋白与红细胞压积等溶血指标的变化，做好输血不良反应的应变对策。对于术前备血者、孕产妇等宜尽早鉴定血型，检测抗体效价。输血方案首选自体输血，并可进行家系调查，在亲属中积极寻找同样表现型的个体，在需要输血时可以互为供体，提供术前血液储备。

## 12 《贵阳市1例稀有血型类孟买Bmh的检测分析》

作者：刘巍，蔡晓红

来源：《检验医学与临床》2016年12月第13卷第24期

### 标本来源：

标本来源为女性，28岁，待产，无输血史。

### 血清学结果：

(1) ABO、H、Lewis血型检测结果

表1 ABO血型鉴定及部分抗原鉴定结果

| 温度  | 抗-A | 抗-B | 抗-AB | 抗-H | Ac     | Bc    | Oc    | 脐血Oc | 自身c  | 抗-Lea | 抗-Leb | 抗-A1 |
|-----|-----|-----|------|-----|--------|-------|-------|------|------|-------|-------|------|
| 4℃  | (-) | (-) | (-)  | (-) | (++++) | (+++) | (+++) | (++) | (++) | (-)   | (++)  | (-)  |
| 22℃ | (-) | (-) | (-)  | (-) | (++++) | (+)   | (+)   | (-)  | (-)  | (-)   | (++)  | (-)  |
| 37℃ | (-) | (-) | (-)  | (-) | (++++) | (-)   | (-)   | (-)  | (-)  | (-)   | (+)   | (-)  |

注：c为细胞。

(2) 红细胞吸收放散试验结果

放散液与 B 细胞在 4℃有凝集（++），在 22℃和 37℃均有弱凝集（+），阴性对照为阴性（-），结果表明标本红细胞上有少量 B 抗原。

### （3）血清吸收放散试验结果

血清中检出抗-A、抗-H 抗体，Ac 吸收血清后放散液结果 Ac（++），Bc（+），Oc（++）；Bc 吸收血清后放散液结果 Ac（+），Bc（+），Oc（+）；Oc 吸收血清后放散液结果 Ac（+），Bc（+），Oc（+）。

### （4）唾液血型物质检测结果

抗-A（++++），抗-B（-），抗-H（++）。

### （5）Lewis 血型测定

Lewis 血型测定为 Le（a-b+），证实为分泌型，见表 1。

### DNA 测序结果：

ABO 基因型：B/O；

FUT1 基因型（H 基因型）：h3h3，658C-T；

FUT2 基因型（SE 基因型）：Se（nt357c-t）。

### 讨论：

类孟买血型是非常罕见的血型，在中国台湾的比例大约为 1/10000~1/8000，福建省的筛查结果与台湾相近，约 1:8500，中国香港特别行政区为 1/15620。1961 年 Levine 发现类孟买血型，它是由于红细胞上缺乏 H 抗原而使 ABO 血型抗原不能正常的表达。FUT1 基因控制红细胞膜上 H 抗原的表达，而 FUT2 基因控制分泌液中岩藻糖基转移酶的活性，控制分泌液中是否分泌 H 抗原。多数类孟买血型为 FUT1 基因纯合子突变引起，少数是杂合子突变引起。已经报道与红细胞上 H 缺陷型相关的等位基因有 26 种。目前认为，类孟买血型属 H 缺陷的分泌型，红细胞表面缺乏 ABH 抗原，而在唾液等分泌液中却可以找到 ABH 血型物质，Lewis 血型可能是 Le（a-b+）或 Le（a-b-），而不会出现 Le（a+b-），本例标本为 Le（a-b+），即分泌型。红细胞上的微量 B 抗原被认为是来自于血清中糖脂类血型物质的吸附。目前类孟买血型的鉴定依据是由血型血清学和分子生物学两部分组成，作者通过近年来文献报道，总结在血型血清学检测中的几个特点：无 H 抗原、血清中有（或无）抗 - H 抗体；红细胞上和唾液中有少量 ABO 抗原或血型物质；Lewis 血型为分泌型。本例样本的 B 抗原和抗 - H 抗体均较弱，在日常血型检测中容易误判为 O 型，这也引起大家的反思，以往很可能也有类似的血型漏检，因此反定型加入 O 细胞是非常必要的。同时关注待检者的疾病

及生理状态也很重要，无论是弱 A 或是弱 B，正定型都容易误定为 O 型，抗原弱化即可以是遗传基因所决定的弱表现型（即亚型），也可以是获得性的（某些疾病引起）。

#### **输血策略：**

本报道的孕妇如需输血，首选同型的类孟买血液或自体输血，但在大多数情况下是无法实现的，所以应重点分析表 2 的结果：与 A 细胞发生凝集的是抗 A、抗 - H 抗体；与 B 细胞和 O 细胞发生凝集的是抗 - H 抗体。与 O 细胞的凝集强度大于与 B 细胞的凝集强度，是因为 O 细胞上的 H 抗原的量比 B 细胞多。可用 B 型和 O 型红细胞与之交叉配血，应选择在 37℃ 时与患者血清反应最弱的红细胞进行输血。但目前这种输注方式暂无实际应用的足够数据支撑，仍可能存在一定风险。同时还应该意识到，如果类孟买血型的孕妇血清中的抗 - H 抗体是 IgG 类的，还有可能引起胎儿溶血，所以产检时确定孕妇的血型和抗体极为重要。由于类孟买血型非常罕见，符合条件的患者可以选择自体备血，在采血前、采血后、回输前、回输后应做好详细的重要指标检查（RBC、Hb、红细胞压积、PLT 等）。因此，作者建议各地血液单位可考虑动员符合献血条件的类孟买血型者积极参加无偿献血，将其血液特殊加工长期保存，并将资料汇总，以便今后进行更深入的研究和应付突发的紧急情况。

## **13 《1 例类孟买血型的血清学特征及家系分析》**

**作者：常洪劲 张乃红**

来源：《临床输血与检验》2018 年 10 月第 20 卷第 5 期

#### **标本来源：**

备孕妇女，34 岁，汉族，济宁人，孕 1 产 1，既往体健，无重大疾病及长期用药史，无输血史。2016 年 6 月在本院查体，初检血型发现正反不符，正定型为 O，反定型与 A、B、O 胞均有不同程度凝集，与自身红细胞不凝集，经进一步检测，证实为类孟买 B<sub>mh</sub>。

#### **血清学结果：**

##### **1 先证者血型鉴定和 H 抗原检测**

先证者红细胞与单克隆抗-A、抗-B 和抗-AB 均不凝集，血清与 A、B 和 O 细胞均有不同程度的凝集；先证者红细胞与抗单克隆-H 也不发生凝集，其中 O 细胞和 B 细胞与抗-H 试剂反应凝集强度分别为 3+和 1+。即

先证者红细胞上无 A、B 和 H 抗原，血清中存在不规则抗体，见表 1。

**表1 先证者ABO正反定型血清学鉴定结果**

| 反应条件      | ABO正定型 |    |     |    | 反应条件 | ABO反定型 |     |    |     |
|-----------|--------|----|-----|----|------|--------|-----|----|-----|
|           | -A     | -B | -AB | -H |      | Ac     | Bc  | Oc | 自身c |
| 一次离心      | 0      | 0  | 0   | 0  | 2+   | 0      | 0   | 0  |     |
| 二次离心      | 0      | 0  | 0   | 0  | 3+w  | 1+w    | 1+w | 0  |     |
| 4℃ 10 min | 0      | 0  | 0   | 0  | 3+   | 2+w    | 2+  | 0  |     |

## 2 先证者吸收放散试验

先证者红细胞在室温与单克隆及人源抗-B 血清均不凝集，4℃时与单克隆抗-B 血清有弱凝集，与人源抗血清不凝集（考虑自制人源抗血清效价太低所致），即先证者红细胞上存在弱 B 抗原，见表 2。

**表2 先证者吸收放散实验结果**

| 反应条件      | 单克隆IgM抗血清 |    | 人源抗血清 |    |
|-----------|-----------|----|-------|----|
|           | Bc        | Oc | Bc    | Oc |
| 多次离心      | 0         | 0  | 0     | 0  |
| 4℃*10 min | 1+w       | 0  | 0     | 0  |

## 3 先证者唾液中血型物质检测

先证者唾液中检测出 H 物质和 B 物质，未检测出 A 物质，即先证者血型为分泌型，见表 3。

**表3 先证者唾液血型物质检测结果**

|    | -A | -B | -H |
|----|----|----|----|
| 盐水 | 2+ | 2+ | 2+ |
| 唾液 | 2+ | 0  | 1+ |

4 取先证者血清与脐血 O 细胞、成人 O 细胞和成人 B 细胞反应，结果成人 O 细胞和成人 B 细胞凝集强度相同，脐血 O 细胞仅有较弱凝集，证实先证者血清中为抗-HI。

## 先证者基因扩增产物直接测序及家系调查：

分别抽取先证者及其父母的血液送检，先证者 FUT1 基因存在 658 位碱基 C→T 的纯合突变（即 h3h3），此突变可导致第 220 位氨基酸由精氨酸（Arg）突变为半胱氨酸（Cys）；其父母 FUT1 基因均存在 658 位碱基 C→T 的杂合突变（即 Hh3），即先证者 FUT1 基因 658 位 C→T 的纯合突变来自父母双亲。FUT2 基因测序结果显示，先证者及其父母 FUT2 位点都存在 357 位置上的 C>T 的同义突变，是分泌型。

## 讨论:

类孟买血型 (para-Bombayphenotype) 是一种罕见的红细胞血型, 属 Hh 血型系统。其发生几率极低, 约十几万分之一。类孟买血型的特点为 H 基因缺陷导致红细胞上 ABH 抗原缺乏或弱表达, 红细胞上很难检测到 ABH 抗原, 极易造成血型鉴定错误; 血清中存在抗-H 或抗-HI 抗体, 该血型表型患者如接受含 H 抗原的血液可引起严重的溶血性输血反应, 严重影响输血安全。及时发现类孟买血型, 既可以避免因血型鉴定错误引起的溶血性输血反应, 又可为临床紧急输血者找到相合的供者。

类孟买血型是一种罕见的稀有血型, 其特点为红细胞上 H 抗原完全或部分缺失, 使该个体红细胞不能正常表达 A/B 抗原, 且其血清中存在抗-H 或抗-HI 抗体, 导致 ABO 血型鉴定困难或错误。由于类孟买个体红细胞上少量的 H 抗原可全部被 A 或 B 基因转化为 A/B 抗原。因此, 类孟买血型红细胞上无 H 抗原, 而只有少量 A/B 抗原, 而少量的 A/B 抗原在常规血清学中很难被检测到, 如本实验中先证者常规血清学检测未检测到 A/B 抗原, 正定表现为 O 型, 通过吸收放散实验检测到红细胞上存在弱 B 抗原。典型的类孟买血型是 H 基因缺陷的分泌型, H 基因无活性但 Se 基因有活性, 红细胞上无 H 抗原但分泌液中存在 H 物质。如本实验中先证者红细胞上未检测到 H 抗原, 但在其唾液中检测到 H 物质; 同时在先证者血清中也检测到抗-HI 抗体。这些均符合类孟买血型的血清学特点。研究表明, 国人的类孟买血型个体几乎全为 H 基因缺陷的分泌型, 即存在一个突变的 FUT1 基因和至少一个活性的 FUT2 基因。已报道与红细胞上 H 缺陷型有关的突变基因有 40 多种, 最常见突变是 FUT1 座位上的 4 个隐性基因: h1 (547deLAG)、h2 (880delTT)、h3 (658C>T)、h4 (35C>T)。本实验中先证者存在 658 位碱基 C→T 的纯合突变 (即 h3h3), 该先证者的父母都携带 1 个突变和 1 个正常的 FUT1, 并都把突变的 FUT1 遗传给先证者, 使其携带 658C>T 的纯合突变, 造成类孟买的表型。先证者与其父母 FUT2 位点只存在 357 位置上的 C>T 同义突变, 都是汉族人常见的分泌表型。

## 输血策略:

由于类孟买个体血浆中存在或高或低效价的抗-H 或抗-HI 抗体, 若其输注含 H 抗原的血液将引起严重的溶血性输血反应, 因此及时发现和正确鉴定每例类孟买血型显得特别重要。对于不需紧急输血的择期手术者, 可以通过储存式自体储血保存血液, 既可满足不时之需, 又可为紧急输血者提供救命血源。本实验中先证者为备孕女性, 考虑其对输血要求的特殊性, 我们联合市中心血站对其进行了储存式自体采血, 并采用低温冰冻方法进行长期保存, 以备其需要时输注。

# 14 《 $\alpha$ -(1,2)-岩藻糖基转移酶基因的 DNA 双链突变成类孟买型分析》

作者：李兴华 刘衍春 王恩波 马玲 史丽莉 邵雷

来源：《中国输血杂志》 2018 年 3 月第 31 卷第 3 期

## 摘要：

目的：对 1 例血清学初定为类孟买 OABh-s 型的标本进行分析，以了解表型与基因等的关系。

方法：血型血清学、血型物质、血型酶活力检测采用试管法；基因分析采用 DNA 测序法；同时进行家系遗传学调查。

结果：红细胞上检出 A、B 抗原；H 抗原缺失的分泌型，与 Le(a-b+)表型相符合；ABO 糖基转移酶活性测定表明具有合成 A、B 抗原的能力；基因分析是 1 例混合杂合突变，即 2 条 DNA 链分别存在碱基突变致红细胞上 H 抗原缺失；家系调查 A、B 血型基因分别来自双亲。

结论：由 FUT1 基因 2 条 DNA 链不同位点突变形成的 H 抗原缺失的 AB 类孟买型是非常罕见的；其红细胞上的 A 和/或 B 抗原的形成，由分泌液中的 H 抗原吸附至红细胞所致。

## 标本来源：

采集先证者(孕妇)及其母亲的外周血 EDTA-K2 抗凝标本、唾液标本；先证者弟弟的外周血抗凝标本。

## 血清学结果：

### (1) ABO 血型表型检测结果

先证者及母亲 ABO 血型正反定型结果见表 1。

表 1 被检测者红细胞及唾液中 ABH 物质检测

|     | 红细胞上抗原 |     |     |    |    |    | 分泌液血型物质 |     |     | 型物质    |
|-----|--------|-----|-----|----|----|----|---------|-----|-----|--------|
|     | 抗-A    | 抗-B | 抗-H | Ac | Bc | Oc | 抗-A     | 抗-B | 抗-H |        |
| 先证者 | 1+     | ±   | -   | 1+ | 1+ | 1+ | -       | -   | 2+  | AB 分泌型 |
| 母亲  | 4+     | -   | -   | -  | 4+ | -  | -       | 3+  | 2+  | A 分泌型  |

### (2) Lewis 血型

先证者及其母亲的 Lewis 血型检测结果均为 Le(a-b+)。

### (3) ABH 物质检测

被检者唾液中 ABH 物质检测结果见表 1。

**ABO 血型基因测序：**

测序扩增用试剂 BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit(ABI 公司)；先证者的 ABO 糖基转移酶基因第 6 及 7 外显子序列，存在 297A>G 及 526C>G、657C>T、703G>A、796C>A、803G>C 和 930G>A 的突变。

**ABO 基因克隆序列：**

先证者具有 297A、526C、657C、703G、796C、803G、930G 及 297G，及 526G、657T、703A、796A、803C、930A 2 种序列的克隆，应为 A101/B101 基因型。

**血型 FUT1 基因测序：**

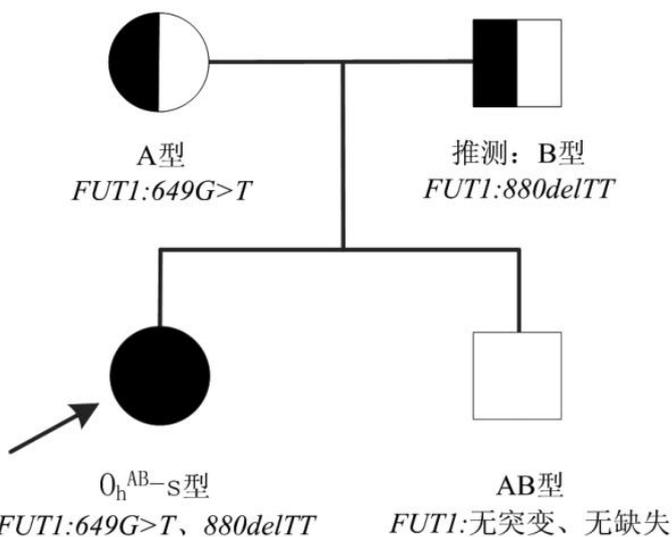
先证者 DNA 测序发现在该基因编码区域出现从 880delTT 后的杂峰及 649G>T 突变。其母亲仅出现 649G>T 突变。

**FUT1 基因克隆序列：**

先证者的 DNA 克隆测序结果证实 649G>T 及 880delTT 分别位于 DNA 各 1 条单链。

**家系调查结果：**

先证者及其母亲和弟弟的遗传关系见图 3。



从图中可推知先证者父亲的 ABO 血型为 B 型，先证者的 880delTT 来自父亲的突变。先证者的表型 O<sub>h</sub><sup>AB-s</sup> 命名取自文献 [4]

图 3 先证者家系调查图

## 讨论:

ABO 血型的形成是由糖基转移酶基因控制的糖基转移酶转运相应的糖基链接于 H 抗原的半乳糖而成。如果控制 H 抗原的岩藻糖基转移酶基因发生变化, 就可能使得岩藻糖基转移酶的活性产生改变, 从而造成 H 抗原表达的减弱或缺失, 最终使得 A、B 血型的形成受到障碍。H 血型系统在 ISBT 命名的红细胞血型系统中为 018 系统, 该系统只有 1 个抗原 H, 由 $\alpha$ -岩藻糖基转移酶基因控制的 $\alpha$ -岩藻糖转移酶转运相应的 $\alpha$ -岩藻糖链接于神经酰胺的衍生物而成。它的失活会影响 A、B 抗原的形成, 从而产生红细胞无 A、B、H 抗原的孟买型或 A、B、H 抗原表达减弱或缺如的类孟买型。我们在最近的工作中发现 1 例极少见的由于 $\alpha$ -岩藻糖基转移酶基因的 DNA 双链突变形成的 AB 类孟买型 OABh-s, 现报道如下。

ABO 血型系统的抗原是在 ABO 及 H 系统的作用下生成的, 2 个系统的共同前体是神经酰胺。在 $\alpha$ -岩藻糖基转移酶的作用下, 首先形成 H 抗原, 进一步在 N-乙酰半乳糖基或半乳糖基转移酶的作用下, 分别将相应的底物连接于 H 抗原的半乳糖上形成 A 或 B 抗原。H 系统有 2 个重要基因, FUT1 控制红细胞膜上 H 抗原的合成与否, FUT2 的 1 对等位基因 Se/se 控制分泌组织中 $\alpha$ -岩藻糖基转移酶的活性及分泌性。

根据 ABO 基因、H 基因及相应抗原、抗体的有无, H 缺乏的表型主要分 2 类。第 1 类是红细胞上、分泌液中均无 ABH 抗原, 有抗-H, 根据血清中是否有 A、B 糖基转移酶活性分别以 OhO、OhA、OhB 示之, 称为孟买型。在印度孟买地区人群的占比约 1/7000。第 2 类是类孟买型有 2 种。第 1 种是红细胞上 H 抗原缺失的分泌型, 分泌液中有 H 或 A 和/或 B 抗原、血浆中有抗-HI, 以 OhO-s、OhA-s、OhB-s 示之。其分子基础是 FUT1 失活、FUT2 有功能, 红细胞上无 H 抗原、但分泌液中有 H。第 2 种是 H 抗原部分缺失的非分泌型, 血浆中有抗-H, 根据红细胞上 A、B、H 抗原有无分为 Oh、Ah、Bh。其分子基础是变化的/弱活性的 FUT1、而 FUT2 失活, 红细胞上会有较弱/无 H、分泌液中无 H。G Daniels 认为分泌液中有 H 物质的表型更宜用类孟买型(Para-Bombay)表示。

本文的标本来自 1 位孕妇, 检出 A、B 抗原, 有意外抗体致正反定型不符, 进一步的检测发现无 H 抗原、有抗-H 性质的意外抗体, 用 A 型脐带血红细胞进行了比对, 结果弱于先证者的 1+为 $\pm$ , 提示先证者可能有抗-HI, 初定表型为类孟买 OABh-s 型。为分析该标本抗原与血型基因之间的关系, 了解其基因背景, 采用基因分析的方法对标本的 ABO 血型糖基转移酶基因及 H 血型岩藻糖基转移酶基因进行 DNA 测序。ABO 血型糖基转移酶基因第 6、7 外显子克隆测序结果表明, 标本的基因型为 A101/B101, 具有生成 A、B 抗原的基因基础。而 H 血型的 $\alpha$ -岩藻糖基转移酶基因 FUT1 编码区出现 2 处突变, 1 处由 YU 等首先报道的

880delTT，产生 294fs 改变，该缺失应该是多态性分布，在 Cai 等的报道 17 例类孟买中出现 8 例，既有混合杂合缺失也有纯合缺失。另 1 处由 Cai 等首先报道的 649G>T 的突变，产生 V217F 的改变。这 2 个突变同时出现在 1 个个体上，在 BGMUT 中尚未见报道。为了解此 2 个突变产生的具体情况，对标本 H 基因 FUT1 编码区进行了克隆测序，结果发现此 2 个突变分别存在于 DNA 的 2 条链上，即 2 个突变分别来自双亲的一方(图 3)。

为了解先证者 H 基因突变的遗传学，进行了家系调查。由图 3 可知，其弟为 AB 型，其母为 A 型，说明 A、B 抗原分别存在于父母各一方。其弟 FUT1 基因没有突变和缺失，其母只出现 649>T 的突变且为杂合突变。这样，另一重要缺失 880delTT 应该存在于其父的 DNA 上，可惜未能采集到其父的标本。

FUT1 的基因突变或缺失应当造成红细胞上没有 A、B 抗原存在，但为何检测出 A、B 抗原?我们在随访中采集到母女的唾液，通过对标本的分泌型物质 ABH 检测发现，先证者存在 A、B、H 物质，其母有 A、H 物质。2 人的 ABO 糖基转移酶活性检测证实形成 A、B 抗原的乙酰半乳糖基和半乳糖基转移酶活性是正常的。这样，可以理解了虽然 FUT1 突变致红细胞上 H 抗原缺失，不能形成 A、B 抗原，但由 FUT2 基因控制合成的分泌型 H 物质吸附到了红细胞上。由于该先证者具有 A、B 基因，在相应的糖基转移酶的作用下，将 N-乙酰半乳糖基及半乳糖基结合于 H 抗原的半乳糖上，从而出现了红细胞血清学结果为 A、B 抗原阳性而 H 抗原阴性的结果。这种红细胞通过吸附分泌液中 H 抗原，再形成 A 或/和 B 抗原的情况，出现在前述的第 1 种类孟买型，对此 Reid 等曾有明确的表述，Cartron 等提及这是一种被动的吸附。第 2 种类孟买型是红细胞上自有的 H，在有 A、B 基因的情况下形成 A、B 抗原。

为了解先证者母女的血型分泌性情况，我们检测了 2 人的分泌型物质，结果在分泌液中均检出血型物质。同时对母女的 Lewis 表型进行检测，2 人均均为 Le(a-b+)，此表型与标本是分泌型的结果相一致。这 2 项结果均支持了该标本红细胞形成 A、B 抗原的 H 抗原来自于分泌液中。由于母亲的 FUT1 是杂合突变，另一条链是正常的 H 基因，故没有表现出类孟买的特点。由于其有 A 基因、红细胞上又存在 H 抗原，故抗-A 检测为 A 型 4+。

类孟买血型的血清学比较复杂，这是由 H 系统及 ABO 系统共 3 个基因的不同变化所形成的，其比例在中国汉族人群中约 2—2.5 万分之一，但 FUT1 失活、FUT2 正常，且有 A、B 等位基因形成的 OABh-s 型的比例更少。DNA 测序技术的使用，可以帮助我们了解这种罕见血型标本的分子机制。

# 15 《罕见 Ah 类孟买血型的鉴定》

作者：木耶赛尔·伊斯马依力 徐保红 郭伟鹏 乔艳辉

来源：《中国输血杂志》2018 年 12 月第 31 卷第 12 期

## 摘要：

目的：探讨鉴定类孟买血型的血清学方法及基因分析，为类孟买型鉴定提供参考。

方法：应用常规血清学方法检测红细胞抗原及血清中的抗体，吸收放散试验鉴定红细胞上弱表达的 ABO 抗原，测定唾液中的血型物质，进行分子生物学测序分析。

结果：献血者红细胞上常规方法未检测到 ABH 抗原，吸收放散试验能检测到 A 抗原，血浆中检测出不规则抗体、唾液中分别测出 A、H 物质，献血者 Lewis 血型检测为 Le(a-b+)，基因测序结果证实含有 A 基因，FUT1 基因测序显示 658 位 C>T 的纯合突变，基因型为 h3/h3 分泌性、证实为该献血者血型 Ah 类孟买型。

结论：类孟买型的正确鉴定，需在血清学检测的基础上再进行分子生物学测序分析，这样可以避免误判或漏检。

## 标本来源：

献血者，女，23 岁。首次在本中心（乌鲁木齐市血液中心）献血，初检血型发现正反定型不符。

## 血清学结果：

### （1）ABO Lewis 血型

反定型与标准 A、B、O 型红细胞均发生不同程度凝集，与自身红细胞不凝集，红细胞上检测不到 ABO 及 H 抗原，血清经 O 细胞 4℃ 吸收 1h 后定型，反定型为 A 型，Lewis 血型检测为 Le(a-b+)，证明献血者为分泌型，表 1-2。

表 1 血型鉴定结果

|     | 正定型 |     |     | 反定型 |    |    |      | Lewis 定型 |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|------|----------|-----|
|     | 抗-A | 抗-B | 抗-H | AC  | BC | OC | 自身 C | Lea      | Leb |
| 室温  | 0   | 0   | 0   | 1+  | 3+ | 3+ | 0    | 0        | 1+  |
| 4℃  | /   | /   | /   | 2+  | 4+ | 4+ | 1+   | /        | /   |
| 37℃ | /   | /   | /   | 0   | 0  | 0  | 0    | /        | /   |

表 2 O 型细胞吸收献血者血浆后反定型结果

|    | 反定型 |    |    |
|----|-----|----|----|
|    | AC  | BC | OC |
| 4℃ | 0   | 3+ | 0  |

(2) 吸收放散试验

吸收试验结果得到的效价对比，吸收液后血清比原血清的效价降低了 2 个滴度，放散液证实红细胞上有 A 抗原，表 3-4。

表 3 献血者红细胞与人源抗-A 血清吸收试验(效价)

|         | 1:1 | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:128 |
|---------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|-------|
| 原抗-A 血清 | 4+  | 4+  | 3+  | 2+  | 2+   | 1+   | 1+   | 1+w   |
| 抗-A 吸收液 | 3+  | 3+  | 2+  | 2+  | 1+   | 0    | 0    | 0     |

表 4 放散试验

| 组别 | 放散液 |
|----|-----|
| AC | 2+  |
| OC | 0   |

(3) 唾液血型物质检测

检出 A 和 H 物质，未检出 B 物质表 5。

表 5 唾液中血型物质的测定

|     | 唾液+抗-A | 唾液+抗-B | 唾液+抗-H | 结果  |
|-----|--------|--------|--------|-----|
|     | Ac     | Bc     | Oc     |     |
| 献血者 | 0      | 3+     | 0      | A H |

(4) 谱细胞抗体鉴定

患者血清与谱细胞反应，所有谱细胞在盐水介质中均阳性，说明有不规则抗体的存在。

**DNA 测序结果:**

将血液邮寄到青岛血站输血研究所进行基因测序分析。献血者 ABO 基因第 6、7 外显子的测序结果证实含有 A 基因，FUT1 基因测序显示 658 位 C>T 纯合突变，基因型位 h3/h3 分泌性，FUT1 基因变异导致 H 抗原的缺乏，确定该献血者血型为 Ah 类孟买型。

## 讨论:

2017年10月16日,本中心检验科送检的ABO正反定型不符的血样(正定型:O型,反定型:A型)进行血清学鉴定,在血清学实验的基础上做基因测序分析,最终确定该献血者血型为Ah类孟买血型,报告如下。

类孟买血型是一种罕见的红细胞血型表型,国内暂没有孟买型分布频率报道,只有类孟买型的报道,在台湾类孟买型出现频率为1/8000,福建为1/8500,香港为1/15620,北京为1/102万,其主要特征是红细胞表面H抗原部分或完全缺失,而分泌中存在H物质。该献血者因正反定型不符时进一步检测发现其红细胞与抗-H血清反应阴性,但红细胞吸收放散试验中能释放A抗原,文献报导类孟买型的Lewis血型通常为Le(a-b+),该献血者的Lewis血型也为Le(a-b+),唾液中分泌A、H物质,证实患者的血型为Ah类孟买型。

FUT1基因的遗传特征自1994年证实了H抗原缺失血型的分子基础为FUT1基因的无效突变造成H转移酶活性丢失以来,已发现该血型的FUT1基因存在多达41种的无效突变。对文献进行分析发现,从不同的国家和地区中检出的H抗原缺失血型,其突变基因少有相同。其原因与该血型在人群中较为稀有,而种族间的相对隔绝有关。这使得该血型除了在表型频率上存在种群上的差别,其基因的突变体也具有了一定的种群遗传特征。献血者ABO基因的测序结果中证实含有A基因,献血者FUT1编码序列测序结果显示658位C>T纯合突变,为类孟买型的常见基因突变。由于类孟买血型个体在进行常规的ABO定型时,通常不能检出A或B抗原,而反定型通常可出现的较弱的抗体,因此,常规ABO定型时极易考虑为ABO血型抗体减弱而将其定为O型。临床上此类定型错误而导致的输血反应时有发生,掌握该类血型个体的血清学特征,对临床具有重要的意义。因此、血型鉴定工作中,出现正反定型不符时要谨慎对待,血清学检测的基础上再做基因检测和测序可避免误判和漏检。

## 16 《佤族家系中发现罕见类孟买血型 2 例》

作者:王德平 何卫社 曹立敏 刘乐霞

来源:《临床血液学杂志》2018年31卷4期

### 标本来源:

患者,女,30岁,佤族人,产妇,无既往输血史,孕2流1,孕20周到廊坊广安医院检查,因ABO正反

定型不符，送我院做进一步鉴定；经先证者及家系成员知情同意对家系 2 代共 4 名成员进行调查。

**血清学结果：**

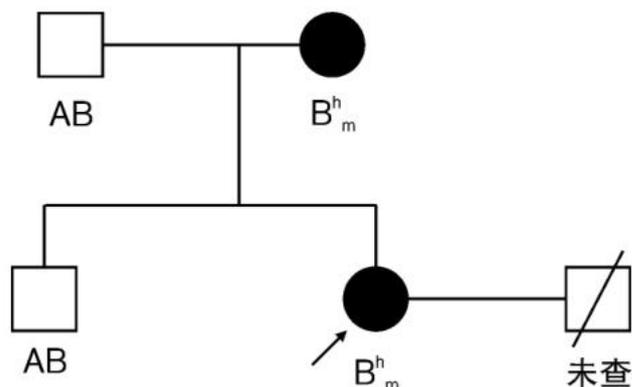
患者正定型与抗-B 有弱反应，反定型与 A1c、A2c 有强反应，与 Bc、Oc、自身 c 均无反应；其母正定型为 O，反定型结果与患者相同；患者、其母红细胞与抗-H 均不反应，与 Bc（弱阳性对照）弱反应，与 Oc（强阳性对照）强反应；其母红细胞与人源抗-B 经吸收放散试验，放散下抗-B，确定有 B 抗原；患者血清与筛选细胞在室温无反应，在 4℃ 均呈 1+ 反应；患者血清与混合 O 型红细胞经吸收放散试验，放散液与 Oc 有反应，与 Bc、脐血 Oc 均无反应，确定血清中有抗-HI；血型物质检测结果显示患者、其母唾液中均存在 B 物质和 H 物质；二者的 Lewis 血型检测结果为 Le(a-b+)，证明二者均为分泌型；家系调查，经 ABO 血型鉴定其父、弟均为 AB 型。

表 1 家系成员血型血清学检测结果

| 家系成员 | 正定型  |     |      |     |     |    | 反定型 |                  |                  |                  |    |    |      | 血型物质 | 抗-Le <sup>a</sup> | 抗-Le <sup>b</sup> |
|------|------|-----|------|-----|-----|----|-----|------------------|------------------|------------------|----|----|------|------|-------------------|-------------------|
|      | 上海试剂 |     | 人源试剂 |     | 抗-H |    |     | 抗-A <sub>1</sub> | A <sub>1</sub> c | A <sub>2</sub> c | Bc | Oc | 自身 c |      |                   |                   |
|      | 抗-A  | 抗-B | 抗-A  | 抗-B | Pc  | Bc | Oc  |                  |                  |                  |    |    |      |      |                   |                   |
| 患者   | 0    | w   | 0    | 0   | 0   | 1+ | 4+  | 0                | 4+               | 3+               | 0  | 0  | 0    | B/H  | 0                 | +                 |
| 其母   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0   | 1+ | 4+  | 0                | 4+               | 3+               | 0  | 0  | 0    | B/H  | 0                 | +                 |
| 其父   | 4+   | 4+  | /    | /   | /   | /  | /   | /                | 0                | /                | 0  | 0  | 0    | /    | /                 | /                 |
| 其弟   | 4+   | 4+  | /    | /   | /   | /  | /   | /                | 0                | /                | 0  | 0  | 0    | /    | /                 | /                 |

表 2 其母红细胞、患者血清的吸收放散及抗体筛选试验结果

| 项目       | 患者血清 |    |     | 患者血清+混合 Oc 的吸收放散液 |    |     | 其母红细胞+抗-B 的吸收放散液 |    |
|----------|------|----|-----|-------------------|----|-----|------------------|----|
|          | 室温   | 4℃ | IAT | 室温                | 4℃ | IAT | 室温               | 4℃ |
| Bc       | 0    | 0  | /   | 0                 | 0  | 0   | 2+               | 3+ |
| Oc       | 0    | ±  | /   | 0                 | 1+ | 0   | 0                | 0  |
| 脐血 Oc    | /    | 0  | /   | 0                 | 0  | 0   | /                | /  |
| 筛选细胞 I   | 0    | ±  | 0   | 0                 | 1+ | 0   | /                | /  |
| 筛选细胞 II  | 0    | ±  | 0   | 0                 | 1+ | 0   | /                | /  |
| 筛选细胞 III | 0    | ±  | 0   | 0                 | 1+ | 0   | /                | /  |
| 自身 c     | 0    | 0  | 0   | 0                 | 0  | 0   | /                | /  |



●为 $B^h_m$ 血型女, /代表未做此项实验, ↗为先证者。

图 1  $B^h_m$ 血型遗传图

#### DNA 测序结果:

委托上海市血液中心国家血型参比室鉴定。基因测序患者和母亲均为 FUT1 基因编码序列 658C>T 错义突变, 使精氨酸→半胱氨酸, 二者均为类孟买血型(Bhm)。

#### 讨论:

类孟买血型是 H 抗原缺乏的分泌型, 表现为红细胞表面部分或完全缺乏 ABH 抗原, 而在唾液等分泌液中却可检测出 ABH 血型物质, 通常会存在抗-H 或抗-HI, 孟买型是非分泌型 H 缺陷型, 红细胞上无 ABH 抗原, 分泌液中也检测不到 ABH 血型物质。依据 ISBT 的 H 抗原缺陷分类及血清学特点, 患者 B 抗原弱, 抗-HI 也弱, 其母 B 抗原极弱, 通过吸收放散才能检出, 二者红细胞上缺乏血清学足以检出的 H 抗原, 均为分泌型, 唾液中检测出 ABH 血型物质, 符合类孟买血型的特点, 经过家系调查和基因分型, 最终证实了患者和其母血型均为类孟买 Bhm。类孟买血型是一类非常罕见的血型, 人群中的发生频率非常低, 大约 1/15620~1/8000, 各地分布不同, 我们在国内侏族家系中发现类孟买血型是否具有种族性有待于进一步研究。

#### 输血策略:

常规 ABO 正反定型试验中, 类孟买血型正定可有较弱凝集, 也可以无凝集, 易被误判为 O 型, 血清中抗-A 或抗-B 抗体减弱, 以 O 型血液发往临床, 在交叉配血时, 因其血清中有抗-H 或抗-HI 与 O 型患者发生凝集被发现, 若临床简单的认为是由冷凝集造成的, 作为供者输给 O 型患者, 患者血清中的抗-A 或抗-B 将与供者类孟买血型红细胞上的少量 A 或 B 抗原结合发生溶血性输血反应。部分类孟买血型个体的抗-HI 在 37℃ 下也有活性, 若作为患者误定为 O 型, 输入 O 型血后, 能够引起体内的溶血反应, 作为受血者最好输注同

型血或自身血，条件不允许时，杨孝亮等报道选择 37℃ 下与其血清反应最弱的 ABO 同型输注。建议当遇正定 O 型，反定不是 O 型，或 O 型患者交叉配血、抗体筛选疑为冷凝集时，用抗-H 正定测 H 抗原，抗-H 无凝集则无 H 抗原，则可能是类孟买或孟买及血癌抗原衰减等。

## 17 《类孟买血型鉴定与输血策略研究》

作者：杨晓俊 谢海花 彭迎霞 陈苻 陈发文

来源：《中国输血杂志》2018 年 5 月第 31 卷第 5 期

### 摘要：

目的：研究类孟买血型的鉴定方法、血清学特点和输血策略。

方法：对先证者及其四妹采用凝胶微柱法和试管法正反定型，吸收放散试验证实红细胞上弱表达的 ABO 抗原，测定唾液中的 ABH 物质，筛查血清中不规则抗体，应用 PCR-SSP 技术进行 ABO 基因和 FUT1 基因分型，并扩增 ABO 基因的第 6、第 7 外显子和 FUT1 编码区序列后对 PCR 产物进行直接测序分析。采用血清学方法为先证者筛选适宜输注的红细胞。

结果：先证者和其四妹血清学鉴定为 B<sub>mh</sub> 和 O<sub>mh</sub>，血清中有抗-H，ABO 基因分型结果为 BO<sub>2</sub>、O<sub>1O</sub><sub>2</sub>，FUT1 基因分型结果均为 h1h1 型。先证者 ABO 基因测序结果为 B101/O02，FUT1 基因测序结果为第 547-552 位 AG2 碱基缺失的纯合突变。

结论：血型血清学联合分子生物学方法可准确鉴定类孟买血型；类孟买血型个体输血时应采取特殊输血策略，以避免输血不良反应的发生。

### 标本来源：

患者女，41 岁，因动脉导管未闭入院治疗。术前备血行血型鉴定时发现正定 O 型反定 B 型且与抗-H 不反应而进一步深入研究。家系成员包括先证者及其父亲、配偶、儿子、女儿、二妹、三妹、四妹、四妹儿子，共 9 人。

### 血清学结果：

先证者正定型 O 型，反定型 B 型，与抗-H 不反应，唾液中检出 B，H 物质。先证者四妹正反定型均为 O 型，但与抗-H 不反应，唾液中检出 H 物质。其余 7 名家系成员均为正常 ABO 和 H 表型。先证者及其家系成员

血型鉴定结果详见表 1。采用单克隆抗-A、抗-B 进行吸收放散时 2 人均未检出 A, B 抗原, 采用高效价人源抗血清进行吸收放散时, 先证者红细胞表面检出 B 抗原, 结果详见表 2。仅 4℃ 盐水法血清不规则抗体筛查时检出弱的抗-H 存在, 而卡式抗球蛋白法和室温盐水法血清不规则抗体筛查时均未检出抗-H 存在, 结果详见表 3。

表 1 先证者及其家系成员血型鉴定结果

| 方法      | 标本红细胞与抗血清反应 |     |     |      | 血清与试剂红细胞反应 |    |    |      | 唾液 ABH 物质检测 | 血清学表型 |                 |
|---------|-------------|-----|-----|------|------------|----|----|------|-------------|-------|-----------------|
|         | 抗-A         | 抗-B | 抗-H | 抗-AB | Ac         | Bc | Oc | 自身 c |             |       |                 |
| 先证者     | 试管法(室温)     | 0   | 0   | 0    | 0          | 3+ | 0  | 0    | 0           | B, H  | Bm <sup>h</sup> |
|         | 试管法(4℃)     | 0   | 0   | 0    | 0          | 3+ |    | ±    | 0           |       |                 |
|         | 微柱法         | 0   | 0   | /    | /          | 3+ | 0  | /    | /           |       |                 |
| 先证者父亲   | 试管法(室温)     | 0   | 0   | 4+   | 0          | 2+ | 2+ | 0    | 0           | /     | O               |
| 先证者配偶   | 试管法(室温)     | 0   | 0   | 4+   | 0          | 3+ | 3+ | 0    | 0           | /     | O               |
| 先证者儿子   | 试管法(室温)     | 0   | 0   | 4+   | 0          | 2+ | 2+ | 0    | 0           | /     | O               |
| 先证者女儿   | 试管法(室温)     | 0   | 0   | 4+   | 0          | 2+ | 2+ | 0    | 0           | /     | O               |
| 先证者二妹   | 试管法(室温)     | 0   | 0   | 4+   | 0          | 3+ | 3+ | 0    | 0           | /     | O               |
| 先证者三妹   | 试管法(室温)     | 0   | 4+  | 2+   | 4+         | 2+ | 0  | 0    | 0           | /     | B               |
| 先证者四妹   | 试管法(室温)     | 0   | 0   | 0    | 0          | 2+ | 3+ | 0    | 0           | H     | Om <sup>h</sup> |
|         | 试管法(4℃)     | 0   | 0   | 0    | 0          | 3+ | 3+ | 1+   | 0           |       |                 |
|         | 微柱法         | 0   | 0   | /    | /          | 3+ | 3+ | /    | /           |       |                 |
| 先证者四妹之子 | 试管法(室温)     | 0   | 0   | 4+   | 0          | 2+ | 2+ | 0    | 0           | /     | O               |

注: ±-4+ 表示凝集强度; 0 表示无凝集; / 表示未测

表 2 先证者及其四妹吸收放散试验结果

|                 | 末次洗涤液与试剂红细胞的凝集反应 |    |    | 放散液与试剂红细胞的凝集反应 |    |    |
|-----------------|------------------|----|----|----------------|----|----|
|                 | Ac               | Bc | Oc | Ac             | Bc | Oc |
| 先证者红细胞+单克隆抗-A   | 0                | 0  | 0  | 0              | 0  | 0  |
| 先证者红细胞+单克隆抗-B   | 0                | 0  | 0  | 0              | 0  | 0  |
| 先证者红细胞+人源血清     | /                | 0  | 0  | /              | 4+ | 0  |
| 先证者四妹红细胞+单克隆抗-A | 0                | 0  | 0  | 0              | 0  | 0  |
| 先证者四妹红细胞+单克隆抗-B | 0                | 0  | 0  | 0              | 0  | 0  |
| 先证者四妹红细胞+人源血清   | 0                | 0  | 0  | 0              | 0  | 0  |

表 3 先证者及其四妹抗筛试验结果

| 方法学   |              | 抗体筛选细胞 |    |     |
|-------|--------------|--------|----|-----|
|       |              | I      | II | III |
| 先证者   | 盐水法(4℃)      | ±      | ±  | ±   |
|       | 盐水法(22℃)     | 0      | 0  | 0   |
|       | 卡式抗球蛋白法(37℃) | 0      | 0  | 0   |
| 先证者四妹 | 盐水法(4℃)      | 1+     | 1+ | 1+  |
|       | 盐水法(22℃)     | 0      | 0  | 0   |
|       | 卡式抗球蛋白法(37℃) | 0      | 0  | 0   |

#### PCR-SSP 检测结果:

人类红细胞 ABO 血型基因分型、FUT1 基因分型、血液基因组 DNA 提取试剂盒由天津秀鹏生物技术有限公司提供;先证者 ABO 基因 PCR-SSP 分型结果为 BO<sub>2</sub>;先证者四妹 ABO 基因 PCR-SSP 分型结果为 O<sub>1</sub>O<sub>2</sub>;先证者和其四妹 FUT1 基因 PCR-SSP 分型结果均为 h1h1 型。

#### DNA 测序结果:

ABO 基因和 FUT1 基因测序由天津秀鹏生物技术有限公司完成。先证者 ABO 基因测序结果为 B101/O02;先证者 FUT1 基因测序确定患者基因型为 h1/h1 纯合突变, 即第 547-552delAG。

#### 交叉配血试验:

采用卡式抗球蛋白法与凝聚胺法交叉配血时先证者与 B 型和 O 型献血者、四妹血液交叉配血主次侧均无凝集无溶血;四妹与 O 型献血者交叉配血主次侧均无凝集无溶血。

#### 讨论:

类孟买血型是 1 种较为罕见的血型,是由于 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶(FUT1)基因突变导致红细胞表面 H 抗原部分或完全缺失,而分泌液中存在 H 物质。多数类孟买表型是由于 ABO 正反定型不一致或存在意外抗体被发现。因类孟买血型常导致 ABO 血型鉴定错误和输血困难,故在日常输血工作中应引起高度重视。本研究应用血型血清学和分子生物学方法对一个家系 2 名类孟买血型成员进行血型鉴定,研究类孟买血型的血型血清学特征,探讨其安全输血策略。

类孟买血型是一种罕见的红细胞血型表型。在福建人群中具有相对较高的人群频率(1/8500)。多数报道类孟买型红细胞上只有微量 A 或 B 抗原存在,常规血清学检测很难被检出,必须通过吸收放散试验来检测。本研究中先证者 B<sub>mh</sub> 型红细胞与单克隆 IgM 型抗-B 试剂不凝集,且用单克隆抗-B 吸收后放散液未与 B 细

胞凝集。推测可能是因为一些单克隆试剂，对 pH 及渗透压的变化敏感不适用于吸收放散试验或单克隆 IgM 型试剂抗体来源单一且效价不高故无法检出微量 B 抗原存在。而用采自新生儿 ABO 溶血病患儿母亲血清的人源抗-B 吸收后，由于人源抗-B 效价高(效价为 1024)且为多克隆(IgG+IgM 型)抗体，同时采用了敏感的卡式抗球蛋白法检测，故放散液与 B 细胞出现明显凝集，从而证实先证者红细胞表面含微量的 B 抗原存在。

类孟买血型者血清中有强弱不等的抗-H 或抗-HI，效价强时可在 37℃ 条件下使卡式抗球蛋白法或盐水法中 O 细胞明显凝集，效价低时如本研究中先证者及其四妹抗筛结果，37℃ 卡式抗球蛋白法和室温盐水法不见 O 细胞凝集，只有在 4℃ 盐水法时 O 细胞才出现弱凝集。在对中国香港人群的研究中有类似报道，仅 2/3 的 Oh 分泌型个体含有 37℃ 活性的抗-H 或抗-HI。

错误鉴定类孟买血型，将可能导致严重的后果。如本研究中先证者四妹为 Omh，用常规的微柱凝胶法、试管法和反定加做 O 细胞对照(22℃)进行血型鉴定，37℃ 卡式抗球蛋白法血清不规则抗体筛查，与 O 型献血者交叉配血，均未发现其血型特殊性。一旦输入 O 型红细胞，就有可能发生严重的溶血性输血反应。由于漏检 Omh 可导致类孟买血型在人群中表型频率估计时偏低。故我们建议福建地区遇到正反定不一致及 O 表型的人群时加做抗-H 检测，以免漏检孟买及类孟买血型。

类孟买血型的分子机制主要是由于 FUT1 基因突变导致 $\alpha$ -1, 2 岩藻糖基转移酶失去活性，无法催化 L-岩藻糖连接到前体糖链上形成 H 抗原。至今已发现近 62 种 FUT1 基因突变，包括 54 种单核苷酸突变、6 种缺失和 2 种插入突变。最常见的有 h1(547delAG)、h2(880delTT)、h3(658C>T)和 h4(35C>T)。目前 PCR-SSP 检测技术已应用于 ABO 和 FUT1 基因的初步分型，它克服了血型血清学的限制，具有简便、快速、可靠的特点。本研究中先证者与其四妹 ABO 基因分型结果分别为 BO<sub>2</sub>、O<sub>1</sub>O<sub>2</sub> 型，FUT1 基因分型结果均为 h1h1 型，与血型血清学方法所得结果一致，二者相互印证。ABO 基因测序显示先证者 ABO 基因型为 B101/O02，FUT1 基因测序显示先证者 FUT1 基因型为 h1h1 纯合突变，即第 547-552 处的 2 个核苷酸 AG 缺失。陶苏丹等已证实 FUT1547-552delAG 突变将导致阅读框架发生移码，在氨基酸第 268 位处提前出现终止密码，合成的氨基酸链长度为 267 个，只有野生型长度的 73.2%，使 $\alpha$ -1, 2 岩藻糖基转移酶失去活性，不能合成 H 抗原。此时即使 ABO 基因正常，A 酶或 B 酶合成正常，但由于缺乏 A/B 抗原的前体物质 H 抗原，A/B 抗原仍将无法合成或仅有微量合成。

类孟买血型人群虽然 FUT1 基因突变导致红细胞表面缺乏 ABH 抗原，但在其唾液等分泌液中仍可检出 ABH 血型物质，这是由于唾液中的 ABH 物质的分泌受另外 1 个基因座位 SE(FUT2)控制。类孟买血型者 FUT2

基因型为 Se/Se 或 Se/se，使其可分泌唾液 ABH 血型物质，并能通过此鉴定其 ABO 血型。如果为 H 抗原缺失的非分泌型，即基因型为 h/hse/se，则为另一种 H 缺陷型—孟买血型。由于 H 抗原具有很强的免疫原性，可引起严重的急性溶血性输血反应。同时抗-H 或抗-HI 能与所有 H 抗原阳性献血者红细胞发生严重的溶血性输血反应，因此类孟买型个体在随机人群中很难找到相合的血液进行输注。

综上，对于类孟买血型的患者可通过血型血清学方法获得快速准确的鉴定，同时应用分子生物学方法辅助鉴定其血型，进而采取特殊的输血策略，保障患者的输血安全。

#### **输血策略：**

类孟买型个体作为受血者时，最好采取同型 H 抗原缺乏的血液或自体输血。由于类孟买血型具有家族性遗传的特点，可在家系中进行筛查寻找合适供者或向血液中心申请寻找同型血液。在无同型或不具备自体输血条件下，在紧急输血时宜首选输注 37℃ 与患者血清无反应或反应最弱的 ABO 同型血液，输注之前预防性使用地塞米松或异丙嗪类药物，在输注过程中，全程严密观察是否出现输血不良反应，以便及时采取应对措施。

## **18 《由 ABO 正反定型不符发现类孟买血型》**

作者：朱永亮 许进明 李莺 史丽莉 周小玉

来源：《临床血液学杂志》2018 年 31 卷 8 期

#### **摘要：**

目的：研究类孟买血型的鉴定。

方法：用血型血清学、吸收放散试验检测 ABH 抗原及相应抗体，并进行唾液血型物质检测以及血型基因分型最终鉴定类孟买血型。

结果：常规血型血清学未检出 B、H 抗原、吸收放散试验检出 H 抗原，利用新生儿红细胞和标准红细胞与患者血清反应结果的对比检出抗 H 或抗 HI，Lewis 血型为 Le(a-b+)，唾液中检出 B、H 血型物质从而鉴定该患者血型为 B<sub>mh</sub>，和该例患者血型基因分型结果一致。

结论：规范疑难血型的鉴定是发现稀有血型和保证安全输血的必要条件。

#### **标本来源：**

患者，男，30岁，来我院进行 ABO 血型检验时发现正反定型不一致，排除操作误差、病史、输血史等的影响，于是进行进一步的规范鉴定研究。同时送江苏省血液中心进行基因测定。

### 血清学结果:

#### (1) 血型抗原抗体的鉴定

用血型微柱凝胶卡进行型鉴定时正反定不一致，于是立即按照规范用抗-AB，抗-H 和患者红细胞反应，用标准 A、B、O 红细胞及自身红细胞和患者血清在不同温度进行反应，结果见表 1。

表 1 ABO 血型抗原抗体鉴定结果

| 温度  | 正定型 |     |      |     | 反定型            |                |                |      |
|-----|-----|-----|------|-----|----------------|----------------|----------------|------|
|     | 抗-A | 抗-B | 抗-AB | 抗-H | A <sub>c</sub> | B <sub>c</sub> | O <sub>c</sub> | 自身 C |
| 22℃ | 0   | 0   | 0    | 0   | 4+             | 0              | 0              | 0    |
| 4℃  | 0   | 0   | 0    | 0   | 4+             | 1+             | 2+             | 0    |
| 37℃ | 0   | 0   | 0    | 0   | 4+             | 0              | 0              | 0    |

#### (2) 用新生儿的红细胞进行抗体鉴定

选用 B 型和 O 型新生儿红细胞和成人红细胞分别与患者血清在 4℃、37℃ 进行试验，由此说明 4℃ 时该患者的反定型凝集可为抗-HI 冷抗体引起，结果见表 2。

表 2 患者血清与新生儿及成人红细胞试验结果

| 温度  | 成人红细胞          |                | 新生儿红细胞         |                | 自身对照 |
|-----|----------------|----------------|----------------|----------------|------|
|     | B <sub>c</sub> | O <sub>c</sub> | B <sub>c</sub> | O <sub>c</sub> |      |
| 4℃  | 1+             | 2+             | 0              | 0              | 0    |
| 37℃ | 0              | 0              | 0              | 0              | 0    |

#### (3) 吸收放散试验

取放散液分别与试剂红细胞和新生儿红细胞在 4℃、37℃ 进行试管法反应，结果见表 3，表 4。未检出 B 抗原。吸收放散试验未检出 B 抗原，检出 H 抗原，可以排除孟买血型，考虑类孟买血型。

表 3 患者红细胞与抗 B 吸收放散液的试验结果

| 与抗 B 吸收<br>放散液 | 试剂红细胞          |                | 新生儿红细胞         |                | 自身<br>细胞 |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------|
|                | B <sub>c</sub> | O <sub>c</sub> | B <sub>c</sub> | O <sub>c</sub> |          |
| 4℃             | 0              | 0              | 0              | 0              | 0        |
| 37℃            | 0              | 0              | 0              | 0              | 0        |

表 4 患者红细胞与抗 H 吸收放散液的试验结果

| 与抗 H 吸收<br>放散液 | 试剂红细胞          |                | 新生儿红细胞         |                | 自身<br>细胞 |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------|
|                | B <sub>c</sub> | O <sub>c</sub> | B <sub>c</sub> | O <sub>c</sub> |          |
| 4℃             | 2+             | 3+             | 0              | 0              | 0        |
| 37℃            | 1+             | 2+             | 0              | 0              | 0        |

#### (4) Lewis 血型鉴定

Lewis 血型为 Le(a-b+)，患者为分泌型。

#### (5) 患者唾液血型物质的检测

抗 B 管完全抑制，抗 H 管部分被抑制，说明患者唾液中存在 B、H 血型物质，检测结果消化液与抗 A 吸收 3+；消化液与抗 B 吸收 O；消化液与抗 H 吸收+。

#### DNA 测序结果：

送江苏省血液中心进行基因测定。患者 ABO 基因测序结果为 B101/O01，FUT1 基因测序结果核苷酸 547-548AG 缺失，h1：nt 547-552 缺失 AG。FUT2(SE) nt 357C>T 同义突变。

#### 讨论：

类孟买血型在我国是一种极为罕见的血型。日常工作中，未按规范鉴定程序处理正反定型不一致的现象，易导致类孟买等稀有血型的漏检或误判，有报道类孟买血型易定为 O 型从而给安全输血带来隐患。我们在临床工作中碰到 1 例类孟买 B<sub>mh</sub> 血型患者，现报告如下。

类孟买血型是一种罕见的红细胞血型，是由于 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶基因突变导致红细胞表面 H 抗原部分或完全缺失，红细胞上缺乏血清学足以检出的 H 抗原，唾液中存在 H 物质，血清中可能含有抗 H 或抗 HI，在血清学正定型试验未检出 A 或 B 抗原时，易被误判成 O 型，所以正定型试验中应增加标准 O 细胞来预防误判。

由于类孟买血型的红细胞缺乏的 H 抗原，而 H 抗原是 A、B 抗原的前身物质，所以类孟买血型的 A、B 抗原表达极弱，本次试验中常规正定型和吸收放散试验均未检出 B 抗原。人源高效价抗血清比单克隆抗血清能提高患者红细胞上微量 A 或 B 抗原的检出。本次试验因标本量不足，未将 2 种方法进行比对。但在患者唾液血型物质的检测中检出 B 和 H 血型物质，证实该患者为 B<sub>mh</sub> 分泌型。

分子生物学试验中 ABO 基因测序结果证实患者含有 B 基因。FUT1 位点上的基因存在多态性，表现最多的主要有 FUT1 位点上的 4 个隐性基因，其中以 H1 (nt 547-552 缺失 A 和 G) 最为常见，该患者经过 FUT1 基因测序证实为最常见的 H1 型。

新生儿红细胞上 H 抗原反应性弱，这一特点可以解决试验中 H 抗原阴性红细胞无法获取的问题，通过新生儿红细胞和成人红细胞与患者血清的反应结果对比佐证患者血清中含有抗 H 或抗 HI，从而将抗 H 或抗 HI 与其他类型抗体进行区分。

#### **输血策略：**

类孟买血型患者如需输血，有报道称类孟买血清中的抗 H 或抗 HI 效价弱，在 37℃ 常无反应，此类孟买血型者可输 O 型或同型（在 37℃ 交叉配血无反应）的红细胞。若其抗 H 或抗 HI 在室温及 37℃ 有活性，故仅考虑 ABO 同型往往不能解决血液配合问题，需要多中心，多区域协作解决同型血液。对于符合自体输血指征的患者，应积极开展自体输血。无法找到同型供者需紧急输血时，在可用最小剂量的 ABO 同型红细胞，同时使用激素，缓慢输注，输注过程密切观察，做好输血不良反应的应变对策。

## **19 《一例 B<sub>mh</sub> 类孟买血型的基因分析》**

作者：王霓 宋文倩 夏悦昕 段莹 于卫建 周世航

来源：《中国输血杂志》 2019 年 8 月第 32 卷第 8 期

#### **摘要：**

目的：鉴定 1 例 ABO 正反定型不符的血型，并分析其基因变异情况。

方法：使用标准血清学方法鉴定患者血型；对 ABO 基因的第 6 和第 7 外显子进行 PCR 扩增及测序；对 FUT1 基因的第 4 外显子和 FUT2 基因的第 2 外显子进行 PCR 扩增及测序。

结果：经血清学检测，此例 ABO 血型正定型为 O 型，反定型为 B 型；Lewis 血型为 Le(a-b<sup>+</sup>)。经基因测

序分析, ABO 基因型为 B101/O01; FUT1 基因型为 h3/h3(c.658C>T 纯合突变); FUT2 基因型为 Se/Se。

结论: 发现 1 例由 FUT1 基因 c.658C>T 纯合突变导致的 Bmh 类孟买血型。

#### 标本来源:

女性, 55 岁, 辽宁省大连市人, 汉族, 因“乳腺癌”被收入大连医科大学附属第一医院。住院期间因术前备血鉴定血型, 发现 ABO 血型正反定型不符, 遂将血液标本送到本中心进行血型鉴定。

#### 血清学结果:

表 1 血型血清学鉴定结果

| 反应条件  | 红细胞与抗血清试剂 |     |      |     |                   |                   | 血清与红细胞试剂 |    |    |    |
|-------|-----------|-----|------|-----|-------------------|-------------------|----------|----|----|----|
|       | 抗-A       | 抗-B | 抗-AB | 抗-H | 抗-Le <sup>a</sup> | 抗-Le <sup>b</sup> | Ac       | Bc | Oc | 自身 |
| 4℃    | 0         | 0   | 0    | 0   | 0                 | 2+                | 4+       | 2+ | 2+ | 1+ |
| RT    | 0         | 0   | 0    | 0   | 0                 | 1+                | 3+       | 0  | 0  | 0  |
| 37℃   | 0         | 0   | 0    | 0   | 0                 | 1+                | 3+       | 0  | 0  | 0  |
| 吸收放散* | /         | 0   | /    | /   | /                 | /                 | /        | /  | /  | /  |

\* 分别使用单克隆抗-B 和多人份人源多克隆抗-B 做吸收放散实验

#### ABO 血型基因 DNA 测序结果:

应用 ABI 3730 型基因分析仪测定 ABO 基因第 6 和第 7 外显子的序列, 并与 GenBank 中 ABO 基因的标准序列进行比对分析。经测序分析, 该患者的 ABO 基因型为 B101/O01, 即 261G/-, 297A/G, 526C/G, 657C/T, 703A/G, 796A/C, 803C/G, 930A/G, 1096A/G。

#### FUT1 和 FUT2 基因序列分析:

应用 ABI 3730 型基因分析仪测定 FUT1 基因第 4 外显子和 FUT2 基因第 2 外显子的序列, 并与 GenBank 中 FUT1 和 FUT2 基因的标准序列进行比对分析。经序列测定及比对发现, 位于 FUT1 基因第 4 外显子编码区的 658 位碱基由 C 突变为 T(即 c.658C>T), 为纯合突变, 确定该患者 FUT1 基因型为 h3/h3; 三联密码子由 CGC 变成 TGC, 其编码的第 220 位氨基酸由精氨酸(Arg)变为半胱氨酸(Cys)(即 Arg220Cys 或 R220C)。FUT2 基因第 2 外显子的碱基序列与 GenBank 中 Se 型 FUT2 基因的标准序列完全一致, 确定该患者 FUT2 基因型为 Se/Se 分泌型。

#### 讨论:

类孟买血型是 1 种罕见的 ABO 亚型, 该亚型红细胞表面不存在 ABH 抗原, 而唾液等分泌液中存在 ABH 物质。类孟买血型本质是由 FUT1(H)基因变异而导致的, 而 FUT2(Se)基因型为 Se/Se 或 Se/se。FUT1(H)基因主要编码造血系统(如红细胞)的 $\alpha$ -1, 2 岩藻糖基转移酶, 其催化 GDP-L-半乳糖的糖基到前体分子末端半乳糖基的 C-2 位, 生成 H 抗原。FUT2(Se)基因编码其他组织的 $\alpha$ -1, 2 岩藻糖基转移酶, 其存在于分泌液(如

唾液和胃液)及血浆中。FUT1 和 FUT2 基因均位于 19 号染色体长臂(19q13.3), 位置相隔仅 35kb, 具有 70% 的同源性。

典型类孟买血型的 FUT1 基因型为 h/h, FUT2 基因型为 Se/Se 或 Se/se, Lewis 血型通常为 Le(a-b+), 也可见于 Le(a-b-)。此病例 ABO 血型正定型为 O 型, 反定型为 B 型, 因 ABO 正反定型不符送入本实验室进行血型鉴定。经血清学实验发现, 结果基本符合 Bmh 类孟买血型的血清学特点。通常在类孟买型血浆中的 A、B 抗原可以吸附到红细胞上, 并可以通过吸收放散实验检测到相应抗原的存在, 但我们无论使用单克隆抗-B, 还是使用多人份人源的多克隆抗-B, 均未检测到该患者红细胞表面有吸附的 B 抗原。

我们进一步对 ABO 基因进行了测序分析, 经 ABO 基因第 6 和第 7 外显子测序和比对, 我们发现患者的 ABO 基因型为 B101/O01。FUT1(H)基因第 4 外显子测序结果显示, 患者的 2 条 FUT1 等位基因发生了纯合突变(h3/h3), 突变位点为 c.658C>T, 该突变使 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶的第 220 位氨基酸由精氨酸(Arg)被半胱氨酸(Cys)取代, 从而导致造血细胞的 $\alpha$ -1, 2 岩藻糖基转移酶活性丧失。经不同物种 FUT1 基因编码的 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶的氨基酸序列比对, 我们发现 220 位的精氨酸(R)及其上下游共 13 个氨基酸在不同物种中呈现高度保守, 提示其对酶的活性起着至关重要的作用, 推测包括 220 位精氨酸在内的这 13 个氨基酸参与形成酶的活性中心结构域。220 位带正电荷的碱性氨基酸精氨酸突变为不带电荷、但含有巯基的半胱氨酸, 可能导致蛋白质的理化特性及空间构象发生变化, 使酶彻底丧失活性, 导致 H 抗原不能形成, 而以 H 抗原为前体物质的 A、B 抗原也就无法合成。

Bmh 类孟买血型患者的唾液等分泌液中存在 H 和 B 物质, 检测患者分泌液中是否存在 H 物质和 B 物质是明确其是否为分泌型的最直接证据。由于我们难以获得用于检测的分泌液标本, 所以只能通过检测 FUT2 基因以及 Lewis 血型来确定该患者是否为分泌型。FUT2 基因测序结果表明, 该患者 FUT2 基因型为 Se/Se, 为分泌型。患者 Lewis 血型为 Le(a-b+), 也表明患者分泌液中含有 H 物质。因此, 我们可以确定该患者为分泌型。综合血清学实验结果及 ABO、FUT1 和 FUT2 基因序列分析, 我们确定该患者是由 FUT1 基因 c.658C>T 纯合突变导致的 Bmh 类孟买血型。

遗憾的是, 我们未能进行家系调查, 如进行家系调查将有助于阐明该患者 FUT1 基因 c.658C>T 突变是遗传性的, 与患者的乳腺癌无关。

到目前为止, 在人类基因突变数据库中共查到 FUT1 基因突变 51 种, 其中绝大多数(40 余种)为错义突变或无义突变。碱基缺失、碱基插入、小片段删除和插入也有发现, 均发生在基因编码区; 但剪接区和调

控区的突变目前并未发现。此外，还发现过 FUT1 整个基因缺失。研究表明，h1(c.547delAG)、h2(c.880delTT) 和 h3(c.658C>T)这 3 种 FUT1 基因突变是导致中国人发生类孟买血型最常见的突变位点。我们发现的此例类孟买血型 h3/h3(c.658C>T)，仅在中国人群中报道过。

在临床工作中，经常会遇到由各种原因引起的 ABO 血型正反定型不符的情况，需要进一步检测和分析。在发现正定型为 O 型、反定型不是 O 型时，应及时想到类孟买/孟买的罕见血型，加做抗-H 等血清学实验，并通过分子生物学实验阐明其分子机制，从而准确地判断患者的血型，为患者输血提供合理的建议，保证患者安全有效的输血治疗。

## 20 《一例类孟买血型 FUT1 新等位基因的鉴定》

作者：俞露 贺云蕾 许德义 郭雯玉 邓刚

来源：《中华医学遗传学杂志》2019 年 6 月第 36 卷第 6 期

### 摘要：

目的：对 1 例类孟买血型个体进行表型鉴定和分子机制研究。

方法：对先证者的 ABO 基因第 5 内含子到 3'-UTR 和  $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶基因(FUT1)第 4 外显子进行 PCR 扩增。直接测序分析其 DNA 序列；对纯化的 FUT1 扩增产物进行 TA 克隆和测序，并对变异位点进行单倍型序列分析。

结果：测序结果显示先证者 ABO 基因型为 B101/O01，与 ABO 血清型相符合；FUT1 基因单倍型为 547-552delAG、35C>T 和 293C>T 复合变异。此等位基因为一新的基因复合变异，已提交 NCBI，序列号为 MG597611。

结论：在类孟买血型个体的 FUT1 基因存在 547-552delAG、35C>T 和 293C>T 复合变异。

### 标本来源：

本市临床医院送本血站（宁波市中心血站）检测的 1 例 ABO 正反定型不符的汉族女性。

### 血清学结果：

正定型：抗-A、抗-B 未出现凝集，反定型：A 细胞有凝集、B 和 O 细胞标准均未凝集。Lewis 血型为 Le(a-, b+)。直接抗球蛋白试验结果为阴性，见表 1。吸收放散试验显示：经抗-B 吸收后红细胞释放液与 B 细胞反

应有微弱的凝集，证实先证者红细胞上有弱的 B 抗原。唾液中和抑制试验证实唾液中存在 B、H 物质，为分泌型。

表 1 ABO、H、Lewis 血型鉴定结果

| 反应温度<br>(℃) | 红细胞与抗血清试剂 |     |      |     |                   |                   |       | 血清与试剂红细胞 |    |    |      | 血型              |
|-------------|-----------|-----|------|-----|-------------------|-------------------|-------|----------|----|----|------|-----------------|
|             | 抗-A       | 抗-B | 抗-AB | 抗-H | 抗-Le <sup>a</sup> | 抗-Le <sup>b</sup> | 广谱抗人球 | Ac       | Bc | Oc | 自身细胞 |                 |
| 4           | 0         | 0   | 0    | 0   | 0                 | 2+                | 0     | 4+       | 0  | w  | 0    | Bm <sup>h</sup> |
| 22          | 0         | 0   | 0    | 0   | 0                 | 1+                | 0     | 3+       | 0  | 0  | 0    |                 |
| 37          | 0         | 0   | 0    | 0   | 0                 | 1+                | 0     | 3+       | 0  | 0  | 0    |                 |

### DNA 测序结果:

送深圳华大基因公司进行直接测序。

#### (1) ABO 基因分型

先证者 ABO 基因第 6、7 外显子序列含 261delG 缺失,其余序列与参考序列 A101 等位基因比对存在 526C>G、657C>T、703G>A、796C>A、803G>C、930A>G、1096A>G 杂合变异。符合 B101/O01 特征,基因型与其 ABO 血清型相符合。

#### (2) FUT1 基因测序分析

直接测序显示先证者 FUT1 基因有 35C>T 杂合变异、293C>T 杂合变异和 547-552AG 杂合缺失。TA 克隆后单倍型测序进一步证实 1 个单倍型上 FUT1 基因存在 547-552 位 AG 两碱基缺失;另 1 个单倍型上存在 35C>T 和 293C>T 杂合变异,为一种新的复合变异,此等位基因已提交 NCBI,序列号为 MG597611。

### 讨论:

H 抗原是 A 抗原和 B 抗原的前体,由 FUT1 和 FUT2 基因控制,FUT1 和 FUT2 基因共同编码 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶,且均位于人类染色体 19q13.3 上,相隔仅 35kb,有连锁遗传的可能。FUT1 有 4 个外显子,FUT2 有 2 个外显子。其中仅 FUT1 的第 4 外显子和 FUT2 的第 2 外显子具有编码能力。由 FUT1 编码的酶(含 365 个氨基酸)将 H 抗原前体转化为 H 抗原并表达于红细胞表面,而由 FUT2 编码的酶(含 332 个氨基酸)则决定 H 抗原是否在分泌液中表达。已证实 FUT1 基因的异常是形成类孟买血型的重要分子基础,我们对 1 名类孟买血型个体进行 FUT1 基因测序分析,探讨其分子机制。

孟买型或类孟买型是一种罕见的红细胞表型,孟买型在我国非常罕见,类孟买型则相对较多。在香港人群中类孟买型的比例为 1/15620、台湾人群为 1/8000、福建人群为 1/8500、云南拉祜族人群中类孟买血型个体频率可达 1.88%。

H 抗原是 H 血型系统的唯一抗原，是 A、B 血型抗原形成的基础。FUT1 基因编码的 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶催化 L-岩藻糖连接到前体糖链上从而形成 H 抗原。因此，类孟买血型的形成与 FUT1 基因异常密切相关。本研究团队也报道过中国人类孟买型 h 等位基因(896A>C)。据不完全统计，至今国内外已报道的与 H 缺陷相关的 FUT1 基因变异类型近 64 种，其中与类孟买型相关的近 38 种，包括缺失、错义变异和插入变异等。

经过 TA 克隆及测序证实，本例类孟买血型个体的 1 条染色体上 FUT1 基因为 h1(547-552delAG)，这在中国类孟买型个体中相对常见，国内已有多篇文献报道由 547-552delAG 纯合或杂合变异引起的类孟买表型。547-552delAG 引起的移码变异导致氨基酸多肽链在 268 位提前终止，使 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶失去活性，不能合成 H 抗原。另 1 条染色体上 FUT1 基因为 hnew(35C>T、293C>T)，即在 h4(35C>T)变异的基础上增加了 293C>T 的变异，导致 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶 Ala12Val 和 Thr98Met 替换。h4 等位基因是 Yu 等在中国台湾 1 例类孟买型个体发现的 FUT1 基因 35C>T 变异，该变异导致 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶 Ala12Val 替换。而许先国等对 35T 在人群中的频率进行调查，在 158 名正常成人血型样本中发现 8 名 35TT 纯合子和 67 名 35CT 杂合子个体的 ABO 和 H 血型均为正常，认为 35C>T 是一种基因多态性，基因变异并不引起类孟买型。马开荣等也在 140 名随机样本发现部分 35C/T 多态性位点，而未发现其他 FUT1 基因变异。但是这并不能解释郭忠慧等报道 1 例 h4h4 纯合子类孟买型个体(仅 35TT)。而 FUT1 基因 293C>T 变异则是 2005 年 Yan 等首次报道的我国 293C>T 变异的类孟买型个体，该变异导致 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶 Thr98Met 替换。

在本例类孟买血型的分子鉴定中，由于未能采集到先证者家系血样，无法进行家系遗传分析。我们认为，由于 FUT1 基因的遗传方式是常染色体隐性遗传，因此不管 35C>T 是否为一种基因多态性，该个体的 1 条染色体已有 547-552delAG 引起的移码变异导致 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶失去活性，而 35C>T、293C>T 杂合变异导致另 1 条染色体上 FUT1 基因编码的 $\alpha$ -1,2 岩藻糖基转移酶也表达异常，不能合成 H 抗原，从而形成类孟买表型。

## 21 《罕见类孟买 Amh Rh Del 血型的鉴定和输血策略分析》

作者：张乃淙，沈志辉，周小芹，苏巧燕，梁声强

**摘要：**

目的：鉴定一例患者的特殊血型抗原和血清学特点，提出输血策略。

方法：采用血清学方法进行 ABO 型正反定型、H 和 D 抗原检测、红细胞吸收放散试验和唾液中和试验，利用 PCR-序列特异性引物法(PCR-SSP)进行 FUT1、FUT2 和 RHD 基因测序，检测红细胞血型和血清学特点。

结果：常规血清学方法和间接抗人球蛋白法未检测出 ABH 和 D 抗原。吸收放散试验检测出 A 抗原和 D 抗原，唾液中和试验检测出 A 抗原和 H 抗原。血清抗体检测结果无抗-D、有抗-HI。基因测序结果显示，FUT1 存在 547\_548delAG 与 881\_882delTT 突变，FUT2 存在 357C>T 纯合突变，RHD 一条链缺失，一条链存在 1227G>A 纯合突变。

结论：经多方法检测，确认该病例为类孟买 Amh Rh Del 血型。临床上对于稀有血型的正确鉴定，并采取合适的输血方案，可保障患者的输血安全。

**标本来源：**

男，62 岁，汉族，因慢性阻塞性肺疾病急性发作入院，无输血史，术前常规检查血型提示 ABO 血型正反定型不符，RhD 阴性。

**血清学结果：**

正定型 O 型，反定型三管均为不同强度的凝集，正反定型不符，自身对照阴性，D 抗原阴性，H 抗原阴性，血型鉴定结果见表 1。

**表 1 血型鉴定(试管法)**

| 正定型 |      |     |     |      |     | 反定型 |    |    |      |
|-----|------|-----|-----|------|-----|-----|----|----|------|
| 抗-A | 抗-A1 | 抗-B | 抗-D | 抗-AB | 抗-H | A1c | Bc | Oc | 自身细胞 |
| -   | -    | -   | -   | -    | -   | 2+  | 4+ | 3+ | -    |

RhD 确认试验为阴性，未检测到 D 抗原。红细胞吸收放散试验，人源抗 A 吸收放散液与 A 细胞反应有凝集，抗 D 吸收放散液与 O 细胞反应有凝集，证明红细胞上有 A 抗原、D 抗原(表 2)。

**表2 红细胞吸收放散试验(微柱凝胶法)**

| 人源抗 A 吸收放散液 |    |    | 人源抗 B 吸收放散液 |    |    | 抗 D 吸收放散液 |
|-------------|----|----|-------------|----|----|-----------|
| Ac          | Bc | Oc | Ac          | Bc | Oc | Oc        |
| 2+          | 0  | 0  | 0           | 0  | 0  | 2+        |

唾液中中和试验检测出 A 抗原和 H 抗原。血清用 O 型阴性红细胞吸收后进行不规则抗体筛查试验, I、II、III 号细胞均为阴性, 证明无抗-D。血清与成人 O 细胞和 A 细胞凝集强度相同, 脐血 O 细胞仅有较弱凝集, 证实血清中有抗-HI。

**PCR-SSP 检测结果:**

人类红细胞 ABO 血型基因分型试剂盒(荧光 PCR 法), 批号: 301181211, 人类红细胞 RhD 基因分型试剂盒(荧光 PCR 法), 批号: 20180823(均江苏中济万泰生物医药有限公司)。ABO 基因分型结果为 A/O01 型。RhD 基因分型结果为 1227+。

**DNA 测序结果:**

基因测序由江苏中济万泰生物医药有限公司提供技术支持。与参比序列(NM\_000148)对比, FUT1 测序结果存在 547\_548 del AG 突变与 881\_882 del TT 突变; 与参比序列(U17894)对比, FUT2 测序结果存在 357 C>T 纯合突变。根据 ABO 基因分型及 FUT1、FUT2 测序结果, 该患者为类孟买血型。RhD 外显子测序结果为 1227 G>A。推测该患者有 1 条 RHD 等位基因缺失, 另一条等位基因为 Del 1227。

**讨论:**

类孟买血型为罕见的红细胞血型, 属于 Hh 血型系统。H 抗原合成受 FUT1 及 FUT2 基因调控, 其中 FUT1 基因是 H 基因, FUT2 基因是 Se 基因, 二者位于 19 号染色体, 是紧密连锁的 2 个位点, 均编码 $\alpha$ -2-岩藻转移酶, H 基因编码的糖基转移酶作用底物是 II 型糖链, 主要将红细胞 II 型寡糖前体链转化为 H 抗原, Se 基因编码的糖基转移酶作用底物是 I 型糖链, 主要将分泌液 I 型寡糖前体链转化为分泌型 H 抗原。类孟买血型缺乏 H 基因, 其基因为 hh, 但至少有一个 Se 基因。H 抗原是 A 抗原和 B 抗原的前体物质, 类孟买血型红细胞因 H 抗原缺失导致红细胞上无或仅有少量 A、B 抗原, 与抗-A 或抗-B 单克隆血型试剂不发生或仅发生极弱凝集反应, 且红细胞上 H 抗原缺失导致产生的抗-HI 能与反定型细胞发生不同凝集强度的凝集反应, 所以, 类孟买血型在平时的血型鉴定中易误判为 O 型。同时也造成交叉配血困难, 只有相同 H 抗原缺乏型血

才能主次侧交叉配血相合。

Rh 血型系统在临床上的重要性仅次于 ABO 血型系统，其中抗原性最强的为 D 抗原，是临床上引起溶血性输血反应和新生儿溶血病的重要原因。RhD 抗原又因其分子遗传机制的多态性而存在多种变异体，包括弱 D 型、部分 D 型和放散 D(Del)型等。这些变异会导致红细胞上的 D 抗原数量减少或 D 抗原强度减弱而变得难以检测，但它们仍能使 RhD 阴性受血者产生抗-D。其中表型 D-/D-抗原量最多，Del 抗原量最少。Del 在亚洲与欧洲人群中突变位点不同，中国汉族中常见的是 RHD1227A 等位基因。

笔者在临床实践中发现 1 例稀有血型患者，对其血型进行了鉴定，通过血清学和基因突变分析，准确鉴定为类孟买 Amh Rh Del 血型。此类血型的正确鉴定，可有效避免新生儿溶血病的发生，为临床患者安全、有效的输血提供保障。

该患者经血清学和分子生物学鉴定为类孟买 Amh Rh Del 血型。类孟买血型的概率在我国香港约为 1/15620，台湾约为 1/8000，福建约为 1/8500。RhD 阴性血型在汉族随机人群中概率约为 3/1000，中国人初筛 RhD 阴性的人群中，香港人群 Del 占 30%，内地占 20%~30%。所以说，类孟买 Amh Rh Del 血型是一种极其罕见的红细胞血型，检索文献至今国内未见相关报道。

类孟买主要特征为红细胞表面 H 抗原部分或全部缺失，而分泌液中存在 H 血型物质。本例患者因正反定型不一致作进一步检测时发现，其红细胞与抗-H 血清反应阴性，但红细胞吸收放散试验检测出 A 抗原，唾液中检测出 A 抗原和 H 血型物质。分子生物学鉴定表明，FUT1 存在 547\_548 del AG 突变与 881\_882 del TT 突变，FUT2 存在 357C>T 纯合突变，证明患者的血型为类孟买 Amh。

Del 型的特点是红细胞膜上 D 抗原非常弱，且强度极低，D 抗原的表位数量<30 个，用常规血清学方法常漏检，易误判为 D 抗原阴性。但用吸收放散试验在放散液中可检测到抗-D 抗体，因此证明这些阴性红细胞实际上带有微弱的 D 抗原。Del 型、弱 D 型很少能产生同种抗-D，而部分 D 型常常存在高风险的 D 抗原免疫，因此区分 Del 型、弱 D 型和部分 D 型十分重要。本例抗-D 盐水法和间接抗人球蛋白法均为阴性，通过红细胞吸收放散试验检测出 D 抗原。分子生物学鉴定表明，RHD 一条等位基因缺失，一条等位基因为 Del 1227，证明患者的血型为 Del 型。

本例中，因患者家属不配合未进行家系调查，故难以明确其类孟买 Amh Rh Del 血型的遗传规律。

#### **输血策略：**

血型鉴定是临床输血的基础，是输血前备血的关键，亦是临床医师救治患者的保证。类孟买 Amh Rh Del 血

型作为受血者时，就该患者而言，存在抗-HI、无抗-D，抗-HI 多数为冷抗体，在 37℃ 条件下不反应或反应较弱，不一定会给微柱凝胶法的抗体筛查和交叉配血带来干扰，但交叉配血相合并不能表明血液输注就安全有效，故首选同型的类孟买 Amh Rh 阴性血液输注，次选同型的类孟买 Amh Rh 阳性血液输注。由于类孟买血型已十分罕见，又要求 RhD 阴性，几乎找不到完全相同的血型。故对于择期手术此类特殊血型的患者，应根据其临床状况尽量采用贮存式及稀释式自体输血。此类患者在应急输血或血源紧缺的野战输血时，应以抢救生命为第一原则的前提下，根据 ABO 血型各型红细胞上 H 抗原的强弱：O>A2>B>A2B>A1>A1B，以及患者抗-A、抗-B、抗-D、抗-HI 的实际情况，选择 37℃ 与患者血清反应最弱的 ABO 血型同型的血液，用血液专用加温装置将血液预温至 37℃，以最小剂量进行输血治疗。对于有生育要求的女性患者应尽量寻找 RhD 阴性血液。

## 22 《1 例类孟买血型的鉴定及分子机制研究》

作者：赵倩 王振雷 苏蔓 郭霞 何路军

来源：《临床血液学杂志》2019 年 32 卷 2 期

### 标本来源：

来自我中心(河北省血液中心)1 例健康无偿献血者，男，22 岁，汉族，由检验科鉴定 ABO 血型为正定 O 型，反定 B 型，正反定型不符，取 EDTA 抗凝全血 5ml 送我实验室做进一步鉴定。

### 血清学结果：

#### (1) ABO 正反定型及 H 抗原鉴定

正定型受检红细胞与抗-B 反应为 2+，与抗-A、抗-H 反应为阴性，O 细胞与抗-H 反应为 4+（强阳性对照），B 细胞与抗-H 反应为 1+（弱阳性对照）。反定型受检血浆与 Bc 和 Oc 细胞有弱凝集，与自身细胞反应为阴性，见表 1。

表 1 ABO 正反定型及 H 抗原鉴定结果

| 反应条件 | 正定型 |     |                 |     |    |    | 反定型             |     |                 |                 |      |
|------|-----|-----|-----------------|-----|----|----|-----------------|-----|-----------------|-----------------|------|
|      | 抗-A | 抗-B | 抗-AB            | 抗-H |    |    | A1c             | A2c | Bc              | Oc              | 自身 c |
|      |     |     |                 | Pc  | Oc | Bc |                 |     |                 |                 |      |
| 室温   | 0   | 2+  | 1+ <sup>w</sup> | 0   | 4+ | 1+ | 3+ <sup>s</sup> | 2+  | ±               | ±               | 0    |
| 4℃   | 0   | 2+  | 1+ <sup>w</sup> | /   | /  | /  | 3+ <sup>s</sup> | 2+  | 1+ <sup>w</sup> | 1+ <sup>w</sup> | 0    |

## (2) 吸收放散试验结果

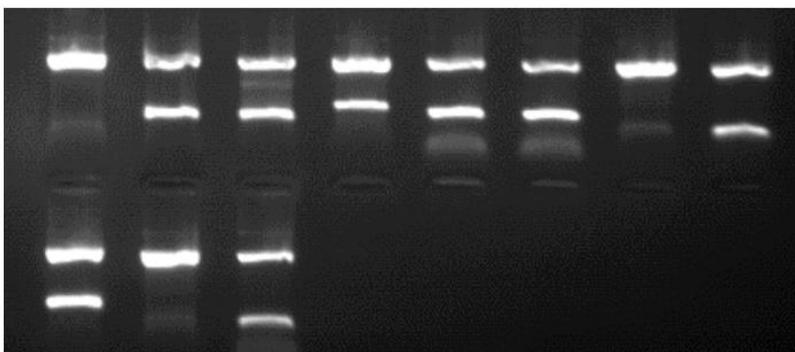
受检血浆与 O 细胞的吸收上清液和放散液与 O 细胞、O 型脐血细胞和 B 细胞反应结果见表 2，放散液与 O 细胞在仅在 4℃ 有弱凝集，与 O 脐细胞不反应。表明受检者血浆中存在弱的抗-HI。Lewis 血型鉴定结果该样本 Lewis 血型为 Le(a-b+)，间接证明其为分泌型。

表 2 吸收放散试验结果

| 反应条件 | 吸收上清液 |       |    | 放散液             |       |    |
|------|-------|-------|----|-----------------|-------|----|
|      | Oc    | O 脐 c | Bc | Oc              | O 脐 c | Bc |
| 室温   | 0     | 0     | 0  | 0               | 0     | 0  |
| 4℃   | 0     | 0     | 0  | 1+ <sup>w</sup> | 0     | 0  |

## PCR-SSP 检测结果:

使用 **ABO 血型基因分型试剂盒 (天津市秀鹏生物技术开发有限公司)**，该样本基因分型结果为 BO2，见图 1。



注:第 2、3、4、5、6、8、9、11 孔出现阳性带,分型结果为 BO2。

图 1 ABO 基因 PCR-SSP 分型结果

## DNA 测序结果:

本例样本 FUT1 基因直接测序结果表明，一条链在 547-552 位点缺失 AG，为中国人群较常见的 h1 型；另外一条链在 424 位点发生 C>T 错义突变，导致 $\alpha$ 1,2-L-岩藻糖基转移酶第 142 位氨基酸由精氨酸突变为色氨酸，为 h9 型。该样本类孟买基因型为 h1/h9 杂合型。

## 讨论:

类孟买血型常因正反定型不符，H 抗原为阴性而被发现。由于红细胞表面 H 抗原部分或者完全缺失，

直接影响到 A、B 抗原的形成，正定型与单克隆抗-A 或抗-B 仅发生很弱的凝集反应，一般要通过吸收放散试验才能检测到红细胞上的 A 抗原或 B 抗原，而血清中常含有不同活性的 IgM 性质的抗-H 或抗-HI，常与反定型细胞发生不同程度的凝集。本例样本的特点是，红细胞上含有少量的 B 抗原，可以通过正定型检出，此类抗原一般被认为是来自于血清中糖脂类血型物质的吸附。反定型与 B 细胞和 O 细胞有弱凝集，与自身细胞不凝集。受检血浆与 O 细胞的吸收放散液与 O 细胞仅在 4℃有弱凝集，与 O 型脐血细胞不反应，符合抗-HI 的特点。

由于类孟买血型是 H 缺乏的和 H 部分缺乏的分泌型，除了要鉴定红细胞上的 H 抗原，还要鉴定其唾液等分泌液中是否存在 ABH 血型物质。本例受样本来源限制，未进行唾液型物质检测。在分泌型个体中，Lewis 基因 (FUT3) 编码的糖基转移酶，催化一个岩藻糖基到分泌液的 H 物质上，产生 Leb 抗原，而非分泌型无 H 抗原出现，则催化一个岩藻糖基到 H 前体物质上，产生 Lea 抗原。因此类孟买型的 Lewis 血型表现为 Le(a-b+) 或者 Le(a-b-), 而不会表现为 Le(a+b-), 本例样本 Lewis 血型为 Le(a-b+), 间接证明其为分泌型。

H 抗原的合成是由 $\alpha$ 1,2-L-岩藻糖基转移酶催化，由 GDP-L-半乳糖提供糖基到前体分子末端半乳糖基的 C-2 位上形成。H 抗原在红细胞上的表达受控于 H (FUT1) 基因，该基因定位于 19q13.3，全长 7380 bp，共有 4 个外显子，只有第 4 外显子具有编码能力，编码合成的糖基转移酶由 365 个氨基酸组成。H 抗原缺乏表现型的形成机制是由于 FUT1 基因突变导致 $\alpha$ 1,2-L-岩藻糖基转移酶失去活性，无法催化 L-岩藻糖连接到前体糖链上形成 H 抗原。目前国际上已发现 60 多种 FUT1 基因突变类型，包括 54 种单核苷酸突变、6 种缺失和 2 种插入突变，最常见的是 h1 (547-552delAG)、h2 (880-882delTT)、h3 (658C>T) 和 h4 (35C>T)，在中国人群最常见的突变为前 3 种。本例样本的类孟买基因型为 h1/h9 杂合型。FUT1 基因直接测序表明，一条链在 547-552 位点缺失 AG，导致阅读框架发生移码提前形成终止密码，造成氨基酸第 184-267 位发生改变，在氨基酸第 268 位合成链被终止，使 $\alpha$ 1,2-L-岩藻糖基转移酶失去活性，不能合成 H 抗原，为中国人群较常见的 h1 型；另一条链在 424 位点发生 C>T 错义突变，为 h9 型。h9 型较为罕见，由池泉等人于 2012 年首次报道，其机制为 424 位点发生 C>T 错义突变，即 CGG>TGG，使第 142 位氨基酸由精氨酸突变为色氨酸，可能导致合成产物的酶促反应结合关键部位缺失，从而使酶产物活性丢失。本例样本 ABO 基因分型为 BO<sub>2</sub>，虽然编码 B 糖基转移酶的基因是正常的，但由于缺乏 H 抗原，也不能正常合成 B 抗原。

由于类孟买血型在不同的民族、地域、人群中的分布和遗传具有不同的特点，在我国的分布也具有明显的多态性，如在台湾人群中频率约为 1/8000，在香港约为 1/15620，在中国大陆的报道主要见于南方，福

建地区与台湾类似，约为 1/8500，在云南少数民族拉祜族中，由于近亲结婚和本族内通婚造成 H 抗原缺乏表现型频率高达 1.88%。因此，对该类人群进行血清学鉴定和分子机制的研究，进而建立相应的供者库，对解决该类稀有血型患者的输血问题具有重要的意义。

#### **输血策略：**

类孟买血型的个体属于分泌型，血清和分泌液中存在 ABH 血型物质，其血清中往往存在对应的不规则的抗-A、抗-B 和抗-H，虽然这些抗体通常情况下较弱，但有的在 37℃ 下有一定活性，因此类孟买血型的个体作为受血者时，首选自体输血或同型 H 抗原缺乏的血液。在自体输血困难和找不到同型 H 抗原缺乏的血液时，要综合考虑患者体内的不规则抗-A、抗-B 和抗-H 的实际情况，选择 37℃ 下与患者血清无反应或反应最弱的 ABO 同型血液输注。

下期主题：嵌合体的基因分析



**为中国血型基因检测贡献力量!!!**

**为人民服务!!!**