

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.23.011

5 195 例孕妇珠蛋白生成障碍性贫血筛查结果及基因类型分析*

严关平¹, 刘武林¹, 何廷德², 雷余¹, 刘洋¹, 龚倬¹, 谢家宁^{3△}

1. 重庆市涪陵区妇幼保健院检验科, 重庆 408000; 2. 重庆市涪陵区妇幼保健院妇产科, 重庆 408000; 3. 重庆市中医院检验科/重庆市中医感染性疾病中西医结合诊治实验室, 重庆 400021

摘要:目的 分析重庆市涪陵区 5 195 例产前检查孕妇珠蛋白生成障碍性贫血(原名地中海贫血, 简称地贫)的阳性率及基因类型。方法 对 2020 年 1 月至 2022 年 3 月于重庆市涪陵区妇幼保健院接受产前检查的 5 195 例孕妇进行外周血血红蛋白(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)测定, 碱性 Hb 电泳检测, 地贫基因筛查, 并分析 Hb 成分和异常带。采用单管多重聚合酶链反应(GSPCR)结合反向斑点膜条杂交技术(RDB)对 5 195 例孕妇外周血进行 α 、 β -地贫基因检测。结果 5 195 例孕妇中, MCV 检测结果阳性 2 077 例, MCH 检测结果阳性 1 108 例, 碱性 Hb 电泳 Hb 成分分析结果阳性 307 例。对 MCV 检测结果异常的 2 077 例孕妇进行地贫基因检测, 提出地贫基因阳性 300 例, 检出率为 14.44%(300/2 077)。5 195 例孕妇地贫基因检测结果显示, 地贫基因阳性 300 例, 阳性率为 5.78%(300/5 195), 其中 α -地贫基因携带者 198 例, 占 66.0%(198/300), α -地贫基因缺失型 179 例, α -地贫基因突变型 19 例; β -地贫基因突变型 102 例, 占 34.0%(102/300)。 α -地贫基因携带者中, 检测出 5 种常见的地贫等位基因- $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、- $\alpha^{SEA}/\alpha\alpha$ 、- $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 、 $\alpha^{CS}/\alpha\alpha$ 和 $\alpha^{WS}/\alpha\alpha$, β -地贫基因突变型携带者中, 检测出 9 种常见的地贫等位基因, CD17、CD41-42、IVS-II-654、 β^E 、CAP、CD43、-28、-29、CD71-72, 未见其他亚型。结论 该地区有较高的地贫基因阳性率及地贫基因筛查阳性率。 α -地贫基因携带者以- $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 和- $\alpha^{SEA}/\alpha\alpha$ 型常见, β -地贫基因突变型携带者以 CD17 型多见。

关键词: 珠蛋白生成障碍性贫血; 血红蛋白; 产前检查; 基因分型; 孕妇; 重庆

中图法分类号: R446.11; R556.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)23-3209-04

Screening results and gene type analysis of 5 195 pregnant women with thalassemia*

YAN Guanping¹, LIU Wulin¹, HE Tingde², LEI Yu¹, LIU Yang¹, GONG Zhuo¹, XIE Jianing^{3△}

1. Department of Clinical Laboratory, Chongqing Fuling Maternal and Child Health Care, Chongqing 408000, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Chongqing Fuling Maternal and Child Health Care, Chongqing 408000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital/Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Chongqing 400021, China

Abstract: **Objective** To analyze the incidence and genetic types of thalassemia in 5 195 pregnant women underwent prenatal examination in Fuling District of Chongqing. **Methods** A total of 5 195 pregnant women who underwent prenatal examination in Chongqing Fuling Maternal and Child Health Care from January 2020 to March 2022 were enrolled for the determination of peripheral blood hemoglobin (Hb), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin content (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC). Meanwhile, alkaline Hb electrophoresis was performed to screen thalassemia, and Hb composition and abnormal zones were analyzed. The α -, β -thalassemia genes of 5 195 pregnant women were detected by gap single polymerase chain reaction (GSPCR) combined with reverse dot blot hybridization (RDB). **Results** Among 5 195 pregnant women, 2 077 cases were positive for MCV, 1 108 cases were positive for MCH test, 307 cases were positive for Hb component analysis by alkaline Hb electrophoresis. Thalassemia gene was detected in 2 077 pregnant women with abnormal MCV test results, and 300 cases were positive for

* 基金项目: 重庆市涪陵区科技计划项目(FLKJ2020ABC2031)。

作者简介: 严关平, 女, 主管技师, 主要从事免疫学检验及分子学实验室诊断研究。△ 通信作者, E-mail: 316359357@qq.com。

thalassemia gene, with a detection rate of 14.44% (300/2 077). Among 5 195 pregnant women, 300 cases were positive for thalassemia gene, the positive rate was 5.78% (300/5 195). Among them 198 cases were α -thalassemia gene carriers, accounting for 66.0% (198/300), and 179 cases were α -thalassemia gene deletion type, 19 cases were α -thalassemia gene mutation type. The proportion ratio of β -thalassemia mutation was 34.0% (102/300). Five common alleles of thalassemia, $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$, $--^{SEA}/\alpha\alpha$, $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$, $\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha$ and $\alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$, were detected in α -thalassemia carriers; nine common alleles of thalassemia, CD17, CD41-42, IVS-II -654, β^E , CAP, CD43, -28, -29, CD71-72, were detected in β -thalassemia and no other subtype was detected. **Conclusion** The positive rate of thalassemia gene and thalassemia gene screening of local pregnant women are high in this area. $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ type and $--^{SEA}/\alpha\alpha$ type were common in α -thalassemia gene carriers, and CD17 type is common in β -thalassemia gene mutation carriers.

Key words: thalassemia; hemoglobin; prenatal examination; genotyping; pregnant woman; Chongqing

珠蛋白生成障碍性贫血(原名地中海贫血,简称地贫)是由于一组珠蛋白基因突变或缺失导致肽链合成障碍而引起的溶血性贫血的单基因遗传性疾病,也是危害最严重的血红蛋白病。全球有近 7% 的人口为地贫基因携带者,每年有 30 万~50 万患地贫和镰刀细胞贫血的新生儿出生^[1]。目前,医学对重型地贫尚无有效治疗方案,只有通过孕前遗传检测、B 超检查、孕期筛查和产前诊断,可使出生缺陷率减少 40%~50%。本研究对 2020 年 1 月至 2022 年 3 月就诊于重庆市涪陵区妇幼保健院的 5 195 例孕妇血液学表型[红细胞计数(RBC)、血红蛋白(Hb)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)]等进行检测,结合碱性 Hb 电泳对 Hb 成分进行分析,然后采用单管多重聚合酶链反应法(GSPCR)结合反向斑点膜条杂交技术(RDB)进行地贫基因检查和基因诊断,就 Hb 成分分析结果和地贫基因分型结果进行探讨,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2020 年 1 月至 2022 年 3 月到重庆市涪陵区妇幼保健院接受孕早期检查的 5 195 例孕妇进行地贫基因筛查。5 195 例孕妇年龄 19~47 岁,平均(25.1±4.32 岁),孕周 6~15 周,平均(12.5±2.18)周,均签署了知情同意书。

1.2 仪器与试剂 SYSmex ltd XN-1000(B3)型全自动血液细胞分析仪由希森美康医用电子有限公司提供,HBNP-480 型全自动核酸提取仪由广东凯普生物科技有限公司提供,HBHM-3000S 型自动核酸分子杂交仪由广东凯普生物科技有限公司提供,7500 型实时荧光定量 PCR 扩增仪由美国 ABI 提供。地贫 Hb 成分分析采用 Helena SPIFE 3000 全自动电泳分析系统及试剂, α 、 β -地贫基因检测试剂盒由广州凯普医药科技有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 电泳及基因检测 采用碱性 Hb 电泳检测

HbA₂、Hb(A+F),结合外周血的 RBC、Hb、MCV、MCH、MCHC 进行 Hb 成分及异常 Hb 带检测,采用 GSPCR 结合 RDB 技术(即 PCR+导流杂交法)进行 α 、 β -地贫基因检测。各项实验及结果判断均按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 地贫基因筛查诊断标准 (1)MCV 检测结果异常标准: <80 fL 或 >100 fL。MCH 检测结果异常标准: <27 pg。(2)碱性 Hb 电泳时,HbA₂ $<2.5\%$ 行 α -地贫基因分析,HbA₂ $>3.5\%$ 行 β -地贫基因分析。

1.4 数据处理 采用描述性的方法对数据进行分析,并对地贫基因筛查结果及基因型别分布情况进行描述。

2 结果

2.1 地贫基因筛查结果 5 195 例受检孕妇中,MCV 检测结果异常 2 077 例(其中 MCV <80 fL 为 803 例,MCV >100 fL 为 1 274 例),MCH 检测结果异常(<27 pg)为 1 008 例,Hb 检测结果异常为 384 例。

2.2 碱性 Hb 电泳结果 Hb(A+F)碱性电泳实验结果:阳性 307 例,其中 HbF 降低 102 例,为 β -地贫可疑,可疑阳性率为 1.96% (102/5 195);HbA₂ 降低 205 例,为 α -地贫可疑,可疑阳性率为 3.95% (205/5 195)。Hb 成分电泳分析结果正常 4 888 例,正常率为 94.09% (4 888/5 195)。5 195 例受检孕妇未检测到异常 Hb 带。

2.3 地贫基因检测结果 5 195 例孕妇确诊为地贫基因携带者(包括 α -地贫基因缺失型和突变型及 β -地贫基因突变型)300 例,阳性率 5.78% (300/5 195),其中 α -地贫基因携带者 198 例,阳性率 3.82%, β -地贫基因携带者 102 例,阳性率 1.96%。

2.3.1 α -地贫基因缺失型 α -地贫基因缺失型杂合子 179 例,未检出 α -地贫基因缺失型纯合子。见表 1。

2.3.2 α -地贫基因突变型 检出 α -地贫基因突变型杂合子 19 例,未检出 α -地贫基因突变型纯合子。见

表 2。

2.3.3 β -地贫基因突变型 β -地贫基因突变型杂合子 102 例,未检出 β -地贫基因突变型纯合子。检测结果见表 3。

表 1 α -地贫基因缺失检测结果

型别	α -地贫基因缺失		阳性	构成比
	杂合子(<i>n</i>)	纯合子(<i>n</i>)	[%(<i>n</i> / <i>n</i>)]	(%)
- ^{SEA} / $\alpha\alpha$	67	0	1.29(67/5 195)	37.43
- $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$	98	0	1.89(98/5 195)	54.75
- $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$	14	0	0.27(14/5 195)	7.82
合计	179	0	3.45(179/5 195)	100.00

表 2 α -地贫基因突变检测结果

型别	α -地贫基因突变		阳性	构成比
	杂合子(<i>n</i>)	纯合子(<i>n</i>)	[%(<i>n</i> / <i>n</i>)]	(%)
α^{CS} / $\alpha\alpha$	10	0	0.19(10/5 195)	52.63
α^{WS} / $\alpha\alpha$	9	0	0.17(9/5 195)	47.37
α^{QS} / $\alpha\alpha$	0	0	0	0
合计	19	0	0.37(19/5 195)	100.00

表 3 β -地贫基因突变检测结果

型别	β -地贫基因突变		阳性	构成比
	杂合子(<i>n</i>)	纯合子(<i>n</i>)	[%(<i>n</i> / <i>n</i>)]	(%)
CD17	43	0	0.83(43/5 195)	42.16
CD41-42	23	0	0.44(23/5 195)	22.55
IVS-II-654	22	0	0.42(22/5 195)	21.57
β^E	4	0	0.08(4/5 195)	3.93
CAP	3	0	0.06(3/5 195)	2.93
CD43	2	0	0.04(23/5 195)	1.96
-28	2	0	0.04(2/5 195)	1.96
-29	2	0	0.04(2/5 195)	1.96
CD71-72	1	0	0.02(1/5 195)	0.98
CD27-28	0	0	0	0
-30	0	0	0	0
CD14-15	0	0	0	0
IVS-I-1	0	0	0	0
IVS-I-5	0	0	0	0
CD31	0	0	0	0
-32	0	0	0	0
Int	0	0	0	0
合计	102	0	1.96(43/5 195)	100.00

3 讨 论

地贫的发病机制为编码珠蛋白的基因缺失、突变或调控异常使肽链出现一种或几种合成障碍,导致 Hb 组分发生常改变的常染色体隐性遗传病,呈进行

性贫血^[2]。地贫患者遍布全球,主要高发于地中海周边国家及亚洲、南太平洋、中美洲等地区。据我国的流行病学调查:长江以南(广西、广东、海南、台湾、香港、四川、重庆、云南、贵州)为地贫的多见地区。地贫在临床上根据基因不同的表现类型,划分为 α -地贫、 β -地贫、异常 Hb 病等。地贫具有一定致残性和致死性,因可导致出生缺陷或死亡而备受人们的重视^[3]。若夫妻为同型地贫基因的携带者,每次妊娠,其子女有 1/4 的概率为重型地贫患儿。

重庆由于历史原因,多由湖广移民迁入,有着复杂的遗传基因背景,而广西、广东地区是地贫的主要高发地,余永熊等^[4]报道显示,广西地贫基因携带率高达 24.78%,因此从地域迁徙因素上来推断重庆存在很高的地贫基因阳性率。本研究对 5 195 例孕早期检查孕妇进行地贫基因筛查,结果显示,MCV 检测结果异常的 2 077 例,通过血清铁蛋白测定,排除缺铁性贫血;MCH 检测结果异常(<27 pg)的 1 008 例;碱性 Hb 电泳结果异常的 307 例,其中有 102 例 HbF 降低(为 β -地贫可疑),有 205 例 HbA2 降低(为 α -地贫可疑)。对 MCV 结果异常者进行地贫基因检测,检出 300 例阳性,地贫基因检出率为 14.44%(300/2 077)。这与谢建渝等^[5]报道的重庆孕妇地贫基因阳性率(14.14%)和杜伟等^[6]报道的重庆地贫基因阳性率(13.92%)基本一致。

本研究采用 GSPCR 技术结合 RDB 法同时进行 α 、 β -地贫基因检测,数据统计结果显示:在 5 195 例孕妇早期地贫基因检测中, α -地贫基因缺失型、突变型及 β -地贫基因突变型共阳性 300 例,阳性率 5.78%(300/5 195)。地贫基因检出率高于全国 2.64%的平均水平^[7],略高于谢建渝等^[5]报道的重庆地区孕妇地贫筛查的阳性率(4.25%),这可能与孕妇所在地域等不同有关。基因检测确诊的 300 例孕妇中,孕妇 α -地贫基因携带者有 198 例(α -地贫基因缺失型有 179 例, α -地贫基因突变型有 19 例), β -地贫基因突变有 102 例。198 例 α -地贫基因携带者中最高的基因型是 - $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$,其次是东南亚缺失型--^{SEA}/ $\alpha\alpha$,再次是 - $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$ 基因型,第四位是 α^{CS} / $\alpha\alpha$ 基因型,最后是 α^{WS} / $\alpha\alpha$ 基因突变型。在 102 例 β -地贫基因突变型携带者中,检测出 9 种常见的地贫等位基因,以 CD17 型最多,其次是 CD41-42 型,再次是 IVS- II-654 型。

从本研究数据得出, α -地贫基因携带者以 - $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$ 基因型为常见, β -地贫基因突变型携带者 CD17 型最多。与国内的相关报道基本相同^[8], α -地贫基因和 β -地贫基因突变型的型别种类及频率分布与我国南方地区基本一致^[9]。有研究提示, α -地贫与低出生体重等明显相关^[10]。这说明在孕妇的产前检查中要高度重视并加强孕早期的地贫的检测与筛查。在 300 例

孕妇地贫基因携带者中,α-地贫基因阳性率明显高于β-地贫基因,与地贫高发区的广东^[11]、广西^[12]相关报道基本吻合。

本研究数据说明:重庆市涪陵区孕妇有较高的地贫基因阳性率和地贫基因筛查阳性率。该地区α-地贫基因携带者以-α^{3.7}/αα 基因位点和--^{SEA}/αα 基因位点为常见,β-地贫基因突变型携带者以 CD17 型基因位点多见。近期的研究报道显示,我国地贫患儿的出生率是 2.4‰^[13]。因此,及早行地贫基因筛查及基因分析,对地贫基因携带的孕妇进行出生缺陷的干预,有助于防控重度地贫新生儿的出生,这对提高人口素质具有重要意义。

参考文献

[1] 王文娟,张艳亮,徐秋月,等. 2376 例地中海贫血基因筛查结果分析[J]. 昆明医科大学学报,2021,42(1):68-71.

[2] BRANGAL,EONI V,DIPIERRO E,et al. Laboratory diagnosis of thalassemia[J]. Int J Lab Hematol,2016,26(1):32-40.

[3] LICK. New trend in the epidemiology of thalassemia[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol,2017,39:16-26.

[4] 余永熊,陈唯,陈洁,等. 广西梧州地中海贫血流行现状及罕见基因型研究[J]. 临床检验杂志,2022,40(1):74-76.

[5] 谢建渝,虞柯静,罗文梅,等. 423 例孕妇地中海贫血筛查

(上接第 3208 页)

[2] 张辉,尤孙宁,侯俊,等. 前侧入路直视关节面复位内固定治疗粉碎性髌骨骨折[J]. 临床骨科杂志,2020,23(1):117-118.

[3] 陈涛,鄢承元,田智勇. 局部浸润注射在髌骨骨折切开复位内固定术后多模式镇痛中的效果及安全性[J]. 贵州医药,2020,44(8):1250-1251.

[4] 禹鹏飞,赵洪涛. 克氏针张力带固定与 Krachow 法垂直缝合治疗 Rockwood Ⅲ型髌骨骨折的疗效评价[J]. 山西医药杂志,2021,50(3):447-449.

[5] 肖琦科,张力鹏,张永峰. 髌韧带编织缝合联合克氏针钢丝张力带内固定治疗髌骨下极骨折疗效观察[J]. 中国骨与关节损伤杂志,2021,36(6):605-607.

[6] 杨坤,华兴一,唐康,等. 间断垂直钢丝缝合联合环扎固定治疗髌骨下极粉碎性骨折的临床疗效[J]. 安徽医学,2020,41(6):679-682.

[7] 王春,沈新乐,陶初华,等. 克氏针钢丝与髌骨针钛缆两种张力带固定治疗髌骨骨折[J]. 临床骨科杂志,2020,23(2):259-261.

[8] 刘松华,方懿,曹理言. 右美托咪定联合超声引导股神经与股外侧皮神经阻滞在髌骨骨折内固定取出术中的应用[J]. 中国现代医学杂志,2020,30(1):77-81.

[9] 尚晓强,段祥林,杨平. 纽扣式缝合在固定髌骨粉碎性骨

及基因检测结果分析及临床意义[J]. 检验医学与临床,2014,11(10):1325-1330.

[6] 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型分析[J]. 重庆医科大学学报,2014,39(5):694-697.

[7] 王金梅,郑琳. 轻型地中海贫血孕妇孕晚期血液特点及妊娠结局[J]. 中国计划生育杂志,2021,29(10):2162-2165.

[8] 周丽萍,姜艳华. 孕期地中海贫血筛查的区域性现状分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2018,26(8):61-63.

[9] 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.

[10] METTANANDA S,SURANJAN M,FERNANDO R,et al. Anaemia among females in child-bearing age; relative contributions,effects and interactions of α- and β-thalassaemia[J]. PLoS One,2018,13(11):e0206928.

[11] 侯妹芳,朱俊芳,陈燕,等. 8 757 例地中海贫血基因诊断结果分析与研究[J/CD]. 中国产前诊断杂志(电子版),2018,10(1):26-29.

[12] 许莉莉,甄理,韩瑾,等. 4 325 例地中海贫血产前诊断的病例分析[J]. 中国临床新医学,2020,13(10):973-976.

[13] 刘聪,邹翠翠,刘婷,等. 赣南地区孕期妇女 α、β 地中海贫血分子流行病学回顾性分析[J]. 实验与检验医学,2021,39(4):1023-1025.

(收稿日期:2022-04-29

修回日期:2022-09-22)

折游离软骨块中的应用[J]. 生物骨科材料与临床研究,2020,17(6):45-47.

[10] 曾卓辉,廖瑛扬,欧阳孔顺,等. 关节镜辅助闭合复位经皮空心钉内固定治疗髌骨骨折[J]. 中国骨与关节损伤杂志,2020,35(6):617-619.

[11] 王春峰,施凌燕,周卫东. 超声引导下股神经阻滞用于髌骨骨折切开复位内固定术后镇痛的效果[J]. 临床骨科杂志,2020,23(1):82-85.

[12] 洛绒赤乃,鹿伟,蒋莎莎,等. 两种不同内固定手术对髌骨骨折患者术后膝关节功能恢复的影响[J]. 现代生物医学进展,2020,20(1):127-130.

[13] 周伟,石渊,盛奇智,等. 髌骨钢板与克氏针张力带内固定治疗髌骨骨折的疗效分析[J]. 临床外科杂志,2021,29(9):864-868.

[14] 李秋举,龚骏,李平生,等. 预断式钛质带孔克氏针联合钛缆张力带内固定治疗髌骨骨折疗效分析[J]. 中国骨与关节损伤杂志,2021,36(4):388-390.

[15] 肖凯,赵庆华,张宽宽. 关节镜辅助下微创克氏针张力带内固定对髌骨骨折患者骨代谢和体液免疫功能的影响[J]. 中国内镜杂志,2021,27(3):51-58.

(收稿日期:2022-03-30

修回日期:2022-09-20)