

· 论 著 · DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 19. 025

南宁某城区 6 551 例 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果分析

石明芳

(广西壮族自治区南宁市第二人民医院医学检验科 530031)

摘 要:目的 了解广西南宁江南区人群 β 珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)点突变的基因型特点。方法 采用反向斑点膜条杂交技术对 6 551 例受试者进行 β 地贫基因分析。结果 在 6 551 例受检者中检出 β 地贫基因 1 242 例,其中杂合子 1 238 例,双重杂合子 3 例,纯合子 1 例。共发现 11 种 β 地贫基因突变位点,共 15 种基因类型,其中最为常见的是 CD41-42(561 例),其次是 CD17(339 例)、-28(97 例)、IVS- II -654(75 例)、 β^E (72 例)、CD71-72(53 例)、IVS- I -1(26 例)、CD43(10 例)、-29(3 例)、CAP(1 例)、CD27/28(1 例)、CD41-42 位点复合 β^E 位点(1 例)、CD41-42 位点复合 CD17 位点(1 例)、CD17 位点复合 β^E 位点(1 例)、 β^E 位点纯合子(1 例)。结论 南宁市江南区人群 β 地贫基因携带者较多,绝大多数为杂合子,以 CD41-42 基因型最为常见,极个别为中间型或重型 β 地贫。

关键词: β 珠蛋白生成障碍性贫血; 基因诊断; 基因型

中图分类号:R556.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)19-2929-03

Analysis of gene detection results from 6 551 cases of beta thalassemia in an urban area of Nanning City

SHI Mingfang

(Department of Clinical Laboratory, Nanning Municipal Second People's Hospital, Nanning, Guangxi 530031, China)

Abstract: **Objective** To understand the genotypic characteristics of beta-thalassemia point mutation in Jiangnan District of Nanning City of Guangxi. **Methods** The polymerase chain reaction-reverse dot blot hybridization (PCR-RDB) technique was adopted to conduct the beta-thalassemia gene analysis in 6 551 subjects. **Results** Among 6 551 subjects, 1 242 cases of beta-thalassemia gene was detected, including 1 238 cases of heterozygotes, 3 cases of double heterozygotes and 1 case of homozygous. Eleven kinds of beta-thalassemia gene mutation and 15 types of genotype were found, in which the most common genotype was CD41-42 (561 cases), followed by CD17 (339 cases), -28 (97 cases), IVS- II -654 (75 cases), β^E (72 cases), CD71-72 (53 cases), IVS- I -1 (26 cases), CD43 (10 cases), -29 (3 cases), CAP (1 case), CD27/28 (1 case); including CD41-42 composite β^E (1 case), CD41-42 composite CD17 (1 case), CD17 composite β^E (1 case), β^E homozygous (1 case). **Conclusion** There are many beta-thalassemia gene carriers among the populations in Jiangnan District of Nanning City. The majority type is heterozygotes, CD41-42 genotype is most common, and very few individuals are intermediate type or severe beta-thalassemia.

Key words: beta thalassemia; gene diagnosis; genotype

β 珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)是全世界广泛流行的一种遗传性溶血性疾病,该病是由于 β 珠蛋白基因发生突变引起的 β 珠蛋白肽链缺如(β^0)或合成不足(β^+)所导致。地中海沿岸、东南亚各国及我国广西、广东、海南等地是该病高发区^[1]。地贫已成为广西地区最主要的出生缺陷,广西每年新增不少的重型地贫患儿。本文通过对 6 551 例受检者进行 β 地贫基因检测,对本地区 β 地贫的突变基因型及流行情况进行分析,以期对广西地区的 β 地贫基因突变类型

及分布情况提供参考数据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 9 月至 2017 年 6 月在本院进行 β 地贫基因检测的 6 551 例患者(来自南宁市江南区)。其中男 3 143 例,女 3 408 例,年龄 18 d 至 89 岁。

1.2 仪器与试剂 外周血 DNA 提取试剂和 β 地贫基因检测试剂盒由深圳益生堂生物技术有限公司提供;DNA 体外扩增仪为珠海黑马医学仪器公司 He-

ma9600 型,恒温杂交仪为深圳亚能生物技术有限公司 YN-16 型。

1.3 方法

1.3.1 血样采集与处理 抽取静脉血 2 mL,乙二胺四乙酸二钾抗凝,放 2~8 ℃ 保存。

1.3.2 DNA 基因组的提取 按照 DNA 提取试剂盒说明书进行操作。

1.3.3 DNA 扩增反应 将提取好的 DNA 加入反应体系,按照设定好的程序进行扩增。

1.3.4 RDB 杂交 采用反向斑点膜条杂交技术(PCR-RDB)检测中国人常见的 17 种 β 珠蛋白基因突变,包含 CD41-42、CD17、-28、CD71-72、IVS-II-654、IVS-I-1、CD27/28、CD31、IVS-I-5、-32、CAP+1、CD26(β^E)、-29、-30、CD14-15、CD43、Initiation condon。

2 结 果

2.1 β 地贫基因类型及构成比 6 551 例受检者外周血中检出 β 地贫 1 242 例,基因携带率为 18.96%,基因型以 CD41-42(561 例)为主,其次是 CD17(339 例)、-28(97 例)、IVS-II-654(75 例)、 β^E (72 例)、CD71-72(53 例)、IVS-I-1(26 例)、CD43(10 例)、-29(3 例)、CAP(1 例)、CD27/28(1 例)、CD41-42 位点复合 β^E 位点(1 例)、CD41-42 位点复合 CD17 位点(1 例)、CD17 位点复合 β^E 位点(1 例)、 β^E 位点纯合子(1 例)。杂合子 1 238 例,双重杂合子 3 例,纯合子 1 例。见表 1。

表 1 1 242 例阳性 β 地贫基因类型及构成比

基因型	<i>n</i>	构成比(%)	临 床 诊 断
CD41-42	561	45.17	轻型 β 地贫
CD17	339	27.29	轻型 β 地贫
-28	97	7.81	轻型 β 地贫
IVS-II-654	75	6.04	轻型 β 地贫
β^E	72	5.80	轻型 β 地贫
CD71-72	53	4.27	轻型 β 地贫
IVS-I-1	26	2.09	轻型 β 地贫
CD43	10	0.81	轻型 β 地贫
-29	3	0.24	轻型 β 地贫
CAP	1	0.08	轻型 β 地贫
27/28	1	0.08	轻型 β 地贫
CD41-42 复合 β^E	1	0.08	中间型 β 地贫
CD41-42 复合 CD17	1	0.08	重型 β 地贫
CD17 复合 β^E	1	0.08	中间型 β 地贫
β^E 纯合子	1	0.08	中间型 β 地贫

2.2 β 地贫的临床类型 在 1 242 例 β 地贫中,99.68%为轻型(1 238 例),是 β 地贫的杂合子(β^0/β^N 或 β^+/ β^N),在临床上表现为轻度的小细胞低色素贫血。一般是在体检时发现,患者正常生活不受其影

响。中间型 β 地贫检出 3 例,占 0.24%;重型 β 地贫 1 例,患儿为 2 岁男孩,因贫血就诊于本院儿科门诊,其平均红细胞体积为 67.2 fL,平均红细胞含量为 21.4 pg,血红蛋白水平为 62 g/L,该病例目前定期输血和驱铁治疗。

3 讨 论

目前,全球已发现有 800 多种 β 珠蛋白基因突变类型,我国报道的就有 60 多种^[1]。本次检测的 6 551 例标本,共检出 11 种 β 地贫突变基因类型。相对于中国人常见 17 种 β 地贫点突变,CD31M、IVS-I-5M、-32M、-30M、CD14-15M、Initiation condon M 未被检出。由此可见,在本地区这 6 种点突变基因相当罕见。在日常检测工作中,若发现标本的血液学表型(如血常规、血红蛋白电泳、血清铁等)与基因型不匹配时,应采用其他检测方法进行深入分析,避免罕见性 β 地贫的漏检。

β 地贫是我国南方各省最常见且影响最大的一种单基因遗传病。该病主要是由于 β 珠蛋白基因的点突变(少部分为缺失或插入)而导致的 β 珠蛋白合成障碍或合成无效。 β 链的合成不足,使得 α 链与 β 链失衡,多余的 α 链在幼红细胞和红细胞中沉积形成包涵体,包涵体的存在使得红细胞膜变形能力下降。成熟红细胞在通过脾脏时会被破坏掉,而幼红细胞通常是在骨髓内被破坏从而导致无效造血;同时多余的 α 链与 γ 链结合形成 $\alpha_2\gamma_2$ (HbF),HbF 与氧气结合力高,导致组织缺氧^[2]。

南宁市江南区 β 地贫基因突变以 CD41-42 为主,其次为 CD17、-28、IVS-II-654、 β^E 、CD71-72。这 6 种突变类型占全部突变类型的 96.38%。南宁市江南城区 β 地贫基因突变类型与区域内的北部湾^[3]、贵港^[4]、桂林^[5]、梧州^[6]等地报道的基因突变类型相似,其中前 6 种突变类型的先后顺序与北部湾地区报道的一致。海南黎族人中几乎全为 CD41-42 突变^[7],而广东梅州地区^[8]、福建^[9]、湖北武汉^[10]等地以 IVS-II-654 突变类型占第一位,可见不同地域之间 β 地贫基因的突变类型存在差异。

β 地贫在临床上通常被分为轻型、中间型和重型 3 种类型^[11]。(1)轻型 β 地贫一般无临床症状,大多在体检时发现,其血液学表型一般提示小细胞低色素贫血(红细胞平均体积 < 82 fL,平均红细胞血红蛋白含量 < 27 pg),生活不受影响;(2)重型 β 地贫患儿一般在出生 3~6 个月后开始出现临床症状,早期症状可能不太明显,但随着年龄的增长,患儿开始出现面色苍白,肝脾肿大,腹部渐渐膨出。随着贫血的加重,造血腔的扩大,出现面部颧骨隆起、头颅额部隆起,鼻梁塌陷等典型的地中海面容。患儿一般夭折于心肌

损伤或反复感染。(3)中间型 β 地贫的表型变化范围更宽,主要为 β^+ 地贫纯合子或双重杂合子。其临床表现为中度贫血,血红蛋白水平维持在 $60\sim 100\text{ g/L}$, 伴随不同程度的脾肿大;大部分中间型 β 地贫患者需接受输血和驱铁来维持生命^[12]。

迄今为止, β 地贫尚缺乏理想的治疗方法。由于广西地区人群的 β 地贫基因携带率较高,同型 β 地贫携带者婚配的概率也较大,同型 β 地贫婚配夫妇其后代有 $1/4$ 的概率为中间型或重型 β 地贫,重型 β 地贫患儿的出生将会给其家庭和社会造成极大的负担。因此,想要提高人口素质、避免重症 β 地贫患儿的出生不仅需要完善的地贫防控体系,还需要在本辖区内对居民大力普及地贫防控知识。加强地贫筛查,并对筛查阳性者进行地贫基因诊断,对高危人群进行遗传咨询及产前诊断势在必行。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 徐湘民,张新华,陈荔丽.地中海贫血预防控制操作指南[M].北京:人民军医出版社,2011:9-10.
- [3] 庞婉容,龙驹,叶学和,等.广西北部湾地区人群地中海贫血基因突变分析[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(1):39-42.

- [4] 李燕,黄善忠,钟伟明.广西贵港地区 β -地中海贫血基因突变类型与分布频率的探讨[J].国际检验医学杂志,2013,34(3):325-326.
- [5] 刘富华,贾艺聪,陈洁晶,等.广西地区 13 589 例地中海贫血筛查结果及基因突变类型分析[J].临床血液学杂志,2015,28(6):966-969.
- [6] 余永雄,黄丽,陈唯.梧州地区 β -地中海贫血基因突变类型分析[J].现代预防医学,2013,40(4):740-741.
- [7] 蔡望伟.中国南方人群 β -地中海贫血 CD41-42(-CTTT)突变的起源与扩散的群体遗传学研究[D].广州:南方医科大学,2008.
- [8] 黄烁丹,邹婕,庄宇嫦,等.广东梅州地区地中海贫血基因突变类型分析[J].新医学,2016,47(4):261-265.
- [9] 王林铎,黄海龙,林娜,等.福建地区 β -地中海贫血基因突变谱分析[J].中国妇幼保健,2015,30(13):2040-2043.
- [10] 肖晗,向赞,孙红,等.武汉地区儿童 β -地中海贫血基因突变类型分析[J].生物医学工程与临床,2015,19(5):515-518.
- [11] 陈碧艳.3 例罕见地中海贫血家系分子诊断和产前诊断[J].海南医学院学报,2013,19(4):452-456.
- [12] 黄利华,刘冬霞,李伟明,等.广东清远地区 β -地中海贫血基因型特点[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2017,38(1):41-45.

(收稿日期:2018-01-10 修回日期:2018-05-23)

(上接第 2928 页)

- [2] YOUSEF A M,BULATOVA N R,NEWMAN W,et al. Allele and genotype frequencies of the polymorphic cytochrome P450 genes (CYP1A1, CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19) in the Jordanian population[J]. Mol Biol Rep, 2012,39(10):9423-9433.
- [3] BHATT D L,PARÉ G,EIKELBOOM J W,et al. The relationship between CYP2C19 polymorphisms and ischaemic and bleeding outcomes in stable outpatients: the charisma genetics study[J]. Eur Heart J,2012,33(17):2143-2150.
- [4] 李小雯,郑松柏. CYP2C19 基因多态性及其对质子泵抑制剂疗效影响研究进展[J].中国新药与临床杂志,2013,32(10):775-779.
- [5] YU B N,CHEN G L,HE N,et al. Pharmacokinetics of citalopram in relation to genetic polymorphism of CYP2C19[J]. Drug Metab Dispos,2003,31(10):1255-1259.
- [6] SCHOLZ I,OBERWITTLER H,RIEDEL K D,et al. Pharmacokinetics, metabolism and bioavailability of the triazole antifungal agent voriconazole in relation to CYP2C19 genotype[J]. Br J Clin Pharmacol, 2009, 68(6):906-915.
- [7] IANG D,BAI X,ZHANG Q,et al. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genotypes on pharmacokinetic variability of

- valproic acid in Chinese epileptic patients: nonlinear mixed effect modeling[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2009, 65(12):1187-1193.
- [8] ZHOU S F,LIU J P,CHOW B B. Polymorphism of human cytochrome P450 enzymes and its clinical impact[J]. Drug Metab Rev,2009,41(2):89-295.
- [9] 赵连爽,杨紫伟,代娣,等.沈阳地区冠心病患者氯吡格雷药物代谢相关 CYP2C19 基因多态性分布分析[J].检验医学与临床,2017,14(6):754-758.
- [10] 邓济廷,唐翌姝,毕小云.重庆地区人群 CYP2C19 基因型表型多态性分析及检测的临床意义[J].重庆医学,2015,44(7):899-901.
- [11] 王红,李瑜元,聂玉强,等.广州地区肝酶 CYP2C19 基因型人群调查[J].广东医学,2004,25(10):1204-1206.
- [12] 华仙丽,梁爱芬,雷亚利,等.广东东莞地区心血管疾病患者 CYP2C19 基因多态性分析[J].国际检验医学杂志,2017,38(5):606-608.
- [13] CHEN L,QIN S,XIE J,et al. Genetic polymorphism analysis of CYP2C19 in Chinese Han populations from different geographic areas of mainland China[J]. Pharmacogenomics,2008,9(6):691-702.

(收稿日期:2018-02-02 修回日期:2018-04-18)