

## 临床研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.003184

## 重庆地区血红蛋白病的患病率及其基因型和血液学表型分析

崔 瑾<sup>1</sup>, 孙晨雨<sup>2</sup>, 程 伟<sup>1</sup>, 白慧丽<sup>1</sup>

(1. 重庆医科大学附属第一医院临床分子医学检测中心, 重庆 400016; 2. 重庆医科大学检验医学院, 重庆 400016)

**【摘要】目的:**分析重庆地区血红蛋白病的携带率、基因型构成及血液学特征,为血红蛋白病筛查及诊断方法的合理选择提供依据。**方法:**对 49 551 例进行血红蛋白病筛查的患者外周血样本,采用多重 PCR-导流杂交或测序等方法检测地中海贫血常见 23 种基因位点及血红蛋白变异体(hemoglobin variants, HbVs)相关突变位点;再对确诊血红蛋白病患者的血常规和血红蛋白电泳结果进行回顾分析,评估血常规、血红蛋白电泳二者联合检查在血红蛋白病筛查诊断中的价值。**结果:**共检出 3 511 例血红蛋白病(7.09%),其中  $\alpha$  地贫携带者 1 840 例,以  $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  和  $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  为主;  $\beta$  地贫携带者 1 540 例,以  $CD17$ 、 $IVS-II-654$ 、 $CD41-42$  为主;异常血红蛋白病 65 例,  $\beta$  链变异体为主;复合血红蛋白病 64 例,  $\alpha$  地贫复合  $\beta$  地贫携带者 57 例,地贫复合异常血红蛋白病 7 例。血红蛋白病患者的血红蛋白、红细胞平均体积、红细胞平均血红蛋白量指标降低与  $\alpha$  或  $\beta$  链合成的减少程度呈正相关,而血红蛋白 A2(adult hemoglobin 2, HbA2)分别在  $\alpha$  地贫和  $\beta$  地贫表现为降低和升高,或者在异常血红蛋白病中出现 HbVs。单独的血常规和血红蛋白毛细管电泳筛查血红蛋白病检出率分别为 84.29% 和 82.67%,二者联合筛查检出率可达 99.11%。**结论:**重庆地区血红蛋白病携带者基因型具有多样性,血常规结合血红蛋白电泳是临床及产前筛查血红蛋白病的必要手段。对于筛查出 HbVs 的患者,出现溶血或贫血等症状时,强烈建议进行后续基因分析。

**【关键词】**血红蛋白病;患病率;基因型;血液学表型**【中图分类号】**R446.9**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2022-09-21

## Prevalence, genotype and hematological phenotype analysis of hemoglobinopathy in Chongqing

Cui Jin<sup>1</sup>, Sun Chenyu<sup>2</sup>, Cheng Wei<sup>1</sup>, Bai Huili<sup>1</sup>(1. Center for Clinical Molecular Medical Detection, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;  
2. College of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University)

**【Abstract】Objective:** To analyze the prevalence, genotype composition and hematological characteristics of hemoglobinopathy in Chongqing, and to reasonably select screening and diagnostic methods for hemoglobinopathy. **Methods:** Peripheral blood samples were collected from 49 551 patients screened for hemoglobinopathy, and 23 common gene loci of thalassemia and mutations related to hemoglobin variants (HbVs) were detected by multiplex PCR-guided hybridization or sequencing. The results of routine blood test and hemoglobin electrophoresis were retrospectively analyzed to evaluate the value of the combined examination in the screening and diagnosis of hemoglobinopathy. **Results:** A total of 3 511 cases of hemoglobinopathy were detected (7.09%). Among them, there were 1 840  $\alpha$ -thalassemia and 1 540 cases of  $\beta$ -thalassemia gene carriers, respectively, mainly including  $--^{SEA}/\alpha\alpha$ ,  $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ , and  $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  for  $\alpha$ -thalassemia cases, and  $CD17$ ,  $IVS-II-654$  and  $CD41-42$  for  $\beta$ -thalassemia; there were 65 cases of abnormal hemoglobinopathy, with the majority of  $\beta$ -chain variants; there were 64 cases of complex hemoglobinopathy, including 57 cases of  $\alpha$ -thalassemia combined with  $\beta$ -thalassemia and 7 cases of thalassemia combined with abnormal hemoglobinopathy. The decrease of hemoglobin, mean corpuscular volume and mean corpuscular hemoglobin in patients with hemoglobinopathy was positively correlated with the decrease of  $\alpha$  or  $\beta$  chain synthesis, while adult hemoglobin 2 (HbA2) was respectively decreased and increased in  $\alpha$ -thalassemia and  $\beta$ -thalassemia, or there were HbVs in abnormal hemoglobinopathies. The detection rate of hemoglobinopathy was 84.29% and 82.67% by routine blood

作者介绍: 崔 瑾, Email: 363082852@qq.com,

研究方向: 疾病的分子检测及靶向治疗。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81873972)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail//50.1046.R.20230228.0906.002.html>

(2023-03-01)

test and capillary electrophoresis, respectively, and the detection rate of combined screening was 99.11%. **Conclusion:** The genotype of carriers of hemoglobinopathy in Chongqing area is diverse. Blood routine combined with Hb electrophoresis is a necessary means for clinical and prenatal screening of hemoglobinopathy. Follow-up ge-

netic analysis is strongly recommended in patients screened for HbVs who present with symptoms such as hemolysis or anemia.

**[Key words]** hemoglobinopathy; prevalence; genotype; hematologic phenotype

血红蛋白病是珠蛋白基因缺陷引起的单基因遗传性疾病<sup>[1]</sup>。该病主要分布在全球的热带和亚热带地区。我国长江以南的广大地区尤其是两广、云南、海南等地人群携带率达 12% 以上<sup>[1-5]</sup>。每年超过 33 万患儿出生, 5 岁以下儿童死亡中该病占比为 3.4%<sup>[4]</sup>。由于发病的地域性和遗传性, 人群筛查和产前诊断仍是目前阻止严重血红蛋白病患儿出生的首选预防措施。

该病包括珠蛋白肽链合成减少或不能合成的地中海贫血(简称地贫), 以及出现血红蛋白变异体(hemoglobin variants, HbVs)的异常血红蛋白病两大类, 其筛查和诊断依赖实验室血液学和基因检测。

本文对 49 551 例行血红蛋白病筛查的患者进行回顾性分析, 得到重庆地区血红蛋白病的患病率、基因型及表型特点, 同时评估了血常规、血红蛋白电泳及二者联合检测在血红蛋白病筛查中的价值。本研究样本数量可观, 为重庆地区的血红蛋白病补充了流行病学数据; 对已确诊的血红蛋白病患者进行的血液学表型分析, 为后续的疾病诊断及遗传咨询提供了有价值的资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2017 年 5 月至 2022 年 4 月在重庆医科大学附属第一医院进行血红蛋白病筛查患者的 EDTA-K2 抗凝静脉外周血为研究资料, 共 49 551 例。

### 1.2 仪器与试剂

全自动血细胞分析仪(日本希森美康 XN9000), 血红蛋白电泳仪(法国赛比亚 Capillars 2 Flex Piercing), 全自动核酸提取仪(杭州奥盛), 梯度 PCR 仪(美国 ABI Veriti), 导流杂交仪(潮州凯普), 基因分析仪(美国 ABI 3500Dx)。

血细胞稀释用分析液(日本希森美康), 血红蛋白测定试剂盒(法国赛比亚), DNA 提取试剂盒(北京天根), 地中海贫血基因检测试剂盒(潮州凯普), PCR 扩增测序反应试剂以及测序后纯化试剂(美国 ABI)。

### 1.3 研究方法

1.3.1 血常规及血红蛋白电泳检测 用全自动血细胞分析仪检测血常规, 记录红细胞计数(red blood cell count, RBC)、

血红蛋白(hemoglobin, Hb)、红细胞比容(hematocrit, HCT)、红细胞平均体积(mean corpuscular volume, MCV)、红细胞平均血红蛋白量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)、红细胞平均血红蛋白浓度(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)等指标; 用全自动毛细管电泳仪进行血红蛋白电泳检测, 记录血红蛋白 A(adult hemoglobin, HbA)、血红蛋白 A2(adult hemoglobin 2, HbA2)、血红蛋白 F(fetal hemoglobin, HbF)、HbVs 等指标。

1.3.2 外周血基因组 DNA 提取 按照试剂说明书提取外周血基因组 DNA。

1.3.3 血红蛋白病基因分析 严格按试剂说明书进行 23 种常见地中海贫血基因检测。检测位点包括 3 种常见的缺失型  $\alpha$  地贫( $-\alpha^{SEA}$ 、 $-\alpha^{4.2}$  和  $-\alpha^{3.7}$ ), 3 种常见的非缺失型  $\alpha$  地贫( $\alpha^{CS}$ 、 $\alpha^{QS}$ 、 $\alpha^{WS}$ )以及 17 种中国人常见的  $\beta$  地贫[CD41-42(-TCTT), CD43(G-T), IVS-II-654(C-T), CD17(A-T), CD14-15(+G), -28(A-G), -29(A-G), CD71-72(+A),  $\beta E(G-A)$ , IVS-I-1(G-A/T), CD27-28(+C), IVS-I-5(G-C), Cap(A-C 或-AAAC), Int(T-G), CD31(-C), -30(T-C), -32(C-A)], 对含有 HbVs 且 23 种地贫基因阴性的样本采用 DNA 测序技术对珠蛋白基因外显子进行序列分析, 并查询 HbVs 相关数据库<sup>[6-7]</sup>。

### 1.4 血红蛋白病筛查及诊断标准

筛查阳性标准: 血常规指标 RBC $<3.5 \times 10^{12}$  个/L, Hb $<115$  g/L, MCV $<82$  fL, MCH $<27$  pg, MCHC $<316$  g/L; 血红蛋白电泳指标 HbA2 $<2.5\%$  或 HbA2 $>3.5\%$  或出现 HbVs。

诊断标准: 常见地贫基因或测序检测出珠蛋白基因突变、缺失等异常者。

### 1.5 统计学处理

所有分析采用 Graphpad Prism 5 软件进行。不同类型地贫患者的血常规红细胞各参数及血红蛋白电泳 HbA2 结果统计数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。2 组间差异采用独立样本  $t$  检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 血红蛋白病患病率分析

对 49 551 例患者样本进行血红蛋白病诊断的基因检测, 共检出 3 511 例患者, 患病率为 7.09%(3 511/49 551), 其中地中海贫血基因携带者 3 439 例, 异常血红蛋白病患者 65 例, 复杂血红蛋白病携带者 7 例, 患病率分别为 6.94%、0.13%、0.01%(表 1)。

表 1 重庆地区血红蛋白病的患病率

血红蛋白病种类	病例数	构成比/%	患病率/%
$\alpha$ 地贫	1 842	52.46	3.72
$\beta$ 地贫	1 540	43.86	3.11
$\alpha$ 复合 $\beta$ 地贫	57	1.62	0.12
异常血红蛋白病	65	1.85	0.13
$\alpha$ 地贫复合异常血红蛋白病	5	0.14	0.01
$\beta$ 地贫复合异常血红蛋白病	2	0.06	0.00
总计	3 511	100.00	7.09

## 2.2 地中海贫血患者基因型分析

1 842 例  $\alpha$  地贫患者共检出 21 种基因型 (表 2), 其中以  $--^{SEA}/\alpha\alpha$  携带率最高 (50.54%), 其次为  $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  (32.57%)、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  (6.24%)、 $\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$  (3.26%) 和  $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$  (2.77%)。根据临床表型可分为静止型  $\alpha$  地贫 ( $\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha$ ) 821 例, 轻型  $\alpha$  地贫 ( $\alpha\alpha^+/\alpha\alpha^+$  或  $\alpha^0\alpha^0/\alpha\alpha$ ) 954 例, 中间型  $\alpha$  地贫 ( $\alpha^0\alpha^0/\alpha\alpha^+$ ) 62 例, 重型  $\alpha$  地贫 ( $\alpha^0\alpha^0/\alpha^0\alpha^0$ ) 5 例。

表 2  $\alpha$  地贫检出基因型及构成比 (n, %)

临床表型	基因型	例数	构成比/%
静止型 $\alpha$ 地贫 (44.57%)	/	821	44.57
	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	600	32.57
	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	115	6.24
	$\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$	60	3.26
	$\alpha\alpha^{QS}/\alpha\alpha$	22	1.19
	$\alpha\alpha^{WS}/\alpha\alpha$	22	1.19
	$\alpha\alpha/\alpha\alpha^{anti3.7}$	1	0.05
	$\alpha\alpha/\alpha\alpha^{anti4.2}$	1	0.05
	/	954	51.79
轻型 $\alpha$ 地贫 (51.79%)	$--^{SEA}/\alpha\alpha$	931	50.54
	$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	12	0.65
	$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$	3	0.16
	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha^{QS}$	2	0.11
	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha^{WS}$	1	0.05
	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha^{WS}$	1	0.05
	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha^{CS}$	1	0.05
	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha^{CS}$	2	0.11
	$\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha^{CS}$	1	0.05
	/	62	3.37
	$--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$	51	2.77
	$--^{SEA}/\alpha\alpha^{CS}$	5	0.27
中间型 $\alpha$ 地贫 (3.37%)	$--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$	5	0.27
	$--^{SEA}/\alpha\alpha^{QS}$	1	0.05
	/	5	0.27
	$--^{SEA}/--^{SEA}$	5	0.27

1 540 例  $\beta$  地贫患者共检出 23 种基因型 (表 3), 其中以  $CD17$  携带率最高 (31.36%), 其次为  $IVS-II-654$  (26.69%)、 $CD41-42$  (26.56%)、 $-28$  (3.38%)、 $\beta E$  (2.86%)。根据临床表型可分为轻型  $\beta$  地贫 ( $\beta^+/\beta$  或  $\beta^0/\beta$ ) 共 1 514 例, 中间型  $\beta$  地贫 ( $\beta^+/\beta^+$  或  $\beta^0/\beta^+$ ) 17 例, 重型  $\beta$  地贫 ( $\beta^0/\beta^0$ ) 9 例。

表 3  $\beta$  地贫检出基因型及构成比 (n, %)

临床表型	基因型	例数	构成比/%
轻型 $\beta$ 地贫	/	1 514	98.32
	$\beta^+/\beta$	411	26.69
	$IVS-II-654(C\rightarrow T)/\beta$	52	3.38
	$-28(A\rightarrow G)/\beta$	44	2.86
	$\beta^E/\beta$	12	0.78
	$-29(A\rightarrow G)/\beta$	11	0.71
	$CAP+40-+43(-AAAC)/\beta$	3	0.19
	$IVS-I-1(G\rightarrow A/T)/\beta$	1	0.06
	$-30(T\rightarrow C)/\beta$	483	31.36
	$\beta^0/\beta$	409	26.56
	$CD17(A\rightarrow T)/\beta$	30	1.95
	$CD41-42(-TCTT)/\beta$	28	1.82
中间型 $\beta$ 地贫	/	17	1.10
	$\beta^0/\beta^+$	5	0.32
	$CD17(A\rightarrow T)/IVS-II-654(C\rightarrow T)$	4	0.26
	$CD41-42(-TCTT)/IVS-II-654(C\rightarrow T)$	2	0.13
	$CD17(A\rightarrow T)/CD26(G\rightarrow A)$	2	0.13
	$CD41-42(-TCTT)/-28(A\rightarrow G)$	1	0.06
	$CD17(A\rightarrow T)/-29(A\rightarrow G)$	2	0.13
	$\beta^+/\beta^+$	2	0.13
	$IVS-II-654(C\rightarrow T)/IVS-II-654(C\rightarrow T)$	1	0.06
	$IVS-II-654(C\rightarrow T)/CAP+40-+43(-AAAC)$	9	0.58
	/	4	0.26
	$\beta^0/\beta^0$	3	0.19
重型 $\beta$ 地贫	/	2	0.13
	$CD17(A\rightarrow T)/CD17(A\rightarrow T)$	4	0.26
地贫	$CD41-42(-TCTT)/CD41-42(-TCTT)$	3	0.19
	$CD41-42(-TCTT)/CD17(A\rightarrow T)$	2	0.13

$\alpha$  复合  $\beta$  地贫携带者共检测出 57 例, 包括 16 种基因型 (表 4), 其中以  $\alpha$  地贫中  $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  或  $--^{SEA}/\alpha\alpha$  复合  $\beta$  地贫中的  $IVS-II-654(C\rightarrow T)/\beta$ 、 $CD41-42(-TCTT)/\beta$  或  $CD17(A\rightarrow T)/\beta$  检出率最高, 占  $\alpha$  地贫复合  $\beta$  地贫的 71.93% (41/57)。

## 2.3 异常血红蛋白病基因型分析

对 49 551 例外周血进行血红蛋白电泳, 筛查出 89 例样本含 HbVs, 除 17 例含血红蛋白 E 且经地贫基因检测确诊为  $\beta$  地中海贫血 ( $\beta E$ ) 外, 余下 72 例标本按 HbVs 电泳区带的差异分类后, 采用 DNA 测序法分别对  $\alpha$  及  $\beta$  珠蛋白基因进行检测共发现 16 种基因型, 结果见表 5。其中以  $\beta$  链变异体为主, Hb New York (34.72%) 及 Hb J-Bangkok (22.22%) 排前两位。

## 2.4 新型突变的确认

检出 1 例新型突变位点突变  $IVS I-60(HBA1:c.96-58 C>T)$  该突变为  $\alpha I$  基因第一个内含子的 60 号碱基 C 突变为 T (图 1)。患者血液学筛查结果如下: 血常规检测 Hb 129.0 g/L、MCV94.2 fL、MCH32.7 pg, 血红蛋白电泳检测 HbA 为 92.7%、HbA2 为 2.3%、HbF 为 5.0%。

表 4  $\alpha$  地贫复合  $\beta$  地贫检出基因型及构成比 (n, %)

基因型	表现型	例数	构成比/%
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha, IVS-II-654(C \rightarrow T)/\beta$	$\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha, \beta^+/\beta$	17	29.82
$--^{SEA}/\alpha\alpha, CD17(A \rightarrow T)/\beta$	$\alpha^0\alpha^0/\alpha\alpha, \beta^0/\beta$	7	12.28
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha, CD41-42(-TCTT)/\beta$	$\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha, \beta^0/\beta$	7	12.28
$--^{SEA}/\alpha\alpha, CD41-42(-TCTT)/\beta$	$\alpha^0\alpha^0/\alpha\alpha, \beta^0/\beta$	4	7.02
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha, CD17(A \rightarrow T)/\beta$	$\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha, \beta^0/\beta$	4	7.02
$--^{SEA}/\alpha\alpha, IVS-II-654(C \rightarrow T)/\beta$	$\alpha^0\alpha^0/\alpha\alpha, \beta^+/\beta$	2	3.51
$--^{SEA}/\alpha\alpha, CD41-42(-TCTT)/\beta$	$\alpha^0\alpha^0/\alpha\alpha, \beta^0/\beta$	2	3.51
$--^{SEA}/\alpha\alpha, CAP+40-+43(-AAAC)/\beta$	$\alpha^0\alpha^0/\alpha\alpha, \beta^+/\beta$	2	3.51
$--^{SEA}/\alpha\alpha, CD71-72(+A)/\beta$	$\alpha^0\alpha^0/\alpha\alpha, \beta^0/\beta$	2	3.51
$--\alpha^{3.7}/\alpha\alpha, CD27-28(+C)/\beta$	$\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha, \beta^0/\beta$	2	3.51
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha, CD41-42(-TCTT)/\beta$	$\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha, \beta^0/\beta$	2	3.51
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha, IVS-II-654(C \rightarrow T)/\beta$	$\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha, \beta^+/\beta$	2	3.51
$\alpha\alpha^{WS}/\alpha\alpha, IVS-II-654(C \rightarrow T)/\beta$	$\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha, \beta^+/\beta$	1	1.75
$--^{SEA}/\alpha\alpha, E(G \rightarrow A)/\beta$	$\alpha^0\alpha^0/\alpha\alpha, \beta^+/\beta$	1	1.75
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha^{CS}, IVS-II-654(C \rightarrow T)/\beta$	$\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha^+, \beta^+/\beta$	1	1.75
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha, CAP+40-+43(-AAAC)/\beta$	$\alpha\alpha^+/ \alpha\alpha, \beta^+/\beta$	1	1.75
总计	/	57	100

## 2.5 血红蛋白病患者血常规及血红蛋白电泳结果分析及筛查效能评价

以基因检测结果为金标准,收集已确诊血红蛋白病患者的血常规及电泳结果,对 RBC、Hb、MCV、MCH、MCHC 及 HbA2 指标进行回顾性分析。

根据基因和临床表型将地中海贫血分为静止型、轻型、中间型和重型,各型地贫的 RBC 大都在正常参考值范围, Hb、MCV、MCH、MCHC、HbA2 指标在  $\alpha$  地贫患者中随着基因

表 5 变异体类型及各类型所占比例 (n, %)

HbV 名字	基因突变	例数	构成比/%
Hb New York	<i>HBB:c.341T&gt;A p.Val113Glu</i>	25	34.72
Hb J-Bangkok	<i>HBB:c.170G&gt;A p.Gly56Asp</i>	16	22.22
Hb G-Honolulu	<i>HBA2:c.91G&gt;C p.Glu30Gln</i>	6	8.33
Hb G-Taipei	<i>HBB:c.68A&gt;G p.Glu22Gln</i>	6	8.33
Hb Q-Thailand	<i>HBA1:c.223G&gt;C p.Asp74His</i>	3	4.17
Hb Queens	<i>HBA1:c.104T&gt;G p.Leu34Arg</i>	3	4.17
Hb Shenyang	<i>HBA2:c.80C&gt;A p.Ala26Glu</i>	2	2.78
Hb Ube-2	<i>HBA1:c.205A&gt;G p.Asn68Asp</i>	2	2.78
Hb G-San José	<i>HBB:c.23A&gt;G p.Glu7Gly</i>	1	1.39
Hb Chongqing	<i>HBA2:c.8T&gt;G p.Leu2Arg</i>	1	1.39
Hb Nakano	<i>HBB:c.26A&gt;T p.Lys8Ile</i>	1	1.39
Hb Belliard	<i>HBA2:c.171G&gt;C p.Lys56Asn</i>	1	1.39
Hb J-Kaohsiung	<i>HBB:c.179A&gt;C p.Lys59Thr</i>	1	1.39
Hb Nikaia	<i>HBA2:c.61C&gt;G p.His20Asp</i>	1	1.39
Hb Beijing	<i>HBA2:c.51G&gt;T p.Lys16Asp</i>	1	1.39
Hb Lepore-BW	<i>NG_000007.3:g.63632_71046dedelta-beta hybrid</i>	2	2.78

分型的严重程度逐渐降低,差异有统计学意义 [ $P=0.002$  (静止型 vs. 中/重型)],其余  $P<0.001$ ];  $\beta$  地贫患者的 Hb、MCV、MCH、MCHC 指标较正常参考值降低, HbA2 较正常参考值升高,但降低或升高程度与基因分型的严重程度无明显相关。值得注意的是,静止型  $\alpha$  地贫的各项血液学参数均在正常参考值范围(表 6,图 2),  $\beta$  地贫常伴或不伴有 HbF 的代偿性增高。另外,  $\alpha$  复合  $\beta$  地贫仍然表现为小细胞低色素贫血,红细胞各项参数比单纯的轻型  $\alpha$  或轻型  $\beta$  地贫均有所改善,但 HbA2 的结果则与  $\beta$  地贫类似。

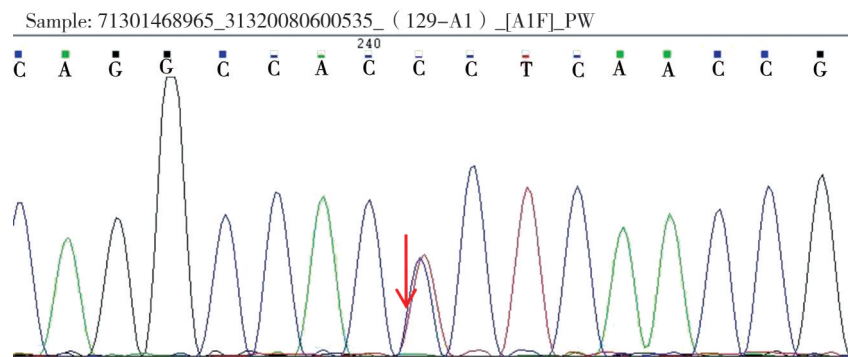


图 1 1 例含新型突变位点的标本测序结果

表 6 不同类型地中海贫血血液学特征

地贫类型	临床表型	RBC/( $\times 10^{12}$ 个 $\cdot L^{-1}$ )	Hb/(g $\cdot L^{-1}$ )	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/(g $\cdot L^{-1}$ )	HbA2/%
$\alpha$ -地贫	静止型	$4.4 \pm 0.6$	$118.0 \pm 15.4$	$82.5 \pm 6.6$	$26.7 \pm 2.5$	$322.7 \pm 14.2$	$2.5 \pm 0.3$
	轻型	$5.2 \pm 0.8$	$113.8 \pm 16.2$	$69.9 \pm 5.3$	$22.0 \pm 1.8$	$314.2 \pm 11.6$	$2.4 \pm 0.2$
	中/重型	$4.8 \pm 1.0$	$94.2 \pm 17.8$	$66.5 \pm 7.5$	$19.8 \pm 2.8$	$297.5 \pm 17.1$	$2.2 \pm 2.9$
$\beta$ -地贫	轻型	$5.0 \pm 0.9$	$103.9 \pm 17.7$	$66.6 \pm 5.8$	$20.9 \pm 2.0$	$314.5 \pm 11.3$	$5.2 \pm 0.7$
	中/重型	$4.4 \pm 0.8$	$93.0 \pm 16.0$	$68.4 \pm 4.6$	$21.1 \pm 1.0$	$308.6 \pm 11.6$	$5.2 \pm 0.2$
$\alpha$ 复合 $\beta$ -地贫		$5.2 \pm 0.6$	$114.6 \pm 9.2$	$69.5 \pm 3.5$	$22.1 \pm 1.1$	$318.5 \pm 7.9$	$5.3 \pm 0.9$

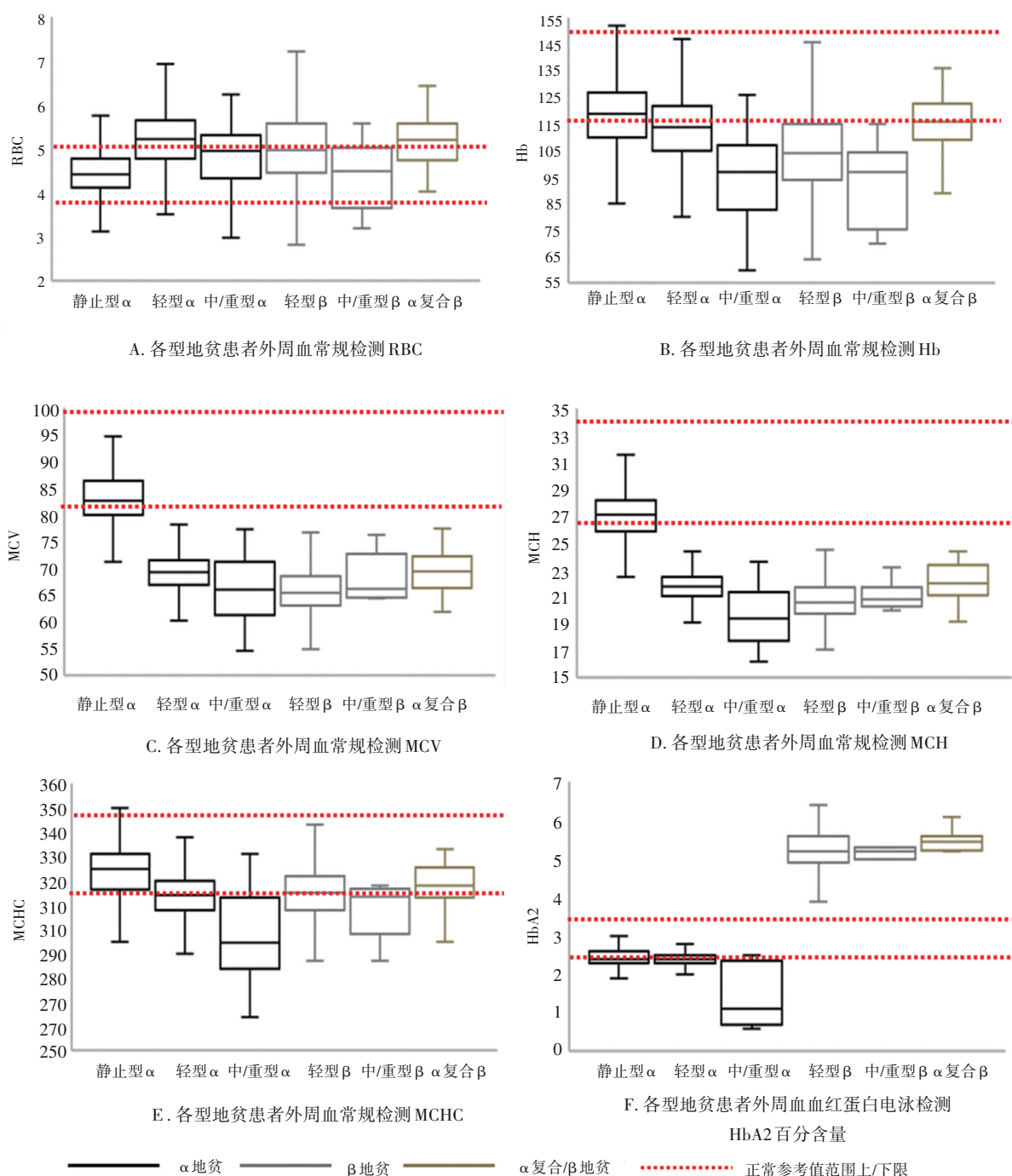


图2 不同临床表型地贫患者的血液学特征比较

对基因型明确的16种异常血红蛋白病患者的血液学指标进行回顾性分析发现,血红蛋白电泳可明确检测到除HbA、HbA<sub>2</sub>及HbF之外的HbVs,除Hb Lepore-BW外,含HbVs样本的血常规红细胞各项指标均在正常范围。但本研究中Hb Q-Thailand伴发 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 型地贫,此类患者红细胞各参数同静止型地贫;而Hb Lepore-BW复合 $\beta$ 地贫常表现为中间型或重型地贫,血液学各参数均显著低于与单纯Hb Lepore-BW患者,同时HbF明显增高(表7)。

血常规及血红蛋白电泳是筛查血红蛋白病的最常用的2种方法,本研究随后对进行了这2种检测的血红蛋白病患者的筛查阳性率进行分析,结果见表8。当血常规及血红蛋白电泳均出现异常结果再进行后续地贫相关基因检测时,漏诊率可达30.92%,漏诊基因型为 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 、 $--^{SE1}/\alpha\alpha$ 等静止型或轻型 $\alpha$ 地贫;而血常规及血红蛋白电泳之一出现异常定义为血红蛋白病筛查阳性时,漏诊率仅为0.89%。

表 7 不同类型异常血红蛋白病血液学特征

HbV	RBC/( $\times 10^{12}$ 个 $\cdot L^{-1}$ )	Hb/(g $\cdot L^{-1}$ )	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/(g $\cdot L^{-1}$ )	HbA2/%	HbVs/%	HbF/%
Q-Thailand 复合 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	5.36	138	78	25.8	333	1.8	28.6	/
Lepore-BW	6.72	149	68	22.2	326	2.7	9.7	3.4
Lepore-BW 复合 IVS-II -654/ $\beta$	3.07	65	69	21.2	305	2.1	1.8	37.2

表 8 血常规及电泳筛查血红蛋白病比较

项目	血常规	Hb 电泳	血常规和 Hb 电泳	血常规或 Hb 电泳
-	121	130	235	7
+	649	620	525	782
真阳性率/%	84.29	82.67	69.08	99.11
假阴性率/%	15.71	17.33	30.92	0.89

### 3 讨 论

本研究回顾性分析了近 5 年来重庆医科大学附属第一医院进行血红蛋白病筛查或诊断的样本数据,得到了重庆地区血红蛋白病的患病率、基因型和血液学特征。

本地区 $\alpha$ 地贫、 $\beta$ 地贫、 $\alpha$ 地贫复合 $\beta$ 地贫,异常血红蛋白病、地贫复合异常血红蛋白病患病率分别为 3.72%、3.11%、0.12%、0.13%、0.01%,血红蛋白病总体携带率约为 7.09%,较两广、海南及云南低<sup>[2-3,8]</sup>。其中, $\alpha$ 地贫最常见的基因型为 $--^{SE4}/\alpha\alpha$ 和 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ , $\beta$ 地贫最常见的基因型为 $CD17(A\rightarrow T)/\beta$ 、 $IVS-II-654(C\rightarrow T)/\beta$ 和 $CD41-42(-TCTT)/\beta$ ,异常血红蛋白病中 Hb New York (34.72%) 和 Hb J-Bangkok (22.22%) 居构成比前两位。地贫基因型构成比与已报道的重庆地区的其他研究结果及云南地区相似<sup>[9-11]</sup>,而与福建、广西、广东、海南地区不同<sup>[12-13]</sup>,表明血红蛋白病在地域和种族上都有很强的差异性,不同地区各基因型患病率及分布特点有很大差别。但随着城市化运动,人口流动与人口迁徙较为常见,不可避免地带来了病种或基因型的迁徙。

目前对于常见的 $\alpha$ 或 $\beta$ 地贫基因型分布特点的研究较多,但还有很多引起贫血的血红蛋白病的基因型没有包含在常规基因检测里。本研究通过血红蛋白电泳和测序检测,明确了重庆地区 16 种常见的 HbVs。大部分 HbVs 引起珠蛋白肽链构象改变,但珠蛋白的稳定性和功能不会受到很大的影响。因此,此类血红蛋白病患者一般无其他临床表现或仅有轻微贫血<sup>[5,14]</sup>。本研究检出 2 例 Hb Lepore-BW,

它是一种由 2 条 $\alpha$ 链和 2 条 $\delta\beta$ 链组成的 HbV,杂合子表现为 $\beta$ 链合成减少的 $\beta^+$ 型地贫,血常规呈轻型地贫表现,Hb 电泳出现含量为 7%~13%的 HbVs;当纯合子或者复合其他 $\beta$ 地贫时,会导致中间型或重型地贫,伴 HbF 代偿性增高<sup>[5,15]</sup>。另外,发现 3 例 Q-Thailand 均伴发 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 基因型的地贫者,这与文献报道一致,患者表现为小细胞低色素贫血象<sup>[16-17]</sup>。因此,对于这些检出 HbVs 的患者,尤其是合并其他疾病出现了溶血、贫血等症状时,建议进行基因分析,并应告知该病的临床特点,避免出现严重的溶血并发症。

除此之外,本研究测序确认一种新型 $\alpha$ 基因突变位点,即 $HBA1:c.96-58 C>T(IVS I-60 C>T)$ ,这在中国人群中是首次报道。患者血象未见明显小细胞低色素表现,血红蛋白电泳表现为 HbA2 降低, HbF 增高,未查到明确的致病信息。中重型 $\beta$ 地贫患者血常规收样较少,可能会造成统计结果的偏差。另外, $\alpha$ 地贫复合 $\beta$ 地贫携带者共检测出 57 例,由于患者同时存在 $\alpha$ 和 $\beta$ 珠蛋白基因缺陷,导致其 $\alpha$ 及 $\beta$ 珠蛋白链合成均相应减少,缓解了珠蛋白链比例失衡状态,所以贫血程度较单纯 $\alpha$ 地贫或 $\beta$ 地贫轻。本研究中 $\alpha$ 复合 $\beta$ 地贫患者血常规结果大都在正常参考值范围内。因此,此类患者容易被漏检,且经过电泳筛查后因 HbA2 升高多误诊为 $\beta$ 地贫<sup>[18]</sup>。

基因检测是诊断血红蛋白病的“金标准”,但检测成本尤其是高通量测序较高,对血红蛋白病的普查有一定的局限性。小细胞低色素贫血的诊断依靠血常规,而 Hb 电泳对中/重度 $\alpha$ 地贫、 $\beta$ 地中海贫血及 HbVs 的筛查有优势<sup>[19-20]</sup>。本文则通过回顾性分析对血红蛋白病筛查技术的诊断效能进行评价,发现 MCV、MCH、Hb 等血常规红细胞参数联合 HbA2、HbF 等血红蛋白电泳检测指标,当任一参数异常后即进行后续的基因检测,可以极大地降低血红蛋白病的漏诊率。现在人群血红蛋白病的防控方案主要采用血液学筛查和针对有限的突变类型的基因检测技术,如本研究中的 $\alpha$ 三联体患者因 $\alpha$ 链合成

相对增多引起 $\beta$ 链相对不足, $\gamma$ 链代偿性增多,虽然血象未见异常,但是电泳表现出HbF增多,随后则通过三联体电泳确诊。但针对突变的基因检测技术存在不能检测修饰基因或大片段缺失等缺陷,很多筛查阳性的患者很有可能在后续基因检测中被漏诊。因此,急需发展可覆盖全面血红蛋白病的低成本、简便、快速的分子筛查技术,从而为血红蛋白病的临床诊断及预防性的产前诊断和大规模快速人群分子筛查提供支撑。

## 参 考 文 献

- [1] Taher AT, Weatherall DJ, Domenica Cappellini M. Thalassaemia[J]. Lancet, 2018, 391(10116): 155–167.
- [2] 余永雄,陈 唯,陈 洁,等. 广西梧州地中海贫血流行现状及罕见基因型研究[J]. 临床检验杂志, 2022, 40(1): 74–76.
- [3] Yu YX, Chen W, Chen J, et al. Prevalence and rare genotypes of thalassemia in Wuzhou, Guangxi[J]. Chin J Clin Lab Sci, 2022, 40(1): 74–76.
- [4] 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.
- [5] Xu XM. Population-based carrier screening and prenatal diagnosis for hemoglobinopathy[J]. Hainan Med J, 2019, 30(S1): 47–55.
- [6] Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators[J]. Bull World Health Organ, 2008, 86(6): 480–487.
- [7] Weatherall DJ. The definition and epidemiology of non-transfusion-dependent thalassemia[J]. Blood Rev, 2012, 26: S3–S6.
- [8] Giardine B, Borg J, Viennas E, et al. Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations[J]. Nucl Acids Res, 2014, 42(D1): D1063–D1069.
- [9] Kountouris P, Lederer CW, Fanis P, et al. IthaGenes: an interactive database for haemoglobin variations and epidemiology[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e103020.
- [10] 徐珊珊,李铭臻,周冰斌,等. 广东省育龄夫妇地中海贫血的基因型分析[J]. 山西医药杂志, 2020, 49(23): 3195–3197.
- [11] Xu SS, Li MZ, Zhou BY, et al. Genotype analysis of thalassemia in couples of childbearing age in Guangdong Province[J]. Shanxi Med J, 2020, 49(23): 3195–3197.
- [12] Huang TL, Zhang TY, Song CY, et al. Gene mutation spectrum of thalassemia among children in Yunnan Province[J]. Front Pediatr, 2020, 8: 159.
- [13] 杜 伟,欧阳小峰,甘承文,等. 重庆地区 8 024 例地中海贫血筛查结果及地贫基因型分析[J]. 重庆医科大学学报, 2014, 39(5): 694–697.
- [14] Du W, Ouyang XF, Gan CW, et al. Screening results and genetic diagnosis of thalassemia in 8 024 cases in Chongqing region[J]. J Chongqing Med Univ, 2014, 39(5): 694–697.
- [15] 杨 娜,朱丽丹,张 颖,等. 重庆地区 108 140 例疑似贫血患者地中海贫血筛查及检出基因型分析[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(17): 1750–1756.
- [16] Yang Y, Zhu LD, Zhang Y, et al. Screening results and analysis on genotype of thalassemia in 108 140 anemia patients in Chongqing[J]. J Third Mil Med Univ, 2020, 42(17): 1750–1756.
- [17] Yang Z, Zhou WZ, Cui QX, et al. Gene spectrum analysis of thalassemia for people residing in Northern China[J]. BMC Med Genet, 2019, 20(1): 86.
- [18] Yao HX, Chen XP, Lin L, et al. The spectrum of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thalassemia mutations of the Li people in Hainan Province of China[J]. Blood Cells Mol Dis, 2014, 53(1/2): 16–20.
- [19] Ferrari G, Cavazzana M, Mavilio F. Gene therapy approaches to hemoglobinopathies[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2017, 31(5): 835–852.
- [20] 白慧丽,程 伟,崔 瑾,等. Hb Lepore-BW 伴发 IVS-II-654 杂合变异的诊断及产前筛查的临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2022, 30(2): 529–533.
- [21] Bai HL, Cheng W, Cui J, et al. Clinical diagnosis and prenatal screening of hb leporé-BW associated with IVS-II-654 heterozygous mutation[J]. J Exp Hematol, 2022, 30(2): 529–533.
- [22] 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.
- [23] Huang C, Tang N, Lu BY, et al. Screening hemoglobin Q-Thailand combined thalassemia in Liuzhou region[J]. Chin J Birth Health & Hered, 2017, 25(11): 26–27, 34.
- [24] 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(2): 164–168.
- [25] Li YQ, Chen ZZ, Liang L, et al. Analysis of the phenotype-genotype relationship of hemoglobin Q-Thailand in Guangxi[J]. Chin J Med Genet, 2016(2): 164–168.
- [26] 谢仙丽. 海南昌江地区人群  $\alpha\beta$  复合型地中海贫血基因突变类型的研究[J]. 医学检验与临床, 2020, 31(2): 64–67.
- [27] Xie XL. Study on gene mutation types of  $\alpha\beta$  compound thalassemia in Changjiang area of Hainan Province[J]. Med Lab Sci Clin, 2020, 31(2): 64–67.
- [28] 熊 辉,孙 彦,袁 博. 血红蛋白电泳、红细胞渗透脆性和血常规检测在诊断珠蛋白生成障碍性贫血的临床价值[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(8): 1089–1091, 1096.
- [29] Xiong H, Sun Y, Yuan B. Clinical value of hemoglobin electrophoresis and erythrocyte fragility combined with routine blood detection in diagnosis of thalassemia[J]. Lab Med Clin, 2019, 16(8): 1089–1091, 1096.
- [30] 孙艳虹,郑 丹,陆雯韻. 血红蛋白毛细管电泳和血液学指标在地贫筛查中的诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(7): 1081–1087.
- [31] Sun YH, Zheng D, Lu WY. The value of hemoglobin by capillary electrophoresis and hematology index in the diagnosis of thalassemia screening[J]. Labeled Immunoass Clin Med, 2019, 26(7): 1081–1087.

(责任编辑:冉明会)