

• 论 著 •

台山地区珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型分析

陈 迪, 吴 瑛

(台山市第二人民医院检验科, 广东台山 529224)

摘要:目的 了解台山地区珠蛋白生成障碍性贫血(又称地中海贫血,地贫)患者基因突变类型及构成,为该地区地贫的防治提供依据。方法 选取 2014 年 1~12 月来该院进行地贫基因检测的患者 1 383 例,采用 PCR 技术与膜杂交法检测 α 、 β 基因。结果 1 383 例研究对象有 595 例基因确诊为地贫,阳性率为 43.02%。其中 α 地贫 386 例,占 27.91%; β 地贫 183 例,占 13.23%; $\alpha\beta$ 复合型地贫 26 例,占 1.88%。 α 地贫以 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 为主(64.25%); β 地贫以 β^{11-42}/β 型为主(28.42%); $\alpha\beta$ 复合型地贫基因以 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 与 β^{11-42}/β 复合型最为常见(19.23%)。结论 台山市地处地贫高发地区,对育龄人群进行地贫基因诊断对降低该地区地贫患儿的出生率具有重要意义。

关键词:珠蛋白生成障碍性贫血; 基因突变; 构成比

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.08.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)08-1067-03

Gene mutation type analysis of thalassemia in Taishan area

Che Di, Wu Ying

(Department of Clinical Laboratory, the 2nd People's Hospital of Taishan, Taishan, Guangdong 529224, China)

Abstract: Objective To learn the gene mutation type and prevalence of thalassemia in the Taishan area and to provide basis for the prevention and treatment of local thalassemia. **Methods** 1 383 patients who visited the hospital for thalassemia genetic test from January to December 2014 were enrolled for this study. α - and β - genes were determined by using PCR and membrane hybridization methods. **Results** Of the 1 383 patients, 595 were diagnosed with thalassemia (positive rate was 43.02%), including 386 cases (27.91%) of α -thalassemia, 183 cases (13.23%) of β -thalassemia and 26 cases (1.88%) of $\alpha\beta$ -thalassemia. $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ (accounted for 64.25%) was the major genotype of α -thalassemia, the major genotype of β -thalassemia was β^{11-42}/β (accounted for 28.42%), and $-\text{SEA}/\alpha\alpha, \beta^{11-42}/\beta$ was the major genotype of $\alpha\beta$ -thalassemia (accounted for 19.23%). **Conclusion** Taishan is located in a high risk area of thalassemia, it is of great significance to perform genetic diagnosis of thalassemia among reproductive population so as to reduce the birth rate of children with thalassemia in the area.

Key words: thalassemia; gene mutation; constituent ratio

珠蛋白生成障碍性贫血又称为地中海贫血(以下简称地贫)是一种危害极大的常染色体隐性遗传的血红蛋白疾病。在我国,地贫多发生于长江以南地区,尤其是广东、广西、海南三地^[1-2],该病在广东已被列为重点防治疾病之一。广东省人群 α 及 β 地贫基因携带率高达 11.07%,其中 α 地贫基因携带率为 8.53%, β 地贫基因携带率为 2.54%。台山市位于珠三角地区腹地,针对本地区地贫基因携带研究一直处于空白地带。本研究对 2014 年 1~12 月的 1 383 例地贫基因检查结果进行了分析,旨在掌握本地区地贫基因携带特点,为本地区地贫的防范及治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1~12 月来本院进行地贫基因检测的患者 1 383 例,其男 500 例、女 883 例,平均年龄为 23 岁。

1.2 仪器与试剂 检测仪器为 ABI 7300 型实时荧光定量 PCR 仪, α 与 β 地贫基因检测试剂盒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 研究对象采用无菌抗凝管(EDTA 抗凝剂)

抽取静脉血 2 mL,混匀。标本采集后立即送检,4 °C 保存不超过 3 d,未及时检测的标本置 -20 °C 保存待测。

1.3.2 标本的检测 采用 PCR 与膜杂交法检测中国人常见的 3 种缺失型 α 地贫 ($-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$), 2 种突变型 α 地贫 (CS、QS) 及 11 种突变型 β 地贫 (CD41-42、CD43、IVS II-654、CD17、CD14-15、-28、-29、CD71-72、 β^E 、IVS I-1、CD27-28)。

1.3.3 操作步骤 (1)DNA 分离提取:取抗凝血 200 μL ,提取 DNA 浓度为 20~40 ng/ μL , A_{260}/A_{280} 的值为 1.5~2.5,吸取 3~6 μL 抽提好的 DNA 标本作为模板进行 PCR 扩增, α 、 β 地贫试验各设置阴性对照。(2)PCR 扩增:将配制好的扩增试剂充分混匀,8 000 r/min 离心 1 min,向设定的 n 个 PCR 反应管中分别加入配制好的扩增试剂(α 地贫加入 44 μL , β 地贫加入 47 μL),转移到样品处理区;在对应的 PCR 反应管中分别加入处理好的样品 DNA(20~40 ng/ μL)。 α 地贫扩增试剂中每份样品加入 6 ng DNA,阴性对照加入 6 μL 纯水。 β 地贫扩增试剂中每份样品加入样品 DNA 3 μL ,阴性对照加入 3 μL 纯水,盖紧管盖,8 000 r/min 离心 1 min。以 ABI 7300 型实时荧光定量 PCR 仪进行扩增。(3)PCR 产物杂交的操作按试剂盒

说明书进行。

1.3.4 结果判断 (1)阴性对照检测结果膜条无草蓝紫色斑点出现;(2)若在突变或缺失检测探针处出现显色强度与相应的正常对照探针相近的蓝紫色斑点,则该点为地贫突变或缺失的杂合子;(3)若在突变或缺失检测探针处出现蓝紫色斑点,而相应的正常对照探针处未出现蓝紫色斑点,则该位点为地贫突变或缺失的纯合子;(4)若仅正常对照探针处出现蓝紫色,则待检样品没有上述 16 种地贫突变或缺失。见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2 结 果

2.1 一般情况 1 383 例进行基因检测的患者中,595 例为地贫,阳性率为 43.02%。其中 α 地贫 386 例,占 27.91%; β 地贫 183 例,占 13.23%; $\alpha\beta$ 地贫双重杂合子 26 例,占 1.88%。

2.2 α 地贫基因突变类型及构成比 386 例 α 地贫中,大部分为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 型,占 64.25%;其次为 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$,占 18.13%。各基因类型及构成比见表 1。

表 1 386 例 α 地贫基因突变类型及构成比

基因类型	n	构成比(%)
$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	2	0.52
$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$	1	0.26
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	70	18.13
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	32	8.29
$\alpha\alpha^{cs}/\alpha\alpha$	11	2.85
$\alpha\alpha^{qs}/\alpha\alpha$	9	2.33
$\alpha\alpha^{ws}/\alpha\alpha$	7	1.81
$-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$	6	1.55
$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	248	64.25

2.3 β 地贫基因突变类型及构成比 183 例 β 地贫研究对象进行基因分型,大部分为 β^{11-42}/β 型,占 28.42%,其次为 β^{654}/β 型,占 28.42%。各基因类型及构成比见表 2。

表 2 183 例 β 地贫基因突变类型及构成比

基因类型	n	构成比(%)
β^{-17}/β	19	10.38
β^{27-28}/β	1	0.55
β^{-28}/β	24	13.11
β^{-29}/β	4	2.19
β^{11-42}/β	73	39.89
β^{13}/β	3	1.64
β^{654}/β	52	28.42
β^{71-72}/β	3	1.64
β^{EM}/β	1	0.55
β^E/β	2	1.09
β^{IVS1-1}/β	1	0.55

2.4 $\alpha\beta$ 复合型地贫基因突变类型及构成比 26 例 $\alpha\beta$ 复合型地贫患者进行基因分型, $-\text{SEA}/\alpha\alpha, \beta^{11-42}/\beta$ 复合型所占比例

最高,占 19.23%;其次为 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha, \beta^{11-42}/\beta$ 和 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha, \beta^{654}/\beta$ 复合型,各占 15.38%。各基因类型及构成比见表 3。

表 3 $\alpha\beta$ 复合型地贫基因突变类型及构成比

α 基因类型	β 基因类型	n	构成比(%)
$-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$	β^{17}/β	1	3.85
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	β^{17}/β	1	3.85
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	β^{-28}/β	2	7.69
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	β^{11-42}/β	4	15.38
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	β^{654}/β	4	15.38
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	β^{IVS1-1}/β	1	3.85
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	β^{-28}/β	1	3.85
$\alpha\alpha^{cs}/\alpha\alpha$	β^{-29}/β	1	3.85
$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	β^{27-28}/β	1	3.85
$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	β^{-28}/β	1	3.85
$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	β^{-29}/β	1	3.85
$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	β^{11-42}/β	5	19.23
$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	β^{654}/β	2	7.69
$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	β^{EM}/β	1	3.85

3 讨 论

地贫分为 α 型、 β 型、 $\delta\beta$ 型和 δ 型 4 种,其中以 β 和 α 地中海贫血较为常见。现阶段对于地贫尚无理想治疗方法,重在预防,产前地贫基因检测是降低地贫婴儿出生的重要手段。珠海市开展的大规模人群地贫预防控制计划,使 α 地贫患儿出生率年均下降达 30%^[3],现广东省已将地贫筛查列入婚前常规检查项目。

α 地贫主要由发生于 16 号染色体短臂末端 α -珠蛋白基因簇内 α 基因的缺失引起,少数由点突变引起。中国人群中 α 地贫主要以缺失型为主,常见类型有东南亚缺失型($-\text{SEA}$),右侧缺失型($-\alpha^{3.7}$)和左侧缺失型($-\alpha^{4.2}$)。本研究在 1 383 例人群中共检出 386 例 α 地贫患者。大部分 α 地贫为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 型,占 64.25%,其次为 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$,占 18.13%。说明本地区 α 地贫以 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 型为主,与国内同类研究结果相一致^[4-5]。如东南亚缺失型患者应对配偶也进行地贫筛查,避免因配偶为东南亚缺失型而有可能造成子代出现血红蛋白 H 病或 Bart's 水肿胎。

β 地贫主要发生在位于 11 号染色体短臂的 β 基因内的点突变引起,在我国 β 地贫基因突变类型有 34 种,本次研究检出的 183 例 β 地贫患者中大部分为 β^{11-42}/β 型,占 28.42%,其次为 β^{654}/β 型,占 28.42%,这与广东已有的报道一致^[6-7],可能与同一省基因分布变化不大有关系。

健康人的血红蛋白四聚体由 α 链和非 α 链合成平衡,维持红细胞正常功能与形态,地贫患者由于打破此平衡而引起贫血, $\alpha\beta$ 复合型地贫由于减轻了 α 和 β 珠蛋白链间的不平衡状态,因此其临床症状可不明显,但其携带致病基因如果传递给后代可造成重症患儿的出现。本次研究检出的 26 例 $\alpha\beta$ 复合型地贫基因患者中大部分为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha, \beta^{11-42}/\beta$ 复合型,占 19.23%;其次为 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha, \beta^{11-42}/\beta, -\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 和 β^{654}/β 复合

型,分别占 15.38%。由于地贫临床主要表现为慢性溶血性贫血,目前尚无有效的治疗方法^[8]。因此,通过婚前检查或产前诊断减少重型地贫患儿的出生是目前最为有效的预防措施。

近年来,胚胎植入前遗传学诊断(PGD)作为产前诊断的更早期方式,为高危地贫夫妇终止妊娠提供了更多的选择手段^[9]。PCR 技术是临床用于检测地贫的主要方法^[10],通过研究发现—— $SEA/\alpha\alpha, \beta^{41-42}/\beta$ 、—— $SEA/\alpha\alpha$ 与 β^{41-42}/β 是台山地区最常见的 α 和 β 地贫基因型,应作为重点监控对象,采取科学有效的预防措施,尽量减少地贫基因携带患儿或重型地贫儿的出生。

参考文献

[1] 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.
 [2] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province; implications for the future health burden and population screening[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5): 517-522.
 [3] 周玉球, 商璇, 尹保民, 等. 1998~2010 年珠海市地中海贫血大规模人群的遗传筛查和产前诊断结果分析[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(2): 90-95.
 [4] 王晶晶, 朱文彪, 黄霜, 等. 广州市 1 381 例育龄人群地中海贫血基

因谱分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(2): 5-7.
 [5] 刘爱胜, 陈荣贵, 文艳. 深圳宝安区地区孕妇地中海贫血和 G-6PD 缺乏现状调查研究分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(18): 1432-1433.
 [6] 杜丽, 尹爱华, 张彦, 等. 2 171 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.
 [7] 刘冬霞, 刘玉线, 黄美琼, 等. 广东省清远地区地中海贫血基因分型情况分析[J]. 中国医药科学, 2013, 3(11): 93-95.
 [8] 吕福通, 谢丹尼. 地中海贫血的相关研究进展[J]. 中国计划生育学杂志, 2013, 21(7): 490-494.
 [9] Kokkali G, Traeger-Synodinos J, Vrettou C, et al. Blastocyst biopsy versus cleavage stage biopsy and blastocyst transfer for preimplantation genetic diagnosis of beta-thalassaemia: a pilot study [J]. Hum Reprod, 2007, 22(5): 1443-1449.
 [10] Phylipsen M, Vogelaar IP, Schaap RA, et al. A new alpha(0)-thalassaemia deletion found in a Dutch family (-(AW)) [J]. Blood Cells Mol Dis, 2010, 45(2): 133-135.

(收稿日期: 2015-12-10)



(上接第 1066 页)

妇的管理分析[J]. 中国农村卫生事业管理, 2010, 30(6): 489-490.
 [6] 刘小军. 系统化综合护理干预对妊娠糖尿病患者血糖控制的效果[J]. 当代护士: 专科版, 2010, 17(11): 71-72.
 [7] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. Diabetes care, 2014, 37(Suppl 1): S81-90.
 [8] 关莉. 605 例妊娠期糖尿病患者实验室筛查结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(19): 2680-2681.
 [9] 李云云, 李莹, 林莲莲, 等. 糖尿病合并妊娠与妊娠期糖尿病妊娠结局的分析[J]. 实用医学杂志, 2005, 21(15): 1674-1676.
 [10] 关杰. 妊娠期糖尿病管理与妊娠糖尿病母儿结局的临床分析[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(19): 2643-2644.
 [11] 李荣. 妊娠期糖尿病的母亲并发症临床分析[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(10): 76-77.
 [12] 杨慧霞. 妊娠期糖尿病新诊断标准应用后面临的问题[J]. 中国妇产科临床杂志, 2012, 13(3): 161-162.
 [13] 王晓燕. 510 例妊娠期糖尿病检查方法临床分析[J]. 中国实用医刊, 2014, 41(6): 83-85.

[14] 王欣蓉. 妊娠早期空腹血糖测定结果回顾性分析[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(11): 1517-1518.
 [15] 张小平, 余海珍, 付超. 1 849 例孕妇妊娠期糖尿病筛查结果临床分析[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(4): 59-61.
 [16] 赵伟, 王建华, 苗汝娟. 初孕年龄与妊娠期糖尿病发病率关系的流行病学研究[J]. 中国慢性病预防与控制, 2003, 11(1): 5-6.
 [17] 时春艳, 杨慧霞, 董悦, 等. 对 8 665 例孕妇行妊娠期糖尿病筛查的临床研究[J]. 中华妇产科杂志, 2003, 38(3): 136-139.
 [18] 车荣华. 妊娠期糖尿病空腹血糖筛查的意义及其对妊娠结局的影响[J]. 国际妇产科学杂志, 2012, 39(4): 376-379.
 [19] 王蓉. 妊娠糖尿病患者的孕期护理干预[J]. 安徽医学, 2009, 30(8): 962-963.
 [20] 李海素, 狄英波, 谭冲, 等. 妊娠期糖尿病孕期干预与妊娠结局关系的研究[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(3): 357-358.
 [21] 李艳萍, 李萍, 郭敏敏, 等. 妊娠期糖尿病筛查、干预与妊娠结局[J]. 中国妇幼保健, 2009, 24(29): 4080-4082.

(收稿日期: 2015-11-04)

总体与样本

根据研究目的确定的同质研究对象的全体(集合)称为总体,包括有限总体和无限总体。从总体中随机抽取的部分观察单位称为样本,样本包含的观察单位数量称为样本含量或样本大小。如为了解某地区 10~15 岁儿童血钙水平,随机选取该地区 3 000 名 10~15 岁儿童并进行血钙检测,则总体为该地区所有 10~15 岁儿童的血钙检测值,样本为所选取 3 000 名儿童的血钙检测值,样本含量为 3 000 例。类似的研究需满足随机抽样原则,即需要采用随机的抽样方法,保证总体中每个个体被选取的机会相同。