

# 广东清远地区非缺失型 $\alpha$ 珠蛋白生成障碍性贫血基因型分布调查

叶韵婕<sup>1</sup>, 林金端<sup>2</sup>, 黄振勇<sup>2</sup>, 刘红伟<sup>1</sup>

广州医科大学附属第六医院/广东省清远市人民医院:1. 输血科;2. 分子诊断中心, 广东清远 511500

**摘要:**目的 分析广东清远地区非缺失型  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)基因携带率、基因型分布以及等位基因构成比,探讨该地区非缺失型  $\alpha$  地贫基因分布特征。方法 采用 PCR+膜杂交法对受检标本进行  $\alpha^{WS}\alpha$ 、 $\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$  3 种常见的非缺失型  $\alpha$  地贫基因突变检测。结果 9 047 例受检者中共检出非缺失型  $\alpha$  地贫 256 例,包括 12 种基因型,非缺失型  $\alpha$  地贫基因携带率为 2.83%; $\alpha^{WS}\alpha$ 、 $\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$  等位基因构成比依次为 48.84%、30.62%、20.54%。结论 该研究初步阐明了广东清远地区非缺失型  $\alpha$  地贫基因的分布特征,为该地区制订有效、可行的地贫防控策略提供了参考依据。

**关键词:**非缺失型;  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血; 携带率; 基因型

中图法分类号:R556.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)06-0772-03

## Distribution investigation of non-deletion alpha thalassemia genotypes in Qingyuan area of Guangdong Province

YE Yunjie<sup>1</sup>, LIN Jinduan<sup>2</sup>, HUANG Zhenyong<sup>2</sup>, LIU Hongwei<sup>1</sup>

1. Department of Blood Transfusion; 2. Molecular Diagnostics Centre,

Sixth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University/ Qingyuan Municipal People's Hospital,

Qingyuan, Guangdong 511500, China

**Abstract: Objective** To analyze the carrying rate, genotypes distribution and allelic constituent ratios of non-deletion alpha thalassemia in Qingyuan area of Guangdong Province, and to investigate the distribution characteristics of non-deletion alpha thalassemia genes. **Methods** The three kinds of frequent non-deletion alpha thalassemia gene mutations were detected by adopting PCR plus membrane hybridization, including  $\alpha^{WS}\alpha$ ,  $\alpha^{CS}\alpha$  and  $\alpha^{QS}\alpha$ . **Results** Among 9 047 detected persons, 256 cases of non-deletion alpha thalassemia were detected and were distributed to 12 genotypes, the carrying rate of non-deletion alpha thalassemia gene was 2.83%; the allelic constituent ratios of  $\alpha^{WS}\alpha$ ,  $\alpha^{CS}\alpha$  and  $\alpha^{QS}\alpha$  were in turn 48.84%, 30.62% and 20.54% respectively.

**Conclusion** This study preliminarily clarifies the distribution characteristics of non-deletion alpha thalassemia in Qingyuan area of Guangdong Province, and provides a basis for formulating the effective and feasible prevention and control strategies of thalassemia in this region.

**Key words:** non-deletion; alpha thalassemia; carrying rate; genotype

珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)是一组高发于中国南方沿海地区的严重威胁人类健康的单基因隐性遗传性血液病,可分为  $\alpha$  地贫和  $\beta$  地贫两类。 $\alpha$  地贫又可分为缺失型和非缺失型两类,其中  $\alpha$  珠蛋白基因大片段缺失导致的缺失型  $\alpha$  地贫是临床常见的变异类型。与缺失型  $\alpha$  地贫相比, $\alpha$  珠蛋白基因或其调节序列发生点突变引起的非缺失型  $\alpha$  地贫临床上较少见,以往容易被临床忽视。非缺失型  $\alpha$  地贫等位基因与东南亚型缺失( $--^{SEA}$ )或泰国型缺失( $--^{THAI}$ )杂合时可引发非缺失型血红蛋白 H 病(Hb H 病)<sup>[1]</sup>,而非缺失型 Hb H 病的临床表现和血液学改变常比缺失型 Hb H 病更重<sup>[2]</sup>,部分非缺失型 Hb H 病患者甚至需要不定期输血治疗<sup>[3-4]</sup>。因此,近几年来非缺失型  $\alpha$  地贫以及其引起的 Hb H 病的产前诊断及干预越来越受到临床的重视。地贫基因突变具

有高度的异质性,表现为明显的地域性或群体特异性,不同种族以及人群拥有不同的基因突变谱<sup>[5]</sup>。广东清远地处广东省西北山区,毗邻广西,南靠珠三角,且有少数民族聚居,地贫基因遗传背景复杂。目前有关广东清远地区非缺失型  $\alpha$  地贫基因型分布的相关研究报道还很少,为了解本地区非缺失型  $\alpha$  地贫基因的分布特征,本文将 2014 年 4 月至 2018 年 12 月本院非缺失型  $\alpha$  地贫基因的检测结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2014 年 4 月至 2018 年 12 月在本院门诊部及住院部进行  $\alpha$  地贫基因检测的受检者 9 047 例,年龄 1 d 至 89 岁,其中男 3 797 例,女 5 250 例。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集** 采用枸橼酸钠 9:1 抗凝真空管抽取受检者外周静脉血 2 mL。

**1.2.2 DNA 提取** 按照血液基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型)说明书操作提取全血基因组 DNA,提取的 DNA 标本于 -20 °C 保存,剩余全血标本于 -80 °C 冷冻保存。提取试剂盒由潮州凯普公司提供,试验过程严格按照试剂盒及仪器说明书操作。

**1.2.3 PCR 扩增** 按照地贫基因检测试剂盒说明书采用生物素标记的引物对 3 种常见的  $\alpha$  珠蛋白基因缺失区域(-<sup>SEA</sup><sub>α</sub>、- $\alpha^{3.7}$ 、- $\alpha^{4.2}$ )及 3 种常见的非缺失型  $\alpha$  珠蛋白基因突变区域( $\alpha^{WS}\alpha$ 、 $\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$ )进行特异性扩增。扩增试剂盒由潮州凯普公司提供,核酸扩增仪由美国 Applied biosystems 公司提供,试验过程严格按照试剂盒及仪器说明书操作。

**1.2.4 膜杂交** 将扩增产物加入导流杂交仪反应孔中,与标记有不同类型的地贫缺失或突变基因探针的尼龙膜进行杂交,经冲洗、封阻、酶标、洗涤、显色后判读结果。杂交试剂盒及杂交仪由潮州凯普公司提供,试验过程严格按照试剂盒及仪器说明书操作。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理和分析,计数资料以例数或百分率表示。

**2 结 果**

9 047 例受检者中,共检出非缺失型  $\alpha$  地贫 256 例,其中男 100 例,女 156 例,非缺失型  $\alpha$  地贫基因携带率为 2.83%。研究中共检出 12 种非缺失型  $\alpha$  地贫基因型,其中非缺失型  $\alpha$  地贫基因携带者( $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$ )203 例,占 79.30%;非缺失型 Hb H 病患者(-<sup>SEA</sup><sub>α</sub>/ $\alpha^{WS}\alpha$ 、-<sup>SEA</sup><sub>α</sub>/ $\alpha^{CS}\alpha$ 、-<sup>SEA</sup><sub>α</sub>/ $\alpha^{QS}\alpha$ )39 例,占 15.23%,非缺失型 Hb H 病检出率为 0.43%(39/9 047);同时还检出非缺失  $\alpha$  地贫双重杂合子( $\alpha^{CS}\alpha/\alpha^{WS}\alpha$ )和纯合子( $\alpha^{QS}\alpha/\alpha^{QS}\alpha$ )各 1 例。 $\alpha^{WS}\alpha$ 、 $\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$  3 种常见的非缺失型  $\alpha$  地贫等位基因构成比依次为 48.84%(126/258)、30.62%(79/258)、20.54%(53/258)。见表 1。

表 1 256 例非缺失型  $\alpha$  地贫基因型及构成比(%)

基因型	n	构成比	基因型	n	构成比
$\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$	96	37.50	$-\alpha^{3.7}/\alpha^{WS}\alpha$	6	2.34
$\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$	65	25.39	$-\alpha^{3.7}/\alpha^{CS}\alpha$	2	0.78
$\alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha$	42	16.41	$-\alpha^{3.7}/\alpha^{QS}\alpha$	2	0.78
$-\text{SEA}/\alpha^{WS}\alpha$	21	8.20	$-\alpha^{4.2}/\alpha^{WS}\alpha$	2	0.78
$-\text{SEA}/\alpha^{CS}\alpha$	11	4.30	$\alpha^{CS}\alpha/\alpha^{WS}\alpha$	1	0.39
$-\text{SEA}/\alpha^{QS}\alpha$	7	2.73	$\alpha^{QS}\alpha/\alpha^{QS}\alpha$	1	0.39

**3 讨 论**

本研究共检出非缺失型  $\alpha$  地贫 256 例,非缺失型  $\alpha$  地贫基因携带率为 2.83%,高于广西横县的 2.14%<sup>[6]</sup>以及深圳地区的 1.90%<sup>[7]</sup>。这与本研究中部分受检者先经过血细胞分析或血红蛋白电泳筛查,提示可能为  $\alpha$  地贫基因携带者再进行  $\alpha$  地贫基因检测有关。此前也有相关研究表明,清远地区人群  $\alpha$  地贫基因总携带率为 11.47%,高于广东省平均水平<sup>[8]</sup>。结合本次研究结果可知,广东清远地区非缺失型  $\alpha$  地

贫基因携带率也较高,因此在日常地贫防控工作中应对非缺失型  $\alpha$  地贫的检测足够重视,以免漏诊。

同时本研究显示,清远地区 3 种常见的非缺失型  $\alpha$  地贫等位基因构成比由高到低依次为  $\alpha^{WS}\alpha$ 、 $\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$ 。与陈咏珊等<sup>[9]</sup>报道的中山地区、姜碧等<sup>[10]</sup>报道的东莞地区以及屈艳霞等<sup>[4]</sup>报道的广州地区非缺失型  $\alpha$  地贫等位基因构成比由高到低依次为  $\alpha^{QS}\alpha$ 、 $\alpha^{WS}\alpha$ 、 $\alpha^{CS}\alpha$  有差异;与张满娥等<sup>[11]</sup>报道的福建龙岩地区非缺失型  $\alpha$  地贫等位基因构成比由高到低依次为  $\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$ 、 $\alpha^{WS}\alpha$  也有差异。说明  $\alpha^{WS}\alpha$ 、 $\alpha^{CS}\alpha$ 、 $\alpha^{QS}\alpha$  3 种常见的非缺失型  $\alpha$  地贫等位基因的分布在不同的地区和人群中存在差异,其分布具有一定的地域性或群体特异性。本研究所得结果与广西地区<sup>[12]</sup>及佛山地区<sup>[13]</sup>的调查结果较为接近。主要考虑有两方面原因:(1)清远市与广西接壤,与佛山地域接近,与两地人口交流较多;(2)清远市与广西均有瑶族、壮族等少数民族聚居,地贫基因遗传背景较为相近,因而非缺失型  $\alpha$  地贫等位基因人群分布特征较为相似。因此,在制订地贫防控策略时除了要了解本地区人群的地贫基因分布特征外,还应注意地理位置、人口流动、经济水平等多方面因素的影响。

非缺失型  $\alpha$  地贫是由于  $\alpha$  珠蛋白基因或其调节序列发生点突变造成的,其中大多数的突变位于功能较强的  $\alpha_2$  基因内,当  $\alpha_2$  基因发生点突变时, $\alpha$  珠蛋白链产量的减少比  $\alpha_2$  基因发生缺失更明显。因此,与缺失型 Hb H 病患者相比,非缺失型 Hb H 病患者的临床表现和血液学改变较重<sup>[3]</sup>,对脾切除和铁螯合治疗的要求也较高<sup>[14]</sup>,部分非缺失型 Hb H 病甚至会引起水肿胎<sup>[5]</sup>。本研究共检出非缺失型 Hb H 病 39 例,检出率为 0.43%,远高于广西横县的 0.09%<sup>[6]</sup>。

清远地区人群  $\alpha$  地贫基因总携带率(11.47%)<sup>[8]</sup>、非缺失型  $\alpha$  地贫基因携带率(2.83%)及非缺失型 Hb H 病检出率(0.43%)均较高,说明本地的  $\alpha$  地贫防控形势仍十分严峻,在制订  $\alpha$  地贫产前预防及控制方案时应提高对非缺失型  $\alpha$  地贫及非缺失型 Hb H 病的重视程度。建议在婚前检查及产前诊断工作中普及非缺失型  $\alpha$  地贫基因检测,推行当夫妇一方确诊携带有 -<sup>SEA</sup> 或 -<sup>THAI</sup> 缺失型  $\alpha$  地贫基因或者确诊携带非缺失型  $\alpha$  地贫基因时,另一方需同时做缺失型和非缺失型  $\alpha$  地贫基因检测。准确诊断出非缺失型  $\alpha$  地贫,特别是重型非缺失型 Hb H 病(-<sup>SEA</sup><sub>α</sub>/ $\alpha^{CS}\alpha$ 、-<sup>SEA</sup><sub>α</sub>/ $\alpha^{QS}\alpha$ ),及时进行产前干预,对减少重症地贫患儿的出生,提高出生人口质量有重大意义。

**参考文献**

[1] 李惠勤,龙驹.广西北部湾地区人群非缺失型  $\alpha$  地贫等位基因携带者血液学数据分析[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(3):21-22.  
 [2] 何升,张强,陈碧艳,等.广西地区 595 例 Hb H 病患儿童基因型与临床检验特点分析[J].中国当代(下转第 777 页)

呼吸道黏膜屏障被破坏、机体易感性增加有关,同时还和 VitA 缺乏影响机体的细胞免疫功能有关。有研究指出,免疫功能紊乱和失调是 RMPP 发生的主要原因。机体发生感染后,在免疫调节作用下,抗炎因子与促炎因子相互作用,通过产生 IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  等细胞因子清除病原体<sup>[11]</sup>。本研究中,疾病组患儿血清 IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  水平明显高于对照组, RMPP 组血清 IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  水平明显高于普通 MPP 组。这说明免疫功能的紊乱在 RMPP 发生、发展中起到了至关重要的作用。另外通过对 MPP 患儿 CVAD 与 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  的相关性进行分析发现, CVAD 与 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  呈正相关,说明体内越缺乏 VitA, IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  细胞因子水平越高,患儿更容易发生 RMPP。

综上所述,临床医师应重视 MPP 患儿病情的进展与变化,提高早期诊治 RMPP 的能力。早诊断、早期给予激素干预可以明显提高 RMPP 的治愈率。因此,当医师遇到 MPP 患儿持续高热,存在 CVAD,血清 IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  水平明显升高时,若经大环内酯类抗菌药物治疗无效,病情迁延不愈,应注意发生 RMPP 的可能。

### 参考文献

[1] 唐露笑. 不同剂量糖皮质激素辅助治疗小儿难治性支原体肺炎合并肺外并发症的效果对比[J]. 中国当代医药, 2019, 26(5): 114-116.

[2] 樊彦青, 杨清华, 晨东平. 儿童难治性肺炎的早期识别与

(上接第 773 页)

儿科杂志, 2015, 17(9): 908-911.

[3] 鲍丽娟, 顾晓琼, 颜慕霞, 等. 广东地区儿童血红蛋白 H 病的临床和实验研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(5): 27-29.

[4] 屈艳霞, 陈桂兰, 唐盈, 等. 广州市非缺失型  $\alpha$ -地贫基因诊断和产前诊断结果分析[J]. 癌变·畸变·突变, 2016, 28(2): 145-148.

[5] 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, 2011: 27.

[6] 黄忠, 张新华, 阮丽明, 等. 6 000 对新婚夫妇非缺失型  $\alpha$ -地中海贫血检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(12): 1409-1410.

[7] 裴元元, 李高驰, 冉健, 等. 深圳地区两种类型的珠蛋白生成障碍性贫血的基因型及表型研究[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(14): 1981-1983.

[8] 张金云, 谭卫荷, 张丹, 等. 清远市城镇人群  $\alpha$ -地中海贫血的分子流行病学调查[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(31): 5139-5141.

[9] 陈咏珊, 周小玲, 何洁芙. 中山地区非缺失型  $\alpha$ -地中海贫

诊断[J]. 医学信息, 2019, 32(1): 64-66.

[3] 郭艳霞, 冯艳芳, 沈丹华, 等. 儿童普通及难治性支原体肺炎维生素 A 水平及免疫功能的临床分析[J]. 广西医科大学学报, 2019, 36(1): 23-26.

[4] 赵茜叶, 侍苏杰, 孙大权, 等. 难治性肺炎支原体肺炎患儿支气管肺泡灌洗液中半乳凝素-3 水平与细胞免疫的相关性[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(2): 150-154.

[5] 任彦红, 陈丹, 张广超, 等. 血清 25 羟维生素 D、YKL-40 检测在诊治儿童难治性支原体肺炎中的临床意义[J]. 医学研究杂志, 2019, 48(2): 121-126.

[6] 万姣, 江李莉, 索风涛, 等. 鼻咽抽吸物 MP-DNA 拷贝数与肺炎支原体肺炎临床表现的关系[J]. 临床儿科杂志, 2019, 37(2): 81-85.

[7] 王珊珊, 顾廉洁, 刘鸿, 等. 维生素 A 与维生素 D 辅助治疗儿童肺炎的研究进展[J]. 中国儿童保健杂志, 2019, 27(2): 164-167.

[8] 戴宇卿, 丁丽, 陈越平, 等. 维生素 A 与新生儿肺炎、败血症及呼吸窘迫综合征的临床相关研究[J]. 当代医学, 2018, 24(7): 25-27.

[9] 李廷琪, 杨拴盈. 维生素 A 水平与儿童呼吸道感染性疾病的相关性研究[J]. 吉林医学, 2018, 39(1): 3-5.

[10] 王纯花, 王翠萍, 冯娇梅. 维生素 A 水平与儿童肺炎支原体感染的关系研究[J]. 中国医师杂志, 2018, 20(10): 1551-1553.

[11] 董西慧, 朴梅花, 韩彤妍, 等. 早产儿维生素 A 水平及其相关因素[J]. 中华围产医学杂志, 2017, 20(12): 874-881.

(收稿日期: 2019-05-24 修回日期: 2019-09-15)

血基因在高危人群中的筛查结果分析[J]. 中国实用医药, 2016, 11(27): 124-125.

[10] 姜碧, 钟鸣, 韦思似, 等. 东莞地区育龄人群  $\alpha$  地中海贫血分子流行病学调查[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(7): 22-23.

[11] 张满娥, 黄文滨, 卢志华, 等. 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[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(19): 2892-2898.

[12] 梁亮, 陈治中, 谭春燕, 等. 广西地区各民族地中海贫血基因类型分析[J]. 临床血液学杂志, 2018, 31(9): 696-699.

[13] 陈淑芬, 峯淑莉, 宋春林, 等. 佛山地区非缺失型  $\alpha$  地中海贫血基因突变分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(3): 17-22.

[14] LIN P C, CHANG T T, LIAO Y M, et al. Clinical features and genotypes of patients with hemoglobin H disease in Taiwan (China) [J]. Lab Med, 2019, 50(2): 168-173.

(收稿日期: 2019-04-08 修回日期: 2019-08-05)