

· 调查报告 ·

重庆地区地中海贫血基因突变类型分析

何建维, 黄恒柳, 张燕, 段梦, 邓少丽[△]

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所检验科, 重庆 400042)

摘要:目的 了解重庆地区地中海贫血患者基因突变类型及分布,以指导优生优育。方法 采用聚合酶链式反应(PCR)和膜杂交技术,进行 α -地中海贫血和 β -地中海贫血基因检测。结果 2012年9月至2013年9月共检出349例地中海贫血患者,其中 α -地中海贫血患者125例, α -地中海贫血患者的基因突变类型以缺失为主,缺失类型主要为东南亚型缺失——SEA/ $\alpha\alpha$ (占73.60%)和右侧缺失—3.7/ $\alpha\alpha$ (占19.20%)。检出 β -地中海贫血患者211例,基因突变热点分别为CD17(A→T)(29.38%)、CD41-42(-TCTT)(28.91%)、IVS-II-654(C→T)(27.49%)。 α -地中海贫血兼 β -地中海贫血13例。结论 了解重庆地区地中海贫血基因突变类型及分布可以为该地区地中海贫血的遗传咨询和临床诊疗提供有价值的信息。

关键词:地中海贫血; 基因分型; 聚合酶链反应; 膜杂交

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.18.028

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)18-2489-02

The analysis of thalassemia gene mutation types in Chongqing

He Jianwei, Huang Hengliu, Zhang Yan, Duan Meng, Deng Shaoli[△]

(Department of Clinical Laboratory, Institute of Surgery Research, Daping Hospital,
Third Military University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the type of gene mutation and its distribution in patients with thalassemia in Chongqing, in order to guide prenatal and postnatal care. **Methods** PCR and membrane hybridization technology for α -thalassemia and β -thalassemia gene detection. **Results** From September 2012 to September 2013, 349 thalassemia patients were detected, including 125 α -thalassemia patients and 211 β -thalassemia patients. Based on genotypes, gene deletions were the most common type of gene mutation of α -thalassemia patients. Southeast Asia deletion ——SEA/ $\alpha\alpha$ (accounted for 73.60%) and the right deletion —3.7/ $\alpha\alpha$ (accounted for 19.20%) were the major types of gene deletion. For β -thalassemia patients, the hot spots of mutation were CD17(A→T), CD41-42(-TCTT) and IVS-II-654(C→T), which accounted for 29.38%, 28.91% and 27.49% respectively. α -thalassemia combined with β -thalassemia mutations were detected in 13 patients. **Conclusion** Studying the gene mutation types of thalassemia and its distribution provides valuable information for genetic counseling and clinical therapy in Chongqing.

Key words: thalassemia; genotypes; polymerase chain reaction; membrane hybridization

地中海贫血的发病机制是珠蛋白基因缺陷使珠蛋白肽链1种或几种减少或缺如,导致血红蛋白组成成分改变。其中较常见的有 α -地中海贫血和 β -地中海贫血^[1-2], α -珠蛋白基因(位于16p13.3)缺失或点突变均可导致 α -地中海贫血,其中缺失型最常见; β -珠蛋白基因(位于11p15.5)多由点突变引起 β -地中海贫血。由于该病在本市有一定的发病率^[3],笔者对2012年8月至2013年8月于本院确诊为地中海贫血患者的基因的突变类型进行了分析,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2012年9月至2013年9月疑为地中海贫血的患者542例,其中女402例、男140例,女性中包含孕妇191例。

1.2 仪器与试剂 Qiagen QIAcube全自动核酸提取仪为Qiagen公司产品,Thermo NanoDrop1000分光光度计为Thermo公司产品,ABI Veriti PCR扩增仪为ABI公司产品,导流杂交仪及PCR试剂、杂交试剂由潮州凯普生物化学有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 采用EDTA-K₂ 无菌真空抗凝管抽取2

mL静脉血并混匀,贴上患者的唯一标识。标本采集后立即送检或保存待测。标本于-4℃保存不超过3d,-20℃保存不超过3个月。

1.3.2 DNA制备 Qiagen QIAcube全自动核酸提取仪提取全血DNA。用Thermo NanoDrop1000分光光度计测定DNA浓度,DNA浓度为20~40 ng/ μ L,A₂₆₀/A₂₈₀比值为1.5~2.5。

1.3.3 DNA扩增与杂交 按照说明书分别进行 α -地中海贫血与 β -地中海贫血进行PCR检测,将扩增产物与标记有不同缺失或突变类型地中海贫血基因探针的Biodyne C尼龙转印膜在导流杂交仪上进行导流杂交,然后通过酶标与NBT/BCIP底物化学显色对结果进行判读。

2 结果

2.1 总体情况 在542例疑为地中海贫血的患者中,共检出349例患者携带有地中海贫血基因,检出率为66.60%(349/542)。其中 α -地中海贫血125例,占35.82%(125/349); β -地中海贫血共211例,占60.46%(211/349)。

2.2 α -地中海贫血基因的检测 经Biodyne C尼龙转印膜杂交显色后,根据探针显色位点判定地中海贫血的基因类型,125例患者携带有 α -地中海贫血基因,见表1。

2.3 β-地中海贫血基因的检测 检出 β-地中海贫血基因 211 例共 9 种突变基因型别, 见表 2。

2.4 α/β 复合地中海贫血基因检测 检出 13 例患者携带 α/β 复合地中海贫血基因, 占 3.72%(13/349)。α/β 复合地中海贫血基因分别 --SEA/αα/CD41-42(2 例)、--SEA/αα/CD17(2 例)、--SEA/αα/-28(2 例)、-α3.7/αα/ IVS-II-654(4 例)、-α3.7/αα/CD17(2 例)、-α3.7/αα/CD41-42(1 例)。

表 1 α-地中海贫血基因类型的分布 (n=125)

| 基因类型 | n | 构成比(%) |
|-------------|----|--------|
| --SEA/αα | 92 | 73.60 |
| -α3.7/αα | 24 | 19.20 |
| -α4.2/αα | 2 | 1.60 |
| ααCS/αα | 1 | 0.80 |
| -α3.7/--SEA | 5 | 4.00 |
| ααCS/--SEA | 1 | 0.80 |

表 2 β-地中海贫血基因类型的分布 (n=211)

| 基因类型 | n | 构成比(%) |
|-----------------|----|--------|
| CD41-42(-TCTT) | 61 | 28.91 |
| CD17(A→T) | 62 | 29.38 |
| IVS-II-654(C→T) | 58 | 27.49 |
| -28(A→G) | 8 | 3.79 |
| -29(A→G) | 6 | 2.84 |
| CD43(G→T) | 4 | 1.90 |
| CD27-28(+C) | 3 | 1.42 |
| CD71-72(+A) | 3 | 1.42 |
| βE | 2 | 0.95 |
| CD41-42/βE | 3 | 1.42 |
| CD41-42/CD17 | 1 | 0.47 |

3 讨论

地中海贫血又称海洋性贫血, 是一组遗传性溶血性贫血疾病, 重型地中海贫血新生儿出生数日即可出现贫血、肝脾肿大、黄疸, 以及发育不良, 表现为地中海贫血面容。中间型轻度至中度贫血, 患者大多可存活至成年。轻型轻度贫血患者可无症状^[4-6]。我国长江以南各省均有地中海贫血发病的相关报道,

广东、广西、海南、四川、重庆等地区的发病率较高, 该病在北方较为少见^[7-9]。重庆地区的地中海贫血患者的基因类型又具有自身特点, 重庆地区 β-地中海贫血, 突变热点为 CD17(A→T)(29.38%)、CD41-42(-TCTT)(28.91%)、IVS-II-654(C→T)(27.49%), 占 β-地中海贫血检出总数 85.78%, 与文献^[3]报道相似。α-地中海贫血以缺失为主, 缺失类型主要为东南亚型缺失(--SEA/αα)和右侧缺失(-3.7/αα)。重庆地区 β-地中海贫血的检出率大于 α-地中海贫血, 且以 β-地中海贫血为主, 而两广地区的情况则正好相反^[10]。

目前对于重型地中海贫血患者仍无有效的治疗方法, 防止重型地中海贫血患儿出生显得尤为重要^[10], 应根据重庆地区地中海贫血的遗传流行病学资料积极开展婚前、孕前及孕期地中海贫血的筛查。本调查所获得资料可以为遗传咨询、临床诊疗提供参考, 进而指导优生优育, 提高人口素质。

参考文献

- [1] 郭华, 蓝慧娟, 熊礼宽. 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测技术的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(10): 1090-1092.
- [2] 段山, 李洪, 义陈争, 等. 中国南方 α 地中海贫血基因突变型研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2003, 11(1): 54-60.
- [3] 王欢, 刘申, 黄君富, 等. 953 例重庆地区地中海贫血基因突变类型分析[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(17): 1802-1804.
- [4] 黄钰君, 区小冰, 余一平, 等. 广州地区儿童 α 地中海贫血的发生率及缺失基因检测结果分析[J]. 中国小儿血液, 2005, 10(5): 205-208.
- [5] Wolfsberg TG, McEntyre J, Schuler GD. Guide to the draft human genome[J]. Nature, 2001, 409(6822): 824-826.
- [6] 曾溢滔. 血红蛋白疾病的诊断和治疗[J]. 中华血液学杂志, 1996, 17(8): 4-5.
- [7] 郭柳薇, 黄王莹, 李颖莉. 两省交界地区 β 地中海贫血复合缺失型 α 地中海贫血的发生率及基因诊断[J]. 重庆医学, 2010, 39(14): 1827-1828.
- [8] 汪国庆, 周玉球. 妊娠期 MCV 和 MCH 指标筛查珠蛋白生成障碍性贫血的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(8): 859-860.
- [9] 杜丽, 尹爱华, 张彦, 等. 2171 例地中海贫血产前基因诊断回顾性分析[J]. 国际妇产科学杂志, 2012, 39(2): 208-210.
- [10] 周艳洁, 梁立阳, 丁进龙, 等. 240 例地中海贫血基因突变类型分析[J]. 实用预防医学, 2010, 17(2): 233-234.

(收稿日期: 2014-06-11)

(上接第 2487 页)

年婴幼儿轮状病毒腹泻与流行病学[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(22): 3641-3643.

- [6] 陈飞, 汤成玉. 2635 例腹泻患儿粪便中 A 群轮状病毒抗原检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(12): 1547-1548.
- [7] 李伟, 楼金吐, 尚世强, 等. 杭州地区腹泻患儿轮状病毒感染流行病学特征分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2012, 20(12): 1132-1135.
- [8] 周文杰, 邹盛杰, 钟永林, 等. 成都地区婴幼儿腹泻轮状病毒感染的流行病学特征调查[J]. 中国妇幼保健, 2013, 28(27): 4516-4518.

- [9] 张丽杰, 方安. 中国婴幼儿轮状病毒腹泻的流行病学和疾病负担研究进展[J]. 中国计划免疫, 2007, 13(2): 186-191.
- [10] 林谦, 周进苏, 陆芬, 等. 2009-2010 年南京地区 5 岁以下儿童轮状病毒性腹泻临床特点及分子流行病学研究[J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(22): 1709-1711.
- [11] 陆惠强, 李晓萍, 姜妍妍, 等. 婴幼儿腹泻轮状病毒检测及结果分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(2): 210-212.

(收稿日期: 2014-05-19)