• 短篇论著 •

# ROC 曲线分析鉴别表型正常 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者 血细胞参数的价值探讨\*

陈启斌1,胡 薇2,陈培松3,赵启波1,周 斌1

(1. 昭通市第一人民医院检验科,云南昭通 657000;2. 广州中医药大学顺德医院检验科, 广东广州 528000;3. 中山大学附属第一医院检验科,广东广州 510030)

摘 要:目的 评价  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血(简称  $\alpha$  地贫)基因携带者且血常规指标红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞体积分布宽度(RDW)全部在正常参考范围,和健康人群血细胞分析结果的差异,并通过 ROC 曲线来确定鉴别公式和截点值。方法 收集中山大学附属第一医院 2017 年 10 月至 2018 年 8 月基因检测为  $\alpha$  地贫基因携带者但表型正常的患者 62 例,另收集 98 例体检健康者,检测所有  $\alpha$  地贫基因携带者和健康者血常规五分类和贫血三项(铁蛋白、叶酸、维生素  $B_{12}$ ),结果正常。结果 表型正常的  $\alpha$  地贫基因携带者同健康人群相比,MCV 和 MCHC 两项指标差异统计学意义,MCHC×MCV/10 000 有较高的鉴别作用,ROC 曲线下面积(AUC)0.856,截点值在 2.9%;特异度 93.5%,灵敏度 73.5%;MCH×MCV/1 000,ROC 曲线下面积(AUC)达 0.838,截点值在 2.5%;特异度 2.5%,是敏度 2.5%;从CHC×MCH/10 000,ROC 曲线下面积(AUC)达 0.827,截点值在 2.5%;特异度 2.5%,是敏度 2.5%; MCHC×MCH/10 000,ROC 曲线下面积(AUC) 达 0.827,截点值在 2.5%;特异度 2.5%,是敏度 2.5%; MCHC×MCH/10 000,ROC 曲线下面积(AUC) 达 0.827,截点值在 2.5%;特异度 2.5%,是敏度 2.5%,是敏度 2.5%,通过 MCHC、MCV、MCH 组成的公式及确定的截点值对表型正常的 2.5%,也可以是一种企业,以及通过和CHC、MCV、MCH组成的公式及确定的截点值对表型正常的 2.5%,因为证明的公司,以及通过和CHC、MCV、MCH组成的公式及确定的截点值对表型正常的 2.5%,因为证明的公司,以及通过和CHC、MCV、MCH组成的公式及确定的截点值对表型正常的 2.5%,以及基因携带者和健康人群有一定的鉴别意义。

关键词:α地中海贫血; 血细胞分析; 参数; 鉴别

**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2020. 01. 027

文章编号:1673-4130(2020)01-0114-04

中图法分类号:R556

文献标识码:B

珠蛋白生成障碍性贫血(下称地贫),是人类遗传性单基因遗传病,以广东和广西发病率最高,为了防止出生缺陷,广东省于 2006 年出台了《2006 年广东省卫生厅地贫产前诊断技术规范》中,常规产前筛查中健康备孕的夫妇双方和孕妇血细胞分析,如平均红细胞体积(MCV)<82 fL 和/或 MCH<27 pg,做血红蛋白电泳筛查检测;血红蛋白电泳血红蛋白 A2(HbA2)升高,怀疑 β 地贫,做 β 地贫或/和 α 地贫基因检测; HbA2 正常和降低,排除缺铁性贫血后,检测 α 地贫基因,以上为地贫的正常筛查程序。实际工作中,有极少数 α 地贫基因携带者的血常规结果完全正常(表型正常),本研究旨在探讨表型正常的 α 地贫基因携带者与健康人群的血常规参数的差异,建立鉴别计算公式并确定截点值,期望降低表型正常的 α 地贫基因携带者漏检率。

#### 1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 10 月至 2018 年 8 月在 广州市中山大学附属第一医院(下称本院)经基因检测为  $\alpha$  地贫基因携带者 62 例,年龄 22~55 岁,男 30 例,女 32 例,中位数 31 岁,血常规结果在正常参考范围,红细胞计数 (RBC):  $(4.3 \sim 5.8) \times 10^{12}/L$ (男);

 $(3.8\sim5.1)\times10^{12}/L(女)$ ;血红蛋白(Hb): $130\sim175$  g/L(男); $115\sim150$  g/L(女);MCV: $82\sim100$  fL(男/女);平均红细胞血红蛋白含量(MCH): $27\sim34$  pg ( 男/女);平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC): $316\sim354$  g/L(男/女)<sup>[1]</sup>,排除  $\beta$  地贫 $(\beta$  地贫常见的 17 种基因突变结果为阴性)和营养性贫血(铁蛋白、叶酸、维生素  $B_{12}$  结果正常),以及血液病、慢性疾病和恶病质患者。另收集在本院门诊检测无  $\alpha$ 、 $\beta$  地贫基因携带者健康体检者 98 例作为对照组,血常规结果在正常参考范围,年龄  $15\sim48$  岁,男 54 例,女 44 例,中位数 33 岁。

#### 1.2 方法

- 1.2.1 血常规检测方法 希森美康 XN9000 血液分析流水线检测 RBC、Hb、MCV、MCH、MCHC、红细胞分布宽度(RDW),仪器定期校准,室内质控良好。
- 1.2.2 贫血三项检测 贝克曼生化免疫流水线检测铁蛋白、叶酸、维生素 B<sub>12</sub>,配套试剂,室内质控良好。
- 1.2.3 α 地贫和 β 地贫基因检测方法 采用达安基 因磁珠法 DNA 提取试剂,α 地贫和 β 地贫基因检测试剂采用深圳亚能生物技术有限公司产品,gapPCR 检测  $\alpha\alpha/^{-SEA}$ ,α $\alpha/^{-\alpha^{3.7}}$ ,α $\alpha/^{-\alpha^{4.2}}$ 3 种缺失,用反向斑点杂

<sup>\*</sup> **基金项目:**广东省自然科学基金(2018A0303130246)。

本文引用格式:陈启斌,胡薇,陈培松,等. ROC 曲线分析鉴别表型正常  $\alpha$  地中海贫血基因携带者血细胞参数的价值探讨[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(1):114-117.

交检测  $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$  3 种  $\alpha$  地贫突变和 17 种  $\beta$  地贫基因突变,设置阴阳性对照,严格按试剂说明书操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,表型正常的  $\alpha$  地贫基因携带者和健康人群的血常规参数的差异用独立样本 t 检验,以 P < 0.05 为差异有统 计学 意义,并且 计算 各鉴别公式的灵敏度(SEN),特异度(SPE),约登指数(YI)。绘制受试者工作特征(ROC)曲线并计算曲线下面积(AUC),根据最大约登指数确定截点值(cut off)。

#### 2 结 果

- **2.1** α 地贫基因结果 表型正常的 α 地贫以  $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$  缺失多见且占比高, $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$  点突变和  $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$  点突变占比高但数量较少; $\alpha\alpha/-SEA$  缺失和  $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$  百分之百的异常表型。见表 1。
- 2.2 血常规参数比较 与健康对照组比较,表型正

常的  $\alpha$  地贫基因携带者的 RBC、HB 和 RDW 比较差异无统计意义(P>0.05),MCH、MCV 和 MCHC 比较差异有统计学意义(P<0.05、P<0.01 和 P<0.01)。见表 2。

表 1 各型 α 地贫中表型正常的 α 地中海 贫血分布及占比

基因型	n	表型正常例数	占比(%)
$\alpha \alpha / - SEA$	196	0	0.0
$\alpha\alpha/\text{-}\alpha^{3.7}$	122	30	24.6
$\alpha\alpha/\text{-}\alpha^{4.2}$	95	9	9.5
$\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$	42	11	26.2
$\alpha^{\rm QS}\alpha/\alpha\alpha$	21	0	0.0
$\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$	36	9	25.0
复合型(α/β)	41	3	7.3
合计	553	62	11.2

表 2 表型正常的  $\alpha$  地贫基因携带者与健康人群的血细胞分析参数的比较( $\overline{x}\pm s$ )

组别	n	$RBC(\times 10^{12}/L)$	HB(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/L)	RDW(%)
健康对照组	98	4.87±0.56	144.67±15.62	87.88±4.12	29.28±3.64	340.57±16.46	12.57 $\pm$ 0.54
α地贫表型正常组	62	$5.00\pm0.55$	139.35 $\pm$ 14.61	$84.20 \pm 42.20$	$27.93 \pm 1.07$	$331.52 \pm 10.19$	12.74 $\pm$ 0.89
P		>0.05	>0.05	<0.01	<0.05	<0.01	>0.05

表 3 6 个鉴别诊断公式效能结果比较

公式	SEN	SPE	YI	AUC	cut off	<cut off $(n)$
MCHC×MCV/10 000	<b>73.</b> 5	93.5	0.67	0.856	2.895	42/62
MCHC×MCH/10 000	69.4	87.1	0.565	0.827	0.985	33/62
MCHC/MCV	_	_	_	0.427	_	_
MCHC/MCH	_	_	_	0.250	_	_
MCH/MCV	89.8	45.2	0.35	0.714	0.3285	36/62
MCH×MCV/1 000	73 <b>.</b> 5	83. 9	0.574	0.838	2.485	53/62
MCV/MCH	_	_	_	0.289	_	_

注:一表示无数据。

2.3 红细胞参数鉴别诊断效能 在6个鉴别公式中,MCHC×MCV/10000有高的鉴别作用,AUC达0.856,截点值在2.90%,62例中42例低于2.90%(42/62)特异度93.50%,灵敏度73.50%;MCH×MCV/1000AUC达0.838,截点值在2.50%,62例中53例低于2.50%(53/62),特异度83.90%,灵敏度73.50%;MCHC×MCH/10000AUC达0.827,截点值在0.99%,62例中33例低于0.99%(33/62),特异度87.10%,灵敏度69.50%,见表3。按ROC曲线下面积诊断效率依次为MCHC×MCV/10000>MCH×MCV/10000>MCHC×MCV/10000>MCH/MCV;MCHC/MCV、MCHC/MCH、MCV/MCH3个鉴别诊断公式ROC曲线下面积<0.5,无鉴别诊断价值,

未计算 YI 指数、特异度、灵敏度等指标,见图 1。

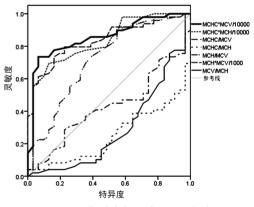


图 1 鉴别诊断公式 ROC 曲线

#### 3 讨 论

 $\alpha^{QS}\alpha$ /比例更高<sup>[5-6]</sup>;海南地区黎族人群中以- $\alpha^{4.2}/$ 和- $\alpha^{3.7}/$ 最常见,-- SEA/较为少见<sup>[7]</sup>;云南地区常见基因--SEA/、 $\alpha^{3.7}/$ 和 $\alpha^{CS}\alpha^{[8]}$ 。

血细胞分析诊断贫血具有高效、方便、经济、高效 等优点,如果血常规发现小细胞低色素性贫血,考虑 缺铁性贫血和地贫,检测铁蛋白等铁代谢指标,如无 缺铁证据,考虑地贫,血红蛋白电泳筛查中 HbA<sub>2</sub>> 3.5% 是 B 地贫的特征性指标[4];如 HbA。<3.5%,考 虑 α 地贫,分别进行 α 地贫及地贫的基因检测[4]。临 床上根据基因型将 α 地贫分为静止型、轻型、中间型 和重型,症状轻重不一,重型又称胎儿水肿综合征,引 起流产或死胎的发生<sup>[9]</sup>。本研究中 αα/-<sup>SEA</sup> 和 α<sup>QS</sup>α/ αα 这两种 α 地贫基因型携带者,表型百分之百的异 常, $\alpha\alpha/$ -SEA 为基因的大片段缺失, $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$  虽然是点突 变,可能突变在关键位点,所以表型也较重。在中国 南方,特别是广西地区常见的3种静止型α地贫(- $\alpha^{3.7}/, -\alpha^{4.2}/$ 和  $\alpha^{WS}\alpha/)$ ,由于没有血液学表型的改变, 血细胞分析和血红蛋白电泳不能发现阳性携带者[4]。 本研究发现稍有不同,发现 α<sup>CS</sup>α/基因携带者中也有 表型正常的。构成比中, $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ 的例数较多, $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ 血液学表型与正常参考范围存在的差异范围较小,  $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$  缺失型  $\alpha$  地贫存在一定的漏诊率<sup>[10]</sup>,和本研 究一致。按照地贫筛查流程,血常规正常的静止型 α 地贫 $(-\alpha^{3.7}/,-\alpha^{4.2}/\pi\alpha^{WS}\alpha/)$ 漏检后,最大的危害是和 αα/-SEA 的配偶生育血红蛋白 H(HbH)病的后代。α 地贫表型的多样性与基因突变对 α 肽链合成的影响 有关,当一个α基因发生缺失时,另一个正常的α基 因往往代偿性功能增强,而一个 α 基因发生突变时, 另一个正常的 α 基因功能并不受到影响,未发生代偿 功能增强;因此,有些非缺失型 α 地贫的纯合子(如  $\alpha^{WS}\alpha/\alpha^{WS}\alpha$ )可以表现为 HbH 病[11]。有研究认为,在 HbH 病中,基因型相同而血红蛋白电泳结果及疾病 的严重程度可存在显著差异[12-13]。

在实际工作中,常发现检测出 α 地贫缺失或突变,但血常规结果完全正常,会漏诊这部分表型正常的 α 地贫基因携带者。α 地贫表型正常组和健康对照组相比,MCV、MCH、MCHC 3 个指标差异有统计学意义,这是笔者考虑用这 3 个指标组成鉴别公式的原因。α 地贫表型正常组的 MCV 和 MCHC 都比健康对照组明显降低,差异有显著的统计学意义(P < 0.05),MCV 和 MCHC 相乘的结果更放大差异,这是MCHC×MCV/10 000 公式鉴别效能最高的原因;而α 地贫表型正常组的 MCH 比健康对照组降低,差异有统计学意义(P < 0.05),由 MCH 分别和 MCHC 及MCV 相乘的结果组成的鉴别公式 MCH×MCV/1000 和 MCHC×MCH/10 000 鉴别效能低于 MCHC×MCV/10 000。由于α 地贫表型正常组的 MCV、MCV/10 000。由于α 地贫表型正常组的 MCV、MCH、MCHC 都比健康对照组减小,相互除后的结果

不能放大差异,导致 MCH/MCV、MCHC/MCV、 MCHC/MCH及 MCV/MCH 这 4 个公式鉴别效能 低的原因。通过本文数据分析,血常规表型正常的 α 地贫基因携带者的 MCV、MCHC 和 MCH,同健康者 相比,差异有统计学意义,通过这些有意义的指标建 立鉴别诊断公式,鉴别公式中 MCHC×MCV/10 000 <2. 9, MCH  $\times$  MCV/1 000 < 2. 5, MCHC  $\times$  MCH/ 10 000<0.99 对表型正常的 α 地贫基因携带者筛选 有超过 0.8 的曲线下面积,有一定的参考价值,并可 以通过软件对鉴别公式计算并过滤。鉴别公式 MCHC×MCV/10 000(cut off 值 2.895)、MCHC× MCH/10 000(cut off 值 0.985)、MCH×MCV/1 000 (cut off 值 2.485)的特异度分别为 93.5%、87.1%、 83.9%,排除 α 地贫的效能依次降低。鉴别公式 MCHC×MCV/10 000,除了有最高的特异度,AUC 为 0.856, 也最高, 是理想的鉴别公式。血细胞分析是 诊断贫血的首要检测项目,具有方便、经济、高效等特 点,因此在临床中常用于鉴别患者的贫血类型[14];基 因诊断因费用贵,操作复杂,在大多数医院及地贫低 发地方的医院不能实现普查,因此寻找简单、有效、快 捷的实验的鉴别诊断方案为临床一线,尤其是基层医 院诊疗提供依据,减少漏诊率。

临床工作中,检测 3 种常见缺失型基因( $^{\text{SEA}}/\alpha\alpha$ 、 $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ )及 3 种非缺失型基因( $\alpha^{\text{CS}}\alpha$ 、 $\alpha^{\text{QS}}\alpha$ 及  $\alpha^{\text{WS}}$ ),就能检出约 98.0%  $\alpha$  地贫基因[ $^{15}$ ], 新旺杰等[ $^{16}$ ] 通过测序发现 23 例 11 种罕见的  $\alpha$  -地贫突变基因,唐海深等[ $^{17}$ ] 用多重 PCR 检测少见的 4 种  $\alpha$  地贫基因: $^{-\text{THAI}}$ 、 $^{-\text{FIL}}$ 、 $^{-\text{MED}}$ 、 $^{-(\alpha)}$ 0.5,以上这些罕见的  $\alpha$  地贫都未描述血液学表型,其血液学表型是否正常,将通过更多研究来补充。

#### 参考文献

- [1] 尚红,陈文祥,潘柏申,等.中国成人常用肝功能和电解质及血细胞分析项目参考区间[J].中华检验医学杂志,2013,36(5);393-394.
- [2] 周玉球. 地中海贫血表型筛查和基因诊断的现状和展望 [J]. 中华检验医学杂志,2012,35(5);394-398.
- [3] MUSALLAM K M, TAHER A T, CAPPELLIM M D, et al. clinical experience with fet al hemoglobin induction therapy in patients with β-thalassemia [J]. Blood, 2013, 121(12):2199-2212.
- [4] 张新华,陈荔丽. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 北京:人民军医出版社,2011:57-60.
- [5] YIN A, LI B, LUO M, et al. The prevalence and molecular spectrum of α- andβ-globin gene mutations in 14332 families of Guangdong Province, China[J]. PLoS One, 2014, 9 (2):e89855.
- [6] 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.

- [7] YAO H, CHEN X, LIN L, et al. The spectrum of α- andβ-thalassemia mutations of the Li peopie in Hannan Province of China[J]. Blood Cells Mol Dis, 2014, 53(1-2):16-20
- [8] ZHANG J, ZHU B S, HE J, et al. The spectrum of α-andβ-thalassemia mutations in Yunnan Province of Southwestern China[J]. Hemoglobin, 2012, 36(5): 464-473.
- [9] 刘冬霞,刘玉线,黄美琼,等.广东省清远地区地中海贫血基因分型情况分析[J].中国医药科学,2013,3(11):93-95
- [10] 李秋燕,蔡钦泉,莫红梅. α-地中海贫血患者血液学表型和基因型分析[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(21): 3006-3008.
- [11] 唐燕青,陈秋莉,陈碧艳,等. 15 969 例轻型 α 地中海贫血 的基因型和血液学分析[J]. 中国计划生育学杂志,2017, 25(1):59.
- [12] CHAO Y H, WU K H, WU H P, et al. Clinical features
- •短篇论著 •

- and molecular analysis of Hb H disease in Taiwan[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014; 271070.
- [13] HIGGS D R. The molecular basis of alpha-thalassemia [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2013, 3 (7): a011718.
- [14] 章梁君,陈章鑫,钟辉秀.四川自贡地区缺铁性贫血和β地中海贫血鉴别诊断公式的应用[J]. 检验医学,2017,32 (9):796-800.
- [15] 欧阳红梅,高玉红,杨必清,等.云南少数民族地区新生儿 ~珠蛋白生成障碍性贫血基因型研究[J].重庆医学, 2018.47(30).3902.
- [16] 靳旺杰,李莉艳,钟梅,等. 102 例罕见珠蛋白生成障碍性 贫血基因突变测序分析[J]. 国际检验医学杂志,2017,38 (15);2019.
- [17] 唐海深,万志丹,张艳芳,等.2 例未知基因型地中海贫血的产前诊断[J].中国计划生育和妇产科,2017,9(2):65.

(收稿日期:2019-05-03 修回日期:2019-09-25)

## 临产妊娠期肝内胆汁淤积症患者凝血功能分析

邱智枫1,张杰良1△,黄雪珍1

(1. 南方医科大学附属小榄医院检验科,广东中山 528415)

摘 要:目的 探讨临产妊娠期肝内胆汁淤积症(ICP)患者凝血功能的改变。方法 选择该院 2018 年 10 月至 2019 年 3 月待产的 66 例 ICP 患者(43 例轻度、23 例重度)和 44 例同期对照的临产孕妇作为研究对象,进行血浆抗凝血酶  $\parallel$  (AT  $\parallel$ )、活化部分的凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)、凝血酶时间(TT)、D-二聚体(D-D)、凝血酶原时间(PT)及相关指标的凝血项目分析。结果 重度 ICP 组与对照组比较,PT 延长,差异有统计学意义(P<0.05),轻度 ICP 组则未见明显延长;对照组、轻度 ICP 组、重度 ICP 组的 TT 呈现趋势性延长,差异有统计学意义(P>0.05);3 组间其他凝血指标(AT  $\parallel$  、APTT、FIB、D-D、PT%和国际标准化比值),差异无统计学意义(P<0.05)。结论 临产 ICP 患者 TT 延长,重度者 PT 延长,应密切关注其凝血功能的改变,避免产中或产后出血。

关键词:妊娠期肝内胆汁淤积症; 凝血功能; 凝血酶原时间; 凝血酶时间

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2020.01.028 中图法分类号:R446.1;

文章编号:1673-4130(2020)01-0117-03

中图法分类号:R446.1;R714.255 文献标识码:B

妊娠期肝内胆汁淤积症(ICP)是继病毒性肝炎之后,孕妇中第二常见的肝脏疾病[1],不同地区的发病率不同,南美洲的发病率最高,为9.20%~15.60%,欧洲0.10%~0.20%,中国的发病率约为1.22%<sup>[2-3]</sup>。ICP绝大部分表现为总胆汁酸(TBA)增高,其与围产期不良结局、早产、胎儿窘迫和宫内胎儿猝死的风险增加有关,而孕妇的结局通常是良性的,但也有研究表明,ICP可能导致产后出血或血栓事件的发生率增加,在发展中国家,产科出血是导致孕产妇死亡的重要原因<sup>[4]</sup>,目前对于ICP孕妇产前凝血功能改变的报道较少,本文将对临床孕妇的凝血指标进行比较,主要检

测抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)、活化部分的凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体(D-D)、凝血酶时间(TT)、凝血酶原时间(PT)及计算相应的凝血酶原时间百分比(PT%)和国际标准化比值(INR),探讨临产 ICP 患者的凝血功能情况。

### 1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2018 年 10 月 1 日至 2019 年 3 月 31 日于本院分娩的 66 例妊娠期肝内胆汁淤积症患者 纳入病例组,其中,43 例为轻度 ICP,年龄 18~40 岁,平均(28.8±4.8)岁;23 例为重度 ICP;年龄 23~42 岁,平均(31.0±5.5)岁;并随机选择同期的 44 例正

<sup>△</sup> 通信作者,E-mail:3437999073@qq.com。

本文引用格式:邱智枫,张杰良,黄雪珍.临产妊娠期肝内胆汁淤积症患者凝血功能分析[J].国际检验医学杂志,2020,41(1):117-119.