

• 临床检验研究论著 •

缺失型 α -地中海贫血基因携带者红细胞参数特征研究*

潘翠琦¹, 白 杨¹, 刘冬冬², 唐 芳³, 黄景春², 尚陈宇², 徐建华^{2△}

(1. 广州市东升医院, 广东广州 510120; 2. 广东省中医院检验科, 广东广州 510120;

3. 广州市人口和计划生育科学研究所, 广东广州 510410)

摘 要:目的 探讨缺失型 α -地中海贫血基因携带者红细胞参数变化特点。方法 经 gap-PCR 技术确定的 389 例缺失型 α -地中海贫血基因携带者分为 3 组: (1) 静止型: $-\alpha/\alpha\alpha$ 型; (2) 标准型: $---^{SEA}/\alpha\alpha$ 型; (3) 中间型或 HbH 型: $-\alpha/---^{SEA}$ 型。选取同期 188 名健康体检者(男性 97 名、女性 91 名)做为对照组(NC 组)。采用方差分析及多重比较研究各组红细胞参数, 包括 RBC、Hb、MCV、MCH 和 RDW 等变化特点。结果 缺失型 α -地贫表现为不同程度的红细胞低色素症; 各基因型和表现型红细胞参数间差异均有统计学意义($P < 0.05$), 且 Hb、MCV、MCH 值低于对照组, 并随着 α 珠蛋白基因缺陷数目的增加, 有减小的趋势; 而 RDW 值高于对照组, 有增大的趋势, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。389 例缺失型 α -地贫基因携带者中, 其中静止型占 19.55%, 标准型占 68.12%, 中间型占 12.33%。结论 随着 α 珠蛋白基因缺陷数目增加, 小细胞低色素特征越来越显著; RBC 总体增高, Hb、MCV 和 MCH 呈下降趋势, 红细胞体积大小异质性增加。MCV、MCH 降低时应高度疑似地贫, 但 MCV、MCH 正常时不能除外静止型、标准型地贫。

关键词: α -地中海贫血; 基因型; 红细胞参数

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.14.009

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)14-1836-03

Study on characteristics of erythrocyte parameters in carriers of alpha-thalassemia deletional genotypes*

Pan Cuiqi¹, Bai Yang¹, Liu Dongdong², Tang Fang³, Huang Jingchun², Shang Chenyu², Xu Jianhua^{2△}

(1. Guangzhou Dongsheng Hospital, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 2. Department of Clinical Laboratory,

Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China;

3. Guangzhou Municipal Population and Family Planning Research Institute, Guangzhou, Guangdong 510410, China)

Abstract: **Objective** To study the change characteristics of erythrocyte parameters in carriers of deletional alpha-thalassemia gene. **Methods** 389 patients with deletional alpha-thalassemia gene determined by the gap-PCR technique were classified into three groups based on different genotypes of alpha-thalassemia including silent thalassemia group, alpha-thalassemia trait group (265 cases) and intermediate thalassemia group, and contemporaneous 188 healthy adults were randomly selected as the normal control-group(NC). The erythrocyte parameters including RBC, Hb, MCV, MCH, RDW were retrospectively analyzed and their differences were compared among aboved-mentioned groups by the analysis of variance and the multiple comparison. **Results** Alpha-thalassemia manifested by different degrees of microcyte hypochromia. There were statistically significant differences in the erythrocyte parameters among various genotypes and phenotypes about erythrocyte indices($P < 0.05$). Moreover, the Hb, MCV and MCH values were lower than those in the control group, and had the decreasing tendency with the increase of deleted α -globin gene numbers; but the RDW value was higher than that in the control group, showing the increasing tendency, the differences had statistical significance($P < 0.05$). **Conclusion** With the increase of deleted α -globin gene number, the characteristic of small-cell low-hemoglobin is more and more remarkable. RBC has a overall increase, while Hb, MCV and MCH have a decreasing tendency, and the heterogeneity of erythrocyte volume is increased. When MCV and MCH decreasing in high risk region, thalassemia should be highly suspected, but normal MCV and MCH can not exclude silent thalassemia and alpha-thalassemia trait.

Key words: alpha-thalassemia; genotype; erythrocyte indices

α -地中海贫血(以下简称 α -地贫)是由于 α 珠蛋白基因缺陷导致 α 珠蛋白链合成减少或缺如所引起的遗传性血液病, 在我国南方地区如广东、广西、海南的发病率和携带率均很高^[1-2]。研究发现, 中国地区普遍发生的 α -地贫分别由 $---^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 位点缺失引起的。在我国人群中大规模筛查 α -地贫 3 种缺失型基因携带者是实现 α -地贫预防的必要途径^[3-4]。本研究采用跨越断裂点的 PCR 技术(gap-PCR)检测 α -地贫携带者常见 3 种缺失型位点, 并统计分析不同基因型和红细胞参数资料, 以阐明其基因型、表现型和红细胞参数

的关系, 从而为临床通过基因型预测该病的临床表现、进程及预后提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 常见缺失型 α -地贫基因携带者 来源于 2012 年 1 月至 2013 年 12 月笔者单位就诊的成年 α -地贫基因携带者, 其中男性 115 例, 女性 274 例, 年龄 18~50 岁, 以 α 珠蛋白基因型作为分组的依据, 分为 3 组: (1) 静止型(76 例)为 $-\alpha/\alpha\alpha$ 型; (2) 标准型(265 例)为 $---^{SEA}/\alpha\alpha$ 型; (3) 中间型(48 例)为 $-\alpha/---^{SEA}$ 型。

$\alpha/-/-SEA$ 型。所有病例均排除缺铁、 α 复合 β -地贫和异常血红蛋白病。

1.1.2 健康体检者 随机选取同期 188 名健康体检者(男性 97 名、女性 91 名)做为对照组(NC 组),排除缺铁,基因型分析排除 α -地贫和 β -地贫基因携带,Hb 分析排除异常血红蛋白病。

1.2 仪器与试剂 PCR 仪购自 Biometra 公司,血细胞仪购自 Sysmex 公司,RunOne 电泳仪购自美国 Embitec 公司,Gel docXR 成像仪购自美国 Bio-Rad 公司, α -地贫基因检测试剂盒为深圳亚能生物技术有限公司产品。

1.3 方法 采集患者空腹静脉血 2~3 mL,EDTA-K₂ 抗凝,红细胞参数 4 h 内完成测定,剩余标本于 2~8 ℃ 冰箱保存集中进行基因检测。缺失型 α -地贫基因检测采用跨越断裂点 PCR(gap-PCR)技术进行检测。血液学表型分析采用全自动血细胞分析仪进行全血细胞计数,并测定红细胞参数,如红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)和红细胞体积分布宽度(RDW)等。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件包进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK 检验。经统计学分析无男、女性别差异的红细

胞参数则合并后再进行统计学处理和分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 缺失型 α -地贫各基因型红细胞参数结果 各组间红细胞参数结果比较见表 1,结果显示,各型 α -地贫均表现为不同程度的小红细胞低色素症。各指标组间 Hb、MCV、MCH 值低于对照组,且有减小的趋势;而 RDW 值高于 NC 组,且有增大的趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 缺失型 α -地贫各表现型红细胞参数结果 α -地贫各表现型红细胞参数结果(表 2)显示,各指标组间差别均具有统计学意义($P < 0.05$),男性标准型 RBC 值高于 NC 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而女性组静止型、标准型、中间型 RBC 值均高于 NC 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。静止型、标准型、中间型 Hb、MCV、MCH 值低于对照组,且有减小的趋势;而 RDW 值高于对照组,且有增大的趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 缺失型 α -地贫各表现型 MCV/MCH 分布结果 389 例缺失型 α -地贫基因携带者中,各表现型 MCV/MCH 具体分布情况见表 3。

表 1 缺失型 α -地贫各基因型红细胞参数结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	男/女	RBC($\times 10^{12}/L$)		Hb(g/L)		MCV(fL)	MCH(pg)	RDW(%)
		男	女	男	女			
NC 组	97/91	5.08 $\pm$ 0.38	4.39 $\pm$ 0.25	153.70 $\pm$ 9.6	129.60 $\pm$ 7.3	89.0 $\pm$ 3.6	29.9 $\pm$ 1.4	13.1 $\pm$ 1.7
静止型								
— $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	4/40	4.93 $\pm$ 1.79	4.66 $\pm$ 0.58 ^d	134.50 $\pm$ 40.5	115.70 $\pm$ 19.6 ^{aef}	78.4 $\pm$ 8.7 ^{adef}	25.2 $\pm$ 3.5 ^{adef}	15.5 $\pm$ 3.2 ^{aef}
— $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	8/24	4.81 $\pm$ 1.11	4.58 $\pm$ 0.52 ^d	125.00 $\pm$ 34.3	111.60 $\pm$ 18.5 ^{aef}	78.8 $\pm$ 9.3 ^{adef}	24.8 $\pm$ 3.8 ^{adef}	15.9 $\pm$ 3.9 ^{aef}
标准型	87/178	5.98 $\pm$ 0.99 ^a	5.26 $\pm$ 0.82 ^{abc}	129.10 $\pm$ 19.8 ^{aef}	110.40 $\pm$ 15.1 ^{aef}	67.6 $\pm$ 5.8 ^{abcef}	21.4 $\pm$ 3.3 ^{abcef}	16.7 $\pm$ 3.4 ^{aef}
中间型								
— $\alpha^{4.2}/-/-SEA$	5/11	5.20 $\pm$ 0.60	4.52 $\pm$ 0.73	96.40 $\pm$ 8.96 ^{ad}	82.40 $\pm$ 11.6 ^{abcd}	61.4 $\pm$ 6.1 ^{abcd}	18.4 $\pm$ 1.2 ^{abcd}	24.1 $\pm$ 3.7 ^{abcd}
— $\alpha^{3.7}/-/-SEA$	11/21	5.20 $\pm$ 1.09	5.09 $\pm$ 0.74 ^a	98.18 $\pm$ 18.1 ^{ad}	89.42 $\pm$ 11.8 ^{abcd}	59.9 $\pm$ 6.0 ^{abcd}	18.1 $\pm$ 1.7 ^{abcd}	23.8 $\pm$ 2.3 ^{abcd}
F 值	—	13.41	24.47	40.44	48.25	378.35	262.27	111.91
P 值	—	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

^a: $P < 0.05$,与 Nc 组比较;^b: $P < 0.05$,与— $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 组比较;^c: $P < 0.05$,与— $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 组比较;^d: $P < 0.05$,与 $\alpha\alpha/-/-SEA$ 组比较;^e: $P < 0.05$,与— $\alpha^{4.2}/-/-SEA$ 组比较;^f: $P < 0.05$,与— $\alpha^{3.7}/-/-SEA$ 组比较;—:无数据。

表 2 缺失型 α -地贫各表现型红细胞参数结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	男/女	RBC($\times 10^{12}/L$)		Hb(g/L)		MCV(fL)	MCH(pg)	RDW(%)
		男	女	男	女			
NC 组	97/91	5.08 $\pm$ 0.38	4.39 $\pm$ 0.25	153.7 $\pm$ 9.6	129.6 $\pm$ 7.3	89.0 $\pm$ 3.6	29.9 $\pm$ 1.4	13.1 $\pm$ 1.7
静止型	12/64	4.85 $\pm$ 1.29	4.63 $\pm$ 0.56 ^{ac}	128.3 $\pm$ 34.9	114.2 $\pm$ 19.2 ^{ad}	78.6 $\pm$ 8.9 ^{acd}	25.0 $\pm$ 3.6 ^{acd}	15.6 $\pm$ 3.5 ^{ad}
标准型	87/178	5.98 $\pm$ 0.99 ^{ad}	5.26 $\pm$ 0.82 ^{ab}	129.0 $\pm$ 19.8 ^{ad}	110.4 $\pm$ 15.1 ^{ad}	67.5 $\pm$ 5.8 ^{abd}	21.4 $\pm$ 3.3 ^{abd}	16.7 $\pm$ 3.4 ^{ad}
中间型	16/32	5.20 $\pm$ 0.95 ^c	4.90 $\pm$ 0.78 ^a	97.6 $\pm$ 15.5 ^{ac}	87.0 $\pm$ 12.1 ^{abc}	60.4 $\pm$ 6.0 ^{abc}	18.2 $\pm$ 1.57 ^{abc}	23.9 $\pm$ 2.7 ^{abc}
F 值		22.54	38.57	67.5	79.18	631.56	438.18	186.88
P 值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

^a: $P < 0.05$,与 Nc 组比较;^b: $P < 0.05$,与静止型组比较;^c: $P < 0.05$,与标准型组比较;^d: $P < 0.05$,与中间型组比较;—:无数据。

表 3 缺失型 α -地贫各表现型 MCV/MCH 分布结果[$n(\%)$]

组别	MCH<27 MCV<78	MCH<27 78 $\leq$ MCV<80	MCH<27 80 $\leq$ MCV<82	MCH<27 MCV $\geq$ 82	MCH $\geq$ 27 MCV<82	MCH $\geq$ 27 MCV $\geq$ 82	合计
静止型	28(7.20)	8(2.06)	13(3.34)	5(1.29)	1(0.26)	21(5.40)	76(19.55)
标准型	255(65.55)	4(1.03)	3(0.77)	1(0.26)	0(0.00)	2(0.51)	265(68.12)
中间型	47(12.07)	1(0.26)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	48(12.33)
合计	330(84.82)	13(3.35)	16(4.11)	6(1.55)	1(0.26)	23(5.91)	389(100)

3 讨 论

α -地贫是世界上最常见的单基因遗传病之一,我国的 α -地贫在基因型上主要为 $-\alpha^{3,7}$ 、 $-\alpha^{4,2}$ 和 $---^{SEA}$ 这三种缺失型,根据这三种缺失型在个体中的不同组合,可表现为静止型、标准型、中间型或血红蛋白 H 病(HbH 病)和 Hb Bart's 胎儿水肿综合征这四种表现型^[5-6]。静止型和标准型在临床上虽无明显症状,但当分别携带 α -地贫静止型与标准型基因的夫妻结婚后,就有 1/4 的可能生出血红蛋白 H 病的后代,而两个都为标准型的夫妇结合,其胎儿就有 1/4 的可能为 Hb Bart's 胎儿水肿综合征,将会给家庭极大的精神和经济负担,需要消耗大量的医疗资源,当前, α -地贫已成为我国一个严重的公共健康问题^[7-9]。

本研究采用以跨跃断裂点 PCR(GAP-PCR)技术为基础的多重 PCR 和电泳平台进行 α -地贫临床诊断,同时检测人临床全血样本中 α 珠蛋白基因上 $---^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3,7}$ 和 $-\alpha^{4,2}$ 基因位点的缺失。gap-PCR 快速、简单、无放射性,可以检测缺失和重排,是目前诊断缺失型地贫的常规方法。但该方法在杂合性丢失(loss of heterozygosity, LOH)时可致假阴性,另部分断裂点序列尚未明时不能检测^[10]。由于 GAP-PCR 技术的普及和诊断费用的降低,对我国的优生优育、提高人口素质具有重要意义^[11]。

本研究对缺失型 α -地贫各基因型和表现型红细胞参数的变化特征进行了统计分析。表 1 和表 2 结果显示,随着 α 珠蛋白基因缺陷数目增加,小细胞低色素特征越来越显著;RBC 总体增高,Hb、MCV 和 MCH 呈下降趋势,红细胞体积大小异质性增加,提示 RDW 指标从另一个方面反映了珠蛋白肽链合成的状态。地贫患者 MCV 和 MCH 常减低,减低的程度与基因突变的类型及贫血严重程度相关,因此 MCV、MCH 均是地贫筛查的最常用基础指标^[12-13]。表 3 结果显示,389 例缺失型 α -地贫基因携带者中 $MCV<78\text{ fL}$ 、 $MCH<27\text{ pg}$ 为 84.82%, $MCV<80\text{ fL}$ 、 $MCH<27\text{ pg}$ 为 88.17%, $MCV<82\text{ fL}$ 、 $MCH<27\text{ pg}$ 为 92.28%。参照 2012 年我国卫生部行业标准(WS/T405-2012)《血细胞分析参考区间》提供的 MCV 和 MCH 参考区间值^[14], α -地贫基因携带者中 $MCV\geq 82\text{ fL}$ 、 $MCH\geq 27\text{ pg}$ 的比率为 5.91%。结果说明,静止型地贫的 MCV、MCH 可在正常区间内,或仅轻度减低;标准型地贫的 MCV、MCH 常是减低的,中间型地贫 MCV、MCH 明显减低。MCV、MCH 降低时应高度疑似地贫,但 MCV、MCH 正常时不能除外静止型、标准型地贫。基因诊断是地贫诊断的金标准,但通过全血细胞计数参数对 α -地贫基因携带者进行初步筛

查,是临床上尤其是基层单位最常用的检测手段,了解 α -地贫不同基因型和表现型患者全血细胞计数特点,有助于贫血类型的初步判断。

参考文献

[1] Galanello R, Cao A. Alpha-thalassaemia[J]. Genet Med, 2011, 13(3): 83-88.

[2] 包碧惠, 胡华, 姚宏, 等. 地中海贫血的产前筛查和基因诊断[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(5): 453-455.

[3] Haeteveld CL, Higgs DR. α -thalassaemia[J]. Orphanet J Rare Dis, 2010, 5(1): 13-21.

[4] 张明, 朱春江, 丁晖, 等. 血液学指标正常的 α -地中海贫血基因携带者的检出及临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2009, 24(3): 376-377.

[5] 张永良, 汪伟山, 周玉球, 等. α -地中海贫血基因型和红细胞参数关系的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(5): 418-422.

[6] Singer ST. Variable clinical phenotypes of alpha- thalassemia syndromes[J]. The Scientific World Journal, 2009, 9(7): 615-625.

[7] 晁艳, 冯琴, 余伍忠, 等. 常见类型地中海贫血患者全血细胞计数参数特点[J]. 中国生育健康杂志, 2013, 24(6): 26-28.

[8] 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.

[9] 熊符, 娄季武, 魏小凤, 等. 广西地区 79 例 α -地中海贫血复合 β -地中海贫血患者血液学特征分析[J]. 中华血液学杂志, 2012, 33(10): 856-860.

[10] 刘贵建, 孙士鹏. 地中海贫血的实验诊断: 项目和方法的选择及临床应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(5): 385-389.

[11] 李亚红, 梁玉全, 岑妙珍, 等. 地中海贫血基因携带者产前筛查及实验室指标的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(8): 673-677.

[12] 汪伟山, 周玉球, 张永良, 等. 静止型 β -地贫红细胞指标截断值的确定及其临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 147-149.

[13] Chan LC, Ma SK, Chan AYY, et al. Should we screen for globin gene mutations in blood samples with mean corpuscular volume (MCV) greater than 80 fL in areas with a high prevalence of thalassaemia[J]. J Clin Pathol, 2001, 54(4): 317-320.

[14] 中华人民共和国卫生部行业标准. WS/T405-2012 血细胞分析参考区间[S]. 北京: 卫生部, 2012.

(收稿日期: 2014-01-19)

(上接第 1835 页)

Simple coagulation tests improve survival prediction in patients with septic shock[J]. J Thromb Haemost, 2008, 6(4): 645-653.

[20] Ostrowski SR, Srensen AM, Larsen CF, et al. Thrombelastography and biomarker profiles in acute coagulopathy of trauma: a prospective study[J]. Scand J Trauma Resusc Emerg Med, 2011, 19(1): 64.

[21] De Oliveira CO, Reimer AG, Da Rocha AB, et al. Plasma von Willebrand factor levels correlate with clinical outcome of severe trau-

matic brain injury[J]. J Neurotrauma, 2007, 24(8): 1331-1338.

[22] Wohlaue MV, Moore EE, Thomas S, et al. Early platelet dysfunction: an unrecognized role in the acute coagulopathy of trauma[J]. J Am Coll Surg, 2012, 214(5): 739-746.

[23] Kutcher ME, Redick BJ, McCreery RC, et al. Characterization of platelet dysfunction after trauma[J]. J Trauma Acute Care Surg, 2012, 73(1): 13-19.

(收稿日期: 2014-02-01)