

48 例 Hb Q-Thailand 的血液学表型和基因型分析

郑海文 班正贺

广州医科大学附属第三医院白云分院 产前诊断中心, 广东 广州 510000

【摘要】 目的 通过对广州地区地中海贫血筛查中的异常血红蛋白 Q-Thailand 的筛选,明确诊断并分析其血液学表型和基因型特征。**方法** 采集来自广州医科大学附属第三医院白云分院产前诊断中心实验室 2019 年至 2023 年接收的 40 713 例外周血标本,通过血红蛋白毛细管电泳和血液学参数分析收集疑似 Hb Q-Thailand 携带者,应用跨越断裂点聚合酶链反应,反向点杂交聚合酶链反应 (polymerase chain reaction-reverse dot blot, PCR-RDB) 和 DNA 测序的方法确诊疑似患者。**结果** 在 48 例疑似 Hb Q-Thailand 患者中,共确诊 48 例 Hb Q-Thailand 携带者,其中有 48 例均为 $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$, 有 1 例合并 Wexham (+TCA) in $\alpha\alpha 1$ 杂合突变, 1 例合并 $\beta^{41-42}/\beta N$ 。**结论** 分析中国广州地区 Hb Q-Thailand 的血液学表型和基因型特征可为临床遗传咨询提供依据。

【关键词】 Hb Q-Thailand; 地中海贫血; 分子诊断

【中图分类号】 R715.5 **【文献标识码】** A

Hematological phenotype and genotype analysis of 48 cases of Hb Q-Thailand

Zheng Haiwen, Ban Zhenghe

(The Prenatal Diagnosis Center of Baiyun Branch, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510000, China)

【Abstract】 Objective To characterize the hematologic phenotype and genotype of abnormal hemoglobin Q-Thailand in thalassemia screening in Guangzhou, China. **Methods** A retrospective analysis was conducted on 40,713 peripheral blood samples collected between 2019 to 2023 at the Prenatal Diagnosis Center of Baiyun Branch of the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University. Suspected Hb Q-Thailand carriers were screened using hemoglobin capillary electrophoresis and hematological parameter analysis. Confirmatory testing included gap-PCR targeting the α -globin gene breakpoint, polymerase chain reaction-reverse dot blot (PCR-RDB) and DNA sequencing. **Results** A total of 48 previously suspected Hb Q-Thailand individuals were confirmed as Hb Q-Thailand carriers, of which all cases were $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$, one was combined with Wexham (+TCA) in $\alpha\alpha 1$ heterozygous mutation, and another was combined with $\beta^{41-42}/\beta N$. **Conclusion** Analysis of hematologic phenotype and genotype of HB-Q-Thailand in Guangzhou, China can provide evidence for clinical genetic counseling.

【Key words】 Hb Q-Thailand; Thalassemia; Molecular diagnosis

地中海贫血于 1925 年由 Cooley 和 Lee 首先描述,最早发现于地中海地区的人群,故称为地中海贫血,又被称为海洋性贫血或珠蛋白生成障碍性贫血,

其致病基因为人类珠蛋白基因^[1]。地中海贫血是单基因疾病,为常染色体隐性遗传病^[1], α -珠蛋白基因簇定位于 16 号染色体 16p13.3 位点, β 珠蛋白基因簇定位于 11 号染色体 11p15.3 位点^[1]。珠蛋白的一级结构发生改变导致了异常血红蛋白,而血红蛋

白中氨基酸的异常发生在分子内部或是外部,对临床表型影响较大。导致地中海贫血表型的异常血红蛋白其共同病理学机制是肽链结构改变或基因突变使受累珠蛋白链的表达量下降^[1]。Hb Q-Thailand 是我国南方地区中较多见的一种异常血红蛋白病,最先由 Vella 在新加坡一个华裔家庭中发现,Hb Q-Thailand 是因为 α 珠蛋白基因的点突变使 α 珠蛋白肽链 N 端第 74 位天冬氨酸被组氨酸取代,从而造成结构上发生一定改变^[2]。目前国内外 Hb Q-Thailand 的报道较少,主要集中在广东、广西地区。为了给临床医生提供更详尽的遗传咨询依据,我们对广州医科大学附属第三医院白云分院产前诊断中心 2019 至 2023 年 48 例 Hb Q-Thailand 的血液学参数和基因型检测进行了分析比较,报告如下。

1 对象与方法

1.1 样本采集 采集广州市医科大学附属第三医院白云分院产前诊断中心实验室接收的患者外周血 1 管,每管 4ml,以乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝,分别进行血常规检测、血红蛋白毛细管电泳和地贫基因诊断。本研究经广州医科大学附属第三医院白云分院伦理委员会批准(20210501),研究对象均签署知情同意书。

1.2 主要仪器和试剂 血液学分析采用 Sysmex 的全血细胞分析仪,血红蛋白毛细管电泳采用购自法国 Sebia 公司的血红蛋白自动分析仪, α 和 β 地贫基因检测采用购自深圳亚能生物技术有限公司的地贫基因检测试剂盒,PCR 扩增采用购自珠海黑马医学仪器有限公司的核酸扩增仪。以上均采用厂家原装配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 血液学分析分为红细胞参数和毛细管电泳分析 Hb 分析采用全自动血红蛋白毛细管电泳,全血 2~3ml,2~8℃ 保存。环境要求温度在 15~30℃,相对湿度为 5%~65%(不冷凝),海拔最高 2000m。将试剂公司提供的配套试剂对应摆放至机舱位置,样品用红细胞溶解液稀释后,在毛细管的阳极端通过虹将液体注入。随后,采集通过高电压分离得到的蛋白分离成分,在毛细管的阴极端于

415nm 处对分离的血红蛋白进行直接检测。石英毛细管分离得到的血红蛋白可在 415nm 的吸收波长处直接和特异性地检测,415nm 是血红蛋白的特异检测波长。直接检测可准确对各种血红蛋白组分相对定量。所有条带的峰面积总和为 100%,其中各个峰面积为各组分的含量。当某区域出现异常 Hb 时,分析软件通过数据库提示相应的变异体峰值。结果中的 Hb F、Hb A、Hb A2 和 Hb Q/Z1 区变异体被选为观察指标。将电泳条带异常提示异常 Hb Q 或 Z1 区变异体列为筛查疑似 Hb Q-Thailand 携带者的标准。进一步进行红细胞参数分析,观察其 Hb、红细胞平均体积(mean corpuscular volume, MCV)、红细胞平均血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)等。

1.3.2 常见的地贫基因分析 α 地贫基因检测试剂盒用 PCR 探针法检测常见的 3 种缺失型(—SEA/ $\alpha\alpha$ 、— $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$ 、— $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$)和 3 种非缺失型(α^{CS} / $\alpha\alpha$ 、 α^{WS} / $\alpha\alpha$ 、 α^{QS} / $\alpha\alpha$), β 地贫基因检测试剂盒采用反向点杂交聚合酶链反应(polymerase chain reaction-reverse dot blot, PCR-RDB)法检测人基因组 DNA 中常见 17 种 β 珠蛋白基因突变位点。取出预装的核酸提取或纯化试剂板(16 个反应/板),撕去封口膜后,在 1/7 孔(列)加入 15 μ l 蛋白酶 PK,再按标本顺序在 1/7 孔(列)分别加入 200 μ l 震荡混匀过的全血,将试剂板放进核酸自动提取仪,按吸磁-结合-清洗 1-清洗 2-清洗 3-清洗 4-干燥-洗脱-Drop 的步骤进行自动化提取,仪器运行完成后,在 6/12 孔(列)即为提取得到的核酸,并将其保存到对应的干净的离心管中。按照试剂盒说明书步骤进行 PCR 扩增后,对 α 缺失型地贫扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳分析,非缺失型 α 地贫和 β 地贫扩增产物进行反向斑点膜杂交分析,结果根据试剂盒说明判读。

1.3.3 DNA 测序 提取 DNA 产物外送深圳亚能生物技术有限公司进行 α 地贫测序,根据参考文献^[3,4]中的 α (分别为 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$)和 β 珠蛋白基因序列设计的引物分别扩增 α 和 β 珠蛋白基因序列,PCR 产物进行双向测序分析后确诊 Hb Q-Thailand 携带者。

2 结果

2.1 血红蛋白电泳结果 在 40 713 例样本中,根据分析软件提示,我们检出可疑 Hb Q-Thailand 图谱者(即 Hb Q 和/或 Z1 区出现变异体条带,见图 1)共 48 例,检出率为 0.117%。Hb Q 最高含量为

30.2%,最低含量为 15%,平均含量为 $(27.838 \pm 2.771)\%$,Hb A2 最高含量为 4.9%,最低含量为 1.5%,平均含量为 $(2.002 \pm 0.632)\%$,Z1 区最高含量为 1.1%,最低含量为 0.5%,变异体平均含量 $(0.715 \pm 0.114)\%$ 。

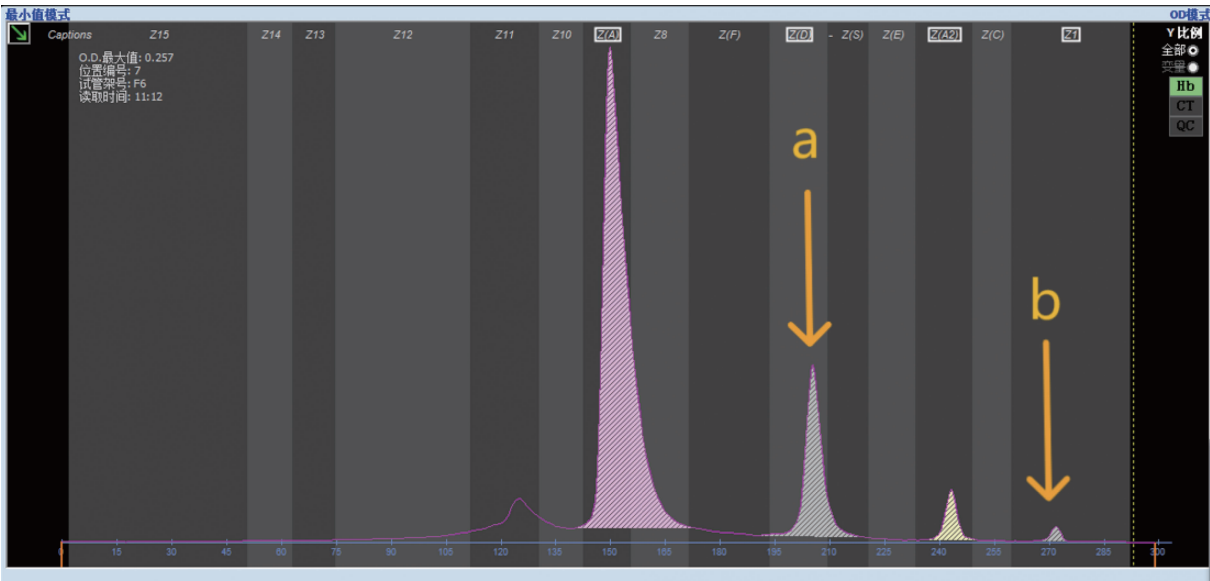


图 1 血红蛋白电泳图

注:a. 血红蛋白电泳 Hb Q 变异体条带;b. 血红蛋白电泳 Z1 区变异体条带。

2.2 统计学分析 采用 SPSSAU 软件数据,计量资料以均数标准差(均数±s)表示,计数资料用率或者构成比表示,见表 1、表 2。

表 1 48 例 Hb Q-Thailand 患者的血液学参数						
名称	样本量 (n)	最小值	最大值	平均值	标准差	正常值
RBC($\times 10^{12}$)	45 *	3.95	6.97	5.302	0.741	3.8~5.1
MCV(fl)	48	61.10	91.30	77.502	4.990	82~100
MCH(pg)	48	18.70	30.50	25.613	1.965	27~34
Hb A2(%)	48	1.50	4.90	2.002	0.632	2.5~3.5
Hb Q 变异体(%)	48	15.00	30.20	27.838	2.771	0
Hb Z1 变异体(%)	39 *	0.50	1.10	0.715	0.114	0

注: * 有部分样本数据记录缺失,RBC 3 例,Hb Z1 9 例。

2.3 Hb Q 携带者的血液学特征 48 例 Hb Q 携带者的 MCV 为 (77.502 ± 4.99) fl,MCH (25.613 ± 1.965) pg。不同组别的血液学特征及统计分析见表 1、表 2。

2.4 DNA 测序结果 在进行 α 珠蛋白基因 DNA 反向测序时,可以看到 $\alpha 1$ 测定的 nt584 位置发现有双峰(G>C),相对应于 α 珠蛋白肽链第 74 位天冬

氨酸突变为组氨酸(GAC>CAC),见图 2。

表 2 Hb Q-Thailand 合并其他异常病例的血液学参数							
样本 编号	基因型	RBC (10^{12})	MCV (fl)	MCH (pg)	Hb A2 (%)	Hb Q 变异体 (%)	Hb Z1 变异体 (%)
1	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 合并 Wexham(+TCA) in alpha1 杂合突变	4.42	77.4	25.6	1.5	28.8	0.6
2	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 合并 $\beta^{41-42}/\beta N$	6.97	62.8	19.9	4.9	15.0	1.1

2.5 Hb Q 携带者的分子特征 α 地贫基因缺失型检测,48 例均可检出 $\alpha^{4.2}$ 缺失和正常对照条带;有 1 例检出 Wexham(+TCA)in alpha1 杂合突变; β 地贫基因检测,1 例合并 $\beta^{41-42}/\beta N$ 。48 例有 46 例为 Hb Q-Thailand 杂合子,1 例为 Hb Q-Thailand 杂合子合并 Wexham(+TCA)in alpha1 杂合突变,1 例合并 $\beta^{41-42}/\beta N$,未见 Hb Q-Thailand 纯合子。

3 讨论

在本研究确诊的 48 例 Hb Q-Thailand 携带者

中,其呈现的显著且独特的血红蛋白电泳异常 Hb Q 与 Z1 区带与特定基因型存在紧密的内在关联,这一关联在出生缺陷预防领域具有不可忽视的价值。100% 的 Hb Q-Thailand 携带者所具有的一 $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 基因型,在 α -珠蛋白基因簇中形成了特征性

的基因连锁模式。本次外周血来源于成年人与儿童,但确诊患者均为成年人,其中不乏孕妇,除 2 例合并其他异常地中海贫血基因型外,血液学特征中虽有出现 MCV/MCH 降低的情况,但基本无贫血或仅有轻度贫血表现。

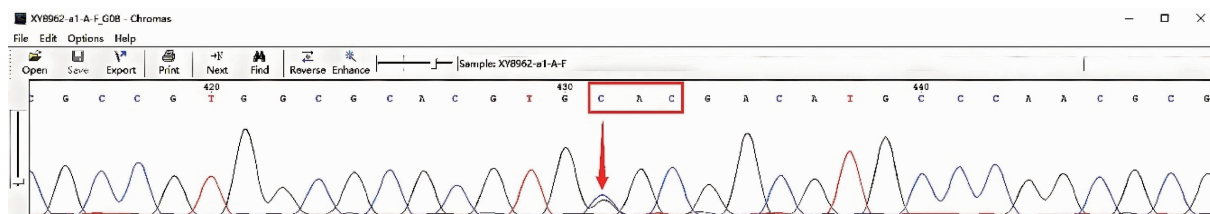


图2 DNA 测序结果

注: α 珠蛋白测序范围为编码区(参考序列 NG_000006.1)。 α 珠蛋白基因(HBA1:c.223G>C)位点发生位点突变,导致 Hb Q 携带者 α 珠蛋白肽链第 74 位天冬氨酸转变为组氨酸(GAC>CAC)。

Hb Q-Thailand 是一种电泳速度较慢的异常血红蛋白,是由于 α 珠蛋白肽链 $\alpha 1$ 基因第 74 位密码子 GAC 突变为 CAC(天冬氨酸被组氨酸代替)所造成的,与一 $\alpha^{4.2}$ 缺失型的 α 地贫存在连锁^[5,6],这能解释为何 Hb Q-Thailand 携带者检测缺失型 α 地中海贫血基因型基本都为 $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 。

单纯 Hb Q-Thailand 连锁一 $\alpha^{4.2}$ 缺失型地贫并没有明显的贫血症状^[7],可能因 $\alpha 1$ 第 74 位的天冬氨酸是位于分子表面非功能位置的氨基酸,它被取代并不影响分子构象和功能,所以 Hb Q-Thailand 临床上并无贫血表现^[8]。当 Hb Q-Thailand 复合 Hb H 时,患者 Hb 都以 Hb Q-Thailand 为主体,虽然贫血但均成年并且可以怀孕,体征与一般 Hb 病相似^[9]。48 例病例中合并其他异常地中海基因型的 2 例,1 例合并 Wexham(+TCA)in $\alpha 1$ 杂合突变,与轻型地中海贫血表现相似,1 例合并 $\beta^{41-42}/\beta N$,与常见 β 地中海贫血表现相似。

目前,国内外围绕 Hb Q-Thailand 展开的研究相对匮乏,且研究地域主要集中在广东、广西等我国南方地区,这与该异常血红蛋白病在南方地区相对高发的流行病学特征相契合。本研究所得结果与既往同地区的相关研究存在诸多相似之处,均一致表明一 $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 是 Hb Q-Thailand 最为常见的基因型之一,这充分印证了该基因型在地域分布上的稳定性与普遍性。两广及海南等南方地区作为地中海贫

血高发地区,Hb Q-Thailand 携带率的统计数据有所总结,据报道,广东梅州地区的 Hb Q-Thailand 的携带率为 0.085%^[10],广西地区 Hb Q-Thailand 的携带率为 0.06%^[11],本中心样本收集涵盖了孕妇及非孕妇、成年人与非成年人、本地与外地户籍,但实际检出 Hb Q-Thailand 的携带者局限于成年男性及女性(包括孕妇),检出携带率与其他地区 Hb Q-Thailand 的携带率相接近。

虽然广东作为地贫携带高发区,也将地贫筛查融入了婚检孕检等出生缺陷工作中,但是在实际的日常工作中,仍有许多产科、新生儿科等同道未能清楚地识别出异常 Hb 病,将血红蛋白电泳结果忽略,错误地以为做了常规的 α 缺失型及非缺失型地贫基因检查,甚至加做一个常见的 β 地贫基因检查,得出的结果即可代表筛查者真实检查结果的结论。在大量的地贫基础知识宣教后,许多临床医生明白了把观察 MCV/MCH 作为地贫筛查阳性与否的重要性,但介于自身非专业的产前诊断门诊咨询医师的前提下,往往容易忽略甚至跳过地贫血红蛋白电泳的检查,以简单的常规地贫基因作为结论,而筛查者 also 容易被该结论迷惑,错误地理解为自身非异常 Hb 地贫携带者。

以上,虽然大多数的异常 Hb 没有明显的临床症状,但是它可能的影响还是在于合并其他形式的地贫或者异常血红蛋白病,这将导致了许多的复杂的

临床表型诞生^[12]。鉴于现在临床上常用的检测试剂盒的检测范围有限,对于 Hb Q-Thailand 的检测仅停留在检测出连锁 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$,如未能及时识别,则可能有漏诊风险。比如,像本次结果中出现的 Hb Q-Thailand 合并 Wexham(+TCA)in alpha1 杂合突变,虽然携带者本人表现为轻型地中海贫血表型,但若与其他异常 Hb 血红蛋白地中海贫血基因携带者婚育,可能会孕育出各种复杂型地中海贫血基因型的诞生,且临床表型未知。所以对于可疑 Hb Q-Thailand 患者,在取得患者知情同意的前提下,及时建议疑似合并 Hb Q-Thailand 的患者进行检测,并且应告知患者预后可能,避免漏诊误诊,减少表型复杂的出生缺陷患儿,为产前诊断门诊提供准确的遗传咨询和产前诊断,同时也给产科、新生儿科等同道提供相应的帮助。曾有新生儿异常 Hb Q 的家系分析报道^[13],5 例出生后的新生儿作为先证者,进行家系遗传和地贫基因分析,才推断出 5 例先证者及其父或母的异常血红蛋白均为 Hb Q-Thailand 连锁 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 。

对于出生缺陷预防而言,准确识别这种基因型与表型的关联至关重要。通过对血液学表型及血红蛋白电泳区带的筛查,如检测 MCV、MCH、Hb Q 带等参数,可初步筛选出疑似 Hb Q-Thailand 携带者。再结合基因型检测确定 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 连锁基因型,通过知情选择 α 测序大大提高了检测出 Hb Q-Thailand 携带者的准确性,能够精准定位高风险个体。在孕前或孕期及时发现这些携带者,有助于采取针对性的干预措施,如遗传咨询、产前诊断等,以避免因父母双方均为异常 Hb 血红蛋白携带者而导致的复杂表型的出生缺陷患儿的出生。

参 考 文 献

[1] 徐湘民.地中海贫血预防控制操作指南[M].人民军医出版社,2011:2-3+8.

- [2] 黄诚,唐宁,陆碧玉,等.柳州地区异常血红蛋白 Hb Q-Thailand 合并地中海贫血筛查情况[J].中国优生与遗传杂志,2017,25(11):26-27+34.
- [3] 黄海龙,徐两蒲,林娜,等.福建省 β -地中海贫血基因突变类型分析[J].中国地方病学杂志,2012,31(2):177-181.
- [4] CHONG S, BOEHM C, CUTTING G, et al. Simplified multiplex-PCR diagnosis of common southeast asian deletional determinants of alpha-thalassemia [J]. Clinical Chemistry, 2000, 46(10):1692-1695.
- [5] 王婷.广东东莞地区的异常血红蛋白分子流行病学研究[D].广州:广州医科大学,2014.
- [6] PANYASAI S, PORNPRASERT S. Hemoglobin Q-Thailand and its combinations with other forms of thalassemia or hemoglobinopathies in northern Thailand [J]. Clinical Laboratory, 2014, 60(7):1099-1103.
- [7] 张强,范歆,韦媛,等.广西南宁地区 Hb Q-Thailand 基因分析[J].检验医学与临床,2014,11(20):2803-2804+2807.
- [8] 莫宗平,张玲,喻长顺,等.异常血红蛋白 81 例基因分析[J].广东医学,2012,(3):338-341.
- [9] 王继成,秦丹卿,杜丽,等.异常血红蛋白 Hb Q-Thailand 复合 HbH 病的分子诊断和产前诊断 [J]. 中国优生与遗传杂志,2016,24(2):12-13.
- [10] SINGSANAN S, KARNPEAN R, FUCHAROEN G, et al. Hemoglobin Q-Thailand related disorders:Origin, molecular, hematological and diagnostic aspects[J]. Blood Cells Mol Dis, 2010,45(3):210-214.
- [11] 李友琼,陈治中,梁亮,等.广西地区血红蛋白 Q-Thailand 的表型和基因型分析 [J]. 中华医学遗传学杂志,2016,33(2):164-168.
- [12] PORNPRASERT S, PUNYAMUNG M. Detection of compound heterozygous of Hb constant spring and Hb Q-Thailand by capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography [J]. Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion,2015,31(2):229-232.
- [13] 葛艳芬,刘均如,黄革,等.新生儿异常 Hb Q 的家系分析[J].临床输血与检验,2022,24(3):328-333.

(收稿日期:2025-04-23)

编辑:曲晓星