ABO 불일치를 보인 A₁B₃ 표현형의 *ABO*B3.01* 유전형 1예: 국내 첫 보고

김남수¹ · 유홍비² · 이재현^{1,3} · 김달식^{1,3} · 이혜수^{1,3} · 정유나⁴ · 조용곤^{1,3} · 조 덕^{2,4}

전북대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 성균관대학교 삼성융합의과학원 융합의과학과², 전북대학교 임상의학연구소-전북대학교병원 의생명연구원³, 성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학과⁴

*ABO*B3.01* Found in the A₁B₃ Phenotype Showing ABO Discrepancy: The First Case in Korea

Namsu Kim¹, HongBi Yu², Jaehyeon Lee^{1,3}, Dal Sik Kim^{1,3}, Hye Soo Lee^{1,3}, Yoo Na Chung⁴, Yong Gon Cho^{1,3}, Duck Cho^{2,4}

Department of Laboratory Medicine, Jeonbuk National University Medical School¹, Jeonju, Department of Health Sciences and Technology, SAIHST, Sungkyunkwan University², Seoul, Research Institute of Clinical Medicine of Jeonbuk National University-Biomedical Research Institute of Jeonbuk National University Hospital³, Jeonju, Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine⁴, Seoul, Korea

B₃ is a rare finding, but it is most common in the B subgroup, which been reported as being 0.025% of the total B group in Koreans. *ABO*B3.01* is a specific allele for B₃, a missense mutation with a substituted thymine from cytosine of the 1,054th nucleotide of the *ABO*B.01* allele, but rather unexpectedly, it has not been reported in Koreans. We report here the first Korean case of the serological A₁B₃ phenotype with *ABO*B3.01*, which was confirmed by sequencing of exons 6 and 7 of the *ABO* gene, found in a pregnant woman. (Korean J Blood Transfus 2019;30:236-240)

Key words: B subgroup, B₃, *ABO*B3.01*, ABO genotyping, ABO discrepancy

서론

최근 ABO 혈액형 유전자에 대한 분자유전학적 검사가 국내에서 보편적으로 시행됨에 따라 A 또는 B의 아형을 결정하는 대립유전자가 보고되고 있다. B₃ 표현형은 가장 흔한 B의 아형으로

그 빈도는 한국인 B형 중 0.025%로 보고되어 프랑스(0.01%)보다는 높고, 중국(0.11%)보다는 낮은 것으로 알려졌다[1]. B₃의 표현형을 결정하는 특이대립유전자는 현재까지 8종류가 보고되었으며[2-5], 이 가운데 *ABO*B3.01*은 *ABO*B.01* 대립유전자의 1,054번째 뉴클레오타이드인 사이토신

Received on July 12, 2019. Revised on July 17, 2019. Accepted on July 24, 2019

Correspondence to: Yong Gon Cho

Department of Laboratory Medicine, Jeonbuk National University Medical School, 20 Geonji-ro, Deokjin-gu, Jeonju 54907, Korea
Tel: 82-63-250-2388, Fax: 82-63-250-1200, E-mail: choyg@jbnu.ac.kr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3011-6875>

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
Copyright ©2019 The Korean Society of Blood Transfusion

이 티민으로 치환되는 과오 돌연변이(missense mutation)로 B₃형 중 가장 먼저 등록 되었다. 그간 B3.01 대립유전자의 빈도는 정확히 보고되지 않았다. B3.01은 B₃의 대표적인 대립유전자로 알려졌기 때문에 한국에서도 이들 대립유전자가 흔히 발견될 것으로 예측되었지만, 예상과 달리 보고된 적이 없었다. 다만, 한국인에서는 ABO*B3.05 [6], ABO*B3.06 [2], ABO*BW.03 [1]가 보고되었다. 이에 저자들은 ABO 혈액형 검사에서 ABO 불일치를 보인 산모로부터 발견된 B301 대립유전자를 국내의 문헌고찰과 함께 보고하고자 한다.

증 례

29세의 여자 환자가 임신 36주 상태로 제왕절개술에 의한 분만을 위해 내원하여 시행한 통상의 ABO 혈액형 검사에서 ABO 불일치 소견이 관찰되어, 이를 해결하기 위해서 추가로 혈청학적 검사 및 ABO 유전자 검사를 시행하였다. 환자는 타 의료기관에서 이미 제왕절개술에 의해 2명의 아이를 정상적으로 분만하였고, 과거 시행한 혈액형 검사 결과혈액형이 불분명하다는 소견이 있었다.

1. ABO 혈청학적 검사

환자의 ABO 혈액형 검사는 IH-500 (Bio-rad, 1785 Cressier FR, Switzerland) 장비를 이용하여 제조사의 지침에 따라 시행하였다. 추가로 DiaClon ABO/D+ Reverse Grouping ID Card (Bio-rad)를 활용하여 수기법으로 시행하였는데, 모두 ABO 불일치 소견이 관찰되었으며, 또한 장비간의 혈구 응집강도도 확인되었다. 즉, 혈구형에서 anti-B의 응집 강도가 자동화 장비에서는 2+, 수기법은 trace (±) 반응이었고, 혈청형에서는 B cell의

응집강도가 자동화 장비에서는 trace (±) 반응이었고, 수기법에서는 음성을 보였다(Fig 1A, 1B). 함께 시행한 항-A1 반응은 양성이었으나, 항체선택검사와 자가대조 및 연전현상 확인검사는 모두 음성이었다. 이러한 결과는 cis-AB 혈액형과 감별이 필요하였다.

2. ABO 유전자 검사

환자의 EDTA 전혈에서 채취한 DNA를 원 등이 보고한 방법[7]과 동일하게 ABO 유전자의 엑손 6과 7을 직접염기서열 분석한 결과 ABO*A1.02/B3.01의 유전자형(Table 1)을 확인하였고, 환자의 B₃ 표현형은 ABO*B3.01 대립유전자에 의해 생성되었음을 알 수 있었다.

Fig. 1. Serologic results of ABO typing (A) by IH-500, and (B) by manual microcolumn agglutination tests.

Table 1. Results of ABO genotyping identical to the *ABO*A1.01/B3.01*

Site	Exon	6										7													
	cDNA	261	297	467	526	564	579	641	646	657	669	681	703	721	771	796	802	803	805	829	871	930	1054	1061	1096
<i>ABO*A1.01</i>	G	A	C	C	C	T	T	T	C	G	G	G	C	C	C	G	G	T	G	G	G	C	C	G	
<i>ABO*B.01</i>	-	G	-	G	-	-	-	-	T	-	-	A	-	-	A	-	C	-	-	-	A	-	-	-	
<i>ABO*A1.02</i>	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>ABO*B3.01</i>	-	G	-	G	-	-	-	-	T	-	-	A	-	-	A	-	C	-	-	-	A	T	-	-	

3. B항원 약화의 in silico 분석

c.1054C>T (p.R352W) 변이가 적혈구 B항원의 표현형에 미치는 영향을 분석하기 위하여 아미노산 변이가 단백질에 어떠한 변화를 유발하였는지 예측하는 생물정보학 분석프로그램인 PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)와 SIFT (http://sift.jcvi.org/www/SIFT_enst_submit.html)를 시행하였다. 그 결과 PolyPhen-2에서는 “Probably damaging”, SIFT에서는 “Damaging”으로 단백질 구조에 변성을 일으킬 가능성이 높을 것으로 예측되었다.

고 찰

ABO 불일치가 발견되면 그 원인을 규명해야 한다. 본 증례에서는 자동화장비(IH-500)에서 실시한 ABO 혈액형 검사에서 혈구형에서는 A₁B_{weak} (anti-B: 2+), 혈청형에서는 B cell에 trace 양성을 보였다. 이에 추가로 동일 회사 시약으로 수기법 재검을 실시하였는데, 혈구형은 A₁B_{weak} (anti-B: trace), 혈청형에서는 B cell에 음성 소견으로 다른 결과를 보였다. 이처럼 동일한 시약으로 시행한 ABO 검사 결과의 불일치는 자동화 장비와 수기법의 incubation 온도는 비슷하지만 자동화 장비 내에서 보관되는 시약의 온도가 13~16℃로 수기

법과 달라 발생하는 것으로 추정되었다.

일반적으로 A₁B₃가 관찰되면 cis-A₁B₃형과 감별이 중요하다. 주요 감별점은 혈청형에서 B cell에 응집을 보이면 cis-A₁B₃를 의심하고, B cell에 응집이 없으면 일반적인 (trans) A₁B₃를 더 의심할 수 있으며 수혈은 혈장과 혈소판은 모두 AB형이 추천되지만, 적혈구의 경우는 cis-AB형인 경우는 적혈구의 경우 O형이나 A형이 추천되고, 일반 AB형은 어떤 혈액형도 가능하지만 혈소판과 혈장과 동일하게 AB형이 추천되기도 한다[8]. 따라서, 본 증례는 정확한 혈액형을 규명하기 위해서 ABO 유전자 검사를 시행하였다.

유전자 검사 결과 *ABO*A1.02/B3.01*이 규명되어, 환자의 B₃ 표현형은 *ABO*B3.01* 대립유전자에 의해 생성되었을 것으로 추정할 수 있었다. ABO 혈액형은 인종 간 차이를 보이며 B형과 B의 아형은 미국이나 유럽 백인에 비해 한국인, 일본인, 중국인 등 동양인에 상대적으로 많이 분포하는 것으로 알려져 있고, 실제 B₃ 특이대립유전자들도 대부분 한국과 일본, 중국인으로부터 규명되었다. 최근까지 ISBT에서 명명한 ABO 혈액형 대립유전자 데이터베이스(Names for ABO (ISBT 001) Blood Group Alleles)에 등록된 B₃형에 대한 특이대립유전자는 총 8개로[2-5], *ABO*B3.01* (c.1054C>T), *ABO*B3.02* (c.646T>A), *ABO*B3.03* (IVS3+5G>A), *ABO*B3.04* (c.247G>A), *ABO**

B3.05 (c.425T>C), ABO*B3.06 (c.547G>A), ABO*B3.07 (c.410C>T), ABO*B3.08 (c.938A>C)이다. 대부분의 대립유전자는 ABO 유전자의 엑손 6과 7의 분석을 통해 규명되었고, 이 등은 국내 B₃형에 대한 유전자 분석을 엑손 6과 7 뿐 아니라 엑손 1-5도 추가로 직접염기서열 분석을 시행하였으나, ABO*BW.03을 제외하고는 대부분 ABO*B.01이 관찰되어 B₃ 표현형을 설명할 수 있는 합당한 대립유전자는 발견되지 않았다. 그런데, B₃형과 달리 A₁B₃형은 ABO*A/cisAB.01, ABO*A/B3.06등이 원인 유전자로 규명되었다[8,9]. 그런데, B₃ 표현형을 결정하는 대립유전자로 가장 먼저 명명된 ABO*B3.01은 예상과 달리 그간 한국인에서 보고된 바가 없다.

ABO*B3.01이 Yamamoto 등[4]에 의해 A₁B₃ 표현형을 가진 일본인으로부터 처음 규명되어 B₃ 표현형을 결정하는 특이대립유전자로 알려졌지만, 일본 내에서 조사된 연구[3]에서 보고되지 않았고, 중국인을 대상으로 한 연구[10]에서도 보고되지 않아 B형과 그 아형이 상대적으로 많이 분포하는 것으로 알려진 동양인 가운데에서 ABO*B3.01은 매우 드물 것으로 보인다. 다만, 대부분의 조사나 연구가 제한된 수의 B₃나 A₁B₃ 표현형을 대상으로 시행되어 ABO*B3.01의 분포에 대한 정확한 빈도가 알려지지 않아 추가 연구가 필요하다고 생각된다.

ABO*B3.01은 B₃ 표현형을 결정하는 대립유전자로 알려졌다. 이를 규명하기 위해서는 발현검사를 실시할 수 있다. Cho 등[6]은 O형을 가진 환자에서 유래한 HeLa 암세포주에 ABO*B.01 유전자, ABO*BW.01 유전자, 그리고 ABO*B3.05 대립유전자를 각각 삽입하여 세포주에 발현된 B항원을 유세포 분석으로 정량적으로 비교하면서, ABO*B3.05 유전자가 B₃ 표현형을 유발하였음을 실험적으로 증명하였다. 하지만, 이러한 발현 검사는

많은 노동력과 시간이 소요되어 최근에는 간접적인 방법이지만 보다 간편한 in silico 분석을 실시할 수 있다. 약한 D 표현형을 보인 여자 환자에서 규명된 RHD*01W.33가 적혈구 D항원의 표현형에 미치는 영향을 규명하기 위해 PolyPhen-2와 SIFT로 D 단백질 구조에 변성을 분석하여 표현형에 영향을 유발할 가능성이 높을 것으로 예측된 보고가 있다[11]. 본 연구에서도 B301 대립유전자를 in silico 분석하였고, damaging이 있음을 확인하여 Yamamoto [4]가 규명한 것을 다시 확인할 수 있었다.

요 약

B₃은 드물지만 B 아형 중에서 가장 흔하며, 한국인 전체 B형의 0.025%로 보고되었다. ABO*B3.01은 ABO*B.01 대립유전자의 1,054번째 뉴클레오타이드의 시토신이 티민으로 치환된 과오변이이며, B₃에 특이적인 대립유전자이지만 예상외로 한국에서는 거의 보고되지 않았다. 저자들은 A₁B₃ 임신부에서 발견된 ABO*B3.01을 ABO 유전자의 6번과 7번 엑손의 직접염기서열 분석을 통해 확인하였고 한국인 첫 증례를 보고한다.

References

1. Lee S, Cho D, Jeon M, Song JW, Shin MG, Shin JH, et al. Analysis of complete exons and flanking introns of ABO gene in Korean B₃ blood donors. Korean J Blood Transfus 2006;17:97-105
2. Cho D, Kim SH, Ki CS, Choi KL, Cho YG, Song JW, et al. A novel B(var) allele (547 G>A) demonstrates differential expression depending on the co-inherited ABO allele. Vox Sang 2004;87: 187-9
3. Ogasawara K, Yabe R, Uchikawa M, Nakata K,

- Watanabe J, Takahashi Y, et al. R Recombination and gene conversion-like events may contribute to ABO gene diversity causing various phenotypes. *Immunogenetics* 2001;53:190-9
4. Yamamoto F, McNeill PD, Yamamoto M, Hakomori S, Harris T, Judd WJ, et al. Molecular genetic analysis of the ABO blood group system: 1. Weak subgroups: A3 and B3 alleles. *Vox Sang* 1993;64:116-9
 5. Yu LC, Twu YC, Chou ML, Chang CY, Wu CY, Lin M. Molecular genetic analysis for the B(3) allele. *Blood* 2002;100:1490-2
 6. Cho D, Shin DJ, Yazer MH, Ihm CH, Hur YM, Kee SJ, et al. The M142T mutation causes B3 phenotype: three cases and an in vitro expression study. *Korean J Lab Med* 2010;30:65-9
 7. Won EJ, Cho D, Heo MS, Park HR, Shin MG, Ryang DW. Six years' experience performing ABO genotyping by PCR-direct sequencing. *Korean J Blood Transfus* 2012;23:236-47
 8. Chun S, Choi S, Yu H, Cho D. *Cis*-AB, the blood group of many faces, is a conundrum to the novice eye. *Ann Lab Med* 2019;39:115-20
 9. Seo D, Kim S, Kim JY, Park S, Lee JB, Han KS. Molecular characteristics of B subgroups in Koreans. *Korean J Lab Med* 2005;25:280-4
 10. Cai X, Jin S, Liu X, Fan L, Lu Q, Wang J, et al. Molecular genetic analysis of ABO blood group variations reveals 29 novel ABO subgroup alleles. *Transfusion* 2013;53(11 Suppl 2): 2910-6
 11. Yu H, Park JE, Park G, Cho D. Weak D type 33 found in a patient with a weak D phenotype: the first case in Korea. *Korean J Blood Transfus* 2019;30:65-70