

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.01.013

红细胞分析参数辅助诊断珠蛋白生成障碍性贫血亚型的研究*

王镀津^{1,2}, 魏莉平^{3△}

1. 鄂东医疗集团市中心医院/湖北理工学院附属医院检验科, 湖北黄石 435000; 2. 肾脏疾病发生与干预湖北省重点实验室, 湖北黄石 435000; 3. 鄂东医疗集团市妇幼保健院检验科, 湖北黄石 435000

摘要:目的 分析鄂东南地区珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)基因型分布情况,研究红细胞分析参数与地贫亚型之间的相关性,辅助诊断地贫亚型。方法 使用亚能生物 YN-H96 型全自动核酸分子杂交仪及亚能地贫基因检测试剂盒检测地贫患者各基因型。希森美康 XN-9000 全自动血细胞仪及其配套试剂分析患者红细胞各相关参数,使用 SPSS19.0 及 GraphPad Prism 6 软件进行统计学分析。结果 检出地贫基因携带者共 103 例,其中携带 α 地贫基因 59 例, α 地贫基因中 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ (东南亚型)及 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (右侧 α 缺失)阳性率较高。携带 β 地贫基因 42 例,其中 654M (C→T)、41-42M (-TTCT)阳性率较高。携带 $\alpha\beta$ 复合地贫基因型 1 例,为 4.2 杂合缺失并 654M 杂合突变; α 缺失复合 α 突变 1 例,为 3.7 缺失复合 CSM 突变。 α 地贫基因携带者与无地贫基因携带者红细胞计数(RBC)、红细胞平均体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$); β 地贫基因携带者与无地贫基因携带者 MCV、MCH、MCHC、红细胞体积分布宽度-变异系数(RDW-CV)比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$); α 地贫基因携带者与 β 地贫基因携带者 RBC、血细胞比容(HCT)、血红蛋白浓度(HGB)、MCHC、RDW-CV、网织红细胞(RET)比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 红细胞分析参数 RBC、HCT、HGB、MCV、MCH、MCHC、RDW-CV、RET 能够有效辅助鉴别诊断地贫亚型。

关键词:珠蛋白生成障碍性贫血; 红细胞分析参数; 基因

中图法分类号:R556.61

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)01-0048-04

Study on red blood cell analysis parameters assisting in the diagnosis
of thalassemia subtype*WANG Dujin^{1,2}, WEI Liping^{3△}

1. Department of Clinical Laboratory, Huangshi Central Hospital, Affiliated Hospital of Hubei Polytechnic University/Edong Healthcare Group, Huangshi, Hubei 435000, China;

2. Hubei Key Laboratory of Kidney Disease Pathogenesis and Intervention, Huangshi,

Hubei 435000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Huangshi

Maternal and Child Health Care Hospital, Huangshi, Hubei 435000, China

Abstract: Objective To analyze the distribution of thalassemia genotypes in Southeast Hubei, study the correlation between red blood cell analysis parameters and thalassemia genotypes, and assist in the diagnosis of thalassemia genotypes. **Methods** The YN-H96 automatic nucleic acid molecular hybridization instrument and the thalassemia gene detection kit of Yaneng Biosciences were used to detect the subtypes of the thalassemia patients. Sysmex XN-9000 automatic blood cytometer and its supporting reagents analyze the relevant parameters of patients' red blood cells, and SPSS19.0 and GraphPad Prism 6 software were used for statistical analysis. **Results** A total of 103 cases of thalassemia gene carriers were detected, of which 59 were α thalassemia genes. The positive rates of $-^{SEA}/\alpha\alpha$ (Southeast Asian type) and $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (α was missing on the right) were higher in α thalassemia genes. β thalassemia genes was positive in 42 cases, and the positive rates of 654M (C→T) and 41-42M (-TTCT) were higher. One case of $\alpha\beta$ complex thalassemia genotype had 4.2 heterozygous deletion and 654M heterozygous mutation. One case of α deletion compound α mutation was 3.7 deletion

* 基金项目:湖北省卫生健康委员会联合基金项目(WJ2019H484)。

作者简介:王镀津,男,主治医师,主要从事分子诊断学研究。△ 通信作者, E-mail: 809427843@qq.com。

本文引用格式:王镀津,魏莉平.红细胞分析参数辅助诊断珠蛋白生成障碍性贫血亚型的研究[J].检验医学与临床,2022,19(1):48-50.

compound CSM mutation. Compared with non-thalassemia gene carriers, the α thalassemia gene carriers had statistical differences in RBC, MCV, MCH, MCHC ($P < 0.05$). Compared with non-thalassemia gene carriers, the β thalassemia gene carriers showed statistical differences in data such as MCV, MCH, MCHC, RDW-CV ($P < 0.05$). There were statistically significant differences in RBC, HCT, HGB, MCHC, RDW-CV, RET between α thalassemia gene carriers and β thalassemia gene carriers ($P < 0.05$). **Conclusion** The red blood cell analysis parameters RBC, HCT, HGB, MCV, MCH, MCHC, RDW-CV, RET can effectively assist in the differential diagnosis of the subtypes of thalassemia genes.

Key words: thalassemia; red blood cell analysis parameters; gene

珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)是由于珠蛋白基因缺陷或者点突变导致血红蛋白的组分和含量发生改变从而导致不同程度溶血性贫血的一组遗传性疾病^[1]。地贫是一种常染色体隐性的单基因遗传病。地贫分为 α 地贫、 β 地贫、 $\delta\beta$ 地贫、 δ 地贫,其中以 β 地贫和 α 地贫较为常见^[2-3]。地贫根据临床表型可分为轻型、中型、重型 3 种临床表型。 α 地贫是由于 16 号染色体短臂末端 α 珠蛋白基因缺陷所致, β 地贫为位于 11p15.5 上的 β 珠蛋白基因序列发生插入、缺失及突变等所导致。地贫在我国广东^[4]、广西^[5]及四川地区的发病率高,具有明显地域差异,但是随着经济与社会的发展,人口流动性的增加,不同地区疾病谱也发生重大变化^[6]。地贫作为出生缺陷防控的重要组成部分,早发现、早干预手段也应与时俱进。血细胞分析参数与地贫患者或地贫基因携带者有极大的相关性,尤其是红细胞计数(RBC)、红细胞平均体积(MCV)、血红蛋白浓度(HGB)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞分布宽度(RDW)等都可以为地贫的诊断提供依据。本研究以鄂东医疗集团市中心医院及市妇幼保健院地贫筛查患者为研究对象。详细分析了本地区地贫基因型别及对应的血细胞分析参数对地贫的辅助诊断效果,为本地区地贫出生缺陷防控工作提供了有效的参考数据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2021 年 1 月在鄂东医疗集团市中心医院及市妇幼保健院出生的新生儿患者,经过临床医师筛选出高度疑似地贫患者 190 例,全部进行地贫基因及红细胞相关参数检测。

1.2 仪器与试剂 珠海 Hema 9600 PCR 扩增仪,亚能生物 YN-H96 型全自动核酸分子杂交仪。深圳亚能地贫基因检测试剂盒。希森美康医用电子(上海)有限公司 XN-9000 全自动血细胞仪及其配套试剂。

1.3 地贫基因及红细胞参数检测

1.3.1 红细胞参数分析 使用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管抽取患者 2 mL 外周静脉血,XN-9000 全自动血细胞仪分析红细胞各项参数。

1.3.2 地贫基因检测 使用 EDTA 抗凝管抽取患者 2 mL 外周静脉血,采用中山大学达安基因股份有限公司 Smart-32 型自动核酸提取仪磁珠法提取全部外周血基因组 DNA。按照深圳亚能地贫基因检测试剂盒检测说明书及实验室操作规程检测 3 种缺失型 α 地贫($--^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$)、3 种非缺失型 α 地贫($\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$ 和 $\alpha^{WS}\alpha$)及 17 种突变型 β 地贫(41-42M、654M、-28M、71-72M、17M、 β EM、IVS-I -1M、IVS-I -5M、27/28M、43M、-29M、-30M、31M、-32M、14-15M、IntM 和 CAPM)基因。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 和 GraphPad Prism 6 软件进行统计学分析。计数资料用 $n(\%)$ 表示,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组均数比较采用两独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 地贫基因检测结果 本研究选取临床高度怀疑地贫患者 190 例,经过地贫检测,检出地贫基因携带者 103 例,占 54.20%,其中携带 α 地贫基因 59 例,阳性率为 57.30%,携带 α 地贫基因中 $--^{SEA}/\alpha\alpha$ (东南亚型)及 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (右侧 α 缺失)阳性率较高;携带 β 地贫基因 42 例,阳性率为 40.80%,其中 654M (C→T)、41-42M (-TTCT)阳性率较高。 $\alpha\beta$ 复合地贫基因型 1 例为 4.2 杂合缺失并 654M 杂合突变; α 缺失复合 α 突变 1 例,为 3.7 缺失复合 CSM 突变。所有检测病例中未发现纯合子。见表 1。

2.2 各种地贫基因携带者的红细胞参数比较 为保证参考范围及分析结果的一致性,本研究从 103 例地贫基因携带者中筛选出携带 α 地贫基因 43 例,携带 β 地贫基因 25 例,无地贫基因携带者 22 例,分别检测 RBC、红细胞比容(HCT)、HGB、MCV、MCH、MCHC、红细胞体积分布宽度-变异系数(RDW-CV)、网织红细胞(RET)。 α 地贫基因携带者与无地贫基因携带者 RBC、MCV、MCH、MCHC 比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$); β 地贫基因携带者与无地贫基因携带者 MCV、MCH、MCHC、RDW-CV 比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$); α 地贫基因携带者与 β 地贫基因携带者 RBC、HCT、HGB、MCHC、RDW-

CV、RET 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 1 地贫基因阳性分布情况

项目	基因型	<i>n</i>	阳性率(%)	临床表型
α 地贫基因(<i>n</i> =59)	CSM(TAA→CAA)	4	3.88	轻型
	-α ^{3.7} /αα(右侧 α 缺失)	16	15.53	静止型
	-α ^{4.2} /αα(左侧 α 缺失)	5	4.85	静止型
	--SEA/αα(东南亚型)	34	33.01	轻型
β 地贫基因(<i>n</i> =42)	41-42M(-TTCT)	12	11.65	轻型
	654M(C→T)	21	20.39	轻型
	-28M(A→G)	2	1.94	轻型
	-29M(A→G)	1	0.97	轻型
	71-72M(+A)	1	0.97	轻型
	βEM(GAG→AAG)	1	0.97	中间型
	17M(AAG→TAG)	4	3.88	轻型
αβ 复合地贫基因(<i>n</i> =1)	4.2 杂合缺失并 654 杂合突变	1	0.97	轻型
α 缺失复合 α 突变(<i>n</i> =1)	3.7 缺失复合 CSM 突变	1	0.97	轻型

表 2 各种地贫基因携带者的红细胞参数比较($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	RBC($\times 10^{12}/L$)	HCT(%)	HGB(g/L)	MCV(fL)
α 地贫基因携带者	43	4.61±0.10 ^{ac}	37.26±0.89 ^c	121.20±2.99 ^c	81.16±1.39 ^a
β 地贫基因携带者	25	4.07±0.16	32.76±0.93	108.50±3.24	82.42±2.66 ^a
无地贫基因携带者	22	3.88±0.14	35.29±1.35	119.30±4.74	91.97±1.70

项目	<i>n</i>	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW-CV(%)	RET($\times 10^6/L$)
α 地贫基因携带者	43	26.45±0.53 ^a	325.10±1.52 ^{ac}	15.64±0.25 ^c	48.78±3.63 ^c
β 地贫基因携带者	25	27.41±1.02 ^a	331.00±2.14 ^a	20.15±0.73b	67.17±7.26
无地贫基因携带者	22	31.48±0.75	338.00±2.12	14.85±0.42	52.96±6.06

注:与无地贫基因携带者比较,^a $P<0.05$;与 β 地贫基因携带者比较,^c $P<0.05$ 。

3 讨 论

地贫是出生缺陷防控的重点方向之一,只有充分了解本地区地贫发病率,才能更有针对性地做好预防措施,防止重度地贫患儿出生。地贫发病有明显的地域特征,不同地区的基因突变频率也存在很大差异,随着经济社会的发展,人口大量流动,各地区地贫疾病谱也发生改变。鄂东南地区地处鄂赣皖交界地区,地贫基因谱受周边人口流动影响很大。文献[7-8]报道武汉主要以 β 地贫基因(69.23%)为主。江西省部分地市的基因型以 α 地贫基因为主,其中 α 地贫以 αα/--^{SEA} 基因型突变为主,β 地贫以 IVS-II-654、CD41-42 杂合子基因型突变为主,这跟鄂东南地区的地贫基因型较为接近^[9]。

本研究选取了 190 例经临床医师充分评估后高度疑似地贫患者进行基因检测,确诊 103 例地贫基因携带者。其中携带 α 地贫基因基因 59 例,--^{SEA}/αα(东南亚型)以及-α^{3.7}/αα(右侧 α 缺失)阳性率较高。携

带 β 地贫基因 42 例,其中 654M(C→T)、41-42M(-TTCT)阳性率较高。携带 αβ 复合地贫基因型 1 例,为 4.2 杂合缺失并 654M 杂合突变,α 缺失复合 α 突变 1 例,为 3.7 缺失复合 CSM 突变。

本研究结果显示,α 地贫基因携带者、β 地贫基因携带者均可以通过 MCV、MCH、MCHC 与无地贫基因携带者相互区分。α 地贫基因携带者及 β 地贫基因携带者红细胞分析参数之间也存在不同,α 地贫基因携带者与 β 地贫基因携带者 RBC、HCT、HGB、MCHC、RDW-CV、RET 比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),也就是以上红细胞分析参数可以用来辅助诊断 α 地贫与 β 地贫。有研究报道红细胞检测参数对 β 地贫基因型之间也有鉴别作用^[10-12],这说明要足够重视对疑似地贫病例的血常规参数的分析,其对地贫及亚型诊断具有积极作用。本研究显示,RET 可以用来鉴别 α 地贫与 β 地贫。

地贫防治是一项长期且艰巨的任(下转第 54 页)

- countries[J]. *Ca Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [2] ZHOU M, WANG H, ZENG X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990 — 2017; a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet*, 2019, 394 (10204): 1145-1158.
 - [3] YANG B, LI M, TANG W, et al. Dynamic network bio-marker indicates pulmonary metastasis at the tipping point of hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):678.
 - [4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范: 2017 年版[J]. *中华肝脏病杂志*, 2017, 25(1):886-895.
 - [5] JOHNSON P J. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Liver Dis*, 2001, 5(1):145-159.
 - [6] MANNE V, HANDA P, KOWDLEY K V. Pathophysiology of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Clin Liver Dis*, 2018, 22(1):23-27.
 - [7] 李鲁平, 谷海峰, 陈霖, 等. 甲胎蛋白异质体 L3 对低浓度甲胎蛋白肝癌诊断的临床意义[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2013, 7(6):52-454.
 - [8] KOKUDO N, TAKEMURA N, HASEGAWA K, et al. Clinical practice guidelines for hepatocellular carcinoma: The Japan Society of Hepatology 2017 (4th JSH-HCC guidelines) 2019 update[J]. *Hepatol Res*, 2019, 49(10): 1109-1113.
 - [9] INAGAKI Y, TANG W, MAKUUCHI M, et al. Clinical and molecular insights into the hepatocellular carcinoma tumour marker Des- γ -carboxyprothrombin[J]. *Liver Int*, 2011, 31(1):22-35.
 - [10] SAITTA C, RAFFA G, ALIBRANDI A, et al. PIVKA- II is a useful tool for diagnostic characterization of ultrasound-detected liver nodules in cirrhotic patients [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(26):e7266.
 - [11] HUANG S, JIANG F, WANG Y, et al. Diagnostic performance of tumor markers AFP and PIVKA- II in Chinese hepatocellular carcinoma patients[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(6):101-109.
 - [12] 秦亚楠, 洪雷, 宋正霞, 等. 血清 PIVKA- II 在原发性肝癌诊断中的应用[J]. *肝脏*, 2017, 22(12):1103-1106.
 - [13] JI J, WANG H, LI Y, et al. Diagnostic evaluation of des-gamma-carboxy prothrombin versus α -fetoprotein for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma in China: a large-scale, multicentre study[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4):e0153227.
 - [14] KIM D Y, PAIK Y H, AHN S H, et al. PIVKA- II is a useful tumor marker for recurrent hepatocellular carcinoma after surgical resection[J]. *Oncology*, 2007, 72(1):52-57.
 - [15] 孙艳华, 夏瑞雪, 王宁, 等. AFP-L3、AFP、GP73、ALP 联合检测对原发性肝癌的诊断价值研究[J]. *肝脏*, 2020, 25(1):63-66.

(收稿日期: 2021-06-23 修回日期: 2021-11-19)

(上接第 50 页)

务, 疾病基因谱在不同区域、不同种族之间都处于动态变化, 因此, 提高地贫的筛查技术具有重要意义。本研究为红细胞检测参数对地贫的诊断提供了新的思路。随着检测手段的不断更新, 遗传疾病的检测能力也在不断提高, 但是技术的更新离不开临床经验的积累, 临床医师要足够重视对传统检验项目的深入分析, 这样才能提高检验项目辅助诊断疾病的能力。

参考文献

- [1] 张小庄, 冯占春, 叶宁. 地中海贫血的预防控制[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014:1-2.
- [2] GIARDINE B, BORG J, VIENNAS E, et al. Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations[J]. *Nucl Acids Res*, 2014, 42(1): 1063-1069.
- [3] 裴元元, 冉健, 丛潇怡, 等. 不同基因型轻型 β -地中海贫血患者血液学特征[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(10):1691-1692.
- [4] 刘玲, 蒋玮莹, 许世艳, 等. 广东地区地中海贫血致病基因的基因型及 β 珠蛋白基因多态性研究[J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(7):595-599.
- [5] 杨高晖. 广西重型 β 地中海贫血患者铁过载及其相关并发症和机制研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2013.
- [6] LAI K, HUANG G, SU L, et al. The prevalence of thalassemia in mainland China: evidence from epidemiological surveys[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):920.
- [7] 童芳芳, 孙慧, 方小桂. 武汉地中海贫血流行病学调查及基因突变类型与频率分析[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 29(8):759-760.
- [8] 陈丽, 曹文静, 张洪波, 等. 湖北地区 84 例地中海贫血基因诊断分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2009, 17(6):11-12.
- [9] 陈敏芳, 王家健, 汪垚, 等. 江西省部分地区 1 630 例地中海贫血基因突变类型分布研究[J/CD]. *中华临床实验室管理电子杂志*, 2019, 7(2):96-99.
- [10] 刘运洪, 崔晓阳, 魏晓珠, 等. 深圳龙华地区 β -地中海贫血基因型与红细胞参数分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(11):1443-1447.
- [11] 裴元元, 冉健, 丛潇怡, 等. 不同基因型轻型 β -地中海贫血患者血液学特征[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(10):1691-1692.
- [12] 唐燕青, 陈秋莉, 陈碧艳, 等. 15 969 例轻型 α 地中海贫血的基因型和血液学分析[J]. *中国计划生育学杂志*, 2017, 25(1):57-60.

(收稿日期: 2021-04-19 修回日期: 2021-11-20)