

论著·临床研究

广西地区 595 例 HbH 病患者基因型与 临床检验特点分析

何升 张强 陈碧艳 黄朋 唐燕青 韦媛 陈秋莉 郑陈光

(广西壮族自治区妇幼保健院遗传代谢中心实验室, 广西 南宁 530003)

[摘要] **目的** 探讨广西地区 HbH 病患者的基因类型及其临床特点。**方法** 采用单管多重 PCR 结合琼脂糖凝胶电泳和反向斑点杂交确定 595 例患儿地贫基因型, 并分析不同基因型的贫血程度。**结果** 595 例 HbH 病患者中包括 $--^{SEA}/\alpha^{3.7}$ 232 例, $--^{SEA}/\alpha^{CS}$ 174 例, $--^{SEA}/\alpha^{4.2}$ 122 例, $--^{SEA}/\alpha^{WS}$ 35 例, $--^{SEA}/\alpha^{QS}$ 24 例, 检出罕见泰国缺失型复合 α 地贫 -2 型 HbH 病 8 例, 其中合并 CD41-42、CD17-28、CD26、IVS-II -654、IVS-I -1 和 CD27-28 等轻型 β 地贫 23 例。其中 HbH-CS 患儿贫血程度最重, HbH-WS 最轻, 均为小细胞低色素贫血。**结论** 广西地区 HbH 病患者基因型以缺失型为主, 有一定的轻型 β 地贫合并率, 非缺失型 HbH 病患者多较缺失型贫血重。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(9): 908-911]

[关键词] HbH 病; 基因型; 贫血; 儿童

Genotypes and clinical features of 595 children with HbH disease in Guangxi, China

HE Sheng, ZHANG Qiang, CHEN Bi-Yan, HUANG Peng, TANG Yan-Qing, WEI Yuan, CHEN Qiu-Li, ZHENG Chen-Guang. Department of Genetic Metabolism, Maternal and Children Health Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530003, China (Zheng C-G, Email: piger561220881@163.com)

Abstract: Objective To investigate the genotypes and clinical features of children with HbH disease in Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. **Methods** A total of 595 children from Guangxi were recruited. Single-tube multiplex polymerase chain reaction combined with agarose gel electrophoresis, as well as reverse dot blotting, were performed to detect the three α -globin gene deletion mutations ($--^{SEA}$, $-\alpha^{3.7}$, and $-\alpha^{4.2}$) and three non-deletion mutations (Hb Westmead, Hb Constant Spring, and Hb Quong Sze) which are common in the Chinese population. **Results** Among the 595 cases, five common genotypes were identified, which were $--^{SEA}/\alpha^{3.7}$ (232 cases), $--^{SEA}/\alpha^{CS}$ (174 cases), $--^{SEA}/\alpha^{4.2}$ (122 cases), $--^{SEA}/\alpha^{WS}$ (35 cases), and $--^{SEA}/\alpha^{QS}$ (24 cases). The genotype of THAI deletion associated with α -thalassemia-2 was detected in eight cases. Six β -mutations including CD41-42, CD17-28, CD26, IVS-II-654, IVS-I-1, and CD27-28 were identified in 23 cases. All children with HbH disease had microcytic hypochromic anemia; children with HbH-CS disease had the most severe anemia, and those with HbH-WS disease had the mildest anemia. **Conclusions** Deletional HbH disease is the main type in children with HbH disease in Guangxi, and some patients also have mild beta-thalassemia. Non-deletional HbH disease shows more severe phenotype than deletional HbH disease.

[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(9): 908-911]

Key words: HbH disease; Genotype; Anemia; Child

根据贫血的程度, α -地中海贫血(简称“地贫”)分为静止型、轻型、HbH 病和重型地贫。静止型多无贫血, 轻型多表现为轻度贫血或正常, 由于

α -地贫基因复合的不同, HbH 病临床表现异质性较大, 重度贫血者依赖输血维持生命, 重型患儿不能存活。研究表明 HbH 病患者合并 β -地贫时,

[收稿日期] 2014-12-29; [接受日期] 2015-02-25

[基金项目] 国家自然科学基金(81260093); 广西科技厅攻关项目(桂科攻 14124004-1-5); 广西卫生厅自筹课题(Z2014146); 广西卫生厅适宜技术课题(S201309-04)。

[作者简介] 何升, 男, 博士, 助理研究员。

[通信作者] 郑陈光, 男, 主任医师。

其贫血程度有所减轻,多表现为轻度贫血或正常,广西地区地贫发病率居全国之首,地贫基因型多样,为了解该地区 HbH 病患儿的基因类型及其血液学特点,为贫血患儿的临床诊断和治疗提供依据,本研究对 2006 年 1 月至 2014 年 12 月在广西壮族自治区妇幼保健院确诊的 595 例 HbH 病患儿的临床资料进行分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2006 年 1 月至 2014 年 12 月在广西壮族自治区妇幼保健院经基因确诊为 HbH 病的患儿 595 例,其中男 351 例,女 244 例,年龄 3 个月至 17 岁。

1.2 研究方法

采用 SEY2010 血球仪进行全血细胞分析,伯乐公司 Variant II 高效液相色谱分析仪进行血红蛋白分析,试剂均为仪器配套;免疫比浊法测定血清铁蛋白,采用贝克曼公司 HL75 生化分析仪,试剂为浙江伊利康生物技术有限公司产品;单管多重 PCR 体系扩增结合琼脂糖凝胶电泳检测 3 种常见缺失型 α 珠蛋白基因 ($--^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 及 $-\alpha^{4.2}$),反向点杂交技术检测 3 种常见突变型 ($\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{WS}\alpha$ 和 $\alpha^{QS}\alpha$),以及 CD41-42, IVS- II -654, CD17, -28, CD26, CD71-72, CD43, -29, 起始密码子 ATG $\rightarrow$ AGG, CD14-15, CD27-28, -32, -30, IVS- I -1, IVS- I -5, CD31, CAP+40-+43 等 17 种 β -地贫基因检测,试剂盒购于深圳亚能生物技术公司,按说明书进行操作、质量控制及结果判断。对临床提示 HbH 病,常规基因分析非 HbH 病者,进行泰国缺失型检测或进一步 NDA 序列分析。

1.3 HbH 病临床诊断

详细询问家族史,结合血液学指标、血清铁蛋白水平和基因分析结果进行诊断,贫血诊断标

准参照文献^[1]。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行分析,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料采用百分率 (%) 表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

595 例 HbH 患儿中,共检出 9 种基因型(表 1)。其中以缺失型为主,占 60.2%, $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 最常见,占 39.0%;其次为 $--^{ESA}/\alpha^{CS}\alpha$,占 29.2%, $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$,占 20.5%;共检出罕见泰国缺失型 H 病患者 8 例,其中 7 例父母一方为泰国缺失型携带者,1 例母亲为 $-\alpha^{3.7}$,父亲拒绝检查,在 588 例 HbH 患儿中进行 β 珠蛋白基因检测,检出轻型 β -地贫 23 例,检出率 3.9%。在本研究中检出非缺失型 HbH 病 237 例,其中 HbH-WS 36 例 (15.2%),HbH-CS 177 例 (74.7%),HbH-QS 24 例 (10.1%)。从贫血程度看,HbH-CS 和 HbH-QS 患儿发生中度、重度贫血的比例分别占 85.4% 和 81.8%;HbH-WS 和 HbH 病合并轻型 β -地中海贫血患儿未见重度贫血,中度贫血的比例仅占 11.8% (表 2)。贫血患儿均为小细胞低色素,当合并轻型 β -地中海贫血时,血红蛋白升高,但小细胞形态更明显, $--^{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$, $\beta+$ 组的 MCV 与 $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$, $\beta+$ 组比较差异无统计学意义,但与其他组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); $--^{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$, $\beta+$ 组的 Hb 与其他组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);另外, $--^{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$, $\beta+$ 组的 HbH 与 $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$ 均为 0,明显低于其他组 ($P < 0.05$); $--^{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$, $\beta+$ 组的 HbA2 与 $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$, $\beta+$ 组比较差异无统计学意义,但与其他组比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表1 595例HbH病患者基因型分布 [例(%)]

α 基因突变类型	β 基因突变类型								合计
	β 珠蛋白基因正常 (β^N)	CD41-42	CD17	-28	CD26	IVS- II -654	IVS- I -1	CD27-28	
-- ^{SEA} / α ^{3.7}	225(37.8)	4(0.7)	0(0)	0(0)	1(0.2)	1(0.2)	0(0)	1(0.2)	232(39.0)
-- ^{THAI} / α ^{3.7}	3(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0.5)
-- ^{SEA} / α ^{4.2}	116(19.5)	2(0.3)	2(0.3)	0(0)	1(0.2)	1(0.2)	0(0)	0(0)	122(20.5)
-- ^{THAI} / α ^{4.2}	1(0.2)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.2)
-- ^{SEA} / α ^{CS}	168(28.2)	2(0.3)	1(0.2)	2(0.3)	0(0)	0(0)	1(0.2)	0(0)	174(29.2)
-- ^{THAI} / α ^{CS}	3(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0.5)
-- ^{SEA} / α ^{OS}	22(3.7)	0(0)	1(0.2)	1(0.2)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	24(4.0)
-- ^{SEA} / α ^{WS}	33(5.6)	2(0.3)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	35(5.9)
-- ^{THAI} / α ^{WS}	1(0.2)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.2)
合计	572(96.1)	10(1.7)	4(0.7)	3(0.5)	2(0.3)	2(0.3)	1(0.2)	1(0.2)	595(100)

表2 595例HbH病患者贫血情况 [例(%)]

基因型	贫血程度				合计
	正常	轻度	中度	重度	
--/ α ^{3.7}	12(2.0)	72(12.1)	140(23.5)	4(0.7)	228(38.3)
--/ α ^{4.2}	11(1.9)	38(6.4)	65(10.9)	3(0.5)	117(19.7)
--/ α ^{CS}	1(0.2)	24(4.0)	132(22.2)	14(2.4)	171(28.7)
-- ^{SEA} / α ^{OS}	1(0.2)	3(0.5)	15(2.5)	3(0.5)	22(3.7)
--/ α ^{WS}	10(1.7)	20(3.4)	4(0.7)	0(0)	34(5.7)
HbH病, β^+	6(1.0)	8(1.3)	9(1.5)	0(0)	23(3.9)
合计	41(6.9)	165(27.7)	365(61.3)	24(4.0)	595(100)

注: -- 包括 --^{SEA} 和 --^{THAI}。

表3 595例HbH病患者血液学特点 ($\bar{x} \pm s$)

基因型	例数	血液学指标				
		Hb(g/L)	MCV(fl)	MCH(fl)	HbH(%)	HbA2(%)
--/ α ^{3.7}	228	88 ± 13	53 ± 9	18.1 ± 4.1	5.3 ± 4.6	1.5 ± 0.4
--/ α ^{4.2}	117	91 ± 17	55 ± 8	17.2 ± 4.1	4.7 ± 5.6	1.4 ± 0.5
--/ α ^{CS}	171	77 ± 13	64 ± 8	18.0 ± 2.6	7.4 ± 2.1	1.1 ± 0.5
-- ^{SEA} / α ^{OS}	22	83 ± 19	62 ± 9	18.2 ± 2.1	9.1 ± 8.5	1.1 ± 0.6
--/ α ^{WS}	34	106 ± 21	62 ± 8	19.8 ± 3.4	0	2.4 ± 0.3
-- ^{SEA} / α ^{3.7} , β^+	7	101 ± 22	52 ± 9	16.7 ± 4.9	2.9 ± 1.9	4.3 ± 0.5
-- ^{SEA} / α ^{4.2} , β^+	6	96 ± 7	51 ± 16	15.2 ± 2.0	3.8 ± 1.9	4.6 ± 0.7
-- ^{SEA} / α ^{CS} , β^+	6	90 ± 15	54 ± 15	17.1 ± 3.6	4.5 ± 1.4	3.8 ± 1.4
-- ^{SEA} / α ^{OS} , β^+	2	92 ± 28	58 ± 19	17.3 ± 5.7	14.6 ± 12.7	3.1 ± 1.9
-- ^{SEA} / α ^{WS} , β^+	2	112 ± 20	59 ± 13	18.2 ± 4.0	0	5.2 ± 2.6
F 值		43.926	27.685	0.963	21.945	106.341
P 值		<0.001	<0.001	0.737	<0.001	<0.001

注: -- 包括 --^{SEA} 和 --^{THAI}; β^+ : 表示 β 地贫携带者。

3 讨论

HbH病,根据其基因突变类型可分为缺失型和非缺失型两种类型,是因3个 α 地贫基因突变导致 α 珠蛋白肽链合成明显减少,过多的珠蛋白链形成四聚体所致。研究显示 α 地贫基因突变类型及频率存在一定的地区差异,这将导致HbH病基因类型及分布也有所不同^[2-6]。本研究595例HbH病患者中,基因型以缺失型为主,占60.2%。 $--^{SEA}/\alpha^{3.7}$ 是最常见的类型,占39.0%;其次为 $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ 和 $--^{SEA}/\alpha^{4.2}$,这与本地区 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 突变率较高一致^[2-3],也与 $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ 患儿血程度较重,且发生贫血年龄较早有关。另检测罕见泰国缺失型H病8例,对其父母进行血液筛查和进一步基因诊断,7例患儿父母一方为泰国缺失型携带者,1例患儿母亲为 α 地贫 $-\alpha^{3.7}$,父亲拒绝检查。

过去研究显示在泰国、香港等东南亚地区HbH-WS流行率较低,广西地区流行率也较低^[6-7],这与HbH四聚体在红细胞内的含量较低仅为0.5%有关,采用一般的血红蛋白电泳和色谱分析等常规方法不能将其检出^[8-10],且其贫血程度较轻,多表现为轻度贫血或正常。本研究结果显示HbH-WS在非缺失型HbH病中的比例为15.2%(36/237),明显低于HbH-CS的74.7%(177/237),但高于HbH-QS的10.1%(24/237),这与本地区地贫发生率较高和近年来加强了防治力度与深度有关。表2、表3结果显示,仅4例HbH-WS患儿表现为中度贫血,其余为轻度贫血或正常,且其Hb水平明显高于其他类型HbH病,未能检出HbH包涵体。

广西地区 α 合并 β 地贫率较高^[11],本研究中588例HbH病患者进行了 β 珠蛋白基因检测,共检出HbH病合并 β 地贫杂合子23例。研究表明 β 地贫对 α 地贫贫血状况有一定改善,重型 β 地贫合并HbH病患者Hb水平多维持在80~100 g/L,且不需要输血^[12];HbH病合并轻型 β 地贫表现为中度贫血,这可能与 α 合并 β 地贫者的 α 珠蛋白链和非 α 珠蛋白链相对保持平衡,其往往表现为中间型地贫贫血特点。表3结果显示各类HbH病合并轻型 β 地贫患儿的Hb水平均较单纯HbH病患者明显升高,其中3.7 HbH合并轻型 β 地贫升高最明显,这可能与该组患儿年龄较小有关;但

仍以HbH-CS最低,其次为HbH-QS, HbH-WS最高,其中以轻度到中度贫血为主,其贫血程度与未合并轻型 β 地贫比较差异有统计学意义,但其MCV、MCH水平较低。

综上,广西地区HbH病患者有其独特的基因谱,缺失型最为常见,合并 β 地贫率较高;其临床表现异质型较大,HbH-CS贫血程度最重,HbH-WS最轻,但缺失型患儿的MCV和MCH水平较非缺失型患儿高。在儿童贫血临床诊断及育龄人群产前干预时,应对这些特点加以重视。

[参考文献]

- [1] 胡亚美,江载芳.实用儿科学[M].第7版.北京:人民卫生出版社,2002:1714-1717.
- [2] Xiong F, Sun M, Zhang X, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China[J]. Clin Genet, 2010, 78(2): 139-148.
- [3] Pan HF, Long GF, Li Q, et al. Current status of thalassemia in minority populations in Guangxi, China[J]. Clin Genet, 2007, 71(5): 419-426.
- [4] 林业辉,范联,张章,等.471例儿童 α 地中海贫血缺失型基因谱分析[J].中国当代儿科杂志,2012,14(4): 264-266.
- [5] 温柏平,樊茂,代宏剑,等.昆明地区儿童地中海贫血筛查和基因诊断分析[J].中国当代儿科杂志,2011,13(2): 104-106.
- [6] Laosombat V, Viprakasit V, Chotsampancharoen T, et al. Clinical features and molecular analysis in Thai patients with HbH disease[J]. Ann Hematol, 2009, 88(4): 1185-1192.
- [7] Chen FE, Ooi C, Ha SY, et al. Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in Chinese patients[J]. N Engl J Med, 2000, 343(8): 544-550.
- [8] 李东明,韦媛,何升,等.高效液相色谱分析筛查地中海贫血32638例分析[J].现代仪器与医疗,2014,20(5): 38-40.
- [9] Yin XL, Zhang XH, Zhou TH, et al. Hemoglobin H disease in Guangxi province, southern China: clinical review of 357 patient[J]. Acta Haematol, 2010, 124(9): 86-91.
- [10] 徐咏梅,邹团标,张毅,等.儿童珠蛋白生成障碍性贫血的红细胞参数筛查截断值探讨[J].检验医学与临床,2011,8(19): 2349-2350.
- [11] 李东明,玉晋武,韦媛,等.南宁地区14096例儿童地中海贫血筛查与基因诊断分析[J].中国小儿血液与肿瘤杂志,2013,18(6): 259-263.
- [12] Kanavakis E, Traeger-Synodinos J, Lafio-niatis S, et al. A rare example that coinheritation of a severe form of beta-thalassemia and alpha-thalassemia interact in a 'synergistic' manner to balance the phenotype of classic thalassemic syndromes[J]. Blood Cells Mol Dis, 2004, 32(2): 319-324.

(本文编辑:王庆红)