

## 361 例孕产妇珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果分析\*

杨 夕, 汪文明, 张体永, 刘利航, 陈 嵌(重庆市南川区人民医院检验科 408400)

**【摘要】 目的** 分析孕产妇中珠蛋白生成障碍性贫血(地贫)基因类型和频率,为优生优育提供参考和指导。  
**方法** 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)技术对 361 例地贫初筛阳性的孕产妇进行  $\alpha$ 、 $\beta$ -地贫基因检测。**结果** 361 例受检孕产妇中检出地贫 165 例,检出率 45.71%。其中,检出  $\alpha$ -地贫 76 例(21.05%),检出 3 种缺失类型,分别为  $-^{SEA}/\alpha\alpha$ (64.47%)、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (32.89%)、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ (2.63%);检出  $\beta$ -地贫 89 例(24.65%),检出 6 种基因突变类型,依次为 CD17(39.33%)、CD41-42(30.34%)、IVS-II-654(16.85%)、CD43(6.74%)、-28(4.49%)、-29(2.25%)。**结论** 基因检测有利于地贫的检出,开展孕产妇人群地贫基因检测,对指导优生优育,有效防止重型地贫患儿的出生有重要意义。

**【关键词】** 孕产妇; 珠蛋白生成障碍性贫血; 基因检测; 基因类型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.23.034 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)23-3314-02

珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)是世界上最常见和发病率最高的遗传性溶血性贫血,也是危害最严重的血红蛋白病之一<sup>[1]</sup>。此病好发于地中海沿岸地区,我国则以南方地区多见。目前地贫尚无有效治疗方法,在妊娠早期或中期开展产前筛查和产前基因诊断,防止重型地贫儿出生,仍是目前控制地贫发生最为有效的措施<sup>[2-3]</sup>。近年来,聚合酶链反应(PCR)和反向斑点杂交(RDB)技术发展迅速,现已普遍应用于地贫的基因诊断。本次研究采用跨越断裂点聚合酶链反应(GAP-PCR)技术和 PCR 结合 RDB(PCR-RDB)技术,对 2012 年 2 月至 2013 年 1 月来本院地贫初筛阳性的 361 例孕产妇进行地贫基因诊断,分析其基因类型及构成,为优生优育提供科学参考依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2012 年 2 月至 2013 年 1 月来本院进行孕检的孕产妇 2 696 例,经血液分析,平均红细胞体积(MCV)小于 80 fL、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)小于 27 pg 者为疑似地贫孕产妇,共 361 例,年龄 19~44 岁。

**1.2 仪器与试剂** StepOne RT-PCR 仪(美国 ABI 公司),Combi-D24 双层杂交仪(韩国 FINEMOULD 公司); $\alpha$ -地贫基因检测试剂由深圳亚能生物技术有限公司提供, $\beta$ -地贫基因检测试剂由深圳益生堂生物企业有限公司提供。

## 1.3 方法

**1.3.1 地贫筛查** 采用 XT-4000I 血细胞分析仪对抗凝静脉血进行 MCV、MCH 检测,符合  $MCV < 80$  fL 和  $MCH < 27$  pg 的孕产妇直接进行  $\alpha$ -和  $\beta$ -地贫基因检测。

**1.3.2 基因型检测** 对地贫初筛阳性的孕产妇,用乙二胺四乙酸(EDTA- $Na_2$ )抗凝管采集静脉血 2 mL,按试剂盒操作说明提取基因组 DNA。 $\alpha$ -地贫基因诊断采用 GAP-PCR 法检测  $-^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$  3 种常见缺失型突变, $\beta$ -地贫基因诊断采用 PCR-RDB 法检测 17 种突变类型。具体操作步骤严格按试剂说明书进行。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据处理;计数资料以百分率表示。

## 2 结果

**2.1 地贫筛查结果** 在 2 696 例孕检的孕产妇中,经血液分析 MCV、MCH,筛查出疑似地贫( $MCV < 80$  fL 和  $MCH < 27$  pg)孕产妇 361 例,经地贫基因检测确诊为地贫 165 例,地贫携带率为 6.12%(165/2 695)。在 2 696 例孕产妇中,确诊为地贫者 165 例,地贫携带率为 6.12%。

**2.2 基因检测结果** 361 例受检孕产妇中检出地贫 165 例,检出率 45.71%(165/361)。其中,检出  $\alpha$ -地贫 76 例,检出率 21.05%(76/361);检出 3 种缺失类型,分别为  $-^{SEA}/\alpha\alpha$  49 例(64.47%)、 $-\alpha^{3.7}/\alpha$  25 例(32.89%)、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  2 例(2.63%)。检出  $\beta$ -地贫 89 例,检出率 24.65%(89/361);在 17 种基因突变类型中检出 6 种基因突变类型,依次为 CD17(39.33%)、CD41-42(30.34%)、IVS-II-654(16.85%)、CD43(6.74%)、-28(4.49%)、-29(2.25%)。未检出  $\alpha$  复合  $\beta$ -地贫。 $\beta$ -地贫基因类型及构成比,见表 1。

表 1 89 例孕产妇  $\beta$ -地贫基因突变类型及构成比

基因类型	n(%)	基因类型	n(%)
-28	4(4.49)	CD43	6(6.74)
-29	2(2.25)	IVS-II-654	15(16.85)
CD17	35(39.33)	合计	89(100.00)
CD41-42	27(30.34)		

## 3 讨论

地贫是一组常见的常染色体隐性遗传病<sup>[4]</sup>,如果夫妻双方均为同型地贫基因携带者,其后代有 1/4 的概率为中间或中型地贫患儿<sup>[5]</sup>。明显低于广州报道 11.47%<sup>[6]</sup>,表明本地区不是地贫高发区。轻型地贫可无临床症状,重型  $\alpha$ -地贫胎儿(Barts 水肿)多在妊娠末期胎死腹中或产下即死;重型  $\beta$ -地贫患儿一般在出生后 3~6 个月发病,呈进行性贫血,常依靠反复输血维持生命,并易发多种并发症,多在童年或青少年期死亡,给家庭和社会带来沉重负担。因此,进行产前诊断预防重型地贫患儿的出生是目前减轻疾病发生的重要手段。本次研究对采用

\* 基金项目:重庆市卫生局科研项目(2011-2-053)。

GAP-PCR 和 PCR-RDB 技术对 361 例地贫初筛阳性孕产妇进行基因检测,确诊为地贫 165 例,阳性率为 45.71%,表明基因检测有利于地贫诊断,为孕产妇考虑是否选择终止妊娠提供了快速可靠的科学参考,对指导优生优育,提高人口素质有重要意义。因此,开展婚检、孕前、孕期中的地贫基因诊断,有利于防止中、重型地贫患儿出生。

本研究结果表明,在 361 例初筛阳性的孕产妇中确诊  $\alpha$ -地贫 76 例,阳性率为 21.05%, $\beta$ -地贫 89 例,阳性率为 24.65%,与四川、重庆地区报道的  $\beta$ -地贫基因携带率高于  $\alpha$ -地贫相似<sup>[7-8]</sup>。其中,76 例  $\alpha$ -地贫孕产妇中,确诊  $-^{SEA}/\alpha\alpha$  型 49 例(64.47%), $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  型 25 例(32.89%), $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  型 2 例(2.63%)。表明  $-^{SEA}/\alpha\alpha$  是本地区孕产妇  $\alpha$ -地贫基因的主要缺失型。在 89 例  $\beta$ -地贫孕产妇中,共检出 6 种基因突变类型,其中突变类型前 5 位分别是 CD17 型、CD41-42 型、IVS-II-654 型、CD43 型、28 型,基因构成比分别为 39.33%、30.34%、16.85%、6.74%、4.49%。表明本地区孕产妇  $\beta$ -突变主要类型是 CD17 型,其次为 CD41-42 型,与云南、贵州、南川报道的主要基因突变类型相似<sup>[9-11]</sup>;而与王欢等<sup>[8]</sup>报道重庆  $\beta$ -突变主要类型略有不同,这可能与本次研究人群范围不同有关,表明不同地域和人群的  $\beta$ -地贫基因突变类型的构成不尽相同。

本次研究中有 196 例地贫初筛阳性的孕产妇未检测出相应的珠蛋白基因突变位点,存在缺铁性贫血或其他基因突变类型。由于本次地贫基因诊断采用目前常用的 GAP-PCR 和 PCR-RDB 技术,主要检测  $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  3 种缺失型及 Qs、CS、WS 3 种点突变类型和我国常见 17 种  $\beta$ -地贫基因突变位点,不能检测出其他罕见突变类型。

综上所述,本文地贫基因诊断方法对探索建立有效的产前地贫基因诊断提供了科学参考,其研究结果为指导本地区孕产妇地贫的遗传咨询、携带者筛查、产前诊断提供了一定的参考价值。

参考文献

[1] 郑美琴,李伟,吕建新.温州地区汉族人群  $\beta$ -地中海贫血

(上接第 3313 页)

et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis; criteria for bacterial strain typing[J]. J Clin Microbiol, 1995, 33(9): 2233-2239.

[6] Jeon BC, Jeong SH, Bae IK, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 beta-lactamase in Korea [J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(5): 2241-2245.

[7] Lee K, Yum JH, Yong D, et al. Novel acquired metallo-beta-lactamase gene, bla(SIM-1), in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(11): 4485-4491.

[8] Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp [J]. Int J Antimicrob Agents, 2006, 27(4): 351-353.

患者 B 珠蛋白基因突变分析 [J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(3): 236.

[2] 沈寅琛. 南宁地区 14768 例优生与遗传咨询者的分析 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2009, 17(8): 120.

[3] 朱慧明. 24743 例婚检人群地中海贫血筛查情况分析 [J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(23): 3598-3599.

[4] 麦凤鸣, 颜双鲤. 地中海贫血筛查指标的分析评价 [J]. 中华全科医学, 2013, 11(3): 350.

[5] Najmabadi H, Ghamari A, Sahebjam F, et al. Fourteen-year experience of prenatal diagnosis of thalassemia in Iran [J]. Community Genet, 2006, 9(2): 93-97.

[6] 唐盈, 陈桂兰, 何聚莲, 等. 1031 例广州市育龄人群地中海贫血基因诊断分析 [J]. 国际医药卫生导报, 2013, 19(16): 2465-2467.

[7] 王霞, 江虹, 贾劲, 等. 四川地区人群地中海贫血的筛查及基因分析 [J]. 生物医学工程学报, 2011, 28(1): 135-137.

[8] 王欢, 刘申, 黄君富, 等. 953 例重庆地区地中海贫血基因突变类型分析 [J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(17): 1802-1804.

[9] 朱宝生, 贺静, 张杰, 等. 云南省地中海贫血基因携带者及患者  $\alpha$  和  $\beta$  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.

[10] 马星卫, 许吟, 戴薇, 等. 贵阳地区 1143 例孕妇地中海贫血筛查及基因检测结果分析 [J]. 重庆医学, 2013, 42(17): 1990-1991.

[11] 杨夕, 汪文明, 安刚, 等. 南川地区地中海贫血基因分型的分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(21): 2830-2831, 2834.

(收稿日期: 2014-03-17 修回日期: 2014-05-20)

[9] Héritier C, Poirel L, Fournier PE, et al. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(10): 4174-4179.

[10] Mugnier PD, Poirel L, Naas T, et al. Worldwide dissemination of the blaOXA-23 carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii* [J]. Emerg Infect Dis, 2010, 16(1): 35-40.

[11] Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen [J]. Clin Microbiol Rev, 2008, 21(3): 538-582.

[12] Wang X, Zong Z, Lü X. Tn2008 is a major vehicle carrying bla(OXA-23) in *Acinetobacter baumannii* from China [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 69(2): 218-222.

(收稿日期: 2014-04-16 修回日期: 2014-06-12)