

• 论 著 •

渝东北区地中海贫血常见基因类型的调查研究

李良琼, 熊 见[△], 王长本, 周 正, 陈丙龙

(重庆三峡中心医院检验科, 重庆 404000)

摘要:目的 了解渝东北区人群地中海贫血(简称地贫)基因携带率、基因突变类型及分布特征。方法 对 2013 年 1~12 月来该院就诊及体检共计 28 633 例样本进行红细胞参数及血红蛋白电泳过筛, 表型阳性的标本再用 Gap-PCR 和反向斑点杂交(RDB)基因检测方法确诊地贫类型。结果 28 633 例样本中, 检出 α 和 β 地贫共 1 358 例, 地贫总携带率为 4.74%。其中 589 例(2.06%) α 地贫以 $\alpha\alpha/--^{SEA}$ (1.38%) 型最常见, 其次为 $-\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ (0.37%) 和 $\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$ (0.20%); 741 例(2.59%) β 地贫中检出 14 种基因突变类型, 以 CD41-42(1.27%) 型构成比最高, 其次为 IVS-2-654(0.69%) 和 CD17(0.30%); α 地贫复合 β 地贫双重杂合子 28 例。结论 渝东北区是地贫发生率较高且遗传较复杂的地区, 该研究为该区预防地贫、遗传咨询、诊断等提供了参考借鉴资料。

关键词:地中海贫血; 基因突变; 反向斑点杂交

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.06.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)06-0753-03

Survey and research of common thalassemia genotypes in northeast area of Chongqing

Li Liangqiong, Xiong Jian[△], Wang Changben, Zhou Zheng, Chen Binglong

(Department of Clinical Laboratory, Chongqing Three Gorges Central Hospital, Chongqing 404000, China)

Abstract: Objective To understand the gene carrying rate, gene mutation types and distribution characteristics of thalassemia in the northeast area of Chongqing. **Methods** 28 633 specimens collected from the patients and individuals with physical examination in our hospital from January to December 2013 were performed the RBC parameters detection and hemoglobin electrophoresis screening. The specimens with phenotype positive were definitely verified the thalassemia type by using Gap-PCR and reverse dot blot(RDB). **Results** Among 28 633 specimens, 1 358 specimens were finally diagnosed as thalassemia with the thalassemia carrying rate of 4.74%, including 589 cases(2.06%) of α -thalassemia and 741 cases(2.59%) of β -thalassemia cases. Among the α -thalassemia genotypes, $-\alpha\alpha/--^{SEA}$ genotype(1.38%) was most common, the next was $-\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ genotype(0.37%) and $\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$ genotype(0.20%). Among the β -thalassemia genotypes, CD41-42 genotype(1.27%) had the highest constituent ratio, followed by IVS-2-654 genotype(0.69%) and CD17 genotype(0.30%). 28 cases were found to be the double heterozygote with α -thalassemia and β -thalassemia. **Conclusion** The northeast area of Chongqing is a region with the high incidence rate of thalassemia and complicated heredity. Therefore this research provides the reference information for the prevention of thalassemia, genetic counseling and prenatal diagnosis.

Key words: thalassemia; genetic mutations; reverse dot blot hybridization

地中海贫血(简称地贫)是世界上最常见且发病率较高的单基因常染色体显性遗传性疾病,其发病原因为珠蛋白基因缺陷引起的珠蛋白肽链合成减少,使 α 链/非 α 链比例失衡所致的遗传性溶血性疾病, α 地贫和 β 地贫是其中的主要类型^[1]。地贫高发于热带和亚热带地区,我国长江以南各省(区),特别是广东、广西、海南三省(区)是人群发生率最高的省份^[2-4]。重庆万州地处宜昌至重庆之间的三峡库区核心地带,三峡工程蓄水后致渝东北区各区县处于类似海洋生活区,本地区地贫的系统研究一直处于空白状态。重庆三峡中心医院作为渝东北区的医疗中心,依靠其独特的地缘及病源优势,对 2013 年 1~12 月的常规体检人群进行了地贫筛查,初步掌握了本区域内地贫基因的携带特征,为渝东北区进一步防范及治疗地贫奠定了基础。

1 资料与方法

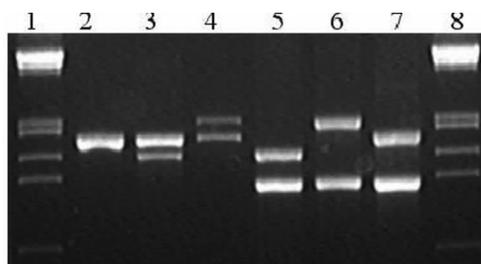
1.1 一般资料 选取 2013 年 1~12 月来本院就诊及常规体检人群共 28 633 例,其中男 15 560 例,女 13 073 例,1~96 岁,平均 37 岁。

1.2 方法

1.2.1 仪器初筛 采用日本 SYSMEX XE-2100 全自动血细胞分析仪及其原装配套试剂对样本进行红细胞参数检测,初筛出红细胞平均容积(MCV) <80 fL 和(或)红细胞平均血红蛋白量(MCH) <27 pg,进行血红蛋白电泳分析。再对血红蛋白(HbA₂) $\geq 3.5\%$ 和(或)胎儿血红蛋白(HbF) $>2\%$ 作为 β 地贫基因检测对象,对血红蛋白(HbA₂) $\leq 2\%$ 和(或)胎儿血红蛋白(HbF) $<2\%$ 作为 α 地贫基因检测对象。

1.2.2 基因诊断 地贫基因检测试剂采用深圳亚能生物有限公司的地贫基因诊断试剂盒,以 Gap-PCR 方法诊断中国人群常见的 3 种缺失型 α 地贫基因突变类型,见图 1。以反向斑点杂交(RDB)方法诊断中国人群常见及部分罕见的 17 种 β 地贫基因突变类型,其突变位点及探针序列见图 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据整理及分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。



1、8 λ DNA/HindIII+EcoRI;
2 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$; 3 $\alpha\alpha/\alpha^4.2$;
4 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$; 5 $-\alpha^{4.2}/--^{SEA}$;
6 $-\alpha^{3.7}/--^{SEA}$; 7 $\alpha\alpha/--^{SEA}$ 。

图 1 不同类型 α 地贫电泳图谱

2 结 果

2.1 红细胞 MCV、MCHC 参数分析 在 28 633 例样本中，初筛出 MCV<80 fL 和(或)MCH<27 pg 者 1 664 例(5.81%)，其中仅 MCV<80 fL 者 245 例(0.86%)，MCH<27 pg 者 370 例(1.29%)，MCV<80 fL 且 MCH<27 pg 者 1 049 例(3.66%)。

2.2 血红蛋白电泳分析 对以上可疑地贫 1 664 例行血红蛋白电泳分析，筛查出 1605 例(5.61%)HbA2 或 HbF 异常并符合基因检测条件的样本。其中符合血红蛋白(HbA2) $\leq 2\%$ 和(或)胎儿血红蛋白(HbF) $< 2\%$ 的 α 地贫筛查指标者共 749 例(2.62%)，符合血红蛋白(HbA2) $\geq 3.5\%$ 和(或)胎儿血红蛋白(HbF) $> 2\%$ 的 β 地贫筛查指标者共 856 例(2.99%)。

2.3 地贫基因分析

2.3.1 基因携带率 将以上 1 605 例地贫表型阳性者做基因检测，共有 1 358 例(4.75%)确诊为地贫，确诊率为 84.61%。其中确诊 α 地贫 589 例(2.06%)， β 地贫 741 例(2.59%)， α 地贫复合 β 地贫双重杂合子 28 例(0.097%)。

2.3.2 基因构成比 α 地贫中以 $\alpha\alpha/--^{SEA}$ (1.38%) 所占比例最高，其次为 $-\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ (0.37%) 和 $\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$ (0.20%)， β 地贫中以 CD41-42 (1.27%) 构成比最高，其次分别为 IVS-2-654 (0.69%) 和 CD17(0.30%) 型，见表 1。

表 1 各地贫基因突变类型及构成比

地贫类型	基因突变类型	n	构成比(%)
α 地贫	$\alpha\alpha/--^{SEA}$	396	1.380
	$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$	106	0.370
	$\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$	57	0.200
β 地贫	$-\alpha^{3.7}/--^{SEA}$	11	0.038
	$-\alpha^{4.2}/--^{SEA}$	8	0.027
	$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$	11	0.038
	CD41-42	365	1.270
	IVS-2-654	198	0.690
	CD17	88	0.300
	-28	55	0.190
	CD27-28	5	0.017
	CD14-15	7	0.018
	CD71-72	3	0.016
IVS-1-1	4	0.017	

续表 1 各地贫基因突变类型及构成比

地贫类型	基因突变类型	n	构成比(%)
α/β 地贫	IVS-1-5	2	0.014
	CD43	2	0.014
	-29	3	0.016
	initiation Codon	5	0.017
	CAP+1	2	0.014
	CD31	2	0.014
	复合型	28	0.097

2.4 不同地区地贫携带率分布 不同地区间地贫携带率以忠县(5.25%)最高。万州区 α 地贫与 β 地贫携带率比较差异有统计学意义($P<0.01$)，见表 2。

表 2 不同地区地贫携带率分布

地区	调查数 (n)	电泳数 (n)	地贫携带率[n(%)]		合计 [n(%)]
			α 地贫	β 地贫	
万州区	16 975	838	335(1.97)*	426(2.50)	776(4.47)
开县	3 836	209	83(2.16)	96(2.50)	182(4.66)
云阳县	3 632	199	73(2.00)	92(2.53)	167(4.53)
忠县	1 326	115	34(2.56)	49(2.69)	85(5.25)
奉节县	1 529	117	39(2.55)	48(2.11)	89(4.66)
巫山县	435	46	10(2.29)	13(2.31)	24(4.60)
梁平县	391	42	6(1.53)	7(1.55)	14(3.08)
其他	509	39	9(1.77)	10(1.79)	21(3.56)
合计	28 633	1 605	589(2.06)	741(2.58)	1 358(4.75)

* : $P<0.01$ ，与 β 地贫携带率比较。

3 讨 论

地贫是一组以珠蛋白肽键合成量不足或缺失为特征的疾病，是我国最常见的一种遗传性疾病，在华南地区尤为多见，呈现明显的南高北低趋势。由于三峡库区蓄水导致水位上升，生态环境发生了较大改变，渝东北区成为了类似海洋气候的特殊地理区域，目前尚无该区域地贫发病率统计和基因类型报道。本院作为库区医疗中心，接诊了大量周边区县患者，该调查能较直观的反映库区内各区县间的地贫发生率及特点。本研究以忠县发病率较高(5.25%)，其次为奉节、开县、万州等地区。本次调查因立足于本院，在外来区县的病例收集上有局限性，亦可能导致了结果差异。

本研究发现渝东北区地贫总携带率为 4.75%，其中 α 地贫为 2.06%， β 地贫为 2.59%，略高于重庆市的整体发病率^[5]，但与王莉等^[6]、姚秀云等^[7] 的报道基本一致。 α 地贫大多以基因缺失所致，少数为点突变。其中最常见 3 种缺失型为东南亚缺失型、右缺失型($-\alpha^{3.7}$) 和左缺失型($-\alpha^{4.2}$)。其发病率依次为 $-\alpha^{SEA}$ (1.38%)、 $-\alpha^{3.7}$ (0.37%)、 $-\alpha^{4.2}$ (0.20%)，三者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

β 地贫的发生为编码 11 号染色体上的两个 β 珠蛋白基因发生了碱基置换、缺失或插入。本研究发现渝东北区 β 地贫突变类型以 CD41-42(1.27%) 最多，其次是 IVS-2-654(0.69%) 和 CD17(0.30%)，占到全部突变类型的 2.26%。其因突变类型与广东、广西、海南等报道基本一致^[8]，与贵(下转第 757 页)

度,有助于提高早期卵巢癌的检出率,对卵巢癌诊断及筛查具有较高的临床应用价值。

参考文献

[1] Schwartz PE, Taylor KJ. Is early detection of ovarian cancer possible? [J]. *Ann Med*, 1995, 27(5): 519-528.

[2] Munkarah A, Chatterjee M, Tainsky MA. Update on ovarian cancer screening[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2007, 19(1): 22-26.

[3] Fritsche HA, Bast RC. CA125 in ovarian cancer: advances and controversy[J]. *Clin Chem*, 1998, 44(1): 1379-1380.

[4] 张春艳. 卵巢癌患者手术治疗前后血清 CA125、Hcy 和 HE4 检测的临床意义[J]. *放射免疫学杂志*, 2012, 25(4): 406-408.

[5] Hellström I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(13): 3695-3700.

[6] Smale ST. Transcription initiation from TATA-less promoters within eukaryotic protein-coding genes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1351(1/2): 73-88.

[7] Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, et al. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(6): 2162-2169.

[8] 胡晓丹, 崔丽艳, 张捷. 健康人群血清 HE4 水平参考区间的初步探讨[J]. *中华检验医学杂志*, 2009, 32(12): 1376-1378.

[9] 刘国瑞, 王艾丽, 刘琦, 等. 联合检测血清 CA125 和 HE4 用于卵巢癌诊断及鉴别[J]. *临床检验杂志*, 2010, 28(2): 119-121.

[10] Kjeldsen T, Clausen H, Hirohashi S, et al. Preparation and characterization of monoclonal antibodies directed to the tumor-associated

utedo-tinkedsialosyl-2-6a-nacetylglactosaminyl (sialosyl-Tn) epitope[J]. *Cancer Res*, 1988, 48(8): 2214-2220.

[11] 郭少磊, 高美华, 李武伦. CA125、CA72-4 的检测在卵巢癌早期诊断中的临床价值[J]. *中国医疗前沿*, 2008, 3(6): 26-27.

[12] 王越, 牛秀琰, 郭小芹, 等. 卵巢癌细胞 IL-6、IL-8 分泌与其化疗敏感性及耐药相关基因和凋亡抑制基因表达关系的初步探讨[J]. *免疫学杂志*, 2009, 25(4): 436-441.

[13] 黄文成, 黄玲莎, 赵惠柳, 等. 联合检测血清 CA125 和 CA72-4 对卵巢癌诊断的价值[J]. *海南医学*, 2005, 16(7): 152-153.

[14] 罗兵, 董秋萍, 李涛, 等. HE4、CA125、CA72-4、CA153、CA19-9、CYFRA21-1、TSH 在妇科肿瘤诊断中的评价[J]. *安徽医科大学学报*, 2012, 47(1): 71-74.

[15] 鄢盛恺. 美国临床生化科学院检验医学实践指南: 睾丸、前列腺、结直肠、乳腺及卵巢癌肿瘤标志物的应用[J]. *临床检验杂志*, 2012, 30(2): 139-144.

[16] 宋佐莉, 刘树业, 丁贤. 血清 CA125、CA72-4 和 CA199 联合检测对卵巢癌的诊断价值[J]. *临床和实验医学杂志*, 2007, 6(11): 32-33.

[17] 高自颖, 甄拴平, 刘婷, 等. 血清 HE4、CA125 与 TSGF 联合检测在卵巢恶性肿瘤诊断中的应用研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2011, 26(6): 55-57.

[18] 姚艳霞, 洪伟. 血清 HE4、CA125 和 CA724 检测在卵巢恶性肿瘤诊断中的应用[J]. *标记免疫分析与临床*, 2012, 19(3): 149-152.

[19] 张建民. WHO 新的卵巢癌肿瘤组织学分类特点[J]. *中华病理杂志*, 2002, 31(2): 175-178.

(收稿日期: 2014-11-18)

(上接第 754 页)

阳地区报道明显不同^[9]。这可能与贵州以少数民族为主,不同的地理环境及人文构成、生活习惯等有关。

本组调查人群中经红细胞参数测定和血红蛋白电泳筛查后符合地贫基因检测条件者 5.61%, 确诊率为 84.61%。其中符合 α 地贫基因检测条件者 2.62%, 确诊率为 78.64%, 符合 β 地贫基因检测条件者 2.99%, 确诊率为 86.57%。符合率较低可能与以下因素有关, 如单纯 HbF 升高常不能作为诊断 β 地贫基因携带者的依据且截断值大于 3.3%, 与其他研究结果相比偏低。 α 地贫的静止型和轻型患者临床上几乎没有任何表现, 血常规、Hb 电泳也可以没有异常发现, 临床上常常易漏诊、误诊, 更需要依赖基因诊断来确诊。但总体来说, 红细胞指数分析结合血红蛋白电泳检测, 尤其是 MCV、MCH 和 HbA2 定量检测仍是地贫筛查的可靠血液学指标。

本调查采用单管多重跨越断裂点的 gap-PCR 技术检测中国人 3 种常见的缺失型 α 地贫突变, β 地贫以反向点杂交法测定中国人 17 种常见 β 地贫点突变。由于未对所有的标本进行分子筛查, 可能会漏检极少量的静止型地贫样本, 因此实际总携带率要稍高于统计的地贫携带率。本次调查反映出渝东北区是地贫的高发区, 具有较高的基因携带率, 提示本地区应做好筛查和防治。随着库区环境进一步改变及移民搬迁的影响, 其地贫的发生及发展亦可能会受到一定的影响。

这次关于渝东北区人群地贫发病率的研究结果, 弥补了重庆三峡地区蓄水后, 该地区地贫资料方面的空白, 对于指导临床诊断、地贫的遗传咨询和产前诊断提供了有价值的基础资料。

参考文献

[1] Rund D, Rachmilewitz E. Beta-thalassemia [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(11): 1135-1146.

[2] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of α and β thalassaemia in Guangdong Province: implications for the future health burden and population screening [J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(1): 517-522.

[3] Xiong F, Sun M, Zhang X, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China [J]. *Clin Genet*, 2010, 78(2): 139-148.

[4] 陈萍. α 地中海贫血分子基础与临床研究现状[J]. *广西医学*, 2004, 26(5): 619-622.

[5] 全国血红蛋白病研究协作组. 20 省市自治区 60 万人血红蛋白病调查 [J]. *中华医学杂志*, 1983, 63(1): 382-385.

[6] 王莉, 徐西华. 重庆地区 α 地中海贫血基因型研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2009, 34(8): 1051-1053.

[7] 姚秀云, 张渝美. 重庆市汉族儿童 β -地中海贫血的分子流行病学研究 [J]. *中华儿科杂志*, 2013, 51(7): 518-523.

[8] 仇小强, 陈萍, 张凝, 等. 广西三城市 7 岁以下儿童 β 地中海贫血发生率及其基因突变类型的研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2009, 30(1): 1021-1024.

[9] 喻芳, 钟春刑, 周强, 等. 贵州少数民族地区 β 地中海贫血的分子流行病学研究 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2010, 27(2): 700-703.

(收稿日期: 2014-10-15)