

324-326.

[10] 张艳梅,孟毓,姜燕娟,等. 抗-HCV ELISA 间接法与双抗原夹心法试剂的应用对比评价[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2016,29(4):628-630.

[11] 刘保林,林海玉,黄国永,等. 双抗原夹心 ELISA 法检测 HCV 抗体在无偿献血中的应用讨论[J]. 北京医学,2013,35(11):968-971.

[12] 朱阳泉,徐长根,戴瑞娣,等. 影响 FAME 全自动酶免分析系统检测因素探讨[J]. 临床输血与检验,2004,6(4):254-256.

[13] 张军,刘玉强. STAR 超细加样尖在抗-HCV ELISA 检测中的应用[J]. 临床输血与检验,2013,15(1):56-57.

[14] 周学勇,程卫芳,张浩,等. 不同试剂对献血者 HCV 感染性标志物的检测情况比较[J]. 临床输血与检验,2015,17(4):317-319.

[15] 郭燕,叶世辉,蔡斌,等. 无偿献血者 HCV RNA 与抗-HCV 及 ALT 检测结果的相关性[J]. 临床输血与检验,2016,18(5):461-464.

(收稿日期:2019-08-18 修回日期:2020-02-25)

• 短篇论著 •

深圳地区血红蛋白 E 的血液学特征调查^{*}

阚丽娟,蔡钦泉,覃俊龙,陈亚琼,张丽军,莫云均,李悦,张秀明,李育敏[△]
(广东省深圳市罗湖区人民医院医学检验科,广东深圳 518001)

摘要:目的 研究血红蛋白 E(HbE)的血液学表型与基因型的关系。方法 收集该院 2016 年 6 月至 2019 年 5 月的 72 397 例毛细血管电泳筛查样本,对筛查出 HbE 的样本采用跨越断裂点聚合酶链反应(Gap-PCR)法及 PCR 结合反向点杂交(PCR-RDB)法进行珠蛋白生成障碍性贫血(以下简称地贫)基因分型鉴定,并分析其红细胞参数。结果 检出 HbE 共 76 例,发生率为 0.105%。成年男性单纯 HbE 杂合子的血红蛋白含量(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、HbE 和血红蛋白 A₂(HbA₂)分别为(148.0±10.0)g/L、(76.3±3.6)fL、(25.5±1.2)pg、(24.7±0.9)%和(3.5±0.3)%,成年女性分别为(118.0±10.0)g/L、(76.3±4.3)fL、(25.4±1.7)pg、(24.8±1.4)%和(3.5±0.3)%,儿童分别为(117.0±5.8)g/L、(69.3±2.3)fL、(23.0±0.6)pg、(23.4±0.8)%和(3.7±0.2)%。有 2 例 HbE 复合 α 地贫,其中 HbE 复合 α^{ws} 杂合子 1 例(上述血液学参数分别为 152 g/L、74.9 fL、23.7 pg、23.1%和 3.6%),HbE 复合-α^{3.7} 纯合子 1 例(上述血液学参数分别为 111 g/L、66.5 fL、21.4 pg、15.8%和 4.1%)。检出 HbE 复合 G^γ+(A^{γδβ})⁰ 1 例(上述血液学参数分别为 120 g/L、57.0 fL、19.4 pg、43.4%、2.5%),其血红蛋白 F(HbF)为 54.1%。新生儿 HbE 杂合子毛细血管电泳分析表现为血红蛋白 A(HbA)(7.5±1.5)%、HbF(90.2±2.0)%和 HbE(2.6±0.7)%。结论 深圳地区 HbE 以杂合子常见,临床需重视其表型与基因型的规律,以进行产前筛查和遗传咨询。

关键词:血红蛋白 E; 珠蛋白生成障碍性贫血; 表型; 基因型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.14.026

中图法分类号:R556.7

文章编号:1673-4130(2020)14-1762-03

文献标识码:B

血红蛋白疾病分为异常血红蛋白病和珠蛋白生成障碍性贫血(以下简称地贫)两大类,前者是由于珠蛋白基因缺陷导致血红蛋白结构改变所致,后者则是由血红蛋白含量(Hb)改变引起^[1]。血红蛋白 E(HbE)是我国南方地区最常见的异常血红蛋白之一^[2-4],其分子基础为 β 珠蛋白基因第 26 位密码子发生点突变(GAG→AAG),导致 β 珠蛋白链该位点赖氨酸取代谷氨酸,从而产生结构变异的 HbE。由于该密码子靠近外显子与内含子的拼接部位,发生碱基替换后激活了邻近的隐蔽切接点,造成 mRNA 前体加工障碍,导致 β 珠蛋白基因表达减少,因此在功能上属于 β⁺ 地贫。不同性别及年龄段血液学指标参数存

在差异,本研究按年龄段分别分析成人、儿童及新生儿 HbE 的血液学特征,并按性别分类统计成人 HbE 的血液学参数,为 HbE 病和 β 地贫的筛查提供系统、详细的临床血液学表型参考资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 6 月至 2019 年 5 月本院门诊和住院进行血红蛋白检测的受试者为调查对象。本研究受试者共 72 397 例。采集 EDTA-K₂ 抗凝外周静脉全血 2 mL,2~8℃ 保存,用于红细胞参数和血红蛋白电泳分析,以及地贫基因检测。

1.2 仪器与试剂 红细胞参数分析采用 XN-1000 血细胞分析仪(日本 Sysmex 公司),血红蛋白分析采用

^{*} 基金项目:广东省深圳市医疗卫生三名工程(SZSM201601062)。

[△] 通信作者,E-mail:eliyumin@126.com。

本文引用格式:阚丽娟,蔡钦泉,覃俊龙,等. 深圳地区血红蛋白 E 的血液学特征调查[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(14):1762-1764.

Capillarys2 全自动毛细管电泳仪(法国 Sebia 公司),试剂均为厂家原装配套试剂。地贫基因检测采用 T960 扩增仪(中国黑马公司)、ChemiDoc™ MP 全自动凝胶成像分析仪(美国 Bio-Rad 公司)、DYY-6C 型电泳仪(中国北京六一仪器厂)、YN-H16 恒温杂交仪(深圳亚能公司),试剂购自深圳亚能生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 血液学分析 采用全自动血细胞分析仪进行各项红细胞参数分析,分析指标为 Hb、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)。采用毛细管电泳法进行血红蛋白分析,鉴别 Hb 条带类型及分析各条带所占相对比例。以上检测均按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 地贫基因检测 采用跨越断裂点聚合酶链反应(Gap-PCR)法检测 3 种中国人群常见的缺失型 α 地贫基因($-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$)和 3 种罕见缺失型 β 地贫基因:中国台湾型、中国型 [$\text{G}\gamma^+(\text{A}\gamma\delta\beta)^0$] 和东南亚

型(SEA-HPFH)。采用 PCR 结合反向点杂交(PCR-RDB)法检测常见的 3 种非缺失 α 地贫基因(α^{QS} 、 α^{CS} 、 α^{WS})和 17 种 β 地贫基因点突变类型(-28、-29、CD17、CD41-42、CD43、 βE 、CD71-72、IVS-II-654、-32、-30、CAP、Initiation condon、CD14-15、CD27-28、IVS-I-1、IVS-I-5、CD31)。按照试剂盒说明书进行以上操作及结果判读。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行数据的统计分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示。

2 结果

2.1 基因型分析 检出 HbE 共计 76 例,发生率为 0.105%(76/72 397),包括 73 例 HbE 杂合子,其中成年男性 24 例,成年女性 34 例,儿童 7 例,新生儿 8 例。3 例 HbE 复合 α 、 β 地贫,均为成人,其中 HbE 复合 α 地贫 2 例,为 HbE 复合 α^{WS} 杂合子和 HbE 复合 $-\alpha^{3.7}$ 纯合子, HbE 复合 β 地贫 1 例,为 HbE 复合 $\text{G}\gamma^+(\text{A}\gamma\delta\beta)^0$ 。

表 1 单纯 HbE 杂合子的血液学表型($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	HbA ₂ (%)	HbE(%)
成年男性	24	148.0±10.0	76.3±3.6	25.5±1.2	3.5±0.3	24.7±0.9
成年女性	34	118.0±10.0	76.3±4.3	25.4±1.7	3.5±0.3	24.8±1.4
儿童	7	117.0±5.8	69.3±2.3	23.0±0.6	3.7±0.2	23.4±0.8

注:HbA₂ 为血红蛋白 A₂。

表 2 HbE 复合 α 、 β 地贫的基因型与血液学表型

基因型	<i>n</i>	性别	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	HbA ₂ (%)	HbF(%)	HbE(%)
$\beta^{\text{BE}}/\beta^{\text{N}}\delta\text{-}\alpha\alpha/\alpha^{\text{WS}}\alpha$	1	男	152	74.9	23.7	3.6	—	23.1
$\beta^{\text{BE}}/\beta^{\text{N}}\delta\text{-}\alpha^{3.7}/\text{-}\alpha^{3.7}$	1	女	111	66.5	21.4	4.1	—	15.8
$\beta^{\text{BE}}/\beta^{\text{G}\gamma^+(\text{A}\gamma\delta\beta)^0}$	1	男	120	57.0	19.4	2.5	54.1	43.4

注:HbA₂ 为血红蛋白 A₂;—表示无数据。

表 3 8 例新生儿 HbE 杂合子的毛细管电泳结果(%)

携带者	性别	HbA	HbF	HbE
1	男	7.4	90.0	2.9
2	女	9.1	87.6	3.3
3	男	6.1	91.6	2.0
4	男	7.2	90.1	2.7
5	女	8.9	87.5	3.6
6	男	9.4	90.4	2.2
7	男	5.3	93.3	1.4
8	女	6.4	90.4	3.2

2.2 血液学表型分析 成人单纯 HbE 杂合子、HbE 复合 α^{WS} 杂合子对血液学表型影响较轻,表现为 Hb 正常,MCV 和 MCH 轻度降低,各年龄段及性别具体

血液学指标分析见表 1。HbE 复合 $-\alpha^{3.7}$ 纯合子表现为轻型地贫,MCV 和 MCH 降低;HbE 复合 $\text{G}\gamma^+(\text{A}\gamma\delta\beta)^0$ 表现为中间型 β 地贫,MCV 和 MCH 明显降低,HbE 和 HbF 明显升高,见表 2。新生儿 HbE 杂合子毛细管电泳分析结果为血红蛋白 A(HbA)(7.5±1.5)%、血红蛋白 F(HbF)(90.2±2.0)%和 HbE(2.6±0.7)%,见表 3。

3 讨论

HbE 主要分布于我国长江以南及沿海地区。秦良谊^[2]早期调查显示 HbE 以云南最多见,在广东和广西的 β 链异常血红蛋白分布中也主要为 HbE,但携带率较云南低,而近年报道广西地区人群 HbE 的携带率高达 0.5%^[3]。广东梅州地区 HbE 的携带率为 0.118%^[5],韶关地区为 0.072%^[6],笔者前期也报道深圳地区为 0.130%^[7],本次纳入更多的样本研究表

明为 0.105%, 高于韶关地区。秦良谊^[2]认为 HbE 的地域分布可能与疟疾有关, 在曾流行过疟疾的地区其发生频率明显高于其他地区, 说明 HbE 携带者可能对疟疾有较强的抵抗力, 带有 HbE 的红细胞不利于疟原虫生长。

HbE 携带者的血液学表型取决于其基因型, 单纯 HbE 杂合子可无贫血及临床症状^[3,8-9]。根据我国《地中海贫血预防控制操作指南》^[1], 地贫筛查包括红细胞参数和血红蛋白分析, 前者观察指标为 MCV 和 MCH。鉴于成年男性、女性及儿童红细胞参数的参考区间不同, 且进行地贫筛查的很大部分成年女性处于妊娠期, 孕期由于营养需求增加以及血液稀释, 存在生理性贫血的可能, 因此本研究对 HbE 杂合子的血液学表型按性别及年龄段进行了分析。结果表明, 各年龄段 HbE 杂合子对红细胞参数指标的影响较轻, 仅表现为 MCV 和 MCH 轻度降低, 而 Hb 正常, 这提示临床在观察到 MCV 和 MCH 降低时, 应进一步行血红蛋白电泳分析。李友琼等^[3]报道 HbE 携带者中有部分血液学表型正常, 本研究也发现 2 例 HbE 杂合子的血细胞分析结果正常, 这提示对于地贫筛查应严格按照指南检测血常规和血红蛋白电泳, 两者结合分析以避免漏诊。

HbE 复合其他地贫类型, 其临床表现存在异质性^[3-4,8-10]。HbE 复合 α 地贫时, 由于 α 和 β 珠蛋白基因均表达减少, α 链和 β 链相对平衡, 临床症状较轻。HbE 复合静止型 α 地贫, 如 α^{ws} 杂合子的表型同 HbE 杂合子, 而复合标准型 α 地贫表现为轻型地贫^[3,10]。本研究中 HbE 复合 α^{ws} 杂合子的血液型表型也同 HbE 杂合子, 而 HbE 复合 $\alpha^{3.7}$ 纯合子的红细胞参数较 HbE 杂合子低, 但 HbE 水平也较 HbE 杂合子低, 与李友琼等^[3]报道的 HbE 复合 α^{SEA} 杂合子相符合, 但与张桂青等^[10]报道存在差异。这一方面可能与血红蛋白分析检测方法不同有关, 另一方面表明 HbE 复合 α 地贫的临床表型存在异质性, 这也提示临床在血红蛋白疾病筛查时必须结合血红蛋白电泳进行分析。HbE 纯合子或 HbE 复合 β 地贫时, 由于两种突变均发生于 β 珠蛋白基因上, 造成 β 链合成减少或不合成, α 链除了形成 HbF 和血红蛋白 A_2 (HbA₂) 外, 其余形成包涵体附着于红细胞膜, 导致红细胞在骨髓或脾内被破坏。HbE 复合 β 地贫的病理生理机制较为复杂, 具有高度异质性, 对于不同或同一突变基因型, 其临床表现都可能存在差异, 大部分表现为中间型或重型地贫, 也有表现为轻型地贫的报道^[3-4,8-10]。本研究发现 1 例 HbE 复合中国型 β 缺失 [$G\gamma^+(A\gamma\delta\beta)^0$], 其血液学表型符合中间型 β 地贫的特征^[1]。

脐带血血红蛋白电泳分析在新生儿地贫筛查中具有重要作用, 较传统的红细胞脆性试验及血细胞分析筛查效果更佳^[11-12]。本研究分析 8 例新生儿 HbE 杂合子的电泳结果, 其 HbE 水平均较低, 为 (2.6 ± 0.7)%, 最低为 1.4%。由于 HbE 电泳条带位置与 HbA₂ 非常接近, 且毛细管电泳检测灵敏度高, 新生儿 HbA₂ 通常在 0.1% ~ 1.0%, 因此临床应注意区别 HbE 与 HbA₂ 条带, 必要时询问父母基因型, 并进一步行地贫基因检测。

综上所述, 深圳地区人群 HbE 的携带率较高, 以杂合子为主, 检测 HbE 对产前筛查和产前诊断具有重要指导意义。临床医师和检验医师应重视 HbE 的临床血液学特征, 熟悉基因型与血液学表型的相关规律。

参考文献

- [1] 徐湘民, 张新华, 陈荔丽. 地中海贫血预防控制操作指南 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2011: 11.
- [2] 秦良谊. 我国异常血红蛋白发生率、分布及遗传多态性 [J]. 医学研究通讯, 2003, 32(12): 12-14.
- [3] 李友琼, 黄慧嫔, 覃桂芳, 等. 血红蛋白 E 的表型与基因型分析 [J]. 中华血液学杂志, 2012, 33(10): 861-864.
- [4] 王明月, 赖永榕. 血红蛋白 E 复合 β 地中海贫血 [J]. 医学综述, 2009, 15(6): 860-864.
- [5] 温应方, 林敏, 刘桂荣, 等. 广东梅州地区的异常血红蛋白的分子流行病学调查 [J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(12): 1496-1499.
- [6] 马占忠, 杨辉, 林敏, 等. 广东韶关地区异常血红蛋白的分子流行病学调查 [J]. 实用检验医师杂志, 2014, 6(3): 179-181.
- [7] 李育敏, 张水兰, 阚丽娟, 等. 深圳地区异常血红蛋白病的分子特征与表型分析 [J]. 临床检验杂志, 2018, 36(11): 873-875.
- [8] 区丽群, 蔡早育, 崔金环, 等. 血红蛋白 E 病的实验室诊断 [J]. 临床血液学杂志, 2004, 17(4): 234-236.
- [9] 吴教仁, 林炳忠, 陈钊. 血红蛋白 E 及血红蛋白 E 复合 β 地中海贫血的临床分析 [J]. 临床血液学杂志, 2004, 17(4): 204-206.
- [10] 张桂青, 李相新. 血红蛋白 E 复合 α -和 β -地中海贫血分析 [J]. 医学信息, 2010, 23(10): 278.
- [11] 郭浩, 杜丽, 唐斌, 等. 脐血血红蛋白电泳在新生儿地中海贫血筛查中的应用 [J]. 实用医学杂志, 2014, 30(12): 1953-1955.
- [12] 甘冰, 毛锦江. 新生儿脐血血红蛋白电泳 HbA 在筛查 β 地中海贫血中的意义 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(1): 75-76.