

东莞市地中海贫血基因类型与异常血红蛋白种类调查分析

彭兰芬, 汤惠华, 付文金, 曾见芬, 叶长钦, 陈楚填, 黄志宏 (广东医学院附属厚街医院检验医学中心, 广东东莞 523945)

【摘要】 目的 对东莞厚街地区婚前检查、产前检查人群及贫血患者进行血红蛋白(Hb)电泳及基因分型, 了解该地区地中海贫血基因携带率、基因类型和异常 Hb 种类, 为 Hb 分子病的流行病学调查和减少地中海贫血重型患儿出生率提供重要依据。**方法** 采集静脉血液进行血常规分析、Hb 电泳、铁蛋白检测筛查, 并用 Gap-PCR and 反向斑点杂交(RDB)法进行基因分型。**结果** 3 907 例成人静脉血标本检出疑似 α -地中海贫血 453 例, 经基因诊断为 α -地中海贫血 328 例, 基因携带率 8.40%; 453 例疑似 α -地中海贫血个体经基因诊断为阴性者 116 例, 联合检测血清铁蛋白, 其中 107 例提示铁蛋白均低于正常参考值, 结合血液学参数和临床诊断为缺铁性贫血。检出疑似 β -地中海贫血 321 例, 经基因诊断为 β -地中海贫血 316 例, 基因携带率 8.09%。共检出 6 种 β -地中海贫血基因, 其中 IVS- II -654(C \rightarrow T)、TATA box-28(A \rightarrow G)、CD17(A \rightarrow T)和 CD41-42(-TCTT)是东莞地区 β -地中海贫血基因的主要类型, 共占 91.46%, 另检出了少见基因型 CD14-15(+G)。检出双重杂合子 17/ β E 1 例, IVS- II -654/CD41-42 2 例, $-^{SEA}$ /IVS- II -654 1 例。检出异常 Hb 40 例, 种类共 5 种, 分别是 HbE、HbG、HbK、HbD 和 HbJ; 检出 HbG 复合 α -地中海贫血 5 例, HbJ 复合 α -地中海贫血 2 例。**结论** 东莞地区是地中海贫血高发区, 其中 α -地中海贫血基因携带率与 β -地中海贫血基因携带率相当, β -地中海贫血基因携带率高于广东省其他地区; 东莞市人口结构复杂, 也是异常 Hb 病多见地区, 所以做好 Hb 分子病筛查工作有重要意义。

【关键词】 地中海贫血; 基因型; 血红蛋白类, 异常

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.02.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)02-0142-03

Investigation of genotype of thalassemia and hemoglobin variants in Dongguan city PENG Lan-fen, TANG Hui-hua, FU Wen-jin, ZENG Jian-fen, YE Chang-qin, CHEN Chu-tian, HUANG Zhi-hong (Department of Clinical Laboratory, Affiliated Houjie Hospital, Guangdong Medical College, Dongguan 523945, China)

【Abstract】 Objective To investigate the genotype of thalassemia and hemoglobin variants in Dongguan, in order to provide the hemoglobin molecule disease epidemiology and prevent the birthrates of severe thalassemia. **Methods** The red blood cell indices analysis, hemoglobin electrophoresis and ferritin were carried out on all of 3 907 samples of venous blood. Gap-PCR and RDB method were used for detecting α -thalassemia genotyping and β -thalassemia genotyping. **Results** 328 cases were with α -thalassemia (8.76%), 116 cases were negative by Gap-PCR. Among them, 107 cases prompted low ferritin; 316 cases were with β -thalassemia (8.09%), TATA box-28(A \rightarrow G), CD17(A \rightarrow T), CD41-42(-TCTT) were the major genotypes of β -thalassemia in this area. The rare genotype CD14/15(+G) was also checked out. There were double heterozygous 17/ β E in 1 case, IVS- II -654/CD41-42 in 2 cases and $-^{SEA}$ /IVS- II -654 in 1 case. There were 40 cases of abnormal hemoglobin, a total of 5 categories, namely HbE, HbG, HbK, HbD and HbJ, while at the same time HbG composite α -thalassemia were checked out in 5 cases, HbJ composite α -thalassemia in 2 cases. **Conclusion** The high incidence of thalassemia is discovered in Dongguan City, α -thalassemia gene carrier rate and β -thalassemia gene carrier rate are equivalent, β -thalassemia gene carrier rate is higher than that in other areas of Guangdong province. The population structure of Dongguan city is complex, and also more common abnormal hemoglobin diseases have been discovered in this area, so doing the hemoglobin molecule disease screening work has important significance.

【Key words】 thalassemia; genotype; hemoglobins, abnormal

地中海贫血是我国南方发病率高、对人口质量影响较大的遗传病之一, 尤以广西最高。该病的分子病理学具有高度异质性, 且呈明显的地域差异和种族特征。东莞市地处珠三角, 人口结构复杂, 聚居了南方各省务工人员, 有较复杂的基因背景, 但该地区地中海贫血缺乏详细的流行病学资料。为此, 作者对本地区婚前和产前检查人群和贫血患者进行了地中海贫血筛查和基因诊断, 为本地区的血红蛋白(Hb)分子病的研究提供证据, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2006 年 8 月至 2009 年 12 月, 本院产前和婚

前检查人群和门诊患者标本共 3 907 例。用 EDTA-K₂ 真空采血管采集静脉血标本 2 支, 每支约 2 mL, 1 支用于 Hb 电泳筛查, 若电泳时发现异常 Hb 带, 另 1 支用作基因诊断。同时用电化学免疫分析方法检测血清铁蛋白。

1.2 筛查方法 Hb 电泳仪为美国 HELENA SAS3/4 全自动电泳分析仪及分析系统, 碱性 Hb 电泳琼脂糖凝胶为原厂配套产品, 严格按厂家提供的说明书进行电泳与扫描分析。

1.3 基因诊断方法与异常 Hb 带的判断

1.3.1 α -地中海贫血基因诊断 采用裂口 PCR(gap-PCR)方法, β -地中海贫血基因诊断采用反向斑点杂交(RDB)方法, 试

剂均由中山大学达安基因公司提供。

1.3.2 异常 Hb 带的判断 本研究中异常 Hb 筛查方法为 pH8.6 的碱性 Hb 电泳,目前已知的 Hb 在此条件下均向阳极移动,其移动速度为:HbH>HbBart's>HbJ>HbK>HbA>HbF>HbG>HbD>HbE>HbA2>HbC-S>CA1>CA2。通过图谱比较,初步定为常见异常带,但要确诊,还需作进一步的肽链分析。

1.4 统计学处理 α 、 β 基因携带率分别用强度相对百分率表示; α 、 β 基因分型即各基因检出率以结构相对百分比表示。

2 结果

2.1 α -地中海贫血筛查阳性率与基因携带率 3 907 例成人静脉血标本共筛查出疑似 α -地中海贫血 453 例,经基因诊断为 α -地中海贫血 328 例,基因携带率 8.40%,其中 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 248 例,占 75.61%, $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 35 例,占 10.67%, $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 20 例,占 6.10%, $-\text{SEA}/\alpha^{3.7}$ 14 例,占 4.27%, $-\text{SEA}/\alpha^{4.2}$ 7 例,占 2.13%, $-\text{SEA}/\alpha^{\text{CS}}$ 4 例,占 1.22%,见表 1。筛查阳性(HbA2 \leq 2.5%)而未检出缺失型和突变型的个体 116 例,联合铁蛋白检测,107 例提示铁蛋白均低于正常参考值,结合血液学参数和临床诊断为缺铁性贫血。见表 1。

表 1 328 例 α -地中海贫血基因类型诊断结果

基因型	例数	检出率(%)	表型
$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	248	75.61	标准型
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	35	10.67	静止型
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	20	6.10	静止型
$-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$	14	4.27	缺失型 HbH 病
$-\text{SEA}/-\alpha^{4.2}$	7	2.13	缺失型 HbH 病
$-\text{SEA}/\alpha\alpha^{\text{CS}}$	4	1.22	点突变 HbH 病
总计	328	100.00	—

注:—表示无数据。

2.2 β -地中海贫血筛查阳性率与基因诊断 3 907 例成人静脉血标本筛查出疑似 β -地中海贫血 321 人,经基因诊断为 β -地中海贫血 316 例,携带率为 8.09%。本研究共检出 6 种 β -地中海贫血基因类型,分别是 IVS-II-654(C \rightarrow T) 169 例,占 53.48%,TATA box-28(A \rightarrow G) 63 例,占 19.94%,CD17(A \rightarrow T) 31 例,占 9.81%,CD41-42(-TCTT) 26 例,占 8.23%,CD14-15 9 例,占 2.85%, βE^{26} 18 例,占 5.70%。IVS-II-654(C \rightarrow T)、TATA box-28(A \rightarrow G)、CD17(A \rightarrow T)和 CD41-42(-TCTT)是本地区 β -地中海贫血基因的主要类型,共占 91.46%,另两种类型为 βE^{26} 和 CD14-15,分别占 5.70%和 2.85%。见表 2。

表 2 316 例 β -地中海贫血基因类型诊断结果

基因型	例数	检出率%	表型
IVS-II-654(C \rightarrow T)	169	53.48	β^0
TATA box-28(A \rightarrow G)	63	19.94	β^+
CD17(A \rightarrow T)	31	9.81	β^0
CD41-42(-TCTT)	26	8.23	β^0
CD14-15(+G)	9	2.85	β^0
βE^{26}	18	5.70	β^+
总计	316	100.00	—

注:—表示无数据。

2.3 异常 Hb 及双重杂合子的检出率 本研究检出异常 Hb 40 例,种类共 5 种,其中 HbE 18 例,HbG 9 例,HbK 4 例,HbD 3 例,HbJ 6 例;检出异常 Hb 复合地中海贫血 25 例,其中 β -地中海贫血复合 HbE 18 例,HbG 复合 α -地中海贫血 5 例,HbJ 复合 α -地中海贫血 2 例。其他双重杂合子有:IVS-II-654/CD41-42 2 例,17/ βE 1 例, $-\text{SEA}/\text{IVS-II-654}$ 1 例。

3 讨论

3.1 Hb 分子病 是一种全球性分布的遗传性疾病,包括地中海贫血和异常 Hb 病。据世界卫生组织估计,全球约有 18 亿人携带地中海贫血基因。文献报道在中国的南方地区, α -地中海贫血携带率为 10.3%,高于 β -地中海贫血 2.8%^[1];广东湛江地区调查的 α -地中海贫血和 β -地中海贫血基因携带率分别为 8.76%和 3.47%^[2],而本调查发现,东莞市厚街地区 α -地中海贫血与 β -地中海贫血基因携带率相当,分别为 8.40%和 8.09%,与广西学者黄滢等^[3]报道的广东广西交界地区地中海贫血发生率相一致,说明本地区 β -地中海贫血的发生率较其他地区高,如高于深圳布吉地区李彬和彭常军^[4]及广州 2.4%^[5]的报道。

3.2 本地区 α -地中海贫血基因携带率为 8.40%,与广东顺德 8.90%^[6]、广东湛江 8.76%^[2]的报道基本一致,基因类型以标准型东南亚缺失型 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 杂合子为主,占 75.61%,其次是静止型 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 占 10.67%, $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 占 6.10%;缺失型和点突变 HbH 病共 25 例,占 α -地中海贫血病的 7.62%,分别是 $-\text{SEA}/\alpha^{3.7}$ 14 例(4.27%), $-\text{SEA}/\alpha^{4.2}$ 7 例(2.13%), $-\text{SEA}/\alpha^{\text{CS}}$ 4 例(1.22%)。

临床基层实验室应用碱性 Hb 电泳筛查时, α -地中海贫血与缺铁性贫血均表现为 HbA2 偏低,本实验室同时联合铁蛋白检测,可先初步排除缺铁性贫血,这样既利于医生诊断又可为患者减轻基因诊断费用。本次调查发现 HbA2 偏低个体共 453 例,其中 328 例经基因诊断为 α -地中海贫血,占 72.41%,尚有 107 例(23.62%),其铁蛋白检测均低于正常参考范围,应考虑为缺铁性贫血。另有 18 例铁蛋白正常,而基因检测也为阴性。所以在 α -地中海贫血与缺铁性贫血的实验室鉴别诊断中,Hb 电泳筛查联合缺铁性贫血相关检查非常重要。

3.3 本地区 β -地中海贫血基因携带率高于其他地区,共检出 6 种 β -地中海贫血基因,分别是 IVS-II-654(C \rightarrow T) 169 例(53.48%),TATA box-28(A \rightarrow G) 63 例(19.94%),CD17(A \rightarrow T) 31 例(9.81%),CD41-42(-TCTT) 26 例(8.23%),CD14-15(+G) 9 例(2.85%)和 βE^{26} 18 例(5.70%)。IVS-II-654(C \rightarrow T)、TATA box-28(A \rightarrow G)、CD17(A \rightarrow T)和 CD41-42(-TCTT)是本地区 β -地中海贫血基因的主要类型,共占 91.46%, βE^{26} 的检出率略高于国内其他地区^[5],另检出少见基因型 CD14-15(+G)。CD14-15(+G)为中国人中检出的 17 种 β -地中海贫血基因中少见类型基因之一,首先报道于 1988 年,其分子基础为读码框移位突变^[7],在各种调查中少见报道。

3.4 异常 Hb 病 是由于遗传基因的缺陷而引起的一种或几种珠蛋白链分子化学结构的异常而导致的溶血性遗传病^[8]。人类 Hb 变种到目前为止已发现有 750 多种变种,其结构的异常可发生在 α 、 β 、 δ 、 γ 等肽链上,多数不引起临床症状,大部分是在体检中偶然发现。Hb 电泳是检查和鉴定异常 Hb 最主要、最常用的实验诊断方法。异常 Hb 分子结构改变常常使 Hb 分子的总电荷发生改变,在电泳时,各种 Hb 的移动速度因其总电荷不同而有差别。因此,异常 Hb 可与正常 Hb 分离而得

到鉴定。但有一些异常 Hb 总的电荷改变极微或无改变,不易被查出。HbG 现已知道的有十几种之多,它们的分子结构不同,有的表现为 α 链变异,如 HbG Chinese($\alpha_{30}^{Glu \rightarrow Gln}$),也有表现为 β 链变异,如 HbG Taipei($\beta_{22}^{Glu \rightarrow Gly}$), HbG Coughatta($\beta_{22}^{Glu \rightarrow Ala}$)等^[9],但它们在 pH8.6 的碱性 Hb 琼脂糖电泳中的速度一致,条带均出现在 HbG 位置;HbJ 也有多种分子结构,这两种 Hb 变种一般不引起临床症状;HbE 是由于 β 链的第 26 位谷氨酸被赖氨酸代替所形成的,所引起 HbE 的 β 珠蛋白基因的突变位点发生在外显子 1 和内含子 1 交界处附近,直接影响到 mRNA 前体的剪接加工效率,从而降低 β 珠蛋白基因的表达,故 HbE 又是一种 β -地中海贫血样的 Hb 病^[10]。本调查共发现异常 Hb 共 5 种,其中 HbE 18 例, HbG 9 例, HbK 4 例, HbD 3 例, HbJ 6 例。异常 Hb 含量所占比例一般都较高,为 12%~80%。由于条件所限未能对异常 Hb 进行肽链分析,本实验室结果只是初步定位的 Hb 条带,实感遗憾。

3.5 本地区检出异常 Hb 复合地中海贫血 25 例,其中 β -地中海贫血复合 HbE 18 例, HbG 复合 α -地中海贫血 5 例, HbJ 复合 α -地中海贫血 2 例。其他双重杂合子有: IVS-II-654/CD41-42 2 例, 17/ β E 1 例, -^{SEA}/IVS-II-654 1 例,为本地区异常 Hb 种类和地中海贫血基因流行特点提供了参考资料。

东莞地区是地中海贫血高发区,其中 α -地中海贫血基因携带率与 β -地中海贫血基因携带率相当, α -地中海贫血基因类型与国内其他地方一致,但 β -地中海贫血基因携带率高于广东省其他地区;本地区 β -地中海贫血基因类型主要是 IVS-II-654 (C \rightarrow T)、TATA box-28 (A \rightarrow G)、CD17 (A \rightarrow T) 和 CD41-42 (-TCTT),同时检出了少见基因型 CD14/15(+G);东莞市人口结构复杂,也是异常 Hb 病多见的地区。所以本次调查丰富了本地区 Hb 种类的多样性,为流行病学调查研究提供了宝贵资料,同时对促进制订本地区对 Hb 分子病的干预措施提供了

依据。

参考文献

[1] Deng J, Peng WL, Li J, et al. Successful preimplantation genetic diagnosis for alpha- and beta-thalassemia in China [J]. Prenat Diagn, 2006, 26(11): 1021-1028.

[2] 陈碧, 唐棣, 宋丽君, 等. 湛江地区地中海贫血基因携带率及产前基因诊断的研究[J]. 实用医技杂志, 2009, 16(7): 512-513.

[3] 黄滢, 郭柳薇, 李颖利, 等. 广东广西交界地区地中海贫血发生率及基因检测结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(9): 12-14.

[4] 李彬, 彭常军. β -地中海贫血的基因分布及其血常规参数变异分析[J]. 临床血液学杂志, 2009, 4(22): 183-184.

[5] 张力, 区小冰, 余一平. 广东地区 β -地中海贫血基因分析与临床观察[J]. 临床血液学杂志, 2008, 21(1): 5-8.

[6] 梁玉全, 吴素琴, 谢健敏, 等. 广东顺德地区 α -地中海贫血的流行病学调查[J]. 中国热带医学, 2009, 9(3): 426-427.

[7] 张俊武, 龙桂芳. 血红蛋白与血红蛋白病[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2003: 228-229.

[8] International Hemoglobin Information Center. Variant List[J]. Hemoglobin, 1997, 21: 303-602.

[9] 邓家栋, 杨崇礼, 杨天楹, 等. 邓家栋临床血液学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 578-600.

[10] 曾溢滔. 人类血红蛋白[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 156.

(收稿日期: 2010-09-04)

(上接第 141 页)

的特异性也高达 97.8%, 其阴性似然比为各组中最低, 两项抗体均阴性的结果患鼻咽癌的可能性最低; 而 ELISA 检测 EA-IgA 抗体灵敏度低(44.0%), EA-IgA 平行联合 VCA-IgA 或 EA-IgG 的灵敏度均与 单项检测 VCA-IgA 和 EA-IgG 相同, 对提高灵敏度作用不大, 对鼻咽癌早诊价值有限, 但其特异性相对其他 EBV 抗体较高, 阳性似然比为各组中最高, 其阳性结果对鼻咽癌的诊断概率高, 在 VCA-IgA 或 EA-IgG 抗体阳性率较高的鼻咽良性疾病患者中联合检测 EA-IgA, 可在一定程度上提高鼻咽癌筛查的特异性。

综上所述, 用 ELISA 法检测 EBV 抗体用于鼻咽癌的血清学诊断和筛查, VCA-IgA 与 EA-D-IgG 联合检测优于 VCA-IgA 与 EA-D-IgA 联合检测, 前者更适用于对鼻咽癌的筛查, 可采用平行试验来提高诊断的敏感性和阴性预测值, 使漏诊率下降; 采用序列试验来提高诊断的特异性, 提高确诊病例, 使假阳性率减低到最低水平, 让二者发挥互补作用, 提高对鼻咽癌血清学诊断和筛查的价值。

参考文献

[1] 张玉, 吴秋良, 郜红艺. 鼻咽癌与 EB 病毒关系的研究[J]. 广东医学, 2002, 23(4): 328-330.

[2] 钟建明, 廖建, 麦稚平, 等. 检测鼻咽癌 IgG/EA 抗体的临

床意义[J]. 中国肿瘤, 2003, 12(2): 74-75.

[3] 谷俊朝, 刘建. EB 病毒与乳腺癌[J]. 肿瘤研究与临床, 2009, 21(4): 217-218.

[4] 瞿良, 王惠莹, 朱玉琨. 循证检验医学与临床检验医学[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(5): 478-479.

[5] 陈建亮, 肖群. 高危型人乳头瘤病毒、EB 病毒基因在子宫颈癌中的表达及意义[J]. 南华大学学报: 医学版, 2006 (2): 244-247.

[6] 胡维维, 宗永生, 李凤萍, 等. 六种抗 EB 病毒抗体检测在鼻咽癌血清学诊断中的比较[J]. 中国肿瘤临床, 2006, 33 (14): 795-798.

[7] 李汉福, 钟建明, 廖建, 等. 检测 EB 病毒 IgA/VCA、IgA/EA、IgG/EA 抗体对诊断鼻咽癌的价值[J]. 广西医学, 2007, 29(4): 500-501.

[8] 罗耀凌, 欧国萍, 池沛冬, 等. 联合检测 EB 病毒相关抗体和抗原对诊断鼻咽癌的价值[J]. 癌症, 2009, 28(1): 96-99.

[9] 吴文翰, 陈国雄, 吴子柏, 等. 早期发现和筛选鼻咽癌的 EB 病毒血清学检测[J]. 癌症, 2006, 25(2): 250-256.

(收稿日期: 2010-08-02)