

• 论 著 •

珠蛋白生成障碍性贫血 HbCS-H 病的筛查与诊断现状*

魏彩霞, 欧阳小峰, 杨 雯, 刘 丹, 王 滔, 沙春芳

(昆明金域医学检验所, 云南昆明 650214)

摘要:目的 对非缺失型 α 珠蛋白生成障碍性贫血(后简称地贫)血红蛋白(Hb)CS-H 病表型及基因型的表现特点和防控现状进行分析, 以加强产前筛查医务工作者对 HbCS-H 病的诊断水平和防控意识。方法 采用全血细胞分析仪、Sebia Capillarys 2 型毛细管电泳仪检测地贫表型; 采用跨越断裂点聚合酶链反应(GAP-PCR)和聚合酶链反应(PCR)反向点杂交技术(RDB)检测国内常见的 3 种缺失型 α 地贫($\alpha\alpha/--^{SEA}$ 、 $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ 、 $\alpha\alpha/\alpha^{4.2}$), 3 种常见 α 地贫点突变(α^{CS} 、 α^{QS} 、 α^{WS})和 17 种 β 地贫点突变基因。结果 104 361 例地贫筛查者中, 毛细管电泳出现 CS 条带的 296 例(0.28%), 包括 CS 型、CS+H+Bart's 型、CS+H 型、CS+HbE 型、CS+异常 Hb 条带型等 5 种表现形式。其中, 24 例电泳出现 CS+H+Bart's 型, 2 例出现 CS+H 型异常条带, 全部 26 例患者经基因确诊为 HbCS-H 病, 基因型均为 $--^{SEA}/\alpha^{CS}$ 。选取 30 例电泳无 CS 条带者作为对照, 均未能检测到 CS 基因。结论 HbCS-H 病患者所携带的 SEA 和 CS 基因分别来自父母双方; 单纯携带 SEA 或 CS 者, 血液学表现为轻微异常或正常。毛细管电泳能有效分离出 CS 条带, 提高对电泳筛查报告单的解读能力, 正确应用基因确诊手段, 发现有可能出生 HbCS-H 患儿的高危家庭并进入产前诊断, 对防控 HbCS-H 患儿的出生有重要意义。

关键词: 珠蛋白生成障碍性贫血; 血红蛋白 CS-H 病; 筛查; 诊断; 基因突变

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.22.012 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2017)22-3311-02

Current status of screening and diagnosis of thalassemia HbCS-H disease*

WEI Caixia, OUYANG Xiaofeng, YANG Wen, LIU Dan, WANG Tao, SHA Chunfang

(Kunming Kingmed Medical Laboratory Institute, Kunming, Yunnan 650214, China)

Abstract: Objective To analyze the manifestations characteristics and prevention and control status quo of phenotype and genotype in non-deletional thalassemia hemoglobin(Hb)CS-H disease in order to increase the diagnosis level of the medical staffs conducting the prenatal screening to HbCS-H disease and strengthen the prevention and control awareness on this disease. Methods The whole blood cells analyzer and Sebia Capillarys type 2 capillary electrophoresis(CE)apparatus were applied to detect thalassemia phenotype; GAP-PCR and PCR reverse dot-blot(RDB)hybridization technique were used to detect 3 kinds of most common deletional alpha thalassemia($\alpha\alpha/--^{SEA}$ 、 $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ 、 $\alpha\alpha/\alpha^{4.2}$), 3 kinds of common alpha thalassemia point mutations(α^{CS} 、 α^{QS} 、 α^{WS})and 17 kinds of beta thalassemia point mutations at home. Results Among 104 361 cases of thalassemia screening, CE appeared the CS bands in 296 cases(0.28%), including the type CS, CS+H+Bart's, CS+H, CS+HbE, CS+abnormal Hb bands. Among them, 24 cases of electrophoresis appeared the type CS+H+Bart's in 1 case, type CS+H in 2 cases, the patients with type CS+H were diagnosed as HbCS-H disease by gene detection, the genotype was $--^{SEA}/\alpha^{CS}$. Thirty cases of electrophoresis without CS band were used as the control, the CS gene was not detected. Conclusion The patients with HbCS-H disease carry SEA and CS genes from both parents, the patients carrying simple SEA or CS have mild hematologic abnormalities or normal. CE can effectively separate the CS band, increases the interpreting ability to electrophoresis screening report, correctly uses the gene diagnosis means, finds the high risk family possibly delivery the newborn of HbCS-H disease and make them enter the prenatal examination, which has an important significance for preventing and controlling the delivery of HbCS-H newborn.

Key words: thalassemia; HbCS-H disease; screening; diagnosis; genetic mutations

珠蛋白生成障碍性贫血(后简称地贫)是全球广为流行的遗传性溶血性疾病, α 型地贫血红蛋白(Hb)CS-H 病是 HbH 病的一个类型, 因其突变发生于功能较强的 $\alpha 2$ 基因, 导致其 α 珠蛋白链合成减少情况比缺失型 α 地贫更严重。因此, 非缺失型 HbCS-H 病的临床症状和血液学改变均比缺失型 HbH 病更严重^[1-2]。HbCS-H 病在人群中的发生率虽然不高, 但给患者及患者家庭带来多方面重创。笔者采用血细胞分析、毛细管 Hb 电泳、基因检测等方法, 对 2013 年 1 月至 2015 年 12 月云南省各地区送检昆明金域医学检验所的产前地贫筛查及疑似地贫患者 104 361 例进行了地贫表型筛查, 对其中 11 366 例进行了基因确诊, 发现 26 例 HbCS-H 病。本研究将对地贫筛查及基因检测中 HbCS-H 病的表现特点进行分析, 以加强医务

工作者对 HbCS-H 病的认识和防控意识。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2015 年 12 月云南省各地区送检昆明金域医学检验所的产前地贫筛查及疑似地贫患者共 104 361 例, 其中对 11 366 例进行地贫基因确诊。

1.2 仪器与试剂 采用 Sebia Capillarys 2 型毛细管电泳分析仪及配套试剂、质控品(法国 Sebia)。采用 LH750 全自动全血细胞分析仪及配套试剂、质控品(贝克曼库尔特)。采用 Hema 9600 型基因扩增仪(珠海黑马)、YN-H16 型杂交仪恒温仪(亚能生物)、DYY-6C 型电泳仪(北京六一)、BIS 910 型凝胶成像仪(东胜龙科)。试剂全血 DNA 提取和地贫基因检测试剂盒

* 基金项目: 云南省科技厅创新型试点企业资助项目(2069999)。

作者简介: 魏彩霞, 女, 主任技师, 主要从事血液学与遗传方面的研究。

购于亚能生物技术(深圳)有限公司。

1.3 方法 毛细管电泳法:采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管抽取 3 mL 静脉血,颠倒混匀防止血液凝固。试验前,将 Sebia Capillarys 2 型毛细管电泳仪开机预热 30 min,将试剂置于室温复温 30 min。将全血标本按照 Sebia Capillarys 2 型毛细管电泳仪说明书操作,使用厂家原配 HbA2 质控品先行室内质控,仪器处于良好运行状态时进行检测。电泳各条带水平分别以电泳所得 Hb 条带的峰值为 100% 时所占比例表示。以标本电泳出现 HbH、HbCS 和 Hb Bart's 条带初步判定为 HbCS-H 病。地贫基因检测采用深圳亚能生物技术有限公司提供的试剂,采用跨越断裂点聚合酶链式反应(GAP-PCR)检测国内常见的 3 种缺失型 α 地贫($\alpha\alpha/^{-SEA}$ 、 $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ 、 $\alpha\alpha/\alpha^{4.2}$)。采用聚合酶链反应(PCR)反向点杂交技术(RDB)检测 3 种常见的 α 地贫点突变(α^{CS} 、 α^{QS} 、 α^{WS})和 17 种常见的 β 点突变。

2 结果

在 104 361 例毛细管电泳筛查中,出现 CS 条带 296 例(0.28%),包括 5 种表现形式:CS 型、CS+H+Bart's 型、CS+H 型、CS+HbE 型、CS+异常 Hb 条带型。单纯 CS 型 259 例(87.5%),CS+H+Bart's 型 24 例(8.1%),CS+H 型 2 例,其他类型 11 例。选择电泳仅出现 CS 条带者 30 例进行非缺失型 α 基因检测,均检出 α^{CS} 突变基因,其中,CS 条带水平最低者仅为 0.3%。另选 30 例无 CS 条带者作为对照,均未能检测到 CS 基因。

地贫基因检测 11 366 例,检出地贫基因携带者 4 472 例,其中 α 地贫基因携带者 1 781 例(39.7%);SEA 携带 844 例,占 α 地贫基因的 47.4%。

26 例确诊 HbCS-H 病患者;成年人 13 例,年龄均大于 21 岁;小于 11 岁儿童 13 例,4 例年龄小于 7 个月,最小年龄仅为 2 个月。所有患者均表现小细胞低色素特征,轻度贫血 1 例,中度贫血 20 例,重度贫血 5 例。采用毛细管电泳法,24 例检测出 HbH、Hb Bart's、HbCS 条带,基因型均为 $^{-SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ 。2 例电泳仅出现 HbH、CS 条带,基因型均为 $^{-SEA}/\alpha^{CS}\alpha$,此 2 例患者均表现为中度贫血。

3 讨论

HbCS-H 病患者一般呈中度或重度贫血表现,父母双方分别携带有 SEA 和 CS 基因,其子女就有 25.0% 的概率成为 HbCS-H 病患者^[3]。而 SEA 尤其是单纯 CS 基因携带者的血细胞异常情况通常都比较轻微甚至无异常,容易被忽略。

随着科学技术的进步,既往 Hb 电泳采用的传统琼脂糖电泳方法逐渐被分辨率更高的毛细管电泳方法所取代。毛细管电泳法能有效分离出 HbCS 条带,可为发现 HbCS 并进一步进行 α^{CS} 点突变基因确诊提供重要依据^[4]。本研究从 296 例电泳出现 HbCS 被检测者中选择取 30 例含 HbCS 条带者进行基因

检测,全部检测到 α^{CS} 点突变基因,其中电泳 CS 条带水平最低者仅为 0.3%。另选取 30 例未见 HbCS 条带的标本作为对照,均未检测到 α^{CS} 点突变基因,电泳和基因的敏感度和特异度均达到 100%。

本研究确诊的 26 例 HbCS-H 病患者中 25 例为中度或重度贫血。尽管毛细管电泳出现 HbCS、Hb Bart's、HbH 等多条异常条带,提示 HbCS-H 病,但可能由于接诊医师对地贫电泳结果解读认识有限,进行基因检测时仅选取了作为常规应用的 α 缺失型和 β 突变型,而遗漏了 α 点突变基因检测,致使基因检测结果仅提示检出 SEA 而不能确诊 HbCS-H 病。本研究 26 例患者因其贫血程度与基因表现显然不符,在排除其他因素引起的贫血后,笔者为患者加做了 α 点突变检测,证实基因携带为 SEA 和 CS,使其 HbCS-H 病得到确诊。

地贫筛查首先选择进行 Hb 电泳分析,毛细管电泳因其能明确分辨 HbCS 条带,可为医师提供发现 CS 基因携带的依据。当电泳出现 HbCS 条带时,如果是生育前地贫筛查,就应该进一步进行 α 点突变基因检测,一旦确定携带有 CS 基因,就要特别关注其配偶是否携带 SEA 基因。结果证实夫妻双方分别带有 CS 和 SEA 基因,提示这对夫妻有 25.0% 的概率生出 HbCS-H 病患儿,必须适时进行产前诊断^[5],以明确胎儿是否患 HbCS-H 病,早期做出胎儿去留决策。

地贫防治难,防控地贫重症患儿的出生是工作重点。HbCS-H 病因贫血较重,危害患者健康。筛查和诊断主要依赖先进的检测方法,同时也要提升产前筛查医务人员对电泳筛查报告单的解读能力。合理选用基因检测项目对防范 HbCS-H 病地贫患儿出生有重要意义。

参考文献

- [1] Ip HW, So CC. Diagnosis and prevention of thalassemia [J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2013, 50(6): 125-141.
- [2] Martin A, Thompson AA. Thalassemias [J]. Pediatr Clin North Am, 2013, 60(6): 1383-1391.
- [3] 朱春江, 丁晖, 郑海青, 等. 桂北地区 166 例 HbH 患者儿血液学 [J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(4): 267-268.
- [4] 李友琼, 黄慧嫔, 覃桂芳, 等. 毛细管电泳在 Hb CS-H 病中的诊断价值 [J]. 检验医学, 2013, 28(11): 1034-1037.
- [5] Mo Zongping, Yu Changshun, Hu Zhaohui, et al. A novel deletion of 2.8 kb removing the entire alpha 2-globin gene observed in a Chinese patient with Hb H [J]. Clin Lab, 2012, 58(11/12): 1309-1312.

(收稿日期:2017-04-29 修回日期:2017-07-18)

(上接第 3310 页)

综上所述,有结核病治疗史和有吸烟史是结核病患者发生耐药的危险因素;不同患者产生耐药的影响因素存在差异,临床中应加强对耐药结核病的预防控制。

参考文献

- [1] 边学峰, 孙强, 孟庆跃, 等. 耐多药肺结核治疗现状 [J]. 中国防痨杂志, 2012, 34(8): 485-508.
- [2] 范大鹏, 陈光, 吴盛海, 等. 723 例结核病住院患者结核分枝杆菌耐药性分析 [J]. 浙江预防医学, 2013, 25(12): 42-44.

- [3] 于梅, 车洋, 平国华, 等. 2007—2010 年宁波市结核病耐药趋势及影响因素 [J]. 中华传染病杂志, 2012, 30(1): 48-52.
- [4] 宋艺, 万李, 陈双双, 等. 中国 6 个省份结核分枝杆菌耐药状况及影响因素分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(7): 945-948.
- [5] 王海东, 谢艳光, 闫兴录, 等. 耐多药肺结核相关因素探讨 [J]. 中国防痨杂志, 2011, 33(2): 109-112.

(收稿日期:2017-04-22 修回日期:2017-07-08)