

$\alpha\beta$ 复合型地中海贫血患者的血液学与基因型研究

刘凤芝¹ 钟华¹ 麦富巨¹

[摘要] **目的:**分析 73 例 $\alpha\beta$ 复合地中海贫血患者的基因型,血液学和临床表现之间的关系,探讨和指导复杂基因型组合的临床诊断。**方法:**使用标准血液学分析技术测量红细胞参数和血红蛋白成分。反向斑点杂交技术用于诊断 β 地中海贫血和 α 地中海贫血基因点突变,间隙聚合酶链反应(PCR)技术用于检测 α 地中海贫血缺失突变。**结果:**47 例轻度 β 地中海贫血并发 α 地中海贫血(轻复合体)患者的临床表现与 β 地中海贫血携带者相同;26 例重度 β 地中海贫血和 α 地中海贫血(重症)患者均为严重贫血。轻度贫血是不同的,但大多数表型是中间地中海贫血。在 73 例患者中,8 例在 β 地中海贫血的突变基因类型中被鉴定,并且在 α 地中海贫血的突变基因类型中鉴定出 5 例。**结论:**轻型复合型的临床表现主要为轻度 β 地中海贫血,而 α 地中海贫血被掩盖;重型复合型多为中间型地中海贫血。对地中海贫血进行临床试验时,特别是对于 β 地中海贫血的携带者,建议常规筛查引起 α 地中海贫血的基因,以防止误诊和漏诊,并确保产前诊断地中海贫血的准确性。

[关键词] $\alpha\beta$ 复合型;地中海贫血;血液学;基因型

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.04.012

[中图分类号] R556.6 **[文献标志码]** A

Hematology and genotype study of patients with $\alpha\beta$ complex thalassemia

LIU Fengzhi ZHONG Hua MAI Fujun

(Department of Clinical Laboratory, Shunde District Maternal and Child, Foshan, 528000, China)

Abstract Objective: To analyze the relationship between genotype, hematology and clinical manifestations of 73 patients with $\alpha\beta$ complex thalassemia, and explore and guide the clinical diagnosis of these complex genotype combinations. **Method:** Red blood cell parameters and hemoglobin components were measured using standard hematology analysis techniques. Reverse dot blot hybridization was used to diagnose β thalassemia and alpha thalassemia gene point mutations, and gap polymerase chain reaction (PCR) technology was used to detect alpha-thalassemia deletion mutations. **Result:** The clinical manifestations of 47 patients with mild beta thalassemia complicated with alpha thalassemia (light complex) were the same as those for beta thalassemia carriers; 26 patients with severe beta thalassemia and alpha thalassemia (severe) were severe anemia. Mild anemia was different, but most phenotypes were intermediate thalassemia. Of the 73 patients, 8 were identified in the mutant gene type of beta thalassemia, and 5 were identified among the mutant gene types of alpha thalassemia. **Conclusion:** The clinical manifestations of light composite type were mainly mild β thalassemia, α thalassemia was masked; Heavy complex type was mostly intermediate thalassemia. This result suggested that when conducting clinical trials for thalassemia, especially for carriers of beta thalassemia, we recommended routine screening for genes that cause alpha-thalassemia to prevent misdiagnosis and missed diagnosis and ensure the accuracy of prenatal diagnosis of thalassemia.

Key words $\alpha\beta$ complex; thalassemia; hematology; genotype

地中海贫血是一种慢性溶血性贫血症,由球蛋白肽链基因缺陷导致 mRNA 数量减少引起,然后球蛋白肽链合成减少甚至丢失,进而导致正常血红蛋白发生变化输入体内^[1]。在中国,它主要分为 α 和 β 两种类型。如果这两种地中海贫血的携带者结婚,则可能产生 $\alpha\beta$ 复合地中海贫血的后代。轻度地中海贫血是在盒子的基因突变,临床表现为无贫血或者有轻度贫血^[2]。中间型地中海贫血患者多可存活至成年,存在不同程度贫血,需要靠定期的输血以维持生命。贫血是一种致命的疾病,出生 6 个月后,贫血症逐渐恶化^[3],每个月都需要输血。通过产前诊断预防重病儿童的出生是目前最有效

的预防措施,因此,它是临床工作中预防重症地中海贫血儿童出生的关键目标^[4]。此外,如果 β 地中海贫血与 α 地中海贫血相结合,尤其是轻复合型,由于其特定临床表型缺乏了解,临床医生在婚姻和分娩检查中往往会忽略。因此,在临床检验,结婚检查和产前检查中,应注意避免误诊和漏诊。为了更好地了解 $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血的表现,笔者收集 73 例 $\alpha\beta$ 复合地中海贫血患者,对 $\alpha\beta$ 复合地中海贫血患者的基因型及血液表型进行分析,为临床提供指导。

1 资料与方法

1.1 患者基本情况

参照《实用内科学》诊断标准,收集病例为 2017-01—2018-09 我院门诊确诊为地中海贫血的

¹ 广东医科大学顺德妇女儿童医院检验科(广东佛山, 528000)

患者 73 例,其中 47 例为轻型复合型,26 例为严重复合型。

1.2 血液样本收集

采集纳入患者 2~3 ml 外周静脉血液标本,采用迈瑞 BC6600 血常规进行血细胞计数,Sebia 全自动毛细血管电泳仪进行血红蛋白电泳和成分定量分析,对红细胞参数进行分析。

1.3 基因检测

通过磁珠法(达安 smart32 全自动核酸提取仪)从白细胞中提取外周血基因组 DNA。检测 α 和 β 地中海贫血基因(深圳市亚能生物技术有限公司),即诊断 $-\alpha4.2/$ 和 $-\alpha3.7/3,-SEA/$,缺失突变基因用于间隙 PCR(gap-PCR)技术;使用反向斑点杂交(RDB)技术诊断 α 地中海贫血 3 个点突变, β 地中海贫血 17 个点突变。

1.4 诊断标准

1.4.1 α 地中海贫血表型阳性标准 平均红细胞体积(MCV) <82 fl,平均红细胞血红蛋白含量(MCH) <27 pg,HbA₂ $<2.5\%$; β 地中海贫血表型阳性标准:MCH <27 pg,MCV <82 fl,HbA₂ $>3.5\%$ 。 β 地中海贫血的中间类型由临床表现定义。从遗传的角度来看,主要是由复杂类型引起的,通常不会发生 β 或 α 地中海贫血的携带者。诊断标准是:发病年龄,2 岁或成年后;红细胞形态异常,Hb 维持在 70~100 g/L,独立于常规输血治疗;一些严重的骨变形,对外部感染的抵抗力弱,有不同程度的脾肿大^[3-5]。

1.4.2 贫血 非常严重贫血:Hb <30 g/L;严重贫血:Hb 30~59 g/L;中度贫血:Hb 60~89 g/L;轻度贫血:90 g/L 至正常下限。

2 结果

2.1 血液学结果分析

2.1.1 血常规结果分析 47 例轻复合患者的血

常规结果细胞色素沉着低,呈小细胞,MCH 下降(18.2~24.8 pg),MCV 下降(54.8~81.4 fl),但 Hb 贫血患者性能范围从轻微到正常,具有轻微的临床表现并且不会导致严重的临床后果。26 例严重复合材料患者的血常规结果显示,患者细胞较小,贫血程度不同,色素沉着较低,14 例为轻度贫血,2 例为严重贫血,10 例为中度贫血。22 例根据诊断标准分类为中间型地中海贫血。

2.1.2 血红蛋白电泳结果分析 轻型复合型 47 例患者,44 例 HbA₂ 升高(HbA₂ 为 4.1),1 例 HbH 除外,血红蛋白电泳显示 1.4% HbCS,1.6% HbBarts, HbA₂ 下降 1.6%。胎儿血红蛋白(HbF)正常或略微升高(1.7%~4.2%),血红蛋白电泳结果与杂合子 β 地中海贫血无差异。血红蛋白电泳导致 26 例严重复杂型患者。2 例 HbA₂ 升高(分别为 5.9%和 4.0%),无 HbF;1 例 HbA₂ 升高至 9.96%,HbF 升高至 49.07%;1 例 HbA 1.1%;其余 20 例显示 HbA₂ 下降或正常(0.9%~3.4%),而 HbF 显示增加,差异较大(7.5%~93.4%)。

2.2 基因型分析结果

2.2.1 轻型复合型基因突变型和基因组成比 47 例轻型复合型患者中,检测到 5 种 β 突变基因类型,分别为 IVS-2-654(C \rightarrow T),28(A \rightarrow G),CD 41-42(-CTTT),CD 17(T \rightarrow A),-和-29(A \rightarrow G)突变。其中,CD 41-42(-CTTT)突变频率占 51.11%,最高,其次是 IVS-2-654(C \rightarrow T),CD17(T \rightarrow A),-28(A \rightarrow G)和 29(A \rightarrow G)。共检测到 5 个 α 突变:东南亚缺失(-SEA /),左侧缺失 Con-stantSpring 点突变 (α CS $\alpha/$)、(- $\alpha4.2/$)、Westmend 点突变 (α WS $\alpha/$),右侧缺失(- $\alpha3.7/$),其中-SEA /突变频率最高,为 64.44%。1 例为 HbH 疾病(基因型-SEA / α CS α)患者,其余为 α 地中海贫血杂合子。47 种轻质复合型的突变类型和基因组成比见表 1。

表 1 轻型复合型的基因突变类型及基因构成比

基因型	--SEA/ α CS α	- $\alpha3.7/$ $\alpha\alpha$	--SEA/ $\alpha\alpha$	α WS $\alpha/$ $\alpha\alpha$	- $\alpha4.2/$ $\alpha\alpha$	合计
CD41-42(CTTT)-	0	8	16	0	1	25
IVS-2-654(C \rightarrow T)	1	1	6	1	1	10
CD17(T \rightarrow A)	0	1	6	0	0	7
-28(A \rightarrow G)	0	2	1	0	1	4
-29(A \rightarrow G)	0	0	1	0	0	1
合计	1	12	30	1	3	47

2.2.2 重型复合型突变基因类型及基因构成比 严重复合型 26 例患者检出 8 种 β 突变基因,比轻复合型患者多 3 种。另外的突变是 CD27-28(+C),CD26(G \rightarrow A)和 HPFH 突变。将 8 个突变组合以形成纯合或双杂合子,形成 12 种不同的基因

型。根据单倍体突变的频率,IVS2-654C $>$ T 为 35.42%,突变的频率最高,依次为-CTTT,CD17,CD26(G \rightarrow A),-28(A \rightarrow G),CDs27-28(+C),29(A \rightarrow G)和 HPFH 突变,各为 1 例,基因型分布见表 2。

表 2 重型复合型突变基因类型及基因构成比

基因型	--SEA/ $\alpha\alpha$	- $\alpha 3.7\alpha\alpha$	- $\alpha 3.7/-\alpha 4.2$	- $\alpha 4.2/\alpha\alpha$	- $\alpha 3.7/--SEA$	- $\alpha 4.2/-\alpha 4.2$	合计
41-42/654	5	1	1	0	1	1	9
654/654	3	1	0	1	0	0	5
41-42/41-42	0	1	0	0	0	1	2
17/17	0	1	0	1	0	0	2
654/17	1	0	0	1	0	0	2
41-42/-28	0	2	0	0	0	0	2
41-42/17	1	0	0	0	0	0	1
41-42/HPFH	1	0	0	0	0	0	1
41-42/26	1	0	0	0	0	0	1
-29/654	1	0	0	0	0	0	1
-28/17	0	0	0	0	1	0	1
17/27-28	1	0	0	0	0	0	1

3 讨论

目前临床上最重要的地中海贫血类型 α 和 β 地中海贫血,根据流行病学分析结果显示, α 地中海贫血在中国地区,主要集中在广西、广东、海南、香港和台湾地区发病率较高,为 4%~15%^[5]。而 β 地中海贫血的发病率相对较低,为 1%~6%^[6]。相同类型地中海贫血患者通过杂合子婚配后,后代会造成严重地中海贫血的发病率高达 25%。不同类型的地中海贫血患者之间婚配,则发生严重地中海贫血的风险也同样升高,但是生育 $\alpha\beta$ 复合体后代的概率较其他种类概率要低,大约为 25%。尽管双杂合子通常不具备严重临床表征,但可能患有严重的地中海贫血,即胎儿水肿综合征或中度或重度 β 地中海贫血,无论其是否与 α 或 β 杂合子结合。据统计我国 α 地中海贫血基因的发病率高于 β 地中海贫血基因,尤其是在广东与广西地区,其携带率高达 10%~15%^[5]。流行病学调查结果显示, α 和 β 地中海贫血突变的发病率均低于 1%^[7]。提高 α 和 β 地中海贫血突变($\alpha\beta$ 复合地中海贫血)的诊断,提供良好的产前遗传咨询具有重要意义。

本研究结果显示,轻度地中海贫血患者的细胞色素减退不明显,但还是可能存在严重贫血的,也可能表现出轻度贫血或者未贫血。与 α 地中海贫血携带者及单纯 β 地中海贫血携带者差别不大。这类患者的血红蛋白结果显示与 β 地中海贫血杂合子的表型具有相似的影响。笔者相信这种现象与 Hb 的肽链组成有关。成人中有 3 种 Hb:HbA ($\alpha 2\beta 2$),HbA2 ($\alpha 2\delta 2$),HbF ($\alpha 2\gamma 2$),由非 α 珠蛋白肽链与 2 个 α 珠蛋白肽链共同组成。正常成年人的 HbA 含量最高,HbA2 含量范围为 2.5%~3.5%,HbF 含量 <1%。在轻复合患者中, α 肽链和 β 肽链合成均降低,但由于 HbA 比例高,合成率的降低远高于 HbA2。因此,这类患者类似于轻型 β 地中海贫血,存在 HbA2 的比例相对增加。

本研究还发现, β 地中海贫血杂合子 HbH 患者出现轻度贫血,但血红蛋白电泳导致 1.4% HbCS,1.6% HbBart's 和 HbA2 减少 1.6%,这可能是与 β 地中海贫血的 α 地中海贫血基因中和程度有关,且取决于灭活的 α 珠蛋白基因的数量。通常来说,3 种(HbH 病) α 基因失活的地中海贫血的临床表现更为明显,对 β 地中海贫血的临床表现具有明显影响,而 α 基因失活对 β 地中海贫血没有明显影响^[8]。严重复杂患者的贫血症状差异很大,从严重贫血到轻度贫血。两种严重贫血的基因型为 41-42 / 654 复合物- $\alpha 3.7/\alpha\alpha$ 和 -29/654 复合物- $\alpha 2$ 例 3.7 / $\alpha\alpha$,患者的血红蛋白电泳结果显示,随 HbA2 增加而无 HbF。正如上述结果描述, α 地中海贫血基因和 β 地中海贫血的临床程度与失活的 α 珠蛋白基因的数量有显著关系。2 例患者都很复杂- $\alpha 3.7/\alpha\alpha$,不足以平衡 α 和 β 肽链之间的不平衡,可使 α 基因失活,最终导致严重 β 地中海贫血。其余 22 例患有严重复合疾病的患者,包括患有 HbH 疾病的患者,临床表现为中度至轻度贫血,这并非完全依赖于输血的中度地中海贫血。这是因为 α 肽链在合成中也减少, β 肽链合成减少,当 β 地中海贫血与 α 地中海贫血相结合时两者之间的不平衡数量减少,因此临床症状可能是严重的复合患者中间型地中海贫血的主要基因型之一。此外,这些患有 HbH 疾病的患者之一的中间地中海贫血的原因也可以通过灭活的 α 珠蛋白基因的数量理论来解释。Tsuyoshi 等^[9] 报告了相关案例。除了 α 珠蛋白基因失活理论外,其他病例都有一个共同特征,即 HbF 明显增加。由于 β 珠蛋白的减少, γ 珠蛋白的表达增加和胎儿血红蛋白 HbF 的形成以及过量的 α 球蛋白可以纠正球蛋白肽链比例的失衡,使得 HbF 的表达水平作为 β 地中海贫血的主要表型^[10]。 β 地中海贫血患者的 HbF 水平差异很大,对有严重 β 地中海贫血的患者如果高表达的 HbF,

则可以保持血红蛋白在一定水平上的稳定,不需要定期输血,显示中间 β 的地中海贫血表型^[11]。

在临床中对于地中海贫血筛查的主要指标包括红细胞脆性与 MCV,发现两者水平均降低,同时结合 HbF 与 HbA2 以确定地中海贫血的类型。由于华南地区地中海贫血的发病率较高, $\alpha\beta$ 复合地中海贫血患者也占很大比例。根据研究,69 个 $\alpha\beta$ 复合地中海贫血检测到中国人群中最常见的突变类型。目前,临床上采用的地中海贫血基因诊断试剂盒涵盖了所有突变类型,可以避免漏诊和误诊这种地中海贫血,在日常工作中应小心谨慎。轻度复合材料患者的特征是杂合性 β 地中海贫血,如 HbA2 和(或) HbF 水平升高以及红细胞脆性变化,并且在此类标本的临床情况下, α 地中海贫血的特征被掩盖,特别是在预先的情况下怀孕或产前筛查,若一方被确诊为 α 地中海贫血,且 β 地中海贫血杂合子还检测出 α 地中海贫血,则可降低漏诊率和误诊率,以及指导产前期的地中海贫血^[12]。重要的是诊断并避免患有严重地中海贫血患儿的出生,需增强基因筛查的水平。

现有的研究对中间型 β 地中海贫血系统研究缺乏,中间型 β 地中海贫血的遗传基础知之甚少,阻碍了临床诊断和遗传咨询等临床工作的深入开展。这是中国南方重要的遗传病。本研究系统地分析了 $\alpha\beta$ 复合地中海贫血的基因型与血液学,为临床疾病的筛查与诊断提供必要的支持。

参考文献

- [1] 程道胜,李伟超,任伟超,等. 门诊输血重型 β 地中海贫血患者不规则抗体和自身抗体检测[J]. 临床血液学杂志,2017,30(12):962-965.
- [2] 廖丽丽,金皎,黄璟,等. 贵州省少数民族集中地区儿童地中海贫血筛查[J]. 贵州医科大学学报,2018,43

(4):470-474.

- [3] 陈文锋,刘恩赐,李桦. 阳江地区地中海贫血常见基因类型的调查分析[J]. 现代医院,2018,18(5):701-703.
- [4] Elbakry A, Juhász S, Mathes A, et al. DNA repair synthesis and histone deposition partner during homologous recombination[J]. Mol Cell Oncol, 2018, 5: e1511210.
- [5] Chaibunruang A, Sornkayazit K, Chewasateanchai M, et al. Years of a Prevention and Control Program in Northeast Thailand [J]. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2018, 10: e2018054.
- [6] 温德胜. 血细胞和血红蛋白分析技术在地中海贫血筛查中的应用价值[J]. 河南医学研究, 2018, 27(10): 1811-1812.
- [7] Zivot A, Lipton JM, Narla A, et al. Erythropoiesis: insights into pathophysiology and treatments in 2017 [J]. Mol Med, 2018, 24: 11.
- [8] 王林洁. 高效液相色谱法对 β 地中海贫血及异常血红蛋白的检测价值[J]. 中外医学研究, 2017, 15(19): 67-68.
- [9] Tsuyoshi H, Yoshida Y. Molecular biomarkers for uterine leiomyosarcoma and endometrial stromal sarcoma[J]. Cancer Sci, 2018, 109: 1743-1752.
- [10] 李君,侯金友,卢焱坤,等. 唐山市育龄妇女贫血患病率调查及影响因素分析[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(8): 633-636.
- [11] 曾祥兴,刘惠敏,廖悦余,等. 广东河源客家人群 $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血基因型和表现型分析[J]. 国际遗传学杂志, 2017, 40(3): 125-129.
- [12] Liu S, Huang LY, Jiang F, et al. Complex interactions between thalassemia defective alleles compromise screening and cause severe anemia in a Chinese family [J]. Int J Lab Hematol, 2018, 40: e55-e58.

(收稿日期:2018-11-29)