

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 21. 015

遵义地区 4 055 例珠蛋白生成障碍性贫血基因分型结果分析

李彦,陈秋月,晏亚萍,肖代敏
(遵义医学院检验医学院,贵州遵义 563003)

摘要:目的 探讨遵义地区珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)基因携带率、基因型分布情况,便于产前遗传咨询,避免重型地贫患儿的出生。方法 应用荧光聚合酶链式反应(PCR)溶解曲线法对 2016 年 6 月至 2018 年 3 月 4 055 例在遵义医学院附属医院孕检、体检筛查者,以及疑似地贫患者进行地贫基因检测。结果 3 391 例孕检、体检筛查者地贫基因阳性 399 例,阳性率为 11.77%;664 例疑似患者地贫基因阳性 388 例,阳性率为 58.43%。4 055 例受检者中检测出 α -地贫 408 例,占 49.04%, β -地贫 424 例,占 50.96%;共包含 17 种基因型,其中 α -地贫以 α 缺失型 $\alpha\alpha/-\alpha3.7$ 最多,共 184 次,占 22.12%, β -地贫以 CD17 最多,共 178 次,占 21.40%。共检测出双重复合 45 例,检出率为 1.11%,其中以 α -地贫复合 α -地贫为主,占 73.34%, α -地贫复合 β -地贫占 26.66%。结论 遵义地区地贫基因阳性率较高,疑似患者地贫基因阳性率明显高于孕检、体检筛查者,对产前人群特别是血常规检测参数异常者进行地贫基因分析,对产前诊断、优生优育具有重要的临床意义。

关键词:珠蛋白生成障碍性贫血; 基因型; 荧光聚合酶链式反应溶解曲线; 平均红细胞体积; 平均红细胞血红蛋白含量

中图法分类号:R556.5 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2018)21-3212-04

Analysis of thalassemia genotyping of 4 055 cases in Zunyi

LI Yan, CHEN Qiuyue, YAN Yaping, XIAO Daimin

(Department of Inspection, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

Abstract: Objective To analyze the carrier rate, the genotype and distributional characteristics of thalassemia in Zunyi, so as to provide theoretical evidence for gene diagnosis and genetic counseling of thalassemia, and prevent newborn with major thalassemia. **Methods** Carry out thalassemia gene detections among 4 055 people including suspected thalassemia people, people receiving pregnancy inspections and physical examination in Affiliated Hospital of Zunyi Medical College from June 2016 to March 2018. **Results** A total of 399 cases in 3 391 people receiving pregnancy inspections and physical examination were diagnosed as thalassemia, the detection rate was 11.77%, 388 cases in 664 suspected thalassemia people were diagnosed as thalassemia, the detection rate was 58.43%. Among those people diagnosed as thalassemia, 408 cases were α -thalassemia, accounting for 49.04%, 424 cases were β -thalassemia, accounting for 50.96%. The most common type of α -thalassemia was $\alpha\alpha/-\alpha3.7$, accounting for 22.12% in all α -thalassemia gene carriers, the most common type of β -thalassemia was β -thalassemia CD17, accounting for 21.40% in all β -thalassemia gene carriers. There were 45 cases of α and β compound thalassemia, accounting for 1.11%. **Conclusion** The positive rate of thalassemia gene is higher in Zunyi, and the positive rate of suspected thalassemia people was higher than that of people receiving pregnancy inspections and physical examination, so it is important to receive genetic analysis of thalassemia for people preparing for pregnancy, especially those with abnormal blood routine result.

Key words: thalassemia; genotype; fluorescence polymerase chain reaction lysis curve; mean corpuscular volume; mean cell hemoglobin

珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)是一种由遗传性珠蛋白基因缺陷(缺失或突变等)导致的慢性溶血性贫血。根据珠蛋白 4 种肽链合成障碍的不同,可将地贫分为 α 、 β 、 γ 和 δ 4 种类型,其中以 α -地贫和 β -地贫最为常见^[1]。该病广泛分布于世界各地,主要集中在地中海沿岸地区及东南亚地区,在我国以广东、

广西、海南、贵州、四川发病率高。迄今为止,临床对地贫患者的治疗主要是以对症治疗为主,对地贫的根治仍缺乏切实有效的方法。因此,把好三关(婚检、孕检和产检)对预防地贫患儿的出生是最为重要的手段和方法。遵义地处于重庆与贵阳之间,常住人口近 1 000 万,目前较少见本地区人群地贫基因缺陷的有关

文献报道。因此,本研究采用荧光聚合酶链式反应(PCR)溶解曲线法对本地区人群,尤其是孕期女性及疑似地贫患者进行地贫基因检测,旨在探讨遵义地区地贫的发生率及基因型分布情况,为遗传筛查和产前诊断提供科学依据,以期达到预防和控制地贫患儿出生和实现优生优育的目的。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2016 年 6 月至 2018 年 3 月在遵义医学院附属医院进行地贫基因检测的遵义地区常住人口共计 4 055 例,其中孕检及体检筛查人员 3 391 例,血液内科疑似地贫患者[平均红细胞体积(MCV)<80 fL 和(或)平均红细胞血红蛋白含量(MCH)<26 pg]664 例,男女不限,年龄 0~60 岁。

1.2 仪器与试剂 Lab-aid824 全自动核酸提取仪及配套的磁珠法核酸提取试剂盒(厦门致善生物科技有限公司),SLAN-96P Real-Time PCR-仪(上海宏石医疗科技有限公司),缺失型 α -地贫、非缺失型 α -地贫和 β -地贫基因检测试剂盒(厦门致善生物科技有限公司),XE-5000 的全自动五分类血细胞分析仪及配套试剂(日本 Sysmex 有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 血常规筛查 采集静脉血 3 mL,用全自动五分类血细胞分析仪检测 MCV 和 MCH,以 MCV<80 fL 和(或)MCH<26 pg 为标准判为疑似患者。

1.3.2 DNA 提取 抽取检测者外周血 2 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,严格按操作说明书,通过磁珠法应用全自动核酸提取仪提取人类基因组 DNA,备用。

1.3.3 地贫基因检测 采用荧光 PCR 溶解曲线法,通过荧光探针与 PCR 产物杂交后熔点的变化检测基因是否突变或缺失。根据试剂盒说明书,分别配制 β 、缺失型 α 、非缺失型 α 的反应液于 PCR 薄壁反应管中,并按顺序加入 5 μ L 提取的 DNA 样品、阴性及野生型对照,短暂离心后,放置于 SLAN-96P 实时荧光 PCR 仪,进行 PCR 扩增及溶解曲线分析。扩增条件:50 $^{\circ}$ C 2 min;95 $^{\circ}$ C 10 min;95 $^{\circ}$ C 30 s、70 $^{\circ}$ C 30 s、76 $^{\circ}$ C 45 s,10 个循环;95 $^{\circ}$ C 30 s、60 $^{\circ}$ C 30 s、76 $^{\circ}$ C 45 s,50 个循环;溶解曲线分析程序:95 $^{\circ}$ C 1 min;35 $^{\circ}$ C 3 min;40~85 $^{\circ}$ C,设置在此阶段每 0.4 $^{\circ}$ C 采集 FAM、HEX、ROX 和 Cy5 通道荧光信号。

1.4 结果判断 比较待测标本在 4 个不同检测通道与野生型对照之间溶解峰(T_m 值)的差异来综合判断标本的基因型,具体检测结果参照说明书和通过仪器自动判读进行分析。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同就诊对象地贫基因阳性检出率 4 055 例受检者中,3 391 例为孕检、体检筛查者,664 例为血液内科送检疑似患者,孕检、体检筛查者中检测出地贫基因阳性 399 例,阳性率为 11.77%,其中双重复合为 19 例;疑似患者中检测出地贫基因阳性 388 例,阳性率为 58.43%,其中双重复合为 26 例。疑似患者地贫基因阳性率明显高于孕检、体检筛查者,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 地贫基因缺陷类型分布 4 055 例受检者中,检测出 α -地贫 408 例,占 49.04%, β -地贫 424 例,占 50.96%,共包含 17 种基因型,其中 α -地贫以 α 缺失型 $\alpha\alpha/-\alpha3.7$ 最多,含双重复合型杂合子在內共 184 次,占 22.12%,其次是 α 缺失型--SEA/ $\alpha\alpha$,含双重复合在內共 166 次,占 19.96%; β -地贫以 CD17 最多,含双重复合在內共 178 次,占 21.40%,其次是 CD41-42,含双重复合在內共 107 次,占 12.86%;在试剂盒范围内未检测出的基因型别有 CD14-15、CD15-16、-30、-31、-32、CD31、IVS-I-1、CD30、IVS-II-5、-73、-90。见表 1。

表 1 地贫基因型别构成比

地贫类型	基因型别	阳性例数(<i>n</i>)	构成比(%)
α -地贫	--SEA/ $\alpha\alpha$	166	19.96
	$\alpha\alpha/-\alpha3.7$	184	22.12
	$\alpha\alpha/-\alpha4.2$	25	3.00
	CS	20	2.40
	QS	11	1.32
	WS	2	0.24
小计		408	49.04
β -地贫	IVS-II-654	87	10.46
	CD17	178	21.40
	CD41-42	107	12.86
	CD27-28	11	1.32
	CD71-72	3	0.36
	CD26	15	1.80
	CD37	7	0.84
	CD43	1	0.12
	-28	12	1.44
	-29	2	0.24
	IVS-I-5	1	0.12
小计		424	50.96
合计		832	100.00

2.3 地贫基因双重复合型分布 4 055 例受检者中共检测出双重复合 45 例,检出率为 1.11%,其中以 α -地贫复合 α -地贫为主,共 33 例,占 73.34%,主要以--SEA/ $\alpha3.7$ 为主,共 21 例,占 46.67%; α -地贫复合 β -地贫共 12 例,占 26.66%;未检测出 β -地贫复合 β -

地贫。

表 2 地贫基因复合型别构成比

地贫类型	基因型	阳性例数(n)	构成比(%)
α-地贫复合 α-地贫	-SEA/-α3.7	21	46.67
	-SEA/-α4.2	3	6.68
	-SEA/αCSα	5	11.11
	-SEA/αQSα	2	4.44
	-α3.7/αCSα	2	4.44
小计		33	73.34
α-地贫复合 β-地贫	-α3.7/CD17	3	6.68
	-α3.7/IVS-Ⅱ-654	2	4.44
	-α3.7/CD41-42	2	4.44
	-αSEA/CD17	2	4.44
	-αSEA/CD41-42	2	4.44
	-αSEA/CD26	1	2.22
小计		12	26.66
合计		45	100.00

3 讨 论

地贫是我国南方常见的单基因遗传疾病,严重危害着人类健康,双方为地贫基因携带者的夫妻下一代有四分之一的概率患重型地贫^[2],且目前对重型地贫尚无有效的治疗方法,仅通过长期输血维持生命,而长期反复输血会导致患儿体内铁负荷过重,最终导致心、肝等重要器官损伤、衰竭。因此,对育龄夫妇进行地贫基因筛查,对地贫基因携带夫妇妊娠后进行产前地贫基因诊断,是降低重型地贫患儿出生率的唯一有效途径^[3],也是国际上公认的地贫预防对策^[4]。

地贫发病具有地域性,不同地区发病率不同。我国长江以南发病率较高。主要以海南、广西、广东、贵州、重庆等地区携带率较高,调查显示,海南地区地贫携带率高达 50%^[5],广西地区达到 20%^[6],广东、贵州、重庆等地区也有 10%左右的携带率^[7-10]。本研究结果显示 3 391 例孕检、体检筛查者地贫基因检测阳性率为 11.77%,略高于贵州地区地贫基因携带率,说明遵义属于贵州地区地贫高发地区,因此更应重视婚前及孕前的地贫基因筛查及产前诊断工作。而 664 例疑似患者的地贫基因检测阳性率为 58.43%,明显高于孕检、体检筛查者的阳性率,与何丽等^[11]报道的重庆地区 MCV、MCH 低于健康者人群地贫基因检测阳性率较高结果类似,说明 MCV、MCH 的检测在地贫初筛中有重大的临床意义。

本研究中 4 055 例受检者共检测出 α-地贫 408 例,占 49.04%,β-地贫 424 例,占 50.96%,α-地贫和 β-地贫的发生率均衡,没有偏向性。相关调查报道显示贵州、重庆地区以 β-地贫为主,广东、广西、海南等地区以 α-地贫为主^[5-10],本研究结果与之均不相符。

说明遵义地区地贫基因型有其自身独有的特点,在筛查中应对 α-地贫和 β-地贫同时进行检测,以免发生漏诊。此次研究共检测出 17 种基因型,其中 α-地贫以 α 缺失型 αα/-α3.7 最多,占 22.12%,其次是 α 缺失型 -SEA/αα,占 19.96%,与莫亚虹等^[12]报道的海南地区最常见的 α-地贫基因型是 αα/-α3.7 一致,但与其他地区报道 α-地贫以 α 缺失型 -SEA/αα 为主不同^[5-10];β-地贫以 CD17 为最多,占 21.40%,其次是 CD41-42 和 IVS-Ⅱ-654,分别占 12.86%和 10.46%,与贵阳、重庆 β-地贫基因型别发生率排序相同^[13],但与国内广东、广西、海南地区所报道的 β-地贫基因型别以 CD41-42 为主,其次是 IVS-Ⅱ-654 和 CD17 的排序不一致^[14-15]。说明不同区域,地贫基因型别也不同,但也许相邻地区型别分布较为类似。

综上所述,遵义是地贫高发地区,必须加强地贫知识的宣传、普及,从预防、治疗和信息管理等方面入手,控制地贫基因的蔓延,做好地贫基因筛查工作,对血常规异常者应进一步检测地贫基因,降低地贫漏诊率,通过产前筛查,降低地贫患儿出生率,提高人口素质,实现优生优育。

参考文献

[1] 徐文荣,王建中.临床血液学检验[M].5 版.北京:高等教育出版社,2015:182-183.

[2] WEATHERALL D J,C LEGG J B. The Thalassemia Syndromes[M]. Oxford: Blackwell Sciences, 2001: 180-183.

[3] 徐湘民.地中海贫血预防控制操作指南[M].北京:人民军医出版社,2001:2-7.

[4] SADDI H,ALEXANDER S,BARLOW P,et al. Major alpha thalassemia: antenatal diagnosis case report and literature review[J]. J Gynecol Obstet Biol Reprod(Prais), 2009,38(3):258-262.

[5] 张继业.海南省地中海贫血基因频率分析[J].海南医学,2016,27(8):1228-1230.

[6] 刘富华,贾艺聪,成洁晶,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(11):966-969.

[7] XU X M,ZHOU Y Q,LOU G X,et al. The prevalence and spectrum of α and β thalassemia in Guangdong province: implications for the future health burden and population screening[J]. J Clin Pathol,2004,57(5):517-522.

[8] 赵文忠,李铭臻,顾恒,等.广东部分地区孕前人群地中海贫血基因型分布状况调查[J].中国优生与遗传杂志,2015,21(6):28-29.

[9] 朱晓西.贵州地区 2 000 例地中海贫血基因诊断结果与研究[J]中国优生与遗传杂志,2016,22(12):39-40.

[10] 杜伟,欧阳小峰,甘承文,等.重庆地区 8 024 例地中海贫血筛查结果及地贫基因分析[J].重庆医科大学学报,2014,39(5):694-697.

(下转第 3217 页)

($P>0.05$);与对照组相比,非 PHG 组和 PHG 组患者的 PG I /PG II 降低($t=6.326,6.227, P<0.05$)。分析其原因,可能为肝硬化 PHG 一定程度上影响了 PG I 的分泌,导致肝硬化患者的 PG I 水平均低于健康人群,而肝硬化 PHG 患者胃黏膜受损,胃黏膜供血不足且屏障受损,而受损部位主要为胃底和胃体,导致颈粘连细胞和主细胞的数量降低,因此 PG I 的分泌量降低,导致肝硬化 PHG 患者的 PG I 水平低于肝硬化非 PHG 患者。而分泌 PG II 的细胞分布较广,且肝硬化 PHG 常发生胃黏膜肠化生,因此 PG II 的分泌量未受到较大的影响。另外,本研究结果显示,与非幽门螺杆菌感染患者相比,幽门螺杆菌感染患者的 PG II 水平升高($P<0.05$),PG I /PG II 降低($P<0.05$),胃窦部为幽门螺杆菌的主要寄生部位,幽门螺杆菌可刺激幽门腺细胞的分泌功能,导致 PG II 的水平升高^[13-14],因此,肝硬化患者的 PG II 的分泌量未受到明显的影响,与健康人群的血清 PG II 水平相近。

由于肝硬化 PHG 患者的胃酸分泌量未增加^[15],因此,采用抑酸药物如质子泵抑制剂等治疗肝硬化 PHG 的效果不明显,而黏膜受损为肝硬化 PHG 的主要病变^[16],加强胃黏膜的保护,促进胃动力和补充消化酶可改善患者胃部不适和消化功能。

综上所述,通过对血清 PG 水平尤其是 PG I 的水平进行检测,有助于肝硬化 PHG 的诊断和治疗。

参考文献

- [1] 张慧,郑勇,陈卫刚,等.肝硬化门静脉高压性胃病患者血清胃蛋白酶原水平变化及意义[J]. 山东医药,2016,56(10):44-45.
- [2] ESFAHANI A, MAKHDAMI N, FARAMARZI E, et al. Prealbumin/CRP based prognostic score, a new Tool for predicting metastasis in patients with inoperable gastric cancer [J]. Gastroenterol Res Pract, 2016, 2016(8):468-471.
- [3] DE MACEDO G F, FERREIRA F G, RIBEIRO M A, et al. Reliability in endoscopic diagnosis of portal hypertensive gastropathy[J]. World J Gastrointest Endosc, 2013, 5(7):323-331.
- [4] 赵智,罗俊卿,刘小利,等.影响门静脉高压性胃病的多因素回归分析[J]. 医学临床研究, 2015, 23(6):1180-1182.
- [5] SHIN W G, KIM H U, SONG H J, et al. Surveillance

strategy of atrophic gastritis and intestinal metaplasia in a country with a high prevalence of gastric cancer[J]. Dig Dis Sci, 2012, 57(3):746-752.

- [6] LEE S Y. Future candidates for indications of Helicobacter pylori eradication; do the indications need to be revised? [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2012, 27(2):200-211.
- [7] 邱宏毅,颜秀娟,陈胜良.血清胃蛋白酶原检测在胃癌预警和胃黏膜功能评价中的价值[J]. 胃肠病学, 2015, 34(10):625-628.
- [8] EL SHAZLY Y M, ELDIN S E, RAFIK M M, et al. Narrow band imaging: a new Tool for diagnosis of portal hypertensive gastropathy[J]. Sci Nat, 2014, 8(19):102-106.
- [9] 华香,乔海国.胃蛋白酶原亚群测定与萎缩性胃炎诊断的相关性分析[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(21):3047-3048.
- [10] MONTES RAMIREZ M L, PASCUAL-PAREJA J F, SÁNCHEZ-CONDE M, et al. Transient elastography to rule out esophageal varices and portal hypertensive gastropathy in HIV-infected individuals with liver cirrhosis [J]. AIDS, 2012, 26(14):1807-1812.
- [11] BANG C S, KIM H S, SUK K T, et al. Portal hypertensive gastropathy as a prognostic index in patients with liver cirrhosis[J]. BMC Gastroenterol, 2016, 16(1):93-99.
- [12] SINGH A, KHAN A A, KRALL R, et al. 16 Y/O female with "watermelon stomach"? [J]. Case Rep Med, 2015(5):725-732.
- [13] 张玲霞,庄坤,张沥,等.血清胃泌素-17 胃蛋白酶原及幽门螺杆菌 Ig-G 抗体与萎缩性胃炎及胃癌的关系研究[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(8):1076-1078.
- [14] IJIMA K, KOIKE T, ARA N, et al. Identification of a high-risk group for low-dose aspirin-induced gastropathy by measuring serum pepsinogen in H. pylori-infected subjects[J]. J Gastroenterol, 2015, 50(3):305-312.
- [15] NEUMANN W L, COSS E, RUGGE M, et al. Autoimmune atrophic gastritis—pathogenesis, pathology and management[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10(9):529-541.
- [16] PARK J Y, VON KARSA L, HERRERO R. Prevention strategies for gastric cancer: a global perspective[J]. Clin Endosc, 2014, 47(6):478-489.

(收稿日期:2018-01-08 修回日期:2018-04-28)

(上接第 3214 页)

- [11] 何丽,朱晓芳,王薇,等.重庆地区 2951 例地中海贫血基因检测结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 23(4):26-27.
- [12] 莫亚虹,吴秀继.海南地区 13 440 对育龄夫妇地中海贫血基因检测结果分析[J]. 中国热带医学, 2017, 17(12):1206-1209.
- [13] 马星卫,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.

- [14] 刘玲,蒋玮莹,许世艳,等.广东地区地中海贫血致病基因的基因型及珠蛋白基因多态性研究[J]. 中华血液学杂志, 2011, 11(27):860-863.
- [15] 朱凌,罗瑞贵,周天红,等.广西地区地中海贫血基因突变类型研究[J]. 华南国防医学杂志, 2009, 32(20):41-43.

(收稿日期:2018-01-21 修回日期:2018-04-28)