

Hb Westmead 复合轻型 β 地中海贫血的血液学表型和基因型分析^①

宋兆静, 潘红飞^②, 黄肯, 梁菊花, 贺珊, 刘宁

(右江民族医学院, 广西 百色 533000 E-mail: zhaosong@163.com)

摘要: **目的** 探讨广西百色市 Hb Westmead(Hb WS)复合轻型 β 地中海贫血(地贫)的血液学表型和基因型。**方法** 收集门诊 Hb WS 复合轻型 β 地贫患者 31 例, Hb WS 杂合子 50 例和轻型 β 地贫 50 例, 共 131 例, 所有病例均进行血常规、血红蛋白分析及地贫基因型检测。**结果** 31 例 Hb WS 复合轻型 β 地贫组, 共检测出 6 种基因类型, 最常见的为 CD41-42 / $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$ 。该组除了 Hb A2 升高, Hb、MCV、MCH 值均降低, 表现为小细胞低色素性贫血。与轻型 β 地贫组比较, Hb、MCV、MCH、Hb A2 的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而与 Hb WS 杂合子组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。**结论** Hb WS 复合轻型 β 地贫患者表现为小细胞低色素性贫血与 Hb A2 升高, 与 β -地贫基因特征相似, 必须通过分子诊断确诊。

关键词: Hb Westmead; β 地中海贫血; 基因型; 血液学表型

中图分类号: R556.61 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2017)01-0040-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2017.01.012

地中海贫血(地贫)是由于控制珠蛋白链合成的基因异常(缺失或突变)导致肽链合成减少、比例失衡的遗传性慢性溶血性疾病, 表现为小细胞低色素性贫血。临床上最常见的类型是 α 和 β 地贫。根据基因缺陷情况, α 地贫可分为缺失型和非缺失型两种。在我国南方最常见的 α 地贫为东南亚缺失型(--SEA/), 右侧缺失型- $\alpha 3.7$ 和左侧缺失型- $\alpha 4.2$, 以及三种非缺失型 Hb Constants Spring (Hb CS, CD142TAA \rightarrow CAA)、Hb Westmead (Hb WS, CD122CAC \rightarrow CAG) 和 Hb Quong Sze (Hb QS, CD 125CTG \rightarrow CCG)^[1-2]。其中 Hb WS 是静止型的血红蛋白变体, 如果与 β 地贫携带者婚配, 就有很大可能生育 Hb WS 复合轻型 β 地贫患者。而这类复合型的杂合子个体无论是与 α 地贫或者 β 地贫患者结合, 均有机会生育出中间型或重型地贫患儿。本文对 31 例 Hb WS 复合轻型 β 地贫患者的血液学表型和基因型进行探讨, 为此类杂合子的遗传咨询和产前基因诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料 病例来自门诊就诊的患者, 均来自广西壮族自治区百色市。根据血液学参数和基因型共筛查出 131 例, 包括 Hb WS 复合轻型 β 地贫患者 31 例, Hb WS 杂合子 50 例和轻型 β 地贫 50 例, 其中男 62 例, 女 69 例, 年龄 5~50 岁, 平均年龄(27.14 \pm 15.25)岁。

1.2 方法

1.2.1 血液学分析 对每位患者取 2 ml EDTA 抗凝

静脉血, 采用日产 SYSMEN(XE-5000)全自动血液分析仪进行血常规检测。

1.2.2 血红蛋白分析 采用高效液相色谱血红蛋白自动分析仪(美国 Bio-Rad VARIANT II)及配套试剂 β -地中海贫血诊断试剂盒(深圳亚能生物技术有限公司)进行血红蛋白定量分析。

1.2.3 地贫基因检测

1.2.3.1 α 地贫基因 应用 FYY-5 分子杂交仪, 采用反向斑点膜条杂交技术检测 $\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$ 、 $\alpha^{WS}\alpha$ 三种非缺失型 α 地贫基因[非缺失型 α 地贫基因诊断试剂盒, 亚能生物技术(深圳)有限公司]。应用 PCR 仪(Gene-Amp 9700, ABI)采用 gap-PCR 技术检测 --SEA、- $\alpha 3.7$ 和 - $\alpha 4.2$ 等三种常见的缺失型 α 地贫基因[缺失型 α 地贫基因诊断试剂盒, 亚能生物技术(深圳)有限公司]。

1.2.3.2 β 地贫基因 应用 FYY-5 分子杂交仪, 采用反向斑点膜条杂交技术检测中国人常见的 17 种 β 地贫基因 [β 地贫基因诊断试剂盒, 亚能生物技术(深圳)有限公司], 操作严格按说明书进行。上述实验室检查均由右江民族医学院附属医院检验科专业人员操作。

1.3 诊断标准

1.3.1 贫血程度标准^[3] 轻度贫血: 血红蛋白(Hb) 90~120 g/L; 中度贫血: Hb 60~89 g/L; 重度贫血: Hb 30~59 g/L; 极重度贫血: Hb < 30 g/L。

1.3.2 血液学参数正常范围^[4-5] 红细胞平均体积(MCV): 80~100 fl; 平均红细胞血红蛋白含量

① 基金项目: 广西壮族自治区卫生厅重点科研课题(2011071)

② 通信作者, E-mail: Panhongfei2003@aliyun.com

(MCH):27~34 pg; 血红蛋白 F(Hb F):0%~2.3%; 血红蛋白 A2(Hb A2):2.3%~3.3%。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多样本均数比较采用方差分析,两两比较采用 q 检验(Newman-keuls 法)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因类型分析结果 31 例 Hb WS 复合轻型 β 地贫患者中,一共检测出 6 种 Hb WS 复合轻型 β 地贫的基因类型。其中,最多的是 CD41-42 / $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$ 12 例,其余分别为 CD17/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$ 9 例;CD71-72/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$ 5 例;IVS2-654/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$ 2 例; $\beta^E / \alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$ 2 例;-28/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$ 1 例。Hb WS 杂合子组 50 例($\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$);轻型 β 地贫组 50 例(CD17 20 例,CD41-42 19 例,IVS2-654 4 例, β^E 2 例,-28 2 例,IVS1-1 2 例,CD71-72 1 例)。

2.2 Hb WS 复合轻型 β 地贫组的基因型和部分血液

学指标的分析 Hb、MCV、MCH 均稍低于正常参考值范围,多表现为小细胞、低色素性贫血,贫血表现从轻度到中度均有;Hb F 只有-28/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$ 的基因型有所升高,其余均在正常范围内;Hb A2 均超过正常参考值范围,见表 1。

2.3 三组患者的血液学指标比较 Hb WS 杂合子患者的血液学指标均在正常参考值范围内;轻型 β 地贫患者的 Hb、MCV 和 MCH 均低于正常参考值范围,而 Hb F 和 Hb A2 高于正常参考值范围。Hb WS 复合轻型 β 地贫组的 Hb 低于 Hb WS 杂合子组。Hb WS 复合轻型 β 地贫组与 Hb WS 杂合子组进行比较,除了 Hb F 的差异无统计学意义($P > 0.05$)外,其余血液学参数(Hb、MCV、MCH、Hb A2)的差异均有统计学意义($P < 0.01$);Hb WS 复合轻型 β 地贫组与轻型 β 地贫组进行比较,除 Hb F 的差异有统计学意义($P < 0.01$)外,其余的指标(Hb、MCV、MCH、Hb A2)的差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 1 Hb WS 复合轻型 β 地贫的血液学检验结果 ($\bar{x} \pm s$)

基因型	<i>n</i>	Hb(g/L)	MCV(fl)	MCH(pg)	Hb F(%)	Hb A2(%)
CD 41-42/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$	12	107.08 \pm 11.22	61.91 \pm 5.89	19.05 \pm 1.79	1.49 \pm 0.86	5.21 \pm 0.96
CD17/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$	9	115.00 \pm 16.51	61.19 \pm 3.91	18.94 \pm 0.91	1.42 \pm 0.49	5.21 \pm 1.34
CD71-72/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$	5	108.80 \pm 24.49	63.96 \pm 5.60	19.64 \pm 1.42	1.23 \pm 0.47	5.79 \pm 1.24
IVS2-654/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$	2	107.0/108.0	61.0/60.7	17.2/19.3	0.71/0.4	7.77/2.8
$\beta^E / \alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$	2	112.0/104.0	75.4/81.7	23.1/25.3	0.4/0.7	24.4/26.4
-28/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$	1	107	68.1	20.6	2.5	5.8

表 2 三组患者的血液学指标情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

基因型	<i>n</i>	Hb(g / L)	MCV(fl)	MCH(pg)	Hb F(%)	Hb A2(%)
Hb WS 复合轻型 β 地贫组	31	109.97 \pm 14.82	63.22 \pm 6.34	19.44 \pm 1.90	1.34 \pm 0.71	5.84 \pm 4.06
Hb WS 杂合子组	50	128.80 \pm 21.45 ^a	85.03 \pm 6.62 ^a	27.31 \pm 2.33 ^a	1.10 \pm 0.60	2.94 \pm 0.36 ^a
轻型 β 地贫组	50	109.52 \pm 16.96	61.93 \pm 5.07	19.06.10 \pm 1.87	2.10 \pm 1.78 ^a	6.07 \pm 4.20

注:与 Hb WS 复合轻型 β 地贫组比较,a: $P < 0.01$

3 讨论

地中海贫血是全世界最常见的、对人类健康影响极大的单基因遗传病之一。在我国,广西、广东、云南等地发生率较高。在广西,Hb WS 基因突变率和 β 地贫的发病率分别为 1.55% 和 6.78%^[6-7]。Hb WS 是由于 $\alpha 2$ -珠蛋白基因的 122 位密码子基因点突变(CAC \rightarrow CAG,组氨酸突变为谷氨酰胺)所致,其表达产物是一种轻度不稳定的的血红蛋白变异体。 β 地贫的发病机制大部分为基因点突变,少数为基因的缺失或插入所致,临床上主要以溶血、无效造血及不同程度的小细胞低色素性贫血为特征^[8]。如果这两类地贫携带者婚配,就有很大的可能生育 Hb WS 复合轻型 β 地贫患者。此型患者可没有任何症状或轻度贫血,易出现漏诊或

误诊。因此重视 Hb WS 复合轻型 β 地贫基因检测对指导地贫的遗传咨询和提高人口质量具有重要意义。

在广西,最常见的 β 地贫基因突变是 CD 41-42(-TTCT)和 CD17(A \rightarrow T)^[9]。在本组研究中,31 例 Hb WS 复合轻型 β 地贫患者中,最常见的基因突变类型为 CD 41-42/ $\alpha^{WS} \alpha / \alpha \alpha$ 。Hb WS 复合轻型 β 地贫患者的 Hb、MCV、MCH 均降低,表现小细胞低色素性贫血,但贫血情况并不严重,一般为轻度贫血,其中 2 例表现为中度贫血,这提示 Hb WS 复合轻型 β 地贫也可能出现中度贫血症状,也可表现为中间型地贫的临床改变,更值得我们关注。Hb A2 在所有的基因型中均升高,可能是由于 β 珠蛋白肽链合成减少,多余的 α 珠蛋白肽链与 δ 珠蛋白肽链结合,使 Hb A2 增高,即类

似于轻型 β 地贫^[10-11],从而掩盖了 α 地贫的基因特征,并且Hb WS是静止型的血红蛋白体,有可能会造成漏诊和误诊^[12]。

在本研究中,Hb WS杂合子的血液学指标的检测结果与陈文强等^[13]报道相似,表现为静止型Hb变异体,在正常情况下Hb WS杂合子可以没有贫血等表现,但在发烧、服用磺胺类药物的时候会出现溶血导致轻微的贫血^[14]。Hb WS复合轻型 β 地贫患者的血液学指标(Hb、MCV、MCH)较Hb WS杂合子患者均降低,而且统计学分析结果发现,除了Hb F外,其余的差异均有统计学意义。Hb WS复合轻型 β 地贫组和轻型 β 地贫组的Hb、MCV和MCH均降低,表现为小细胞低色素性贫血,而且两组的Hb A2均升高,Hb WS复合轻型 β 地贫患者的Hb F低于轻型 β 地贫患者。这说明两者的血液学表现基本类似,只通过常规的血液学检查易漏诊和误诊,在临床工作中注意鉴别。有文献报道, $\alpha\beta$ 复合型地贫患者可能同时存在 α 及 β 珠蛋白基因缺陷,导致其珠蛋白链的合成均相应减少,从而使其 α 链/ β 链比例不失衡状态得以改善,比单纯 α 地贫或单纯 β 地贫的贫血程度也有所减轻^[10],与本研究结论相符。

根据地贫遗传规律,如果是相同类型的地贫基因携带者进行婚配,生育 $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血的概率为25.0%^[15]。Hb WS复合轻型 β 地贫患者的后代携带地贫基因的风险远比单纯型地贫后代的风险高,特别是Hb WS复合轻型 β 地贫患者无论与 α 地贫或 β 地贫基因患者婚配,生育重型地贫儿(胎儿水肿综合征)或中重型 β 地贫儿的风险均为25.0%^[12,16],特别是在地贫发生率较高的广西百色地区,后代地贫基因携带者数量会不断上升,形成恶性循环^[17]。

综上所述,Hb WS复合轻型 β 地贫患者主要表现为小细胞低色素性贫血且缺乏特异性的血液学指标,与 β 地贫特征(小细胞低色素、Hb A2升高等特征)比较相似^[18],易漏诊和误诊。当患者确诊为 β 地贫时,应同时进行 α 非缺失型地贫基因诊断。Hb WS复合轻型 β 地贫患者的后代,地贫基因携带者的数量相对较高,临床上更应该重视Hb WS复合轻型 β 地贫的双重杂合子,从而提高检出率,减少中重型地贫患儿的发生率,为地贫遗传咨询和临床诊断提供重要的意义。

参考文献:

[1] Yin XL,Zhang XH,Zhou TH, et al. Hemoglobin H disease in Guangxi Province,Southern China: clinical review of 357 patients[J]. Acta Haematol,2010,124(2): 86-91.

- [2] Zheng CG,Liu M,Du J, et al. Molecular spectrum of α - and β -globin gene mutations detected in the population of Guangxi Zhuang Autonomous Region, People's Republic of China[J]. Hemoglobin,2011,35(1):28-39.
- [3] 中华医学会儿科学分会. 儿科血液系统疾病诊疗规范[M]. 北京:人民卫生出版社,2014:1-3.
- [4] 陈文彬,潘祥林. 诊断学[M]. 7版. 北京:人民卫生出版社,2011:262-263.
- [5] 徐湘民. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 北京:人民军医出版社,2011:64-70.
- [6] 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.
- [7] 边旭明. 实用产前诊断学[M]. 北京:人民军医出版社,2008:419-423.
- [8] Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia [J]. Orphanet J Rare Dis,2010,5:11.
- [9] 丁燕玲,罗世强,钟青燕,等. $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血人群基因检测分析[J]. 中国卫生检验杂志,2016,26(6):848-849.
- [10] Wee YC,Tan KL,Kuldip K, et al. Alpha-thalassaemia in association with beta-thalassaemia patients in Malaysia: a study on the co-inheritance of both disorders[J]. Community Genet,2008,11(3):129-134.
- [11] 朱春江,罗云,丁晖,等. HbA2正常的 β 地中海贫血携带者基因突变分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2012,20(6):11-12.
- [12] 石青峰,杨峻,廖丽芬. $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血的血液学和基因型特征[J]. 广西医学,2012,34(12):1670-1671.
- [13] 陈文强,陈萍,庞丽红,等. 广西地区地中海贫血基因Hb Westmead突变情况及其临床、地域和民族分布特点[J]. 山东医药,2014,54(48):19-21.
- [14] Jiang NH,Liang S,Wen XJ, et al. Hb Westmead: an alpha 2-globin gene mutation detected by polymerase chain reaction and Stu I cleavage[J]. Hemoglobin,1991,15(4):291-295.
- [15] 黄道连,袁春雷,冯丹艺. $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血筛查结果分析[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2011,16(5):214-216.
- [16] 夏威夷,谭蓉,覃西. 海南地区 $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血的基因型和血液型研究[J]. 中国妇幼保健,2015,30(14):2251-2254.
- [17] Huster D. Wilson disease [J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol,2010,24(5): 531- 539.
- [18] 颜绵生,淦鑫,刘敏,等. 广州地区23例Hb Westmead异常血红蛋白复合 β 地中海贫血患者的血液学和基因型分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2016,33(5):598-601.

收稿日期:2016-12-13;修回日期:2017-02-17