

桂西地区产前筛查人群珠蛋白生成障碍性贫血基因型分布*

陈丽坤¹, 韦国凯¹, 陈湘壬¹, 黄丽梅¹, 廖珍艺¹, 王俊利^{2△}, 韦贵将¹ (1. 右江民族医学院, 广西百色 533000; 2. 右江民族医学院附属医院检验科, 广西百色 533000)

【摘要】目的 调查桂西地区产前筛查人群珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)的基因携带率、基因型及其分布特征。**方法** 回顾性分析 2012~2013 年桂西地区的右江民族医学院附属医院、百色市人民医院、百色市妇幼保健院共三家医院的以产前筛查为目的的育龄人群地贫检查相关数据,包括血常规、血红蛋白电泳、地贫基因检查等。**结果** 收集到 1 718 例(即 859 对)夫妇的地贫筛查的相关数据,得出育龄人群中地贫基因携带者 651 例,地贫总发生率为 37.90%,其中 α -地贫 347 例,发生率为 20.20%, β -地贫 304 例,发生率为 17.70%, α -地贫复合 β -地贫 54 例,发生率为 3.14%。共检出携带有相同 α 或 β -地贫基因型的高风险夫妇 53 对,占参检夫妇对数的 6.17%。**结论** 桂西地区产前筛查育龄人群地贫基因携带率近 40%,其中 α -地贫基因型以 $\alpha\alpha/--SEA$ 和 $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ 为主; β -地贫基因型以 $\beta 17M/N$ 和 $\beta 41-42M/N$ 为主;此数据可为该地区育龄人群的地贫防控提供支持。

【关键词】 桂西地区; 育龄人群; 珠蛋白生成障碍性贫血; 基因型分布

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.10.002 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)10-1342-03

Genotype distribution of population screening for thalassemia prenatal in western area of Guangxi* CHEN Li-kun¹, WEI Guo-kai¹, CHEN Xiang-ren¹, HUANG Li-mei¹, LIAO Zhen-yi¹, WANG Jun-li^{2△}, WEI Gui-jiang² (1. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China)

【Abstract】Objective To investigate gene carrying rate, genotype and distribution characteristics of population screening for thalassemia prenatal in western area of Guangxi. **Methods** Relevant data of population screening for thalassemia from 2012 to 2013 in Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, People's Hospital of Baise City and Maternity and Child Care Hospital of Baise City were analyzed retrospectively, including blood routine examination, hemoglobin electrophoresis, thalassemia gene inspection. **Results** Data of 1 718 cases (859 couples) screening thalassemia were collected, there were 651 persons carrying thalassemia gene, the total incidence rate was 37.90%, including α -thalassemia 347 cases (20.20%), β -thalassemia 304 cases (17.70%), α -thalassemia complex β -thalassemia 54 cases (3.14%). A total of 53 couples with high risk who were found to carry the same α or β -thalassemia gene, with the incidence rate as 6.17%. **Conclusion** Thalassemia gene carrier rate of persons accepted prenatal screen in western area of Guangxi is nearly 40%, most of α -thalassemia genotypes are $\alpha\alpha/--SEA$ and $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$, the proportion was 53.03% and 15.27%, most of β -thalassemia genotypes are $\beta 17N/N$ and $\beta 41-42M/N$.

【Key words】 western area of Guangxi; childbearing age of persons; thalassemia; genotypes

珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫),是由于常染色体遗传性缺陷,引起珠蛋白肽链合成障碍,使一种或几种珠蛋白肽链数量不足或完全缺乏,导致的一种危害严重的溶血性贫血遗传性疾病^[1]。地贫常见于在我国长江以南省区,特别是广西、广东和海南三省^[2-3]。地贫的高发病率,已使各种血红蛋白病成为这些地区严重的社会公共卫生问题。此外,重型地贫可导致死亡,且目前尚缺乏对重型地贫的根治方法,因此在广西地区对人口质量构成了严重的威胁^[4]。目前,在人群中实施遗传筛查预防,对妊娠妇女实施产前诊断是最有效的降低地贫发生率的措施。本研究以广西桂西地区产前筛查育龄人群为对象,旨在初步掌握该地区育龄人群中地贫的基因携带率、基因型及其分布特征,为当地政府和医疗单位制定有效的地贫控制策略,避免重型地贫患儿的出生奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2012~2013 年桂西地区右江民

族医学院附属医院、百色市人民医院、百色市妇幼保健院共三家医院以产前筛查为目的的育龄人群地贫检查相关数据,包括血常规、血红蛋白电泳、地贫基因检查等,调查对象年龄 20~46 岁。

1.2 方法

1.2.1 血标本采集 用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝真空管分别采集外周血各 2 mL 进行地贫基因型分布研究。

1.2.2 红细胞参数分析及血红蛋白(Hb)电泳 采用日本东亚 Sysmex XE-5000 全自动血细胞分析仪进行各项红细胞参数分析;按照《全国检验操作规程》第 3 版,制备血红蛋白液,然后将其加样于已浸透 Tris 缓冲液的醋酸纤维薄膜条上,置 pH 8.5 的缓冲液中电泳 30 min,各区带剪下直接洗脱于蒸馏水中比色测定(721 分光光度计),对 HbA₂ 及 Hb F 水平进行定量。最后,以红细胞平均体积(MCV)小于 82 fL 作为 α 和 β 地贫阳性表型的筛查指标,以 Hb F>5% 为 $\delta\beta$ 地贫及 HPFH 的阳性

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81160212);广西医疗卫生重点科研课题(2012085);

2014 年自治区级大学生创新创业训练计划立项项目(201410599012)。

作者简介:陈丽坤,女,本科在读,主要从事珠蛋白生成障碍性贫血分子流行病学研究。△ 通讯作者,E-mail:13907768146@163.com。

表型筛查指标。

1.2.3 DNA 提取 采用商品化全血基因组提取试剂盒 (QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit) 提取标本 DNA, 提取后的标本 DNA 用紫外分光光度计 UV-2000 (美国 Unico 公司) 检测 DNA 的浓度。

1.2.4 地贫基因检测 采用深圳亚能公司生产的 α 地贫检测试剂盒 [国食药监械 (准) 2008 第 3401251 号] 提取 EDTA-K₂ 抗凝真空管 (广州阳普医疗公司) 抽取 2 mL 静脉血 DNA, 用 Gap-PCR 和 PCR-RDB 检测中国人常见 8 种 α 地贫和 18 种 β 地贫基因型; 对 Hb A₂ > 3.5% 且 18 种 β 地贫检测阴性的标本, 进行 β 珠蛋白基因全测序; 用 MLPA 技术分析 Hb F > 5% 标本, 根据其结果设计 Gap-PCR 或普通 PCR 引物, 扩增后测序, 确认 $\delta\beta$ 地贫或 HPFH 基因型。

1.3 统计学处理 所有数据均采用 SPSS13.0 统计软件分析, 并对数据进行完全随机设计资料的相关分析。

2 结 果

2.1 α 和 β 地贫的基因携带率 收集到 1 718 例 (即 859 对) 夫妇地贫筛查的相关数据, 检出地贫基因携带者 651 例, 总发生率为 37.90%, 其中 α -地贫 347 例, 发生率为 20.20%, β -地贫 304 例, 发生率为 17.70%, α -地贫复合 β -地贫 54 例, 发生率为 3.14%。未发现 $\delta\beta$ 地贫及胎儿血红蛋白持续增多症 (HPFH)。共检出携带有相同 α 或 β -地贫基因型的高风险夫妇 53 对, 占参检夫妇对数的 6.17%。

2.2 α -地贫基因型及其构成比 在检出的 347 例 α -地贫中,

缺失型 α -地贫基因型及所占比例分别为: 东南亚缺失型杂合子 ($-\text{SEA}/\alpha\alpha$) 占 53.03%, 左、右缺失型杂合子 ($\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$ 和 $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$) 分别占 5.48% 和 15.27%, 左、右缺失型纯合子 ($-\alpha^{4.2}/-\alpha^{4.2}$ 和 $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$) 分别占 0.29% 和 0.86%, 血红蛋白 H 病 $-\alpha^{3.7}/-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{4.2}/-\text{SEA}$ 分布占 3.46%、0.86%, $\alpha^{3.7}/\alpha^{4.2}$ 占 1.15%。另外检出突变型 α -地贫 68 例, 其基因型见表 1。本地区与广西内其他市区产前筛查人群 α -地贫的调查结果的比较见表 2。

表 1 桂西地区产前筛查人群中 68 例突变型 α -地贫基因型及构成比

基因类型	构成比 [n(%)]
$\alpha\alpha\text{WS}/\alpha\alpha$	22(32.35)
$\alpha\alpha\text{CS}/\alpha\alpha$	25(36.77)
$\alpha\alpha\text{QS}/\alpha\alpha$	2(2.94)
$\alpha\alpha\text{CS}/\alpha\alpha\text{CS}$	3(4.41)
$\alpha\alpha\text{WS}/\alpha\alpha\text{WS}$	3(4.41)
$-\text{SEA}/\alpha\alpha\text{CS}$	5(7.36)
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha\text{CS}$	1(1.47)
$-\text{SEA}/\alpha\alpha\text{QS}$	1(1.47)
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha\text{QS}$	2(2.94)
$-\text{SEA}/\alpha\alpha\text{WS}$	2(2.94)
$\alpha\alpha\text{WS}/\alpha\alpha\text{WS}, \alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$	1(1.47)
$\alpha\alpha\text{WS}/\alpha\alpha\text{WS}, \alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$	1(1.47)
合计	68(100.00)

表 2 不同市区产前筛查人群中 α -地贫的基因缺失型及其构成比

地区	$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$	$\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$	$-\alpha^{3.7}/-\text{SEA}$	$-\alpha^{4.2}/-\text{SEA}$	其他基因型	合计
桂西地区	53.03	15.27	5.48	3.46	0.86	21.90	100.00
玉林市 ^[2]	66.15	9.23	6.15	4.62	3.08	10.77	100.00
钦州市 ^[3]	63.22	12.45	7.14	2.44	0.89	13.86	100.00
梧州市 ^[4]	77.80	8.10	3.90	2.50	1.30	6.40	100.00

表 3 桂西地区产前筛查人群中 11 种 β -地贫的基因型及其构成比

基因型	构成比 [n(%)]
$\beta 17\text{M}/\text{N}$	109(45.39)
$\beta 41-42\text{M}/\text{N}$	75(30.26)
$\beta 71-72\text{M}/\text{N}$	13(5.92)
$\beta \text{IVS}1-1\text{M}/\text{N}$	17(5.92)
$\beta \text{E}\text{M}/\text{N}$	11(4.28)
$\beta 28\text{M}/\text{N}$	12(3.95)
$\beta \text{IVS}2-654\text{M}/\text{N}$	5(1.97)
$\beta 29\text{M}/\text{N}$	1(0.33)
HbE M/N	1(0.33)
$\beta \text{CAP}\text{M}/\text{N}$	1(0.33)
$\beta 14-15\text{M}/\text{N}$	1(0.33)

续表 3 桂西地区产前筛查人群中 11 种 β -地贫的基因型及其构成比

基因型	构成比 [n(%)]
$\beta \text{CAP}, 41-42\text{M}/\text{N}$	1(0.33)
$\beta 28, \text{E}\text{M}/\text{N}$	1(0.33)
$\beta 17, 41-42\text{M}/\text{N}$	1(0.33)
合计	249(100.00)

2.3 β -地贫基因型及其构成比 在检出的 304 例 β -地贫中, 共检出 11 种 β -地贫杂合子, 未检出 β -地贫纯合子, 其构成比见表 3, 其中, 最常见的 5 种突变类型依次为 $\beta 17\text{M}/\text{N}$ (45.39%)、 $\beta 41-42\text{M}/\text{N}$ (30.26%)、 $\beta 71-72\text{M}/\text{N}$ (5.92%)、 $\beta 28\text{M}/\text{N}$ (3.95%)、 $\beta 654\text{M}/\text{N}$ (1.97%), 共占 β 突变基因的 87.49%, 与广西内其他市区产前筛查人群的 β -地贫基因型调查结果的比较见表 4。

表 4 不同市区产前筛查人群中 β -地贫的基因型及其构成比

地区	$\beta 17\text{M}/\text{N}$	$\beta 41-42\text{M}/\text{N}$	$\beta 71-72\text{M}/\text{N}$	$\beta 654\text{M}/\text{N}$	$\beta 28\text{M}/\text{N}$	其他	合计
桂西地区	45.39	30.26	5.92	1.97	3.95	12.51	100.00
柳州市 ^[5]	30.70	41.03	2.74	4.26	7.29	13.98	100.00

表 4 不同市区产前筛查人群中 β -地贫的基因型及其构成比

地区	$\beta 17$ M/N	$\beta 41-42$ M/N	$\beta 71-72$ M/N	$\beta 654$ M/N	$\beta-28$ M/N	其他	合计
梧州市 ^[6]	14.39	42.87	6.31	12.33	16.15	7.95	100.00
玉林市 ^[2]	11.35	50.35	4.96	10.64	9.22	13.48	100.00

3 讨 论

分子遗传流行病学资料显示,地贫基因突变类型和频率具有明显的地理和种族特异性,其广泛地分布于地中海沿岸地区和东南亚,我国的广东、广西、海南、云南、贵州、四川及香港区比较常见。据以往的文献报道显示,我国广西 α -地贫发生率为 10%~15%, β -地贫的发生率为 4%~7%^[7]。

根据缺乏的珠蛋白链种类及缺乏程度,地贫可分为 α - β - δ - γ - $\delta\beta\gamma\delta\beta$ 等不同类型,其中分布最广和最严重的是 α 和 β -地贫。 α -地贫有缺失型和突变型两类,在我国大多数是由于 α 珠蛋白基因的缺失所致,少数由基因点突变造成。 α 珠蛋白基因簇定位于 16 号染色体上,每条染色体有 2 个串联的 α 珠蛋白基因,正常的二倍体细胞有 4 个 α 珠蛋白基因。缺失型就是 α 珠蛋白基因簇大片段的丢失致使全部或部分缺失了两个 α 基因, α 基因缺失的数量越多,病情越严重。我国南方最常见的 α -地贫缺失类型为东南亚型(即-SEA 型)。 β 珠蛋白基因的突变以点突变为,迄今发现 100 余种,缺失型突变则很少见。

本研究发现,在 1 718 例育龄人群的地贫筛查中,共检出地贫基因携带者 651 例,检出率为 37.90%,低于广西钦州市 70.19%(3 033/4 304)^[3]和南宁市 66.44%(895/1 347)^[8],高于玉林市 21.97%(359/1 634)^[9]。导致这种差异的原因一是与研究方法有关,如蒲斌^[3]对来钦州市医院就诊的 2 152 对夫妇一方或双方均为 α -地贫携带者行产前基因诊断,大大提高了地贫的检出率;卢秋维^[8]研究方法是首先基因诊断 1 347 例可疑地贫者(MCV 筛检阳性),然后进行地贫基因诊断,最终确诊地贫 895 例,实际上参检的育龄夫妇 3 219 对(即 6 438 例),地贫基因携带率应为 13.90%。其次原因可能与不同地区间地贫宣教、育龄人群地贫知晓程度等有关。

与广西内其他市区相比,桂西地区育龄人群 α - β -地贫的基因型和构成比基本相似。在 α -地贫缺失型突变基因中,东南亚缺失型杂合子(-SEA/ $\alpha\alpha$)和右缺失型杂合子 $\alpha\alpha$ - $\alpha^{3.7}$ 所占比例最高,即这些地区 α -地贫以这两种基因型为主;在 β -地贫基因类型中,桂西地区以 $\beta 17$ M/N 所占比例最高, $\beta 41-42$ M/N 次之,而柳州市、玉林市以 $\beta 41-42$ M/N 所占比例最高, $\beta 17$ M/N 次之,梧州市以 $\beta 41-42$ M/N 所占比例最高, $\beta-28$ M/N 次之,差异原因可能与不同区域人类遗传学迁徙差异有关。

众所周知,地贫是一种常见的单基因遗传性溶血性疾病,目前尚无良好的根治方法。目前最有效的预防方法是防止重

症地贫患儿的出生,一旦新生儿出现重症地贫,就需要通过定期输血、去铁胺除铁,甚至造血干细胞移植治疗。在中国,输血和用去铁胺治疗地贫患者的费用是极其昂贵的。虽然现代医学提出造血干细胞移植可能治愈地贫,但是这项技术要求高,费用惊人,一般家庭难以承受。因此,地贫患儿的出生,对家庭、社会都会产生巨大的负担,而在这些地区宣传和开展遗传咨询以及产前诊断来进行预防是绝对必要的。桂西地区为地贫的广西高发区,本研究的地贫分子流行病学数据初步明晰了桂西地区育龄人群常见基因型情况,有助于政府和医疗单位制定有效的地贫控制策略,有效避免重型地贫患儿的出生。

参考文献

- [1] Zheng CG, Liu M, Du J, et al. Molecular spectrum of α - and β -globin gene mutations detected in the population of Guangxi Zhuang Autonomous Region, People's Republic of China[J]. Hemoglobin, 2011, 35(1): 28-39.
- [2] 邓国生, 罗宇迪, 张宁. 玉林地区地贫基因缺失和点突变分布的探讨[J]. 中华全科医学, 2011, 9(1): 122-123.
- [3] 蒲滨. 钦州市 α -地贫基因诊断结果回顾性分析[J]. 社区医学杂志, 2013, 11(12): 57-58.
- [4] 余永雄, 黄丽, 陈唯. 梧州婚配群体的 α 地贫携带者筛查与基因诊断分析[J]. 重庆医学, 2012, 41(10): 1002-1003.
- [5] 唐宁. 广西柳州市常住人口 β -地贫的基因型及其分布[J]. 实验与检验医学, 2009, 27(4): 371-372.
- [6] 蔡稔, 李莉艳, 梁昕, 等. 柳州市城镇人群 α 和 β 地贫的发生率调查和基因型鉴定[J]. 中华流行病学杂志, 2002, 23(4): 44-48.
- [7] Pan HF, Long GF, Li Q, et al. Current status of thalassemia in minority populations in Guangxi, China[J]. Clin Genet, 2007, 71(5): 419-426.
- [8] 卢秋维. 南宁市育龄人群地贫筛查与产前诊断研究[J]. 广西医学, 2010, 32(7): 869-870.
- [9] 邓国生, 罗宇迪, 张炬光. 玉林市 1634 例孕妇产前地贫筛查分析[J]. 中外医疗, 2009, 28(36): 137.

(收稿日期: 2014-09-19 修回日期: 2015-01-24)

(上接第 1341 页)

附检测血清 EB 病毒 VCA-IgA 和 EA-IgG 诊断鼻咽癌[J]. 广东医学, 2003, 24(4): 371-373.

- [18] 汪欣, 赵素萍, 吴旋, 等. 4 种标记蛋白抗体测定在鼻咽癌体检筛查及诊断中的应用[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(21): 2563-2564.
- [19] 郭丽萍, 崔英, 梁新强, 等. EB 病毒抗体联合检测在筛查鼻咽癌高危人群中的应用价值[J]. 中国医药指南, 2012, 10(10): 26-27.

- [20] 程伟民, 陈国雄, 陈鸿霖, 等. 以血清 EB 病毒抗体谱评估患鼻咽癌危险度的研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2002, 24(6): 561-563.
- [21] 姜世强, 柳青. EBVDNA 和 EBV 抗体指标早期诊断鼻咽癌方案的筛选[J]. 中国肿瘤临床, 2009, 36(22): 1271-1273.

(收稿日期: 2014-11-05 修回日期: 2015-01-15)