

深圳地区两种类型的珠蛋白生成障碍性贫血的基因型及表型研究*

裴元元, 李高驰, 冉 健, 魏凤香[△] (广东省深圳市龙岗区妇幼保健院 518172)

【摘要】 目的 分析深圳地区人群的 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血及非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的血液学特征及基因突变类型。方法 收集 2013 年 5 月至 2014 年 5 月血液学及血红蛋白电泳筛查阳性的 3 082 例疑似珠蛋白生成障碍性贫血患者, 检测中国人群中常见的 17 种 β -珠蛋白生成障碍性贫血突变、3 种 α -珠蛋白生成障碍性贫血点突变及 3 种缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因改变。结果 1 042 例经基因确诊的珠蛋白生成障碍性贫血患者中有 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血 35 例, 非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血 60 例。 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血表现为小细胞低色素及血红蛋白(Hb)A₂ 的升高, β -珠蛋白生成障碍性贫血基因以 CD41-42 (37.1%)、IVS-2-654 (31.4%)、-28 (14.3%) 突变较为常见, α -珠蛋白生成障碍性贫血基因则以 $-\text{SEA}$ (42.1%) 为主; 非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血中, $\alpha^{\text{CS}}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\alpha^{\text{QS}}\alpha/\alpha\alpha$ 表现为小细胞低色素, $\alpha^{\text{WS}}\alpha/\alpha\alpha$ 携带者则无血液学异常表现, $\alpha^{\text{CS}}\alpha/\alpha\alpha$ 伴有 Hb A₂ 的降低, Hb CS、Hb WS、Hb QS 的构成比依次为 54.1%、31.1%、14.8%。两类患者的红细胞、平均红细胞 Hb 浓度、红细胞体积分布宽度均在正常值范围。结论 深圳地区 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血发生率为 1.14%, 非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血发生率为 1.9%, 两类患者均缺乏特异性的血液学指标变化。

【关键词】 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血; 非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血; 基因型; 血液学表型

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.14.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)14-1981-03

Study on genotypes and phenotypes of $\alpha\beta$ compound thalassemia and non-deletion α thalassemia in Shenzhen area*

PEI Yuan-yuan, LI Gao-chi, RAN Jian, WEI Feng-xiang[△] (Longgang District Maternal and Child Health Care Hospital, Shenzhen, Guangdong 518172, China)

【Abstract】 **Objective** To analyze the hematological features and types of gene mutation of $\alpha\beta$ compound thalassemia and non-deletion α thalassemia in Shenzhen area. **Methods** 3 082 patients with suspected thalassemia screened by the hematological and hemoglobin electrophoresis screening in our hospital from May 2013 to May 2014 were collected and detected the gene changes in the commonest 17 kinds of β thalassemia mutation, 3 kinds of α thalassemia point mutation and 3 kinds of deletion α thalassemia among Chinese population. **Results** Among 1 042 cases of thalassemia definitely diagnosed by gene, 35 cases were $\alpha\beta$ compound thalassemia and 60 cases were non-deletion α thalassemia. $\alpha\beta$ compound thalassemia was manifested by microcytic hypochromic anemia and the increase of Hb A₂. The mutations of CD41-42 (37.1%), IVS-2-654 (31.4%) and -28 (14.3%) in β thalassemia gene were common, while the α thalassemia gene was dominated by $-\text{SEA}$ (42.1%); in non-deletion α thalassemia, $\alpha^{\text{CS}}\alpha/\alpha\alpha$ and $\alpha^{\text{QS}}\alpha/\alpha\alpha$ were manifested by microcytic and hypochromic, $\alpha^{\text{WS}}\alpha/\alpha\alpha$ carriers had no hematological abnormal manifestation and $\alpha^{\text{CS}}\alpha/\alpha\alpha$ was accompanied by the Hb A₂ decrease, the constituent ratio of Hb CS, Hb WS and Hb QS were 54.1%, 31.1% and 14.8% respectively. **Conclusion** The occurrence rates of $\alpha\beta$ compound thalassemia and non-deletion α thalassemia in Shenzhen area are 1.14% and 1.9% respectively. The patients of these two kinds of thalassemia all lack the changes of specific hematological indexes.

【Key words】 $\alpha\beta$ compound thalassemia; non-deletion α thalassemia; genotype; hematological phenotype

珠蛋白生成障碍性贫血在临床上根据合成障碍的肽链不同, 大致分为 α -珠蛋白生成障碍性贫血和 β -珠蛋白生成障碍性贫血两大类; 根据 α -和 β -链数量不平衡程度分为轻型、中间型、重型 3 种, 轻型和中间型珠蛋白生成障碍性贫血患者一般可生存到成年期, 重型患者常胎死宫内或在幼年期夭折。该病在我国广西、广东的发生率最高。据报道, 广州地区 α -珠蛋白生成障碍性贫血的发生率约为 8.3%, β -珠蛋白生成障碍性贫血的发生率约为 2.4%^[1-2]。这两类杂合子婚配即有可能出生 $\alpha\beta$

复合型珠蛋白生成障碍性贫血后代, $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血患者无论是与 α -珠蛋白生成障碍性贫血或 β -珠蛋白生成障碍性贫血携带者结合, 都会有 1/4 的概率生育重型珠蛋白生成障碍性贫血患儿^[3]。另外, 由于非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的绝大多数突变位于功能较强的 $\alpha 2$ 基因, $\alpha 2$ 基因发生点突变时, α 肽链的产量比 $\alpha 2$ 基因发生缺失时明显减少, 非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血引起的血红蛋白(Hb)H 病临床表现更为严重。因此 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血及

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81201568); 深圳市龙岗区科技计划项目(YS2013167)。

作者简介: 裴元元, 女, 博士研究生, 主管技师, 主要从事分子遗传、产前筛查诊断工作。 [△] 通讯作者, E-mail: haowei727499@163.com。

非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的准确检出对于做好优生优育工作尤为重要。本文就临床实践中发现的 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血和非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的血液表型以及基因型进行综合分析,旨在掌握本地区人群中 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血和非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的基因型分布、血液表型等资料,为制订可行有效的珠蛋白生成障碍性贫血干预方案提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 5 月至 2014 年 5 月本院收治的 3 082 例疑似珠蛋白生成障碍性贫血患者。

1.2 方法

1.2.1 珠蛋白生成障碍性贫血筛查 取静脉血 2 mL,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,东亚 Sysmex 血细胞分析仪分析红细胞参数,如红细胞计数(RBC)、Hb、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞体积分布宽度(RBC-SD)。MCV \leq 80 fL 和(或)MCH \leq 27 pg 者使用 Sebia 全自动毛细管电泳仪进行 Hb 电泳,分析 Hb 成分及其百分比,Hb A2 $<$ 2.5% 怀疑 α -珠蛋白生成障碍性贫血,Hb A2 $>$ 3.5% 则怀疑 β -珠蛋白生成障碍性贫血,对疑似珠蛋白生成障碍性贫血患者进一步进行珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断。

1.2.2 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测 采用深圳益生堂全血基因提取试剂盒提取外周血基因组 DNA,基因诊断试剂盒诊断 α -珠蛋白生成障碍性贫血的 3 种缺失型突变(gap-PCR 技术)和 3 种点突变(PCR 结合寡核苷酸探针反向印迹杂交法)以及 β -珠蛋白生成障碍性贫血的 17 种点突变(PCR/寡核苷酸探针反向印迹杂交法)。

2 结果

2.1 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果 3 082 例疑似患者共有 1 042 例确诊为珠蛋白生成障碍性贫血。单纯性 α -珠蛋白生成障碍性贫血 622 例(59.7%),单纯性 β -珠蛋白生成障碍性贫血 385 例(36.9%), $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血 35 例(3.4%)。

2.2 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血

2.2.1 红细胞参数分析 以 MCV $<$ 80 fL, MCH $<$ 27 pg 为标准,此类患者主要表现为小细胞、低色素。以轻度贫血 Hb 90 g/L 至正常下限,中度贫血 Hb 60~89 g/L,重度贫血 Hb 30~59 g/L,极重度贫血 Hb $<$ 30 g/L 为标准,此类患者主要表现为轻度贫血,其余红细胞参数 RBC、MCHC、RBC-SD 均在正常值范围,见表 1。

2.2.2 Hb 电泳分析 35 例复合型珠蛋白生成障碍性贫血患者未发现有 Hb F 异常,Hb A2 水平均在 5% 以上。见表 1。

2.2.3 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血的基因型及其频率 共发现 32 例 $\alpha\beta$ 双杂合突变,2 例 Hb H 合并 β 珠蛋白生成障碍性贫血杂合突变^{-SEA/- $\alpha^{3.7}$} 合并 IVS-2-654、^{-SEA/ α^{WS}} α 合并 IVS-2-654 以及 1 例 α^{CS} α /^{- $\alpha^{3.7}$} 合并 CD17。35 例复合型珠蛋白生成障碍性贫血患者中, α -珠蛋白生成障碍性贫血基因常见的 3 种缺失型突变和 3 种点突变均有检出,其中^{-SEA} (42.1%)最常见,其次是^{- $\alpha^{3.7}$} (26.3%)和^{- $\alpha^{4.2}$} (13.2%)。共检出 7 种 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型,分别为 CD41-42 (37.1%)、IVS-2-654 (31.4%)、-28 (14.3%)、CD17 (8.6%)、-29 (2.9%)、CD71-72 (2.9%)、IVS-1-1 (2.9%)。构成 18 种 β -珠蛋白生成障碍性贫血杂合突变并发 α -珠蛋白生成障碍性贫血的复合基因型。见表 2。

表 1 珠蛋白生成障碍性贫血各突变类型的红细胞参数分析($\bar{x}\pm s$)

突变类型	RBC ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/L)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/L)	RBC-SD (%)	Hb A2 (%)
$\alpha\beta$ 复合型	5.11 \pm 0.83	111 \pm 13.24	67.6 \pm 5.20	21.9 \pm 1.77	324 \pm 14.84	15.7 \pm 1.57	5.8 \pm 0.59
α^{CS} α / α	4.60 \pm 0.86	121 \pm 20.99	79.8 \pm 8.18	26.6 \pm 3.66	332 \pm 19.30	13.8 \pm 1.81	2.1 \pm 0.30
α^{QS} α / α	4.66 \pm 0.24	118 \pm 6.95	76.0 \pm 1.02	25.4 \pm 0.55	334 \pm 5.89	14.3 \pm 0.10	2.7 \pm 0.21
α^{WS} α / α	4.58 \pm 0.69	128 \pm 13.82	81.9 \pm 5.39	28.2 \pm 2.31	344 \pm 14.57	13.8 \pm 1.36	2.8 \pm 0.2

表 2 32 例 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血的基因型分布(n)

基因型	^{-SEA} / α	^{-$\alpha^{3.7}$} / α	^{-$\alpha^{4.2}$} / α	α^{CS} α / α	α^{QS} α / α	α^{WS} α / α
CD41-42(-TCTT)	4	3	3	3	0	0
IVS-2-654(C>T)	2	4	1	0	1	1
-28(A>G)	5	0	0	0	0	0
CD17(A>T)	1	0	1	0	0	0
-29(A>G)	1	0	0	0	0	0
CD71-72(+A)	0	1	0	0	0	0
IVS-1-1(G>T)	1	0	0	0	0	0

2.3 非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血

2.3.1 红细胞参数分析 α^{CS} α / α 、 α^{QS} α / α 表现为小细胞低色素,除 α^{QS} α / α 患者 Hb 轻度降低外,其余红细胞参数 RBC、MCHC、RBC-SD 均在正常值范围。 α^{WS} α / α 携带者则无血液学异常表现。见表 1。

2.3.2 Hb 电泳分析 发现 3 例 α^{CS} α / α 及 1 例 α^{WS} α / α 患者

的 Hb F 大于 2.5%,其余非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血患者未见 Hb F 异常。所有 α^{QS} α / α 及 α^{WS} α / α 患者的 Hb A2 均在正常范围(2.5%~3.5%),而 α^{CS} α / α 患者的 Hb A2 均小于 2.5%,且有 14 例 α^{CS} α / α 患者检出有 Hb CS 条带,含量在 0.4%~1.3%。

2.3.3 非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因型及其频率

622 例单纯性 α -珠蛋白生成障碍性贫血患者中,单纯性非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血 47 例($\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 27 例, $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$ 14 例, $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 6 例), $\alpha^{CS}\alpha/\alpha^{WS}\alpha$ 1 例, $\alpha^{WS}\alpha/-^{SEA}$ 2 例, $\alpha^{CS}\alpha/-^{SEA}$ 1 例, $\alpha^{QS}\alpha/-^{SEA}$ 1 例, $\alpha^{CS}\alpha/-\alpha^{4.2}$ 1 例。累加 3 例 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 合并 CD41-42、1 例 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 合并 IVS-2-654、1 例 $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$ 合并 IVS-2-654、1 例 $-^{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$ 合并 IVS-2-654 及 1 例 $\alpha^{CS}\alpha/-\alpha^{3.7}$ 合并 CD17,推算本地区非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血携带率为 1.9% (60/3 082),Hb CS、Hb WS、Hb QS 构成比依次为 54.1%、31.1%、14.8%。

3 讨论

α -珠蛋白生成障碍性贫血主要是由于 α 珠蛋白基因的大片段丢失致使 α 珠蛋白量下降,体内过多的 γ 珠蛋白或 β 珠蛋白形成 Hb Bart's 或 Hb H,导致无效造血和红细胞被破坏;也有少量 α -珠蛋白生成障碍性贫血是由于 $\alpha 1$ 或 $\alpha 2$ 基因的点突变引起。 β -珠蛋白生成障碍性贫血主要是由于 β 基因点突变使 β 珠蛋白合成减少,多余的 α 珠蛋白沉积在红细胞膜上,造成红细胞破坏。目前,大部分遗传病尚无有效的治疗方法,大规模筛查突变基因携带者,阻止患儿出生是必要的预防措施。

流行病学调查显示,广东省人群中同时携带 α 和 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因突变的比例为 0.26%^[4],中山市人群 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血发生率为 1.58%^[5]。本研究中,深圳市人群 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血的发生率为 1.14% (35/3 082),高于全省平均水平^[4,6]。35 例复合型珠蛋白生成障碍性贫血患者中共检出 18 种 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因杂合突变合并 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因突变的复合基因型,其中 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因以 CD41-42 (37.1%)、IVS-2-654 (31.4%)、-28 (14.3%) 杂合突变较为常见, α -珠蛋白生成障碍性贫血基因则以 $-^{SEA}$ (42.1%) 为主, β 基因 CD 41-42 突变与 α 基因 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 突变恰是深圳地区最常见突变类型^[7]。在血液学上,该类患者有小细胞低色素表现,但其贫血并不严重,多为轻度贫血或正常,RBC、MCHC、RBC-SD 等其他红细胞参数均在正常值范围。Hb 电泳结果仅表现为 Hb A2 的升高,与单纯的 β -珠蛋白生成障碍性贫血携带者较为相似。本研究发现的 2 例 β -珠蛋白生成障碍性贫血复合 Hb H 病($-^{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 合并 IVS-2-654、 $-^{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$ 合并 IVS-2-654) 以及 1 例 $\alpha^{CS}\alpha/-\alpha^{3.7}$ 合并 CD17 患者的 Hb 电泳也均未发现 Hb H 或 Hb Bart's,这可能是由于 α 和 β -珠蛋白基因同时有缺陷,导致 α 链和 β 链的合成同时减少,从而使 α 链与 β 链的相对不平衡减轻,不出现多余 β 链和 γ 链的聚合。由于复合型珠蛋白生成障碍性贫血血液学改变没有其独特的性质,因此仅使用 MCV、MCH 等血液学指标及 Hb 电泳筛查复合型珠蛋白生成障碍性贫血可能出现漏诊或误诊,在临床工作中一定要加强对 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血的重视,对 β -珠蛋白生成障碍性贫血筛查阳性的患者,建议其同时进行 α 和 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断,以便正确地指导遗传咨询和产前诊断。

少部分由于 α 珠蛋白基因点突变而引起的 α -珠蛋白生成障碍性贫血即称为非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血。正常人每条 16 号染色体上有 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 两个高度同源的 α 珠蛋白基因, $\alpha 2$ 较 $\alpha 1$ 基因功能强大,其表达量约是 $\alpha 1$ 基因的两倍, $\alpha 2$ 基因的突变对降低基因产物的作用更大。目前,全世界已经报道了 70 多种不同的非缺失型 α 基因突变,大多数的突变位于 $\alpha 2$ 基因内^[8]。有资料显示,不同地区常见的非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因突变的携带率及构成比不同^[9]。本研

究中发现,深圳市非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血携带率为 1.9%,Hb CS、Hb WS、Hb QS 的构成比依次为 54.1%、31.1%、14.8%,符合我国南方非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的人群分布特点^[10]。在血液学上, $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 表现为小细胞低色素,轻度贫血或正常,红细胞参数 RBC、MCHC、RBC-SD 均在正常值范围。 $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$ 携带者则无血液学异常。Hb 电泳结果显示所有 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 及 $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$ 患者的 Hb A2 含量均在正常范围,而 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 患者的 Hb A2 均小于 2.5%,且仅有部分患者可以检测出 Hb CS 条带。血液学指标对非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血携带者的正确检出作用不大。非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血虽然不是珠蛋白生成障碍性贫血的主要突变类型,但其所占的比例不容忽视,在 α -珠蛋白生成障碍性贫血高发区准确筛查出非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血,对预防具有更严重临床表现的非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血胎儿($\alpha^{CS}\alpha/-^{SEA}$ 、 $\alpha^{QS}\alpha/-^{SEA}$ 、 $\alpha^{WS}\alpha/-^{SEA}$ 等)的出生极其重要。

目前珠蛋白生成障碍性贫血尚无确切有效的治疗方法,在临床工作中一定要加强对 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血及非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的重视,减少中间型、重型珠蛋白生成障碍性贫血患儿的发生率,提高人口素质。

参考文献

- [1] 杜传书. 地中海贫血研究的现状与未来[J]. 中华医学遗传学杂志,1996,13(5):257-258.
- [2] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province; implications for the future health burden and population screening[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5): 517-522.
- [3] 蔡永林, 郑裕明, 汤敏中, 等. β -地中海贫血复合缺失型 α -地中海贫血双重杂合子的分子检测及血液学分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2007, 15(1): 195-197.
- [4] 李莉艳, 李强, 宋兰林, 等. 69 例 $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血的血液学和基因型研究[J]. 实用妇产科杂志, 2011, 27(5): 378-381.
- [5] 黄连道, 袁春雷, 冯丹艺. $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血筛查结果分析[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2011, 16(5): 214-216.
- [6] 韩俊英, 曾瑞萍, 胡彬. 广东地区 β 地中海贫血复合 α 缺失型地中海贫血双重杂合子检出率[J]. 中华血液学杂志, 2001, 22(12): 514-516.
- [7] 袁晖, 吴维青, 吴晓霞, 等. 深圳地区育龄人群地中海贫血基因型分布调查[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2012, 33(4): 553-557.
- [8] Hartevelde CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia[J]. Orphanet J Rare Dis, 2010, 5(10): 13.
- [9] 潘干华, 申莞子, 黄勇, 等. 广东南海地区非缺失型 α 地中海贫血分子流行病学调查[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 1(35): 56-57.
- [10] 段山, 李洪义, 陈争, 等. 中国南方 α -地中海贫血基因突变型研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2003, 11(1): 54-60.