

## ABO 유전형 검사에 의한 ABO 불일치의 해결

조 덕<sup>1</sup> · 이진솔<sup>1</sup> · 박지영<sup>1</sup> · 전미정<sup>2</sup> · 송정원<sup>1</sup> · 김수현<sup>3</sup> · 신명근<sup>1</sup> · 신종희<sup>1</sup> · 서순팔<sup>1</sup> · 양동욱<sup>1</sup>

전남대학교 의과대학 진단검사의학교실<sup>1</sup>, 광주 · 전남 적십자혈액원<sup>2</sup>, 서남대학교 의과대학 진단검사의학교실<sup>3</sup>

### Resolution of ABO Discrepancies by ABO Genotyping

Duck Cho, M.D.<sup>1</sup>, Jin-Sol Lee, M.D.<sup>1</sup>, Ji-Young Park, M.D.<sup>1</sup>, Mi-Jeong Jeon, M.D.<sup>2</sup>, Jeong-Won Song, Ph.D.<sup>1</sup>, Soo-Hyun Kim, M.D.<sup>3</sup>, Myung-Geun Shin, M.D.<sup>1</sup>, Jong-Hee Shin, M.D.<sup>1</sup>, Soon-Pal Suh, M.D.<sup>1</sup>, and Dong Wook Ryang, M.D.<sup>1</sup>

Department of Laboratory Medicine, Chonnam National University Medical School<sup>1</sup>, Gwangju; Gwangju-Chonnam Red Cross Blood Center<sup>2</sup>, Gwangju; Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Seonam University Medical School<sup>3</sup>, Namwon, Korea

**Background :** Before a blood transfusion, both red cell and serum typing need to be matched for ABO tests on the donor and patient (recipient). When a mismatch exists in the tests, additional ABO genotyping and serological tests are required for the resolution of the discrepancy. We performed ABO genotyping on a series of blood donors and patients with ABO discrepancies to assist in resolving their blood groups.

**Methods :** We examined 46 samples with ABO discrepancies from a random pool of donors recruited at Gwangju-Chonnam Red Cross Blood Center and from patients at Chonnam National University Hospital between May 2004 and July 2005. ABO genotyping was performed on all samples with an allele specific polymerase chain reaction for differentiation of A, B, O, *cis-AB*, *A<sup>var</sup>* (784 G>A), and *B<sup>var</sup>* (547 G>A) alleles; routine serologic tests were also performed. Exon 6 and 7 of ABO gene from five samples were sequenced.

**Results :** The genotypes of 18 donors/patients with weakened A or B antigen expressions consisted of 4 cases of *cis-AB/O* (3 *A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>*, 1 *A<sub>2</sub>B*); 5 cases of *cis-AB/A* (5 *A<sub>1</sub>B<sub>x or el</sub>*); 2 cases of *A/O* (1 O, 1 *A<sub>m or x</sub>*); 1 case of *B/O* (1 *B<sub>m or x</sub>*); 4 cases of *A/B* (1 *A<sub>2</sub>B*, 1 *A<sub>1</sub>B<sub>x or el</sub>*, 2 *A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>*); and 2 cases of *A<sup>var</sup>/B* (2 *A<sub>w</sub>B*). On the other hand, the genotypes of 28 samples with unexpected serum reactions included 18 cases of *A/O* (16 *A<sub>1</sub>*, 2 *A<sub>m</sub>*); 7 cases of *A/A* (5 *A<sub>1</sub>*, 1 *A<sub>1</sub>B<sub>x or el</sub>*, 1 *A<sub>1</sub>B<sub>w</sub>*); and 3 cases of *O/O* (1 O, 2 *B<sub>w</sub>*).

**Conclusions :** ABO genotyping is useful for differentiating the ABO discrepancies that were difficult to resolve by serological tests. The most frequent unusual red cell reactions were weak A and B antigen expressions, which were resulted from the ABO subgroup alleles including *cis-AB* allele, whereas the most frequent unusual serum reactions were caused by decreased anti-B titers. (*Korean J Lab Med* 2006;26:107-13)

**Key Words :** ABO, Genotyping, Discrepancy

## 서론

접 수 : 2005년 10월 4일                      접수번호 : KJLM1889  
수정본접수 : 2006년 1월 24일  
게재승인일 : 2006년 2월 1일  
교신저자 : 양 동욱  
우 501-757 광주광역시 동구 학1동 8  
전남대학교병원 진단검사의학과  
전화 : 062-220-5340, Fax : 062-224-2518  
E-mail : dwryang@jnu.ac.kr

\*본 논문은 2003년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

1900년 Karl Landsteiner에 의해 처음 발견된 ABO 혈액형은 수혈에서 가장 중요한 혈액형이다. ABO 부적합 수혈의 경우 예외 없이 급성 수혈부작용을 초래하는데, 경미한 용혈에서부터 심하게는 파중성혈관내응고증(disseminated intravascular coagulation)이나 사망을 초래하기도 한다[1]. 안전한 수혈을 위해서 정확한 ABO 혈액형검사가 필수적이나 ABO 혈액형에 대한 검사

는 대부분 혈청학적 검사법으로 이루어져 왔다. 이들 검사는 대부분 신속, 간편하게 ABO 혈액형을 정확히 검사할 수 있지만 간혹 흡착 및 해리시험, 타액검사, A 또는 B 전이효소검사(transferase test), 가계조사 등과 같은 추가검사를 해야 할 경우가 있다. 1990년 Yamamoto 등[2]이 ABO 혈액형을 결정짓는 ABO 유전자의 염기서열을 최초로 규명하고, 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)과 같은 분자생물학적 기법의 개발로 ABO 유전형검사가 가능해져 최근 ABO 혈액형검사에 활용되고 있다. 초기의 유전형검사법은 다소 복잡하여 일반 검사실에서 활용하기 어려웠지만 최근에는 간편한 검사법이 소개되어 국내 검사실에서도 점차 사용이 증가되고 있는 추세이다[3-5].

ABO 불일치란 ABO 혈액형의 혈구형과 혈청형이 일치하지 않는 경우를 일컫는다. 이들의 원인은 크게 기술적인 원인, 혈구 축 원인, 그리고 혈청축 원인으로 대별할 수 있다[1]. ABO 불일치가 발견될 경우에는 응급상황을 제외하고는 그 원인 규명 전까지는 수혈 받거나 혈액을 불출해서는 안된다. ABO 불일치를 규명하기 위해 여러 혈청학적검사법들이 활용되었는데, 최근 헌혈자에서 발생하는 ABO 혈액형 불일치 혈액을 대상으로 ABO 유전형검사를 활용한 보고들[3, 6]도 있었다. 저자들은 헌혈자 뿐 아니라 환자에서 발견된 ABO 불일치를 ABO 유전형검사를 통해 해결했었던 경험들을 후향적으로 분석하여 보았다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2004년 5월부터 2005년 7월까지 전남대학교병원과 광주·전남 적십자혈액원에서 ABO 불일치가 의심되어 ABO 유전형검사가 의뢰된 46검체를 대상으로 하였다. 46검체는 모두 대립유전자특이 중합효소연쇄반응법(allele specific-polymerase chain reaction, AS-PCR)을 시행하였고, 이 중 5검체는 ABO 유전자의 exon 6 과 7의 염기서열을 분석하였다.

### 2. 방법

#### 1) ABO 혈액형 검사

광주·전남 적십자혈액원에서 혈액형자동분석기인 PK-7200 (Olympus Co., Tokyo, Japan)을 이용하여 microplate법으로 검사하였다. 혈구형 검사는 항-A (Bioscot, Livingston, UK), 항-A<sub>1</sub> lectin (남부적십자혈액원, 서울, 한국) 그리고 항-B (Ortho-Clinical Diagnostics Inc., Raritan, NJ, USA)를 각각 64배, 8배 및 64배 희석하여 사용하였고, 혈청형검사는 자가 제조한 A<sub>1</sub>형, B형의 혈구를 사용하였다. ABO 불일치가 관찰되거나 약한 반응을 보이는 검체는 추가로 시험관법을 실시하였다. 혈구형검사는 세척한 적혈구를 항-A, 항-B, 항-AB, 항-A<sub>1</sub> 그리고 항-H 시약

과 반응시키고 육안으로 관찰하여 +/-, 1+, 2+, 3+ 및 4+ 등으로 응집의 강도를 기록하였고, 육안으로 응집이 관찰되지 않으면 현미경으로 반응액을 확인하여 혼합시야 응집 유무를 확인하였다. 혈청형검사는 A<sub>1</sub>, B, O형 및 자가 혈구 5% 부유액을 혈청과 반응시켜 혈구형과 동일한 기준으로 판정하였다. 전남대학교병원의 혈청학적검사법은 위에서 기술한 방법과 동일하게 표준 시험관법에 따라 실시하였다.

한편, 본 연구에서 사용한 혈청학적 명명은 cis-AB 혈액형의 경우 혈청에 anti-B가 존재하더라도 혈구형만을 기준으로 하여 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>형, 또는 A<sub>2</sub>B형이라 분류하였고, A<sub>w</sub>는 혈구형에서 항-A 시약에 2+이상의 육안적 응집을 보이며 혈청에 anti-A가 존재한 경우에, 혈구형 검사에서 항-B시약에 반응이 없으며 혈청형검사에서 B형 혈구에 1+ 이하의 약한 응집을 보여 B<sub>x</sub>, B<sub>m</sub>, B<sub>el</sub> 등이 의심되지만 감별할 수 없는 경우를 B<sub>w</sub>라고 명명하였다.

ABO 불일치는 혈구형이나 혈청형이 정상적인 반응강도로 일치하지 않는 경우로 정의하였으며, 비정상적으로 약한 반응은 혈구형검사는 AABB의 기준[7]에 따라 2+ 이하, 혈청형검사는 혈구형에 비해 생리적으로 약한 반응을 보인 경우가 있으므로 1+ 이하 응집반응을 보인 경우로 각각 정의하였다. 한국인에서만 보고된 ABO 유전자의 exon 7에 위치한 784 G>A 변이가 있는 allele[8, 9]는 A<sup>var</sup>, 그리고 547 G>A 변이가 있는 유전자[10]는 B<sup>var</sup>라고 각각 명명하였다.

#### 2) ABO 유전형 검사

##### (1) 대립유전자특이중합효소연쇄반응법

EDTA 시험관에 채혈한 전혈 2 mL에서 Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 핵산을 분리하였다. AS-PCR은 조 등[5]이 보고한 방법과 동일하게 3개의 시험관에 시발체 쌍을 적절하게 조합하여 사용하여, A/A, A/O, B/B, B/O, O/O, A/B, cis-AB/O, cis-AB/A, cis-AB/B의 ABO 유전형을 결정하였으며, 한 개의 시험관을 추가하여 547 G>A가 있는 B<sup>var</sup> allele, 784 G>A가 있는 A<sup>var</sup> allele를 동시에 검색할 수 있는 시발체를 사용하여 이들 한국인에서만 보고된 allele 들을 검색하였다. PCR은 수작업에 의한 hot start법으로 시행하였다. 이를 위해 genomic DNA 300 ng, dNTP 200 μM, 그리고 각각의 시발체 0.1 μM이 포함된 반응액을 94°C에서 5분간 처리한 후 Taq polymerase (DyNAzyme II, Espoo, Finland) 2 unit를 첨가하고, 94°C 30초, 64°C 30초, 72°C 1분씩 30회 증폭하고, 마지막에 72°C에서 10분간 유지한 후 정지시켰다. PCR 반응산물은 0.5 μg/mL의 ethidium bromide를 함유한 1.8% 아가로오즈겔에서 100 V로 40분간 전기영동한 후 PCR 반응산물을 육안으로 확인하였다. PCR은 MJ Research PTC-100 thermocycler (MJ Research Inc, Watertown, MA, USA)를 이용하였다.

##### (2) 직접염기서열분석법

김 등[11]의 방법과 동일하게 시행하였는데 간단히 요약하면 다

음과 같다. Exon 6과 7에 대한 시발체인 ABOe6F (5'GCTGA GTGGAGTTTCCAGGT3')와 ABOe7R (5' AACAGGACGG ACAAAGGAAA3') 시발체 쌍에 의해 exon 6 및 7을 포함하는 한번의 long PCR을 시행하여 2,080 bp의 증폭산물을 얻었다. 증폭된 2,080 bp의 PCR 산물은 Qiaquick gel extraction kit (Qia-gen, Hilden, Germany)를 사용하여 설명서대로 정제하였다. 염기서열분석을 위한 시발체인 ABOe6R (5' CCACCCACTCT GTCTTGAA3'), ABOe7F (5' TCTGCTGCTCTAAGCCTT CC3'), ABOe7SF1 (5' TCCTCAGCGAGGTGGATTAC3') 그리고 ABOe7SF2 (5' ACGAAGAGAGCCACCTGAA3')를 사용하였다. 염기서열분석 과정은 형광 dNTP가 들어있는 Big dye Terminator cycle sequencing kit (Perkin Elmer/Applied Bio-systems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 설명서대로 PCR 증폭한 후 ABI PRISM 310 Genetic Analyser (Perkin Elmer/Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)로 염기서열을 자동분석하였다. ABO 혈액형의 유전형은 SEQUENCHER (Gene Codes Corp, Ann Arbor, MI, USA) software를 사용하여 표준 A101 allele와 비교 분석하여 판독하였다.

(3) 명명법

ABO allele의 명명은 [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mhc/xslcgi.fcgi?cmd=bgmute/systems\\_info&system=abo](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mhc/xslcgi.fcgi?cmd=bgmute/systems_info&system=abo)에 등록되어 있는 Yamamoto의 명명법을 따랐다.

결 과

ABO 불일치의 원인을 임상적 정보, 혈청학적검사법, 그리고 유전형검사를 종합하여 후향적으로 분석하였고, 적혈구측 원인과

Table 1. Phenotypes and genotypes of 46 samples in this study

Phenotype	Genotype	No. of cases
A <sub>1</sub>	A/O	16
	A/A	5
A <sub>int</sub>	A/O	2
A <sub>m or x</sub>	A/O	1
B <sub>m or x</sub>	B/O	1
B <sub>w</sub>	O/O	2
A <sub>1</sub> B <sub>x or el</sub>	A/A	1
	A/B	1
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	cis-AB/A	5
	A/B	2
A <sub>1</sub> B <sub>w</sub>	A/A	1
A <sub>2</sub> B	A/B	1
	cis-AB/O	1
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	cis-AB/O	3
A <sub>w</sub> B	A <sup>var</sup> /B	2
O	A/O	1
	O/O	1

혈청측 원인으로 분류하였으며 이 중 대표적인 예들의 상세한 혈청학적 결과와 ABO exon 6과 7의 염기서열분석결과를 Table 3에 정리하였다.

1. 적혈구측 원인(Table 1-3)

적혈구측 원인에 의하여 ABO 불일치를 나타낸 18예는 유전형이 cis-AB/O 4예(표현형 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub> 3예, A<sub>2</sub>B 1예), cis-AB/A 5예(A<sub>1</sub>B<sub>x or el</sub> 5예), A/O 2예(O 1예, A<sub>m or x</sub> 1예), B/O 1예(B<sub>m or x</sub> 1예), A/B 4예(A<sub>2</sub>B 1예, A<sub>1</sub>B<sub>x or el</sub> 1예, A<sub>1</sub>B<sub>3</sub> 2예), 그리고 A<sup>var</sup>/B 2예(A<sub>w</sub>B 2예)였다.

Cis-AB형은 9예였는데, 모두 혈청에 anti-B를 동반하고 있었다. 10번 검체는 혈구형은 O형, 혈청형은 anti-A가 선택적으로 더 감소한 O형이었는데, 유전형은 A/O로 A아형이었다. 11번 검체는 혈구형은 항-A 시약과 항-AB 시약에 적혈구가 현미경으로 혼합시야 응집이 관찰된 A<sub>m</sub>과 A<sub>x</sub>가 의심되는 약한 A형, 혈청형은 A형, 유전형은 AS-PCR에 의해 A/O였고, 직접염기서열에 의해 A102/O02였다. 12번 검체는 기본 검사에서 혈구형은 O형, 혈청형은 B형이었으나 혈구형검사에서 항-AB 시약에 1+의 응집이 있어 종합적으로 B<sub>m or x</sub>로 판정하였고, 유전형은 B/O이었다. 13번 검체는 난소의 양성종양 수술을 위해 내원한 47세 여자환자로 혈구형은 A<sub>2</sub>B형, 혈청형은 B형이었는데, 유전형은 AS-PCR에 의해 A/B, 직접염기서열에 의해 A204/B101였다. 15번 검체는 혈구형은 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>형, 혈청형은 AB형이었고, 유전형은 AS-PCR에 의해 A/B였고, 직접염기서열에 의해 A102/B101였다. 16번 검체는 혈구형은 항-A시약에 2+ 육안적응집이 있는 A<sub>w</sub>B형, 혈청형은 B형이며 유전형은 AS-PCR에 의해 A<sup>var</sup>/B였고, 직접염기서열에 의해 A<sup>var</sup> (784G>A)/B101였다.

Table 2. Causes of unexpected red cell reactions and serum reactions of 46 samples in this study

Reactions	Genotype	Phenotype	No. of cases
Unexpected red cell reactions	cis-AB/O	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	3
		A <sub>2</sub> B	1
	cis-AB/A	A <sub>1</sub> B <sub>x or el</sub>	5
		O	1
	A/O	A <sub>m or x</sub>	1
		B <sub>m or x</sub>	1
	B/O	A <sub>2</sub> B	1
		A <sub>1</sub> B <sub>x or el</sub>	1
A/B	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	2	
	A <sub>w</sub> B	2	
Unexpected serum reactions	A/O	A <sub>1</sub>	16
		A <sub>int</sub>	2
	A/A	A <sub>1</sub>	5
		A <sub>1</sub> B <sub>x or el</sub>	1
	O/O	A <sub>1</sub> B <sub>w</sub>	1
		O	1
		B <sub>w</sub>	2

**Table 3.** Genotyping, phenotyping, and the detailed serological results observed in the representative samples with ABO discrepancies

Serial No.	Genotype		Phenotype	Cell typing					Serum typing	
	AS-PCR	Sequencing		anti-A	anti-B	anti-A <sub>1</sub>	anti-AB	anti-H	A cells	B cells
1	<i>cis-AB/O</i>	-*	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	4+	2+	0	4+	+/-	0	+/-
4	<i>cis-AB/O</i>	-*	A <sub>2</sub> B	4+	3+	0	4+	4+	0	3+
5	<i>cis-AB/A</i>	-*	A <sub>1</sub> B <sub>x</sub> or el	4+	0	4+	4+	0	0	1+
10	<i>A/O</i>	-*	O	0	0	0	0	4+	1+	2+
11	<i>A/O</i>	<i>A102/O02</i>	A <sub>m</sub> or x	mf <sup>†</sup>	0	0	mf <sup>†</sup>	4+	0	4+
12	<i>B/O</i>	-*	B <sub>m</sub> or x	0	0	0	1+	-*	3+	0
13	<i>A/B</i>	<i>A204/B101</i>	A <sub>2</sub> B	4+	4+	0	4+	0	2+	0
15	<i>A/B</i>	<i>A102/B101</i>	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	4+	1+	3+	4+	0	0	0
16	<i>A<sup>var</sup>/B</i>	<i>A<sup>var</sup>/B101</i>	A <sub>w</sub> B	1+	4+	0	4+	0	2+	0
18	<i>A/O</i>	-*	A <sub>1</sub>	4+	0	4+	-*	-*	0	1+
33	<i>A/O</i>	-*	A <sub>1</sub>	4+	0	-*	-*	-*	0	0
42	<i>A/B</i>	-*	A <sub>1</sub> B <sub>x</sub> or el	4+	0	4+	4+	0	0	mf <sup>†</sup>
43	<i>A/A</i>	<i>A102/A102</i>	A <sub>1</sub> B <sub>w</sub>	4+	0	-*	-*	-*	0	0
44	<i>O/O</i>	-*	O	0	0	-*	-*	-*	3+	1+
45	<i>O/O</i>	-*	B <sub>w</sub>	0	0	0	0	3+	4+	0

\*not tested; <sup>†</sup>microscopic mixed field agglutination.

## 2. 혈청측 원인

혈청측 원인에 의한 28예는 유전형이 *A/O* 18예(표현형 A<sub>1</sub> 16예, A<sub>int</sub> 2예), *A/A* 7예(A<sub>1</sub> 5예, A<sub>1</sub>B<sub>x</sub> or el 1예, A<sub>1</sub>B<sub>w</sub> 1예), *O/O* 3예(O 1예, B<sub>w</sub> 2예)였다.

18번 검체는 혈청에 낮은 역가의 anti-B를 갖는 A<sub>1</sub>형이었고 유전형은 *A/O*였으며 이와 동일한 소견을 보인 검체는 총 16예로 혈청측 원인의 57%를 차지하고 있었다. 33번 검체는 면역결핍환자로 혈구형은 A<sub>1</sub>형, 혈청형은 AB형, 유전형은 *A/O*이었는데, 혈청 중 총단백/알부민은 5.4/2.7 g/dL (참고치: 6-8.3/3-5.5 g/dL), IgG는 328 mg/dL (700-1,600 mg/dL), IgA는 39.2 mg/dL (70-400 mg/dL), IgM은 20.5 mg/dL (40-230 mg/dL)로 모두 감소하였다. 42번 검체는 헌혈자의 것으로 혈구형은 A<sub>1</sub>형, 혈청형은 매우 약한 anti-B를 가져 종합적으로 A<sub>1</sub>B<sub>x</sub> or el<sup>†</sup>으로 판정하였는데, 유전형은 *A/B*, 혈청 총단백/알부민은 5.7/3.7 g/dL, IgG는 755 mg/dL, IgA는 84.4 mg/dL, IgM은 59.7 mg/dL로 저감마글로불린혈증은 없었다. 43번 검체는 자궁내막암 환자로 혈구형은 A<sub>1</sub>형, 혈청형은 AB로 종합적으로 A<sub>1</sub>B<sub>w</sub>로 판정하였으며 유전형은 AS-PCR에 의해 *A/A*, 직접염기서열은 *A102/A102*였다. 환자의 혈청 총단백/알부민은 6.6/3.8 g/dL, IgG는 1,130 mg/dL, IgA는 352 mg/dL, IgM은 30.8 mg/dL 모두 정상범위였다. 44번 검체는 심장수술을 위해 내원한 9개월된 여아로 혈구형은 O형, 혈청형은 anti-B가 선택적으로 감소된 O형, 유전형은 *O/O*이었다. 환자의 혈청 총단백/알부민은 6.0/3.3 g/dL이었다. 45번 검체는 다운증후군인 9개월된 남아로 혈구형은 O형, 혈청형은 B형으로 종합하여 B<sub>w</sub>로 판정하였으나, 유전형은 *O/O*이었다. 혈청 총단백/알부민은 7.4/5.2 g/dL, IgG는 682 mg/dL, IgA는 24.5 mg/dL, IgM은 53.6 mg/dL로 IgG와 IgA가 약간 감소하였다.

## 고 찰

ABO 혈액형은 혈구형과 혈청형검사를 동시에 실시하여 두 검사 결과가 일치할 때 혈액형을 결정할 수 있지만, 불일치한 경우에는 그 원인을 규명하여야 한다. ABO 불일치는 기술적 원인, 혈구측 원인 및 혈청측 원인에 의해 발생할 수 있는데, 이들 중 상당수는 환자의 임상정보 확인, 재검이나 간단한 추가검사로 그 원인이 규명될 수 있다. ABO 불일치 골수이식, 다발성골수종, 한랭가항체나 동중항체 존재, 신생아 혈액검체 등이 흔히 접하며 쉽게 해결할 수 있는 대표적인 원인들이다. 본 연구에서는 이처럼 간단히 원인 규명이 가능한 경우는 ABO 유전형검사를 실시하지 않았기 때문에 본 연구대상에서 제외되었다. 또한, 일정기간 동안 순차적으로 발견된 ABO 불일치 검체를 ABO 유전형검사를 통해 분석한 것이 아니고 무작위로 실시된 것을 후향적으로 분석하였으므로 역학적인 자료로 활용하기에는 적절하지 않을 것이다.

본 연구에서는 ABO 유전형검사를 위해 주로 AS-PCR법이 활용되었으며 일부 검체는 ABO 유전자의 exon 6과 7의 직접염기서열분석법이 활용되었다. 이러한 방법에 의한 ABO 유전형은 혈청학적 방법으로 해결할 수 없었던 예들의 ABO 혈액형을 정확히 분류할 수 있어 유용하였다. 5번 검체와 42번 검체는 혈청학적으로는 동일한 A<sub>1</sub>B<sub>x</sub> or el<sup>†</sup> 표현형을 갖지만 유전형검사서 각각 *cis-AB/A*와 *A/B*로 분류되었으며, 10번 검체와 44번 검체는 혈청형에 anti-A나 anti-B가 낮은 역가를 보였으나 O형으로 분류되었는데, 유전형검사서 각각 *A/O*와 *O/O*으로 분류되어 혈청학적 검사로 정확한 감별이 어려웠던 예를 해결할 수 있었다. 또한, 12번 검체는 표현형이 B<sub>m</sub> or x, 45번 검체는 B<sub>w</sub>로 유사한 B 아형으로 분류하였으나 유전형검사서 각각 *B/O*와 *O/O*의 상이한 결과를 보여 감별할 수 있었다. 또한, 가계조사를 통해서 확인할 수 있는

9검체의 *cis*-AB 혈액형을 복잡한 가계조사 없이도 본 연구에 사용된 간편한 AS-PCR에 의한 유전형검사만으로 확인할 수 있었다.

하지만 본 연구에 사용된 AS-PCR과 ABO 유전자의 exon 6과 7의 직접염기서열분석법 만으로는 A, B, O, *cis*-AB,  $A^{var}$  (784 G>A),  $B^{var}$  (547 G>A) allele 등의 존재는 알 수 있으나,  $A_m$  or  $x$  1예,  $A_1B_x$  or  $e_l$  1예,  $A_1B_3$  2예 등에서처럼 해당 아형을 유발하는 특이 allele를 결정하는 유전자 변이가 exon 6과 7에 존재하지 않을 경우나 ABO 유전자 이외의 존재하는 경우는 특이 allele를 규명할 수는 없었다.

본 연구에서 ABO 불일치의 혈구측 원인을 분석하면 모든 예에서 A나 B 아형에 의한 것이었는데, 이 중 *cis*-AB형이 가장 흔했다. *Cis*-AB형은 현재까지 4가지 allele (*cis*-AB01, *cis*-AB02, *cis*-AB03, *cis*-AB04)가 밝혀졌으며[12-16], 이 중 한국인과 일본인에서 보고된 것은 *cis*-AB01 allele인데, 광주 및 전남지역은 *cis*-AB01 allele를 가진 사람의 빈도가 0.0354%로 일본보다 약 30배 높고 세계에서 보고된 가장 높은 빈도의 지역이다[13]. *Cis*-AB형은 부모자식 간에 상식적인 유전양상을 벗어나므로 친자확인 등의 갈등을 유발하기도 하고, 혈액형 검사시 혈구형과 혈청형의 불일치가 자주 나타나며, 수혈시 AB형 이외의 혈액을 선택해야 할 경우가 흔하며, 동반되는 유전자에 따라 많은 표현형을 갖는다는 임상적 특징이 있다. *Cis*-AB형의 수혈은 신선동결혈장과 혈소판 농축액은 AB형을 수혈하고, 농축적혈구는 표현형에 따라 달라  $A_2B_3$ 형의 경우 *cis*- $A_2B_3$  혹은 O형을,  $A_2B$ 인 경우는 *cis*- $A_2B_3$ , *cis*- $A_2B$ , O형 혹은 B형을,  $A_1B_3$ 의 경우는 *cis*- $A_1B$ , *cis*- $A_2B_3$ , O 혹은 A형을 각각 수혈하면 된다. 그런데, 최근 국내 모 대학 병원에서 *cis*- $A_2B_3$ 형의 환자가 13개월 때 심장수술을 받았는데 당시 AB형으로 분류되어 수술시 AB형의 FFP, PC, 전혈을 수혈 받았으나 용혈성수혈부작용은 전혀 관찰되지 않았다고 보고했다[17]. 이는 더 많은 예로 증명되어야겠지만, 흥미롭게도 *cis*-AB형에게 일반 AB형의 혈액제제를 수혈해도 임상적으로 큰 문제가 없음을 시사하고 있다.

한편, *cis*-AB01 allele는 기본적으로  $A_2B_3$ 을 발현하는데, 동반되는 유전자에 따라 그 표현형이 달라져서 *cis*-AB/O는  $A_2B_3$ 형, *cis*-AB/A는  $A_1B_3$ , *cis*-AB/B는  $A_2B$ 형이다. 최근의 보고에 의하면 *cis*-AB/B를 제외하고 *cis*-AB/O는  $A_2B_3$ 형,  $A_2B$ 형,  $A_1B_3$ 형 및  $A_{el}B$ 형으로, *cis*-AB/A는  $A_1B_3$ ,  $A_1B_x$  or  $e_l$ ,  $A_{int}B_3$ , 일부에서는 전형적인  $A_1$ 을 보인다[18]. 대부분 A transferase와 B transferase의 경쟁에 의해 이러한 현상을 해석할 수도 있으며, 제조법이 다른 시약간의 차이, 다클론성과 단클론성의 차이, 검사자간의 차이가 그 원인들 중의 하나로 추정된다. 본 연구의 4번 검체에서 유전형은 *cis*-AB/O이지만 혈구형검사서 항-B 시약에 3+의 응집강도를 보이면서 혈청에서도 B형 혈구와 3+ 강도의 응집을 보여 정[6] 등의 보고와 일치하였다. 유전형이 *cis*-AB/A인 5검체가 모두  $A_1B_x$  or  $e_l$ 임을 흥미로운 소견이었는데 이는  $A_1B_3$ 나  $A_2B$  표현형을 갖는 *cis*-AB형은 혈청학적 방법으로 쉽게 판정이 가능하여 ABO 유전형 검사가 의뢰되지 않았기 때문으로 판단된다.

*Cis*-AB형 이외의 ABO 불일치의 혈구측 원인들 중  $A_2B$  1예는 직접염기서열분석결과  $A204/B101$  allele를 보였는데, 이는 일본인  $A_2B$ 의 45% (13/29)에서 발견되는  $A_2$  allele 중 가장 흔한 allele이지만, 한국인에서는  $A_2$ 에서는 0% (0/19)였으나,  $A_2B$ 에서는 20% (5/25)에서 발견되었던 allele이다[9].  $A_1B_x$  or  $e_l$  1예에 대한 exon 6 & 7의 직접염기서열분석결과  $A102/B101$ 을 보여  $A_1B_x$  or  $e_l$  표현형을 유발하는 특이 allele를 발견하지는 못했으며,  $A_1B_3$  2예에서도 한국인  $A_1B_3$  중 일부에서 발견되는  $B_3$  특이 allele인  $B^{var}$  (547G>A)는 발견되지 않았다.

한편, 의뢰된 검체 중 혈청측의 원인에 의한 ABO 불일치를 보인 예는 대부분은 혈청내 anti-B가 감소한 것이었다. 본 연구에서는 광주·전남적십자혈액원에서 ABO 혈청형 검사에서 A형 혈구이나 B형 혈구에 1+ 이하의 약한 반응을 보였던 검체의 원인규명을 위해 2004년 12월부터 2005년 1월 사이에 많은 검체를 의뢰했는데, 이들 검체 중 26검체는 혈청에 anti-B가 비정상적으로 낮은 예들로 이 중 6검체는 아형에 의한 것이었고, 5검체는 *cis*-AB/A에 의한 것, 1예는  $A_1B_x$  or  $e_l$ 에 의한 것으로 추정된다. 광주·적십자혈액원에서 혈청형에 약한 반응을 보인 검체를 많이 의뢰한 이유는 예를 들면, anti-B 역가가 낮은 A형 신선동결혈장을 출고하면 일부 의료기관에서 AB형 신선동결혈장으로 잘못 출고된 것으로 오해되어 좀더 명확한 혈청형을 보이는 혈액으로 반환을 요구하는 사례들이 있었기 때문이다. 본 연구에서 81%는 혈청 anti-B의 역가가 생리적으로 감소한 예들이었지만, 19%는 아형에 의한 것이었으므로 ABO 유전형검사로 이를 감별하는 것은 중요한 의미가 있다.

ABO 불일치의 혈청학적 원인들 중 저감마글로불린혈증에 의한 것은 많은 보고가 이루어졌는데, 흥미로운 것은 서 등[19]이 혈청형 검사에서 A형 혈구에 3+에서 4+의 강한 응집을 보이지만 B형 혈구에는 전혀 응집이 없어 '선택적으로 anti-B가 감소'하여 발생한 ABO 불일치를 보인 O형 2예를 보고하였다. 본 연구에서도 45번 검체가 다운증후군 환자로 총단백/알부민은 정상이었으나 IgG와 IgA가 약간 감소하였는데 혈청형검사서 A형 혈구에는 4+의 강한 응집을 보였으나 B형 혈구와는 응집이 없는 '선택적으로 anti-B가 감소'된 소견을 보였다. 이처럼 저감마글로불린혈증에서 anti-A와 anti-B가 동일한 정도로 감소하지 않고 anti-B만 선택적으로 감소한 현상은 O형에서 많은 보고가 있었다[20]. 그 원인은 정확히 규명되지는 않았지만, 기본적으로 anti-B의 역가가 anti-A의 역가에 비해 낮으므로 함께 역가 떨어질 경우 anti-B가 먼저 검출한계 이하로 떨어지기 때문이라는 것으로 설명할 수 있을 것이다. 정상인 A형에서도 검출한계 이하로 anti-B가 생리적으로 감소한 보고들이 있는데[20], 본 연구에서도 25예 중 2예는 anti-B가 검출한계 이하로, 23예는 1+ 이하의 응집강도를 보이는 낮은 역가를 보여 유사하였다.

본 연구는 전남대학교병원 진단검사의학과 혹은 광주·전남적십자혈액원에서 ABO 불일치가 의심되어 ABO 유전형검사를 시행하였던 46검체를 후향적으로 분석해 본 결과, ABO 유전형검사

는 혈청학적 방법으로 감별하기 어려웠던 예를 규명하는데 유용하였다. 한편, 규명된 ABO 불일치의 원인은 적혈구측 원인은 *cis*-AB형을 포함한 아형이 많았고, 혈청측 원인은 'anti-B가 감소'된 예가 많았다.

## 감 사

본 연구를 위하여 수고하여 주신 전남대학교병원 기승정 교수님, 양경섭, 조정에, 엄하영, 김성미, 황유미 선생님, 그리고 광주 · 전남 적십자혈액원 김갑숙 선생님께 감사드립니다.

## 요 약

**배경 :** ABO 혈액형검사를 환자나 헌혈자에게 실시하면, 혈구형과 혈청형 결과가 일치해야 한다. 두 검사법의 결과가 불일치할 경우에는 추가적인 혈청학적검사 뿐 아니라 ABO 유전형검사가 이들 원인을 규명하는데 활용될 수 있다. 이에 저자들은 광주 · 전남 적십자 혈액원의 헌혈자와 전남대학교병원의 환자에서 발견된 ABO 혈액형 불일치 검체를 대상으로 ABO 유전형검사로 해결했던 예들을 분석해 보았다.

**방법 :** 2004년 5월부터 2005년 7월까지 전남대학교병원 진단검사의학과 혹은 광주 · 전남적십자혈액원에서 ABO 불일치가 의심되어 ABO 유전형검사를 시행하였던 46검체를 대상으로 하였다. 혈청학적 검사는 표준 시험관법에 따랐으며, ABO 유전형검사는 A, B, O, *cis*-AB,  $A^{var}$  (784 G>A), 그리고  $B^{var}$  (547 G>A) allele를 검출할 수 있는 대립유전자특이중합효소연쇄반응법(Allele-Specific PCR)에 의해 실시하였고, 5검체는 ABO 유전자의 exon 6과 7을 직접염기서열분석을 실시하였다.

**결과 :** 적혈구측 원인에 의한 18예는 유전형이 *cis*-AB/O 4예(표현형  $A_2B_3$  3예,  $A_2B$  1예), *cis*-AB/A 5예( $A_1B_x$  or  $e_1$ ), A/O 2예(O 1예,  $A_m$  or  $x$  1예), B/O 1 예( $B_m$  or  $x$  1예), A/B 4예( $A_2B$  1예,  $A_1B_x$  or  $e_1$  1예,  $A_1B_3$  2예), 그리고  $A^{var}/B$  2예( $A_wB$  2예)였다. 한편, 혈청측 원인에 의한 28예는 유전형이 A/O 18예(표현형  $A_1$  16예,  $A_{int}$  2예), A/A 7예( $A_1$  5예,  $A_1B_x$  or  $e_1$  1예,  $A_1B_w$  1예), O/O 3예(O 1예,  $B_w$  2예)였다.

**결론 :** ABO 유전형검사는 혈청학적 방법으로 감별하기 어려웠던 예를 규명하는데 유용하였는데, 규명된 ABO 불일치의 원인은 적혈구측 원인으로서는 *cis*-AB형을 포함한 아형이 많았고, 혈청측 원인은 'anti-B가 감소'된 예가 많았다.

## 참고문헌

- Han KS, Park MH, et al. eds. Transfusion Medicine, 2nd ed. Seoul: Korea Medical Publishing Co 1999:191-202. (한규섭, 박명희 등. 수혈의학. 제2판. 서울: 고려의학, 1999:191-202.)
- Yamamoto F, Clausen H, White T, Marken J, Hakomori S. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system. Nature 1990; 345:229-33.
- Seo DH, Lee CY, Kim DW, Kim SI. ABO gene analysis of *cis*-AB and B subgroup in blood donors. Korean J Blood Transfus 2000;11: 27-34. (서동희, 이충영, 김대원, 김상인. 헌혈자에서 *cis*-AB형과 B형 아형의 ABO 유전자 분석. 대한수혈학회지 2000;11:27-34.)
- Fukumori Y, Ohnoki S, Yoshimura K, Nagao N, Shibata H, Tomita T, et al. Rapid detection of the *cis*AB allele consisting of a chimera of normal A and B alleles by PCR-RFLPs. Transfus Med 1996;6: 337-44.
- Cho D, Jeon MJ, Oh BJ, Song JW, Shin MG, Shin JH, et al. A simplified ABO genotyping by allele-specific polymerase chain reaction. Korean J Lab Med 2005;25:123-8. (조 덕, 전미정, 오봉준, 송정원, 신명근, 신종희 등. 대립유전자특이중합효소연쇄반응법에 의한 간편한 ABO 유전형 검사. 대한진단검사의학회지 2005;25:123-8.)
- Jung OJ, Kim MJ, Chung HR, Lim AH, Kim JY, Oh DJ. ABO gene analysis of discrepant ABO blood group in blood donors. Korean J Blood Transfusion 2004;15:145-52. (정옥주, 김문정, 정화령, 임아현, 김지연, 오덕자 헌혈자에서의 ABO 혈액형 불일치 혈액의 유전자형 분석. 대한수혈학회지 2004;15:145-52.)
- Brecher ME, ed. Technical manual. 14th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks 2002:670-1.
- Seo DH, Kim SY, Kim JY, Park KU, Kang SH, Park SS, et al. Molecular characteristics of A subgroups in Koreans. Korean J Blood Transfus 2003;14:212-22. (서동희, 김성연, 김지연, 박경운, 강성하, 박성섭 등. 한국인 A 아형 혈액형의 분자유전학적 분석. 대한수혈학회지 2003;14:212-22.)
- Cho D, Shin MG, Yazer MH, Kee SJ, Shin JH, Suh SP, et al. The genetic and phenotypic basis of blood group A subtypes in Koreans. Transfus Med 2005;15:329-34.
- Cho D, Kim SH, Ki CS, Choi KL, Cho YG, Song JW, et al. A novel  $B_w$  allele (547 G>A) demonstrates differential expression depending on the co-inherited ABO allele. Vox Sang 2004;87:187-9.
- Kim SH, Cho D, Choi KL, Kim KS, Ki CS, Song JW, et al. A case of  $A_1B_3$  child from a group A mother and a group B father: new group B allele arising from 547 G>A. Korean J Blood Transfus 2004;15:45-50. (김수현, 조 덕, 최경란, 김갑숙, 기창석, 송정원 등. A형과 B형의 부모에서 발견된  $A_1B_3$ 형 자녀를 갖는 1가족: 새로운 B형의 대립유전자  $B_w$  (547 G>A)의 발견. 대한수혈학회지 2004;15:45-50.)
- Yamamoto F, McNeill PD, Kominato Y, Yamamoto M, Hakomori S, Ishimoto S, et al. Molecular genetic analysis of the ABO blood group system: 2. *cis*-AB alleles. Vox Sang 1993;64:120-3.
- Cho D, Kim SH, Jeon MJ, Choi KL, Kee SJ, Shin MG, et al. The serological and genetic basis of the *cis*-AB blood group in Korea. Vox Sang 2004;87:41-3.

14. Mifsud NA, Watt JM, Condon JA, Haddad AP, Sparrow RL. A novel *cis-AB* variant allele arising from a nucleotide substitution A796C in the *B* transferase gene. *Transfusion* 2000;40:1276-7.
15. Roubinet F, Janvier D, Blancher A. A novel *cis AB* allele derived from a *B* allele through a single point mutation. *Transfusion* 2002; 42:239-46.
16. Tzeng CH, Chen YJ, Lyou JY, Chen PS, Liu HM, Hu HY, et al. A novel *cis-AB* allele derived from a unique 796C>A mutation in exon 7 of ABO gene. *Transfusion* 2005;45:50-5.
17. Yoon SZ, Lee HM, Kim HS, Kim SD, Oh AY, Kim CS. Transfusion for a patient of *cis-AB* blood type undergoing a redo cardiac operation. *Br J Anaesth* 2005;94:733-4.
18. Cho D, Kee SJ, Shin JH, Suh SP, Ryang DW. Unusual phenotype of *cis-AB*. *Vox Sang* 2003;84:336-7.
19. Suh IB, Chang EA, Kim HJ, Kang CD, Lee SJ, Kim TS, et al. Two cases of ABO discrepancy due to hypogammaglobulinemia. *Korean J Blood Transfus* 2003;14:240-5. (서인범, 장은아, 김효정, 강창돈, 이성준, 김태식 등. 저감마글로불린혈증에 의한 ABO 불일치 2예. *대한수혈학회지* 2003;14:240-5.)
20. Mollison PL, Engelfriet CP, et al. eds. *Blood transfusion in clinical medicine*. 8th ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1987: 280-91.