

论著 · 临床研究

Hb、MCV、MCH 在腾冲汉族地贫筛查中的临床应用价值*

李 冬¹, 李开龙¹, 易浩安², 李 宏², 江伟阳², 何永蜀^{2△}

(1. 腾冲市人民医院检验科, 云南腾冲 679100; 2. 昆明医科大学细胞生物学与医学遗传学系, 云南昆明 650500)

摘 要:目的 探讨血液学参数血红蛋白浓度(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白含量(MCH)在腾冲市汉族人群缺失型 α -地中海贫血和常见突变型 β -地中海贫血筛查中的临床应用价值, 研究临床初筛方案。**方法** 随机选择 2017 年 12 月在腾冲市人民医院检验科进行常规体检的 500 例汉族受试者进行血常规检测, 通过基因诊断确诊为常见的缺失型 α -地中海贫血和突变型 β -地中海贫血, 比较 Hb、MCV、MCH 单项及联合检测对地中海贫血筛查的灵敏度和特异度, 探讨其临床应用价值, 制定适合当地人群的临床筛查截断值。**结果** 腾冲市汉族中最常见的 α -和 β -地中海贫血分别为 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 和异常血红蛋白 E(HbE), 血液学参数 MCH、MCV 分别为筛查 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 及 HbE 筛查最具价值的指标。**结论** 血液学参数 Hb、MCV、MCH 对腾冲市汉族人群上述 2 种常见地中海贫血的筛查有临床应用价值。

关键词:地中海贫血; 血红蛋白; 平均红细胞体积; 红细胞平均血红蛋白含量

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2019. 12. 003 **中图法分类号:**R446. 11

文章编号:1673-4130(2019)12-1417-04 **文献标识码:**A

Clinical application value of Hb, MCV and MCH in thalassemia screening in Han ethnicity at Tengchong*

LI Dong¹, LI Kailong¹, YI Haoan², LI Hong², JIANG Weiyang², HE Yongshu^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Tengchong, Tengchong, Yunnan 679100, China; 2. Department of Cell Biology and Medical Genetics, Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650500, China)

Abstract: Objective To explore the clinical effects of hematological characteristics of hemoglobin concentration (Hb), mean corpuscular volume (MCV), and mean corpuscular hemoglobin content (MCH) in screening common deletion α -thalassemia and mutant β -thalassemia in Han ethnicity at Tengchong and study the clinical screening projects. **Methods** A total of 500 subjects of Han ethnicity who underwent routine physical examination in the Department of Clinical Laboratory of the People's Hospital of Tengchong in December 2017 were randomly selected for routine blood test, and the common deleted alpha-thalassemia and mutant beta-thalassemia were diagnosed by gene diagnosis. The sensitivity and specificity of Hb, MCV and MCH for screening thalassemia were compared in order to explore its clinical application value and to establish the cut-off value of clinical screening suitable for local population. **Results** The common genotype of α -thalassemia and β -thalassemia in Han ethnicity in Tengchong city were $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ and abnormal hemoglobin E (HbE) respectively. MCH and MCV analysis were the most valuable indicators for screening $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ and HbE respectively. **Conclusion** Hematological characteristics of Hb, MCV and MCH have application value for screening common deletion α -thalassemia and mutant β -thalassemia in Han ethnicity at Tengchong.

Key words: thalassemia; hemoglobin; mean corpuscular volume; mean corpuscular hemoglobin content

地中海贫血是一种严重威胁人类健康的遗传性血红蛋白病^[1], 多表现为溶血性贫血、代偿性红细胞增多、高铁血红蛋白血症等。其发病机制是由于珠蛋白基因缺失或突变引起的珠蛋白肽链合成障碍或合

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(31760308)。
作者简介: 李冬, 男, 主管技师, 主要从事免疫学研究。 △ 通信作者, E-mail: yongshuhe@hotmail. com。

成不平衡导致的分子病^[2],为单基因遗传。我国南方,特别是广东省、广西省以及云南省,是地中海贫血高发区。人类健康个体正常的血红蛋白由 2 条 α 珠蛋白肽链及 2 条 β 珠蛋白肽链组成^[3],由于某种原因 α 或 β 珠蛋白肽链合成受到部分或完全抑制,肽链合成不平衡而产生地中海贫血^[4]。地中海贫血尚无有效的根治方法,重型 α -地中海贫血胎儿大多数在出生时死亡,而重型 β -地中海贫血患者只能依靠定期输血、除铁治疗和造血干细胞移植而生存^[5]。在地中海贫血高发区对婚育人群进行筛查及产前诊断是防止地中海贫血缺陷儿出生的有效预防手段。基因诊断是地中海贫血确诊的方法,但不适用于常规地中海贫血筛查,血常规参数如血红蛋白浓度(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白含量(MCH)仍是地中海贫血筛查的重要指标,但是血常规参数受多种因素的影响,如海拔、营养状况等。云南省腾冲市地处中缅边境一带,属于地中海贫血的高发区,建立适应本地区地中海贫血的血液学筛查指标对制定疾病的筛查策略十分重要。本研究通过对腾冲市汉族人群血常规参数 Hb、MCV 和 MCH 进行分析,通过基因诊断“金标准”确诊,绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价截断值对地中海贫血筛查结果的影响,建立适合腾冲市汉族人群地中海贫血筛查的方案。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选取 2017 年 12 月到腾冲市人民医院进行体检的健康汉族个体 500 例,相互间无亲缘关系,其中男 323 例,女 177 例,年龄 1~88 岁,平均 40.9 岁,收集乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)无菌真空抗凝血 2 mL。

1.2 方法

1.2.1 血常规检测 用希森美康 sysmex XN 全自动血细胞计数仪和相关配套试剂对血样在 1 h 内行血常规检测,记录 Hb、MCV、MCH。

1.2.2 地中海贫血基因检测 使用罗氏全血 DNA 提取试剂盒提取受试者 DNA。 α -地中海贫血基因采用 GAP-PCR 法确定缺失类型, β -地中海贫血基因采用 NEST-PCR 直接测序确定常见突变型。

1.2.3 腾冲市汉族地中海贫血筛查的 Hb、MCV、MCH 截断值与传统截断值比较 采用 Hb、MCV、MCH 血液学参数筛查 α -地中海贫血和 HbE,通过 ROC 曲线与传统截断值进行比较。筛查方法采用 Hb、MCV 以及 MCH 三者平行联合检测。三者中任意一项低于截断值,即认为具有地中海贫血高风险。

1.3 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,以基

因检测结果为“金标准”,横坐标为 1-特异度,纵坐标为灵敏度,绘制 ROC 曲线,评价 Hb、MCV、MCH 在腾冲市汉族人群筛查地中海贫血的灵敏度及特异度。通过尤登指数建立适合本地区的截断值,再次绘制 ROC 曲线与传统截断值进行比较。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 缺失型 α -地中海贫血检测结果 500 例样本中,检测出 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 患者 21 例, $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 1 例,没有发现其他缺失型 α -地中海贫血。 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 患者的 Hb 水平为 $(139.400 \pm 2.818 \text{ 0}) \text{ g/L}$,MCV 值为 $(84.050 \pm 0.611 \text{ 3}) \text{ fL}$,MCH 值为 $(26.740 \pm 0.203 \text{ 4}) \text{ pg}$,与健康个体血常规参数[Hb: $(152.200 \pm 0.745 \text{ 9}) \text{ g/L}$,MCV: $(92.130 \pm 0.207 \text{ 8}) \text{ fL}$,MCH: $(30.370 \pm 0.081 \text{ 41}) \text{ pg}$]比较, $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 患者的 Hb、MCV、MCH 水平降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 常见突变型 β -地中海贫血检测结果 500 例样本中,检测出异常血红蛋白 E(HbE)患者 24 例,合并 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 1 例,没有发现其他突变型 β 地中海贫血。HbE 患者的 Hb 水平为 $(148.800 \pm 3.501 \text{ 0}) \text{ g/L}$,MCV 值为 $(85.500 \pm 1.359 \text{ 0}) \text{ fL}$,MCH 值为 $(27.970 \pm 0.532 \text{ 4}) \text{ pg}$,与健康个体比较,HbE 患者 MCV、MCH 水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),但 Hb 水平与健康个体组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

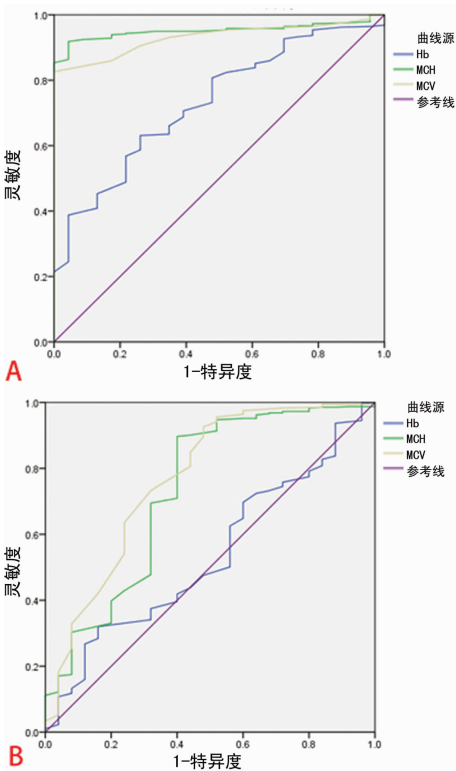


图 1 Hb、MCV、MCH 评价 α -地中海贫血及 HbE ROC 曲线图

2.3 Hb、MCV、MCH 单项检测 ROC 曲线分析 以

GAP-PCR 检测结果为真阳性,绘制的 ROC 曲线显示 Hb、MCV、MCH 曲线下面积依次为 0.731、0.931、0.951。MCH 检测方法曲线下面积最大,表明 MCH 在 3 种检测方法中为检测缺失型 α -地中海贫血的最佳方法。见图 1A。以 NEST-PCR 直接测序 HbE 结果为真阳性,绘制的 ROC 曲线显示 Hb、MCV、MCH 曲线下面积依次为 0.535、0.770、0.734。MCV 检测方法曲线下面积最大,表明 MCV 在 3 种检测方法中为检测 HbE 的最佳方法。见图 1B。

2.4 Hb、MCV、MCH 筛查腾冲市常见地中海贫血的截断值

2.4.1 腾冲市汉族筛查地中海贫血的 Hb、MCV、MCH 截断值 根据 Hb、MCV、MCH 评价 α -地中海贫血与 HbE 的 ROC 曲线结果,通过尤登指数判断适用于腾冲市汉族人群 α -地中海贫血与 HbE 的截断值,见表 1。由于 HbE 未导致血红蛋白含量变化,因此未建立 Hb 筛查 HbE 的截断值。

表 1 ROC 曲线分析建立的腾冲汉族 Hb、MCV、MCH 截断值与传统截断值比较

项目	传统截断值	腾冲汉族截断值	
		$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	HbE
Hb (g/L)	120	147.5	—
MCV(fL)	80	88.5	85.5
MCH(pg)	27	27.95	28.05

注:—表示无数据

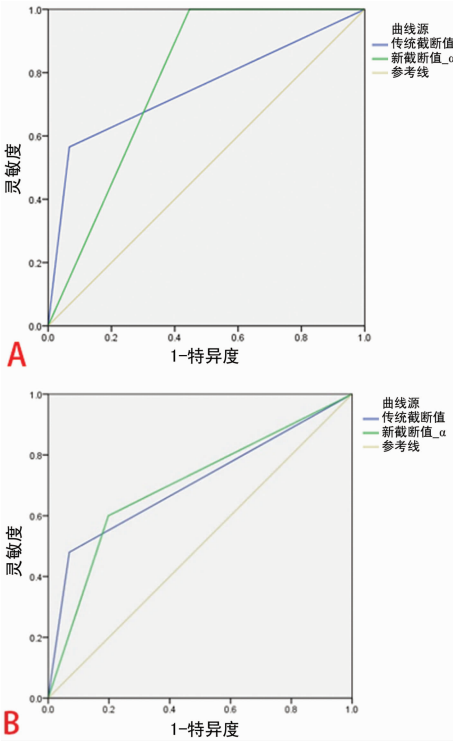


图 2 腾冲汉族 α -地中海贫血与异常血红蛋白 HbE 初筛截断值与传统截断值比较

2.4.2 腾冲市汉族地中海贫血筛查的 Hb、MCV、MCH 截断值与传统截断值比较 以 GAP-PCR 检测缺失型 α -地中海贫血结果为阳性,绘制的 ROC 曲线显示传统截断值与腾冲汉族新建立截断值曲线下面积依次为 0.749、0.777,表明本研究中腾冲市汉族 α -地中海贫血血常规参数截断值筛查效果优于传统截断值,见图 2A。以 NEST-PCR 直接测序检测 HbE 结果为阳性,绘制的 ROC 曲线显示传统截断值与腾冲汉族新建立截断值曲线下的面积依次为 0.705、0.701。表明笔者建立的截断值在筛查 HbE 中未表现出比传统截断值更好的效果,见图 2B。

3 讨论

中缅边境一带是历史和现今的疟疾高发区^[6],疟疾选择压力使人类血红蛋白基因发生改变,导致地中海贫血的高发病率^[7],腾冲地处中缅边境地区,是地中海贫血的高发区,以汉族人口居多,同时,云南少数民族较多,与多个东南亚国家接壤,少数民族亦有跨境民族,导致了云南省可能出现特殊的珠蛋白突变型。根据肽链合成障碍的不同,一般将地中海贫血分为 α 、 β 、 $\delta\alpha$ 、 $\delta\beta$ 4 种类型,其中以 α -、 β -地中海贫血最为常见^[8]。血红蛋白异常使患者体内携带和输送氧气的能力下降,因而表现出一定的贫血症状。中重型的地中海贫血患者有临床症状,轻型地中海贫血携带者无明显临床症状,但将严重危害下一代的身体健康^[9]。基因诊断是检测地中海贫血基因携带者的有效方法^[10],但基因诊断由于条件限制,不适用于大规模筛查,因此建立适应特定地区的地中海贫血的血液学初筛指标是完全必要的。本研究结果显示, $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 和 HbE 是腾冲市最为常见的地中海贫血,这 2 种都属轻型地中海贫血,患者不会表现出明显的临床症状,但将遗传给后代,笔者针对腾冲市这 2 种地中海贫血基因型建立适合该地区的血液学参数初筛截断值。

典型的地中海贫血表现为小细胞低色素性贫血,血液学参数表现为 Hb、MCV、MCH 下降,这 3 种参数被作为人群地中海贫血初筛的主要指标^[11],但 Hb、MCV、MCH 受到多种因素的影响,各地区应该根据当地的情况以及实验室状态建立自身的筛查截断值。笔者发现腾冲市 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 能够显著降低携带者 Hb、MCV 以及 MCH 水平,但是 HbE 在降低 MCV、MCH 水平的同时,并不能降低 Hb 水平,这提示 HbE 仅仅导致了血红蛋白功能的异常。HbE 在云南省有着较高的发病率,它与其他地中海贫血基因共存时,可表现出复杂的临床症状^[12-13]。笔者通过 ROC 曲线分析 Hb、MCV、MCH 对腾冲市 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 和 HbE 的筛查价值,结果发现 MCH 为筛查 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 的最佳检测

指标, MCV 为 HbE 的最佳检测指标, 无论是筛查 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 还是 HbE, Hb 是 3 种检测指标中最不理想的指标。根据 ROC 曲线的分析结果及尤登指数计算, 笔者得到了适用于腾冲市最为常见的 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 和 HbE 的血液学参数初筛截断值: Hb 147.5 g/L, MCV 88.5 fL、MCH 27.95 pg, 与传统截断值比较, 笔者得到的 MCV、MCH 截断值与传统截断值相差不大, 但 Hb 高于传统截断值, 这是因为 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 是一种症状轻微的地中海贫血, 表明传统 Hb 截断值针对腾冲市汉族 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 的筛查有较高的漏诊率, 而本研究建立的截断值在该地区筛查 α -地中海贫血的效果优于传统截断值。

高效液相色谱分析^[14]以及毛细管电泳^[15]在地中海贫血产前筛查方面表现出了良好的临床应用价值, 但对于普通人群的地中海贫血筛查普及得还不够广泛。与地中海贫血初筛的常规血液学参数比较, 笔者建立了适合腾冲市汉族人群 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 的截断值, 低于此截断值的人群, 笔者建议进行进一步的检测, 降低腾冲市汉族人群 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 的漏诊率。因此, 在今后的地中海贫血预防工作中, 可以以本研究的截断值对 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 进行筛查, 提高当地 α -地中海贫血筛查的特异度和灵敏度。

地中海贫血多流行于我国的南方地区, 云南省是全国发病率最高的地区之一^[16]。基因突变类型具有明显的种族特征和地域差异。地中海贫血的流行严重影响了当地的人口素质^[17], 地中海贫血作为单基因病, 明确诊断后便于及时采取干预及预防措施, 减少缺陷儿出生, 因此建立适合各地血红蛋白特征的血液学筛查参考截断值非常重要。

4 结 论

笔者通过血常规参数 Hb、MCV、MCH 对腾冲市汉族人群地中海贫血进行初筛, 发现 MCH 是筛查 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、MCV 是筛查 HbE 最具临床价值的指标, 并建立了适用于腾冲地区汉族人群 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 筛查的截断值, 根据初筛结果可进行基因检测, 对防控腾冲市汉族人群地中海贫血的发生具有临床应用价值。

参考文献

[1] MODELL B. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators[J]. Bull World Health Organ, 2008, 86(6): 480-487.
[2] BRANCALEONI V, DI PIERRO E, MOTTA I, et al. Laboratory diagnosis of thalassemia[J]. Int J Lab Hematol,

2016, 38(Suppl 1): 32-40.
[3] MURALIDHARAN M, DAS R, BHAT V, et al. Analysis of quaternary structure of Hb Beckman variant and molecular interpretation of its functional Abnormality: A mass spectrometry based approach [J]. Chembiochem, 2018, 19(6): 633-640.
[4] METTANANDA S, GIBBONS R J, HIGGS D R. alpha-Globin as a molecular target in the treatment of beta-thalassemia[J]. Blood, 2015, 125(24): 3694-3701.
[5] 胡俊杰, 陈鑫苹, 符生苗. 干细胞治疗地中海贫血: 现状及未来[J]. 中国组织工程研究, 2018, 21(21): 3431-3437.
[6] ZHOU G, SUN L, XIA R, et al. Clinical malaria along the China-Myanmar border, Yunnan Province, China, January 2011-August 2012 [J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20(4): 675-678.
[7] DENG Z, LI Q, YI H, et al. Hemoglobin E protects against acute Plasmodium vivax infections in a Kachin population at the China-Myanmar border[J]. J Infect, 2018, 77(5): 435-439.
[8] MARTIN A, THOMPSON A A. Thalassemias[J]. Pediatr Clin North Am, 2013, 60(6): 1383-1391.
[9] 何文, 王晓东, 余海燕. 妊娠合并地中海贫血研究现状[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2017, 12(1): 14-19.
[10] 付月, 刘文君. 地中海贫血实验室诊断研究进展[J]. 中国实验血液学杂志, 2018, 25(2): 631-636.
[11] 欧阳福连. 血常规初步筛查地中海贫血的研究[J]. 岭南急诊医学杂志, 2009, 13(4): 302-303.
[12] HE J, ZENG X, ZHANG Y, et al. Prevalence of hemoglobin E in Yunnan Province of Southwest China[J]. Hematology, 2016, 21(1): 54-59.
[13] FUCHAROEN S, WEATHEALL D J. The hemoglobin E thalassemias[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2012, 2(8): a011734.
[14] 毛良英. 高效液相色谱分析血红蛋白组分和血常规分析在地中海贫血筛查中的应用[J]. 检验医学与临床, 2014, 14(z2): 108-109.
[15] 郭浩, 郭莉, 唐斌, 等. 毛细管电泳在产前诊断地中海贫血中的应用[J]. 现代医院, 2015, 13(6): 20-21.
[16] 杨阳, 张杰. 中国南方地区地中海贫血研究进展[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 24(1): 276-280.
[17] 王志剑, 邓之敏, 邝永辉. 地中海贫血基因诊断在优生优育中的应用[J]. 北京医学, 2014, 49(7): 572-574.

(收稿日期: 2018-11-20 修回日期: 2019-02-16)