

64例HbH病的基因类型与血液学相关参数分析

黎小红¹, 邓春山², 陈嵘³, 江帆², 屈艳霞², 唐盈², 陈桂兰²

1.广州市增城区中医医院妇产科, 广东 广州 511300;

2.广州妇女儿童医疗中心妇产科, 广东 广州 510623;

3.广东省妇幼保健院妇产科, 广东 广州 510010

【摘要】目的 了解广州市增城区免费孕前健康检查夫妇中血红蛋白H(HbH)病的发生率,以及不同基因类型患者的临床表型的差异。**方法** 收集2016年2月至2018年9月参加广州市免费孕前健康体检(地贫初筛)的夫妇为研究对象,应用毛细管电泳检测异常血红蛋白,Gap-PCR检测和反向斑点杂交法(RDB)检测常见 α 、 β 地中海贫血基因型,必要时基因测序。**结果** 参与地贫初筛夫妇15 144对(30 288人),参与血红蛋白电泳和基因检测9 555人,发现HbH病64例,HbH病的发病率为0.21%;48例中检测出HbH带,HbH带检出率为75.00%。64例中最常见的基因类型为 $--^{SEA}/\alpha^{3.7}$ 和 $--^{SEA}/\alpha^{4.2}$,占比分别为56.26%和39.24%;首次在本地区报道少见型HbH病基因型 $--^{SEA}/\alpha^{Polya}$ [AATAAA>AATGAA($\alpha 2$),HbA₂:c.a92A>G]和 $---^{THAI}/\alpha^{3.7}$ 各1例;非缺失型HbH病的红细胞平均体积(MCV)、平均血红蛋白量(MCH)分别为(70.85±10.65) fL、(19.98±1.13) pg,与缺失型的(59.05±6.55) fL、(18.11±1.04) pg比较差异均有统计学意义($P<0.05$);非缺失型HbH病的血红蛋白(HGB)为(93.0±24.90) g/dL,与缺失型的(100.42±15.67) g/dL比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 广州增城地区HbH病的发生率高,不同基因类型的HbH病的血常规常见参数有差异;了解HbH病的不同临床表型,有利于更好指导本地区育龄期夫妇的遗传咨询。

【关键词】 血红蛋白H病;毛细管电泳;地中海贫血;成人;孕前健康检查

【中图分类号】 R552 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)10-1253-03

Analysis of genotypes and hematological parameters of HbH disease in 64 cases of pre-pregnancy health examination. LI Xiao-hong¹, DENG Chun-shan², CHEN Rong³, JIANG Fan², QU Yan-xia², TANG Ying², CHEN Gui-lan². 1. Department of Obstetrics and Gynecology, Zengcheng Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 511300, Guangdong, CHINA; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Guangzhou Women and Children Medical Center, Guangzhou 510623, Guangdong, CHINA; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, Guangdong Maternal and Child Health Hospital, Guangzhou 510010, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the incidence of Hemoglobin H (HbH) in couples receiving pre-pregnancy health examination in Zengcheng District of Guangzhou, and to contrast the differences of clinical phenotypes among different gene types. **Methods** The couples who underwent pre-pregnancy health examination (primary screening of thalassemia) in Guangzhou from February 2016 to September 2018 were collected. Abnormal hemoglobin was detected by capillary electrophoresis; common thalassemia gene was detected by Gap-PCR and Reverse dot blotting (RDB); and gene sequencing was performed when necessary. **Results** Of 15 144 couples (30 288 cases) who participated in the primary screening of thalassemia, 9 555 people participated in hemoglobin electrophoresis and gene detection, and 64 cases of HbH were found, with the incidence of HbH disease of 0.21%; HbH band was detected in 48 cases (75.00%). The most common genotypes were $--^{SEA}/\alpha^{3.7}$ (56.26%), $--^{SEA}/\alpha^{4.2}$ (39.24%). $--^{SEA}/\alpha^{Polya}$ [AATAAA>AATGAA ($\alpha 2$), HbA₂: c. a92A>G] and $---^{THAI}/\alpha^{3.7}$ was firstly reported in this area with one case for one genotype. The mean corpuscular volume (MCV) and mean cell hemoglobin (MCH) of non-deletion HbH disease were (70.85±10.65) fL, (19.98±1.13) pg, respectively, compared with corresponding (59.05±6.55) fL and (18.11±1.04) pg in the deletion HbH disease, with no statistically significant difference ($P<0.05$); while there was no significant difference in the hemoglobin (HGB) with (93.0±24.90) g/dL versus (100.42±15.67) g/dL ($P>0.05$). **Conclusion** The incidence of HbH is high in Zengcheng District of Guangzhou, and the blood routine parameters of different genotypes of HbH are different. To understand clinical phenotypes of HbH disease is helpful to better guide the genetic counseling of thalassemia.

【Key words】 Hemoglobin H (HbH); Capillary electrophoresis; Thalassemia; Adult; Pre-pregnancy health examination

α 地中海贫血是我国长江以南地区最常见的单基因遗传病之一,是由于 α 珠蛋白链合成障碍导致的溶血性贫血^[1],本病具有复杂的分子缺陷背景,在不同的

种族、地域之间存在差异^[2-3]。 α 珠蛋白基因位于16号染色体16p13.3,共有4个 α 珠蛋白基因。3个 α 珠蛋白基因的缺失或非缺失突变可导致血红蛋白H(HbH)

科研立项:广东省广州市卫生和计划生育委科技项目(编号:20181A011035)

通讯作者:陈桂兰, E-mail: chenguilan108@163.com

病。HbH 病是存活的 α 地中海贫血个体中最严重的一种。目前已报道的中国人 HbH 病的基因突变类型主要是-- $^{SEA}/\alpha^{3.7}$ 、-- $^{SEA}/\alpha^{4.2}$ 、非缺失型主要是 SEA 复合 Hb Constant Spring (Hb CS)、Hb Quong Sze (Hb QS) 或者 Hb Westmead (Hb WS)。HbH 病严重程度从轻到重的基因型依次为-- $^{SEA}/\alpha^{3.7}$ 、-- $^{SEA}/\alpha^{4.2}$ 、-- $^{SEA}/\alpha^T\alpha$ 非缺失型 HbH 病比缺失型 HbH 病患儿的临床表现要严重^[4], 我国南方人群中 HbH 病的患病率为 0.1%~0.2%^[5], 广州新生儿筛查 HbH 病的发生率约为 0.1%^[6]。本文主要针对广州市增城区的 HbH 病的发生率、常见基因型以及相关临床表现进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 2 月至 2018 年 9 月广州市免费孕前健康检查(地贫初筛)的育龄期夫妇 15 144 对(30 288 人), 抽取 2 mL EDTA-K2 抗凝血。男方平均年龄(31.67±5.99)岁, 女方平均年龄(29.52±5.55)岁。

1.2 研究方法

1.2.1 红细胞平均体积(MCV)和平均血红蛋白量(MCH)初筛 所有受检者均测定血红蛋白(HGB)水平, 同时采用血常规 MCV 和 MCH 对育龄期夫妇进行初筛, MCV<82 fL 和/或 MCH<27 pg 为筛查异常, 夫妇一方有筛查异常者, 夫妇双方都进行毛细血管电泳检测。

1.2.2 毛细血管电泳 采用全自动毛细血管血红蛋白分析仪(Sebia, 法国)对抗凝静脉血标本进行血红蛋白分析。参照文献^[6]的方法进行检测, 判断 HbH 带, 使用 Sebia 配套的试剂和质控品。

1.2.3 PCR-RDB 检测 PCR 试剂盒由深圳益生堂生物技术有限公司提供, 用 Gap-PCR 和反向斑点杂交法(reverse dot blotting, RDB)分别进行缺失型 α 地中海贫血、非缺失型 α 地中海贫血及 β 地中海贫血基因检测, PCR 扩增及 RDB 检测严格按试剂盒说明书进行^[7]。

1.2.4 基因测序 从 UCSC 数据库 (<http://genome.ucsc.edu>) 中获取 α 珠蛋白基因(HbA1 和 HbA2 基因)的 DNA 序列。应用 Primer 5 软件设计两对引物, 分别扩增 HbA1 和 HbA2 基因珠蛋白基因(包含 3 个外显子及部分上游和下游序列), 引物序列见文献^[8], 引物由美吉生物科技有限公司合成。具体步骤见文献^[8]。

1.3 统计学方法 应用 SPSS16.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计量数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析; 计数数据比较采用 χ^2 检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HbH 发生情况及主要基因分型 参与地贫初筛对象 30 288 例, 参与毛细血管电泳检测和基因检测

样本均为 9 995 例, 发现 HbH 病例 64 例, 发生率为 0.21%; 64 例均为汉族, 62 例籍贯属于广东, 2 例籍贯属于广西, 均属于地贫高发地区。64 例 HbH 的主要基因型分布见表 1。

表 1 64 例 HbH 的基因型分布情况

| 基因类型 | 例数 | 构成比(%) |
|----------------------------------|----|--------|
| -- $^{SEA}/\alpha^{3.7}$ | 36 | 56.26 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{4.2}$ | 23 | 35.94 |
| -- $^{THAI}/\alpha^{3.7}$ | 1 | 1.56 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{OS}\alpha$ | 1 | 1.56 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ | 1 | 1.56 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$ | 1 | 1.56 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{polya}\alpha$ | 1 | 1.56 |
| 总计 | 64 | 100 |

2.2 HbH 带的检出情况 缺失型 HbH 病、非缺失型 HbH 病的 HbH 带检出率分布为 81.82% 和 75.00%, 缺失型 HbH 病合并 β 地贫均未检测出 HbH 带, 三者比较差异有统计学意义($P<0.05$); 缺失型 HbH 和非缺失型 HbH 带含量均值比较差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 2。

表 2 不同组别 HbH 病的 HbH 带检出情况

| 组别 | 例数 | HbH 带阳性数 [例(%)] | HbH 带范围 (%) | HbH 带含量 均值($\bar{x}\pm s$, %) |
|------------------------|----|--------------------|----------------|------------------------------------|
| 缺失型 HbH 病 | 55 | 45 (81.82) | 0.3~17.8 | 16.64±5.01 |
| 非缺失型 HbH 病 | 4 | 3 (75.00) | 0~22.7 | 16.73±3.91 |
| 缺失型 HbH 病合并 β 地贫 | 5 | 0 (0) | 0 | 0 |
| <i>F</i> 值/ χ^2 值 | | 16.36 | | 4.846 |
| <i>P</i> 值 | | <0.05 | | <0.05 |

2.3 不同基因类型的 HbH 病的常见血常规参数情况 非缺失型与缺失型 HbH 病的 HGB 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$); 非缺失型与缺失型 HbH 病的 MCV, MCH 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 3。

表 3 不同基因类型的 HbH 病的常见血常规参数情况($\bar{x}\pm s$)

| 基因类型 | 例数 | HGB (g/L) | MCV (fL) | MCH (pg) |
|----------------------------------|----|--------------|-------------|-------------|
| 缺失型 HbH 病 | 60 | 100.42±15.67 | 59.05±6.55* | 18.11±1.04* |
| -- $^{SEA}/\alpha^{3.7}$ | 32 | 99.53±13.24 | 59.38±5.91 | 18.21±1.07 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{4.2}$ | 22 | 95.33±14.56 | 60.91±6.56 | 18.19±1.01 |
| -- $^{THAI}/\alpha^{3.7}$ | 1 | 94.53±16.82 | 62.84±12.19 | 18.93±2.08 |
| --/合并 β 地贫 | 5 | 124.04±13.16 | 50.22±2.16 | 17.25±0.64 |
| 非缺失型 HbH 病 | 4 | 93.03±24.90 | 70.85±10.65 | 19.98±1.13 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ | 1 | 56.48±18.19 | 82.75±17.29 | 19.44±2.08 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{OS}\alpha$ | 1 | 102.12±32.13 | 75.54±16.74 | 21.52±1.24 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$ | 1 | 110.27±26.08 | 68.03±17.42 | 20.12±2.64 |
| -- $^{SEA}/\alpha^{polya}\alpha$ | 1 | 104.38±24.09 | 67.28±18.22 | 18.96±3.28 |

注: 与非缺失型 HbH 病比较, * $t=3.223, 4.159, P<0.05$ 。

2.4 基因测序 本文中 1 例血红蛋白分析提示有 HbH 带, 但常见 α 基因检测只检测到-- $^{SEA}/\alpha\alpha$, 进一步基因测序, 结果提示为-- $^{SEA}/\alpha^{polya}\alpha$ [AATAAA>AATGAA ($\alpha 2$), HbA2: c.a92A>G], 见图 1。

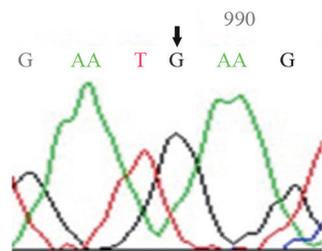


图1 基因测序结果

3 讨论

α -地中海贫血是世界范围内一种常见的单基因遗传病,这类疾病具有明显的种族和地域差异,主要高发地区为热带及亚热带地区,包括东南亚及中国南方部分地区。 α -地贫的临床表现差异显著,在存活的 α -地贫患者中,HbH病是最严重的一种。HbH病作为一种具有高度异质性的遗传性疾病,其分子缺陷的背景十分复杂且还具有明显的种族和地域差异。其发生原因是由于3个 α -珠蛋白基因缺陷所引起,红细胞内存在不稳定的 β -珠蛋白肽链四聚体是本病的最主要的特征^[9-10]。HbH病临床表型轻重不一,既可以无明显临床症状,也可以表现为轻、中度贫血、黄疸、肝脾肿大等^[11-13],严重的时候需要输血治疗。本研究中共30 288例参与地贫筛查,初筛阳性9 555例,检出HbH 64例,患病率为0.21%,比文献中报道略高^[5-6]。62例籍贯属于广东,2例籍贯属于广西,均属于地贫高发地区,可能是HbH病的发生率高的原因。所有检出的HbH患者均为第1次确诊,多数患者无明显的临床症状,部分严重的患者体格检查可以发现肝、脾肿大。本地区成例中常见的HbH病基因类型依次是--^{SEA}/ α ^{3.7}和--^{SEA}/ α ^{4.2},占比分别为56.26%和39.24%。与文献报道不太相同^[14-15]。首次在本地区报道少见型HbH病基因型--^{SEA}/ α ^{Polya}和--^{THAI}/ α ^{3.7}各1例。

HbH病的表型特征是在血红蛋白电泳时可出现基质蛋白与HbA2比值倒置,大多时候可出现快速迁移的血红蛋白带即HbH带^[16-17]。本研究血红蛋白分析结果显示缺失型HbH病和非缺失型HbH病的HbH带检出率分布为81.82%和75.00%,缺失型HbH病合并 β 地贫均未检测出HbH带,三者比较差异有统计学意义($P<0.05$);非缺失型HbH带比缺失型HbH带均值高,两者比较差异无统计学意义($P>0.05$),可能非缺失型HbH临床症状重的部分原因。缺失型HbH带合并 β 地贫和--^{SEA}/ α ^{ws},均未检测出HbH带,临床需要注意预防漏诊。

HbH病的临床表型在血液学常见参数上有差异^[18]。本研究显示HbH病的MCV,MCH比正常值明显降低,血红蛋白(Hb)的范围在56~136 g/dL,大部分表现为轻中度贫血,极少部分为重度贫血;非缺失型与缺失型HbH病的MCV,MCH相比较差异具有统计学意

义($P<0.05$)。但是Hb比较差异无统计学意义($P>0.05$)。这个结果与儿童的相关报导不一致^[9-11],可能是成年人的代偿能力不断加强导致。

综上所述,本地区是HbH病的高发地区,不同基因类型的HbH病的血常规常见参数有差异,成人大多表现为轻中度贫血。了解HbH病的不同临床表型,有利于更好地为本地区的育龄期的夫妇进行针对性的遗传咨询。

参考文献

- [1] GALANELLO R, CAO A. Gene test review. α -thalassemia [J]. Genet Med, 2011, 13(2): 83-88.
- [2] 吴洁,林丽,覃西. 78例海南 α -地中海贫血患者基因型及血液学表型分析[J]. 海南医学院学报, 2012, 18(11): 1658-1661.
- [3] 陈栋,彭小媚. 广西贺州市新生儿 α -地中海贫血调查分析[J]. 国际遗传学杂志, 2018, 41(3): 187-190.
- [4] 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, 10(20): 2648-2651.
- [5] 周玉球,肖奇志,黄丽娟,等. HbH病患者临床表现与基因型相关性的研究[J]. 中华儿科杂志, 2004, 42(9): 69-694.
- [6] XIE XM, ZHOU JY, LI T, et al. Implementation of newborn screening for hemoglobin H disease in mainland China [J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2015, 31(2): 242-246.
- [7] 陈桂兰,屈艳霞,江帆,等. 应用HPLC方法筛查广州市育龄期夫妇的异常血红蛋白病[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(6): 1768-1771.
- [8] 唐海深,江陵,陆林苑,等. 罕见 α -地中海贫血的新生儿筛查与诊断[J]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2014, 6(1): 13-15.
- [9] 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, 46(5): 294-298.
- [10] 于洁,宪莹,姚秀云,等. 重庆市学龄前儿童 α 地中海贫血的分子流行病学研究[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(5): 419-423.
- [11] 付春云,陈少科,张强,等. 广西地区1571例HbH病患者基因分型特征[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(8): 728-731.
- [12] Farashi S, Najmabadi H. Diagnostic pitfalls of less well recognized HbH disease, blood cells [J]. Molecules and Diseases, 2015, 55(4): 387-395.
- [13] Traivaree C, Boonyawat B, Monsereenusorn C, et al. Clinical and molecular genetic features of Hb H and AE Bart's diseases [J]. Appl Clin Genet, 2018, 3(11): 23-30.
- [14] 罗桂英,周红平,师招旗,等. 血红蛋白电泳联合基因检测技术诊断血红蛋白H病[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(4): 15-16.
- [15] 何升,张强,陈碧艳,等. 广西地区595例HbH病患者基因型与临床检验特点分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2015, 17(9): 908-911.
- [16] 霍梅,吴文苑,刘妹,等. 中国深圳地区孕妇毛细血管血红蛋白电泳筛查地中海贫血截断值的探讨[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(2): 536-539.
- [17] 彭娟,朱春江,郑伟华,等. HbH病与HbH病复合 β -地中海贫血患者的基因类型及血液学特征[J]. 中国临床研究, 2017, 30(9): 1192-1194.
- [18] 玉晋武,韦媛,林彩娟,等. HbH病复合 β -地中海贫血患者血液学与基因型分析[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(31): 5424-5426.

(收稿日期:2018-12-20)