

广东地区 HbH 病合并 β 地贫及中重型 β 地贫合并 α 地贫患者的血液学特征分析

张艳霞 杜丽 王继成 秦丹卿 袁腾龙 姚翠泽 梁杰 陈延冰*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广州, 511442)

【摘要】 目的 对 2005 年 5 月至 2020 年 4 月来广东省妇幼保健院就诊且血红蛋白电泳和基因诊断确诊的血红蛋白 H 病(HbH 病)合并 β 地贫及中重型 β 地贫合并 α 地贫患者进行血液学特征分析,为临床遗传咨询及产前诊断提供指导意义。**方法** 采用血常规检测及血红蛋白电泳方法分别获得 HbH 病合并 β 地贫及中重型 β 地贫合并 α 地贫患者的红细胞参数及各类型血红蛋白的含量,使用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)结合反向点杂交(reverse dot blot, RDB)、gap-PCR 等方法进行地中海贫血基因检测。**结果** 在近 5 年来就诊于本院的患者中, HbH 病合并 β 地贫的患者有 19 例(男性 7 例、女性 12 例),其血红蛋白(hemoglobin, Hb)的平均水平为 (103.32 ± 16.66) g/L, 男性为 (120.57 ± 9.82) g/L, 女性为 (93.25 ± 10.41) g/L; 男性与女性的 Hb 平均水平比较, 差别有统计学意义($P < 0.01$)。HbA2 的平均水平为 $(4.55 \pm 0.94)\%$; 男性为 $(4.33 \pm 1.32)\%$, 女性为 $(4.68 \pm 0.58)\%$, 男性与女性的 HbA2 平均水平比较, 差别没有统计学意义($P > 0.05$)。中重型 β 地贫合并 α 地贫的患者有 19 例(男性 8 例, 女性 11 例), Hb 的平均水平为 (91.89 ± 16.44) g/L, 男性为 (97.88 ± 12.85) g/L, 女性为 (87.55 ± 17.37) g/L; HbA2 的平均水平为 $(4.94 \pm 2.62)\%$, 男性为 $(3.85 \pm 1.84)\%$, 女性为 $(5.74 \pm 2.80)\%$, 男性与女性的 Hb 及 HbA2 平均水平比较, 差别均没有统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 在 38 例病例中, 患者的血常规结果及临床表现均显示为轻中度贫血。

【关键词】 HbH 病; 中重型 β 地贫; 地中海贫血; 血液学特征

【中图分类号】 R714.56 **【文献标识码】** A

Hematological characteristics analysis of patients with HbH disease combined with β -thalassemia and patients with middle or heavy β -thalassemia combined with α -thalassemia in Guangdong Province

Zhang Yanxia, Du Li, Wang Jicheng, Qin Danqing, Yuan Tenglong, Yao Cuize, Liang Jie, Chen Yanbing*

Medical Genetics Center, Guangdong Women and Children Health Care Hospital, Guangzhou, Guangdong 510010, China

* Corresponding author; Chen Yanbing, E-mail: chenyanbing.123@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the hematological characteristics of patients with hemoglobin H disease (HbH disease) combined with β -thalassemia, as well as β -thalassemia intermedia or β -thalassemia major combined with α -thalassemia, which were diagnosed by hemoglobin electrophoresis and gene diagnosis from May 2005 to April 2020 in our hospital and to provide guidance for clinical genetic counseling and prenatal diagnosis. **Methods** The phenotype parameters of patients with HbH disease compounded with β -thalassemia and β -thalassemia intermedia or major compounded with α -thalassemia were obtained by

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2020.04.005

基金项目:广东省医学科研基金(B2019150)

* 通信作者:陈延冰, E-mail: chenyanbing.123@163.com

performing routine blood test and hemoglobin electrophoresis, respectively. The genotype of thalassemia was detected by gap-PCR and PCR-RDB. **Results** Among the patients came to our hospital in the past 5 years, 19 (7 males and 12 females) patients were detected HbH disease compounded with β -thalassemia, the average level of hemoglobin (Hb) was (103.32 ± 16.66) g/L, in which (120.57 ± 9.82) g/L was for male patients and (93.25 ± 10.41) g/L for female patients. There was a statistically significant difference ($P < 0.01$) in the Hb level between male and female patients. The average level of HbA₂ was $(4.55 \pm 0.94)\%$, in which $(4.33 \pm 1.32)\%$ was for males and $(4.68 \pm 0.58)\%$ for females. There was no statistically significant difference in the average level of HbA₂ between males and females ($P > 0.05$). 19 patients (8 males and 11 females) were diagnosed as β -thalassemia intermedia or major compounded with α -thalassemia. The average level of Hb and HbA₂ were respectively (91.89 ± 16.44) g/L and $(4.94 \pm 2.62)\%$, in which (97.88 ± 12.85) g/L and $(3.85 \pm 1.84)\%$ were for males and (87.55 ± 17.37) g/L and $(5.74 \pm 2.80)\%$ for females. No statistically significant differences in the average Hb and HbA₂ levels between males and females were observed. **Conclusion** In the 38 cases, the results of blood routine examination and clinical manifestations showed mild and moderate anemia.

【Key words】 HbH disease; Middle and heavy β -thalassemia; Thalassemia; Hematological characteristics

地中海贫血(简称地贫)是一类因珠蛋白合成障碍所致的常染色体隐性遗传性溶血性疾病,主要分为 α 地贫和 β 地贫两类。本病主要见于地中海沿岸国家及东南亚各国,是目前全球分布最广泛、累及人群最多的一种单基因疾病,全世界大约有 9000 万患者与基因携带者^[1, 2]。本病在我国南方地区多见,是我国长江以南各省份发病率最高、影响最大的遗传病之一,尤其以两广地区和海南为甚,而在广东省育龄人群的地贫基因携带率约为 16.8%^[3]。 α 地贫的分子基础是 $\alpha 2$ 或 $\alpha 1$ 珠蛋白基因发生缺失或点突变,使 α 珠蛋白产量下降,胎儿体内过多 γ 珠蛋白形成 Hb Bart's($\gamma 4$),或成人体内过多的 β -珠蛋白形成 Hb H($\beta 4$),导致无效造血和红细胞破坏。 α -地贫主要是由类 α -珠蛋白基因簇的大片段缺失导致的,缺失范围从几 kb 到整个 α 珠蛋白基因簇不等。还有少量 α 地贫是由 α 珠蛋白基因的点突变导致。

β 地贫是由于 β 珠蛋白基因突变或缺失所致,其基因突变致 β 链的生成完全受抑制者称为 β^0 地贫,而基因突变致 β 链的生成部分受抑制者称为 β^+ 地贫^[4]。临床根据贫血的严重程度将 β 地贫分为轻型、中间型和重型。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2005 年 5 月至 2020 年 4 月来就

诊于广东省妇幼保健院医学遗传中心,经地中海贫血筛查和基因诊断确诊的 HbH 病合并 β 地贫及中重型 β 地贫合并 α 地贫的患者,年龄为 1~50 岁,(因样本量较少,故此研究选取 1 岁以上儿童及成年人患者作统计),均为广东地区汉族人群,所有患者均采集外周血用于血常规检测、血红蛋白电泳分析及地中海贫血基因检测。

1.2 研究方法

1.2.1 血液学分析 所有患者(不需要空腹)的样本均为经 EDTA-K₂ 真空采血管采集的外周静脉血,其红细胞参数由 Sysmex XN5000 全自动血液分析仪进行分析,血红蛋白电泳采用 CAPILLARYS 2 FLEX PIERCING 全自动毛细管电泳仪及其配套试剂进行分析(法国 Sebia 公司生产)。

1.2.2 DNA 提取和地中海贫血基因检测 患者基因组 DNA 由 Lab-Aid 820 核酸提取仪及其配套的 DNA 提取试剂(厦门致善生物科技有限公司)提取,所有实验操作均严格按照 SOP 要求进行。应用 gap-PCR 和 PCR-RDB 方法进行地中海贫血基因检测(亚能生物技术有限公司),同时利用 Luminex200 (Luminex Corporation, 美国)(试剂采用达安临床检验中心有限公司扩增及杂交试剂)的方法进行基因诊断结果的相互验证。检测范围包括 α 地贫 3 种常见缺失型(3.7、4.2、SEA)和 3 种点突变类型

(CS、QS、WS)以及中国人最常见的17种 β -地贫的点突变。

1.2.3 统计学方法 采用SPSS 20.0统计软件对数据进行统计分析,计量资料用均数±标准差表示;独立样本组间比较采用 t 检验($P < 0.05$ 为具有统计学意义)。

2 结果

2.1 血常规参数检测结果 HbH病合并 β 地贫的患者有19例(男性7例,女性12例),其血红蛋白(hemoglobin, Hb)的平均水平为 (103.32 ± 16.66) g/L,男性为 (120.57 ± 9.82) g/L,女性为 (93.25 ± 10.41) g/L;其红细胞平均水平为 $(6.23 \pm 0.95) \times 10^{12}$ /L,男性为 $(7.26 \pm 0.68) \times 10^{12}$ /L,女性为

$(5.63 \pm 0.40) \times 10^{12}$ /L;男性与女性的Hb及红细胞计数(red blood count, RBC)平均水平比较,差别有统计学意义($P < 0.05$)男性与女性的平均红细胞体积(mean corpuscular volume, MCV)及平均红细胞血红蛋白量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)平均水平比较,差别没有统计学意义($P > 0.05$);中重型 β 地贫合并 α 地贫的患者有19例(男性8例,女性11例),其Hb的平均水平为 (91.89 ± 16.44) g/L,男性为 (97.88 ± 12.85) g/L,女性为 (87.55 ± 17.37) g/L。其红细胞平均水平为 $(4.81 \pm 1.10) \times 10^{12}$ /L,男性为 $(5.12 \pm 0.85) \times 10^{12}$ /L,女性为 $(4.57 \pm 1.20) \times 10^{12}$ /L;男性与女性的Hb及RBC平均水平比较,差别没有统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表1 两种类型的中间型贫血患者的血常规参数对比

基因型	性别	例数 (例)	RBC ($\times 10^{12}$ /L)	Hb (g/L)	MCV (fL)	MCH (pg)
HbH+ β 合计		19	6.23 ± 0.95	103.32 ± 16.66	53.75 ± 5.15	16.61 ± 1.41
	男	7	7.26 ± 0.68	120.57 ± 9.82	56.50 ± 4.30	16.63 ± 1.10
	女	12	5.63 ± 0.40	93.25 ± 10.41	52.15 ± 4.93	16.6 ± 1.56
$P^{\#}$			0.001	0.000	0.080	0.968
中重型 β + α		19	4.81 ± 1.10	91.89 ± 16.44	65.41 ± 9.59	19.67 ± 3.55
	男	8	5.12 ± 0.85	97.88 ± 12.85	69.28 ± 6.66	19.44 ± 3.35
	女	11	4.57 ± 1.20	87.55 ± 17.37	62.59 ± 10.38	19.83 ± 3.68
$P^{\#}$			0.287	0.177	0.125	0.826

注: $\#$ 表示男性和女性进行 t 检验所得的 P 值。

2.2 血红蛋白电泳检测结果 HbH病合并 β 地贫的患者中,HbA2的平均水平为 $(4.55 \pm 0.94)\%$;男性为 $(4.33 \pm 1.32)\%$,女性为 $(4.68 \pm 0.58)\%$,男性与女性的HbA2平均水平比较,差别没有统计学意义($P > 0.05$)。中重型 β 地贫合并 α 地贫的患者

中,HbA2的平均水平为 $(4.94 \pm 2.62)\%$,男性为 $(3.85 \pm 1.84)\%$,女性为 $(5.74 \pm 2.80)\%$;男性与女性的HbA2平均水平比较,差别没有统计学意义($P > 0.05$)。HbF平均水平为 $(32.41 \pm 29.90)\%$,没有显著增高。详细的血红蛋白电泳结果见表2。

表2 两种类型的中间型贫血患者的血红蛋白参数对比

基因型	性别	HbA(%)	HbA2(%)	HbF(%)
HbH+ β 合计		94.07 ± 1.93	4.55 ± 0.94	/
	男	94.74 ± 0.48	4.33 ± 1.32	/
	女	93.67 ± 2.31	4.68 ± 0.58	/
$P^{\#}$		0.163	0.550	0.644
中重型 β + α		58.02 ± 32.12	4.94 ± 2.62	32.41 ± 29.90
	男	56.79 ± 23.63	3.85 ± 1.84	38.36 ± 23.71
	女	58.92 ± 37.06	5.74 ± 2.80	28.08 ± 33.03
P		0.887	0.113	0.465

注: $\#$ 表示男性和女性进行 t 检验所得的 P 值。

3 讨论

HbH病是 α^0 和 α^+ 地中海贫血的双重杂合子

状态,根据其基因突变类型主要分为缺失型和非缺失型两种类型,根据累及的珠蛋白基因类型不同,临床表现差异很大,可表现为轻度到重度贫血症状。

重型 β 地贫的基因型为纯合子或复合杂合子状态。重型 β 地贫患儿出生后症状进行性加重,如不进行有效干预,难以活到成年。全球每年约有23 000例重型 β 地贫患儿出生^[5]。

本研究的19例HbH病合并 β 地贫患者的血液学参数分析显示,此类患者的Hb平均水平为 (103.32 ± 16.66) g/L,为轻至中度贫血,其HbA₂为 $(4.55 \pm 0.94)\%$,这与国内学者阮丽明等^[6]报道的142例血红蛋白H病患者血液学与分子生物学检测结果分析中的数据[缺失型HbH病的Hb平均水平 (98.16 ± 14.48) g/L,非缺失型HbH病的Hb平均水平 (77.15 ± 9.53) g/L]及HbA₂平均水平[缺失型HbH病 $(1.71 \pm 0.43)\%$,非缺失型HbH病 $(1.22 \pm 0.65)\%$]都要高;也比陈素琴等^[7]报道的中国南方地区血红蛋白H病的基因型与表型的相关性研究的数据要高;而与黎小红等^[7]报道的64例HbH病的基因类型与血液学相关参数分析中的数据[α - α 合并 β 地贫的Hb平均水平为 (124.04 ± 13.16) g/L]相比有差异,这可能与地域及年龄差异有关。本研究中男性Hb平均水平明显高于女性,对于这一现象的解释,除了由于男性生理上Hb正常参考值范围高于女性外,可能还与此研究中女性患者大部分为来院产检的孕妇有关。虽然女性在怀孕期间的生理变化,如血容量的扩大,会加重贫血的严重性,但此研究中的女性患者贫血程度仍然为轻中度贫血,比单纯HbH病患者贫血程度要轻。

本研究的19例中重型 β 地贫合并 α 地贫患者的Hb平均水平为 (91.89 ± 16.44) g/L,也为轻至中度贫血,比刘小勇^[8]及周文英^[9]报道的重型 β -地中海贫血Hb平均水平高;本研究中此类患者的HbF平均水平为 $(32.41 \pm 29.90)\%$,没有显著增高。

本研究中,两种类型的地贫患者中临床上出现轻中度贫血,比单纯HbH病患者及单纯重型 β 地贫患者的贫血程度要轻。本次研究由于病例数较少,故没有比较两种类型地贫患者中未成年人与成年人及孕妇与普通成年女性的血液学参数。但有文

献报道^[10],非缺失型HbH病患儿在其婴幼儿后期会逐渐出现贫血症状,随着年龄增大贫血程度加重,而且贫血程度比缺失型HbH患儿更重。

总之,了解HbH病合并 β 地贫及中重型 β 地贫合并 α 地贫患者的血液学参数表现,有助于今后在产前诊断及遗传咨询中向临床医生提供更好的依据,也有利于给予患者(尤其是夫妇双方均为地贫的患者)更好更全面的建议。今后,我们将积累和分析更多的包括儿童及孕妇在内的各种病例数据,从而获得更精确的统计学分析结果。

参 考 文 献

- [1] JOLY P, PONDARRE C, BADENS C. Beta-thalassemias: molecular, epidemiological, diagnostical and clinical aspects [J]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2014, 72(6): 639-668.
- [2] PIEL FB, WEATHERALL DJ. The alpha-thalassemias [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(20): 1908-1916.
- [3] YINA H, LIB, LUOM Y, 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] KIEGEMAN RM, BEHRMAN RE, JENSON HB, et al. Nelson textbook of pediatrics [M]. 18th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2007, 462:2025-2038.
- [5] DE SANCTIS V, KATTAMIS C, CANATAN D, 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.
- [6] 阮丽明,周艳洁,朱茂灵,等. 142例血红蛋白H病患者血液学与分子生物学检测结果分析 [J]. *检验医学与临床*, 2013, 20:2648-2649,2651.
- [7] 陈素琴,蒋玮莹,陈路明,等. 中国南方地区血红蛋白H病的基因型与表型的相关性研究 [J]. *新医学*, 2015, 5:294-298.
- [8] 刘小勇. 血常规红细胞参数对 β -地中海贫血诊断、筛查价值分析 [J]. *医学信息*, 2014, 2:343-343.
- [9] 周文英. 血常规红细胞参数对 β -地中海贫血诊断、筛查价值研究 [J]. *数理医药学杂志*, 2016, 29(2):217-219.
- [10] 付春云,陈少科,张强,等. 广西地区1571例HbH病患者基因型特征 [J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(8):728-731.

(收稿日期:2020-10-15)

编辑:宋文颖