

· 论 著 ·

急性白血病患者 ABO 血型抗原减弱与配血输血关系研究

赵素蓉, 宋 郊

(四川省广元市第一人民医院输血科 628017)

摘要:目的 探讨急性白血病(AL)患者 ABO 血型抗原减弱表现形式、正确鉴定方法及其与输血的关系。方法 选取 2013 年 1 月至 2016 年 6 月该院血液科收治的 AL 患者 200 例为研究对象,采用血型血清学方法鉴定 ABO 血型,筛查出 ABO 血型抗原减弱的患者,并采用聚合酶链反应-序列特异性引物法(PCR-SSP)分析 ABO 血型抗原减弱的患者基因分型,根据基因分型结果对患者行同型输血,并与同期血型抗原正常组输血效果进行比较。结果 200 例 AL 患者中 ABO 血型抗原减弱发生率为 24.00%(48/200),其中急性髓系白血病(AML)占 34.40%(43/125),急性淋巴细胞白血病(ALL)占 6.67%(5/75)。经基因分型,48 例 ABO 血型抗原减弱患者中,A 抗原减弱 18 例,确定为 A 血型;B 抗原减弱 22 例,确定为 B 血型;A/B 抗原均减弱 8 例,确定为 AB 型血。ABO 血型抗原减弱输血反应情况与血型抗原正常组相似,2 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 AL 患者 ABO 血型抗原减弱发生率较高,多见于 AML 患者,对 ABO 血型抗原减弱患者行血型基因学检测将有助于区分 ABO 血型,从而实现同型输血,以改善患者抗原功能,恢复患者健康。

关键词:急性白血病; ABO 血型; 抗原减弱; 配血; 输血

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.08.021 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)08-1101-03

Relationship between ABO blood group antigens weakening with blood matching and blood transfusion in patients with acute leukemia

ZHAO Surong, SONG Jiao

(Department of Blood Transfusion, Guangyuan Municipal First People's Hospital, Guangyuan, Sichuan 628017, China)

Abstract: **Objective** To investigate the manifestations and correct identification method of ABO blood group antigens weakening in the patients with acute leukemia(AL) and its relation with blood transfusion. **Methods** Two hundreds patients with AL in the hematology department of our hospital from January 2013 to June 2016 were selected as the research subjects. The ABO blood group was identified by using the serological method. The patients with ABO blood group antigens weakening were screened out. Their genotypes were analyzed by adopting the polymerase chain reaction-sequence specific primer(PCR-SSP) method. Then homo-type blood transfusion was performed according to the genotyping results, moreover which were compared with blood transfusion effect in the blood group antigens normal group at the same period. **Results** Among 200 cases of AL, the occurrence rate of ABO blood group antigens weakening was 24.00%(48/200), in which acute myeloid leukemia(AML) accounted for 34.40%(43/125) and acute lymphocytic leukemia(ALL) accounted for 6.67%(5/75). After genotyping, 48 cases of ABO blood group antigens weakening, A antigen weakening was in 18 cases, which was identified as the A blood group; B antigen weakening was in 22 cases, which was identified as the B blood group; A/B antigens were decreased in 8 cases, which were identified as the AB blood type. The transfusion reactions situation of ABO blood group antigens weakening was similar to that of the normal blood group antigens group, The difference between these two groups had no statistical significance($P>0.05$). **Conclusion** ABO blood group antigens weakening has higher incidence rate in the patients with AL, which is more common in AML patients, conducting the blood group genetic detection in the patients with weakened ABO blood group antigens is conducive to distinguish the ABO blood group, thus to realize the same type of blood transfusion in order to improve the patient's antigen function and recover the patient's health.

Key words: acute leukemia; ABO blood group; antigen weakening; blood matching; blood transfusion

急性白血病(AL)是指一类具有不同生物形态学、分子生物学、细胞遗传学及免疫表型的造血干细胞恶性病变性疾病^[1]。血型是指血液中各种成分(如血小板、白细胞、红细胞等)遗传多态性,ABO 血型为红细胞表面抗原,具有稳定遗传的特征^[2]。正常情况下,ABO 血型不会发生改变,但大量临床报告显示,恶性病变会导致 ABO 抗原减弱,使得血型暂时性变异,从而影响 ABO 血型鉴定,给临床配血造成一定影响^[3]。由于恶性病变所致的 ABO 血型改变仅局限于免疫血清学上的改变,并不会引起基因型的改变,因此有必要从

基因学角度对 AL 患者血型进行鉴别^[4]。本研究选取 2013 年 6 月至 2016 年 6 月本院血液科收治的 AL 患者 200 例为研究对象,探讨 AL 患者 ABO 血型抗原减弱表现形式、正确鉴定方法及其与输血的关系,旨在为临床血液病患者输血提供指导。

1 资料及方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2016 年 6 月本院血液科收治的 AL 患者 200 例为研究对象,患者均符合《血液病诊断及疗效标准》中相关标准,均经细胞病理学确诊,所有患者均签

署知情同意书愿意配合研究,本研究获得本院医学伦理组织批准。其中男 120 例,女 80 例;年龄 3~78 岁,平均(42.2±3.8)岁;急性髓系白血病(AML)125 例,急性淋巴细胞白血病(ALL)75 例。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 微柱凝胶法血型鉴定专用离心机由瑞士 DiaMed 公司提供;乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管购于北京美科美生物技术开发有限公司;2000-2 型离心机由广州智祥生物科技有限公司提供;HW-100 恒温水浴箱购于南京泰斯特试验设备有限公司;9700 型聚合酶链反应(PCR)扩增仪购于杭州汇尔仪器设备有限公司。单克隆 A 抗、单克隆 B 抗、单克隆 H 抗、单克隆 A¹ 抗、单克隆 AB 抗均购于上海华泰生物工程实业有限公司;抗-A、抗-B、抗-AB、抗-O 型试剂红细胞购于北京金豪制药有限公司;ABO/D 血型鉴定卡购于瑞士达亚美 AG 公司;DNA 提取试剂盒购于北京博凌科为生物科技有限公司;人类 ABO 血型基因检测试剂盒由天津市秀鹏生物技术开发有限公司提供。

1.2.2 ABO 血型鉴定 血型正、反定型采用盐水介质试管法筛查,对于正、反定型不符合者,采用抗-A/B 血清,ABO 血型采用微柱凝集法级试管法鉴定,在显微镜下观察红细胞聚集状态,具体操作参照《中国输血技术操作规程》。

1.2.3 ABO 血型基因鉴定 采用聚合酶链反应-序列特异性引物法(PCR-SSP)。(1)DNA 提取:抽取患者静脉血 5 mL,取 300 μL 全血加入 900 μL 提取试剂混匀震荡以打破核细胞团,经离心后留取悬浮物。加入 200 μL L2 Buffer,充分震荡后将溶解物放入离心柱子中离心后弃去过滤液。加入 400 μL 提取液到离心柱子中,离心后弃滤过液。加入 600 μL 提取液到离心柱子中,并弃去过滤液,同时转移至另一离心管中,加入 5 μL Elution Buffer 于 60~65 °C 中浸泡 1 min 后离心 30 s,弃去上清液,以获得 DNA。(2)扩增:94 °C 2 min 预变性,94 °C 变性 30 s,59 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 60 s,30 循环后 72 °C 再延伸 5 min,经 38 个循环后最终延伸 7 min。产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳分析,mRNA 表达量=目的基因吸光度/内参基因吸光度。

1.2.4 ABO 血型抗原减弱输血措施 (1)输血时严格按照正、反定型制度进行输血。(2)输血前详细询问患者血型情况、既往输血史、家族血型情况,并对患者加做唾液型物质检测试验、吸收放散试验、PCR 基因型诊断,以便进行同型输血。(3)输血过程中为预防患者低体温及冷抗体的出现,可将红细胞及血清加温至 37 °C 后再输入患者体内。对于冷凝集素较高的红细胞需经 37 °C 盐水反复洗涤至不再凝集时再进行定型。(4)输血时选择相应抗原阴性、交叉配血相合的红细胞。

1.3 观察指标 (1)患者红细胞与单克隆抗-A、抗-B 反应凝集强度未达到(+++++)者则出现混合凝集时判定未 ABO 抗原减弱;(2)观察患者输血后溶血反应及血红蛋白(Hb)增减情况。输血后 2 周对患者进行 Hb 增加值计算。Hb 增加值=(输血后 Hb 总和-输血前 Hb 总和)/输血数量总和×(体质量/60)。

1.4 统计学处理 应用 SPSS19.0 对 2 组数据进行分析,计数资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料采用例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验;设定显著性标准为 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AL 患者 ABO 血型抗原减弱情况 200 例 AL 患者中 ABO 血型抗原减弱发生率为 24.00%(48/200),其中急性髓系白血病(AML)占 34.40%(43/125),急性淋巴细胞白血病(ALL)占 6.67%(5/75)。

2.2 ABO 血型抗原减弱患者血清学及基因分型结果 经血清学分析,48 例 ABO 血型抗原减弱患者中,A 抗原减弱 18 例,确定为 A 血型;B 抗原减弱 22 例,确定为 B 血型;A/B 抗原均减弱 8 例,确定为 AB 型血,见表 1。

表 1 ABO 血型抗原减弱患者血清学及基因学结果

血清学结果	<i>n</i>	基因分型结果	该分型例数(<i>n</i>)	ABO 血型
A 抗原减弱	18	A ¹ /A ¹	10	A
		A ¹ /O	8	A
B 抗原减弱	22	B/B	14	B
		B/O	8	B
A/B 抗原均减弱	8	A ¹ /B	8	AB

2.3 2 组患者输血反应情况及输血后 Hb 增加值 ABO 血型抗原减弱组输血反应情况与血型抗原正常组相似,2 组比较无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 2 组患者输血反应情况及输血后 Hb 增加值

组别	<i>n</i>	输血反应[<i>n</i> (%)]		Hb 增加值 ($\bar{x} \pm s, g/L$)
		溶血性	非溶血性	
血型抗原减弱组	48	1(2.08)	1(2.08)	6.142±1.452
血型抗原正常组	152	0(0.00)	2(1.32)	6.225±1.489
χ^2/t		3.183	0.145	0.338
<i>P</i>		0.074	0.703	0.735

3 讨论

人类血型根据红细胞膜上凝集原 A 和凝集原 B 可分为 A 型、B 型、AB 型及 O 型,即 ABO 血型系统^[5]。ABO 血型具有遗传学特性,通常情况下保持不变,但当机体出现恶性型性病变时,ABO 血型抗原表面可发生改变,影响临床输血^[6]。当患者输入血型不相容的血液时,血管内会发生凝集反应,使红细胞堵塞毛细血管而引发溶血反应,严重者可导致患者死亡,因此输血前明确患者血型进行同型输血可确保患者输血安全^[7]。目前关于 AL 患者所致的 ABO 血型抗原减弱原因及机制尚未明确,但可能与如下因素有关:(1)与体内基因突变有关。ABO 血型抗原位于 9 号染色体上,而该染色体上的致癌基因 *c-abl* 可干扰 ABO 基因合成,导致红细胞抗原减弱^[8]。基因突变会降低糖基转移酶活性,使 H 抗原转变为 A/B 抗原时发生中断,导致血型抗原减弱。(2)AL 患者粒细胞异常增生会导致红细胞增生受抑制,从而干扰红细胞代谢,导致 A、B、H 抗原减弱^[9]。(3)体内唾液黏蛋白产生过多会掩盖红细胞表面抗原从而抑制抗原强度。近年有研究从分子生物学调控上进行研究,认为启动子区 CpG 岛内启动子甲基化可引起血型抗原减弱^[10]。

本研究 AL 患者 200 例中 ABO 血型抗原减弱发生率为 24.00%(48/200),表明 AL 患者 ABO 血型抗原减弱发生率较高,考虑可能因素有:AL 患者放疗时会破坏机体正常免疫功

能;肿瘤生长、侵袭、浸润等病理过程会抑制正常细胞免疫功能;肿瘤晚期恶性大出血会导致机体贫血,导致 ABO 血型抗原减弱^[11-12]。本研究中 AML 患者 ABO 血型抗原减弱占 34.40%, ALL 占 6.67%,表明 AML 患者 ABO 血型抗原减弱发生率较高,这可能与 AML 主要表现为粒细胞异常增生,使红细胞系增生受到抑制有关。

AL 患者抗原性减弱是由于患者疾病期受到严重干扰,导致红细胞膜上血型抗原合成不足而使 ABO 血型抗原减弱^[13]。当疾病恢复后,红细胞膜上抗原恢复正常表达,抗原性会随之增强。在疾病期采用单克隆抗-A/B 鉴定血型容易导致误判血型,最常见的是 A 和 B 型误判为 O 型^[14]。由于疾病对 ABO 血型的影响仅局限于免疫血清学,而在基因水平上的改变概率较小,因此对 ABO 血型抗原减弱患者进行正确的基因分型是不可缺少的辅助手段^[15]。本研究应用 PCR-SSP 法对 ABO 血型进行基因分型,PCR-SSP 法原理是根据不同类型核心序列碱基差异设计基因序列特异性引物,并进行核心序列扩增,通过扩增获得不同序列差异的等位基因,从而确定血型基因型。从分子生物学技术对红细胞抗原进行鉴定直观、清晰,而且不受血清抗体、疾病、凝集等因素影响,确保输血安全。

免疫学认为,抗原与对应抗体可以发生特异性结合,并形成抗原-抗体复合物,而该复合物在补体作用下会发生溶解及溶血现象,因此输血前应对患者进行同型配血。本研究为确保 AL 患者输血安全性,在输血前对患者 ABO 血型进行鉴定,并筛选出 ABO 血型抗原减弱者,同时对血型抗原减弱者进行基因分型,并根据基因分型对患者进行输血,以提高患者输血安全性。本研究中 ABO 血型抗原减弱输血反应情况与血型抗原正常组相似,2 组比较差异无统计学意义($P>0.05$),表明该输血方法是安全的。

综上所述,AL 患者 ABO 血型抗原减弱发生率较高,多见于 AML 患者,对 ABO 血型抗原减弱患者行血型基因学检测将有助于区分 ABO 血型,从而实现同型输血,以改善患者抗原功能,恢复患者健康。

参考文献

[1] 韩光辉,鞠海英.白血病患者 ABO 血型抗原减弱的鉴定方法[J].中国实验诊断学,2013,17(8):1490-1491.
 [2] 金莉,罗曼琳,周慧盈,等.血液病患者 ABO 血型抗原减弱与配血输血相关性研究[J].检验医学与临床,2014,4(7):889-890.
 [3] 聂益军.恶性疾病导致 ABO 血型抗原或抗体减弱的讨论[J].检验医学与临床,2014,4(1):66-68.

[4] 黄丹丹.A 抗原减弱白血病患者的 ABO 血型鉴定[J].中国输血杂志,2013,26(9):864-866.
 [5] Fadeyi EA, Stratta RJ, Farney AC, et al. Successful ABO-Incompatible renal transplantation; blood group A1B donor into A2B recipient with anti-A1 isoagglutinins[J]. Am J Clin Pathol, 2016, 146(2): 268-271.
 [6] Hajizadeh R, Kavandi H, Nadiri M, et al. Association of ABO blood group with incidence and outcome of acute pulmonary embolism[J]. Turk Kardiyol Dern Ars, 2016, 44(5): 397-403.
 [7] Allouh MZ, Al Barbarawi MM, Hiasat MY, et al. Glioblastoma and ABO blood groups: further evidence of an association between the distribution of blood group antigens and brain tumours[J]. Blood Transfus, 2016, 25(2): 1-5.
 [8] Larson NB, Bell EJ, Decker PA, et al. ABO blood group associations with markers of endothelial dysfunction in the multi-ethnic study of atherosclerosis[J]. Atherosclerosis, 2016, 7(4): 89-90.
 [9] 庞辉.急性白血病致 ABO 血型变异 1 例[J].临床输血与检验,2012,14(2):183-184.
 [10] 应燕玲,陶苏丹,和艳敏,等.一例 ABO 血型系统 B 抗原减弱表达的分子机制[J].中华医学遗传学杂志,2011,28(4):397-400.
 [11] 黄菲,李翠莹,甘新宇,等.白血病致 ABO 血型抗原减弱 4 例[J].中国输血杂志,2011,24(1):67-68.
 [12] Capuzzo E, Bonfanti C, Frattini F, et al. The relationship between ABO blood group and cardiovascular disease: results from the cardiorisk program[J]. Ann Transl Med, 2016, 4(10):189-192.
 [13] Ryzhov IM, Korchagina EY, Popova IS, et al. Block synthesis of A(type 2) and B(type 2) tetrasaccharides related to the human ABO blood group system[J]. Carbohydr Res, 2016, 430(4): 59-71.
 [14] 庞卫花,徐娜,杨敬芳,等.ABO 血型正反定型与交叉配血实验结果及影响因素分析[J].河北医药,2016,38(9):1366-1368.
 [15] 张文静.ABO 组织血型抗原与肿瘤疾病相关性的研究进展[J].国际输血及血液学杂志,2014,37(1):69-73.

(收稿日期:2016-11-21 修回日期:2017-01-12)

(上接第 1100 页)

[16] 陈镇国,张加裕,林思思,等.短期胰岛素强化治疗患者视网膜厚度变化的海德堡视网膜断层扫描仪检查[J].中华眼底病杂志,2012,28(3):237-240.
 [17] Tian F, Li C, Wang X, et al. Comparative study on pharmacokinetics of a series of anticholinergics, atropine, anisodamine, anisodine, scopolamine and tiotropium in rats [J]. Eur J Drug Metab Pharmacokinet, 2015, 40(3): 245-253.

[18] 毕涵思,张绍丹,曲阳,等.神经胶质细胞的应答反应对青光眼作用研究[J].中国实用眼科杂志,2013,31(6):660-664.
 [19] Geng H, Ye L, Zhang AY, et al. Low-Molecular-Weight organo- and hydrogelators based on cyclo (L-Lys-L-Glu) [J]. Langmuir, 2016, 32(18): 4586-4594.

(收稿日期:2016-10-27 修回日期:2016-12-21)