

• 调查报告 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.31.038

2 650 例育龄期妇女地中海贫血的筛查结果分析

田玉玲,雷力民[△],黄伟

(广西中医药大学附属瑞康医院检验科,南宁 530011)

摘要:目的 对南宁地区 2 650 例育龄期妇女进行地中海贫血(简称:地贫)的筛查结果分析,了解人群地贫的发生率、携带率及基因类型。方法 采用血液学检查和血红蛋白(Hb)电泳对受检人群进行实验室检查,筛查疑似人群,再进一步基因分析确诊。结果 初筛出的 536 例疑为地贫患者(或基因携带者)的血液学检查结果:病例组红细胞、网织红细胞数高于对照组;Hb 低于对照组;平均红细胞体积和平均红细胞 Hb 含量显著低于对照组。Hb 电泳结果中,检出 512 例结果异常者,其中 α 地贫表型阳性 68 例, β 地贫表型阳性 438 例,确诊为 α 地贫(68 例)和 β 地贫(438 例)共计 506 例,占总受检人数的 19.09%。结果显示本地区常见的 α 地贫基因型为东南亚缺失型杂合子($-\text{SEA}/\alpha\alpha$)、右缺失型杂合子($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$)、左缺失型杂合子($-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$)、Hb Constant Spring($-\alpha^{\text{CS}}/\alpha\alpha$)点突变等, β 地贫基因型为 CD41-42 杂合子、CD17 杂合子、CD71-72 杂合子、CD28 杂合子等。结论 广西是地贫高发区,开展育龄期妇女婚前、孕前筛查,指导合理的联姻、妊娠,并通过人群干预来预防常见的人类单基因致死、致残性遗传病,对促进优生优育,提高人口素质有重要意义。

关键词:地中海贫血;育龄期妇女;血液学检查;血红蛋白电泳;基因分析

中图分类号:R446.1

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)31-4232-03

The thalassemia screening analysis of 2 650 cases of childbearing women

Tian Yuling, Lei Liming[△], Huang Wei

(Clinical Laboratory, the Affiliated Rui Kang Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530011, China)

Abstract: Objective To investigate the incidence of poverty, population carrying rate and its genetic type through the thalassemia screening analysis of 2 650 cases of childbearing women. Methods Hematologic examination and hemoglobin electrophoresis were applied in people who were laboratory tested the crowd, screening suspected people, then use the genetic analysis confirm the diagnoses. Results Preliminary screening of the 536 cases which were suspected the thalassemia (or gene carriers), hematologic examination showed that the red blood cells, reticulocyte counts in the cases were significantly higher than those in the controls; and hemoglobin, mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH) were significantly lower. Hemoglobin electrophoresis test showed that in 512 abnormal cases, 68 cases were diagnosed as α thalassemia and 438 cases were β thalassemia (506 cases in total, accounting for 19.09% of the total number). In this area, Southeast Asia (SEA) heterozygotes ($-\text{SEA}/\alpha\alpha$), right heterozygotes ($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$), left heterozygotes ($-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$), Hb Constant Spring ($-\alpha^{\text{CS}}/\alpha\alpha$) were common type of α thalassemia; CD41-42 heterozygotes, CD17 heterozygotes, CD71-72 heterozygotes and CD28 heterozygotes were common type of β thalassemia. Conclusion In Guangxi, there was high incidence rate of thalassemia, thus, though premarital and pregnancy anterior screening, guide the rational marriage and pregnancy, and through the crowd to intervene to prevent common human monogenic death and disabling genetic disorders are of great importance for prepotency promotion and population quality improve.

Key words: thalassemia; childbearing women; hematologic examination; hemoglobin electrophoresis; gene analysis

地中海贫血(简称地贫)又称珠蛋白生成障碍性贫血,是合成血红蛋白(Hb)的珠蛋白肽链减少或缺失导致 Hb 结构异常,导致的慢性溶血性贫血。此疾患因为在世界上的高发生率和临床表现的严重性,已成为影响人类健康的严重公共卫生问题,被 WHO 列为危害人类健康的 6 种常见病之一。在我国主要分布在广西、广东、海南、福建等省份,其中广西人群中地贫基因的携带率为 12.22%~23.02%,由于此病的治疗费用高、难度大,对人民的身心健康构成了很大的威胁^[1-2]。为了解广西地区人群的地贫发生率、携带率及基因类型,为卫生部门制订相应的干预措施提供重要的参考数据,笔者对来本院进行婚前、孕前检查的育龄期妇女进行地贫的实验室检测,筛查为阳性者再做进一步的基因分析,并收集相关资料进行统计,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 1 月至 2013 年 8 月在本院门诊进行婚前、孕前检查的育龄期妇女 2 650 例,年龄 21~43 岁;

另选本院体检中心体检的健康女性 100 例(对照组),年龄 20~42 岁,血常规、血清铁蛋白(SF)及 Hb 电泳的各项指标均在正常范围。

1.2 方法

1.2.1 检测项目 每位受检者于清晨抽取静脉血 3 管,其中两管各 2 mL 加入 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝管,分别做血常规、Hb 电泳和地贫基因分析,第 3 管 3 mL 加入无抗凝生化管做 SF 测定。红细胞(RBC)5 项参数测定:RBC、Hb、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、网织红细胞(RET),用 Sysmex XE-2100 全自动血液分析仪检测。Hb 电泳:用法国 Sebia 全自动电泳分析仪做琼脂糖凝胶电泳,试剂为原配套试剂。SF 测定:用 Cobase 601 免疫化学发光分析仪及配套试剂。基因诊断:南宁金域医学检验所检验,3 种常见缺失型 α 地贫基因分析用 Gap-PCR 技术检测,3 种点突变 α 地贫基因和 17 种 β 地贫基因分析用反向斑点杂交技术检测。

表 1 病例组血液参数检查结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	RBC($\times 10^{12}$ 个/L)	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	RET(%)	SF($\mu\text{g/L}$)
病例组	536	4.88 \pm 0.69	101.6 \pm 10.1	69.1 \pm 6.6	23.0 \pm 2.2	2.5 \pm 0.9	132.0 \pm 2.2
对照组	100	4.13 \pm 0.50	126.3 \pm 10.9	84.4 \pm 2.5	31.2 \pm 1.9	1.8 \pm 0.5	126.0 \pm 2.1
t		2.036	2.143	2.688	2.853	2.292	1.342
P		<0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.05	>0.05

1.2.2 正常参考区间 血常规:MCV 为 82.6~99.1 fL, MCH 为 26.9~33.3 pg^[3]; Hb 电泳:成人 HbA2 为 2.0%~3.5%, HbF<2.0%, 没有出现异常血红蛋白带^[4]; SF:4.63~204.00 $\mu\text{g/L}$ ^[5]。若 MCV<79 fL, MCH<27 pg, HbA2 \leq 2.0%, 出现异常血红蛋白带(HbH、Hb Bart's), 判为 α 地贫表型阳性; 若 MCV<79 fL, MCH<27 pg, HbA2>3.5% 或 HbF>2.0%, 则判为 β 地贫表型阳性^[4]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血液参数检查结果(初筛) 在 2 650 例受检人员中, 筛查出 MCV<79 fL、MCH<27 pg、SF 正常的有 536 例, 疑为地贫患者(或基因携带者)及其他异常 Hb 病(病例组)。病例组 RBC、RET 明显高于对照组($P<0.05$); Hb 明显低于对照组($P<0.05$); MCV 和 MCH 显著低于对照组($P<0.01$); 病例组与对照组之间 SF 比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 见表 1。

2.2 Hb 电泳结果 对初筛的 536 例病例组进行 Hb 电泳检测, 检出 512 例结果异常者(占 95.52%), 包括: α 地贫表型阳性 68 例, 阳性率 12.69%(68/536), 占总受检人数的 2.56%, 其中 HbH + HbBart's 63 例; HbH 5 例; HbA2 为 1.2%~2.0%, 平均(1.60 \pm 0.35)%。 β 地贫表型阳性 438 例, 阳性率 81.71%(438/536), 占总受检人数的 16.53%, 其中 HbA2>3.5% 277 例, HbA2>3.5% 合并 HbF>2.0% 者 161 例; HbA2 为 3.5%~6.2%, 平均(5.3 \pm 0.65)%。其他异常 Hb 6 例, 阳性率 1.12%(6/536), 占总受检人数的 0.23%, 其中 HbE 4 例, HbG 1 例, HbD 1 例。

2.3 基因分析结果 对 68 例 Hb 电泳检测的 α 地贫表型阳性标本再进行 α 地贫基因分析, 确诊为 α 地贫, 其中包括: $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ (39 例), $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ (6 例), $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (7 例), $\alpha^{\text{CS}}/\alpha\alpha$ (8 例), $\alpha^{\text{WS}}/\alpha\alpha$ (2 例), $-\text{SEA}/\alpha^{\text{CS}}\alpha$ (2 例), $-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$ (3 例), $-\text{SEA}/-\alpha^{4.2}$ (1 例); 对 438 例 Hb 电泳检测的 β 地贫表型阳性标本再进行 β 地贫基因分析, 确诊为 β 地贫, 其中包括: CD41-42(188 例), CD17(101 例), CD71-72(51 例), CD28(49 例), TVS-II-654(32 例), IVS-I-1(11 例), CD43(5 例), CD29(1 例)。

2.4 不同基因型地贫血液学参数比较 轻型 α 地贫和 β 地贫患者的 RBC、Hb、MCV、MCH、RET 结果比较, 差异无统计学意义($P>0.05$), 而随基因受损数目增多的中间型地贫患者的 Hb、MCV 和 MCH 值偏低, 和静止型、轻型 α 地贫和 β 地贫患者的红细胞参数结果比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); 镜下 RBC 形态观察, 因贫血轻重程度不同, RBC 的大小和中心淡染区有不等的扩大, 有异形、靶形、碎片 RBC, 且随贫血程度的轻重不等, 细胞的异形性也不同, 以 $-\text{SEA}/\alpha^{\text{CS}}\alpha$ 、 $-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 、 $-\text{SEA}/-\alpha^{4.2}$ 、CD41-42、CD17、CD71-72、CD43 型的变化更明显。

3 讨 论

地贫按受累基因的种类分成不同的类型, α 地贫和 β 地贫

是常见且较重的两种。 α 地贫是由于基因中 DNA 发生不同程度的缺失和缺陷, 累及 α 基因, 发生不同程度和类型的贫血, 如果 4 个 α 基因仅缺失 1 个为静止型, 缺失 2 个为标准型(轻型), 缺失 3 个为 HbH (β_4) 病(中间型), 4 个全部缺失则 α 链绝对缺乏, 为 α^0 地中海贫血(重型), 在临床上表现为极严重的胎儿水肿综合征, 胎儿多在妊娠末期或产下 30 min 内死亡。 β 地贫是常染色体隐性遗传, β 链合成减少或缺乏的直接原因是 β 链的信使 RNA(mRNA) 的缺乏或没有活性。 如果父母双方均为 β 地贫杂合子, 子女的 1/4 从双亲均遗传到 β 地贫基因, 表现为纯合子 β^0 (重型), 1/2 从父母一方遗传到 β 地贫基因, 表现为杂合子(轻型)。 重型 β 地贫的患儿发育不良, 出生几个月开始出现中度到重度贫血, 需要依靠长期输血维持生命, 给家庭和社会带来沉重的精神和经济负担。 为此, 若夫妻双方都带有同类型地贫基因, 即为地贫高风险夫妇, 胎儿必须接受产前诊断, 及时采取有效措施, 这是目前预防本病行之有效的方法。

本研究通过对 2 650 例婚前、孕前期育龄期妇女的实验室检查结果统计分析, 初步筛查出地贫疑似阳性的病例组 536 例, 表现为 RBC、RET 增高, Hb 降低, MCV 和 MCH 显著降低, 病例组 SF 与对照组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。 由于地贫患者 RBC 体积小, Hb 含量少, 且 RBC 中 β_4 、 γ_4 、HbF 的含量相对增高, 这类物质和氧的亲合力高, 使 RBC 在组织中不宜释放出氧气使机体缺氧, 在 RBC 胞膜上包涵体作用下细胞破坏加速, 造成慢性进行性溶血性贫血, 缺氧和贫血刺激红细胞生成素的分泌量增加, 促使骨髓增加造血, RBC 和 RET 数增高, 又因 Hb 组分的改变使单位体积 Hb 含量和 MCH 减少。 SF 的测定, 排除了在血液学、形态学及临床表现上同是小细胞低色素的缺铁性贫血。 由于静止型 α 地贫与健康人群的血液学参数重叠区较大, 在血液学筛查地贫中, $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{\text{CS}}/\alpha\alpha$ 有较高的漏诊, 使得 α 地贫的检出率偏低。 在检出并确诊的 α 地贫和 β 地贫患者的血液学参数中, 随基因受损数目增多, Hb、MCV 和 MCH 值越低, 细胞形态的异形性更明显。

Hb 电泳能将 Hb 中各组分定量检测出 HbA、HbF、HbA2、HbH、HbE、HbG、HbD 等的含量, 能对异常 Hb 疾病进行初步分类, 将地贫初步分为 α 地贫或 β 地贫, 为临床诊断和进一步的基因确诊、遗传咨询提供了基础^[6]。 本研究中对初筛的 536 例病例组进行 Hb 电泳检测, 筛查出 512 例结果异常者, 占初筛病例组的 95.52%。 余 24 例用常规电泳方法无法测出, 是因结构的异常不引起电荷变化(中性氨基酸取代中性氨基酸)的潜隐性异常 Hb。

目前, 国内外用于明确诊断地贫的是 PCR 技术, 结合其他分子生物学手段来检测 α 、 β 地贫的基因^[7-8]。 本研究中对初筛的 536 例病例组进行 Hb 电泳检测, 筛查出 512 例结果异常者, 占初筛病例组的 95.52%。 余 24 例用常规电泳方法无法测出, 是因结构的异常不引起电荷变化(中性氨基酸取代中性氨基酸)的潜隐性异常 Hb。

基因型为 CD41-42 杂合子、CD17 杂合子、CD71-72 杂合子、CD28 杂合子等。 α 地贫检出率偏低,除静止型 α 地贫血液学指标多在正常范围内,在实验室中还没有理想的筛查静止型 α 地贫贫血的方法(除外基因检测),造成较高的漏诊。目前,已发现的 α 地贫基因突变型有 81 种,在中国人中发现了 7 种缺失(3 种 α^+ 地中海贫血和 4 种 α^0 地中海贫血),本实验室只能检测 3 种缺失($-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ 、 $-\alpha^{SEA}$)及 3 种点突变(CS、QS、WS), β 地中海贫血基因突变类型有 186 种,在我国已报道 27 种点突变^[9-12]。本实验室能检测常见的 17 种点突变,所以存在着缺失及突变的漏检。

广西是地贫高发区,在人群中进行地贫检查、筛查显得尤为重要。虽然地贫基因携带者、静止型和轻型患者无明显自觉症状,对健康也未能造成大的危害,但中、重型地贫是严重的致死、致残性血红蛋白病,目前没有很好的治疗手段和根治办法,只能依靠规律输血和除铁维持生命。在育龄期妇女中开展婚前、孕前筛查,指导合理的联姻、妊娠,并通过人群干预来预防常见的人类单基因致死、致残性遗传病,对促进优生优育、提高人口素质有重要意义。

参考文献:

- [1] 邓俊耀,龙安翼,李惠. 桂林市城镇育龄人群地中海贫血现状调查[J]. 中华流行病学杂志,2009,30(2):156-158.
- [2] 吕福通,谢丹尼,陈一君,等. 广西区计划生育服务网络开展地中海贫血干预经验[J]. 中国计划生育学杂志,2009,

(上接第 4231 页)

较明显,与 NC 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。充分验证并成功筛选出 2 对能够有效抑制滑膜细胞中 TNF- α 表达的 siRNA (TNF- α -2、TNF- α -3)为进一步研究 TNF- α 的基因治疗奠定基础。

基因组学研究显示,数个基因组区间与 OA 关系密切,例如 TNF- α 、IL-1 等基因^[12]。siRNA 应用于沉默特定基因表达,通过抑制致病因子 TNF- α 等的基因功能,使针对致病基因的 siRNA 用于临床治疗疾病成为可能,将给创伤性关节炎的研究提供新思路。

参考文献:

- [1] Buckwalter JA, Brown TD. Joint injury, repair, and remodeling: roles in post-traumatic osteoarthritis[J]. Clin Orthop,2004(423):7-16.
- [2] Dirschl DR, Marsh JL, Buckwalter JA, et al. Articular fractures[J]. J Am Acad Orthop Surg,2004,12(6):416-423.
- [3] Chikanza I, Fernandes L. Novel strategies for the treatment of osteoarthritis[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2000,9(7):1499.
- [4] Sandra K, Leo ABJ, Alison MB, et al. Different roles of tumour necrosis factor and interleukin-1 in murine streptococcal cell wall arthritis[J]. Cytokine,1998,10(9):690-702.
- [5] Kobayashi M, Squire GR, Mousa A, et al. Role of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in matrix degradation of human osteoarthritic cartilage [J]. Arthritis

4(4):241-242.

- [3] 丛玉隆,金大鸣,王鸿利,等. 中国人群成人静脉血细胞分析参考范围调查[J]. 中华医学杂志,2003,83(14):1201-1205.
- [4] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:29-35.
- [5] 叶应妩,王毓三,申子瑜,等. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版,南京:东南大学出版社,2006:392-393.
- [6] 张玲,胡朝晖,吴鹏,等. 4 种方法筛查血红蛋白病的探讨[J]. 中国实用医药,2009,4(1):15-17.
- [7] 陈萍. α 地中海贫血分子基础与临床研究现状[J]. 广西医学,2004,26(5):619-621.
- [8] 李林海. β 地中海贫血的分子杂交诊断技术及其进展[J]. 中国优生与遗传杂志,2001,9(5):113.
- [9] 莫宗平,喻长顺,胡朝晖,等. α 地中海贫血的基因诊断方法[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2012,6(3):682-684.
- [10] Bank A. Regulation of human fetal hemoglobin:new players,new complexities [J]. Blood,2006,107(2):435-443.
- [11] 张俊武,龙桂芳. 血红蛋白与血红蛋白病[M]. 南宁:广西科学技术出版社,2003:204-234.
- [12] 李巍,何蕴韶. 遗传咨询[M]. 郑州:郑州大学出版社,2003:405-419.

(收稿日期:2014-03-15 修回日期:2014-06-22)

Rheum,2005,52:128-135.

- [6] 邓廉夫,柴本甫,齐进. 损伤性和骨关节炎性滑膜细胞成骨作用的体外研究[J]. 中华骨科杂志,1997,17(11):693-695.
- [7] Lopez-Armada MJ, Carames B, Lires-Dean M, et al. Cytokines,tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta, differentially regulate apoptosis in osteoarthritis cultured human chondrocytes[J]. Osteoarthritis Cartilage,2006,14(7):660-669.
- [8] Goldring MB, Otero M, Tsuchimochi K, et al. Defining the role of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism[J]. Ann Rheum Dis,2008,67(3):75-82.
- [9] Mendes AF, Caramona MM, Carvalho AP, et al. Differential roles of hydrogen peroxide and superoxide in mediating IL-1 induced NF-kappaB activation and iNOS expression in bovine articular chondrocytes[J]. Cell Biochem, 2003,88(4):783-793.
- [10] Daheshia M, Yao JQ. The interleukin 1beta pathway in the pathogenesis of osteoarthritis [J]. J Rheumatol, 2008, 35(12):2306-2312.
- [11] Aagaard L, Rossi JJ. RNAi therapeutics: principles, prospects and challenges[J]. Adv Drug Deliv Rev,2007,59(2/3):75-86.
- [12] Loughlin J. The genetic epidemiology of human primary osteoarthritis:current status[J]. Expert Rev Mol Med, 2005,7(9):1-12.

(收稿日期:2014-05-08 修回日期:2014-09-22)