

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.23.005

新生儿血红蛋白对地中海贫血筛查准确性分析

沈妙娜,陈海雷,刘 勇[△]

(中山大学孙逸仙纪念医院儿科,广州 510120)

摘要:**目的** 探讨新生儿脐带血与出生 1~3 d 外周血血红蛋白组分与表达量对地中海贫血的筛查准确性。**方法** 收集 2016 年 1 月至 2017 年 6 月在该院出生,并进行珠蛋白基因筛查的新生儿 220 例,应用毛细管电泳分析脐带血或外周血血红蛋白组分。**结果** 220 例新生儿中脐带血组 146 例,外周血组 74 例,两组血红蛋白电泳结果一致。以基因检测结果为确诊标准, α -地中海贫血 77 例,其中电泳检测出 Hb Bart's 条带 63 例,未检出 Hb Bart's 条带均为静止型 α -地中海贫血。以 Hb Bart's 条带作为电泳筛查 α -地中海贫血的标准,其灵敏度为 81.81%(63/77),对轻型 α -地中海贫血灵敏度达 100.00%(61/61),特异度为 100.00%(108/108)。基因检出 β -地中海贫血 34 例与健康新生儿 108 例,两者血红蛋白 F(HbF)百分比采用 ROC 曲线分析。轻型 β -地中海贫血的截断值为 86.65%,其灵敏度为 94.12%(32/34),特异度为 84.26%(91/108)。**结论** 新生儿通过 Hb Bart's 条带筛查 α -地中海贫血,通过 HbF 筛查 β -地中海贫血都有较好的灵敏度和特异度。

关键词:新生儿; 血红蛋白分析; 珠蛋白生成障碍性贫血

中图分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)23-3499-03

Accuracy of neonatal hemoglobin in screening for thalassemia

SHEN Miaona, CHEN Hailei, LIU Yong[△]

(Department of Pediatrics, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510120, China)

Abstract:**Objective** To investigate the difference of peripheral blood and neonatal cord blood on hemoglobin analysis, and the accuracy of neonatal hemoglobin composition and expression in the screening of thalassemia. **Methods** Clinical data of 220 neonates were born during Jan 2016 to Jun 2017 at the Sun Yet-Sen Memorial Hospital were retrospectively reviewed. Hemoglobin fractions and quantification were performed by automated capillary electrophoresis, while the goblin gene was carried out for all the samples as gold standard. **Results** There were 146 cases of neonatal cord blood and 74 cases of peripheral blood, the results of hemoglobin electrophoresis were consistent. Among the 220 neonates, 77 neonates were diagnosed as α -thalassemia and 63 cases of α -thalassemia detected Hb Bart's band, remaining 14 silent α -thalassemia carriers. Taking Hb Bart's band as the standard of α -thalassemia screening, the sensitivity was 81.81% and the specificity was 100.00%. Thirty four cases of β -thalassemia and 108 cases of healthy newborns had not been detected by Hb Bart's. The CUT-OFF value of percentage of HbF was 86.65%, and the sensitivity was 94.12% and the specificity was 84.26%. **Conclusion** Hb Bart's band for the screening of α -thalassemia and HbF for screening of β -thalassemia in neonates have better sensitivity and specificity.

Key words: neonates; hemoglobin analysis; thalassemia

珠蛋白生成障碍性贫血(又称地中海贫血,以下简称“地贫”)是一种由于基因缺失或突变导致珠蛋白合成障碍导致的遗传性溶血疾病,根据编码 α 及 β 肽链的基因缺失或突变情况,地贫主要分为 α -地贫及 β -地贫,未检出地贫基因携带视为健康新生儿^[1-2]。重型 α -地贫一般在妊娠后期发生胎儿水肿,胎死宫内或在出生后 48 h 内死亡;中重型 β -地贫和部分中间型 α -地贫在出生后 3~6 个月出现贫血症状,并进行性加重^[3-4]。轻型地贫与缺铁性贫血相似,少数轻型地贫患者可伴缺铁性贫血,贫血影响儿童生长发育^[5-7]。

对新生儿进行地贫筛查,可及早发现中重型地贫。本研究旨在探讨新生儿脐带血与出生后 1~3 d 外周血血红蛋白(Hb)组分与表达量对地贫的筛查准确性,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 1 月至 2017 年 6 月在本院出生,并进行地贫携带基因筛查的新生儿 220 例为研究对象,其中男 89 例,女 131 例。

1.2 仪器与试剂 主要仪器有法国 Sebia 公司 Capillary2 全自动毛细管电泳仪与 Hb 分析检测试剂盒

及质控品。DNA 提取与检测试剂盒由深圳亚能生物有限公司提供。

1.3 方法 应用全自动毛细管电泳技术分析新生儿脐带血或外周血 Hb 组分。

1.3.1 标本类型 选取胎龄大于 37 周新生儿,脐带血为新生儿出生时脐带残留静脉血,外周血为新生儿出生 1~3 d 采集的静脉血。

1.3.2 Hb 毛细管电泳分析 检测脐带血与外周血 Hb 组分,包括 HbA、HbF 及异常条带。

1.3.3 地贫基因检测 α -地贫基因检测:东南亚缺失(-SEA/ $\alpha\alpha$)、3.7 及 4.2 缺失(- α 3.7/ $\alpha\alpha$ 、- α 4.2/ $\alpha\alpha$);3 种非缺失点突变:- α CS/ $\alpha\alpha$ 、- α QS/ $\alpha\alpha$ 和 - α WS/ $\alpha\alpha$ 。 β -地贫基因检测: β CD41-42/ β N(-TTCT)、 β IVS-II-654/ β N(C>T)、 β -28/ β N(A>G)、 β CD71-72/ β N(+A)、 β CD17/ β N(A>T)、 β CD26/ β N(G>A)、 β CD31/ β N(-C)、 β CD27-28/ β N(+C)、 β IVS-I-1/ β N(G>T)、 β CD43/ β N(G>T)、 β -32/ β N(C>A)、 β -29/ β N(A>G)、 β -30/ β N(T>C)、 β CD14-15/ β N(+G)、Cap+40-43(-AAAC)、起始密码子突变 Initiation condon(T>G)和 β IVS-I-5/ β N(G>C)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析。计数资料以百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验。应用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分

析 HbF 百分比值对轻型 β -地贫的筛查效率,筛选最佳截断值。以出现 Hb Bart's 条带作为筛查 α -地贫条件,计算灵敏度与特异度。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 新生儿地贫基因与 Hb 电泳结果 220 例新生儿地贫基因诊断结果中,地贫基因携带者以静止型 α -地贫 16 例、轻型 α -地贫 56 例与轻型 β -地贫 34 例为主;中间型 α -地贫 5 例;轻型 α -地贫复合 β -地贫 1 例,其 HbF 水平为 83.10%,HbA 水平为 15.50%,Hb Bart's 水平为 1.10%。未检出 β -地贫双重杂合子或纯合子,各种基因类型 Hb 电泳结果见表 1。地贫基因检测结果见表 2。

表 1 Hb 分析结果(% , $\bar{x}\pm s$)				
检测结果	<i>n</i>	HbF	HbA	Hb Bart's
健康	108	81.58 $\pm$ 5.21	18.3 $\pm$ 5.13	—
静止型 α -地贫	16	78.39 $\pm$ 8.27	21.39 $\pm$ 8.26	0.75 $\pm$ 0.21
轻型 α -地贫	56	74.03 $\pm$ 7.01*	23.06 $\pm$ 7.06*	2.83 $\pm$ 0.89
中间型 α -地贫	5	51.65 $\pm$ 5.63	23.48 $\pm$ 3.74	24.55 $\pm$ 3.20
轻型 β -地贫	34	90.82 $\pm$ 2.72*	9.11 $\pm$ 2.66*	—

注:与健康新生儿比较,* $P<0.05$;—为检测结果为阴性

表 2 地贫基因检测结果

检测结果	α -地贫基因	β -地贫基因	外周静脉血检出情况(<i>n</i>)	脐带血检出情况(<i>n</i>)
健康			39	69
静止型 α -地贫				
	- α 4.2/ $\alpha\alpha$		2	3
	- α 3.7/ $\alpha\alpha$		0	8
	- α WS/ $\alpha\alpha$		1	0
	- α QS/ $\alpha\alpha$		0	1
	- α CS/ $\alpha\alpha$		1	0
轻型 α -地贫	-SEA/ $\alpha\alpha$		18	38
中间型 α -地贫				
	-SEA/ $\alpha\alpha$ 复合 - α 3.7/ $\alpha\alpha$		1	1
	-SEA/ $\alpha\alpha$ 复合 - α 4.2/ $\alpha\alpha$		0	1
	-SEA/ $\alpha\alpha$ 复合 - α CS/ $\alpha\alpha$		0	1
轻型 β -地贫				
		β CD41-42/ β N	5	8
		β -28/ β N	5	4
		β IVS-II-654/ β N	0	4
		β CD17/ β N	0	5
		β IVS-I-1/ β N	0	1
		β CD14-15/ β N	1	0
		β E	1	0
α -地贫合并 β -地贫	-SEA/ $\alpha\alpha$ 合并 β CD17/ β N		0	1
合计			74	146

2.2 新生儿外周血与脐带血 Hb 结果比对 220 例研究对象中,外周血组 74 例,脐带血组 146 例。两组在健康新生儿、轻型 α -地贫与轻型 β -地贫 HbF、HbA 百分比重叠,结果一致。

2.3 ROC 曲线分析 通过 ROC 曲线分析,HbF 筛查轻型 β -地贫曲线下面积达到 0.958,截断值为 86.65%,灵敏度为 94.12%(32/34),特异度为 84.26%(91/108)。

3 讨 论

人体不同发育时期珠蛋白生成存在着一定的变化规律。妊娠 5 周, α 珠蛋白基因、 γ 珠蛋白基因开始在肝脏表达, 胎儿血中开始出现 HbF, 妊娠 10 周, β 珠蛋白基因开始表达, 血中出现 HbA, 而此时 α 珠蛋白基因、 γ 珠蛋白基因表达达到高峰, HbF 成为主要 Hb。之后 α 珠蛋白基因持续高表达, δ 珠蛋白开启并维持比较低的表达水平, 血中出现 HbA2, γ 珠蛋白基因在出生前后关闭, HbF 迅速减少, 至 6 个月后不超过 5%^[8]。

α 珠蛋白基因在胚胎 12 周后持续高表达, β 珠蛋白基因在胎儿 36 周后才逐渐表达增加^[9]。Hb 合成受珠蛋白基因调控。本研究结果显示, 健康新生儿与轻型 α -地贫、轻型 β -地贫 HbF、HbA 水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明新生儿, 甚至胚胎时期, 轻型 α -地贫、轻型 β -地贫导致珠蛋白基因表达减少影响了 Hb 合成, Hb 的表达量变化可以用于筛查地中海贫血。

本研究结果显示, 轻型 β -地贫 HbF 值高于健康新生儿, HbA 低于健康新生儿, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。同时, 本研究采用 ROC 曲线分析并计算曲线下面积, 评价脐血或外周血 Hb 电泳对 β -地贫诊断的准确性, 结果显示, HbF 截断值为 86.65%, 灵敏度为 94.12% (32/34), 特异度为 84.26% (91/108), 曲线下面积达到 0.958, 与相关研究比较, HbA 截断值为 13.00%, 灵敏度稍低, 特异度高, 总体 AUC 高^[10]。但该研究未指出新生儿胎龄, 可能存在胎龄对 Hb 影响。

由于 α 珠蛋白链既合成 HbF, 又合成 HbA, 当 α 珠蛋白链合成减少时, 机体优先合成携氧功能的 HbA, 因此本研究结果出现轻型 α -地贫 HbA 百分比值甚至高于健康新生儿, 静止型与中间型 α -地贫 HbA 水平也高于健康新生儿。说明 HbA、HbF 对 α -地贫不是合适的筛查指标。

Hb Bart's 是 α -地贫代偿机制中产生的异常 Hb。体内合成 Hb Bart's (γ_4) 对氧的亲合力极高, 即使在低氧的组织中也不能释放氧, 因此 Hb Bart's 胎儿水肿综合征造成胎儿宫内严重缺氧, 全身组织器官水肿, 最终致死^[11-12]。本研究中轻型 α -地贫外周血 18 例, 脐血 38 例均可检出 Hb Bart's, 均值都在 2.80%。5 例 α -地贫中间型 Hb Bart's 均大于 20.00%。把电泳出现 Hb Bart's 条带作为新生儿轻中型 α -地贫筛查指标, 其灵敏度为 100.00% (61/61), 特异度为 100.00% (108/108)。而 16 例静止型 α -地贫仅 2 例出现 Hb Bart's, 用 Hb Bart's 条带筛查 α -地贫主要漏检静止型 α -地贫, 与其他年龄段筛查存在同样缺陷^[13]。比较成人 α -地贫筛查, 新生儿出生时进行 α -地贫具有最高的特异度。

综上所述, 新生儿出生时的脐带血或出生 1~3 d 的静脉血进行毛细管 Hb 电泳对于筛查地贫意义重大。筛查轻型 β 地贫选 HbF 86.65% 作为截断值, 筛查 α -地贫选择 Hb Bart's 条带, 一旦电泳出现 Hb Bart's 条带, 考虑 α -地贫特异度为 100.00%。由于新生儿 Hb 处于变化的动态过程中, 新生儿胎龄对 Hb 影响大, 本文中选取大于胎龄 37 周新生儿, 对于胎龄小于 37 周 Hb 情况需进一步研究。

参考文献

- [1] BENZ E J. Newborn screening for α -thalassemia—keeping up with globalization[J]. N Engl J Med, 2011, 364(8): 770-771.
- [2] 李兵, 尹爱华, 骆明勇, 等. 广东省常用的三种 β 地中海贫血产前筛查方案的临床筛查效果比较[J]. 中华妇产科杂志, 2015, 50(6): 434-440.
- [3] YIN A, LI B, LUO M, et al. The prevalence and molecular spectrum of α - and β -globin gene mutations in 14 332 families of Guangdong Province, China[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89855.
- [4] 中华医学会儿科学分会血液学组. 《中华儿科杂志》编辑委员会. 重型 β 地中海贫血的诊断和治疗指南[J]. 中华儿科杂志, 2010, 48(3): 186-189.
- [5] 叶宏, 韦继莲, 徐慧萍. 基因检测与新生儿地贫初筛分析[J]. 医药前沿, 2014, 4(15): 211-212.
- [6] 王德刚, 唐海深, 江陵, 等. 脐血毛细管电泳在产前诊断重型地中海贫血中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(7): 27-29.
- [7] SRIVORAKUN H, FUCHAROEN G, CHANGTRAKUL Y, et al. Thalassemia and hemoglobinopathies in Southeast Asian newborns: diagnostic assessment using capillary electrophoresis system[J]. Clin Biochem, 2011, 44(5/6): 406-411.
- [8] VICHINSKY E P. Clinical Manifestations of α -Thalassemia[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2013, 3(5): a011742.
- [9] 徐湘民, 张新华, 陈荔丽. 地中海贫血预防与控制操作指南[M]. 北京: 人民军医出版社, 2011: 7-45.
- [10] 罗秋月, 秦丹卿, 尹爱华, 等. 毛细管电泳在新生儿 β -地中海贫血筛查中的应用[J]. 广东医学, 2014, 35(10): 1502-1505.
- [11] 于海川, 张俊武. 人胎儿 γ -珠蛋白基因的再活化及在 β 血红蛋白病治疗中的意义[J]. 医学分子生物学杂志, 2011, 8(2): 156-162.
- [12] 杨金玲, 蔡稔, 韦小妮, 等. 胎儿巴特(氏)血红蛋白定量分析在产前诊断 α -地中海贫血中的价值[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(12): 1227-1229.
- [13] 吴蓓颖, 江岑, 王也飞, 等. 血常规、血清铁及血红蛋白电泳联合检测在地中海贫血非高发地区的筛查意义[J]. 中华血液学杂志, 2016, 37(10): 908-911.