

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.19.014

574 例珠蛋白生成障碍性贫血阳性患者基因突变类型的回顾性分析

张满娥, 黄文滨, 卢志华, 张洪彬[△]
(福建省龙岩市第二医院分子生物实验室 364000)

摘要:目的 了解福建龙岩地区珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)基因型及构成比。方法 收集 2014 年 7 月至 2016 年 12 月来该院进行地贫基因检测的患者 1 115 例,采用跨越断裂点聚合酶链反应(Gap-PCR)法检测 $-^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 3 种常见的缺失型 α 地贫基因,聚合酶链反应结合反向点杂交(PCR-RDB)法检测 WS、QS 和 CS 3 种非缺失型 α 地贫基因及 17 种常见的 β 地贫基因。结果 1 115 例患者中有 574 例确诊为地贫,阳性率为 51.48%。其中 α 地贫 362 例,占 63.07%,12 种基因型; β 地贫 201 例,占 35.02%,11 种基因型; $\alpha\beta$ 复合型地贫 11 例,占 1.91%,7 种基因型。 α 地贫以 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 为主(73.76%); β 地贫以 β^{654}/β 为主(47.26%); $\alpha\beta$ 复合型地贫以 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 与 β^{654}/β 复合型最为常见(27.28%)。结论 了解福建龙岩地区地贫基因型及分布可以为该地区地贫的遗传咨询和制订地贫预防措施提供科学依据。

关键词:珠蛋白生成障碍性贫血; 基因分型; 福建
中图分类号:R556.6 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2018)19-2892-04

Retrospective analysis of gene mutation types in 574 positive patients with thalassemia

ZHANG Man'e, HUANG Wenbin, LU Zhihua, ZHANG Hongbin[△]

(Molecular Biology Laboratory, Longyan Municipal Second Hospital, Longyan, Fujian 364000, China)

Abstract: **Objective** To understand the genotypes and constituent ratio of thalassemia in Longyan area of Fujian Province. **Methods** A total of 1 115 subjects undergoing thalassemia gene detection were collected in this hospital from July 2014 to December 2016. The three common deletion type alpha-thalassemia genes of $-^{SEA}$, $-\alpha^{3.7}$ and $-\alpha^{4.2}$ were detected by adopting Gap-PCR, and the three common non-deletion type alpha-thalassemia genes of WS, QS and CS, and the 17 common β -thalassemia genes were detected by using PCR combined with reverse dot blot (PCR-RDB). **Results** Among 1 115 cases, 574 cases were diagnosed as thalassemia with the positive rate of 51.48%. Among them, 362 cases were alpha-thalassemia, accounting for 63.07%, including 12 genotypes; 201 cases were β -thalassemia, accounting for 35.02%, including 11 genotypes; 11 cases were alpha-thalassemia composite β -thalassemia, accounting for 1.91%, including genotypes. $-^{SEA}/\alpha\alpha$ (73.76%) was the main genotype of alpha-thalassemia; β^{654}/β (47.26%) was the main genotype of β -thalassemia; $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ and β^{654}/β composite type (27.28%) was the most common type of alpha-thalassemia composite β -thalassemia. **Conclusion** Understanding the genotype and distribution of thalassemia in Longyan area of Fujian Province can provide a scientific basis for the genetic counseling of thalassemia and formulating the prevention measures of thalassemia.

Key words: thalassemia; genotype; Fujian

珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)是一组遗传性溶血性贫血, α 地贫和 β 地贫是其中的主要类型。地贫多发生于地中海沿岸国家和东南亚各国,国内以长江以南各省(区),尤以广西、广东、海南三省(区)为甚^[1]。福建地处我国东南沿海地带,龙岩市地处福建西部(简称闽西),据文献[2]报导,地贫在龙岩地区携带率高达 24.35%,因此成为闽西最常见、危害最大的遗传病之一。地贫基因突变具有高度的异质性,有明显的地域性或群体特异性^[1]。本文通过对 2014 年 7 月至 2016 年 12 月本院确诊为地贫患者的基因突变类型进行回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014 年 7 月至 2016 年 12 月来本院就诊的 1 115 例疑为地贫的门诊/住院患者进行地贫基因检测,其中男 452 例,女 663 例,年龄 14 d 至 85 岁,中位年龄 27 岁。

1.2 仪器与试剂 检测仪器为珠海黑马医学仪器有限公司生产的 HEMA9600 聚合酶链反应(PCR)扩增仪,杭州博日科技有限公司生产的 Tc-s-B Gene Max 基因扩增仪,韩国 Combi-H12 分子杂交仪,上海天能科技有限公司生产的 EPS300 电泳仪和 Tanon-3500 全自动数码凝胶图像分析系统。全血 DNA 快速提取

试剂盒由爱思进生物技术(杭州)有限公司提供,基因检测使用深圳亚能生物技术有限公司的诊断试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 采用不抑制 DNA 聚合酶活性的乙二胺四乙酸二钾无菌真空抗凝管采集静脉血 2 mL,混匀,贴上患者的唯一标识。标本采集后立即送检,4℃保存不超过 3 d,未及时检测的标本置-20℃保存待测。

1.3.2 标本检测 采用跨越断裂点聚合酶链反应(Gap-PCR)检测常见 3 种缺失型 α 地贫基因(--SEA、α^{3.7}和-α^{4.2});采用聚合酶链反应-反向点杂交(PCR-RDB)法检测我国常见的 3 种非缺失型 α 地贫基因(分别为 WS、QS 和 CS)和 β 地贫基因 17 种突变(41-42M、654M、-28M、17M、71-72M、βEM、-29M、43M、27/28M、14-15M、31M、-32M、-30M、IVS-I-1M、IVS-I-5M、CAPM、IntM)。如遇罕见基因型则用基因测序等方法进一步确诊。检测步骤严格按照试剂盒说明书进行操作。

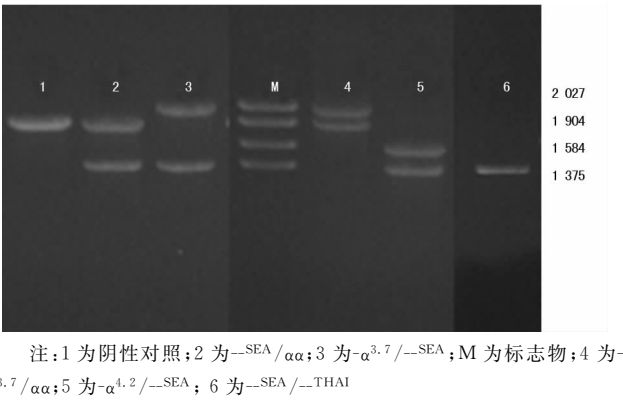
2 结 果

2.1 地贫基因携带情况 1 115 例进行基因检测的患者中,574 例为地贫,阳性率为 51.48%。其中 α 地贫 362 例,占 63.07%;β 地贫 201 例,占 35.02%;αβ 复合型地贫 11 例,占 1.91%。

2.2 α 地贫基因型及构成比 362 例 α 地贫中,α 缺失 348 例,占 96.1%;α 突变 14 例,占 3.9%。共检出 12 种基因类型,α 缺失大部分为--SEA/αα 型,占 73.76%,其次为-α^{3.7}/αα,占 7.73%,再次为-α^{3.7}/--SEA,占 7.46%,α 突变依次为 CS、QS 和 WS。各基因类型及构成比见表 1、图 1。

表 1 362 例 α 地贫基因型及构成比		
基因类型	n	构成比(%)
--SEA/αα	267	73.76
-α ^{3.7} /αα	28	7.73
-α ^{3.7} /--SEA	27	7.46
-α ^{4.2} /αα	12	3.31
-α ^{4.2} /--SEA	11	3.04
α ^{CS} α/αα	6	1.66
α ^{QS} α/αα	3	0.83
α ^{WS} α/αα	2	0.55
--SEA/--SEA	2	0.55
--SEA/α ^{CS} α	2	0.55
α ^{WS} α/--SEA	1	0.28
--SEA/--THAI	1	0.28

2.3 β 地贫基因突变类型及构成比 201 例 β 地贫中,共检出 11 种基因型,大部分为 β⁶⁵⁴/β 杂合突变型,占 47.26%;其次为 β⁴¹⁻⁴²/β 型,占 25.87%。各基因类型及构成比见表 2。



注:1 为阴性对照;2 为--SEA/αα;3 为-α^{3.7}/--SEA;M 为标志物;4 为-α^{3.7}/αα;5 为-α^{4.2}/--SEA;6 为--SEA/--THAI

图 1 α 地贫凝胶电泳结果

表 2 201 例 β 地贫基因突变类型及构成比		
基因类型	n	构成比(%)
β ⁶⁵⁴ /β	95	47.26
β ⁴¹⁻⁴² /β	52	25.87
β ¹⁷ /β	16	7.96
β ²⁷⁻²⁸ /β	14	6.96
β ²⁸ /β	13	6.46
β ⁶⁵⁴ /β ⁶⁵⁴	4	1.99
β ^E	2	1.00
β ⁶⁵⁴ /β ^E	2	1.00
β ⁷¹⁻⁷² /β	1	0.50
β _{Int}	1	0.50
β ²⁸ /β ^E	1	0.50

2.4 αβ 复合型地贫基因检测 11 例携带 αβ 复合型地贫基因患者中共检出 7 种基因型。其中最常见的是-α^{3.7}/β⁶⁵⁴(27.28%),其次为--SEA/β⁶⁵⁴(18.18%)及--SEA/βCAP(18.18%)。见表 3。

表 3 11 例 αβ 复合型地贫基因突变类型及构成比			
α 基因类型	β 基因类型	n	构成比(%)
-α ^{3.7} /αα	β ⁶⁵⁴ /β	3	27.28
--SEA/αα	β ⁶⁵⁴ /β	2	18.18
--SEA/αα	βCAP/β	2	18.18
-α ^{4.2} /αα	β ⁶⁵⁴ /β	1	9.09
-α ^{3.7} /--SEA	β ⁶⁵⁴ /β	1	9.09
--SEA/αα	β ^E /β	1	9.09
α ^{WS} α/αα	β ⁴¹⁻⁴² /β	1	9.09

3 讨 论

α 地贫的发病机制是 α 珠蛋白基因(位于 16p13.3)缺失或点突变导致,其中缺失型最常见,我国人群中常见的 3 种缺失型 α 地贫为东南亚型缺失(--SEA)、右侧缺失(-α^{3.7})和左侧缺失(-α^{4.2})。此外,少数 α 地贫是由于点突变所导致。本次检出 α 地贫 362 例(包括 α 缺失 348 例和 α 突变 14 例),最常见的 α 缺失类型是--SEA/αα(73.76%),其次是-α^{3.7}/αα(7.73%),再次是-α^{3.7}/--SEA(7.46%),这 3 种缺失型占 α 地贫阳性对象的 88.95%,该统计结果前 3 位从

高到低排序与既往有关龙岩地区的报道基本一致^[2]。结果表明本地区 α 地贫基因型主要以东南亚缺失型 ($-^{SEA}/\alpha\alpha$) 杂合子为主,但与之不同的是,本次检出 α 突变类型 14 例 (3.9%),依次为 CS、QS 和 WS,与省内厦门地区的结果相似^[3],这可能与研究对象差异有关。由于本院地理位置的关系,到本院就诊的患者大部分来自客家人群。龙岩地处闽粤赣三省交界,西与江西省赣州市交界,南与广东省梅州市毗邻,是客家人的主要祖居地和聚居地之一,现在全市 7 个县(市、区)中有 5 个县是客家县,客家人口占全市总人口 80% 以上,同样以客家人为主的赣州市和梅州市的人群中也有 α 突变类型 CS、QS 的检出^[4-5]。本研究中 α 突变类型的检出丰富了龙岩地区地贫的临床资料。本研究中还检出 1 例罕见 $-^{SEA}$ (东南亚型)/ $-^{THAI}$ (泰国型) 缺失混合型 α 地贫。如工作中遇到一些基因型与表型不符的结果,提示可能存在罕见未知的基因型需要引起高度重视,否则可能导致基因误诊,延误产前诊断^[6]。龙岩地区 α 地贫基因突变组合多样化,提示了本地区的 α 地贫基因遗传异质性相对较大。

β 地贫的发病机制是 β 珠蛋白基因 (位于 11p15.3) 多由点突变导致,也有少数大片段缺失型突变。到目前为止,全世界已发现了 200 多种 β 珠蛋白基因突变可引起 β 地贫的发生,在我国已报道有 48 种,其中我国南方报道有 46 种^[1]。本研究采用 PCR-RDB 法检测中国人常见的 β 地贫基因 17 种突变,共检出 11 种突变类型。最常见的 5 种依次为 β^{654}/β 、 β^{41-42}/β 、 β^{17}/β 、 β^{27-28}/β 、 β^{28}/β ,共占 β 地贫阳性对象的 94.51%,这说明龙岩地区 β 地贫突变类型相对集中,该统计结果前 5 位从高到低排序与既往有关龙岩地区的报道基本一致^[2]。而重庆地区 β 地贫基因突变主要类型分别是 β^{17}/β 、 β^{41-42}/β 和 β^{654}/β ^[7];广西桂西地区 β 地贫基因突变占主导地位的是 β^{17}/β 、 β^{41-42}/β ^[8],广州、东莞、韶关地区和台山地区 β 地贫基因突变均以 β^{41-42}/β 最常见, β^{654}/β 次之^[9-12]。本研究结果表明龙岩地区 β 地贫基因突变以 β^{654}/β 为主 (47.26%),与钟田雨等^[4]报道赣州市 (40.88%) 及吴艳丽^[5]报道梅州市 (43.8%) 相似。赣州市、梅州市和龙岩地区都是以客家人为主,这可能与本地区客家人群独特的遗传背景有关。 β^{654}/β 有可能起源于客家人群,并随客家人群迁徙而播散^[4]。由此可见 β 地贫具有高度遗传异质性和明显的地域性,在不同地区人群的发病率和类型差别较大。

$\alpha\beta$ 复合型地贫的临床症状可不明显,但其携带的致病基因传递给后代可造成重症患儿的出现。本研究检出 11 例患者携带 $\alpha\beta$ 复合型地贫基因中大部分为 $-^{\alpha^{3.7}}/\alpha\alpha$ 和 β^{654}/β 复合型,占 27.28%,其次为 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 和 β^{654}/β 复合型、 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 和 $\beta\text{CAP}/\beta$ 复合型,分别占 18.18%。因此,应对 $\alpha\beta$ 复合型地贫携带者的检测给予足够重视,将 $\alpha\beta$ 复合型地贫携带者作为重

点防控对象,指导合理婚配,对于降低重型地贫患儿的出生率具有重要的意义。

研究表明,龙岩地区 α 地贫以 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 为主 (73.76%), β 地贫以 β^{654}/β 为主 (47.26%), $\alpha\beta$ 复合型地贫以 $-^{\alpha^{3.7}}/\alpha\alpha$ 与 β^{654}/β 复合型最为常见 (27.28%)。本地区 α 地贫检出率大于 β 地贫,与文献^[2-11]报道相吻合,而北京地区和重庆地区正好相反,以 β 地贫为主^[7,13]。统计本地区地贫基因类型及构成比等流行病学资料,才能制订有效、可行的人群地贫干预计划。地贫是一种难治的,可防、可控的遗传性血液病,不会出现轻型转重型的现象。由于同型地贫基因携带者婚配的下一代有 1/4 的概率罹患严重溶血性贫血症状的重症地贫,包括重型 α 地贫 (HbBart's 胎儿水肿综合征) 和重型 β 地贫 (Cooley 贫血),1/2 的概率是地贫携带者,仅 1/4 的概率是正常基因型,因而构成严重的公共健康问题。由于目前重型地贫的治疗缺乏有效的根治方法,携带者检查及产前基因诊断是唯一阻止重型地贫患儿出生,提高人口素质的有效措施。所以构建地贫群体防控信息系统迫在眉睫。预防地贫发生的第一道防线是对新生儿,以及受教育阶段的初中生、高中生和育龄成人等进行筛查,目的是通过筛查了解自己是否为地贫基因携带者;第二道防线是产前检查和筛查孕早、中期产妇及其配偶,判断是否为有生育高风险的育龄夫妇,进一步做遗传咨询、基因诊断和跟踪随访。做好健康教育、大规模人口筛查地贫基因携带者、婚前检查、孕前检查和产前筛查和遗传咨询,地贫是可预防的。本研究对地贫基因检测资料的总结和分析,丰富了本地区地贫的临床资料,可以为本地区地贫的遗传咨询和制订地贫预防措施提供科学依据,进而指导优生优育,提高人口素质,减轻社会和家庭的负担。

参考文献

- [1] 徐湘民,张新华,陈荔丽,等.地中海贫血预防控制操作指南[M].北京:人民军医出版社,2011:1-27.
- [2] 戴庆福,李晓璐,王玉霞,等.中国福建省龙岩地区地中海贫血基因突变类型的分析[J].中国实验血液学杂志,2017,25(2):498-502.
- [3] 孔德佳,黄秋英,王旭东,等.厦门地区非缺失型 α -地中海贫血流行病学调查[J].中国优生与遗传杂志,2014,22(10):13-15.
- [4] 钟田雨,李海亮,刘跃梅,等.赣州市地中海贫血基因突变类型研究[J].实用医学杂志,2013,29(24):4048-4050.
- [5] 吴艳丽.梅州地区育龄人群地中海贫血基因的检测与分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(4):442-443.
- [6] 梁一丹,龙桂芳.对导致地中海贫血基因诊断误诊罕见基因型的探讨[J].中国优生与遗传杂志,2014,22(10):4-6.
- [7] 何建维,黄恒柳,张燕,等.重庆地区地中海贫血基因突变类型分析[J].国际检验医学杂志,2014,35(18):2488-2489.

Ⅲ类面型前磨牙区骨倒凹测量深度最大,因而在行牙齿种植术时应提高警惕避免唇侧骨穿孔。该结果可能与Ⅲ类面型的患者上颌骨的发育不足有一定关系。此外,本研究结果显示Ⅱ类面型前磨牙区骨倒凹测量深度较小,与文献[13]报道结果基本一致。

限制上颌第一前磨牙种植的主要因素是尖牙窝区骨倒凹和可用骨高度^[14]。因而在实施前磨牙种植术时,行 CBCT 对尖牙窝区骨倒凹的解剖结构进行分析是非常有必要的。本研究中不同性别、牙齿是否缺失对尖牙窝区骨倒凹测量深度差异无统计学意义($P>0.05$),该结果可能是由于成年患者上颌骨已经较为稳定有一定关系。此外,第一前磨牙区与第二前磨牙区可用骨高度、拟植入种植体长度差异有统计学意义($P<0.05$);第二前磨牙的可用骨高度比第一前磨牙更低,这是因为上颌窦底至第二前磨牙距离更短。不同性别前磨牙区可用骨高度、拟植入种植体长度差异无统计学意义($P>0.05$);牙齿未缺失患者可用骨高度、拟植入种植体长度明显大于牙齿缺失患者($P>0.05$),该结果是由于牙齿缺失后,上颌骨被吸收,因而影响了种植可用高度。

本研究中男性患者第一前磨牙、第二前磨牙的 A、B、C 点到牙槽嵴顶的垂直距离明显大于女性,与文献[15]报道结果一致。该结果可能与男性比女性的颌骨高度更高有一定关系。而牙齿未缺失患者第一前磨牙、第二前磨牙的 A、B、C 点到牙槽嵴顶的垂直距离明显大于牙齿缺失患者,这与牙齿缺失后,牙槽嵴顶会发生一定程度的吸收有关。

综上所述,对于成年患者尖牙窝区实施牙齿种植术,尤其是Ⅲ类面型患者,术前需利用 CBCT 对于尖牙窝及种植体的位置进行分析,以避免唇侧穿孔的发生。

参考文献

[1] GHASSEMIAN M, NOWZARI H, LAJOLO C, et al. The thickness of facial alveolar bone overlying healthy maxillary anterior teeth[J]. J Periodontol, 2012, 83(2): 187-197.

[2] 习伟宏,邵益森,严俊峰,等. 64 层三维 CT 骨量预测在牙

槽突裂植骨术中的应用[J]. 实用口腔医学杂志, 2011, 27(5): 663-666.

[3] 陶荣,蒙萌,牛丽娜,等. 300 名正常上前牙牙根与牙槽窝位置关系的锥形束 CT 分析[J]. 中华口腔医学杂志, 2017, 52(10): 631-636.

[4] 张栋杰,黎凡,崔颖秋,等. 单侧完全性唇腭裂患者自体骨移植修复牙槽突裂后早期牙移入的 CT 评价[J]. 中华医学美学美容杂志, 2014, 20(3): 199-202.

[5] 傅民魁. 口腔正畸专科教程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 57-58.

[6] 何锦泉,欧阳可雄,王朝俭,等. 锥形束 CT 在评估牙槽突裂骨缺损体积中的应用[J]. 口腔疾病防治, 2016, 24(5): 293-296.

[7] 李康,谢春,武斌,等. 锥形束 CT 在牙移植术中的临床应用研究[J]. 临床医学工程, 2016, 23(5): 559-560.

[8] 郑兴,何家才. 尖牙窝区解剖因素与种植技术相关性的锥形束 CT 测量分析[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(6): 925-929.

[9] 邓永强,张洁,朱耀旻,等. 锥形束 CT 治疗牙槽突裂植骨临床应用研究[J]. 深圳中西医结合杂志, 2015, 25(20): 3-5.

[10] 张岱尊,周容,肖文林,等. 锥形束 CT 对牙槽突裂植骨术后成骨效果的评价[J]. 中华口腔医学杂志, 2014, 49(6): 352-356.

[11] 文星杰,严尚,王宗贵,等. 鼻内镜下尖牙窝穿刺径路治疗上颌窦囊肿[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2014, 21(3): 161-162.

[12] 袁长永,王鹏来,秦雁雁,等. 上颌后牙垂直骨量不足植牙患者上颌窦内提升术同期植入种植体临床观察[J]. 山东医药, 2016, 56(31): 95-97.

[13] 陈全,张晓,张刚,等. 锥形束 CT 在下颌阻生第三磨牙拔除术前诊断应用的初步研究[J]. 中华口腔医学杂志, 2011, 46(7): 398-402.

[14] 刘慧凤,黄盛兴,石磊,等. 基于锥形束 CT 的上颌前牙区解剖形态学研究[J]. 广东牙病防治, 2015, 23(6): 306-310.

[15] 王莺,林野,陈波,等. 上颌前牙区即刻种植即刻修复与延迟修复牙槽嵴改建的锥形束 CT 观察[J]. 中华口腔医学杂志, 2016, 51(10): 600-604.

(收稿日期: 2018-01-28 修回日期: 2018-04-14)

(上接第 2894 页)

[8] 张耀平,李皇,王献民,等. 桂西地区珠蛋白生成障碍性贫血基因型构成比研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(12): 21-23.

[9] 王晶晶,朱文彪,黄霜,等. 广州市 1 381 例育龄人群地中海贫血基因谱分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(2): 5-7.

[10] 邵锦欢,肖翔,张达秀,等. 东莞地区珠蛋白生成障碍性贫血筛查及基因谱分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(9): 1230-1231.

[11] 马占忠,黄文波,何凤屏,等. 某地区地中海贫血的分子流行病学调查[J]. 中国医药指南, 2014, 12(21): 1-2.

[12] 陈迪,吴瑛. 台山地区珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(8): 1067-1069.

[13] 甘勇,杨卓,陈倩,等. 北京地区 α 和 β 地中海贫血患者基因突变谱分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(12): 1750-1753.

(收稿日期: 2018-01-14 修回日期: 2018-05-27)