

珠蛋白生成障碍性贫血红细胞参数的分析*

林 芬, 罗招云, 林 敏, 杨立业 (南方医科大学附属潮州中心医院检验实验中心, 广东潮州 521021)

【摘要】 目的 探讨不同类型珠蛋白生成障碍性贫血红细胞参数的分布特点。方法 对经基因确诊的 224 例珠蛋白生成障碍性贫血患者和 100 例体检健康人群的标本, 用美国雅培 CD3700 全自动血细胞分析仪测定红细胞参数, 然后进行统计学处理分析。结果 标准型 α 珠蛋白生成障碍性贫血、静止型 α 珠蛋白生成障碍性贫血、H 病、轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血、HbE 的红细胞平均体积 (MCV)、红细胞平均血红蛋白含量 (MCH)、红细胞平均血红蛋白浓度 (MCHC) 与健康对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。不同基因类型珠蛋白生成障碍性贫血其红细胞参数有一定的分布区间。结论 珠蛋白生成障碍性贫血患者红细胞参数有其独特的血液学特征, 对诊断珠蛋白生成障碍性贫血具有一定的临床价值, 为进一步基因诊断提供了必要的依据。

【关键词】 珠蛋白生成障碍性贫血; 红细胞参数; 血红蛋白; 基因分型

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.06.004 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)06-0647-02

Erythrocyte indexes analysis of thalassemia* LIN Fen, LUO Zhao-yun, LIN Min, YANG Li-ye (Laboratory and Experiment Center, Affiliated Chaozhou Central Hospital, Southern Medical University, Chaozhou, Guangdong 521021, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the distribution characters of RBC indexes of different thalassemia genotypes. **Methods** The blood samples were collected from 224 thalassemia patients and 100 healthy people, which were diagnosed by gene chip and Gap-PCR. All samples were analyzed by CD3700 for the erythrocyte indexes. Then the data were analyzed statistically. **Results** Compared to the normal control group, there was statistical significance in the decrease of MCV, MCH and MCHC in thalassemia, including α -thalassemia trait, silent α -thalassemia, HbH, mild β -thalassemia and HbE. RBC parameters of different thalassemia genotypes had some distribution interval. **Conclusion** There is distinct character of hematological indexes of RBC in thalassemia patients, which has some clinical value for thalassemia diagnosis and provides necessary evidence for further genetic diagnosis.

【Key words】 thalassemia; erythrocyte index; hemoglobin; molecular diagnosis

珠蛋白生成障碍性贫血 (thalassemia) 是一种遗传性疾病, 在我国以两广地区发病率最高^[1]。据文献报道, 广东省 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率为 8.53%, β 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率为 2.54%^[2]。处理珠蛋白生成障碍性贫血最有效的手段是预防和控制新病例产生^[3]。目前各种检测手段, 例如: 红细胞渗透脆性试验 (OFT)、红细胞平均体积 (MCV)、血红蛋白 (Hb) 电泳法等被运用于筛查珠蛋白生成障碍性贫血, 但是较少有报道对各类型珠蛋白生成障碍性贫血的红细胞参数作出详细的对比, 现将本科室检出的 224 例珠蛋白生成障碍性贫血和 100 例健康体检人群的红细胞参数总结分析如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 健康对照组为随机选取的 100 例健康体检者, 男女各 50 例, 年龄 20~70 岁。224 例珠蛋白生成障碍性贫血标本为本地地区常见型珠蛋白生成障碍性贫血, 分成 5 组, 包括 α^+ 珠蛋白生成障碍性贫血静止型 ($\alpha\alpha/ -\alpha^{4,2}, -\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$)、 α^0 珠蛋白生成障碍性贫血标准型 ($\alpha\alpha/ - -^{SEA}$)、HbH 病、轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血、具有典型 β^+ 珠蛋白生成障碍性贫血效应的 HbE 杂合子 (β^+/β^E), 患者年龄介于 18~70 岁, 所有病例均排除异常血红蛋白病, α 和 β 珠蛋白生成障碍性贫血双重杂合子、纯合子, α 复合 β 珠蛋白生成障碍性贫血以及缺

铁性贫血 (IDA)。

1.2 血液学分析 用 EDTA-K₂ 抗凝真空管抽取 2 mL 外周静脉血, 然后用美国雅培 CD3700 全自动血细胞分析仪进行血液学检查, 同时用其配套校准物校准并做好室内质量控制, 保证检测结果的准确性。

1.3 Hb 电泳 用醋酸纤维薄膜电泳法。珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断使用深圳亚能生物技术有限公司生产的试剂盒, 可以检测 3 种常见缺失型 α 珠蛋白生成障碍性贫血, 3 种突变型 α 珠蛋白生成障碍性贫血和 17 种 β 珠蛋白生成障碍性贫血。

1.4 统计学方法 红细胞参数测得的数据采用 SPSS16.0 专业版软件做单因素方差分析。

2 结 果

RBC 和 Hb 有性别差异, 故分开统计分析。5 种基因型珠蛋白生成障碍性贫血组红细胞参数结果详见表 1。从表 1 可见, 标准型 α 珠蛋白生成障碍性贫血、静止型 α 珠蛋白生成障碍性贫血、H 病、轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血、HbE 的 MCV、MCH、红细胞平均血红蛋白浓度 (MCHC) 与健康对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。33 例 HbE 红细胞数多为正常, Hb 正常或轻度降低, 除 1 例 MCH 为 30.3 pg 正常

* 基金项目: 广东省社会发展计划 (2011B031800329); 广东省医学科研基金 (A2011758, B2010348, A2012837)。

外,其余 32 例 MCH 均降低。

表 1 五种基因型珠蛋白生成障碍性贫血组的红细胞参数 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | | RBC($\times 10^{12}/L$) | | Hb(g/L) | | MCV(fL) | MCH(pg) | MCHC(g/L) |
|--|----|----|---------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 男 | 女 | 男 | 女 | 男 | 女 | | | |
| $\alpha\alpha/---SEA$ | 38 | 46 | 5.88 \pm 0.85* | 4.93 \pm 0.60* | 126 \pm 19.5* | 100 \pm 18.5* | 66.3 \pm 6.2* | 20.9 \pm 2.9* | 317 \pm 37.4* |
| $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 和 $\alpha\alpha/-4.2$ | 14 | 23 | 5.44 \pm 0.48* | 4.70 \pm 0.53* | 144 \pm 21.9 | 117 \pm 14.3* | 78.9 \pm 7.6* | 25.5 \pm 2.8* | 323 \pm 14.8* |
| HbH 病 | 11 | 15 | 4.71 \pm 0.84 | 4.23 \pm 0.92 | 92 \pm 17.9* | 85 \pm 13.4* | 66.4 \pm 8.0* | 20.1 \pm 3.0* | 303 \pm 37.4* |
| 轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血 | 17 | 27 | 5.89 \pm 0.71* | 4.81 \pm 0.83* | 119 \pm 15.3* | 102 \pm 15.4* | 64.9 \pm 5.6* | 20.9 \pm 2.0* | 323 \pm 18.5* |
| HbE | 17 | 16 | 4.91 \pm 0.76 | 4.92 \pm 0.60* | 124 \pm 22.7* | 124 \pm 16.4 | 78.8 \pm 5.1* | 25.3 \pm 2.6* | 322 \pm 25.7* |
| 健康对照组 | 50 | 50 | 4.78 \pm 0.35 | 4.30 \pm 0.40 | 145 \pm 9.96 | 129 \pm 12.3 | 84.0 \pm 5.5 | 30.2 \pm 0.9 | 345 \pm 4.1 |

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨 论

珠蛋白生成障碍性贫血是我国南方各省影响最大、发病率最高的遗传病之一^[2],其主要发病机制是由于人体基因突变或缺失而导致的 α 与 β 珠蛋白肽链合成速率的不平衡而引起的溶血性疾病,严重影响人们的健康和人口素质^[1,3]。

潮州市位于粤东,珠蛋白生成障碍性贫血发病率较高, α 珠蛋白生成障碍性贫血以标准型($\alpha\alpha/---SEA$)为主,其次是静止型($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$, $\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$),最后是 HbH 病($-\alpha^{3.7}/---SEA$ 和 $-\alpha^{4.2}/---SEA$), β 珠蛋白生成障碍性贫血最常见的突变类型是 654M^[4]。本文收集了经基因确诊的 224 例珠蛋白生成障碍性贫血标本,以 100 例健康体检者标本为健康对照组,用美国雅培 CD3700 全自动血细胞分析仪进行红细胞参数检查,然后采用 SPSS16.0 软件做单因素方差统计分析。

健康对照组红细胞参数的均值与丛玉隆等^[5]在全国 14 个城市调查的参考范围基本一致,说明本文统计分析的数据具有较高的参考价值。通过对各种基因型珠蛋白生成障碍性贫血和红细胞参数的回顾性分析,结果表明 5 种基因型珠蛋白生成障碍性贫血组的 MCV、MCH 和 MCHC 与健康对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。患者 MCV、MCH、MCHC 多数减低,减低程度与珠蛋白生成障碍性贫血基因类型相关。轻型 α 珠蛋白生成障碍性贫血和轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血的红细胞参数与健康对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),RBC 数增多,且 MCV 明显降低,利用小红细胞这一显著特点可有效筛查轻型珠蛋白生成障碍性贫血,降低临床风险。

HbH 病是 $\alpha 0$ 和 α^+ 地贫的双重杂合子,属于中间型 α 珠蛋白生成障碍性贫血,有中等度或较严重的溶血性贫血^[6]。本次统计的 26 例 HbH 病,除 MCV 比轻型珠蛋白生成障碍性贫血高外,其他红细胞参数均低于各珠蛋白生成障碍性贫血组和健康对照组,以 Hb 降低最为明显,该特征对于诊断 HbH 病可起参考和辅助作用。HbE 主要分布在南方^[7],研究表明 βE 基因具有 β^+ 珠蛋白生成障碍性贫血效应,本文中 33 例 HbE 红细胞数多为正常,Hb 正常或轻度降低,除 1 例 MCH 为 30.3 pg 正常外,其余 32 例 MCH 均降低,MCH 降低这一特征有助于临床对没有贫血症状者的分析筛查。除上述统计中的 44 例轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血外,作者在工作中还诊断 4 例双突变杂合子 β 珠蛋白生成障碍性贫血和 1 例纯合子 β 珠蛋白生成障碍性贫血,分别是 654M/41-42M(2 例)、41-42M/

17M、654M/17M、654M/654M 各 1 例,因为例数少,故没有列入统计范围中。

目前国内普遍采用 $MCV < 80$ fL 临界值来筛查珠蛋白生成障碍性贫血^[8],作者在临床工作中发现,红细胞参数检测结果是诊断珠蛋白生成障碍性贫血最基本的试验,在排除其他引起贫血因素之后怀疑为珠蛋白生成障碍性贫血的患者,通过分析红细胞参数的指标,可以初步预测它的基因类型,为接下来进行基因确诊起到提示和辅助判别的作用。对于已通过基因诊断明确基因型的珠蛋白生成障碍性贫血标本,可以将之与红细胞参数进行比对,进一步验证检测结果的准确性。

随着分子生物学技术的发展,珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断已被应用于临床,国内外用于明确诊断的是聚合酶链反应(PCR)技术检测,但由于其方法繁琐,设备要求高,费用昂贵等原因,无法广泛运用于大规模筛查和基层医院。据研究,红细胞参数与珠蛋白生成障碍性贫血有很好的相关性,本文通过检测静止型、标准型、中间型 α 珠蛋白生成障碍性贫血和轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血、HbE 的红细胞参数,与健康人群进行比较,由统计结果可以看出,不同基因类型的珠蛋白生成障碍性贫血呈现不同的血液学特征,血细胞计数仪所提供的红细胞参数,对鉴别不同类型的珠蛋白生成障碍性贫血具有重要的指导意义,为进一步基因确诊提供了依据。

参考文献

- [1] 林敏,郑磊,蔡贞,等. 红细胞参数区分小红细胞人群中珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者与铁缺乏症的诊断价值[J]. 现代检验医学杂志,2011,26(1):22-27.
- [2] 黄烁丹,张惠琴,邹婕,等. 广东省梅州地区地中海贫血的分子流行病学调查[J]. 热带医学杂志,2011,11(7):788-790.
- [3] Pan HF, Long GF, Li Q, et al. Current status of thalassemia in minority populations in Guangxi, China [J]. Clin Genet, 2007, 71(5):419-426.
- [4] 林芬,林春萍,翁妙珊,等. 潮州地区人群血红蛋白病基因型分布调查[J]. 分子诊断与治疗杂志,2012,4(2):107-110.
- [5] 丛玉隆,金大鸣,王鸿利,等. 中国人群成人静脉血细胞分析参考范围调查[J]. 中华医学杂志,2003,83(14):1201-1205.

2 结 果

2.1 ELISA 法检测 IL-18 标准回归方程的建立 回归方程： $Y = (-6.55 \times 2\ 689\ 566.2 + 3.965\ 452 \times X^{1.12}) / (2\ 685\ 566.2 + X^{1.12})$ 。相关系数(r):0.999 4。

2.2 外周血与关节液 IL-18 的检测 A 组 IL-18 水平为(215.2±8.6)pg/mL, B 组 IL-18 水平为(226.7±9.6)pg/mL, C 组 IL-18 水平为(244.3±10.5)pg/mL, D 组 IL-18 水平为(212.9±8.7)pg/mL, E 组 IL-18 水平为(213.5±7.9)pg/mL, F 组 IL-18 水平为(239.5±10.5)pg/mL。B、C、D、E 与 A 组结果比较见表 1; 非参数两关联标本检验结果见表 2。

表 1 12 例 RA 患者各组外周血与关节液标本 IL-18 检测结果比较

| 组别 | 配对差异 ($\bar{x} \pm s$) | 95%CI | t | P | 相关分析 | |
|------------|-----------------------------|------------|-------|-------|-------|-------|
| | | | | | r | P |
| B 组 vs A 组 | 4.14±2.85 | 1.83~6.58 | 4.113 | 0.003 | 0.985 | 0.000 |
| C 组 vs A 组 | 3.05±2.39 | 1.02~5.14 | 3.588 | 0.005 | 0.975 | 0.000 |
| D 组 vs A 组 | 4.51±4.21 | 0.98~8.12 | 3.005 | 0.023 | 0.820 | 0.014 |
| E 组 vs A 组 | 0.07±3.46 | -2.76~3.12 | 0.068 | 0.896 | 0.534 | 0.174 |

表 2 12 例 RA 患者各组外周血与关节液标本 IL-18 非参数两关联样本检验

| 组别 | IL-18 浓度[M(Q)]差值 | Z | P |
|------------|--------------------|--------|-------|
| C 组 vs A 组 | 11.06(1.89, 19.10) | -2.489 | 0.013 |
| C 组 vs B 组 | 5.16(1.05, 13.25) | -2.354 | 0.018 |
| C 组 vs D 组 | 8.15(0.81, 11.52) | -2.516 | 0.011 |
| E 组 vs F 组 | 4.53(1.05, 8.02) | -2.236 | 0.024 |

3 讨 论

滑膜炎是 RA 的病变基础。在炎症过程中 IL-18 是维持滑膜炎持续长期存在的关键细胞因子^[6]。Bokarewa 等^[7]曾在 RA 滑膜组织特殊标记 IL-18, 发现在 80% 患者膝关节的滑膜衬里层可探测到 IL-18, 而且 IL-18 的表达和巨噬细胞浸润有关。国内外学者研究结果提示 IL-18 参与 RA 发病过程^[8-9]。当前风湿学界较为关注的 RA 损伤和炎症分离现象^[10], 从一定意义上说 IL-18 水平表达较高, 提示 RA 病情控制不佳, 应进一步动态检测药物治前后其 IL-18 水平的变化。常用 IL-18 检测方法为双抗体夹心 ELISA, 可定量检测 RA 患者血液与关节液 IL-18 水平, 标本中 IL-18 可能会因保存时间和温度不同发生降解灭活, 了解其规律有助于判定检验结果的可靠性。本研究显示 B、D、E 组 IL-18 浓度显著高于 A 组(均 $P < 0.05$); C 组血清 IL-18 水平亦明显高于 D 组、B 组和 A 组血清(均 $P < 0.05$), 表明外周血 IL-18 水平变化受时间和温度影响, 而温度影响更为显著。本研究显示, RA 患者室温 0

h 血清(即 A 组)与室温 0 h 关节滑液(即 F 组)IL-18 浓度差值变化无统计学意义($P > 0.05$)。提示活动期 RA 患者外周血与关节液中 IL-18 水平接近或一致, 检测外周血 IL-18 水平可反映关节液水平。本研究还提示, 血清或关节液常温存放随时间变化其 IL-18 水平增加, 分析原因可能是在温度和时间影响下, 标本中 IL-18 多聚体分解, 暴露更多的结合位点, 使一抗和二抗结合增加, 导致 A 值水平增加。

综上所述, 外周血 IL-18 水平可反映关节液 IL-18 水平; 标本中 IL-18 水平受时间和温度影响而变化, 而温度影响更为显著。因此检测 IL-18 水平应注意及时采集血清, 及时检测。

参考文献

- [1] Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis [J]. Lancet, 2010, 376(9746): 1094-1108.
- [2] Klareskog L, Catrina AI, Paget S, et al. Rheumatoid arthritis [J]. Lancet, 2009, 373(9664): 659-672.
- [3] Shao XT, Feng L, Gu LJ, et al. Expression of interleukin-18, IL-18BP, and IL-18R in serum, synovial fluid, and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis [J]. Clin Exp Med, 2009, 9(3): 215-221.
- [4] 曲瑾. 类风湿关节炎关节滑膜细胞中 IL-18 表达及意义 [J]. 山东医药, 2008, 48(48): 99-100.
- [5] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative [J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(9): 2569-2581.
- [6] Brennan FM, McInnes IB. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis [J]. J Clin Invest, 2008, 118(11): 3537-3545.
- [7] Bokarewa M, Hultgren O. Is interleukin-18 useful for monitoring rheumatoid arthritis [J]. Scand J Rheumatol, 2005, 34(6): 433-436.
- [8] 王叶萍, 姚航平. 类风湿性关节炎患者血清和滑液 IL-18 及 IL-18 结合蛋白的水平及意义 [J]. 检验医学, 2004, 19(6): 518-520.
- [9] Bresnihan B, Roux Lombard P, Murphy E, et al. Serum interleukin 18 and interleukin 18 binding protein in rheumatoid arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2002, 61(8): 726-729.
- [10] Brown AK, Conaghan PG, Karim Z, et al. An explanation for the apparent Dissociation between clinical remission and continued structural deterioration in rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(10): 2958-2967.

(收稿日期: 2012-09-06 修回日期: 2013-01-04)

(上接第 648 页)

- [6] 李贵才, 谢鹤, 王朋朋, 等. 潮州地区地中海贫血患儿基因突变类型分析 [J]. 中华全科医学杂志, 2012, 10(6): 877-879.
- [7] 王妍, 林敏, 韩志君, 等. 江苏省无锡地区异常血红蛋白病的流行病学调查 [J]. 实用医学杂志, 2012, 28(2): 316-

318.

- [8] 张银辉, 张允奇, 黄烈, 等. 地中海贫血诊断实验的选择在临床的应用价值 [J]. 中华全科医学, 2012, 28(2): 454-456.

(收稿日期: 2012-09-06 修回日期: 2013-01-03)