

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.13.002

贵阳地区健康体检人群珠蛋白生成障碍性贫血的筛查及基因型分析^{*}曾强武¹, 刘 琼², 严雪梅¹, 王 琨¹, 张望明¹, 聂 映^{1△}

(贵阳中医学院第一附属医院:1. 检验科;2. 妇科, 贵阳 550001)

摘 要:目的 了解贵阳地区健康体检人群中珠蛋白生成障碍性贫血的携带率及基因突变型。方法 选择在该院进行常规健康体检的人员共 3 561 例为研究对象,经血常规检查方法获得对珠蛋白生成障碍性贫血疑似病例后,采用 Gap-PCR 及反向斑点杂交(RDB)进行 α -、 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因分析。结果 血常规检查获得 196 例珠蛋白生成障碍性贫血疑似病例,进一步的基因分析共检出珠蛋白生成障碍性贫血 131 例,珠蛋白生成障碍性贫血携带率为 3.68%(131/3 561);其中 α -珠蛋白生成障碍性贫血 65 例,携带率为 1.83%(65/3 561),以 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 为主; β -珠蛋白生成障碍性贫血 60 例,携带率为 1.68%(60/3 561),以 $\beta^{\text{CD41-42}}$ 及 β^{CD17} 为主; $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血 6 例,携带率为 0.17%(6/3 561)。结论 贵阳地区健康体检人群珠蛋白生成障碍性贫血携带率为 3.68%,基因突变类型与以往报道一致。以常规健康体检人群为调查对象,能较为真实地反映贵阳地区珠蛋白生成障碍性贫血人群携带率,将有助于该地的婚育指导及珠蛋白生成障碍性贫血防控策略的制定。

关键词:珠蛋白生成障碍性贫血; 携带率; 健康体检; 贵州

中图法分类号:R556.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)13-1872-03

Screening and genetic diagnosis of thalassemia in health check-up population in Guiyang^{*}ZENG Qiangwu¹, LIU Qiong², YAN Xuemei¹, WANG Kun¹, ZHANG Wangming¹, NIE Ying^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Gynaecology, the First Affiliated Hospital of Guiyang University of Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550001, China)

Abstract: **Objective** To investigate carrier rate and gene mutation of thalassemia in health check-up population in Guiyang. **Methods** A total of 3 561 persons with a routine health check-up were selected for blood tests to obtain suspected cases of thalassemia, then Gap-PCR and RDB (reverse dot blot hybridization) were performed to analyze α - & β -thalassemia mutations. **Results** 196 suspected cases of thalassemia were obtained and further genetic analysis results showed that 131 cases were thalassemia and the carrier rate was 3.68% (131 out of 3 561). Among those diagnosed thalassemia, 65 cases were α -thalassemia with a frequency of 1.83% (65 out of 3 561) and the most common found was $-\text{SEA}/\alpha\alpha$, 60 cases were β -thalassemia with a frequency of 1.68% (60 out of 3 561) and the major mutations were $\beta^{\text{CD41-42}}$ and β^{CD17} , 6 cases were α and β compound thalassemia with a frequency of 0.17% (6 out of 3 561). **Conclusion** The carrier rate of thalassemia is 3.68% in health check-up population from Guiyang. The prevalence of α -thalassemia is higher than β -thalassemia, and the types of gene mutation are consistent with previous reports. In addition, routine health check-up population were studied in this paper, it will not only truly reflect the carrier rate of thalassemia but also benefit for marriage and childbirth guidance and the design of a screening strategy for the control of thalassemia.

Key words: thalassemia; carrier rate; health check-up population; Guizhou

珠蛋白生成障碍性贫血是由于珠蛋白基因突变而导致的一种遗传性血红蛋白病,主要包括 α -珠蛋白生成障碍性贫血和 β -珠蛋白生成障碍性贫血^[1]。珠蛋白生成障碍性贫血是人类最常见的遗传病之一,据估计全球约 5% 的人群有珠蛋白基因变异,且每年约有 7 万新生儿为珠蛋白生成障碍性贫血携带者^[2-3]。在临床上,珠蛋白生成障碍性贫血轻者可表现为无症

状,重者则可表现为致残或致死,给患者及其家庭带来极大痛苦。珠蛋白生成障碍性贫血高发于热带及亚热带地区,在我国南方地区尤其是广东、广西、云南、海南及贵州等省份发病率较高^[4]。当前,还没有经济、有效的方法治疗珠蛋白生成障碍性贫血。因此,做好珠蛋白生成障碍性贫血的人群筛查具有重要的意义。然而,针对贵阳地区普通人群进行珠蛋白生

^{*} 基金项目:贵州省科技合作计划项目(黔科合 LH 字[2015]7282 号)。

作者简介:曾强武,男,主管技师,主要从事细胞形态学研究。△ 通信作者, E-mail: nieyingjdhp@163.com。

成障碍性贫血携带率的调查并不多。本研究以到本院进行常规健康体检的人群作为研究对象,可最为真实地反映贵阳地区人群珠蛋白生成障碍性贫血的携带率和基因型,研究结果将丰富我们对贵州地区珠蛋白生成障碍性贫血的认识,有助于该病的防控。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 5—8 月的不连续 45 d 中在本院进行常规健康体检的人员共 3 561 例为研究对象,年龄 1~86 岁。

1.2 方法

1.2.1 血常规检查 采用 Sysmex XT-1800i 全自动血常规分析仪进行血常规操作,当血常规结果为红细胞低色素情况时,即平均红细胞体积(MCV)<80 fL 和(或)平均红细胞血红蛋白量(MCH)<27 pg,定义为珠蛋白生成障碍性贫血疑似病例。

1.2.2 珠蛋白生成障碍性贫血基因分析 使用血液基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取珠蛋白生成障碍性贫血疑似病例血液标本基因组 DNA。采用广东凯普生物科技股份有限公司生产的检测试剂盒,对珠蛋白生成障碍性贫血基因进行分析,其中,常见的 3 种缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因分析采用 Gap-PCR 方法检测:--SEA、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$,非缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因和常见 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因突变采用 RDB 方法: α^{CS} 、 α^{QS} 、 α^{WS} 、Cap、CD41-42、CD17、IVS-II-654、CD43、CD31、-28、-29、-30、-32、 β^E 、CD71-72、CD14-15、CD27-28、IVS-I-1、IVS-I-5、Int。所有操作严格按照试剂说明书进行。

2 结 果

2.1 血常规筛查结果 经血常规筛选后,从 3 561 例体检血液标本中筛选出珠蛋白生成障碍性贫血疑似病例 196 例,检出率为 5.5%(196/3 561),其中男 76 例、女 120 例,中位年龄 40 岁。

2.2 珠蛋白生成障碍性贫血基因分析 对 196 例珠蛋白生成障碍性贫血疑似病例进行基因型检测,检出 131 例珠蛋白生成障碍性贫血患者,检出率为 66.84%(131/196),携带率为 3.68%(131/3 561)。

2.2.1 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因分析 在 131 例珠蛋白生成障碍性贫血患者中, α -珠蛋白生成障碍性贫血患者为 65 例,人群携带率为 1.83%(65/3 561)。各基因突变型及构成比、携带率见表 1。从基因突变类型来看,检出比例最高的基因缺失类型为--SEA/ $\alpha\alpha$,共 47 例,构成比为 72.30%(47/65),携带率为 1.32%(47/3 561);而检出比例最高的基因点突变类型为 $\alpha^{CS}/\alpha\alpha$,共 7 例,构成比为 4.62%(3/65),携带率为 0.20%(7/3 561)。从临床表型来看,检出 2 例基因型为--SEA/ $\alpha\alpha$ - $\alpha^{3.7}$ 的中间型珠蛋白生成障碍性贫血症患者,其余的为轻型或静止型,并无重型检出。

2.2.2 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因分析 共检出

β -珠蛋白生成障碍性贫血患者 60 例,携带率为 1.68%(60/3 561)。各基因突变型及构成比、携带率见表 2。其中,检出比例最高的基因类型为 $\beta^{CD41-42}/\beta^N$,共 25 例,构成比为 41.67%(25/60),携带率为 0.70%(25/3 561);而 β^{CD17}/β^N 基因型检出比例次之,共 20 例,构成比为 33.33%(20/60),携带率为 0.56%(20/3 561)。从临床表型来看,检测出的所有 β -珠蛋白生成障碍性贫血患者均为轻型。

表 1 α -珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果				
基因突变类型	临床表型	<i>n</i>	构成比(%)	携带率(%)
--SEA/ $\alpha\alpha$	轻型	47	72.30	1.32
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	静止型	7	10.77	0.20
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	静止型	3	4.62	0.08
$\alpha^{CS}/\alpha\alpha$	静止型	3	4.62	0.08
$\alpha^{QS}/\alpha\alpha$	静止型	1	1.54	0.03
$\alpha^{WS}/\alpha\alpha$	静止型	1	1.54	0.03
--SEA/ $-\alpha^{3.7}$	中间型	2	3.07	0.06
$-\alpha^{3.7}/\alpha^{CS}$	轻型	1	1.54	0.03
合计		65	100.00	1.83

表 2 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果				
基因突变类型	临床表型	<i>n</i>	构成比(%)	携带率(%)
$\beta^{CD41-42}/\beta^N$	轻型	25	41.67	0.70
β^{CD17}/β^N	轻型	20	33.33	0.56
$\beta^{IVS-II-654}/\beta^N$	轻型	6	10.00	0.17
β^{28}/β^N	轻型	4	6.67	0.11
β^E/β^N	轻型	2	3.33	0.06
$\beta^{CD27-28}/\beta^N$	轻型	2	3.33	0.06
β^{CD43}/β^N	轻型	1	1.77	0.03
合计		60	100.00	1.68

2.2.3 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血基因分析 共检出 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血 6 例,携带率为 0.17%。其中,检出--SEA/ β^{CD17} 及 $-\alpha^{3.7}/\beta^{CD17}$ 各 2 例, α^{WS}/β^{CD17} 及--SEA/ β^{29} 各 1 例。见表 3。

表 3 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果			
基因突变类型	<i>n</i>	构成比(%)	携带率(%)
--SEA/ β^{CD17}	2	33.33	0.06
$-\alpha^{3.7}/\beta^{CD17}$	2	33.33	0.06
α^{WS}/β^{CD17}	1	17.67	0.03
--SEA/ β^{29}	1	17.67	0.03
合计	6	100.00	0.17

3 讨 论

本研究通过对 3 561 例常规健康体检人员进行珠蛋白生成障碍性贫血筛查及基因突变分析,初步了解了贵阳地区体检人群珠蛋白生成障碍性贫血携带率

及主要基因突变类型。首先,通过血常规检查,筛选出小红细胞低色素的珠蛋白生成障碍疑似病例 196 例,检出率为 5.5%。进一步的珠蛋白生成障碍性贫血基因分析确诊 131 例珠蛋白生成障碍性贫血,检出率为 66.84%,携带率为 3.68%。其中, α -珠蛋白生成障碍性贫血检出 65 例,携带率为 1.83%; β -珠蛋白生成障碍性贫血检出 60 例,携带率为 1.68%; $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血检出 6 例,携带率为 0.18%。以上结果表明,这一地区体检人群中 α -珠蛋白生成障碍性贫血和 β -珠蛋白生成障碍性贫血的携带率相当。

本研究中, α -珠蛋白生成障碍性贫血主要基因缺失类型为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$,构成为 72.30%;其次是 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 及 $-\alpha^{4.2}/\alpha$ 。在 β -珠蛋白生成障碍性贫血检测中, $\beta^{\text{CD}11-42}/\beta^{\text{N}}$ 、 $\beta^{\text{CD}17}/\beta^{\text{N}}$ 两种突变类型是最多的,构成比分别为 41.67%、33.33%。以上发现的基因突变类型与已有报道一致^[5-7]。此外,本研究还发现 6 例 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血,携带率为 0.17%,主要是 $\beta^{\text{CD}17}$ 与 $-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 的基因组合。

珠蛋白生成障碍性贫血分布及人群携带率存在明显的地域差异性和民族差异性,在我国珠蛋白生成障碍性贫血高发区的广东、广西和海南,携带率可高达 20%,而在我国西南的四川、云南及重庆等地珠蛋白生成障碍性贫血携带率可达到 6% 左右^[8]。贵州地处中国西南腹地,是一个汉、苗及布依等 18 个民族世居的省份,各民族婚配习俗等的差异导致了不同民族或地区人群的珠蛋白生成障碍性贫血携带率差异较大。如一项对贵州省黔南州都匀市 1 700 例布依族中学生进行的珠蛋白生成障碍性贫血调查表明, α -和 β -珠蛋白生成障碍性贫血携带率分别为 10.8% 和 7.0%^[9]。而同样是对少数民族进行珠蛋白生成障碍性贫血调查的另一项研究发现,贵州省黔东南地区苗族和侗族儿童的珠蛋白生成障碍性贫血总检出率分别为 7.25% 和 7.01%^[10]。本研究以贵阳地区常规健康体检人群为研究对象,该群体不是以到医院看病为目的,故可最大限度地代表贵阳地区普通人群,因而针对其进行调查所得的结果也最贴近真实值。从本次研究结果来看,贵阳地区珠蛋白生成障碍性贫血携带率为 3.68%,明显低于贵州少数民族地区,也较湖南长沙地区珠蛋白生成障碍性贫血携带率(4.54%)低^[11],但较四川成都地区珠蛋白生成障碍性贫血携带率(3.43%)略高^[12]。

此外,在本项研究中从 196 例地中海疑似病例中筛选出 131 例珠蛋白生成障碍性贫血,而被排除在外的 65 例小红细胞低色素患者也需要临床检验人员去

关注。因为如果其中的某些患者携带有罕见的基因突变类型,则会造成漏诊或错诊。

综上所述,本次对贵阳地区常规健康体检人群的珠蛋白生成障碍性贫血筛查和基因分析,研究结果可较为真实地反映这一地区珠蛋白生成障碍性贫血携带率和基因型,将为婚配、产前诊断及政策制订等提供有意义的参考。

参考文献

- [1] HELMI N, BASHIR M, SHIREEN A, et al. Thalassemia review: features, dental considerations and management [J]. Electronic physician, 2017, 9(3): 4003-4008.
- [2] BRANCALEONI V, DI PIERRO E, MOTTA I, et al. Laboratory diagnosis of thalassemia [J]. Int J Lab Hematol, 2016, 38(Suppl 1): 32-40.
- [3] METTANANDA S, GIBBONS R J, HIGGS D R. α -Globin as a molecular target in the treatment of β -thalassemia [J]. Blood, 2015, 125(24): 3694-3701.
- [4] 张瀚文, 朱宝生. 地中海贫血的治疗进展及预防 [J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(3): 666-668.
- [5] 马卫星, 许吟, 戴薇, 等. 贵阳地区 1 143 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.
- [6] 杨阳, 张杰. 中国南方地区地中海贫血研究进展 [J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(1): 276-280.
- [7] HUANG S W, XU Y, LIU X M, et al. The prevalence and spectrum of α -thalassemia in Guizhou province of South China [J]. Hemoglobin, 2015, 39(4): 260-263.
- [8] 谢建渝, 虞柯静, 罗文梅, 等. 423 例孕妇地中海贫血筛查及基因检测结果分析和临床意义 [J]. 检验医学与临床, 2014, 11(10): 1325-1327.
- [9] 黄盛芳, 罗盛娟, 阮铮艳, 等. 贵州省都匀市布依族中学生地中海贫血基因携带率调查 [J]. 中国计划生育学杂志, 2015, 23(10): 667-669.
- [10] 罗红芳, 龙月婷, 梁建华, 等. 贵州省黔东南州少数民族地区苗族和侗族儿童地中海贫血的筛查及其特点 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2017, 43(3): 646-650.
- [11] HE J, ZENG H L, ZHU L, et al. Prevalence and spectrum of thalassaemia in Changsha, Hunan province, China: discussion of an innovative screening strategy [J]. J Genet, 2017, 96(2): 327-332.
- [12] YU X, YANG L Y, YANG H T, et al. Molecular epidemiological investigation of thalassemia in the Chengdu region, Sichuan province, southwest China [J]. Hemoglobin, 2015, 39(6): 393-397.

(收稿日期: 2017-11-26 修回日期: 2018-04-23)