

异常血红蛋白 Hb J-Bangkok 和 Hb G-Coushatta 的基因型与表型分析

裴元元 温丽娟 冉健 魏凤香*

(深圳市龙岗区妇幼保健院 中心实验室, 广东 深圳 518172)

【摘要】 目的 分析 2 种 β 珠蛋白基因突变所致异常血红蛋白 Hb J-Bangkok 和 Hb G-Coushatta 的基因型及其血液学特征。**方法** 收集深圳市龙岗区妇幼保健院 2020 年 4 至 10 月毛细管血红蛋白电泳检测出异常血红蛋白条带的病例 4 例, 采用 PCR-流式荧光杂交法及基因测序方法进行基因诊断, 对明确诊断的异常血红蛋白病例进行回顾性血液学参数分析。**结果** 4 个病例中检测到 2 种 β 珠蛋白基因突变, 均为杂合子。3 例为 Hb J-Bangkok, 血液学表型正常, 血红蛋白电泳可见 Hb A 峰前 Z12 区有一条快速的异常血红蛋白; 1 例为 Hb G-Coushatta, 血液学表型未见异常, 血红蛋白电泳 Z(D) 区有一条慢速异常血红蛋白。**结论** 异常血红蛋白 Hb J-Bangkok 和 Hb G-Coushatta 的携带者均无小细胞低色素贫血的表现。毛细管电泳和基因测序技术联合应用, 可以分辨和发现更多的异常血红蛋白。

【关键词】 异常血红蛋白; Hb J-Bangkok; Hb G-Coushatta

【中图分类号】 R715.5

【文献标识码】 A

The genotype and phenotype of abnormal hemoglobin Hb J-Bangkok and Hb G-Coushatta

Pei Yuanyuan, Wen Lijuan, Ran Jian, Wei Fengxiang*

(Central Laboratory, Longgang District Maternity & Child Healthcare Hospital of Shenzhen City, Shenzhen 518172, Guangdong, China)

【Abstract】 Objective To analyze the genotype and hematological characteristics of two abnormal hemoglobin Hb J-Bangkok and Hb G-Coushatta caused by β -Globin gene mutation. **Methods** Four cases with abnormal hemoglobin bands detected by capillary hemoglobin electrophoresis were collected. PCR flow fluorescence hybridization and gene sequencing were used for gene diagnosis. The hematological parameters of the clearly diagnosed cases of abnormal hemoglobin were analyzed retrospectively. **Results** 2 kinds of β Globin gene mutations were detected in the four cases. All were heterozygotes. Three cases were Hb J-Bangkok, with normal hematological phenotype. Hemoglobin electrophoresis showed a rapid abnormal hemoglobin in Z12 area before Hb A. One case was Hb G-Coushatta, the hematological phenotype was also normal, and there was a slow abnormal hemoglobin in the Z(D) area of hemoglobin electrophoresis. **Conclusion** Carriers of abnormal hemoglobin Hb J-Bangkok and Hb G-Coushatta had no manifestation of small cell hypopigmentation anemia. The combined application of capillary electrophoresis and gene sequencing technology can distinguish and find more abnormal hemoglobin.

【Key words】 Abnormal hemoglobin; Hb J-Bangkok; Hb G-Coushatta

血红蛋白病包括地中海贫血(地贫)和异常血红蛋白两大类^[1]。珠蛋白基因突变造成血红蛋白合

成量不足会引起地中海贫血, 而珠蛋白基因突变造成的血红蛋白结构异常会导致异常血红蛋白。地中海贫血在我国南方地区高发, 以降低中重型 α -和 β -地贫患儿出生率为目标的防控政策实施多年, 已取

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2022.04.006

* 通信作者: 魏凤香, Email: haowei727499@163.com

得显著效果^[2]。多个大规模调查研究显示,我国南方地区同样是异常血红蛋白的高发区^[3,4],但由于报道较少,人们对于其血液学特性的认识还不够全面。本研究通过珠蛋白基因检测发现了 2 种罕见的异常血红蛋白 Hb J-Bangkok、Hb G-Coushatta,结合血常规和血红蛋白电泳结果,分析了其相关血液学参数,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 研究对象 2020 年 4~10 月在深圳市龙岗区妇幼保健院参与深圳市龙岗区地中海贫血预防控制项目,血常规及常规地中海贫血基因诊断均未见异常,但毛细血管血红蛋白电泳提示有异常血红蛋白条带的 3 名女性及 1 名男性(表 1)。受检者同意参与我们的研究,并签署了知情同意书。所有研究均经深圳市龙岗区妇幼保健院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 血常规 取静脉血 2 ml, EDTA-K2 抗凝,东亚 SYSMEX 血细胞分析仪分析血红蛋白(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白(MCH)及平均血红蛋白浓度(MCHC)等血液学参数。

1.2.2 血红蛋白电泳 使用法国 Sebia Capillarys 2 全自动毛细管电泳仪进行血红蛋白电泳,分析血红蛋白组分及其百分比。

1.2.3 常规地中海贫血基因检测 采用全血基因提取试剂盒提取外周血基因组 DNA,基因诊断试剂

盒诊断 α -地贫的 3 种缺失型突变(—SEA/、 α^3 7/、 α^4 2/), 3 种点突变(α^{CS} α /(CD142 (TAA > CAA))、 α^{QS} α /(CD125 (CTG > CCG))、 α^{WS} α /(CD122(CAC > CAG)))以及 β -地贫的 17 种点突变(CD41-42(c. 126_129delCTTT), IVS-II-654(c. 316-197C > T), -28 (c. -78A > G), CD71-72 (c. 216_217insA), CD17 (c. 52A > T), CD26 (c. 79G > A), CD43 (c. 130G > T), -29 (c. -79A > G), Int (c. 2T > G), CD14-15 (c. 45_46insG), CD27-28 (c. 84_85insC), -32 (c. -82C > A), -30 (c. -80T > C), IVS-I-1 (c. 92+1G > T), IVS-I-5 (c. 92+5G > C), CD31 (c. 94delC), CAP (c. -50A > C))。

1.2.4 珠蛋白基因测序分析 对有异常血红蛋白条带但常规地中海贫血基因 23 个位点诊断阴性的样本,设计引物扩增 α 1、 α 2 和 β 珠蛋白基因(HBA1、HBA2、HBB), Sanger 测序完成珠蛋白基因序列分析,测序反应由亚能生物技术(深圳)有限公司完成。

2 结果

2.1 血常规、血红蛋白电泳及常规地中海贫血基因诊断结果 4 例样本,血常规均为正细胞正色素,未见异常。共检出 2 种异常血红蛋白条带:分别位于 Z12 和 Z(D)区。常规地中海贫血基因诊断均未见异常。详细的血液学参数见表 1,血红蛋白电泳图见图 1A、B。

表 1 两种 β 珠蛋白基因杂合突变的血液学参数特征

序号	性别	年龄 (岁)	Hb (g/L)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/L)	Hb A2 (%)	异常血红蛋白 条带所在区域	异常血红蛋白 条带百分比(%)	HbVar 名称	HGVS 名称
1	女	27	132	89	30	336	2.7	Z12	51.1	Hb J-Bangkok	HBB;c. 170G>A
2	女	21	122	87	28	321	3.0	Z12	50.8	Hb J-Bangkok	HBB;c. 170G>A
3	女	24	121	93	31	340	2.4	Z12	51.8	Hb J-Bangkok	HBB;c. 170G>A
4	男	29	150	82	28	339	2.8	Z(D)	41.5	Hb G-Coushatta	HBB;c. 68A>C

2.2 珠蛋白基因测序结果 共检出 2 种 β 珠蛋白基因杂合突变, Z12 区域条带对应 c. 170G > A 突变(CD56 (GGC > GAC)), 查询血红蛋白数据库 HbVar(<https://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>)可知此突变为异常血红蛋白 Hb J-Bangkok。Z(D)区域条带对应 c. 68A > C 突变(CD22 (GAA > GCA)), HbVar 数据库显示此突变为异常血红蛋白

Hb G-Coushatta。测序结果见图 2。

3 讨论

血红蛋白结构变异包括溶血性异常血红蛋白、地中海贫血样变异和其他异常血红蛋白等^[5]。前两者可以表现出类似地中海贫血的血液学表现。而多数类型的异常血红蛋白没有明显的临床表现,常规

的地中海贫血基因检测无法检出,只有进行血红蛋白电泳分析时才能发现。目前普遍认为,不同异常

血红蛋白合并地中海贫血的临床表型差异较大,大部分异常血红蛋白携带者可以终生健康地生活^[6]。

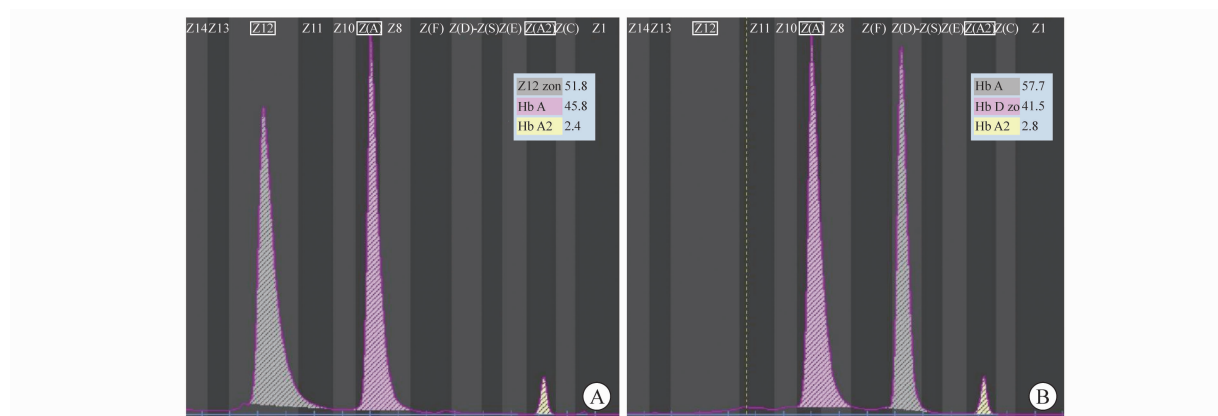


图1 A:患者1-3的血红蛋白电泳结果(杂合 Hb J-Bangkok);
B:患者4的血红蛋白电泳结果(杂合 Hb G-Coushatta)

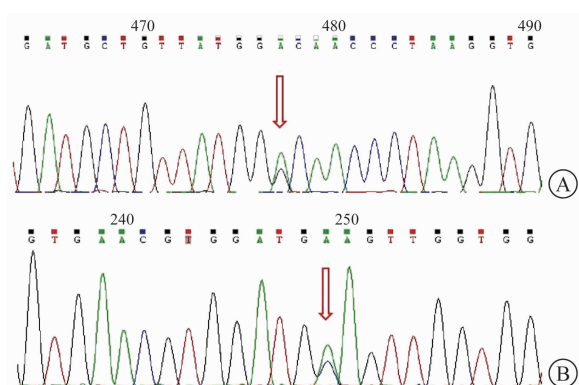


图2 A: HBB: c.170G > A (CD56 (GGC > GAC));
B: HBB: c.68A > C (CD22 (GAA > GCA))

HbVar 数据库记录的珠蛋白基因变异已有1300余种,其中 β -珠蛋白基因突变导致的异常血红蛋白超660种(<https://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>)。我国南方最常见的由 β -珠蛋白基因突变导致的 Hb E、Hb New York 等^[7,8]。

Hb J-Bangkok, 1966年由Clegg等报道^[9]。在我国,自20世纪80年代以来有零星报道,其频率呈现南高北低,是南方地区一种较为常见的异常血红蛋白^[10]。Hb J-Bangkok是由 β -珠蛋白基因第56密码子发生的错义突变所致(HBB: c.170G > A, p. Gly56Asp)。血红蛋白 β 链56位的甘氨酸位于血红蛋白分子表面,被天门冬氨酸取代后不引起血红蛋白分子功能改变,血红蛋白携带氧气能力未降低,不导致贫血等血液学的改变。本研究检测的3例

Hb J-Bangkok均为杂合突变,妊娠期青年女性,血液学参数均未见异常,与先前文献报道一致^[11]。

Hb G-Coushatta, 1964年首先由Schneider^[12]等在美国中西部印第安人中发现。同样20世纪80年代以来在国内开始有零星报道,但在中国人群中较少见。Hb G-Coushatta是由 β -珠蛋白基因密码子22处发生的错义突变所致(HBB: c.68A > C, p. Glu22Ala)。珠蛋白基因突变造成血红蛋白分子外部氨基酸产生替换引起的异常血红蛋白最为常见,由于不影响血红蛋白分子的稳定性和功能而通常无临床表现^[13]。本文29岁男性Hb G-Coushatta杂合突变携带者的临床表型未见异常。HbVar数据库中, Hb G-Coushatta纯合子的临床表现同样正常,同一编码密码子上的Hb D-Iran、Hb E-Saskatoon、Hb G-Taipei、Hb D-Granada及Hb Bury,这些异常血红蛋白杂合子均无异常血液学表型。

毛细管电泳技术利用带电分子在碱性缓冲液中泳动速率不同可将带有不同表面电荷的血红蛋白组分分离并计算各血红蛋白组分所占比例,具有分辨率高、重复性好、检测速度快、干扰少等优势。毛细管血红蛋白电泳时, Hb J-Bangkok位于Z12区,是一种快速的异常血红蛋白, Hb G-Coushatta位于Z(D)区,是一种慢速异常血红蛋白。毛细管电泳和基因测序技术联合应用,可以分辨和发现更多的异常血红蛋白。本研究对两种罕见异常血红蛋白的报

道,进一步丰富了我国南方地区的异常血红蛋白类型数据库,有助于增强和提高医务工作者对异常血红蛋白的认识和重视。

参 考 文 献

- [1] 曾溢滔. 血红蛋白疾病的诊断和治疗[J]. 中华血液学杂志, 1996,17(8):393-394.
- [2] 徐湘民. 血红蛋白病的人群筛查和产前诊断[J]. 海南医学, 2019,30(S1):47-55.
- [3] 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,(12):12-14.
- [4] 李春莉,杨梅,李秋红. 重庆地区 34 800 例育龄期夫妇异常血红蛋白病分析[J]. 中国实验血液学杂志,2020,28(4):1316-1320.
- [5] 徐湘民. 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- 13.
- [6] 杜丽,秦丹卿,王继成,等. 异常血红蛋白合并地中海贫血的基因诊断及血液学指标分析[J]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2019,11(1):34-37.
- [7] 王继成,郭浩,黄华洁,等. 罕见异常血红蛋白的诊断和临床特征分析[J]. 中国实验血液学杂志,2020,28(6):2028-2032.
- [8] 秦良谊. 我国 β 链异常血红蛋白发生率、基因频率和分布[J].

医学研究通讯. 2004,(1):17-18.

- [9] J B CLEGG, M A NAUGHTON, D J WEATHERBALL. Abnormal human haemoglobins. Separation and characterization of the alpha and beta chains by chromatography, and the determination of two new variants, hb Chesapeake and hb J (Bangkok) [J]. J Mol Biol, 1966;19 (1):91-108.
- [10] 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.
- [11] 胡昕听,郭浩,秦丹卿,等. 异常血红蛋白 Hb J-Bangkok 的分子诊断及血液学特征分析[J]. 临床检验杂志,2020,38(3): 171-174.
- [12] R G SCHNEIDER, M E HAGGARD, C W MCNUTT, et al. Hemoglobin G-Coushatta: A New Variant in An American Indian Family [J]. Science, 1964;143(3607):697-698.
- [13] VICHINSKY E, RODGERS GP, RACHMILEWITZ E. Hemoglobinopathies [J]. Curr Mol Med, 2008;8(7):591.

(收稿日期:2022-04-07)

编辑:宋文颖

(上接第 10 页)

- [10] WU L ,CHENG J Z ,LI S , et al. FUIQA: Fetal Ultrasound Image Quality Assessment With Deep Convolutional Networks[J]. IEEE Transactions on Cybernetics, 2017, 47 (5):1336-1349.
- [11] B RAHMATULLAH,I SARRIS, A PAPAGEORGHIOU. Quality control of fetal ultrasound images:Detection of abdomen anatomical landmarks using AdaBoost[R]. IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro, Chicago,IL,USA, 2011:6-9.
- [12] ZHANG BO, LIU HAN, LUO HONG, et al. Automatic quality assessment for 2D fetal sonographic standard plane based on multitask learning [J]. Medicine, 2021, 100 (4): e24427.

- [13] WRIGHT D, WRIGHT A, SMITH E, et al. Impact of biometric measurement error on identification of small- and large-for-gestational-age fetuses[J]. Ultrasound in Obstetrics & Gynecology,2020,55(2):170-176.
- [14] 姚怀齐,刘璇芝,王帆. 超声测量胎儿腹围预测出生体重的探讨[J]. 中国现代医药杂志,2020,22(11):42-44.
- [15] 赵旌,樊慧妮,张天啸. 探讨胎儿腹围在预测巨大儿评估中的临床价值[J]. 延安大学学报(医学科学版),2019,17(4):58-61.

(收稿日期:2022-09-02)

编辑:刘邓浩