

• 论 著 •

胎儿血红蛋白改善  $\beta$ -珠蛋白生成障碍性贫血携带者贫血程度的研究\*李丽华<sup>1</sup>, 马 竞<sup>2△</sup>, 江 凡<sup>1</sup>, 邹建诒<sup>1</sup>, 周喜友<sup>1</sup>, 高水湾<sup>1</sup>, 黄丽清<sup>1</sup>

(深圳市宝安区妇幼保健院: 1. 检验科; 2. 中心实验室, 广东深圳 518133)

**摘要:**目的 探讨胎儿血红蛋白(HbF)对携带  $\beta$ -珠蛋白生成障碍性贫血的育龄女性改善贫血程度的作用。方法 采集 289 例基因确诊为  $\beta$ -珠蛋白生成障碍性贫血携带者的深圳地区育龄妇女静脉血, 采用高效液相色谱法(HPLC)对 HbF 进行定量分析, 并测定红细胞(RBC)参数, 比较 HbF 增高组与 HbF 正常组 RBC 参数的差异, 同时对 HbF 高表达率与基因突变类型的关系进行分析。结果 与 HbF 正常组比较, HbF 增高组血红蛋白(HGB)水平、红细胞平均体积(MCV)和红细胞平均血红蛋白含量(MCH)增高, RBC 计数降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 而两组红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)和红细胞体积分布宽度变异系数(RDW-CV)比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ); 不同基因突变类型 HbF 高表达率与总体 HbF 高表达率比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 携带  $\beta$ -珠蛋白生成障碍性贫血的育龄女性中 HbF 增高者较 HbF 正常者的贫血程度明显改善, 且基因突变类型与 HbF 高表达无关。

**关键词:**  $\beta$ -珠蛋白生成障碍性贫血; 胎儿血红蛋白; 基因突变

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.08.048

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)08-1120-03

The study on fetal hemoglobin in improving anemia of  $\beta$ -thalassemia carriers\*Li Lihua<sup>1</sup>, Ma Jing<sup>2△</sup>, Jiang Fan<sup>1</sup>, Zou Jianhua<sup>1</sup>, Zhou Xiyu<sup>1</sup>, Gao Shuiwan<sup>1</sup>, Huang Liqing<sup>1</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, 2. Department of Central Laboratory, the Maternal and Child Health Care Hospital of Baoan district, Shenzhen, Guangdong 518133, China)

**Abstract:** Objective To investigate the effect of fetal hemoglobin (HbF) in improving anemia of women who were  $\beta$ -thalassemia carriers at childbearing age. **Methods** 289 cases of women at childbearing age diagnosed as  $\beta$ -thalassemia carriers in Shenzhen City were enrolled in this study. The high performance liquid chromatography (HPLC) was used for quantitative analysis of HbF, and the red blood cell parameters were detected by using the LH750 Automatic blood cell analyzer. The differences of red blood cell parameters between the HbF normal group and the HbF increased group were compared, and the relationship between the high HbF expression rates and gene mutations were also analyzed. **Results** Compared with the HbF normal group, the hemoglobin (HGB) levels, mean corpuscular volume (MCV) and the mean corpuscular hemoglobin (MCH) increased significantly, while the red blood cell (RBC) count reduced, there were significant differences between the two groups ( $P < 0.05$ ). No significant differences of the mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and RDW coefficient of variation (RDW-CV) between the two groups were found ( $P > 0.05$ ). There were no significant differences of rates of HbF high expression between different types of  $\beta$ -globin gene mutations and the overall rate of HbF high expression ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Compared with the HbF normal group, anemia may improve more significantly in cases of women diagnosed as  $\beta$ -thalassemia carriers at childbearing age in the HbF increased group, and there may be no relationship between gene mutations and high expression of HbF.

**Key words:**  $\beta$ -thalassemia; fetal hemoglobin; gene mutation

$\beta$ -珠蛋白生成障碍性贫血(又称  $\beta$ -地中海贫血, 以下简称  $\beta$  地贫)是世界上最常见的单基因遗传病之一, 全球约有 7% 的人是  $\beta$  地贫致病基因的携带者<sup>[1]</sup>, 我国长江流域以南为该病高发区, 尤以广东、广西及海南 3 省为甚。 $\beta$  地贫属于常染色体隐性遗传病, 是由位于 11p15.5 上的  $\beta$  珠蛋白基因变异使  $\beta$  珠蛋白肽链合成障碍, 造成血红蛋白(HGB)成分发生改变所致的一种慢性溶血性贫血<sup>[2]</sup>。HGB 由 4 个亚基(珠蛋白)构成, 最常见为成人血红蛋白(HbA,  $\alpha_2\beta_2$ ), 这是成人 HGB 的主要形式(占 96.5%~97.5%); 另一种为胎儿血红蛋白(HbF,  $\alpha_2\gamma_2$ ), 这是胎儿发育期间及出生后 HGB 的主要形式, 刚出生时可占全部 HGB 的 70%~80%, 但随着年龄增长,  $\gamma$  亚基表达开始减少, 而  $\beta$  亚基开始增多, 成年后 HbF 水平一般不超过总 HGB 的 2%<sup>[3]</sup>。尽管在健康个体中 HbF 高水平表达无相

关临床意义, 然而在  $\beta$  地贫中, 持续表达的  $\gamma$  珠蛋白基因可以缓解  $\alpha$  链/非  $\alpha$  链的失衡状态, 高水平的 HbF 可以代偿由于缺乏 HbA 导致的损害, 起到改善贫血症状的作用, 因此提高患者体内 HbF 水平被认为是治疗或缓解这类贫血的一个重要的新策略<sup>[4]</sup>。根据贫血程度及临床表型,  $\beta$  地贫分为轻型、中间型及重型<sup>[5]</sup>。本研究对 289 例成年女性  $\beta$  地贫携带者(轻型)的 HbF 水平与红细胞(RBC)参数水平进行了分析总结, 以探讨 HbF 对  $\beta$  地贫携带者贫血程度的改善作用。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2012 年 6 月至 2013 年 12 月于深圳市宝安区妇幼保健院进行孕前检查或婚检的 289 例  $\beta$  地贫女性携带者, 年龄 18~40 岁, 将所有研究对象分为 HbF 增高组( $> 2.6\%$ , 75 例)与 HbF 正常组( $\leq 2.6\%$ , 214 例)。两组性别、年龄、体

\* 基金项目: 2013 年宝安区科技计划项目(2013062、2013069); 2013 年广东省医学科研基金项目(A2013620)。作者简介: 李丽华, 女, 主管检验师, 主要从事临床检验研究。△ 通讯作者, E-mail: 53279225@qq.com。

质量比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

**1.2 仪器与试剂**  $\beta$ 地贫基因诊断仪器为德国 Eppendorf 公司 Mastercycler 5331 梯度聚合酶链反应(PCR)仪和美国 UVP 分子杂交仪,试剂为深圳亚能  $\beta$ 地贫基因诊断试剂盒;HbF 检测所用仪器为美国 Bio-Rad 公司 VariantTM II 全自动血红蛋白分析系统配及其配套试剂;RBC 参数测定所用仪器为美国 Beckman 公司的 LH750 全自动血球分析仪及其配套试剂。

1.3 方法

**1.3.1  $\beta$ 地贫基因诊断** 采集所有研究对象枸橼酸钠抗凝静脉血 2 mL,采用反向斑点杂交技术(PCR-RDB)对  $\beta$ 地贫的 17 个热点突变进行检测。

**1.3.2 HbF 检测** 采集所有研究对象枸橼酸钠抗凝静脉血 2 mL,采用高效液相色谱法(HPLC)对 HbF 进行定量分析。

**1.3.3 RBC 参数测定** 采集所有研究对象乙二胺四乙酸(ETDA)抗凝静脉血 2 mL,然后用美国 Beckman LH750 全自动血细胞分析仪进行分析,记录 HGB、红细胞(RBC)计数、红细胞平均体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白水平(MCH)、红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)及红细胞体积分布宽度变异系数(RDW-CV)。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS15.0 统计软件进行数据处理与

统计学分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间 RBC 参数比较采用  $t$  检验;计数资料以百分率表示,HbF 高表达率与基因突变类型的关系采用  $\chi^2$  检验; $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 两组 RBC 参数比较** 与 HbF 正常组比较,HbF 增高组的 HGB 水平、MCV 和 MCH 增高,RBC 计数减低,比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ );而两组 MCHC 和 RDW-CV 比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 1。

**2.2  $\beta$ 地贫携带者基因突变类型及其与 HbF 高表达率的关系分析** 289 例  $\beta$ 地贫携带者 CD41-42(-TCTT)突变 104 例,占 36.0%,是最常见的突变类型;IVS-II-654(C $\rightarrow$ T)突变 88 例,占 30.4%;TATAbox-28(A $\rightarrow$ G)突变 38 例,占 39.5%;CD17(A $\rightarrow$ T)突变 31 例,占 29.0%,这 4 种突变类型占有所有突变类型的 90.3%(261/289)。另外还有 8 例 CD71-72(+A)突变、6 例 CD43(G $\rightarrow$ T)突变、5 例 CD27-28(+C)突变、4 例 TATAbox-29(A $\rightarrow$ G)突变及 5 例其他突变。289 例  $\beta$ 地贫携带者中有 75 例 HbF 增高,HbF 高表达个体百分率为 26.0%。本研究人群检出的 8 种主要基因突变中,不同基因突变类型 HbF 的高表达率与总体 HbF 的高表达率比较差异均无统计学意( $P>0.05$ )。见表 2。

表 1 两组各项 RBC 参数比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	<i>n</i>	RBC( $\times 10^{12}$ )	HGB(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW-CV(%)
HbF 增高组	75	4.55 $\pm$ 0.51	100.70 $\pm$ 9.67	71.72 $\pm$ 6.63	22.51 $\pm$ 2.38	309.45 $\pm$ 12.84	16.3 $\pm$ 2.4
HbF 正常组	214	4.76 $\pm$ 0.54	97.19 $\pm$ 10.30	66.61 $\pm$ 5.28	20.76 $\pm$ 1.93	310.03 $\pm$ 14.83	15.6 $\pm$ 3.3
<i>t</i>		2.939	2.579	6.729	6.345	0.301	1.687
<i>P</i>		0.004	0.010	0.000	0.000	0.763	0.093

表 2  $\beta$ 地贫携带者基因突变类型及其与 HbF 高表达率的关系分析

基因突变类型	<i>n</i>	HbF 增高组( <i>n</i> )	HbF 正常组( <i>n</i> )	HbF 高表达率(%)	$\chi^2$	<i>P</i>
CD41-42(-TTCT)	104	24	80	23.1	0.200	0.655
IVS-II 654(C $\rightarrow$ T)	88	18	70	20.5	0.821	0.365
TATAbox- 28(A $\rightarrow$ G)	38	15	23	39.5	2.438	0.118
CD17(A $\rightarrow$ T)	31	9	22	29.0	0.024	0.876
CD71-72(+A)	8	2	6	25	0.121	0.728
CD43(G $\rightarrow$ T)	6	3	3	50	0.730	0.393
CD27-28(+C)	5	2	3	40	0.038	0.845
TATAbox- 29(A $\rightarrow$ G)	4	1	3	25	0.282	0.595
其他	5	1	4	20	0.046	0.831
合计	289	75	214	26.0	—	—

$\chi^2$  与 *P* 值为各基因突变类型的 HbF 高表达率与总 HbF 高表达率比较的统计量;—:无数据。

3 讨论

$\beta$ 地贫是由于  $\beta$ 珠蛋白基因的突变或缺失,导致  $\beta$ 珠蛋白肽链合成减少( $\beta^+$ )或缺如( $\beta^0$ ),造成  $\alpha$ 、 $\beta$  链合成不平衡, $\alpha$  链与代偿性增生的  $\gamma$  链或  $\delta$  链聚合形成 HbF 或 HbA<sub>2</sub>,其他多余游离的  $\alpha$  链沉积于 RBC 内,致使 RBC 变形及寿命缩短,从而发生溶血性贫血<sup>[6]</sup>。在中国人群中已发现的  $\beta$ 地贫突变类型有 30 多种,国内报道中国人最主要的 6 种  $\beta$ 地贫突变基因分别为 CD41-42(-TCTT)、IVS-II 654(C $\rightarrow$ T)、CD17(A $\rightarrow$ T)、TATAbox- 28(A $\rightarrow$ G)、CD71-72(+A)和 CD26 G $\rightarrow$ A<sup>[7]</sup>,本研

究利用  $\beta$ 地贫 17 种热点突变检测试剂盒检出了其中 13 种,最主要的 4 种类型依次为 CD41-42(-TCTT)、IVS-II 654(C $\rightarrow$ T)、TATAbox-28(A $\rightarrow$ G)和 CD17(A $\rightarrow$ T),占有所有突变类型的 90.3%,这与袁晖等<sup>[8]</sup>的研究吻合。本研究未检出 CD26 G $\rightarrow$ A 突变,说明地贫遗传异质性大,还有一定的地域分布差异。

$\beta$ 地贫属于小细胞低色素性贫血,RBC 参数改变主要以 MCV 和 MCH 降低为特征,本研究中 MCV 和 MCH 均比目前国内普遍采用 MCV $<$ 79 fL 和 MCH $<$ 27 pg 的截断值低,组间比较发现 HbF 增高组的 MCV 与 MCH 均高于 HbF

正常组。此外, HbF 增高组 HGB 也高于 HbF 正常组, 而 RBC 计数却明显降低, 出现 RBC 计数与 HGB、MCV 的变化趋势分离的现象, 这可能是因为 HbF 正常组与 HbF 增高组相比, HGB 水平较低, 每个小 RBC 的 HGB 水平较低, 贫血刺激机体促红细胞生成素生成增加, 使代偿性合成大量的 RBC<sup>[9]</sup>。

β 地贫患者出生后其体内 HbF 的下降时间较健康人群延迟, 大多数到成年期才会降至正常水平, 但仍有部分患者的 HbF 持续维持在轻度升高水平<sup>[10]</sup>。有研究者发现, 相同的 β 珠蛋白基因突变在不同患者中可以导致不同的贫血程度, 推测可能是遗传和环境因素共同作用的结果<sup>[11]</sup>, HbF 水平的差异就是其中一个因素, RBC 内 HbF 水平增加, 在一定程度上可改善 β 地贫患者的临床症状<sup>[12]</sup>。本研究中 HGB 分析结果显示 289 例 β 地贫携带者中有 75 例 HbF 水平超出正常值范围, HbF 高表达个体百分率为 26. 0%。HbF 增高组比 HbF 正常组 HGB 水平、MCV 和 MCH 增高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0. 05$ )。为了排除 β 珠蛋白基因突变类型与 HbF 高表达存在相关, 分别统计分析了本研究对象中主要的 8 种基因突变类型患者 RBC 的 HbF 高表达百分率, 结果发现与全部患者的 HbF 高表达率比较差异均无统计学意义 ( $P > 0. 05$ )。因此笔者认为 HbF 高表达与 β 珠蛋白基因突变类型无关, 这与陈群蓉等<sup>[13]</sup>研究一致。

综上所述, β 地贫携带者育龄女性中 HbF 增高者比 HbF 正常者血液中的 HGB 水平、MCV 和 MCH 均增高, 说明 RBC 内 HbF 水平增加在一定程度上缓解了 β 地贫患者的临床症状, 不仅有助于疾病的诊断, 而且可以改善患者的预后、降低其死亡率, 这对 β 地贫的治疗与改善其贫血程度有着积极的指导作用。

参考文献

[1] Patrinos GP, Kollia P, Papadakis MN. Molecular diagnosis of inherited disorders: lessons from hemoglobinopathies[J]. Hum Mutat, 2005, 26(5): 399-412.

[2] 陆国辉, 徐湘民. 临床遗传咨询学[M]. 北京: 北京大学医学出版

社, 2007: 240-244.

[3] 程伟, 富宁. 人胎儿血红蛋白的检测及其临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13 (10): 1474-1476.

[4] Fard AD, Hosseini SA, Shahjahani M, et al. Evaluation of novel fetal hemoglobin inducer drugs in treatment of β-hemoglobinopathy disorders[J]. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res, 2013, 7(3): 47-54.

[5] Angalena R, Prabitha KN, Chaudhary AK, et al. A novel homozygous point mutation at codon 82 (HBB; c. 247A>T) in the beta-globin gene leads to thalassemia major[J]. Int J Lab Hematol, 2010, 32(5): 548-549.

[6] 罗桂英, 周红, 余继英, 等. β-地中海贫血的血红蛋白电泳与突变基因的检测与临床[J]. 中国优生与遗传杂志, 2010, 18(7): 30-45.

[7] 曾溢滔. 人类血红蛋白[M]. 北京: 科学出版科学出版社, 2002: 163-164.

[8] 袁晖, 吴维青, 吴晓霞, 等. 深圳地区育龄人群地中海贫血基因型分布调查[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2012, 33 (4): 553-557.

[9] 冼中任, 陈秋霞, 朱伯珍, 等. 红细胞参数对轻型 β2 地中海贫血与缺铁性贫血鉴别诊断的价值[J]. 检验医学与临床, 2011, 8 (2): 164-165.

[10] 黄莉萍, 李莉艳, 宋兰林, 等. HbF 水平在 β-地中海贫血携带者妊娠期产前筛查中的应用[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2011, 3(6): 384-387.

[11] Ryan TM, Sun CW, Ren J, et al. Human gamma-globin gene promoter element regulates human beta-globin gene developmental specificity[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(14): 2736-2740.

[12] Munshi A, Dadheech S, Jain S, et al. Lack of association of G779A ZHX-2 gene variant with HbF levels in β-thalassemia major[J]. Eur J Haematol, 2011, 86(6): 502-506.

[13] 陈群蓉, 孙顺昌, 彭运生, 等. β-珠蛋白生成障碍性贫血患者血红蛋白 F 表达与 BCL11A 基因 rs11886868 位点单核苷酸多态性的关系[J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20(3): 650-653.

(收稿日期: 2015-01-18)

肾损伤标志物胱抑素 C, 填补肾病早期诊断空白

日前, 在上海举办的罗氏诊断全国生化学术交流暨糖化血红蛋白一致性会议上, 与会专家深入探讨了生物标志物——胱抑素 C 在慢性肾病(CKD)临床管理方面的意义, 以及胱抑素 C 检测在确立肾功能检查新标准方面的重要价值。

目前临床肾脏疾病检测最常用的肾小球滤过率(GFR)检测指标为血肌酐, 但灵敏度不高。仅通过肌酐检测计算出的 eGFR 灵敏度、准确性有限, 尤其在 CKD 早期不能有效反映 GFR 下降情况。

上海交通大学附属第一人民医院肾内科袁伟杰教授表示: “胱抑素 C(Cys C)无肾小管分泌, 其血清浓度主要由 GFR 决定, 在人体中的水平不易受肌肉质量和炎症影响, 也无关性别和人种。相比肌酐, 胱抑素 C 是更为灵敏和具特异性的慢性肾病早期检测标志物。”胱抑素 C 有助于 CKD 早期检测, 帮助推迟 CKD 恶化。此外, 对于糖尿病患者, 尤其是 2 型糖尿病患者, 定期检测胱抑素 C 可以动态观察病情的发展, 防止其发展为糖尿病肾病。一项心血管健康研究发现, 胱抑素 C 可以预测全因死亡率和心血管死亡率, 从而降低心血管疾病患者发展为心肾综合征的风险。

2010 年 06 月, 国际临床化学与检验医学联合会 IFCC 胱抑素 C 标准化工作小组, 成功开发出一种国际性通用的胱抑素 C-校准品 ERM-DA471/IFCC, 并与大型诊断公司合作, 制定出一项基于胱抑素 C 全球通用的 GFR 预测方程式。随后, 更多研究证实, 在现有的 GFR 公式计算中加入胱抑素 C 可显著提高检测的灵敏度和特异性, 通过胱抑素 C 单独或与肌酐联合计算 eGFR 值可更准确预测风险。此外, 胱抑素 C 可识别并提示并发症高危的 CKD 患者。

罗氏诊断 Tina-quant® 胱抑素 C 第二代试剂与 IFCC 共同开发 eGFR 计算公式, 带给临床可靠 eGFR 结果, 不受到年龄、炎症、肌肉质量的影响, 采用乳胶增强技术, 检测结果更准确。仅需 2 ml 样本量, 具有高分析灵敏度和低检测限, 能在低浓度下得到高精密度, 并可追溯至 ERM-DA471/IFCC 参照品, 能为广大肾脏病患者提供更精确、可靠的检测结果, 在患者疗效和治疗上带来显著差异, 帮助改善生存质量。