

云南省曲靖地区 3430 例孕妇地中海贫血筛查结果分析

郑雯娜 付瑞 张瑗 潘虹 王峰 朱聘 张明清 余雄武*

(云南省曲靖市妇幼保健院,云南 曲靖 655000)

【摘要】 目的 分析云南曲靖地区孕妇地中海贫血的发生率及基因突变类型,探讨其临床检测的必要性。**方法** 通过检测 3430 例孕妇外周血的平均红细胞容积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)和血红蛋白浓度(HGB)进行地中海贫血的筛查,筛查阳性者采用跨越断裂点聚合酶链反应(GAP-PCR)技术和反向斑点杂交(PCR-RDB)技术进行 α 、 β 地贫基因检测。**结果** 3430 例受检者中,筛查阳性者 299 例,经基因确诊地贫携带者 245 例,携带率 7.08%(245/3430)。其中, α -地贫携带者 152 例(4.43%, 152/3430), β -地贫携带者 91 例(2.65%, 91/3430), α 、 β 复合型地贫携带者 2 例(0.06%, 2/3430)。 α 地贫基因型以 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 最多见,占 53.95%; β 地贫基因型以 β^{41-42}/β^N 最多见,占 36.26%。**结论** 应在曲靖地区加强地中海贫血筛查及检测,对制定当地优生策略具有重要意义。

【关键词】 孕妇;地中海贫血;筛查;基因检测

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To observe the incidence and genotypes of thalassemia in local pregnant women, in order to prove the necessity of clinical application. **Method** 3430 blood samples with pregnant women were screened for thalassemia by phenotype analysis, including the mean red cell volume (MCV), mean red cell hemoglobin content (MCH) and hemoglobin concentration (HGB). The positive cases were further tested by polymerase chain reaction(PCR) to confirm α -thalassemia gene cases, by using PCR with Reverse Dot Blot Hybridization(RDB)to confirm β -thalassemia mutations. **Results** 299 cases out of 3430 individuals were screened positive. 245 cases were confirmed by genetic test, including 152 carriers of α -thalassemia (4.43%, 152/3430), 91 carriers of β -thalassemia (2.65%, 91/3430) and 2 cases were carriers of α and β -complex thalassemia (0.06%, 2/3430), respectively, the carrier rate was 7.08% (245/3430). The most common genotype of α -thalassemia was $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$, accounting for 53.95%. β^{41-42}/β^N was the most common genotype of β -thalassemia, accounting for 36.26%. **Conclusions** It is significant meaning for making local healthy birth strategies that improving the screening and detection of thalassemia in Qu Jing.

【Key words】 pregnant women; thalassemia; screen; genetic diagnosis

地中海贫血(thalassemia),简称地贫,属于人类血红蛋白病,是一种常染色体隐性遗传病,由于编码珠蛋白链的基因表达下降导致珠蛋白链合成异常,造成血红蛋白合成缺陷,合成降低速率超过骨髓代偿能力,从而引发溶血性贫血^[1],中间型和重型地贫

致死和致残率极高。我国长江以南广大地域为地贫高发区,人群中基因携带率为 1%~23%,其中广东、广西、海南最多见,其他如云南、贵州、四川省也是发病较为严重地区^[2]。云南人群中地贫的基因突变型多样,具有自身的地理和群体特点^[3,4]。本研究通过对云南曲靖地区 3430 例孕妇进行地贫检测,以初步了解当地孕妇地贫基因携带频率及突变类

型,进一步为云南省地贫防控措施奠定理论基础。

1 对象和方法

1.1 资料来源 收集 2018 年 1 月至 2018 年 12 月到云南省曲靖市妇幼保健院产科门诊行孕期检查或遗传咨询的孕妇静脉全血,共 3430 例,女性平均年龄(23.35 均年龄查或)岁,孕周 10~27 周。

1.2 仪器与试剂 地中海贫血基因检测试剂盒购自广州凯普医药科技有限公司,聚合酶链反应(PCR)扩增仪(9600)购自珠海黑马医学仪器有限公司,Beckman coulter LH780 型全自动血细胞检测仪购自美国贝克曼库尔特有限公司。

1.3 方法

1.3.1 血常规检测 采用一次性真空采血管(ED-TA.K₂ 抗凝剂)抽取筛查人群静脉空腹血液 2-3ml,摇匀抗凝,行血常规检测,包括平均红细胞容积(mean red cell volume,MCV)、平均红细胞血红蛋白(mean red cell hemoglobin,MCH)含量和血红蛋白(hemoglobin,HGB)浓度。

1.3.2 地贫基因检测 收集初筛异常的标本,召回孕妇行遗传咨询并签署地贫检测知情同意书,采用 GAP-PCR 和 PCR-RDB 技术进行 α、β 地贫基因检测。α 贫地贫基因检测 3 种缺失类型(—SEA, —E^{3.7}, —^{4.2})和 3 种突变类型(α^{CS}, α^{QS} 和 α^{WS}),β 地贫基因检测 17 个突变位点(19 种突变类型):CD41-42,-TCTT, CD17, A > T, IVS-II -654, C > T, CD71-72,+A, -28,A > G, β54,C > T, CD71-72,+A, -28,A > G, 书,采用一步为云南省地贫防控措施奠定理论基础。蛋白合成缺陷,合成降低速率 C, -31,A > C, IVS-I -5, TermCD, +32, A > G, IVS-1,G > T, CD27-28,+C 。

2 结果

2.1 筛查结果 以 MCH < 27pg 和(或) MCV < 80fl 作为筛查阳性值^[5,6],3430 例孕妇初筛阳性者为 299 例。

2.2 基因检测结果 将初筛阳性的 299 例孕妇的静脉血行基因检测,共检出 245 例地贫基因携带者,总携带率为 7.08%(245/3430),其中 α 地贫基因携

带者 152 例,携带率为 4.43%(152/3430),β 地贫基因携带者 91 例,携带率为 2.65%(91/3430),α 和 β 复合型地贫基因携带者 2 例,携带率 0.06%(2/3430)。α 地贫基因型以 —α^{3.7}/αα 最多见,占 53.95%,其次依次为:—SEA/αα(35.53%)、α^{WS}/αα(3.29%)、—^{4.2}/αα(2.63%),α^{QS}/αα 和 α^{CS}/αα3.7 均为 1.97%,—α^{3.7}/α^{CS}α(0.66%);β 地贫基因型以 β⁴¹⁻⁴²/β^N 最多见,占 36.26%,其次依次为:CD17(29.67%),654(15.38%),β⁵⁴(9.89%),—28 和 CD71-72(各 3.30%),CD27-28(1.11%);αβ 复合型地贫携带者 2 例,分别为:—SEA/αα 合并 β¹⁷/β^N(0.03%),α^{3.7}/αα 合并 β⁴¹⁻⁴²/β^N(0.03%)。见表 1~3。

表 1 03 地贫基因类型构成比

基因型	临床分型	例数 (例)	构成比 (%)
—α ^{3.7} /αα	静止型	82	53.95
—SEA/αα	轻型	54	35.53
α ^{WS} α/αα	轻型	5	3.29
—α ^{4.2} /αα	静止型	4	2.63
α ^{QS} α/αα	轻型	3	1.97
α ^{CS} α/αα	轻型	3	1.97
—α ^{3.7} /α ^{CS} α	轻型	1	0.66

表 2 663 地贫基因类型构成比

基因型	临床分型	例数 (例)	构成比 (%)
β ⁴¹⁻⁴² /β ^N	轻型	33	36.26
β ¹⁷ /β ^N	轻型	27	29.67
β ⁶⁵⁴ /β ^N	轻型	14	15.38
β ^{βE} /β ^N	轻型	9	9.89
β ⁻²⁸ /β ^N	轻型	3	3.30
β ⁷¹⁻⁷² /β ^N	轻型	3	3.30
β ²⁷⁻²⁸ /β ^N	轻型	1	1.10
β ^{Cnp} /β ^N	轻型	1	1.10

表 3 αβ 复合型地贫基因检测结果

基因型	CD17 /N (例)	CD41-42 (例)	合计 (例)	检出率 (%)
—SEA/αα	1	0	1	0.03
—α ^{3.7} /αα	0	1	1	0.03

3 讨论

地中海贫血又称为珠蛋白生成障碍性贫血,根据不同类型珠蛋白链合成降低速率,分为 α 地贫、β 地贫、γ 地贫、δβ 地贫等。地贫是累及人群最多、全世界分布最广的一种单基因遗传病,携带者和患者约占全球人口的 5%^[7],α 地贫大部分是由位于 16

号染色体末端的人珠蛋白基因缺失或突变引起的,分为缺失型和非缺失型,珠蛋白基因缺失的越多临床症状越严重,根据临床症状可分为静止型、轻型、中间型和重型。 β 地贫的受累基因位于 11 号染色体末端,临床上分为轻型、中间型和和重型。巴氏胎儿水肿综合征(Hb Bart's 水肿)^[8]临床表现为胎儿全身水肿,多数于孕晚期死亡或在出生后短时间内死亡,中重度患儿出现黄疸、肝脾肿大、溶血性贫血、具有眼距宽、额部和颧骨隆起、鼻塌眼肿等典型“地贫面容”,终生需要靠输血治疗来维持生命。此外,有研究发现妊娠合并地中海贫血使得胎儿生长受限、早产、孕妇心力衰竭、肺水肿、血栓形成、心脏病变、内分泌功能异常等不良妊娠结局增加^[9-11]。Hb Bart's 水肿胎儿也是孕妇发生高血压、低蛋白血症、蛋白尿等镜像综合征的常见原因。总之,地中海贫血给患者、家庭和社会带来巨大的健康损失和沉重的疾病经济负担^[12]。本地区 3430 例受检者中,初筛阳性者 299 例,筛查阳性率 9.53%,与张瀚文^[13]报道的血常规筛查阳性率为 9.40%相符。基因确诊地贫携带者 243 例,携带率 7.08%,2014 年丁雪梅^[14]研究数据显示云南省育龄人群携带率在 10.5%左右,这可能与本研究检测样本来源的差异性有关。其中, α 地贫携带者 152 例, β 地贫携带者 91 例, $\alpha\beta$ 复合型地贫携带者 2 例,携带率分别为 4.43%(152/3430)、2.65%(91/3430)、0.06%(1/3430)。 α 地贫基因型以-贫^{3.7}/ $\alpha\alpha$ 最多见,占 53.95%,其次为--SEA/ $\alpha\alpha$ 、 α^{WS} / $\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}$; β 地贫基因型以 CD41-42/N 最多见,占 36.26%,其次为 CD17、654、 $\beta 5$ 、-28 和 CD71-72、CD27-28,该构成比与贺静^[15]报道的有差异,这也说明了云南人群地贫基因突变类型的多样性,且有明显的地域特性。

夫妇双方如均为轻型 α 地贫,子女有 25% 几率患 Hb Bart's 水肿胎,夫妇双方为 β 地贫携带者,子女有 25% 几率患中重型地贫,目前尚无较好的根治地中海贫血的方法,产前诊断是预防地贫患儿出生的唯一有效措施。通过对高发区普通人群的大规模筛查,可以主动发现高风险对象,进行产前诊断,这是开展以降低重型地贫为目的的人群预防计划的技术基础^[16]。由于曲靖地区开展地贫检测项目起步晚,收集数据尚有欠缺,故本文未纳入地贫阳性孕妇种族、籍贯及配偶情况。在今后研究中尚需进一步完善样本信息。尽管如此,本研究为首次云南省曲

靖市孕妇人群的大规模地贫筛查,并对筛查阳性者的基因型进行分析,为今后曲靖地区地贫研究奠定了基础,也为云南省地贫的防控提供了一定的数据支持。

参考文献

- [1] Weatherall DJ. Hemoglobinopathies worldwide: present and future[J]. Curr Mol Med, 2008, 8: 592-599.
- [2] 徐湘民. 地中海贫血预防控制计划操作指南[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010.
- [3] 朱宝生, 贺静, 张杰, 等. 云南省地中海贫血基因携带者及患者 α 和 β 珠蛋白基因突变谱与产前基因诊断[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(2): 85-89.
- [4] 张杰, 贺静, 曾小红, 等. 云南省人群地中海贫血遗传多样性的研究[J]. 昆明医科大学学报, 2016, 37(1): 28-34.
- [5] Ip HW, So CC. Diagnosis and prevention of Thalassemia[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2013, 50(6): 125-141.
- [6] 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 29-35, 40-41.
- [7] Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia[J]. Hemoglobin, 1987, 11(1): 65-88.
- [8] Braun T, Brauer M, Fuchs I, et al. Mirror syndrome: a systematic review of fetal associated conditions, maternal presentation and perinatal outcome[J]. Fetal Diagn Ther, 2010, 27(4): 191-203.
- [9] Bajoria R, Chatterjee R. Current perspectives of fertility and pregnancy in thalassemia[J]. Hemoglobin, 2009, 33(Suppl): S131-S135.
- [10] 何文, 王晓东. 余海燕妊娠合并地中海贫血研究现状[J/CD]. 中华妇幼临床医学杂志(电子版), 2017, 13(1): 14-18.
- [11] 罗丽丽, 王莹, 肖琳, 等. 妊娠合并地中海贫血的研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(11): 4-9.
- [12] 林华照, 彭伟彬, 马远珠, 等. 广东省中重型地中海贫血患者疾病经济负担分析[J]. 医学研究生学报, 2015, 28(6): 642-645.
- [13] 张瀚文, 杨雯, 贺静. 云南省地中海贫血的血液学初筛与分析[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(11): 2344-2348.
- [14] 丁雪梅, 曾小红, 朱宝生. 5450 例云南省育龄人群地中海贫血筛查结果分析[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(9): 693-696.
- [15] He J, Zeng X, Zhang Y, et al. Prevalence of hemoglobin E in Yunnan Province of southwest China[J]. Hematology, 2015, 21(1): 54-59.
- [16] 贺林. 常见出生缺陷产前诊断的行业规范与指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 108-118.

(收稿日期: 2019-5-30)

编辑: 宋文颖