

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2021. 04. 002

不同类型珠蛋白生成障碍性贫血的基因型和血液学指标特征^{*}

查 何¹, 李 英^{2△}

遵义市第一人民医院/遵义医科大学第三附属医院:1. 检验科;2. 输血科, 贵州遵义 563000

摘 要:目的 分析血常规指标和血红蛋白(Hb)电泳在不同类型珠蛋白生成障碍性贫血(以下简称地贫)中的差异及其对地贫筛查的重要意义。**方法** 选取 2017 年 1 月至 2019 年 3 月遵义市第一人民医院/遵义医科大学第三附属医院经分子诊断确诊的地贫患者 286 例(地贫组)和健康对照者 200 例(对照组)为研究对象,行血常规及 Hb 电泳检测,并分析平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)和 HbA2 等血液学指标在不同类型地贫中的差异,及其单项检测及联合检测对地贫诊断的灵敏度、特异度和准确度。**结果** 286 例确诊的地贫患者中, α 、 β 和 α/β 复合型地贫占比分别为 39.51%、58.74%和 1.75%。 α 和 β 地贫患者的 MCV、MCH,以及 β 地贫的 HbA2、HbF 与健康对照者比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。MCV、MCH 和 HbA2 各单项指标检测诊断地贫的灵敏度和特异度分别为 90.56%、91.96%、80.07%和 76.00%、81.50%、96.50%;平行联合检测的灵敏度、特异度、准确度分别为 100.00%、79.50%、91.56%;系列联合检测的灵敏度、特异度、准确度分别为 79.37%、100.00%、87.86%。平行联合检测的灵敏度明显高于各单项检测,差异有统计学意义($P<0.05$),系列联合检测的特异度明显高于各单项检测,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 将 MCV、MCH 和 HbA2 联合检测作为地贫的筛查指标具有较高的临床应用价值。

关键词:珠蛋白生成障碍性贫血; 基因型; 平均红细胞体积; 平均红细胞血红蛋白含量; 血红蛋白电泳
中图法分类号:R446.1 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2021)04-0436-04

Genotype and hematological phenotype of different types of thalassemia^{*}

ZHA He¹, LI Ying^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Blood Transfusion, the First People's Hospital of Zunyi/the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China

Abstract: Objective To analyze the differences of blood routine index, hemoglobin (Hb) electrophoresis in different types of thalassemia and its significance for thalassemia screening. **Methods** A total of 286 cases of thalassemia diagnosed by molecular diagnosis method and 200 healthy controls in the First People's Hospital of Zunyi/the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University from January 2017 to March 2019 were selected for routine blood analysis and hemoglobin electrophoresis analysis. The differences of mean red blood cell volume (MCV), mean red blood cell hemoglobin (MCH) and HbA2 in different types of thalassemia and the sensitivity, specificity, accuracy of single and combined tests for the diagnosis of thalassemia were analyzed. **Results** Among the 286 diagnosed thalassemia cases, the proportions of α , β and α/β thalassemia were 39.51%, 58.74% and 1.75% respectively. The MCV and MCH in α and β thalassemia patients, and the HbA2 and HbF in β thalassemia were significantly different from those of healthy controls ($P<0.05$), the sensitivity and specificity of MCV, MCH and HbA2 for the individual detection of thalassemia were 90.56%, 91.96%, 80.07% and 76.00%, 81.50% and 96.50% respectively. The sensitivity, specificity and accuracy of parallel combined of MCV, MCH and HbA2 tests were 100.00%, 79.50% and 91.56%, and those of serial combined test were 79.37%, 100.00% and 87.86%. There were significant differences on sensitivity between single test and the parallel combination of three indicators ($P<0.05$). There were significant differences on specificity between single test and the serial combination of three indicators ($P<0.05$). **Conclusion** The combination of MCV, MCH and HbA2 might be more valuable for screening of thalassemia.

Key words: thalassemia; genotype; mean red blood cell volume; mean red blood cell hemoglobin; hemoglobin electrophoresis

^{*} 基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(81760475);遵义市联合科技基金项目[遵市科合 HZ 字(2019)173 号];遵义市第一人民医院研究与试验发展(R&D)计划项目[(院科学(2020)14 号)]。

作者简介:查何,男,主管技师,主要从事分子生物学研究。△ 通信作者, E-mail: ly18198328710@163.com。
本文引用格式:查何,李英. 不同类型珠蛋白生成障碍性贫血的基因型和血液学指标特征[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(4): 436-439.

珠蛋白生成障碍性贫血(以下简称地贫)是由一种或多种珠蛋白基因缺陷引起的正常珠蛋白链合成障碍的遗传性溶血性贫血,其中以 α 和 β 地贫较为常见^[1]。我国地贫多发于广东、广西、海南及云贵川地区,是引起胎儿出生缺陷、围产儿死亡的重要原因之一^[2]。临床确诊地贫主要依赖于聚合酶链反应(PCR)技术或其他分子诊断技术,但限于检测成本及技术本身的缺陷,目前 PCR 尚不能用于普通人群地贫的筛查。血常规指标是临床诊断贫血的必要辅助手段^[3],其参数的改变是最为简单快捷的地贫筛查指标,如平均红细胞体积(MCV)对地贫诊断的灵敏度高达 90%,但其特异度并不理想^[4]。血红蛋白(Hb)电泳是检查异常 Hb(如 Hb Bart's、HbH 和 HbE)和筛查 β 地贫的重要方法,但对 α 地贫、静止型或轻型地贫仍有漏检的可能^[5]。本研究通过对 MCV、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)和 Hb 电泳单项检测和联合检测进行分析比较,评价其在地贫筛查中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 1 月至 2019 年 3 月经遵义市第一人民医院/遵义医科大学第三附属医院检验科行地贫基因分型检测确诊的 286 例地贫患者纳入地贫组,同期 200 例体检健康者作为健康对照者纳入对照组,均进行血常规和 Hb 电泳检测。研究对象年龄 0~78 岁,平均(36.2±7.4)岁,其中男 127 例,女 359 例。地贫组中男 42 例,女 244 例;对照组中男 85 例,女 115 例。所有研究对象按照年龄进一步分为 3 个年龄组,0~<17 岁为儿童与少年组,17~<65 岁为青中年组,65~78 岁为老年组。

1.2 检测方法

1.2.1 标本采集 对所有研究对象行无菌静脉穿刺术抽取 2~3 mL 外周静脉血注入乙二胺四乙酸二钾抗凝的真空采血管,混匀后立即送检。

1.2.2 地贫基因分型检测 地贫基因分型检测采用中山大学达安基因股份有限公司生产的地贫(α/β 型)基因检测试剂盒(PCR-流式荧光杂交法),PCR 扩增和杂交使用 Bio-Rad T100 PCR 扩增仪,杂交信号检测采用 Luminex MAGPIX 检测仪,并通过配套的分析软件判读分型结果。

1.2.3 血常规检测 采用日本 Sysmex XE-2100 全自动血细胞分析仪和原装配套试剂对标本进行检测,并分析 MCV 和 MCH 在不同类型地贫中的差异。MCV 的正常参考范围为 80~100 fL;MCH 的正常参考范围为 27~34 pg。

1.2.4 Hb 电泳检测 采用法国 Sebia MINICAP 毛细管电泳仪和 MINICAP HEMOGLOBIN(E)配套试剂盒对标本 Hb 进行检测,并分析 HbA、HbA2 在不同类型地贫中的差异。HbA 的正常参考范围为 >94.5%;HbA2 的正常参考范围为 2.4%~3.2%;HbF 的正常参考范围为 <2%。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 α 和 β 地贫基因检测结果 286 例确诊地贫患者,检出 α 地贫 113 例,占 39.51%,其中儿童与少年组 31 例,青中年组 63 例,老年组 19 例。共检出 8 种 α 地贫基因型: $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $\alpha\alpha^{\text{CS}}/\alpha\alpha$ 、 $\alpha\alpha^{\text{QS}}/\alpha\alpha$ 、 $\alpha\alpha^{\text{WS}}/\alpha\alpha$ 、 $-\text{SEA}/-\alpha^{4.2}$ 和 $-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 。不论哪个年龄组, α 地贫的主要基因型均为 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$,占 α 地贫的 92.92%,其中 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 是检出率最高的 α 地贫基因型。见表 1。 β 地贫共检出 168 例,占 58.74%,其中儿童与少年组 42 例,青中年组 106 例,老年组 20 例。 β 地贫共检出 10 种基因型:CD41-42、IVS-II-654、CD17、-28、CD26、CD71-72、CD43、-29、CD14-15 和 CD27-28。3 个年龄组检出频率最高基因型均为 IVS-II-654、CD41-42、CD17,共占 94.64%,其中 IVS-II-654 是检出率最高的 β 地贫基因型。见表 2。 α/β 复合型地贫共检出 5 例,阳性率为 1.75%,检出的基因型为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 合并 IVS-II-654、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 合并 IVS-II-654、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 合并 CD41-42。

2.2 血液学指标检查结果 健康对照者 MCV 和 MCH 均为正常或略低于正常参考范围,Hb 电泳结果多为正常,个别研究对象的 HbA 下降,无异常条带。 α 地贫患者 HbA2 结果正常或低于正常参考范围,与健康对照者比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),但 $-\text{SEA}/-\alpha^{4.2}$ 和 $-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 型 α 地贫患者 HbA 和 HbA2 均降低,也可见 HbH 条带,HbF 正常或下降。 β 地贫患者的 HbA2 与健康对照者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);HbA 正常或低于正常参考范围,与健康对照者比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);HbF 正常或高于正常参考范围,与健康对照者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);其中 1 例 HbE 复合 β 地贫检测出 HbE 条带。而 α/β 复合型地贫患者的 HbA2 均高于正常参考范围,与健康对照者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 HbF 降低或无,与健康对照者比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);HbA 明显下降,与健康对照者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 MCV、MCH 和 HbA2 单项检测和联合检测诊断效能 本研究诊断地贫的截断值设置为 $\text{MCV} < 80$ fL, $\text{MCH} < 27$ pg, $\text{HbA2} > 3.2\%$ 或 $\text{HbA2} < 2.4\%$,或发现异常 Hb 条带(如 HbH、HbE 等)。比较 MCV、MCH 和 HbA2 单项检测和联合检测的结果发现,MCV 和 MCH 单项检测诊断地贫的灵敏度高,而特异度不高,见表 4、5;HbA2 单项检测的特异度较高,灵敏度却偏低,见表 5。MCV、MCH 和 Hb 电泳的平行联合检测可提高地贫诊断的灵敏度和阴性预测值,

而系列联合检测可提高地贫诊断的特异度和阳性预测值,并且平行联合检测和系列联合检测的诊断准确度均较单项检测有所提高,见表 6、7。

表 1 各基因类型 α 地贫的分布情况[n(%)]

组别	<i>n</i>	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	$--SEA/\alpha\alpha$	$\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$	$\alpha\alpha^{QS}/\alpha\alpha$	$\alpha\alpha^{WS}/\alpha\alpha$	$--SEA/-\alpha^{4.2}$	$--SEA/-\alpha^{3.7}$
儿童与少年组	31	2(6.45)	3(9.68)	22(70.97)	0(0.00)	1(3.23)	1(3.23)	1(3.23)	1(3.23)
青中年组	63	6(9.52)	10(15.87)	43(68.25)	2(3.17)	0(0.00)	1(1.59)	0(0.00)	1(1.59)
老年组	19	2(10.53)	1(5.26)	16(84.21)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
合计	113	10(8.85)	14(12.39)	81(71.68)	2(1.77)	1(0.88)	2(1.77)	1(0.88)	2(1.77)

表 2 各基因类型 β 地贫的分布情况[n(%)]

组别	<i>n</i>	CD41-42	IVS-II-654	CD17	-28	CD26	CD71-72	CD43	-29	CD14-15	CD27-28
儿童与少年组	42	13(30.95)	19(45.24)	5(11.90)	1(2.38)	1(2.38)	0(0.00)	1(2.38)	0(0.00)	1(2.38)	1(2.38)
青中年组	106	31(29.25)	57(53.77)	14(13.21)	0(0.00)	1(0.94)	1(0.94)	0(0.00)	1(0.94)	0(0.00)	1(0.94)
老年组	20	8(40.00)	10(50.00)	2(10.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
合计	168	52(30.95)	86(51.19)	21(12.50)	1(0.60)	2(1.19)	1(0.60)	1(0.60)	1(0.60)	1(0.60)	2(1.19)

表 3 血液学指标检查结果($\bar{x}\pm s$)

研究对象类型	<i>n</i>	MCV(fL)	MCH(pg)	Hb 电泳			
				HbA(%)	HbA2(%)	HbF(%)	异常条带
α 地贫患者	113	72.00±3.29 *	22.81±2.66 *	94.47±1.83	2.58±0.33	0.86±0.63	HbH 条带
β 地贫患者	168	73.62±3.61 *	24.32±3.17 *	93.82±2.11	4.46±0.75 *	1.76±0.79 *	HbE 条带
α/β 复合型地贫患者	5	71.50±4.06 *	21.58±3.63 *	91.36±1.62 *	3.88±0.63 *	0.34±0.09	无
健康对照者	200	84.74±5.22	29.80±3.13	97.45±3.37	2.94±0.26	0.92±0.66	无

注: * 与健康对照者比较, $P<0.05$ 。

表 4 MCV、MCH 和 HbA2 单项检测诊断地贫的结果(*n*)

组别	<i>n</i>	MCV		MCH		HbA2	
		阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性
地贫组	286	27	259	23	263	57	229
对照组	200	152	48	163	37	193	7

表 7 MCV、MCH 和 Hb 电泳联合检测诊断地贫的评价指标(%)

项目	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确度
平行联合检测	100.00	79.50	87.46	100.00	91.56
系列联合检测	79.37	100.00	100.00	77.22	87.86

表 5 MCV、MCH 和 HbA2 单项检测诊断地贫的评价指标(%)

项目	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值	准确度
MCV	90.56	76.00	84.36	84.92	84.56
MCH	91.96	81.50	87.67	87.63	87.65
HbA2	80.07	96.50	76.33	77.20	86.83

表 6 MCV、MCH 和 HbA2 联合检测诊断地贫的结果(*n*)

组别	<i>n</i>	平行联合检测		系列联合检测	
		阴性	阳性	阴性	阳性
地贫组	286	0	286	59	227
对照组	200	159	41	200	0

注:平行联合检测中 MCV、MCH 和 HbA2 这 3 项检测指标中有一项及以上(含)指标为阳性,检测结果即为阳性;系列联合检测中 MCV、MCH 和 HbA2 这 3 项检测指标全部为阳性,检测结果才判为阳性。

3 讨 论

地贫属于珠蛋白基因突变或缺失所致的遗传性疾病,目前尚无根治方法^[6]。因此,对普通人群进行地贫筛查以确定高风险对象,阻断重症患儿的出生是最为有效的预防措施^[7]。本研究发现,通过分子诊断确诊的 286 例地贫患者中,α 地贫占 39.51%,其中--SEA/αα 基因型是 α 地贫最主要类型,这与贵州、广东等地区的基因型相同^[8-9]。β 地贫占 58.74%,以 IVS-II-654、CD17、CD41-42 最为常见,这与国内相关报道较为一致^[9]。α/β 复合型地贫较为少见,仅占 1.75%,主要以--SEA/αα 合并 IVS-II-654 突变型、-α^{3.7}/αα 合并 IVS-II-654、-α^{3.7}/αα 合并 CD41-42 突变型为主,是中国人群的常见复合类型。

地贫患者因 Hb 合成障碍和铁利用率下降,导致 Hb 成分和含量改变,呈小细胞低色素贫血^[9]。其血常规参数 MCV 和 MCH 均不同程度地降低,被普遍

用于筛查地贫基因携带者,但 MCV 和 MCH 诊断特异度不高,易发生误诊^[10]。本研究发现,健康对照者的 MCV 和 MCH 均在正常参考范围或略低于正常参考范围,而地贫患者的 MCV 和 MCH 均有不同程度降低。MCV 和 MCH 单项检测在地贫筛查中的灵敏度分别为 90.56% 和 91.96%,但是特异度仅为 76.00% 和 81.50%,不可直接用于普通人群的地贫筛查。

Hb 电泳检测是初步分类地贫类型(α 或 β 地贫)和筛查异常 Hb 的最主要方法^[11]。本研究结果显示,健康对照者的 Hb 电泳结果大多数为正常,个别研究对象的 HbA 略低于正常参考范围,无异常条带。地贫患者的 Hb 电泳结果较为复杂, α 地贫患者大多数正常或低于正常参考范围,但 $--^{SEA}/-\alpha^{4,2}$ 和 $--^{SEA}/-\alpha^{3,7}$ 型 α 地贫患者 HbA 和 HbA2 均下降,也可见 HbH 条带,HbF 可正常或下降; β 地贫患者大多数表现为 HbA2 高于正常参考范围,HbA 可正常或降低,HbF 可正常或升高;而 α/β 复合型地贫 Hb 电泳结果为 HbA2 高于正常参考范围,表现为 β 地贫的特点,这是因为 α/β 复合型地贫患者血红蛋白 α 链和 β 链合成均降低,但由于 HbA 占比高,其合成速度降低的幅度明显超过 HbA2,表现为 HbA2 的比例相对升高^[12]。HbA2 单项检测在地贫筛查中的特异度高达 96.50%,而灵敏度仅为 80.07%,容易发生漏诊。通过分析 MCV、MCH 和 HbA2 联合检测结果,发现平行联合检测 MCV、MCH 和 HbA2 的灵敏度达 100.00%,阴性预测值也为 100.00%,准确度高达 91.56%;系列联合检测 MCV、MCH 和 Hb 电泳的特异度为 100.00%,阳性预测值也为 100.00%,准确度提升至 87.86%,可见在地贫筛查中联合检查能明显减少漏诊和误诊概率,提升筛查的准确性。

综上所述,将 MCV、MCH 和 Hb 电泳联合检测可能是较为合适的地贫筛选方法,可为优生优育和遗传咨询提供诊断依据,对减少地贫基因携带者的数量

和预防重症地贫患儿的出生具有重大的现实意义。

参考文献

- [1] TAHER A T, WEATHERALL D, CAPPELLINI M D. Thalassemia[J]. Lancet, 2018, 391(10116): 155-167.
- [2] 何文, 王晓东, 余海燕. 妊娠合并地中海贫血研究现状[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2017, 13(1): 14-19.
- [3] 熊辉, 孙彦, 袁博. 血红蛋白电泳、红细胞渗透脆性和血常规检测在诊断珠蛋白生成障碍性贫血的临床价值[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(8): 1089-1091.
- [4] 廖东铮. 血液检验在贫血患者诊断中的应用价值技术方法[J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(5): 138-140.
- [5] 余小燕, 朱津, 杨嘉慧, 等. 地中海贫血产前筛查模式对重型地中海贫血患儿诊断的影响[J]. 中国现代药物应用, 2020, 14(12): 88-90.
- [6] 刘兴玲, 吴月勤, 李惠森, 等. 123 例重型 β 地中海贫血患儿输血治疗状况的调查[J]. 护理学报, 2014, 21(23): 19-22.
- [7] 陈雅斌, 张志珊. 地中海贫血筛查技术的研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 33(1): 3-5.
- [8] 朱晓西. 贵州地区 2 000 例地中海贫血基因诊断结果分析与研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 32(12): 39-40.
- [9] 周冰姝, 赵文忠, 李铭臻, 等. 广东地区 16 336 例地中海贫血初筛阳性样本基因型分析[J]. 中国医药导报, 2016, 13(32): 73-77.
- [10] 张雁. 血常规检验在贫血鉴别诊断中的临床应用[J]. 临床合理用药杂志, 2019, 12(34): 173-174.
- [11] 陈星, 初德强, 梁开艳, 等. 全自动毛细管电泳技术在筛查地中海贫血中的临床诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(4): 635-638.
- [12] 刘凤芝, 钟华, 麦富巨. $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血患者的血液学与基因型研究[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2019, 32(2): 290-293.

(收稿日期: 2020-05-21 修回日期: 2020-09-29)

(上接第 435 页)

- myeloid leukemia in first complete remission treated with autologous peripheral blood stem cell transplantation[J]. Bone Marrow Transplant, 2005, 36(1): 977-983.
- [11] STONE R M, MANDREKAR S J, SANFORD B L, et al. Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with a FLT3 mutation[J]. N Engl J Med, 2017, 377(5): 454-464.
 - [12] SANDÉN C, AGEBERG M, PETERSSON J, et al. Forced expression of the DEK-NUP214 fusion protein promotes proliferation dependent on upregulation of mTOR[J].

BMC Cancer, 2013, 13(1): 440-448.

- [13] BEYA M D, LABOPIN M, MAERTENS J, et al. Allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia with t(6;9)(p23;q34); deK-NUP214 is followed by a low relapse risk and favorable outcome in early phase a study from the Acute Leukemia Working Party (ALWP) of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)[J]. Blood, 2017, 130(Suppl 1): 596-604.

(收稿日期: 2020-04-22 修回日期: 2020-10-02)