

• 临床检验研究论著 •

泰国缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血临床血液学表型分析*

唐燕青, 何 升, 张 强, 陈秋莉, 郑陈光[△]

(广西壮族自治区妇幼保健院遗传代谢中心实验室, 广西南宁 530003)

摘要:目的 探讨泰国型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的血液学表型, 了解其在人群中的检出情况。方法 采用标准的血液学分析技术测量红细胞参数与血红蛋白组分, 利用单管多重 Gap-PCR 技术检测 α -珠蛋白生成障碍性贫血缺失基因, 反向点杂交技术诊断 α -珠蛋白生成障碍性贫血点突变基因。结果 东南亚缺失型组与泰国缺失型组相比, 红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HB)、红细胞平均体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白量(MCH)、HbA₂ 差异无统计学意义($P>0.05$)。健康对照组分别与东南亚缺失型组、泰国缺失型组进行两两比较, 其各项血液学指标差异均有统计学意义($P<0.01$)。结论 血液学指数、血红蛋白电泳提示 α -珠蛋白生成障碍性贫血, 而常规基因检测结果正常或是 α -珠蛋白生成障碍性贫血纯合子时, 建议进行泰国型缺失型或菲律宾缺失型的筛查, 以确保珠蛋白生成障碍性贫血诊断的准确性。

关键词: α -珠蛋白生成障碍性贫血; 泰国缺失型; 东南亚缺失型; 血液学表型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.22.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)22-2965-02

Study of the hematological character of Thai deletion α -thalassemia*

Tang Yanqing, He Sheng, Zhang Qiang, Chen Qiuli, Zheng Chenguang[△]

(Central Laboratory of Genetic and Metabolic Diseases, Guangxi Zhuang Autonomous Region Women and Children Care Hospital, Nanning, Guangxi 530003, China)

Abstract: **Objective** To analysis the hematological character of Thai deletion α -thalassemia and to survey the incidence in Guangxi. **Methods** Hematological analysis was performed using standard techniques to measure red blood cell parameters and hemoglobin components. Gap-PCR method and reverse dot blot test system were used to detect α -thalassemia mutation. **Results** There were no significant difference of red blood cell count(RBC), hemoglobin(HB), mean corpuscular volume(MCV), mean corpuscular hemoglobin amount(MCH) and HbA₂ between Southeast Asian type of α -thalassemia($-\text{SEA}$) and Thai type of α -thalassemia($-\text{Thai}$) ($P>0.05$). There were significant difference of haematological indexes between normal control and Southeast Asian type of α -thalassemia($-\text{SEA}$) and also between normal control and Thai type of α -thalassemia($-\text{Thai}$) ($P<0.01$). **Conclusion** There were no significant difference about hematological parameters between Asian type of α -thalassemia($-\text{SEA}$) and Thai type of α -thalassemia($-\text{Thai}$). So, molecule diagnose of Thai type of α -thalassemia should be performed.

Key words: α -thalassemia; Thai type; Southeast Asia(SEA) type; hematological phenotype

α -珠蛋白生成障碍性贫血(简称 α -地贫)是由于 α -珠蛋白基因的缺失或突变导致 α -珠蛋白肽链的合成减少或缺乏所致的一种遗传性溶血性疾病^[1-3]。在国内, 泰国缺失型既往在台湾、广东、广西及福建有散在发现^[2-5], 泰国缺失型与其他 α -地贫复合存在, 在临床上可形成泰国缺失型 HbH 病或泰国缺失型巴氏水肿胎。本研究通过比较泰国型和东南亚两种 α -缺失型地贫患者的基因型与血液学表型, 以为相关研究提供科学依据, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 标本来自 2012 年 4~12 月到本院进行孕产检查或产前检查的育龄个体。

1.2 仪器与试剂 红细胞参数分析采用全自动血细胞分析仪(迈瑞 BC-5800), 血红蛋白电泳采用毛细管血红蛋白电泳仪(法国 Sebia), 常见 α -地贫基因型检测采用深圳益生堂生物企业有限公司的基因诊断试剂盒, 抽提外周血基因组 DNA 采用厦门百维信生物科技有限公司的全自动核酸提取仪。

1.3 方法 对受检者首先进行血液学表型分析及 6 种常见 α -地贫基因型检测。未检测出东南亚缺失型且血液学表型提示

轻型 α -地贫者, 再对其进行泰国缺失型基因检测。

1.4 基因型分子检测 (1)标本制备: 抽取受检者 EDTA 抗凝外周血 2 mL, 采用磁珠法抽提基因组 DNA, 严格按本室 SOP 进行操作。(2)6 种常见 α -地贫基因型检测: 采用单管多重 gap-PCR 技术检测 3 种常见的缺失型 α -地贫基因($-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{3,7}$ 和 $-\alpha^{4,2}$), 采用 PCR 结合 RDB 技术检测 α -地贫点突变基因(Hb WS、Hb QS、Hb CS), 操作均按试剂盒说明书进行。(3)泰国型缺失型基因检测: 因目前商品试剂盒仅能检测常见的 3 种缺失型 α -地贫基因, 需另外自行设计引物, THAI-F 序列为 5'-CAC GAG TAA AAC ATC AAG TAC ACT CCA GCC-3', THAI-R 序列为 5'-TGG ATC TGC ACC TCT GGG TAG GTT CTG TAC C-3'。预期扩增片段大小约为 413 bp。25 μ L 的 PCR 反应体系: 2 \times ES MasterMix 21 μ L, 10 pmol/ μ L THAI-F、THAI-R 各 1 μ L, DNA 模板 2 μ L。扩增参数: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min, (98 $^{\circ}\text{C}$ 45 s, 63 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 3 min) \times 35 个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min, 16 $^{\circ}\text{C}$ 无限。电泳参数: 取 8~10 μ L PCR 产物于 2%~3% 琼脂糖凝胶上电泳 40~45 min, GoldView I 型核酸染料染色, 凝胶成像系统上观察结果。

* 基金项目: 广西医疗卫生重点科研课题资助项目(2012020)。

作者简介: 唐燕青, 女, 检验技师, 主要从事地中海贫血基因检测。

[△] 通讯作者, E-mail: piger561220881@163.com。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件对数据进行统计学处理。

2 结 果

对 246 例可疑病例进行泰国缺失型 α -地贫基因诊断,共检测出 28 例泰国缺失型 α -地贫,其阳性检出率为 11.4%。常见的 6 种 α -地贫基因型检测结果中,其中有 3 例为 Hb CS 纯合子,1 例为左侧型缺失($-\alpha^{4.2}/-$)纯合子,其余病例的为未见异常。综合泰国缺失型 α -地贫结果分析,其实际检测结果为 3 例泰国缺失型合并 Hb CS 点突变,占 10.71%,基因型为($-\alpha^{Thai}/\alpha^{CS}\alpha$);1 例泰国缺失型合并左侧缺失型杂合子,占 3.57%,基因型为($-\alpha^{Thai}/-\alpha^{4.2}$);22 例为单纯的泰国缺失

型,基因型为($-\alpha^{Thai}/\alpha\alpha$),占 78.57%。此外,3 例泰国缺失型复合 Hb CS 点突变者中,有 2 例患者的血红蛋白电泳结果显示含有 HbH 带。对 384 例东南亚缺失型 α -地贫患者的血液学参数进行统计学分析,并与 22 例泰国缺失型 α -地贫患者的进行比较,结果见表 1。RBC、Hb、MCV、MCH 及 HbA₂ 各项参数两者之间差异均无统计学意义($P>0.05$)。以 492 例未检测出地贫者作为健康对照组,分别与东南亚缺失型组和泰国缺失型组的血液学参数进行两两比较。结果显示健康对照组与东南亚缺失型组或与泰国缺失型组的 RBC、Hb、MCV、MCH 及 HbA₂ 各项指标差异均有统计学差异($P<0.01$)。

表 1 东南亚缺失型与泰国缺失型的血液学表型($\bar{x}\pm s$)

基因型	<i>n</i>	RBC($\times 10^{12}/L$)	Hb(g/dL)	MCV(fL)	MCH(pg)	HbA ₂ (%)
$-\alpha^{SEA}/\alpha\alpha$	384	5.23 \pm 0.52	119 \pm 16	67.8 \pm 2.8	22.2 \pm 1.1	2.5 \pm 0.2
$-\alpha^{Thai}/\alpha\alpha$	22	5.10 \pm 0.74	111 \pm 14	66.2 \pm 3.4	21.5 \pm 1.3	2.4 \pm 0.4
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	492	4.6 \pm 0.6	141 \pm 16	87.5 \pm 4.2	30.7 \pm 1.7	2.8 \pm 0.3

3 讨 论

Gap-PCR 又叫裂口 PCR 或跨越式断裂点 PCR,是目前检测缺失型珠蛋白生成障碍性贫血的常用方法^[6-7]。除了常见的缺失类型外,也可能存在一些尚未发现的缺失型珠蛋白生成障碍性贫血,同样都可以利用多重连接探针扩增技术和 Gap-PCR 技术进行分析和鉴定^[8-10]。

泰国缺失型 α -地贫 1 缺失了约 34 kb 长的 α 珠蛋白基因簇,缺失范围比东南亚缺失型 α -地贫 1 大,但其血液学特征与东南亚缺失型 α -地贫 1 一致,表现为小细胞低色素性贫血,MCV 水平降低,MCH 量降低等^[5]。而东南亚缺失型 α -地贫在我国南方人群中发病率较高,其与泰国缺失型 α -地贫合并可引起重型 α -地贫胎儿,即巴氏水肿胎。巴氏水肿胎是广西最主要的出生缺陷,其发生率为 3.4‰~5.15‰,远高于其他类型的出生缺陷,约占所有出生缺陷的 1/5。目前,唯有通过产前常规筛查与诊断才能杜绝重型地贫患儿的出生。但由于泰国缺失型属于罕见型 α -地贫,不在常规的筛查范围内常常易漏诊,如果不结合胎儿的超声和血液学检查,则易导致巴氏水肿胎的出生。

本文通过对 246 例可疑病例进行泰国缺失型 α -地贫基因诊断,共检测出 28 例泰国缺失型 α -地贫,其阳性检出率为 11.4%。数据表明,虽东南亚缺失型 α -地贫在南方人群中所占的比例远远大于泰国缺失型 α -地贫,但泰国缺失型 α -地贫在广西人群中所占的比例也不容忽视。本文对泰国型 α -缺失型地贫的血液学参数进行统计学分析,并与东南亚缺失型 α -地贫患者的血液学参数进行了比较,统计数据显示两者之间的各项血液学参数差异均无统计学意义($P>0.05$)。

将未检测出地贫的健康对照组分别与东南亚缺失型组、泰国缺失型组进行两两比较,两组的 RBC、Hb、MCV、MCH 及 HbA₂ 各项指标差异均有统计学意义($P<0.01$)。数据表明,在进行地贫的临床检测时,当遇到血液学参数符合东南亚缺失型 α -地贫但又未检测出东南亚缺失型 α -地贫的患者,应考虑是否为泰国缺失型 α -地贫。

此外,本研究还检测出 1 例泰国缺失型复合东南亚缺失型

引起的巴氏水肿胎,为临床遗传咨询提供了有意义的科学依据。

参考文献

[1] Ko TM,Chen TA,Hsieh MI,et al. Alpha-Thalassemia in the Four Major Aboriginal Groups in Taiwan[J]. Hum Genet,1993,92(1): 79-80.

[2] 卢建沛,贾世奇,温怡仙. 广东省汕头地区二例泰国型 α 地中海贫血携带者[J]. 中华血液学杂志,2004,25(4):232-233.

[3] 陈萍,李树全,李敏清,等. 泰国缺失型 α 地中海贫血 1 的产前基因诊断[J]. 中华医学遗传学杂志,2007,24(3):247-250.

[4] Ko TM,Tseng LH,Kao CH,et al. Molecular characterization and PCR diagnosis of Thailand deletion of alpha-globin gene cluster [J]. Am J Hematol,1998,57(2):124-130.

[5] 黄海龙,林娜,徐两蒲,等. 产前诊断泰国缺失型 α 地中海贫血 1 引起的胎儿巴氏水肿[J]. 中华妇产科杂志,2010,45(7):531-533.

[6] 周玉球,肖鸽飞,李莉艳. Gap-Pcr 作为临床一线 α -地中海贫血携带者筛查技术的应用评价[J]. 第一军医大学学报,2002,22(5): 434-436.

[7] 肖奇志,周玉球,谢建红,等. 基于实时荧光 PCR 的探针熔解曲线分析技术和反向点杂交技术应用于 β -地中海贫血基因诊断与产前诊断的对比研究[J]. 中华检验医学杂志,2012,35(5):413-417.

[8] Suemasu CN,Kimura EM,Oliveira DM,et al. Characterization of alpha thalassemic genotypes by multiplex ligation-dependent probe amplification in the Brazilian population[J]. Braz J Med Biol Res,2011,44(1):16-22.

[9] Wei XF,Shang X,He DQ,et al. Molecular Molecular characterization of a novel 27.6-kb deletion causing $\alpha(+)$ thalassemia in a Chinese family[J]. Ann Hematol,2011,90(1):17-22.

[10] Colosimo A,Gatta V,Guida V,et al. Application of MLPA assay to characterize unsolved α -globin gene rearrangements[J]. Blood Cells Mol Dis,2011,46(2):139-144.