

论著·临床研究

足月新生儿 β 地中海贫血基因携带者 筛查指标及cut-off值的研究

杨金玲 蔡稔 陈大宇 谭建强 黄丽华

(柳州市妇幼保健院医学遗传科/柳州市出生缺陷预防与控制重点实验室, 广西 柳州 545001)

[摘要] **目的** 探讨足月新生儿 β 地中海贫血(β 地贫)基因携带者的筛查指标及其cut-off值。**方法** 对进行 β 地贫筛查(新生儿足跟血滤纸干血片血红蛋白分析和17种 β 珠蛋白基因突变检测)的1193例足月新生儿的资料进行回顾性分析,将筛查指标水平与 β 地贫基因携带的相关性进行多因素logistic回归分析,并进行筛查指标对 β 地贫基因携带诊断价值的受试者工作特征曲线(ROC)分析。**结果** 1193例中 β 地贫基因携带者638例。HbA₂为0的637例(53.39%)中携带 β 地贫基因的310例、 β 地贫基因阴性327例;HbA₂不为0的556例(46.61%)中携带 β 地贫基因的328例、 β 地贫基因阴性228例。HbA₂为0者,与 β 地贫基因阴性组比较, β 地贫基因携带组的HbA含量较低、HbF含量较高,差异有统计学意义($P<0.01$);HbA₂不为0者,与 β 地贫基因阴性组比较, β 地贫基因携带组的HbA含量较低、HbF及HbA₂/HbA比较高,差异有统计学意义($P<0.01$)。HbA₂为0者,HbA、出生胎龄及两者联合对 β 地贫基因携带诊断的ROC曲线分析的AUC分别为0.865、0.515、0.870,其中HbA及HbA联合出生胎龄的AUC相近,均具有诊断意义($P<0.01$)。HbA₂不为0者,HbA、HbA₂/HbA比及两者联合对 β 地贫基因携带诊断的ROC曲线分析的AUC分别为0.943、0.885、0.978,均具有诊断意义($P<0.01$),以两者联合的AUC最大。HbA₂为0者,HbA为11.6%时对 β 地贫基因携带诊断的ROC曲线的AUC最大,灵敏度为85.81%、特异度为79.82%;HbA₂不为0者,HbA为16.1%~22.0%、HbA₂/HbA比>1.4时对 β 地贫基因携带诊断ROC曲线的AUC最大,灵敏度为91.38%、特异度91.89%。**结论** HbA及HbA₂/HbA比是筛查足月新生儿 β 地贫基因携带的有效指标。

[中国当代儿科杂志, 2018, 20(12): 990-993]

[关键词] β 地中海贫血;基因携带者;受试者工作特征曲线;足月新生儿

Screening indices and their cut-off values for full-term neonates carrying β -thalassemia gene

YANG Jin-Ling, CAI Ren, CHEN Da-Yu, TAN Jian-Qiang, HUANG Li-Hua. Department of Medical Genetics, Liuzhou Maternal and Child Health Care Hospital, Liuzhou, Guangxi 545001, China (Cai R, Email: lzcairen@126.com)

Abstract: Objective To investigate the screening indices and their cut-off values for full-term neonates carrying β -thalassemia gene. **Methods** A retrospective analysis was performed for the clinical data of 1193 full-term neonates who underwent β -thalassemia screening (hemoglobin analysis with dried blood spots on neonatal heel blood filter paper and mutation detection of 17 β -globin genes). A multivariate logistic regression analysis was used to investigate the association between screening indices and β -thalassemia gene, and the receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the value of screening indices in determining the presence or absence of β -thalassemia gene. **Results** Of the 1193 neonates, 638 carried β -thalassemia gene. Of the 1193 neonates, 637 (53.39%) had no HbA₂, among whom 310 carried β -thalassemia gene and 327 did not carry this gene; 556 (46.61%) had HbA₂, among whom 328 carried β -thalassemia gene and 228 did not carry this gene. As for the neonates without HbA₂, the β -thalassemia gene group had a significantly lower HbA level and a significantly higher HbF level than the β -thalassemia gene-negative group ($P<0.01$).

[收稿日期] 2018-06-21; [接受日期] 2018-11-09

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360091); 卫生行业科研专项项目(201202017); 广西医疗卫生课题资助项目(Z2015189)。

[作者简介] 杨金玲,女,硕士,主管技师。

[通信作者] 蔡稔,女,主任技师。

As for the neonates with HbA₂, the β -thalassemia gene group had a significantly lower HbA level and significantly higher HbF and HbA₂/HbA ratio than the β -thalassemia gene-negative group ($P<0.01$). In the neonates without HbA₂, HbA, gestational age, and HbA combined with gestational age had an area under the ROC curve (AUC) of 0.865, 0.515, and 0.870, respectively, in determining the presence or absence of β -thalassemia gene ($P<0.01$), and HbA and HbA combined with gestational age had a similar AUC and a certain diagnostic value. In the neonates with HbA₂, HbA, HbA₂/HbA ratio, and HbA combined with HbA₂/HbA ratio had an AUC of 0.943, 0.885, and 0.978, respectively, in determining the presence or absence of β -thalassemia gene. The HbA combined with HbA₂/HbA ratio had the largest AUC. In the neonates without HbA₂, HbA had the largest AUC in determining the presence or absence of β -thalassemia gene at the cut-off value of 11.6%, with a sensitivity of 85.81% and a specificity of 79.82%. In the neonates with HbA₂, an HbA of 16.1%-22.0% and an HbA₂/HbA ratio of >1.4 had the largest AUC in determining the presence or absence of β -thalassemia gene, with a sensitivity of 91.38% and a specificity of 91.89%. **Conclusions** HbA and HbA₂/HbA ratio are effective indices for screening out full-term neonates carrying β -thalassemia gene.

[Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(12): 990-993]

Key words: β -Thalassemia; Gene carrier; Receiver operating characteristic curve; Full-term neonate

β 地中海贫血(简称 β 地贫)是由于位于第11号染色体的 β -珠蛋白基因决定簇发生点突变或缺失导致 β -珠蛋白肽链合成部分减少(β^+)或缺失(β^0)以及 α/β 链比例失衡而产生的溶血性贫血,是我国南方最常见的单基因遗传病^[1-2]。 β 地贫基因携带者只涉及一个 β 珠蛋白基因缺陷,有一个正常的 β 珠蛋白基因,能够合成 β -珠蛋白链,多无临床症状,但在新生儿期和儿童期可能于某些诱因下出现急性溶血发作而影响生长发育。目前对于新生儿期 β 地贫基因携带者的筛查缺乏有效指标,以血常规参数作为初筛指标灵敏度及特异度不高^[3];胎儿或新生儿脐带血的HbA亦可辅助筛查 β 地贫基因携带者,但HbA的含量存在出生胎龄依赖性,而实验室通常使用单一的HbA水平作为截断值,灵敏度较差^[4-6]。本研究对进行 β 地贫筛查的1193例足月新生儿进行回顾性分析,探讨足月新生儿 β 地贫基因携带的筛查方法。

1 资料与方法

1.1 研究对象

以2013年1月至2017年7月柳州市妇幼保健院新生儿疾病筛查中心进行 β 地贫筛查,并排除了中重度 β 地贫、伴有其它异常血红蛋白、采集标本前已行输血以及出生资料不全的1193例足月新生儿为研究对象。

1193例中 β 地贫基因携带者638例,基因阴性的555例。HbA₂为0的637例中根据基因检测结果分为 β 地贫基因携带组(310例)、基因阴性组(327例);HbA₂不为0的556例中 β 地贫基因携带组328例,基因阴性组228例。

1.2 β -地中海贫血筛查

出生72h后采集足跟血,滴于S&S903新生儿筛查专用滤纸,5个工作日内送检,使用CAPILLARYS 2 NEONAT FAST全自动毛细管电泳技术进行血红蛋白分析。使用深圳益生堂生物企业有限公司 β 地贫基因检测试剂盒检测中国人群常见的17种 β 珠蛋白基因突变。

1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0和MedCal 3.0软件进行数据处理。正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用两独立样本 t 检验;非正态分布的计量资料采用中位数四分位数 $[P_{50}(P_{25}, P_{75})]$ 表示,组间比较采用Mann-Whitney U 检验。计数资料以率(%)表示,两组间比较采用 χ^2 检验。并进行筛查指标与 β 地贫基因携带的logistic回归分析;以及筛查指标对 β 地贫基因携带诊断的受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 β 地贫基因携带与基因阴性组新生儿的比较

HbA₂为0时, β 地贫基因携带组与基因阴性组在性别、出生胎龄及体重方面的差异无统计学意义($P>0.05$), β 地贫基因携带组的HbA含量较低、HbF含量较高($P<0.01$),见表1。HbA₂不为0者, β 地贫基因携带组与基因阴性组在性别、出生胎龄、体重及HbA₂含量方面的差异无统计学意义($P>0.05$), β 地贫基因携带组的HbA含量较低、HbF及HbA₂/HbA比较高($P<0.01$),见表2。

表1 HbA₂为0者β地贫基因携带与基因阴性组的比较

参数	β地贫基因 阴性组 (n=327)	β地贫基因 携带组 (n=310)	$t(\chi^2)$ 值	P 值
男性 [n(%)]	161(49.24)	174(56.13)	(3.033)	0.082
出生胎龄 ($\bar{x} \pm s$, 周)	38.6 ± 1.1	38.6 ± 1.1	0.4	0.69
出生体重 ($\bar{x} \pm s$, g)	3146 ± 393	3133 ± 390	0.436	0.663
HbA ($\bar{x} \pm s$, %)	15 ± 6	8 ± 3	19.259	<0.001
HbF ($\bar{x} \pm s$, %)	84 ± 6	91 ± 4	-15.926	<0.001

表2 HbA₂不为0者β地贫基因携带与基因阴性组的比较

参数	β地贫基因 阴性组 (n=228)	β地贫基因 携带组 (n=328)	$t(\chi^2)[Z]$ 值	P 值
男性 [n(%)]	116(50.88)	189(57.62)	(2.471)	0.116
出生胎龄 ($\bar{x} \pm s$, 周)	39.4 ± 1.0	39.3 ± 1.0	1.149	0.251
出生体重 ($\bar{x} \pm s$, g)	3236 ± 393	3268 ± 392	-0.95	0.342
HbA ($\bar{x} \pm s$, %)	24 ± 6	13 ± 4	21.717	<0.001
HbF ($\bar{x} \pm s$, %)	75 ± 7	86 ± 5	-18.452	<0.001
HbA ₂ [$P_{50}(P_{25}, P_{75})$]	0.2(0.2, 0.3)	0.3(0.2, 0.4)	[-2.627]	<0.009
HbA ₂ /HbA [$P_{50}(P_{25}, P_{75})$]	1.0(0.7, 1.3)	2.1(1.6, 2.6)	[-15.5345]	<0.001

2.2 筛查指标与β地贫基因携带相关性的logistic回归分析

因HbA与HbF具有共线性,本研究纳入更常用的HbA。据文献^[7-8]新生儿HbA的含量与胎龄有相关性,因此将HbA、HbA₂/HbA比及出生胎龄纳入回归分析,结果显示:对于HbA₂为0的足月新生儿,出生胎龄及HbA可作为筛查β地贫基因携带的指标;HbA₂不为0者,HbA和HbA₂/HbA比可作为β地贫的筛查指标。见表3。

表3 筛查指标与β地贫基因携带相关性的logistic回归分析

参数	B	SE	OR (95%CI)	P 值
HbA ₂ 为0者				
出生胎龄	0.37	0.10	1.46(1.19~1.78)	<0.001
HbA	-0.41	0.03	0.66(0.62~0.71)	<0.001
HbA ₂ 不为0者				
出生胎龄	0.16	0.17	1.12(0.84~1.64)	0.598
HbA	-0.42	0.04	0.66(0.61~0.71)	<0.001
HbA ₂ /HbA	2.45	0.29	11.61(6.56~20.54)	<0.001

2.3 筛查指标对β地贫基因携带诊断的ROC曲线分析

HbA₂为0者,HbA、出生胎龄及两者联合对

β地贫基因携带诊断的ROC曲线分析的AUC分别为0.865、0.515、0.870,其中HbA及HbA联合出生胎龄的AUC相近,均具有诊断意义($P<0.01$);HbA₂不为0者,HbA、HbA₂/HbA及两者联合对β地贫基因携带诊断的ROC曲线分析的AUC分别为0.943、0.885、0.978($P<0.01$),以HbA与HbA₂/HbA联合的AUC最大。见图1、图2。

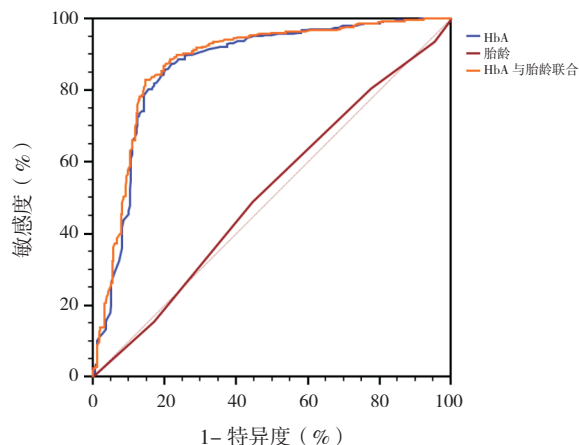


图1 HbA₂为0者筛查指标对β地贫基因携带诊断的ROC曲线分析

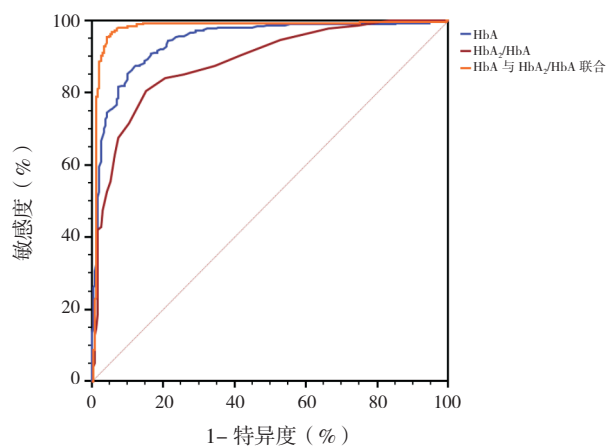


图2 HbA₂不为0者筛查指标对β地贫基因携带诊断的ROC曲线分析

HbA₂为0者,HbA的最佳cut-off值为≤11.6%,灵敏度85.81%、特异度79.82%;HbA₂不为0者,HbA为16.1%~22.0%、HbA₂/HbA比>1.4对β地贫基因携带诊断ROC曲线的AUC最大,灵敏度91.38%、特异度91.89%。见表4。

表4 筛查指标对 β 地贫基因携带诊断的ROC曲线分析的cut-off值

HbA (%)	HbA ₂ /HbA	灵敏度 (%)	特异度 (%)	AUC
≤ 11.6	0	85.81	79.82	0.865
11.7~12.0	>1	81.48	100	0.933
12.1~16.0	>1.2	95.35	76.92	0.843
16.1~22.0	>1.4	91.38	91.89	0.967
>22.1	>2.2	83.33	99.27	0.849

3 讨论

β 地贫是由于 β 珠蛋白基因发生缺失或突变,导致 β 肽链合成减少,因此HbA($\alpha_2\beta_2$)含量降低而HbF、HbA₂含量相对增加的一种遗传性溶血性贫血。 β 地贫基因携带者通常无临床症状,只涉及到一个 β 珠蛋白基因缺陷。目前国内 β 地贫基因检测多采用多重PCR体系扩增结合膜反向杂交技术,检测中国人群的8个常见位点和9个少见位点突变,覆盖了99%的常见 β 地贫基因突变。对于大片段缺失和重复的 β 地贫基因位点或罕见点突变,必需通过其它检测技术,如多重连接依赖性探针扩增技术或Sanger测序^[9-10]。但这些检测技术要求高,仪器昂贵,结果判读难度大,限制了其在基层医疗单位的应用。初生新生儿HbF($\alpha_2\gamma_2$)约占70%、HbA($\alpha_2\beta_2$)约30%、HbA₂($\alpha_2\delta_2$)不到1%;随着胎龄增加, β 肽链合成增加、 γ 肽链合成减少,因此HbA含量逐渐增加、HbF逐渐减少。Mantikou^[7]、周曼等^[8]研究指出,因HbA含量与出生胎龄相关,早产儿进行 β 地贫筛查时应使用相应胎龄的HbA切值^[11]。足月新生儿HbA的含量相对稳定,采用HbA进行 β 地贫筛查发现:携带 β 地贫基因的足月新生儿HbA水平低于正常新生儿^[7,12-13]。本研究携带 β 地贫基因的足月新生儿HbA含量也减低,提示HbA可能作为足月新生儿 β 地贫基因携带的筛查指标。

有研究^[14]认为HbA₂/HbA用于新生儿 β 地贫基因携带筛查可提高灵敏度。本研究发现,HbA₂不为0者,HbA与HbA₂/HbA联合对 β 地贫基因携带诊断的AUC更大,提示HbA₂/HbA用于新生儿 β 地贫基因携带筛查可提高灵敏度,与文献相符。而且本研究进一步得出对于HbA₂为0者,HbA为11.6%时对 β 地贫基因携带诊断的灵敏度为85.81%、特异度79.82%;HbA₂不为0

者,HbA(cut-off 16.1%~22.0%)联合HbA₂/HbA(cut-off >1.4)对 β 地贫基因携带诊断的灵敏度达91.38%、特异度91.89%。

综上,HbA及HbA₂/HbA是筛查足月新生儿 β 地贫基因携带的有效指标,但要实现其临床应用尚需要进一步开展多中心大样本研究。

[参考文献]

- [1] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of α and β thalassaemia in Guangdong province: implications for the future health burden and population screening[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5): 517-522.
- [2] 蔡玲,李莉艳,梁昕,等.柳州市城镇人群 α 和 β 地中海贫血的发生率调查和基因型鉴定[J].中华流行病学杂志,2002,23(4): 281-285.
- [3] 王偲颖,方星,韩媛媛,等.脐血红细胞参数MCV和HbA定量对新生儿 β -地中海贫血筛查的意义[J].中国妇幼保健,2016,31(22): 4803-4805.
- [4] 林乘龙,葛艳芬,王景健,等.不同孕周胎儿脐血血红蛋白A相对含量比较[J].中国妇幼保健,2017,32(12): 2687-2689.
- [5] 万志丹,黄湘,钟裕恒,等.滤纸干血片毛细管电泳技术检测HbA在筛查新生儿 β -地中海贫血中的应用价值[J].检验医学,2017,32(12): 1128-1131.
- [6] 郭浩,杜丽,唐斌,等.脐血血红蛋白电泳在新生儿地中海贫血筛查中的应用[J].实用医学杂志,2014,30(12): 1953-1955.
- [7] Mantikou E, Arkesteijn SG, Beckhoven van JM, et al. A brief review on newborn screening methods for hemoglobinopathies and preliminary results selecting beta thalassemia carriers at birth by quantitative estimation of the HbA fraction[J]. Clin Biochem, 2009, 42(8): 1780-1785.
- [8] 周曼,刘启英,赵钿,等.不同孕周新生儿脐血血红蛋白电泳结果分析[J].天津医药,2013,41(4): 307-309.
- [9] 郝颖,徐晓昕,徐志勇,等.多重连接依赖性探针扩增技术在 α 地中海贫血产前诊断中的应用[J].中华医学遗传学志,2015,32(5): 683-686.
- [10] Kubikova N, Babariya D, Sarasa J, et al. Clinical application of a protocol based on universal next-generation sequencing for the diagnosis of beta-thalassaemia and sickle cell anaemia in preimplantation embryos[J]. Reprod Biomed Online, 2018, 37(2): 136-144.
- [11] 杨金玲,陈大宇,谭建强,等.早产儿 β 地中海贫血筛查分析[J].中国儿童保健杂志,2018,26(5): 468-471.
- [12] Giordano PC. Newborn screening for hemoglobinopathies using capillary electrophoresis[J]. Methods Mol Biol, 2013, 919: 131-145.
- [13] Mantikou E, Harteveld CL, Giordano PC. Newborn screening for hemoglobinopathies using capillary electrophoresis technology: Testing the capillars neonat fast Hb device[J]. Clin Biochem, 2010, 43(16-17): 1345-1350.
- [14] 黄烁丹,张惠琴,邹婕,等.新生儿干血斑 β 地中海贫血筛查方法的研究[J].中国实验诊断学,2015,19(4): 582-586.

(本文编辑:俞燕)