

• 论 著 •

深圳地区血红蛋白 Q-Thailand 的表型和基因型分析*

阚丽娟,蔡钦泉,覃俊龙,莫云均,张丽军,陈亚琼,李 瑞,李 悦,张秀明,李育敏[△]
(深圳市罗湖区人民医院检验科,广东深圳 518001)

摘 要:目的 分析深圳地区血红蛋白(Hb)Q-Thailand 的基因型和表型的关系,为 Hb 疾病的筛查提供参考数据。方法 收集该院 72 397 例标本,分为成年男性、成年女性及新生儿,采用毛细管电泳法对 Hb Q-Thailand 进行筛查,对筛查阳性者采用 Sanger 测序法进行 DNA 测序鉴定,采用跨越断裂点 PCR 法和 PCR 结合反向点杂交法进行珠蛋白生成障碍性贫血基因分型检测,并分析其红细胞参数。结果 深圳地区人群 Hb Q-Thailand 的携带率为 0.039%。成年男性 Hb Q-Thailand 合并 $-\alpha^{4.2}$ 杂合缺失的 Hb、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、Hb Q-Thailand 和 HbA₂+变异体分别为(144.0±5.0)g/L、(80.7±2.1)fL、(27.1±0.1)pg、(26.6±3.3)%和(2.3±0.3)%;成年女性分别为(121.0±13.2)g/L、(76.7±3.1)fL、(25.7±1.6)pg、(28.5±0.9)%和(2.5±0.3)%;新生儿 Hb 电泳分析结果为 HbA(13.7±4.1)%、HbF(64.9±4.1)%、Hb Q-Thailand(21.0±2.7)%和 Hb Bart's(0.4±0.1)%。结论 深圳地区 Hb Q-Thailand 以杂合子常见,并与 $-\alpha^{4.2}$ 缺失型珠蛋白生成障碍性贫血连锁遗传,临床需重视其表型与基因型的规律,以进行产前筛查和遗传咨询。

关键词:血红蛋白 Q-Thailand; 珠蛋白生成障碍性贫血; 血液学表型; 基因型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.10.007

中图法分类号:R556.9

文章编号:1673-4130(2020)10-1179-04

文献标识码:A

Phenotype and genotype analysis of hemoglobin Q-Thailand in Shenzhen*

KAN Lijuan, CAI Qinquan, QIN Junlong, MO Yunjun, ZHANG Lijun,
CHEN Yaqiong, LI Rui, LI Yue, ZHANG Xiuming, LI Yumin[△]

(Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Luohu District People's Hospital,
Shenzhen, Guangdong 518001, China)

Abstract: Objective To analyze the relationship between the genotype and phenotype of hemoglobin (Hb) Q-Thailand in Shenzhen, and to provide reference data for screening of Hb diseases. **Methods** A total of 72 397 specimens from this hospital were collected and divided into adult male, adult female, and newborn. Hb Q-Thailand was screened by capillary electrophoresis, and Sanger sequencing was used to identify the positive screeners. And cross-breakpoint PCR and PCR combined with reverse-point hybridization were used to perform genotyping of globin-producing anemia, and the red blood cell parameters were analyzed. **Results** The carrier rate of Hb Q-Thailand in Shenzhen population was 0.039%. Adult man Hb Q-Thailand combined $-\alpha^{4.2}$ heterozygous deletion of Hb, mean corpuscular volume(MCV), mean corpuscular hemoglobin(MCH), Hb Q-Thailand and HbA₂+variants were (144.0±5.0)g/L, (80.7±2.1)fL, (27.1±0.1)pg, (26.6±3.3)% and (2.3±0.3)%, respectively; adult women were (121.0±13.2)g/L, (76.7±3.1)fL, (25.7±1.6)pg, (28.5±0.9)% and (2.5±0.3)%; Hb electrophoresis analysis of newborns was HbA(13.7±4.1)%, HbF(64.9±4.1)%, Hb Q-Thailand(21.0±2.7)% and Hb Bart's(0.4±0.1)%. **Conclusion** Hb Q-Thailand in Shenzhen is commonly heterozygous and linked to $-\alpha^{4.2}$ deficient globin-generating disorder anemia. The clinical need to pay attention to the phenotype and genotype rules for prenatal screening and genetic consultation.

Key words: hemoglobin Q-Thailand; globin producing anemia; hematological phenotype; genotype

* 基金项目:深圳市医疗卫生三名工程(SZSM201601062)。

作者简介:阚丽娟,女,医师,主要从事分子诊断相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: eliyumin@126.com。

本文引用格式:阚丽娟,蔡钦泉,覃俊龙,等.深圳地区血红蛋白 Q-Thailand 的表型和基因型分析[J].国际检验医学杂志,2020,41(10):

血红蛋白(Hb)疾病是由于珠蛋白基因缺陷导致的一组疾病,其中引起珠蛋白分子结构改变称为异常 Hb 疾病,肽链合成不足为珠蛋白生成障碍性贫血^[1]。Hb Q-Thailand 是由于 α 珠蛋白肽链 $\alpha 1$ 基因 N 端第 74 位密码子 GAC→CAC 突变,使该位点天门冬氨酸被组氨酸替代所致,属于异常 Hb 疾病。但由于 Hb Q-Thailand 通常与 $-\alpha^{4.2}$ 缺失型珠蛋白生成障碍性贫血连锁遗传,因此,临床对电泳筛查阳性者,应进一步行珠蛋白生成障碍性贫血基因及 DNA 测序检测以明确基因型,并进行珠蛋白生成障碍性贫血防控指导和优生遗传咨询。莫宗平等^[2]对我国广东、广西地区的异常 Hb 基因突变调查显示 Hb Q-Thailand 在 α 链异常的 Hb 中分布最多。广东省不同地区的研究也表明 Hb Q-Thailand 的人群携带率较高^[3-5]。但是由于不同年龄段及性别的血液学参数不同,且大部分进行珠蛋白生成障碍性贫血筛查的成年女性处于妊娠期,存在生理性贫血的可能,因此,本研究分别对成人和新生儿 Hb Q-Thailand 的血液学特征进行分析,并按性别分类统计成人的血液学参数指标,为中国人 Hb Q-Thailand 的遗传学研究提供系统、详细的临床参考资料。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 6 月至 2019 年 5 月本院门诊和住院进行毛细管电泳检测的病例为研究对象,为连续性资料,共 72 397 例,分为成年男性、成年女性及新生儿。

1.2 仪器与试剂 红细胞参数分析采用血细胞分析仪,购自日本 Sysmex 公司,型号 XN-1000;Hb 分析采用全自动毛细管电泳仪,购自法国 Sebia 公司,型号 Capillarys2,试剂均为厂家原装配套试剂。珠蛋白生成障碍性贫血基因检测采用扩增仪,购自中国黑马公司,型号 T960;全自动凝胶成像分析仪购自美国 Bio-Rad 公司,型号 ChemiDoc™ MP;电泳仪购自中国北京六一仪器厂,型号 DYY-6C;恒温杂交仪购自中国深圳亚能生物技术有限公司,型号 YN-H16,试剂购自中国深圳亚能生物技术有限公司;DNA 测序采用遗传分析仪,购自美国 ABI 公司,型号 3730XL。

1.3 方法

1.3.1 血液学分析 采集乙二胺四乙酸二钾抗凝的外周静脉全血 2 mL,2~8℃ 保存,用于红细胞参数和 Hb 电泳分析。采用全自动血液分析仪进行红细胞参数分析;采用毛细管电泳法进行 Hb 组分分析。

1.3.2 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测 标本采集同血液学分析。采用跨越断裂点 PCR 法检测 3 种中国人常见的缺失型 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因($-\alpha^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$);采用 PCR 结合反向点杂交

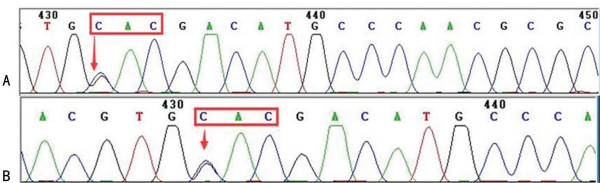
法检测常见的 3 种非缺失 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因(α^{QS} 、 α^{CS} 、 α^{WS})和 17 种 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因点突变类型(-28、-29、CD17、CD41-42、CD43、 β^E 、CD71-72、IVS-II-654、-32、-30、CAP、Initiation con-don、CD14-15、CD27-28、IVS-I-1、IVS-I-5、CD31)。

1.3.3 珠蛋白基因序列分析 珠蛋白基因测序由中国深圳亚能生物技术有限公司检测。采用 Sanger 双脱氧链终止法进行珠蛋白基因序列测定,于人类异常 Hb 和珠蛋白生成障碍性贫血数据库(<http://globin.bx.psu.edu>)查找突变位点。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据的统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

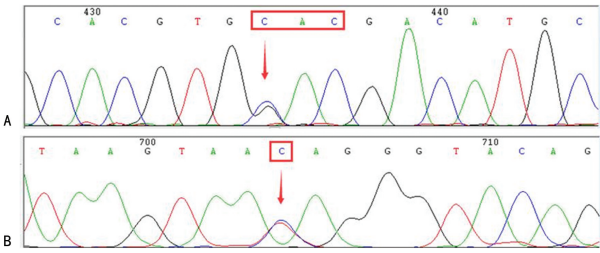
2 结果

2.1 基因型分析 经 DNA 测序,检出成人及新生儿共 28 例 Hb Q-Thailand(GAC→CAC)杂合突变,发生率为 0.039%,所有携带者均检出 $-\alpha^{4.2}$ 杂合缺失型珠蛋白生成障碍性贫血,其中 27 例为 Hb Q-Thailand 合并 $-\alpha^{4.2}$ 杂合缺失,包括成人 21 例(男性 2 例,女性 19 例),新生儿 6 例;1 例为成人 Hb Q-Thailand 合并 $-\alpha^{4.2}$ 杂合缺失和 $\beta^{IVS-II-81}$ 杂合突变(C>T)。见图 1、2。



注:A 表示成人;B 表示新生儿;↓ 表示突变位点。

图 1 成人及新生儿的 Hb Q-Thailand 测序图



注:A 表示 Hb Q-Thailand;B 表示 IVS-II-81;↓ 表示突变位点。

图 2 Hb Q-Thailand 合并 IVS-II-81 杂合突变测序图

2.2 血液学表型分析 成人 Hb Q-Thailand 的 Hb 电泳分析均见 Hb Q-Thailand 和 HbA₂ 变异体条带。成人 Hb Q-Thailand 合并 $-\alpha^{4.2}$ 杂合缺失,以及合并 $\beta^{IVS-II-81}$ 杂合突变的红细胞参数分析均表现为 Hb 水平正常,平均红细胞体积(MCV)和平均红细胞血红蛋白量(MCH)轻度降低。1 例成人男性 Hb Q-Thailand 合并 IVS-II-81 杂合突变,Hb 120 g/L,MCV 68.0 fL,MCH 23.7 pg,HbA₂+突变体 2.4%,Hb Q-Thailand 28.3%。6 例新生儿 Hb Q-Thailand 杂合子的 Hb 电泳结果均见 Hb Q-Thailand 和 Hb

Bart's 带。6 例新生儿平均 HbA (13.7±4.1)%, Hb Bart's(0.4±0.1)%。见表 1、2。
HbF(64.9±4.1)%,Hb Q-Thailand(21.0±2.7)%,

表 1 成人 Hb Q-Thailand 的血液学表型($\bar{x}\pm s$)

性别	n	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	HbA ₂ +变异体(%)	Hb Q-Thailand(%)
男	2	144.0±5.0	80.7±2.1	27.1±0.1	2.3±0.3	26.6±3.3
女	19	121.0±13.2	76.7±3.1	25.7±1.6	2.5±0.3	28.5±0.9

表 2 6 例新生儿 Hb Q-Thailand 杂合子的
毛细管电泳分析(%)

序号	性别	HbA	HbF	Hb Q-Thailand	Hb Bart's
1	男	9.9	65.6	24.0	0.5
2	男	11.1	71.6	17.0	0.3
3	女	21.4	59.3	18.7	0.4
4	男	13.4	63.7	22.6	0.3
5	女	13.9	63.0	22.6	0.5
6	男	12.5	66.0	21.1	0.4

3 讨 论

Hb Q-Thailand 是 1958 年由 VELLA 等^[6]在东南亚 1 个华侨家庭中发现。曾溢滔等^[7]于 1983 年在我国江西萍乡首先发现 Hb Q-Thailand 携带者。我国广东、广西地区异常 Hb 以 HbE、Hb Q-Tailand、Hb New York 为主^[2]。广西南宁地区调查 Hb Q-Thailand 的发生率为 0.130%^[8],柳州为 0.078%^[9],而李友琼等^[10]的研究报道广西地区为 0.060%,均较高;广东省调查显示韶关为 0.164%^[3],梅州为 0.085%^[4],而广州市针对育龄期夫妇的调查显示为 0.171%^[5]。本研究纳入深圳地区 72 397 例标本进行大规模的群体异常 Hb 疾病筛查,显示 Hb Q-Thailand 的发生率为 0.039%,低于以上所有地区,这可能跟深圳作为移民城市,受人口迁徙影响和基因构成比例复杂等因素有关。

Hb Q-Thailand 通常与-α^{4.2} 缺失型珠蛋白生成障碍性贫血连锁遗传有关,但是由于其突变位点天门冬氨酸是位于分子表面非功能位置的氨基酸,被组氨酸代替不影响 Hb 的功能,因此,其合并-α^{4.2} 缺失杂合子常无明显贫血症状,血细胞分析表现为 Hb 水平正常,MCV 和 MCH 轻度降低,少部分携带者红细胞参数可正常^[8-10]。Hb Q-Thailand 合并 α 珠蛋白生成障碍性贫血时,Hb Q-Thailand 的量与 α 基因的缺失个数呈正相关,α 基因缺失数量越多,Hb Q-Thailand 的水平越高^[2,8]。Hb Q-Thailand 合并轻型 α 珠蛋白生成障碍性贫血时(如同时合并-α^{4.2} 缺失和-α^{3.7} 缺失,或合并-α^{4.2} 缺失纯合子)的血液学表型同轻型 α 珠蛋白生成障碍性贫血^[8-10]。但如 Hb Q-Thailand

合并中间型 α 珠蛋白生成障碍性贫血,则会引起 Hb Q-H 病。Hb Q-H 病的主要基因型为 α⁰/α⁺,即 3 个 α 基因失活,而剩下的 1 个 α 基因发生突变形成 Hb Q-Thailand。因此,成人 Hb Q-H 病可无 HbA 和 HbA₂ 合成,而合成 Hb Q-Thailand (α^Q2β2)和 Hb QA₂ (α^Q2δ2)及过剩的 β 链形成的 Hb H,电泳表现 Hb 以 Hb Q-Thailand 为主,然后为 Hb H、Hb Bart's 和少量 Hb QA₂^[11-12];产前诊断脐带血标本表现为 Hb Q-Thailand 和 Hb Bart's 及少量的 Hb portland^[13]。由于 Hb Q-Thailand 稳定且有携氧能力,大部分报道显示 Hb Q-H 病与 Hb H 病的临床症状相似^[9,11],但也有报道表明 Hb Q-H 病严重者可导致胎儿水肿^[13],可能与 Hb Q-Thailand 合并 Hb H 病加重缺氧有关,这提示临床如夫妻一方为 Hb Q-Thailand 合并-α^{4.2} 缺失,另一方为 α⁰ 基因(如-SEA 和-THAI)携带者,母亲在妊娠期有发生胎儿水肿的可能,必要时仍需进行产前诊断。Hb Q-Thailand 合并-α^{4.2} 缺失合并轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血的血液学表型同轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血,但 Hb Q-Thailand 水平低于 Hb Q-Thailand 合并-α^{4.2} 缺失杂合子,这可能是由于 β 链合成降低导致 Hb Q-Thailand 减少^[10-14]。Hb Q-H 病合并轻型 β 珠蛋白生成障碍性贫血,血液学表型与 Hb Q-H 病相似,表现为轻至中度小细胞低色素性贫血,Hb Q-Thailand 明显升高,但前者 HbA₂ 升高^[8,15]; Hb Q-H 病合并中间型 β 珠蛋白生成障碍性贫血也与 Hb Q-H 病相似,表现为轻至中度小细胞低色素性贫血,这可能是由于 α 链和 β 链均合成降低,使 α 链/β 链失衡减少^[11]。偶有 Hb Q-Thailand 不与-α^{4.2} 缺失型珠蛋白生成障碍性贫血连锁遗传的报道,1 例为 Hb Q-Thailand 合并-SEA 缺失和 β^{CD41-42} 杂合子,表现为轻型珠蛋白生成障碍性贫血,Hb Q-Thailand 水平较 Hb Q-Thailand 合并-α^{4.2} 缺失杂合子低,HbA₂ 升高,这与 β 链合成减少有关^[8];另外 2 例为单纯 Hb Q-Thailand 杂合子,Hb Q-Thailand 水平为(18.9±1.8)%^[2]。

本研究检出的 Hb Q-Thailand 均为杂合子,并与-α^{4.2} 缺失型珠蛋白生成障碍性贫血连锁遗传,其中成人携带者以女性居多,这是由于进行产前 Hb 电泳

筛查的妊娠期女性所占比例较高。鉴于妊娠期存在生理性贫血的可能,本研究首先按性别分别统计成人的各项血液学参数指标,观察到成年男性和女性 Hb Q-Thailand 合并 $\alpha^{4.2}$ 杂合缺失携带者均无明显贫血症状,Hb 水平在正常参考区间内,仅表现为 MCV 和 MCH 轻度降低,这表明 MCV 和 MCH 在珠蛋白生成障碍性贫血筛查中的重要性;其中 2 例携带者红细胞参数正常,与已有报道相符合^[10],这也提示临床在珠蛋白生成障碍性贫血筛查时需要结合血常规和 Hb 电泳结果联合分析,避免漏诊。本研究还发现 1 例成人 Hb Q-Thailand 合并 $\alpha^{4.2}$ 杂合缺失和 $\beta^{IVS-II-81}$ 杂合突变,其红细胞参数特征同 Hb Q-Thailand 合并 $\alpha^{4.2}$ 杂合缺失。HbVar 数据库上记录 β 珠蛋白基因 IVS-II-81(C>T) 突变(HBB:c. 315+81C>T)发生于印度人群,可能为中性多态性位点。笔者也曾报道 1 例 Hb Queens 合并 IVS-II-81 杂合突变,其血液学表型正常,这表明 IVS-II-81 杂合突变不影响 β 珠蛋白基因的功能^[16]。新生儿珠蛋白生成障碍性贫血筛查也是珠蛋白生成障碍性贫血防控的重要环节之一,研究表明脐带血 Hb 电泳分析在新生儿珠蛋白生成障碍性贫血筛查中较传统的红细胞脆性试验及血细胞分析更具筛查价值^[17],因此,新生儿通常采用脐带血 Hb 电泳进行珠蛋白生成障碍性贫血筛查。本研究分析新生儿 Hb Q-Thailand 的 Hb 电泳特征,6 例新生儿 Hb Q-Thailand 合并 $\alpha^{4.2}$ 杂合缺失的脐带血均见 Hb Q-Thailand 和 Hb Bart's 带,平均水平分别为 $(21.0 \pm 2.7)\%$ 和 $(0.4 \pm 0.1)\%$ 。王继成等^[13]报道 Hb Q-H 病的产前诊断脐带血标本 Hb Q-Thailand 和 Hb Bart's 的水平分别为 $(46.6 \pm 6.1)\%$ 和 $(32.7 \pm 6.7)\%$,其原因同成人外周血 Hb 合成,即 3 个 α 基因失活,只剩下 1 个带 Hb Q-Thailand 的 $\alpha 1$ 基因。

4 结 论

综上所述,本研究按年龄段及性别分类统计成人及新生儿 Hb Q-Thailand 的血液学参数指标,为珠蛋白生成障碍性贫血筛查提供了系统的临床参考资料,并结合研究结果和文献综合分析了 Hb Q-Thailand 合并不同珠蛋白生成障碍性贫血的血液学特征,这对于 Hb Q-Thailand 的遗传学研究具有重要的参考价值。

参考文献

[1] 徐湘民,张新华,陈荔丽. 珠蛋白生成障碍性贫血预防控制操作指南[M]. 北京:人民军医出版社,2011.

[2] 莫宗平,张玲,喻长顺,等. 异常 Hb81 例基因分析[J]. 广东医学,2012,33(3):338-341.

[3] 马占忠,杨辉,林敏,等. 广东韶关地区异常 Hb 的分子流行病学调查[J]. 实用检验医师杂志,2014,6(3):179-181.

[4] 温应方,林敏,刘桂荣,等. 广东梅州地区的异常 Hb 的分子流行病学调查[J]. 重庆医科大学学报,2011,36(12):1496-1499.

[5] 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 Hb 病[J]. 中国实验血液学杂志,2017,25(6):1768-1771.

[6] VELLA F, WELLS R H, AGER J A, et al. A haemoglobinopathy involving haemoglobin H and a new (Q) haemoglobin[J]. Br Med J, 1958,1(5073):752-755.

[7] 曾溢滔,黄淑帆,周霞娣,等. 在中国发现的一个 Hb Q-Thailand($\alpha 2$ 74(EF3) Asp→His)家系的研究[J]. 生物化学与生物物理学报,1983,15(5):423-432.

[8] 张强,范耿,韦媛,等. 广西南宁地区 Hb Q-Thailand 基因分析[J]. 检验医学与临床,2014,11(20):2803-2804.

[9] 黄诚,唐宁,陆碧玉,等. 柳州地区异常 Hb Q-Thailand 合并珠蛋白生成障碍性贫血筛查情况[J]. 中国优生与遗传杂志,2017,25(11):26-27.

[10] 李友琼,陈治中,梁亮,等. 广西地区 HbQ-Thailand 的表型和基因型分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2016,33(2):164-168.

[11] 陈和平,郑卫东,陈冬,等. 罕见的 HbH 病同时合并异常 HbQ 和 E 家系分析[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(4):427-432.

[12] 韦金花,李友琼,谭春艳,等. 毛细管电泳与高效液相色谱法在 Hb Q-Thailand 检测中的比较研究[J]. 中国临床新医学,2017,10(1):21-24.

[13] 王继成,秦丹卿,杜丽,等. 异常 Hb Q-Thailand 复合 Hb H 病的分子诊断和产前诊断[J]. 中国优生与遗传杂志,2016,24(2):12-13.

[14] SINGSANAN S, KARNPEAN R, FUCHAROEN G, et al. Hemoglobin Q-Thailand related disorders: origin, molecular, hematological and diagnostic aspects[J]. Blood Cells Mol Dis, 2010,45(3):210-214.

[15] 谢建红,汪国庆,肖奇志,等. Hb H 病合并异常 Hb Q 和 β 珠蛋白生成障碍性贫血一例报道及文献复习[J]. 中华血液学杂志,2014,35(9):840-841.

[16] 李育敏,张水兰,阚丽娟,等. 深圳地区异常 Hb 病的分子特征与表型分析[J]. 临床检验杂志,2018,36(11):873-875.

[17] 郭浩,杜丽,唐斌,等. 脐血 Hb 电泳在新生儿珠蛋白生成障碍性贫血筛查中的应用[J]. 实用医学杂志,2014,30(12):1953-1955.