

8757 例地中海贫血基因诊断结果分析与研究

侯姝芳¹ 朱俊芳² 陈燕² 李慧珍² 欧明林² 眭维国^{2*}

(1. 广西师范大学生命科学学院, 广西 桂林 541004;

2. 中国人民解放军第一八一医院 肾脏科、全军器官移植与透析治疗中心、广西代谢性疾病研究重点实验室、桂林市肾脏病研究重点实验室, 广西 桂林 541002)

【摘要】 目的 探讨桂林地区地中海贫血的携带率、基因型特征及构成比。**方法** 所有研究对象均采用跨越断裂位点聚合酶链反应(Gap-PCR)以及反向斑点杂交法(reverse dot blot, RDB)技术对地中海贫血基因常见缺失型和点突变的基因型进行检查分析, 观察地中海贫血基因型分布情况。**结果** 8757 例送检样本中, 地中海贫血基因阳性总检出率为 20.3%(1782/8757), 确诊的 α 地中海贫血为 1189 例, 占 66.7%(1189/1782), 其中包括 550 例 α 地中海贫血 1 基因型, 占 46.2%(550/1189); 550 例 α 地中海贫血 2 基因型, 占 49.4%(588/1189); 41 例 HbH 病基因型, 占 3.4%(41/1189)。确诊的 528 例 β 地中海贫血, 占 30%(528/1782), 在 528 例 β 地中海贫血患者中, 其中 $\beta^{CD41-42}/\beta^N$ 的基因型比例最高, 为 47.54%(251/528), 其次为 β^{CD17}/β^N 占 21.02%。在 41 例 β 复合 α 地中海贫血基因型中, 以 19 例 β 复合 α 地中海贫血 1($-^{SEA}/\alpha\alpha$) 基因型检出率最高, 占 46.43%(19/41), 并且检出 β 双重杂合子 $\beta^{IVS-II-654}/\beta^{EM}$ 复合 $-^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 、 $\beta^{CD41-42}/\beta^{IVS-II-654}$ 复合 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 各 1 例, 所占比例均为 2.44%(1/41)。**结论** 研究桂林地区地中海贫血的基因分型特点对于本地区开展遗传咨询和产前诊断提供参考数据。

【关键词】 地中海贫血; 基因诊断; 遗传咨询

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

【Abstract】 Objective To explore the characteristics of genotypes and carrying rate composition ratio of thalassemia of Guilin region. **Method** All the subjects examined and analyzed the genotypes of common deletions and point mutations of thalassemia gene by Gap-PCR and RDB (reverse dot blot) Distribution of thalassemia genotypes. **Results** Among the 8757 samples tested, the positive rate of thalassemia gene was 20.3% (1782/8757), and the number of confirmed α -thalassemia was 1189 (66.7%, 1189/1782), among them, 550 cases of α -thalassemia 1 genotype accounted for 46.2% (550/1189), 550 cases of α -thalassemia 2 genotype (49.4%, 588/1189), 41 cases of HbH genotype (3.4%, 41/1189). Among the 528 patients with β -thalassemia, accounting for 30% (528/1782) of whom were genotypes with the highest proportion of $\beta^{CD41-42}/\beta^N$ (47.54%) 251/528 followed by β^{CD17}/β^N accounting for 21.02%. Among 41 cases diagnosed as β/α thalassemia, β/α thalassemia 1($-^{SEA}/\alpha\alpha$) genotype had the highest detection rate (46.43%, 19/41), and 1 case of β double heterozygous $\beta^{IVS-II-654}/\beta^{EM}/SEA/-\alpha^{3.7}$ and $\beta^{CD41-42}/\beta^{IVS-II-654}/\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$, Accounting for 2.44% (1/41) respectively. **Conclusions** Genotyping of thalassemia in Guilin area provides reference data for genetic counseling and prenatal diagnosis in this area.

【Key words】 thalassemia; genetic diagnosis; genetic counseling

地中海贫血(thalassemia)简称地贫, 是一种血红蛋白病, 血红蛋白是由珠蛋白和血红素组成的四聚体。地贫发病的分子机制是珠蛋白基因突变导致

其对应蛋白表达不足,引发 α/β 链比例失衡,失衡程度越大,溶血性贫血病情越重,其中以 α 、 β 地中海贫血最为常见。地贫属于常见的出生缺陷之一,是可预防的常染色体隐性遗传病,因此地贫防控是出生缺陷防控重点项目之一。研究地贫的致病基因、发病的分子机制和基因型与表型的对应关系,是对地贫患者进行分子诊断、对携带者夫妇进行产前诊断和提供遗传咨询的最重要依据。

该病多发于我国南方地区,但不同地域的地中海贫血发病率存在差别,其中贵州地区的地中海贫血基因阳性检出率为46.05%^[1],广东云浮地区的发病率约11.26%,广东深圳地区的地中海贫血基因阳性检出率为7.9%^[2],福建省约4.41%^[3]。广西是我国地贫携带率最高的地区,每4个人有1个地贫携带者。本研究对8757例受检者地中海贫血筛查进行基因型分析和研究,为本地区地中海贫血的临床诊断及优生优育提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择2016年8月至2017年10月于中国人民解放军第一八一医院进行地中海贫血筛查的8757例受检者为研究对象。研究对象主要分为以下几类:①于本院进行优生遗传咨询的受检者;②红细胞平均体积(erythrocyte mean corpuscular volume, MCV) < 80fl, 平均红细胞血红蛋白量(mean corpuscular hemoglobin, MCH) < 28pg的门诊及住院患者;③于本院进行产前筛查的产妇;④于本院体检中心进行健康体检的体检者。其中男性受检者4366例,女性受检者4391例,年龄为3个月至52岁。本实验研究遵循的程序符合中国人民解放军第一八一医院伦理学标准,得到该委员会批准,并征得受试对象本人的知情同意,并为之签署临床研究知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA的提取方法 所有受检者均采集肘静脉血2ml,至于EDTA-K₂抗凝管。基因组DNA的提取采用深圳益生堂生物企业有限公司提供的全基因组DNA提取试剂(玻璃粉法)。实验步骤严格按照相应试剂盒说明书进行相关

操作。

1.2.2 常见基因型诊断 采用跨越断裂位点聚合酶链反应(多重 GaP-PCR)技术进行常见的4种缺失型 α 地中海贫血($--^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{THAI}/\alpha\alpha$)的检测;并采用反向斑点杂交法(reverse dot blot, RDB)技术进行常见3种非缺失 α 地中海贫血点突变(α^{WS} 、 α^{QS} 、 α^{CS})及17种CD41/42(-TTCT)、CD43(G-T)、IVS-II-654(C-T)、CD71/72(+A)、CD17(A-T)、 β -28(A-G)、IVS-I-1(G-T, G-A)、IVS-I-5(G-C)、-30(T-C)、CD31(-C)、CD27/28(+C)、-32(G-A)、-29(A-G)、Cap(-AAAC)、Int(T-G)、CD14/15(+G)以及 β E(G-A)基因检测。严格按照相应试剂盒说明书进行具体相关检测,试剂盒由深圳益生堂生物公司提供。

1.3 统计学分析方法 本研究数据采用Excel软件处理。样本量估算方法采用Ssize软件,确定满足本研究统计检验的最小样本量。样本中阳性检出例数采用直接计数法,构成比采用百分比(%)表示。

2 结果

2.1 α 地中海贫血 患者常见基因型分布情况在8757例受检者中通过常见的基因型分析,确诊地中海贫血为1782例,检出的阳性率为20.3%(1782/8757)。确诊的 α 地中海贫血为1189例,占66.7%(1189/1782),其中包括550例 α 地中海贫血1基因型,占46.2%(550/1189);550例 α 地中海贫血2基因型,占49.4%(588/1189);41例HbH病基因型,占3.4%(41/1189)。

1189例 α 地中海贫血患者中所占比例最高的是东南亚缺失型($--^{SEA}/\alpha\alpha$),为44.66%(531/1189);其次是 α 地中海贫血2基因型($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$)占25.9%(308/1189);再次是 α 地中海贫血2基因型($-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$)占8.83%(105/1189)。在 α 地中海贫血2基因型中检出的基因型 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha^{CS}\alpha$ 为 α 地中海贫血中的非缺失型中的纯合子,较为少见。HbH基因型主要包括以下5种类型: $--^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 、 $--^{SEA}/-\alpha^{4.2}$ 、 $--^{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$ 、 $--^{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$ 、 $--^{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$,见表1。

表 1 1189 例 α 地中海贫血基因检测结果

基因型	例数(例)	构成比(%)
α 地中海贫血 2 基因型		
2α ^{A.2} /αα	105	8.83
α ^{CS} α/αα	65	5.47
α ^{QS} α/αα	20	1.68
α ^{WS} α/αα	100	8.41
-α ^{3.7} /αα	308	25.90
α 地中海贫血 1 基因型		
-SEA/αα	531	44.66
-THAI/αα	2	0.17
-α ^{3.7} /α ^{3.7}	4	0.34
-α ^{3.7} /α ^{A.2}	7	0.59
-α ^{3.7} /α ^{CS} α	2	0.17
-α ^{A.2} /α ^{WS} α	2	0.17
-α ^{3.7} /α ^{WS} α	1	0.08
α ^{CS} α/α ^{CS} α	1	0.08
HbH 基因型		
-SEA/α ^{3.7}	13	1.09
-SEA/α ^{A.2}	6	0.50
-SEA/α ^{WS} α	7	0.59
-SEA/α ^{CS} α	12	1.01
-SEA/α ^{QS} α	3	0.25
合计	1189	100.00

2.2 β 地中海贫血患者常见基因型分布情况(表 2)

表 2 528 例 β 地中海贫血基因检测结果

基因型	例数(例)	构成比(%)
β ^{CD17} /β ^N	111	21.02
β ^{CD41-42} /β ^N	251	47.54
β ^{IVS-II-654} /β ^N	54	10.23
β ^{CD71-72} /β ^N	31	5.87
β ^{-28M} /β ^N	48	9.09
β ^{CD27/28} /β ^N	3	0.57
β ^{EM} /β ^N	17	3.22
β ^{-29M} /β ^N	6	1.14
β ^{CD43} /β ^N	4	0.76
β ^{CD31} /β ^N	1	0.19
β ^{CAPM} /β ^N	1	0.19
β ^{IVS-I-1} /β ^N	1	0.19
合计	528	100.00

确诊的 528 例 β 地中海贫血,占 30%(528/1782),均为 β 杂合子基因型,在 528 例 β 地中海贫血患者中,其中 β^{CD41-42}/β^N 的基因型比例最高,为 47.54%(251/528),其次为 β^{CD17}/β^N 占 21.02%,β^{CD31}/β^N、β^{CAPM}/β^N、β^{IVS-I-1}/β^N 以上 3 种地中海贫血基因型所占比例最少均为 0.19%(1/528),见表 2。

2.3 β 复合 α 地中海贫血患者常见基因型分布情况(表 3)

表 3 41 例 β 复合 α 地中海贫血患者基因型检测结果[例(%)]

基因型	-SEA/αα	-α ^{3.7} /αα	-α ^{A.2} /αα	-SEA/α ^{3.7}	合计
β ^{CD41-42} /β ^N	9(21.95)	9(21.95)	6(14.63)	0(0)	24(58.50)
β ^{CD17} /β ^N	4(9.75)	1(2.44)	0(0)	0(0)	5(12.20)
β ^{-28M} /β ^N	2(4.88)	3(7.32)	0(0)	0(0)	5(12.20)
β ^{IVS-II-654} /β ^N	1(2.44)	1(2.44)	0(0)	0(0)	2(4.90)
β ^{CD71-72} /β ^N	1(2.44)	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.44)
β ^{CD43} /β ^N	1(2.44)	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.44)
β ^{-29M} /β ^N	1(2.44)	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.44)
β ^{IVS-II-654} /β ^{EM}	0(0)	0(0)	0(0)	1(2.44)	1(2.44)
β ^{CD41-42} /β ^{IVS-II-654}	0(0)	1(2.44)	0(0)	0(0)	1(2.44)
合计	19(46.34)	15(36.59)	6(14.63)	1(2.44)	41(100.0)

在 1782 例确诊为地中海贫血为阳性的受检者本研究共检出 β 复合 α 地中海贫血基因型共 41 例,占 0.02%(41/1782)。其中 19 例 β 复合 -SEA/αα 的基因型,占 46.43%(19/41),15 例 β 复合 -α^{3.7}/αα,占 36.59%(15/41),并且检出 β 双重杂合子 β^{IVSII-654}/β^{EM} 复合 -SEA/α^{3.7}、β^{CD41-42}/β^{IVSII-654} 复合 -α^{3.7}/αα 各 1 例,所占比例均为 2.44%(1/41),见表 3。

3 讨论

全球遗传流行病学研究显示,全球约 3.5 亿人(2%)是地中海贫血基因携带者,预计每年 33.6 万

的新生患儿患有血红蛋白病。塞浦路斯遗传流行病学研究显示,14%的塞浦路斯人是地中海贫血的携带者,预计每年每出生 192 例新生儿就有 1 例为地贫纯合子,如果没有有效的预防,从 1971~2010 年,该国地贫患病率从 1:1000 增加至 1:138,由于塞浦路斯迅速建立国家防控计划,其地贫出生人口显著降低。根据广西遗传流行病学研究显示,约 1:4 是地中海贫血基因携带者,预计每 230 个胎儿就有一个重型地贫患者,因此在广西开展地贫的大规模人群干预十分必要,提高人口素质,减少地贫患儿的出生,为家庭和社会减轻由于地贫患儿带来的沉重

的经济负担有十分重要的意义。

本研究对桂林地区 8757 例地中海贫血筛查受检者进行地贫基因型检查,初筛的阳性率为 20.3% (1782/8757),低于贵州地区的地中海贫血基因阳性检出率(46.05%)^[1],但远高于李云珠^[2]等对广东深圳地区人群的研究结果[7.9%(2194/12960)]。由表 1 可见,地中海贫血以地中海贫血 1 基因型为主(46.26%,550/1189)与广东茂名地区人群的研究结果相比略低^[4]。在 α 地中海贫血 2 基因型中检出的基因型 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha^{CS}\alpha$ 在广东茂名地区人群中未检出。由此可见,广西地区地中海贫血的基因类型较为丰富。

β 地中海贫血是由于血红蛋白的-珠蛋白链合成减少或缺失,危害最为严重的遗传性溶血性贫血。广西地区人群 β -地贫基因携带率为 6.78%^[5],本研究结果显示桂林地区 β -地贫基因携带率为 6.15% (528/8587),在 528 例 β -地中海贫血患者中,其中 $\beta^{CD41-42}/\beta^N$ 的基因型比例最高,为 47.54% (251/528),其次为 β^{CD17}/β^N 占 21.02%,与贵阳和重庆地区有较大差别,贵阳和重庆地区以 β^{CD17}/β^N 为主。本研究中, β 复合 α 地中海贫血基因型共 41 例,占 0.02% (41/1782) 该结果低于广东地区的检出率 8.6%^[6-7]。以基因型 $\beta^{CD41-42}/\beta^N$ 复合^{-SEA}/ $\alpha\alpha$ 为主,与广西地区有相似的结果。由此可见,桂林地区地

中海贫血基因型具有独特的分布特征,本研究结果为该地区育龄人群做好婚前、孕前及孕期地中海贫血的筛查及基因诊断提供参考依据。

参 考 文 献

- [1] 朱晓西. 贵州地区 2000 例地中海贫血基因诊断结果分析与研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2016,24(12):39-40.
- [2] 李玉珠,高素青,史敦云,等. 深圳地区 12906 例地中海贫血筛查受检者的地中海贫血基因型分析[J]. 国际输血及血液学杂志,2016,39(3):209-215.
- [3] 徐两蒲,黄海龙,王燕,等. 福建省籍各地市人群地中海贫血的分子流行病学研究[J]. 中华医学遗传学杂志,2013,30(4):403-406.
- [4] 邓波,邱振华,叶小媚. 325 例孕妇孕前地贫基因检测结果分析[J]. 深圳中西医结合杂志 2015,25(24):17-19.
- [5] 唐娟,张学林,蒋群芳,等. 广西桂林地区 β -地中海贫血基因突变类型的探讨[J]. 中华医学遗传学杂志,2013,21(12):45-46.
- [6] 熊符,娄委武,魏小凤,等. 广西地区 79 例 β 复合 α 地中海贫血患者血液学特征分析[J]. 中华血液学杂志,2012,33(10):856-860.
- [7] 田文芳,唐喜军,易素芬. 广东省珠海市地区 α 和 β 地中海贫血基因突变类型研究[J]. 检验医学与临床,2011,8(12):1487-1488.

(收稿日期:2018-01-07)

编辑:宋文颖