

预测,建立重庆主城区合理科学高效的长期供应规划以满足临床用血需求。

参考文献

[1] 马相宜,王志成. 血小板储存损伤研究进展[J]. 临床输血与检验,2018,20(2):216-220.

[2] 袁文声,易峰,何锐洪,等. 机采血小板在贮存过程中的形态和生化标志物动态改变[J]. 检验医学与临床,2016,13(10):1401-1403.

[3] 王四景,郑岩. 机采血小板有效库存管理初探[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2014,27(10):890-891.

[4] 张会洲,李巨性,李芳莉. 春节备血与血液库存调整的临床应用[J]. 临床输血与检验,2014,16(2):203-204.

[5] 于良. 天津市血液中心库存血量和临床用血量情况分析 & 思考[J]. 中国输血杂志,2014,27(11):1178-1180.

[6] 张美婷,徐丽娟,卓海龙,等. 机采血小板预约和库存管理机制初探[J]. 中国输血杂志,2018,31(6):674-676.

[7] 陈琦,袁明超,陆华新,等. 血站血液库存管理现状研究[J]. 临床血液学杂志(输血与检验版),2013,26(1):132-134.

[8] 徐红,黄凯,施宏. 宁波市血液管理信息系统的建设与市

• 短篇论著 •

级平台特色[J]. 中国输血杂志,2016,29(9):1066-1068.

[9] 李军,何涛,田耘博. 微信公众平台预约捐献单采血小板的应用研究[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2018,31(1):153-154.

[10] 赵冬梅,王云强,李红丽,等. 互联网+成分献血招募与预约的应用效果分析[J]. 临床输血与检验,2018,20(3):250-252.

[11] 张艳艳,朱为刚,孙革,等. 捐献机采血小板预约新模式的建立与应用研究[J]. 实验与检验医学,2015(6):727-729.

[12] 李貌,邵杨雅琦,李军. 重庆主城区建立单采血小板预约献血模式的探索[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(24):3500-3501.

[13] 李军,陆珂. 预约献血模式对单采血小板库存动态平衡调控的研究[J]. 临床输血与检验,2017,19(6):561-563.

[14] 杨冬燕,成晓娇,段恒英,等. 重庆市采供血工作现状分析及对策研究[J]. 中国输血杂志,2016,29(9):962-966.

[15] 李洁,樊晶,张利祥. "10S"管理在血液库存质量管理中的优势探讨[J]. 中国输血杂志,2018,31(2):212-214.

(收稿日期:2018-12-26 修回日期:2019-03-27)

两例 β -地中海贫血病例中罕见 HBB 基因突变的鉴定*

郭薇霞¹,唐 健^{2#},何建萍²,罗胜军²,黄 锐¹,林克勤¹,褚嘉祐¹,杨昭庆^{1△}

(1. 中国医学科学院 & 北京协和医学院医学生物学研究所医学遗传学研究室,云南昆明 650118;
2. 昆明市妇幼保健院遗传室,云南昆明 650031)

摘 要:目的 明确 2 例疑似 β -地中海贫血病例的珠蛋白基因突变,探讨基因型与血液学表型的关系。方法 采用血细胞常规检测和血红蛋白电泳进行血液学表型分析,用 PCR-反向点杂交法检测常见的 α -地中海贫血和 β -地中海贫血基因突变,应用 PCR-DNA 测序技术对 β 珠蛋白基因(HBB)进行测序,检测基因突变类型。结果 2 例无亲缘关系的汉族病例血液学检测结果呈现轻型 β -地中海贫血样表型,但未检测到常见的 α -和 β -地中海贫血基因突变;DNA 测序发现 2 个病例均为 HBB 基因 Codon5(-CT)碱基缺失性突变(血红蛋白变异数据库 HGVS 命名为:HBB:c.17_18delCT,为 β^0 突变)的杂合子。结论 罕见 β^0 突变 Codon5(-CT)的杂合子携带者即可产生轻度贫血,联合运用血液学、血红蛋白电泳和基因检测是检出罕见地中海贫血基因突变的有效方法,在地中海贫血高发区有助于降低罕见致病突变的漏检率和减少重症患儿的出生。

关键词: β -地中海贫血; 罕见突变; 基因检测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.12.027 中图法分类号:Q343.1+3;R556

文章编号:1673-4130(2019)12-1517-04 文献标识码:B

β -地中海贫血是由 β 珠蛋白基因突变导致 β 珠蛋白肽链合成速率降低或缺如所引起的血红蛋白病,呈常染色体单基因隐性遗传^[1]。 β -地中海贫血在中国人群中的分布以南方为主,其中广西、广东、海南和云南等地区是高发地区,发病率高达 7%~20%以上^[2-3]。 β -地中海贫血主要有 2 类,完全不能合成 β 链的称为 β^0 地中海贫血,能部分合成 β 链称为 β^+ 地中海贫血。其临床表现与基因突变类型相关,其中杂合子携带者

* 基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFC1201704);云南省科技计划项目(2016FA048)。

并列第一作者。 △ 通信作者,E-mail:zyang@imbcams.com.cn。

本文引用格式:郭薇霞,唐健,何建萍,等. 两例 β -地中海贫血病例中罕见 HBB 基因突变的鉴定[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(12):1517-1520.

常表现为轻度小细胞低色素贫血或无明显临床症状，而 β^0 地中海贫血纯合子以及一些 β^0/β^+ 复合杂合子会产生中到重度的溶血性贫血症状，需通过长期输血和祛铁治疗维持生命^[4]。因此开展地中海贫血孕前、产前筛查对减少重型地中海贫血患儿的出生具有重要意义。目前我国临床检验上采用反向点杂交法检测 β -地中海贫血基因主要针对常见的 17 种突变类型，不能检测到罕见的突变类型，具有一定局限性。近年来，一些罕见突变陆续被报道和发现^[5-7]，但目前对罕见地中海贫血突变的类型、分布和检测策略仍然缺乏了解，临床诊治中对其基因型与表型的关系和临床病理意义也缺乏认知。因此本研究报道了 2 例罕见型 β^0 突变 Codon5(-CT)，并对基因型和表型进行了分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2 例患者均为女性，汉族，年龄分别为 24 岁和 36 岁，云南省昆明籍贯。二者之间无血缘关系，于云南省昆明市妇幼保健院进行产前地中海贫血筛查时发现疑似地中海贫血。根据知情同意原则获取患者乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝外周静脉血 2~3 mL。

1.2 方法

1.2.1 血液学检查 采用血细胞分析仪 sysmex XT-2000i(日本)及配套试剂检测患者外周静脉血红细胞血红蛋白含量(HBG)、平均红细胞体积(MCV)和平均血红蛋白含量(MCH)等血常规检测指标。血红蛋白电泳及定量分析采用欧洲 Helena V8 全自动等电聚焦毛细管电泳仪和配套试剂进行检测。

1.2.2 常见地中海贫血突变基因检测 采用 Axy-gen 公司(杭州)的 AxyPrep 血基因组 DNA 小量制备

试剂盒从外周静脉血样中分离基因组 DNA。采用基于 PCR-反向点杂交法的地中海贫血基因检测试剂盒(亚能生物技术公司,中国深圳))检测 23 种见中国人常见的 α -和 β -地中海贫血基因型(SEA、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ 、 $\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$ 、 $\alpha^{WS}\alpha$ 、41-42M、654M、-28M、71-72M、17M、 β EM、IVS-I-1M、IVS-I-5M、27/28M、43M、-29M、-30M、31M、-32M、14-15M、IntM 和 CAPM)。

1.2.3 β 珠蛋白基因测序 引物序列参考文献[8]，由昆明硕擎生物技术有限公司合成，扩增包括转录启动子序列及 3 个外显子在内 β 珠蛋白基因序列，共 1 973 bp。PCR 扩增采用大连宝生物公司的 TaKaRa LA Taq 酶，扩增体系为 30 μ L：每一反应体系含 10 $\times$ Mix Buffer 3 μ L、dNTP 3 μ L、上下游引物各 0.3 μ L、LA Taq 0.3 μ L、H₂O 20 μ L、DNA 模板含量约 100 ng。使用美国 ABI 公司的 9700PCR 扩增仪，反应条件为：94 $^{\circ}$ C 4 min，94 $^{\circ}$ C 45 s，64 $^{\circ}$ C 40 s，72 $^{\circ}$ C 90 s，共 35 个循环，72 $^{\circ}$ C 延伸 20 min。纯化 PCR 产物后，送昆明硕擎生物技术有限公司进行测序。

2 结 果

2.1 血液学检查结果 2 例患者的血常规和血红蛋白电泳检测结果见表 1，MCV、MCH 降低，均为明显的小细胞低色素，血红蛋白结果显示 2 例患者为轻度贫血。血红蛋白电泳结果显示 2 例患者 HbA₂ 水平异常升高，提示 β -地中海贫血。

2.2 基因型检测结果 二者均未检出中国人中常见的 α 、 β -地中海贫血基因突变。 β 珠蛋白基因测序结果发现 2 例患者均有 Codon 5(-CT) β^0 杂合突变，国际命名法(HGVS name)：HBB:c. 17_18delCT，部分测序结果见图 1。其中患者 B 还检出 HBB 基因多态性 HBB:c. 9T>C，CD2 His>His，为同义突变。

表 1 患者 A、B 基因型与血液学表型

患者	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	HbA(%)	HbA2(%)	HbF(%)	突变位置(国际命名法)
参考值	115~150	82~95	26~32	>94.5	2.0~3.5	<2	
A	104	74.6	22	92.69	5.48	1.83	HBB:c. 17_18delCT
B	113	72.1	21.9	91.32	5.65	3.03	HBB:c. 17_18delCT

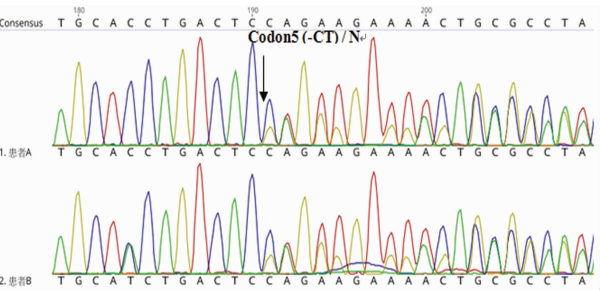


图 1 患者 A 和患者 B β 珠蛋白基因测序结果图

3 讨 论

β -地中海贫血具有较大的遗传异质性，存在地域和民族分布差异^[9]。目前世界上已报道 800 多种 β 基因突变类型，我国发现的超过了 60 种，常见的突变类型有 -28M、17M、41-42M、71-72M、654M，这 5 种突变占我国 β -珠蛋白基因突变的 90% 以上^[10]。而云南分布最多、报道较多的是 17M、41-42M、 β^E M 突变^[11]。本研究联合运用血液学检查、常见地中海贫血基因检测和 HBB 基因测序，在云南昆明地区鉴定出 2 例罕

见 Codon 5(-CT) β 0 杂合突变,进一步扩展了云南人群中的地中海贫血突变谱。

罕见型 β 0 地中海贫血-5(-CT)是由于 β 珠蛋白基因第 5 位密码子 CCT 缺失了 CT 2 个碱基,产生移码突变,使得 β 链的合成在第 21 位密码子就提前终止,完全不能合成 β 链。这一突变首次在一希腊患者中被报道^[12],随后国外多个人种中都有报道^[13-14]。根据人类血红蛋白变异体数据库 HbVar(<http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>)显示,这一突变在英国人中的分布最高,达到了 8.7%。而我国仅有检出 1 例的报道,目前缺少在群体中的分布频率。^[15],本研究这是第 2 次报道。由于本研究和之前的报道都是在云南人群中检出这一突变,国内其他地区尚未见报道,这是否说明该突变的分布和频率存在明显的地域差异,还有待于进一步研究。

国外研究显示这一突变表现为小细胞低色素轻度贫血^[4],而我国目前仍然缺乏该突变的临床信息。本研究中这 2 例患者为 β 0 地中海贫血-5(-CT)杂合子,二者都呈现明显的小细胞低色素轻度贫血,血红蛋白电泳结果 HbA2 增高,临床表现为轻型地中海贫血,这与国外研究相一致。尽管该突变杂合子不产生严重的临床表现,也无需接受治疗,但是由于云南是地中海贫血和异常血红蛋白病高发区,罕见突变携带者与常见地中海贫血突变携带者婚配后,有可能生下复合杂合子患儿,产生严重的临床表型。已有文献报道, β 0 地中海贫血-5(-CT)合并 β +IVS-I-5 (G>A)则产生重型地中海贫血表现,需要长期输血治疗^[12]。因此,有必要对罕见突变进行鉴定,从而进一步研究其人群发生率和临床危害性。

根据患者血液学表型,这 2 例患者疑似为 β -地中海贫血携带者,而通过地中海贫血常规基因检测并未检出我国常见的 17 种 β 基因突变类型。因此推测这 2 例患者可能存在非中国人常见的 17 种突变位点之外的突变,随后通过对 HBB 基因进行测序验证,从而成功检出这 2 例罕见突变。由此可见,目前的常规地中海贫血检测试剂盒往往会造成罕见突变的漏检,因此在临床检验中,应严格遵循血液学表型与基因型相结合的原则,当血液学表型与地中海贫血基因型不符合时,应该考虑珠蛋白基因测序的方法,以明确是否存在罕见或新发的地中海贫血突变类型,避免漏诊。

本研究报道了 2 例罕见型 β 0 地中海贫血-5(-CT),进一步扩展了云南 β 珠蛋白基因突变谱。通过基因型和表型探讨, β 0 地中海贫血-5(-CT)杂合子表现为轻型地中海贫血。由于云南是地中海贫血高发区,为了避免复合杂合子的产生,联合运用血液学、

血红蛋白电泳、常规地中海贫血基因检测以及基因测序等,有利于明确患者基因型,更好地指导临床诊治、产前诊断和遗传咨询。

参考文献

- [1] DE SANCTIS V, KATTAMIS C, CANATAN DURAN, et al. β -Thalassemia distribution in the Old World: an ancient disease Seen from a historical standpoint[J]. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2017, 9(1): e2017018.
- [2] 李颖, 何益春, 杜芳, 等. 长期生存的重型 β 地中海贫血 1 例报道并文献回顾[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(18): 2840-2842.
- [3] YIN A, LI B, LUO M, et al. The prevalence and molecular spectrum of α - and β -globin gene mutations in 14, 332 families of Guangdong Province, China[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89855.
- [4] SHAH P S, SHAH N D, RAY H S, et al. Mutation analysis of β -thalassemia in East-Western Indian population: a recent molecular approach[J]. Appl Clin Genet, 2017, 10(3): 27-35.
- [5] 李育敏, 李俭, 熊丹, 等. 一罕见 β 地贫基因 CD37(TGG $\rightarrow$ TAG)突变复合 α 地贫家系的分子遗传学特征[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(5): 359-361.
- [6] 唐斌, 秦丹卿, 王继成, 等. 1 种罕见型 β -地中海贫血的检出: beta nt 1585 A>G[J]. 临床血液学杂志, 2016, 29(1): 67-68.
- [7] 张玲, 曾征宇, 胡朝晖, 等. 1 例少见型 β 珠蛋白生成障碍性贫血-90 位点突变病例报告[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(17): 2450-2452.
- [8] 葛世军. 不稳定血红蛋白 Hb Rush 的血液学表型和基因型分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2017, 1(34): 15-20.
- [9] LAI K T, HUANG G F, SU L, et al. The prevalence of thalassemia in mainland China: evidence from epidemiological surveys[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 920.
- [10] 陈汉彪, 尹爱华, 张彦, 等. 高分辨率熔解曲线法检测中国 5 种常见 β -地中海贫血突变 [J]. 热带医学杂志, 2013, 13(5): 602-605.
- [10] 陈汉彪, 尹爱华, 张彦, 等. 高分辨率熔解曲线法检测中国 5 种常见 β -地中海贫血突变[J]. 热带医学杂志, 2013, 13(5): 602-605.
- [11] ZHANG J, HE J, ZENG X H, et al. Genetic heterogeneity of the β -globin gene in various geographic populations of Yunnan in southwestern China[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0122956.
- [12] KOLLIA P, GONZALEZ-REDONDO J M, STOMING T A, et al. Frameshift codon 5 [Fsc-5 (-CT)] thalassemia: a novel mutation detected in a Greek patient[J]. Hemoglobin, 1989, 13(6): 597-604.
- [13] EL-SHANSHORY M, HAGAG AA, SHEBL S, et al. Spectrum of beta globin gene mutations in Egyptian chil-

dren with β -Thalassemia[J]. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2014, 6(1):e2014071.

[14] KHAN N M, REHMAN S U, SHAKEEL M, et al. Molecular characterization of β -Thalassemia mutations via the amplification refractory mutation System-Polymerase chain reaction method at the North waziristan agency, Pakistan[J]. Hemoglobin, 2018, 42(2):91-95.

[15] ZHANG J, HE J, MAO X, et al. Haematological and electrophoretic characterisation of β -thalassaemia in Yunnan province of Southwestern China[J]. BMJ Open, 2017, 7(1):e013367.

(收稿日期:2018-11-16 修回日期:2019-02-19)

• 短篇论著 •

定量 CT 与血清骨钙素水平联合诊断老年女性骨质疏松的临床价值分析

刘江¹, 陆加寿¹, 马凌川², 彭新虹³

(1. 云南省文山州人民医院内分泌科, 云南文山 663000; 2 云南省文山州人民医院影像科, 云南文山 663000; 3 云南省文山州妇幼保健卫生计生服务中心妇科, 云南文山 663000)

摘要:目的 探讨定量 CT 与血清骨钙素水平联合诊断老年女性骨质疏松的临床价值。方法 选取云南省文山州人民医院收治的 90 例老年女性疑似骨质疏松患者, 所有患者均采用定量 CT 增强扫描, 并抽取外周血检测血清骨钙素水平, 并对定量 CT、血清骨钙素以及二者联合检测结果与“金标准”诊断进行对比, 分析二者的临床诊断价值。结果 “金标准”为世界卫生组织(WHO)制定的骨质疏松诊断标准, T 值 ≤ -2.5 SD 为骨质疏松, 90 例疑似骨质疏松患者中有 74 例为骨质疏松患者, 16 例非骨质疏松患者。CT 诊断为阳性 60 例(66.67%), 阴性 30 例(33.33%), 其中“金标准”证实 54 例为骨质疏松患者, 10 例为非骨质疏松患者。骨钙素水平诊断为阳性 56 例(62.22%), 阴性 34 例(37.78%), 其中“金标准”证实 50 例为骨质疏松患者, 10 例为非骨质疏松患者。CT 及血清骨钙素水平联合检测, 诊断阳性 64 例, 阴性 28 例, “金标准”证实 58 例为骨质疏松患者, 22 例为非骨质疏松患者。CT 和骨钙素联合检测的灵敏度为 90.63%, 高于 CT 单独检测的 72.97% 以及骨钙素单独检测的 67.57%, 差异均具有统计学意义($\chi^2=35.6028, 52.6464, P<0.05$); 联合检测特异度为 83.33%, 均高于 CT、骨钙素单独检测($\chi^2=3.8843, 3.8843, P<0.05$); 联合检测的符合率为 88.89%, 均高于 CT、骨钙素单独检测($\chi^2=58.1818, 81.8182, P<0.05$); 联合检测的 Kappa 值为 0.783, 均高于 CT、骨钙素单独检测($\chi^2=11.3764, 13.5664, P<0.05$)。结论 定量 CT 与血清骨钙素水平联合诊断老年女性骨质疏松的灵敏度及特异度均较高, 具有较高的可行性, 临床诊断价值较高, 值得推广应用。

关键词:骨质疏松; 老年女性患者; 定量 CT; 血清骨钙素水平; 临床价值

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.12.028 **中图法分类号:**R446.11

文章编号:1673-4130(2019)12-1520-04 **文献标识码:**B

骨质疏松是以骨强度降低、骨脆性升高为特征的全身性骨骼疾病, 骨质疏松患者的骨量较低, 骨组织微结构发生损坏, 易导致骨折^[1]。随着我国人口寿命的不断延长, 老龄化问题不断加剧, 25%~70% 的老年患者患有骨质疏松症, 且由于老年女性本身体内的雌激素水平降低, 对骨代谢的影响较大, 老年女性已成为骨质疏松症的高发人群, 该病对患者的日常生活造成较大的困扰, 因此, 做好对骨质疏松的筛查工作具有重要临床意义^[2-3]。如果只应用定量 CT 及超声等影像学检查并不能满足确诊所需要的特异性, 而血清骨钙素水平是反映骨量的有效指标之一。骨钙素由成骨细胞合成后进入血液中, 血中骨钙素的水平能

够反映成骨细胞的活性, 血清中骨钙素水平是骨转换及骨形成的特殊标志, 在骨质疏松的诊断中发挥着重要意义^[4]。关于定量 CT 及骨钙素水平联合检测在老年女性骨质疏松症患者诊断中的应用, 这方面的研究甚少, 本研究通过对 90 例老年女性疑似骨质疏松症患者进行了定量 CT 及骨钙素水平联合检测, 取得较满意的结果, 现对本研究作报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月至 2018 年 1 月间云南省文山州人民医院收治的 90 例老年女性疑似骨质疏松症患者作为研究对象, 年龄 58~75 岁, 平均(63.5 $\pm$ 6.6)岁。纳入标准: (1) 所有患者均为女性;