

珠蛋白生成障碍性贫血基因型与红细胞参数的关系研究

邹林, 黄杰, 简咏芬, 陈尚花, 周少雄[△] (广东省佛山市第二人民医院检验科 528000)

【摘要】 目的 探讨珠蛋白生成障碍性贫血(地贫)基因型与红细胞参数之间的相关性。方法 选取 2012 年 2 月至 2013 年 6 月佛山市第二人民医院 315 例成年 α 地贫基因携带者, 根据其缺失 α 基因个数分 3 组, 缺失 1 个基因者为 A 组; 缺失 2 个基因者为 B 组; 缺失 3 个基因者为 C 组。选取中国人群最常见的 4 种 β -地贫基因突变型的基因携带者 165 例, 分为 CD41-42 组, IVS2nt654 组, -28 组, CD17 组, 及 $\alpha\beta$ 复合型地贫组, 选取同期 100 名健康体检者做对照组, 回顾性分析各组红细胞(RBC)参数, 采用方差分析及 SNK 检验比较上述各组间红细胞参数的差异。结果 α 基因缺失个数与 RBC 及红细胞分布宽度变异系数(RDW-CV)呈正相关($r=0.872, 0.561; P<0.05$); 与血红蛋白(Hb), 平均红细胞体积(MCV), 平均血红蛋白含量(MCH), 平均血红蛋白浓度(MCHC)呈负相关($r=-0.708, -0.901, -0.826, -0.735, P<0.05$)。 β 地贫基因型及 $\alpha\beta$ 复合型地贫统计学分析比较显示, RBC、MCHC、RDW-CV 在各组间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 而 Hb、MCV、MCH 在各组间比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 α 地贫的贫血程度与缺失 α 珠蛋白基因的个数密切相关。而对于中国人群最常见的 4 种 β -地贫基因突变来说, 所引起的血液学表型相差不大。

【关键词】 α -珠蛋白生成障碍性贫血; $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血; 红细胞参数

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.20.028 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)20-2862-03

Study on correlation between erythrocyte parameters and genotype in patients with thalassemia ZOU Lin, HUANG Jie, JIAN Yong-fen, CHEN Shang-hua, ZHOU Shao-xiong[△] (Department of Clinical Laboratory, Foshan Second People's Hospital, Foshan, Guangdong 528000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between the erythrocyte parameters and the genotypes of thalassemia. **Methods** A total of 315 carriers with various genotypes of α -thalassemia were selected and classified into three groups based on the number of gene deletion, patients with one gene deletion were in group A, patients with two genes deletion were in group B, patients with three genes deletion were in group C. A total of 165 adult β -thalassemia gene carriers were selected and divided into group CD41-42, group IVS2nt654, group -28, group CD17 and group $\alpha\beta$ complex thalassemia. Other 100 healthy people were selected as control group. The erythrocyte parameters including red blood corpuscle (RBC), Haemoglobin B (Hb), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and red cell distribution width-variable coefficient (RDW-CV) were retrospectively analyzed and the differences of these indicators among aboved-mentioned groups were compared by analysis of variance and SNK test. **Results** There were positive correlations between the number of deleted α -globin gene and that of RBC and RDW-CV ($r=0.872, 0.561, P<0.05$). Nevertheless, there was negative correlation between the number of deleted α -globin gene and that of the other erythrocyte indices ($r=-0.708, -0.901, -0.826, -0.735, P<0.05$). There was no statistically significant difference on RBC, MCHC and RDW-CV between the most common four kinds of β -thalassemia and $\alpha\beta$ complex thalassemia. **Conclusion** There would be close correlation between the degree of anemia and the number of deleted α -globin gene. Nevertheless, for the most common four kinds of β -globin gene mutations in China, they cause little difference in haematological phenotype.

【Key words】 α -thalassemia; $\alpha\beta$ complex thalassemia; erythrocyte parameters

珠蛋白生成障碍性贫血(地贫)是一种危害极大的单基因遗传性疾病,其临床最常见的类型有 α 地贫与 β 地贫 2 种。广东和广西人群中 α 与 β 地贫基因携带率分别高达 11.07% 和 23.98%^[1-2]。严重类型(包括重型和中间型) α 与 β 地贫均为致死性或致残性血液病,目前尚无理想的治愈方法,给家庭和社会带来沉重负担。夫妻双方若同为轻型地贫(即地贫基因携带者),子代遗传概率中 1/4 为正常胎儿,1/2 为轻型地贫(同父母一样),1/4 为重型地贫患者。地贫的遗传与性别无关,发病概率均等。因此,开展地贫筛查,指导高风险夫妇在怀孕后特定时期进行产前诊断,是防止重型地贫儿出生,达到优生优育的重要措施。本文通过回顾性分析各种地贫基因型和红细

胞参数资料,阐明两者间的关系,为临床通过基因型预测该病的临床表现和进程及预后提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 2 月至 2013 年 6 月佛山市第二人民医院经基因诊断确诊的地贫基因携带者为研究对象,其中 α 地贫 315 例,根据其缺失 α 基因个数分 3 组,缺失 1 个基因者为 A 组,缺失 2 个基因者为 B 组,缺失 3 个基因者为 C 组。A 组 68 例($-\alpha^{3.7}47$ 例, $-\alpha^{4.2}21$ 例),B 组 201 例,C 组 46 例($-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$; 27 例, $-\text{SEA}/-\alpha^{4.2}$; 19 例)。 β 地贫 165 例,其中 CD41-42 杂合子 63 例, IVS2nt654 杂合子 42 例, -28 杂合子 26 例, CD17 杂合子 21 例,其他少见类型 13 例。 $\alpha\beta$ 复合型贫 26 例。随机

选取 100 名健康体检者作为对照组。所有研究对象年龄均在 18~55 岁。

1.2 检测方法

1.2.1 采血 使用基因诊断的真空采血管,用枸橼酸钠或乙二胺四乙酸抗凝全血提取 DNA,不可用肝素抗凝全血,及时送检或置 2~8 ℃ 冰箱中并于 5 d 内检测,或在 -20 ℃ 存放 1 个月以内检测。

1.2.2 方法 采用 XT-5000 全自动血细胞分析仪进行血常规分析。 α -地贫采用跨越断裂点的聚合酶链反应(PCR)技术(也称裂口 PCR, gap-PCR),检测东南亚型缺失(-^{SEA}),右侧缺失(- $\alpha^{3.7}$),左侧缺失(- $\alpha^{4.2}$)。 β -地贫采用 PCR-膜反向点杂交技术(RDB)检测 17 种基因位点突变,分别是 CD41-42、IVS2nt654、-28、CD71-72、CD17、 β E、CD31、CD27 /28、IVS1-1、CD43、-32、-29、-30、CD14-15、CAP、Int、IVS1-5。

1.3 统计学处理 使用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK 检验,基因型和红细胞参数相关性采用 Pearson 相关性分析,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 α 地贫基因型组间红细胞参数的比较 缺失不同个数的 α 地贫基因携带者均表现为不同程度的小细胞低色素性贫血。

随着缺失基因个数的增多,红细胞(RBC)数量呈上升趋势 $A<B<C$,血红蛋白(Hb)与红细胞 3 个平均指数[平均红细胞血红蛋白(MCH)、平均红细胞容积(MCV)、平均血红蛋白浓度(MCHC)]呈下降趋势显示 $A>B>C$,而描述红细胞体积异质性的红细胞分布宽度(RDW-CV)呈上升趋势 $A<B<C$ 。表 3 显示缺失 1 个 α 基因的 A 组两个亚型:右侧缺失(- $\alpha^{3.7}$),左侧缺失(- $\alpha^{4.2}$)各项指标差异均无统计学意义。表 2 显示缺失 3 个 α 基因的 C 组两个亚型(-^{SEA}/ $-\alpha^{3.7}$)与(-^{SEA}/ $-\alpha^{4.2}$)各项指标差异也均无统计学意义($P>0.05$)。采用 Pearson 相关性分析 α 基因缺失个数与红细胞参数的相关性显示: α 基因缺失个数与 RBC 及 RDW-CV 呈正相关(r 分别为 0.872, 0.561, $P<0.05$),与 Hb、MCV、MCH、MCHC 呈负相关(r 分别为 -0.708, -0.901, -0.826, -0.735, $P<0.05$)。

2.2 β 地贫基因型组间红细胞参数的比较 通过对中国人群最常见的 4 种 β 地贫基因型及 $\alpha\beta$ 复合型的统计学分析比较,结果见表 4。显示 RBC、MCHC、RDW-CV 各组间差异无统计学意义($P>0.05$),而 Hb、MCV、MCH 在各组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。其中-28 位点突变的 β 地贫在 Hb、MCV、MCH、MCHC 4 个参数值高于其他 β 地贫组。RBC-CV 显示 $\alpha\beta$ 复合型体积异质性最大。

表 1 不同 α 地贫基因型组别间红细胞参数的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	RBC($10^{12}/L$)	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW-CV(%)
A 组	4.38±0.81	108.46±23.75	82.44±15.36	25.23±5.13	305.11±17.17	15.2±2.7
B 组	5.10±0.90	104.50±30.39	70.91±5.90	21.57±2.34	304.08±16.72	16.9±1.6
C 组	5.11±0.53	93.07±14.16	60.83±5.95	17.63±1.72	289.00±10.89	22.9±2.1
对照组	4.47±0.31	136.53±11.77	91.13±3.02	30.01±1.13	329.71±7.82	12.8±1.2
<i>F</i>	12.81	39.66	79.32	111.27	55.63	110.46
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 不同 α 地贫基因型 A 组亚型间红细胞参数的比较($\bar{x}\pm s$)

类型	RBC($10^{12}/L$)	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW-CV(%)
- $\alpha^{3.7}$	4.42±0.94	106.67±35.43	79.22±9.93	24.08±4.02	302.58±18.78	15.1±1.2
- $\alpha^{4.2}$	4.3±0.71	111.90±12.37	77.15±7.39	27.52±6.67	310.17±13.42	15.3±2.1
<i>t</i>	0.248	0.347	0.449	1.372	0.878	0.947
<i>P</i>	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 3 不同 α 地贫基因型 C 组亚型间红细胞参数的比较($\bar{x}\pm s$)

类型	RBC($10^{12}/L$)	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW-CV(%)
- ^{SEA} / $-\alpha^{3.7}$	4.94±0.59	92.33±16.26	62.00±6.61	18.09±1.99	291.78±9.88	22.1±2.0
- ^{SEA} / $-\alpha^{4.2}$	5.42±0.23	94.17±11.65	59.07±4.78	16.95±0.98	287.67±11.20	22.4±1.8
<i>t</i>	1.727	0.237	0.932	1.288	0.749	1.324
<i>P</i>	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 4 不同 β 地贫基因型组别间红细胞参数的比较($\bar{x}\pm s$)

类型	RBC($10^{12}/L$)	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW-CV(%)
CD41-42	4.92±0.81	100.02±13.30	65.87±7.40	20.44±2.68	309.95±13.74	16.53±1.51
IVS2nt654	5.05±0.83	99.18±16.35	64.84±5.83	20.11±2.27	310.15±17.74	17.43±3.30

续表 4 不同 β 地贫基因型组别间红细胞参数的比较 ($\bar{x} \pm s$)

类型	RBC($10^{12}/L$)	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW-CV(%)
-28	4.97 \pm 0.64	113.92 \pm 12.22	73.13 \pm 4.18	22.77 \pm 0.92	311.92 \pm 10.54	15.92 \pm 1.42
CD17	4.90 \pm 0.62	98.87 \pm 12.65	65.66 \pm 2.67	20.21 \pm 0.80	308.00 \pm 11.91	17.32 \pm 4.12
$\alpha\beta$ 复合型	4.64 \pm 0.74	99.86 \pm 19.01	71.05 \pm 4.53	22.61 \pm 3.10	308.20 \pm 14.91	18.4 \pm 6.91
对照组	4.47 \pm 0.31	136.53 \pm 11.77	91.13 \pm 3.02	30.01 \pm 1.13	329.71 \pm 7.82	12.8 \pm 1.2
F	0.65	2.61	5.93	4.85	0.15	0.99
P	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05

3 讨 论

本研究分别对 α 地贫各种基因型与红细胞参数的关系,以及中国人群最常见的 4 种 β 地贫基因型与红细胞参数的关系进行了回顾性的分析。

α 地贫的分子基础是 $\alpha 2$ 和 $\alpha 1$ 基因缺失或发生点突变,使 α -珠蛋白产量下降,胎儿体内过多的 γ -珠蛋白形成 Hb Bart's 或成人体内过多的 β -珠蛋白形成 Hb H, 导致无效造血和红细胞被破坏。 α 地贫血以 α -珠蛋白基因缺失为主,临床上分为静止型(α 地贫 2, 缺失 1 α);标准型(α 地贫 1, 缺失 2 α);中间型(Hb H 病, 缺失 3 α);重型(Hb Bart's 胎儿水肿综合征, 缺失 4 α)。在中国主要是东南亚缺失型(-SEA);-/ $\alpha\alpha$ (α 地贫 1)。 α 地贫则多为右侧缺失型($\alpha^{3.7}$);- $\alpha/\alpha\alpha$ 及左侧缺失型(- $\alpha^{4.2}$);- $\alpha/\alpha\alpha$ 。 α -地贫的点突变较少见,本文在收集资料的过程中暂未发现 α -地贫的点突变的患者。在对 α 地贫各种基因型与红细胞参数的关系研究中发现, α 珠蛋白基因缺陷的个数与 RBC 数目呈正相关,与反映 RBC 体积异质性的 RDW-CV 呈正相关;与 Hb、MCV、MCH、MCHC 则呈现负相关。这与同类研究中张永良等^[3],陈和平等^[4]研究一致。也就是说 α 地贫的表型取决于 α 基因缺陷的基因型,其表型的严重程度与基因缺失个数密切相关。

人类 β -珠蛋白基因位于 11 号染色体短臂 1 区 2 带(11p1.2), β 地贫的病因主要是由于该基因的点突变,少数为基因缺失。目前世界范围内已报道 200 多种 β 基因突变类型,中国人中已发现 34 种,其中以 CD17、CD41-42、IVS2nt654、-28 等 4 种为热点突变,约占突变类型的 90%^[5-6]。本文对这最常见的 4 种突变进行了研究,结果显示,对于中国人群最常见的 4 种 β 地贫基因突变来说,所引起的血液学表型相差不大。其中 -28 位点突变引起的血液学表型变化相对稍轻一些。另外发现 $\alpha\beta$ 复合型地贫与单纯的 β 地贫所引起的血液学表型变化并无大的差异。

另外从本研究可以发现,无论是 α 地贫、 β 地贫还是 $\alpha\beta$ 复合型地贫,患者 Hb 降低,而 RBC 数量升高,这有别于缺铁性贫血等其他类型贫血的血液学特征。其他学者也观察到了这一现象^[3,7-9],认为这种红细胞数量增多的现象是因为促红细胞生成素介导的反调节作用所致。在地贫患者的骨髓中,原始红细胞提高了 Ca^{2+} 和 cAMP 的水平从而使细胞外信号调节激酶 1/2 增多^[10]

综上所述,本文通过对地贫患者不同基因型的血细胞参数变化特点进行分析,可以指导临床对该类患者进行快速准确的诊断,并及时的评价该类患者病情。

参考文献

- [1] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province; implications for the future health burden and population screening[J]. J Clin Path, 2004, 57(3): 517-522.
- [2] Xiong F, Sun M, Zhang X, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China[J]. Clin Genet, 2010, 78(2): 139-148.
- [3] 张永良,汪伟山,周玉球,等. α -珠蛋白生成障碍性贫血基因型和红细胞参数关系的研究[J]. 中国检验医学杂志, 2012, 35(5): 418-422.
- [4] 陈和平,陈冬,李明,等. 红细胞体积分布宽度在珠蛋白生成障碍性贫血和缺铁性贫血中的实验研究[J]. 诊断学理论与实践, 2005, 12(4): 458-461.
- [5] 张力,区小冰,余一平,等. 广东地区 β 珠蛋白生成障碍性贫血的基因分析与临床观察[J]. 临床血液学杂志, 2008, 21(1): 5-8.
- [6] 朱凌,罗瑞贵,周天红,等. 广西地区 13 珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型与分析[J]. 华南国防医学杂志, 2009, 23(2): 41-43.
- [7] Fowke FJ, Allen SJ, Allen A, et al. Increased microerythrocyte count in homozygous alpha(+)-thalassemia contributes to protection against severe malarial anaemia[Z]. 2008; e56.
- [8] Nadkarni A, Phanasgaonkar S, Calah R, et al. Prevalence and molecular characterization of alpha-thalassaemia syndromes among Indians[J]. Genel Test, 2008, 12(12): 177-180.
- [9] 孙秀山,颜洁,管泽琴. 血常规检测对缺铁性贫血和珠蛋白生成障碍性贫血鉴别诊断中的应用[J]. 四川医学, 2013, 34(3): 440-441.
- [10] Wannalung T, Lithanatudom P, Leecharoenkiat A, et al. Increased erythropoiesis of beta-thalassaemia/Hb E proerythroblasts is mediated by high basal levels of ERK1/2 activation[J]. Br J Haematol, 2009, 32(146): 557-568.