

米+地塞米松(BD)方案化疗,后根据情况加用来那度胺,予硼替佐米+来那度胺+地塞米松(BRD)方案化疗。患者骨髓象:完全缓解;微小残留病:阴性;免疫固定电泳:阴性。患者后行自体造血干细胞移植术,一般情况尚可。

MM 是一种发生于骨髓的多灶性单克隆浆细胞增殖的恶性肿瘤,常分泌过量的单克隆免疫球蛋白(M 蛋白),临床表现为 CRAB 症状,即高钙血症、肾功能损害、贫血、骨质病变<sup>[3]</sup>。MM 约占全部恶性肿瘤的 1%,约占造血系统恶性肿瘤的 10%<sup>[4]</sup>,骨髓穿刺结合免疫固定电泳、流式细胞学、FISH 和骨影像学检查可以诊断。

1959 年有学者在一位华氏巨球蛋白血症患者的浆细胞核内发现了一种包涵体(Dutcher 小体),经罗氏染色后,较核染色淡。其本质为核周囊泡中的免疫球蛋白积聚,乃细胞质内的物质,只是有时会内陷或覆盖在细胞核中。FLORENSA 等<sup>[5]</sup>认为,Dutcher 小体是核膜和内质网相互作用的结果。

浆细胞包涵体分为 4 种类型<sup>[6]</sup>:(1)Auer 样杆状小体或针状包涵体;(2)结晶状包涵体;(3)Dutcher 小体;(4)Russell 小体。Dutcher 小体多为 1~2 个淡蓝色球状包涵体,位于细胞核中。国内对浆细胞 Dutcher 小体罕有文献报道,浆细胞其他包涵体有少量报道,有文献报道 MM 患者骨髓浆细胞内含 Auer 样杆状小体<sup>[7-9]</sup>,白志瑶等<sup>[10]</sup>报道 MM 伴 Russell 小体大量增生。

Dutcher 小体与淋巴浆细胞淋巴瘤和浆细胞肿瘤相关,可在约 7%的骨髓瘤患者中见到,多见于 IgA 型 t(4;14)骨髓瘤<sup>[11]</sup>。在常规骨髓细胞形态学诊断工作中,MM 患者骨髓涂片一般计数分类 500 个骨髓有核细胞,很难见到 Dutcher 小体。这例 MM 患者的骨髓瘤细胞出现如此多且大的 Dutcher 小体,临床罕见,患者染色体为复杂核型,基因检测提示为难治性 MM

且预后不佳,核内易见巨大或多个 Dutcher 小体可能与此有关。由于 Dutcher 小体极为少见,对其研究多限于形态学方面,其形成和来源尚有待进一步研究<sup>[6]</sup>。

## 参考文献

- [1] 马海梅,孟瑞芳,邹文蓉,等. 208 例多发性骨髓瘤细胞形态学与血清免疫球蛋白比分析[J]. 中国实验诊断学, 2010,14(5):718-720.
- [2] 沈志祥,王鸿利,胡翊群. 血液疾病诊断学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006.
- [3] 王霄霞,夏薇,龚道元. 临床骨髓细胞检验形态学[M]. 北京:人民卫生出版社,2019.
- [4] 王宁,孙继芹,李晓东,等. 43 例多发性骨髓瘤临床特征分析[J]. 实验与检验医学,2017,35(4):595-597.
- [5] FLORENSA L, LARRIBA I, WOESSNER S. Unique intranuclear inclusion in an IgG kappa multiple myeloma[J]. Haematologica,2000,85(12):1323.
- [6] 史敏,李顺义. 浆细胞包涵体的名称与形态学特点[J]. 临床检验杂志,2011,29(5):371-372.
- [7] 李早荣. 富含类 Auer 小体不分泌  $\kappa$  轻链型浆细胞骨髓瘤 1 例[J]. 现代检验医学杂志,2009,24(4):30-31.
- [8] 蒋显勇,陈晓利,梁庄严,等. 病理浆细胞内富含类棒状小体的多发性骨髓瘤 1 例[J]. 湘南学院学报(医学版), 2016,18(4):48-49.
- [9] 谭小平,张水生,刘海芸,等. 浆细胞内含类棒状小体的多发性骨髓瘤 1 例[J]. 实验与检验医学,2018,36(5):803-804.
- [10] 白志瑶,尹春琼,张葵,等. 多发性骨髓瘤伴 Russell 小体大量增生 1 例[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(23):3383-3384.
- [11] CHANG H,KAJAL B. Anaplastic variant of plasma cell myeloma with Dutcher bodies[J]. Blood,2016,127(25):3291.

(收稿日期:2022-02-12 修回日期:2022-06-18)

· 案例分析 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.20.038

## 罕见 B(A)亚型的鉴定及家系分析

刘建成

宁夏回族自治区血液中心血型参比实验室,宁夏银川 750011

关键词:B(A)亚型; ABO 血型; 基因分型; 等位基因

中图分类号:R457.1+1

文献标志码:C

文章编号:1672-9455(2022)20-2878-03

ABO 血型是发现和确定的人类第一个血型系统,其抗原性和免疫原性最强,能够引起严重的溶血性输血反应、新生儿溶血症等疾病。目前,通常采用免疫血清学方法来鉴定 ABO 血型,但在实际工作中

经常会遇到正反定型不相符或者凝集反应较弱的情况,这是因为除了正常的 ABO 血型之外还存在一些 ABO 亚型<sup>[1-2]</sup>。正确地鉴定 ABO 血型至关重要,B(A)亚型便是一种较为稀有的亚型,在血型鉴定时除

了免疫血清学方法之外还需要通过基因分型的方法才能正确鉴定其血型,它在我国北方的献血者中频率为 1/(5~10)万<sup>[3]</sup>。

## 1 材料与方法

**1.1 标本来源** 先证者来自于健康的献血者,符合献血标准。经过知情同意随后采集了先证者父亲和母亲的血液标本。

**1.2 试剂与仪器** 正定型抗-A、抗-B,反定型 A 细胞、B 细胞(上海血液生物医药有限责任公司);ABO 血型基因分型试剂盒(天津秀鹏公司);全血基因组 DNA 提取试剂盒(天根生物公司);DNA 聚合酶(大连 TaKaRa);测序引物(上海生工公司合成)以上所有试剂均在有效期内;PCR 扩增仪(ABI Veriti DX);凝胶成像仪(SYNGENE G;BOX);Nanodrop One 超微量分光光度计(基因有限公司);3730 测序仪(美国 ABI 公司)。

**1.3 免疫血清学方法** ABO 正反定型检测按照《全国临床检验操作规程》和参考文献[4]进行。

### 1.4 基因分型方法

**1.4.1 全血基因组 DNA 提取** 按照试剂盒说明书操作,DNA 浓度和纯度经超微量分光光度计测定,最终浓度稀释为 50 ng/ $\mu$ L。

**1.4.2 PCR-SSP 检测** 按照天津秀鹏 PCR-SSP 扩增说明书进行操作,扩增程序见表 1。内参质控为人类生长激素基因的保守片段。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳分析。

**1.4.3 ABO 基因测序** 扩增 ABO 基因第 6、7 外显子进行测序。反应体系为 30  $\mu$ L,其中 DNA 模板 3  $\mu$ L,Taq 酶(10 mmol/L)0.3  $\mu$ L,10 $\times$ 缓冲液 3  $\mu$ L,dNTP(10 mmol/L)4  $\mu$ L,测序引物(10  $\mu$ mol/L)3  $\mu$ L,ddH<sub>2</sub>O 16.7  $\mu$ L。扩增反应程序见表 2,上下游引物序列列表 3,PCR 产物纯化后直接进行测序。

表 1 PCR-SSP 程序

序号	温度/时间	循环数(n)
1	96 $^{\circ}$ C/2 min	1
2	96 $^{\circ}$ C/20 s,68 $^{\circ}$ C/60 s	5
3	96 $^{\circ}$ C/20 s,65 $^{\circ}$ C/45 s,72 $^{\circ}$ C/30 s	10
4	96 $^{\circ}$ C/20 s,62 $^{\circ}$ C/45 s,72 $^{\circ}$ C/30 s	15
5	72 $^{\circ}$ C/3 min	1

表 2 第 6、7 外显子 PCR 扩增反应程序

序号	温度/时间	循环数(n)
1	95 $^{\circ}$ C/6 min	1
2	95 $^{\circ}$ C/35 s,65 $^{\circ}$ C/35 s,72 $^{\circ}$ C/50 s	40
3	72 $^{\circ}$ C/6 min	1

表 3 第 6、7 外显子扩增引物序列

引物名称	序列(5'-3')	片段长度(bp)
ABO-E6 F	TGG AAG GGT GGT CAG AGG A	479
ABO-E6 R	CTG GAG AAG GAG CTG GGT T	
ABO-E7F	TGG GAA GAG GAT GAA GTG AAT	975
ABO-E7R	CAA CAG GAC GGA CAA AGG A	

**1.4.4 序列分析** 利用软件 DNAMAN 分析测序结果,与 GenBank 中的序列进行比对。

## 2 结果

**2.1 血型血清学结果** 先证者血型呈现正反定型不一致,正定型与抗-A 和抗-B 均有凝集,抗-A 为弱凝集 1+,与抗-H 反应强凝集。反定型只与 A 细胞呈现凝集,血清学表型为 A<sub>w</sub>B。先证者和家系成员血型反应格局结果见表 4。

表 4 先证者及家系成员 ABO 血型反应格局

项目	正定型				反定型					结果
	抗-A	抗-B	抗-AB	抗-H	抗-A <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> c	Bc	Oc	自身	
先证者	1+	4+	4+	4+	-	3+	-	-	-	A <sub>w</sub> B
先证者父亲	4+	-	4+	4+	-	-	4+	-	-	A
先证者母亲	W+	4+	4+	4+	-	3+	-	-	-	A <sub>w</sub> B

**2.2 ABO 血型基因分型结果** 通过 PCR-SSP 检测发现先证者基因型为 B/O,先证者父亲基因型为 A/O,先证者母亲基因型为 B/O。结合血型血清学结果先证者父亲基因型和血清学结果一致为正常的 A 型。先证者和其母亲的基因型和血清学结果不一致,进一步通过测序发现先证者和母亲的 B 基因均发生了 700C>G 点突变,与 GenBank 中的序列进行比对,参

照红细胞抗原突变数据库 ABO 等位基因的命名,先证者和母亲 ABO 等位基因为 B(A)02,为杂合子。

## 3 讨论

截至目前,共发现 43 个血型系统,400 多个抗原<sup>[5-6]</sup>。ABO 血型一般指 A、B、O、AB 4 种血型。ABO 亚型是在这 4 种血型基础上进一步细分而命名的血型,具有遗传基础和免疫血清学特点,由于疾病

等无法遗传的原因导致的血型改变不能称为亚型,有些虽然基因发生改变但是不影响免疫血清学特点的血型也不是亚型<sup>[7-8]</sup>。至今已经发现有 60 多种 A 亚型和 30 多种 B 亚型,A 亚型有 A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>、A<sub>x</sub> 等,B 亚型比 A 亚型少见,有 B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>、B<sub>x</sub>、B(A) 等<sup>[9]</sup>。ABO 亚型抗原的结构、性质以及数量与正常的 ABO 血型抗原存在一定差异,主要是由于基因突变、糖基转移酶的活性、底物等原因造成的<sup>[10-11]</sup>。

B(A)亚型在 ABO 亚型中发生率非常低,在基因水平上被认为是 B 型,在细胞水平上表达了正常的 B 抗原和较弱的 A 抗原<sup>[12]</sup>。B(A)亚型的血清学特点是正定型红细胞与抗-B 和抗-H 凝集强度较强,与抗-A 凝集较弱或者不凝集,反定型血清中含有较强的抗-A 抗体<sup>[13-14]</sup>。本文中先证者和其母亲的免疫血清学结果初步判定为 A<sub>w</sub>B 亚型,经基因分型鉴定为 B(A)亚型。1985 年,B(A)亚型最早被发现,有学者阐释了 B(A)亚型的发生机制,发现了第一个能够编码正常的 B 糖基转移酶且该酶同时具有 A 糖基转移酶的活性的等位基因,命名为 B(A)01<sup>[15]</sup>。至今,共发现 6 种 B(A)等位基因,分别为 B(A)01、B(A)02、B(A)03、B(A)04、B(A)05、B(A)06<sup>[15]</sup>。与常见的 B101 基因序列相比,B(A)等位基因存在 1~2 个碱基的点突变,这些突变影响了编码 B 糖基转移酶的 3 个氨基酸的翻译,导致 B 糖基转移酶同时具有了 A 糖基转移酶的活性。在我国,最常见的等位基因是 B(A)02 和 B(A)04<sup>[16]</sup>。本文中先证者和其母亲的 B(A)亚型表型是由 B(A)02 等位基因引起的,与通常的 B101 基因碱基序列比对,B(A)02 等位基因发生了一个 nt700C>G 点突变,导致编码翻译的 α-1,3-半乳糖转移酶除了能够合成 B 抗原之外还能合成少量的 A 抗原。先证者的父亲为正常的 A 型,母亲为 B(A)亚型,说明先证者的 B(A)02 等位基因遗传于其母亲。

在鉴定 ABO 血型的时候,由于免疫血清学的局限性,ABO 亚型的鉴定存在一定的困难,非常容易将 B(A)亚型误判为 A<sub>w</sub>B 型,对输血造成了一定的风险,所以发现 ABO 血型正反不符时可以进一步利用基因分型的方法准确鉴定血型,保证安全、有效地输血治疗。B(A)亚型的献血者可以加入稀有血型库进行保留,捐献的血液可以制备成冰冻红细胞进行保存。若患者为 B(A)亚型需要输血时,很难找到同型血液,可以输注 O 型或 B 型洗涤红细胞,也可以采取自体输血进行治疗。

## 参考文献

[1] 郑兆丽,刘静,程雪梅. 51 例 ABO 正反定型不符原因分

- 析及解决方法[J]. 中国当代医药,2021,28(29):170-173.
- [2] 宋建伟,徐灵,曹昌柏,等. 疑难 ABO 血型鉴定分析[J]. 临床血液学杂志,2017,30(4):316-318.
- [3] 赵阳,胡晓玉,吕蓉,等. 两例 B(A) 血型的检测及鉴定[J]. 临床输血与检验,2021,23(4):516-519.
- [4] 向东. ABO 亚型的检测[J]. 中国输血杂志,2010,23(8):577-580.
- [5] KHAN M N, KHAN T A, AHMED Z. Discrepancy in ABO blood grouping[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2013, 23(8):590-592.
- [6] SHOKRGOZAR N, TAMADDON G. ABO blood grouping mismatch in hematopoietic stem cell transplantation and clinical guides[J]. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res, 2018, 12(4):322-328.
- [7] WANG M, GAO J, LIU J, et al. Genomic association vs. serological determination of ABO blood types in a Chinese Cohort, with application in mendelian randomization[J]. Genes (Basel), 2021, 12(7):959.
- [8] 张震,洪俊,徐钰茜,等. 无锡地区无偿献血者 ABO 亚型血型血清学及分子生物学特征研究[J]. 临床输血与检验,2021,23(5):644-647.
- [9] 肖建宇,冯晨晨,刘太香,等. ABO 基因第 7 外显子 c. 721C>T 变异导致 ABO 亚型的研究[J]. 中国实验血液学杂志,2021,29(6):1917-1922.
- [10] 韩斌,朱于莉,曲雅慧,等. 一例罕见 A 亚型的血清学及分子生物学研究[J]. 中华医学遗传学杂志,2021,38(8):807-808.
- [11] 梁爽,吴凡,苏宇清,等. ABO 血型基因分型中靶向捕获二代测序技术的建立[J]. 中国输血杂志,2020,33(9):881-885.
- [12] 赵阳,胡晓玉,吕蓉,等. 两例 B(A) 血型的检测及鉴定[J]. 临床输血与检验,2021,23(4):516-519.
- [13] 陈静思,林甲进,张瑛,等. 罕见 B(A)亚型的血清学特征及基因序列分析[J]. 温州医科大学学报,2021,51(10):836-840.
- [14] 马会敏,史景莉,燕备战,等. B(A)亚型的血清学特点研究[J]. 临床血液学杂志,2021,34(2):112-114.
- [15] 付丽辉,马春娅,孙晓琳,等. B(A)血型血清学及分子生物学家系调查及输血策略分析--附 1 例报告[J]. 中国输血杂志,2021,34(2):188-190.
- [16] 赵倩,苏蔓,李茵,等. B(A)血型与 cisAB 血型的血清学表型及基因型研究[J]. 临床血液学杂志,2020,33(8):521-524.

(收稿日期:2022-01-12 修回日期:2022-05-18)