·临床探讨·　DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.10.044

肇庆地区 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变分析

陈雄毅,岑丽莲,梁文静
(广东省肇庆市第一人民医院检验科　526040)

摘　要:目的　分析肇庆地区 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型。**方法**　收集 2014 年 5 月至 2017 年 6 月肇庆地区 7 350 例血液标本,检测血红蛋白(Hb)、红细胞(RBC)、红细胞平均容积(MCV)、血红蛋白 A2(HbA2)、胎儿血红蛋白(HbF)呈阳性且 HbA2 和(或)HbF 大于该年龄段上限值的标本,采用 PCR-反向斑点杂交(PCR-RDB)方法同时检测 17 种中国人常见的 β-珠蛋白生成障碍性贫血的基因突变确定基因型,PCR-RDB 法不能确诊的基因突变,采用基因直接测序法确定。**结果**　432 例 β-珠蛋白生成障碍性贫血标本,421 例为轻型,11 例为重型,共 484 条 11 号染色体携带 β-珠蛋白缺陷基因,检出 22 例 10 种少见的 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变,其中 CD43(G→T)7 例,IVS-I-1(G→T)和-29(A→G)各 3 例,CD27/28(+C)和 CD14-15(+G)各 2 例,CAP[CAP+1(A→C)/nts40-43(-AAAC)]、CD31(-C)、CD113(GTG→GAG)、-90(C→T)、CD37(TGG→TAG)各 1 例。**结论**　肇庆地区 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型较多,人群筛查、诊断和产前诊断应予以高度重视。

关键词:β-珠蛋白生成障碍性贫血;　基因突变;　肇庆
中图法分类号:R446　　**文献标志码:**A　　**文章编号:**1672-9455(2018)10-1508-04

珠蛋白生成障碍性贫血为常染色体隐性遗传病,主要分为 α-、β- 2 种类型[1]。遗传后代不分男、女性,概率均等[2]。β-珠蛋白生成障碍性贫血是由于 β-珠蛋白链合成减少或完全不能合成所致,其基因突变类型有明显的地域性,是我国南方最常见和危害最大的遗传病之一。肇庆地区处于广东中西部,为广东省内占地面积最大的城市,人口众多。该院为肇庆地区第一家开展珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断的医疗机构,除发现广东常见的 CD41-42(-77CT)、IVS-Ⅱ-654(C→T)、-28(A→G)、CD17(A→T)、CD71-72(+A)、βE(GAG→AAG)等,还发现了 10 种少见的 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变。报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择 2014 年 5 月至 2017 年 6 月该院产前检查和健康体检的肇庆地区人群,排除急慢性失血、缺铁性贫血等其他贫血,所有研究对象受检时均未输过血或者距末次输血隔间 3 个月以上。共 7 350例检测标本,男 2 546 例,年龄 2 个月至 80 岁,平均年龄(32.5±18.9)岁,女 4 804 例,年龄 2 个月至 82 岁,平均年龄(31.5±17.2)岁。

1.2　仪器与试剂　迈瑞公司 BC-6800 全自动血细胞分析仪及其配套试剂;法国 Sebia 公司 Capillary 毛细管电泳分析仪及其配套试剂;深圳亚能生物技术有限公司 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因检测试剂盒。ABI-3730xl 基因测序仪及配套 BigDye Terminator 试剂盒。

1.3　方法　(1)血液学筛查:检测红细胞(RBC)个数、血细胞比容(HCT)、血红蛋白(Hb)、红细胞平均容积(MCV)、红细胞平均血红蛋白(MCH)、红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)等;进行 Hb 电泳,定量测定胎儿血红蛋白(HbF)、HbA2 等。贫血:Hb 小于该年龄段正常值下限和(或)MCV<80 fL 和(或)MCH<28 pg;Hb 电泳指标:HbA2 和(或)HbF 大于该年龄段上限值;或 Hb 电泳指标阳性可定义为血液学初筛阳性。(2)β-珠蛋白生成障碍性贫血基因型检测:血液学初筛阳性者采用 PCR-RDB 法,同时检测 17 种中国人常见的 β-珠蛋白生成障碍性基因突变,包括 10 种杂合突变[CD41-42(-TTCT)、IVS-Ⅱ-654(C→T)、-28(A→G)、CD17(A→T)、CD71-72(+A)、βE(GAG→AAG)、CD43(G→T)、-29(A→G)、CD31(-C)、-32(C→A)]和 7 种不区分型别的突变[IVS-I-1(G→T)、CD27/28(+C)、-30(T→C)、CD14-15(+G)、CAP[CAP+1(A→C)/nts40-43(-AAAC)]、Int(ATG-AGG)、IVS-I-5(G→C)]。

1.4　基因测序　珠蛋白生成障碍性筛查阳性而 PCR-RDB 法检测仍不能确诊的基因型,均进行直接基因测序。

1.5　诊断标准　根据家族史、血液学筛查、基因分析、基因测序结果确定诊断为 β-珠蛋白生成障碍性贫血。

2　结　　果

2.1　血液学筛查结果　血液学筛查 7 350 例标本中,阳性且 HbA2 和(或)HbF 大于该年龄段上限值标本 875 例,阳性率 11.9%。

2.2　基因诊断结果　875 例初筛阳性标本中,432 例被确诊为 β-珠蛋白生成障碍性贫血,其中轻型 421 例,重型 11 例。共 16 种突变类型,484 个 β-珠蛋白生成障碍性等位基因,其中 462 个等位基因为广东常见

的基因突变类型(95.5%)；22 个等位基因为少见的 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型(4.5%)。其中 19 个等位基因由 PCR-RDB 法确定，另外 3 个通过基因测序确定。

表 1　少见 β-珠蛋白生成障碍性贫血的筛查、基因型和表型结果

编号	性别	年龄	籍贯	RBC ($\times10^{12}$/L)	HCT	Hb (g/L)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/L)	HbF (%)	HbA2 (%)	基因型	表型
1	女	6 个月	高要	2.95	0.189	63	64.1	21.4	333	85.2	3.20	CD41-42(-TTCT)/CD43(G→T)	重型
2	男	8 个月	德庆	3.10	0.214	75	69.0	24.2	350	35.2	3.00	CD41-42(-TTCT)/CD43(G→T)	重型
3	女	9 个月	封开	2.85	0.193	63	67.7	22.1	326	78.1	3.40	-28(A→G)/CD43(G→T)	重型
4	女	1 岁	高要	5.05	0.361	120	71.5	23.8	332	4.5	3.10	CD43(G→T)/βN	轻型
5	男	4 岁	广宁	5.88	0.346	107	58.8	18.2	309	0	4.80	CD43(G→T)/βN	轻型
6	女	22 岁	端州	4.92	0.330	99	66.0	20.1	304	0	5.20	CD43(G→T)/βN	轻型
7	女	25 岁	四会	5.14	0.335	110	65.0	21.3	327	0	6.50	CD43(G→T)/βN	轻型
8	男	5 个月	端州	3.69	0.250	83	67.8	22.5	322	55.4	1.50	CD41-42(-TTCT)/-29(A→G)	重型
9	女	30 岁	高要	5.20	0.322	105	60.0	19.0	326	0	3.80	-29(A→G)/βN	轻型
10	男	27 岁	鼎湖	5.57	0.345	117	61.9	21.0	339	0	3.90	-29(A→G)/βN	轻型
11	男	15 岁	四会	4.46	0.323	95	72.4	21.3	294	5.0	4.20	IVS-I-1(G→T)/βN	轻型
12	女	28 岁	端州	6.16	0.418	137	67.9	22.2	328	6.3	3.40	IVS-I-1(G→T)/βN	轻型
13	女	33 岁	广宁	5.27	0.351	113	66.6	21.4	322	0	4.50	IVS-I-1(G→T)/βN	轻型
14	女	24 岁	高要	5.95	0.392	123	68.9	20.7	314	0	5.70	CD27/28(+C)/βN	轻型
15	男	24 岁	怀集	4.50	0.306	95	68.0	21.1	310	0	6.80	CD27/28(+C)/βN	轻型
16	男	20 岁	端州	4.40	0.285	93	34.8	21.2	326	6.4	4.10	CD14-15(+G)/βN	轻型
17	女	12 岁	怀集	4.09	0.307	118	75.0	28.8	384	0	3.80	CD14-15(+G)/βN	轻型
18	女	32 岁	德庆	5.44	0.330	106	60.7	19.5	321	0	3.70	CapM/βN	轻型
19	女	25 岁	高要	5.08	0.299	93	58.9	18.3	311	0	4.30	CD31(-C)/βN	轻型
20	男	28 岁	端州	6.24	0.378	112	60.6	17.9	296	0	4.90	CD113(GTG→GAG)/βN	轻型
21	女	30 岁	端州	6.08	0.422	135	67.2	22.3	328	5.5	3.70	-90(C→T)/βN	轻型
22	女	24 岁	鼎湖	5.21	0.345	110	66.2	21.1	319	0	4.00	CD37(TGG→TAG)/βN	轻型

表 2　少见 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型和构成比

基因突变类型	等位基因数 (n)	构成比 (‰)
CD43(G→T)	7	14.50
IVS-I-1(G→T)	3	6.20
-29(A→G)	3	6.20
CD27/28(+C)	2	4.13
CD14-15(+G)	2	4.13
CAP[CAP+1(A→C)/nts40-43(-AAAC)]	1	2.07
CD31(-C)	1	2.07
CD113(GTG→GAG)	1	2.07
-90(C→T)	1	2.07
CD37(TGG→TAG)	1	2.07
合计	22	45.50

2.3　少见 β-珠蛋白生成障碍性基因结果　22 例少见的 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变携带者，4 例为重型地贫，基因型分别为 CD41-42(－TTCT)/CD43(G→T)2 例，-28(A→G)/CD43(G→T)和 CD41-42(-TTCT)/-29(A→G)各 1 例，其余 18 例为轻型。共检出 10 种少见的 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型，包括 CD43(G→T)7 例，IVS-I-1(G→T)和-29(A→G)各 3 例，CD27/28(+C)和 CD14-15(+G)各 2 例，CAP[CAP+1(A→C)/nts40-43(-AAAC)]、CD31(-C)、CD113(GTG→GAG)、-90(C→T)、CD37(TGG→TAG)各 1 例。见表 1、2。

3　讨　论

目前，世界上不同种族已发现至少 200 种 β-珠蛋白生成障碍性贫血突变类型，其中 10 多种为缺失型，其余均为点突变[3]。我国绝大多数 β-珠蛋白生成障碍性贫血都是由于基因发生点突变所致，突变涉及基因及旁侧表达顺序的各个环节。主要类型有：(1)编码区的无义突变、移码突变、起始密码突变：如 CD43(G→T)是无义突变密码子，使生成的 mRNA 稳定性

降低或形成无功能的 mRNA,从而不能合成正常的珠蛋白链而产生 β0 珠蛋白生成障碍性贫血。属于此种突变类型的还有 CD27/28(+C)和 CD31(-C)。(2)非编码区 IVS1 和 IVS2 突变:如 IVS1 的 1 位(G→T)因 RNA 拼接处改变,致使 mRNA 不能准确进行加工,形成异常 mRNA,表现为 β0 或 β+。(3)影响转录的突变:这类突变主要集中于起始位点上游的启动子 TATA 框,使转录效率降低,mRNA 生成量减少而产生 β+,-29(A→G)属于此类。(4)RNA 裂解部位缺陷:与异常 RNA 加帽部位和多聚腺甘酸化信号的突变有关。(5)编码区的外显子突变引起剪接作用的改变:IVS 正常位点剪接的改变,会产生异常 mRNA。

本研究对肇庆地区 1 962 例筛查阳性且 HbA2≥3.5 和/或 HbF≥2.5 的标本进行基因检测,432 例被确诊为 β-珠蛋白生成障碍性贫血,阳性检出率 22.0%,共发现 16 种突变类型,高于黄晓佳等[4]的 11 种突变类型。本研究范围和检测方法:(1)除要求研究对象的珠蛋白生成障碍性贫血筛查阳性外,还将 HbA2≥3.5 和/或 HbF≥2.5 作为纳入标准。(2)采用 PCR-RDB 法检测 17 种中国人常见的 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型外,对不能确诊的基因突变,再使用 DNA 直接测序法确定。CD113(GTG→GAG)、-90(C→T)、CD37(TGG→TAG)是通过基因测序确定,且其与 CD27/28(+C)、CD31(-C)是首次于肇庆地区报道的 β-珠蛋白生成障碍性贫血突变类型。

由于 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变具有异质性,在不同地区的基因突变类型和所占的比例也有所不同,其少见突变类型也如此。432 例被确诊为 β-珠蛋白生成障碍性贫血标本中,发现 10 种少见的突变类型,共 22 个基因位点,占同期肇庆地区检出的 4.55%,高于朱春江等[5]报道的桂林地区 6 种少见突变(2.28%),也高于王文娟等[6]报道的江苏地区 3 种少见突变类型和彭兰芬等[7]报道的东莞厚街地区检出的 1 种少见基因型。桂林地区以 IVS-I-1(G→T)基因型的构成比最高,肇庆地区检出的少见突变类型以 CD43(G→T)基因型最多。-90(C→T)转录突变于 2003 年首次在国内报道,属于中国人的稀少突变型[8]。CD37(TGG→TAG)在国内仅有数例报告,在中国人群的突变频率无确切统计[9]。CD113(GTG→GAG)在宋春林等[10]的报道中采用 β-球蛋白基因直接基因测序鉴定 8 例。统计肇庆地区少见 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变,不除外在该地区还有更多的人群存在以上突变的可能,其起源、携带频率等具体情况需要收集更多相关病例,然后进行深入的研究分析。

本研究检测 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变的 PCR-RDB 方法可以利用多重 PCR,一次性扩增出包含突变位点的多个片段,并在一张膜上同时对多个突变位点进行检测,易实现检测流程的标准化[11]。但吕荣钰等[12]报道,目前常规基因检测方法可能低估了珠蛋白生成障碍性贫血及异常 Hb 病携带者,因此基因突变鉴定的金标准依然是 DNA 直接测序[13]。本研究 22 例少见突变类型中,3 例是 PCR-RDB 法无法检测,必须通过基因测序确定。另外,表 1 数据表明,血液学筛查结果有 22 例少见突变类型都符合 β-珠蛋白生成障碍性贫血 Hb 电泳的主要表现:HbF 增高或者 HbA2 增高;1 例 CD43(G→T)/βN 的 MCV、MCH 在正常范围,与血液学参数特点不相符。临床基因检测结果应该结合血液学结果、Hb 综合分析,对高度怀疑 β-珠蛋白生成障碍性贫血而 PCR-RDB 方法未能检出的 17 种常见基因突变标本,通过扩增 β-珠蛋白基因直接测序确定,避免漏诊、误诊。

综上所述,肇庆地区人群珠蛋白生成障碍性贫血的基因携带率较高,且有该地区的基因突变类型和基因频率分布特点。结合常规基因分析和基因测序,本研究发现 10 种少见 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型,不但补充了该地区的 β-珠蛋白基因突变谱,对指导人群筛查具有重要价值,而且为临床医师在诊断、优生遗传咨询方面提供参考。

参考文献

[1] 李凤,唐雪梅,蒲泽晏,等.遂宁地区珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果分析[J].检验医学与临床,2016,13(24):3533-3534.

[2] 蓝柳燕,王君,林漫燕.822 例地中海贫血患者基因检测结果分析[J].实验与检验医学,2011,29(3):212-214.

[3] 严菱,唐宁.100 例 β-地中海贫血患者产前基因诊断分析[J].检验医学与临床,2009,6(10):805-806.

[4] 黄晓佳,李成德,梅敏,等.肇庆地区人群地中海贫血基因型的分布及其特点[J].黑龙江医学,2016,40(8):688-690.

[5] 朱春江,丁晖,郑海清,等.桂林地区少见 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因突变分析[J].实用儿科临床杂志,2012,20(3):176-178.

[6] 王文娟,解珺丹,王谦,等.中国江苏地区人群血红蛋白病基因型分析[J].中国实验血液学杂志,2015,23(6):1742-1748.

[7] 彭兰芬,汤惠华,付文金,等.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[J].检验医学与临床,2011,8(2):142-144.

[8] 李文军,老雄武,贾世奇,等.一个少见的 β 地中海贫血突变家系[J].中华医学遗传学杂志,2003,20(6):468-470.

[9] 吴维青,朱春江,李辉,等.β 地中海贫血罕见 CD37(TGG-TAG)突变一例及产前基因诊断[J].中华围产医学杂志,2008,11(6):414-416.

[10] 宋春林,赖金甜,范菊花,等.45 例少见 β 地中海贫血患者 β 球蛋白基因序列分析[J].国际医药卫生导报,2010,16(5):516-520.

[11] 李庆阁,黄秋英.β-地中海贫血分子诊断进展[J].中华检

验医学杂志，2012，35(5)：390-393.
[12] 吕荣钰，赵飞球，陈小文，等. 常规基因检测阴性的地中海贫血疑似病例再行进一步基因检测仍有 7%的阳性发现[J]. 中国循证儿科杂志，2014，28(4)：274-277.
[13] 王文娟，朱春江. 地中海贫血的分子诊断技术进展[J]. 华夏医学，2017，30(2)：172-176.

（收稿日期：2017-11-10　修回日期：2018-01-08）

· 临床探讨 ·　DOI：10.3969/j.issn.1672-9455.2018.10.045

愉快因子回输式的护理干预对精神分裂症患者的价值研究

欧　颖，何　英
（四川大学华西医院心理综合科，成都 610041）

摘　要：目的　对精神分裂症患者实施愉快因子回输式护理干预，评价其对精神分裂症患者焦虑、抑郁状态的影响。**方法**　将 118 例精神分裂症患者分为研究组和对照组，每组各 59 例，对照组患者采用常规心理干预，研究组患者采用愉快因子回输式护理干预。2 周为 1 个疗程。比较 2 组患者干预前、干预每个阶段焦虑自评量表（SAS）和抑郁自评量表（SDS）评分，比较 2 组患者治疗前后社会功能评价量表（SSPI）评分。**结果**　研究组干预后 3～4、5～6、7～8、9～10 周的 SAS、SDS 评分均明显低于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；研究组干预后日常生活能力、主动交往能力和社会活动能力评分明显高于干预前，差异有统计学意义（$P<0.05$）。**结论**　愉快因子回输式护理干预可以缓解精神分裂症患者焦虑和抑郁情绪，有助于恢复其社会功能，提高生活质量，对其康复和预后有重要意义。

关键词：精神分裂症；　愉快因子回输式；　护理；　社会功能
中图法分类号：R473.74　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9455(2018)10-1511-03

精神分裂症是发病率和致残率较高的精神疾病，也是最严重的神经疾病之一。主要以个性、思维、情感和行为功能障碍为主要临床表现。据研究报道，精神分裂症患者大多存在焦虑、抑郁、自卑绝望等负面情绪，幸福感较低，社交功能退化，生活质量低下[1]。部分患者会出现幻觉，甚至会受幻觉的影响出现异常和过激行为，如杀人或者自杀等[2]。而精神分裂症的康复是一个复杂的过程，药物治疗是首选，但对患者的不良心理疏导能够起到提高预后的效果[3]。现采用愉快因子回输式护理干预对精神分裂症患者住院期间进行干预，取得了良好效果。报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择 2016 年 2 月至 2017 年 4 月在该院精神科住院治疗的精神分裂症患者 118 例，男 63 例，女 55 例，年龄 25～48 岁，平均年龄（36.97±2.16）岁，病程 3～10 年，平均病程（5.19±1.08）年，精神分裂症类型：青春型 6 例，偏执型 54 例，紧张型 22 例，未分化型 36 例；文化程度：高中及以下 27 例，大专 51 例，本科及以上 40 例。根据随机数字表法将患者分为研究组和对照组，每组各 59 例。纳入标准：（1）符合《ICD-10 精神与行为障碍分类》中关于精神分裂症的诊断标准[4]。（2）自知力恢复。（3）年龄 18 周岁以上，高中及高中以上文化程度。（4）自愿配合心理治疗、心理评估，具有独立填表能力。排除标准：（1）伴有视觉不良、听力障碍。（2）交流沟通障碍者。（3）存在神经器质性病变、痴呆和智力低下者。（4）依从性较差者。对照组患者采用常规心理干预，研究组患者采用愉快因子回输式护理干预，2 组患者的年龄、性别等一般资料比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），具有可比性。该研究经该院伦理会批准，患者及家属知情同意并签字确认。见表 1。

表 1　2 组患者一般资料比较

组别	例数（n）	性别（n）		平均年龄（$\bar{x}\pm s$，岁）	平均病程（$\bar{x}\pm s$，年）	精神分裂症类型（n）				文化程度（n）		
		男性	女性			青春型	偏执型	紧张型	未分化型	高中及以下	大专	本科及以上
研究组	59	33	26	36.82±2.12	5.12±1.04	2	23	14	20	15	25	19
对照组	59	30	29	36.99±2.35	5.26±1.15	4	31	8	16	12	26	21
t/χ^2		0.306		0.413	0.694	3.933				0.453		
P		0.580		0.681	0.489	0.269				0.797		

1.2　护理方法　对照组采用常规心理干预。研究组采用愉快因子回输式护理干预，首先对实施干预的护