

• 临床研究 •

# 莆田市 191 例珠蛋白生成障碍性贫血基因型研究

俞柳敏<sup>1</sup>, 林 华<sup>1</sup>, 张秋燕<sup>1</sup>, 张艳艳<sup>1</sup>, 陈元星<sup>2</sup>

(1. 莆田学院附属医院, 福建莆田 351100; 2. 福建省莆田市城厢区医院 351100)

**摘要:**目的 了解莆田市珠蛋白生成障碍性贫血基因分布情况。方法 采用 PCR 结合基因芯片技术检测 405 例珠蛋白生成障碍性贫血疑似携带者。结果 在 405 例疑似珠蛋白生成障碍性贫血携带者中确诊 191 例, 其中  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血 114 例,  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血 74 例,  $\alpha\beta$  复合珠蛋白生成障碍性贫血 3 例。3 种常见的  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血基因型是--SEA、 $-\alpha 3.7$ 、 $-\alpha 4.2$ , 突变频率分别是 72.8%、15.8%、2.6%。最常见的  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血基因型是 IVS-II-654/N、CD41-42/N 和 CD17/N, 突变频率分别是 54%、21.6% 和 13.5%。检测还发现了 5 种复合型珠蛋白生成障碍性贫血基因。结论 该次研究阐明莆田市珠蛋白生成障碍性贫血基因型和分布情况, 为莆田市开展珠蛋白生成障碍性贫血遗传咨询和产前诊断提供依据。

**关键词:** 珠蛋白生成障碍性贫血; 基因分型; 基因诊断

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.15.040

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2016)15-2154-02

珠蛋白生成障碍性贫血是一组单基因遗传性慢性溶血性疾病。珠蛋白生成障碍性贫血是由红细胞血红蛋白的珠蛋白肽链基因缺失或突变, 导致珠蛋白肽链的合成抑制、失衡, 引起无效造血和溶血。珠蛋白生成障碍性贫血分为  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血和  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血两类。 $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血主要分布于东南亚、中国南方和少数非洲地区,  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血主要分布于地中海地区、中东、印巴地区和中国南方地区。珠蛋白生成障碍性贫血具有严重的致死和致残性, 需要长期、昂贵的治疗, 给家庭带来沉重的精神负担和经济负担。为了解莆田市珠蛋白生成障碍性贫血基因分布情况, 本院对 405 例疑似珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者进行基因诊断。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 选择 2014 年 1 月至 2015 年 12 月在本院进行珠蛋白生成障碍性贫血基因检测的 405 例疑似携带者, 其中男 63 例、女 342 例, 年龄 1 个月至 83 岁。

## 1.2 方法

**1.2.1 基因提取** 抽取乙二胺四乙酸二钾 (EDTA-K<sub>2</sub>) 抗凝外周血 2 mL, 采用潮州凯普公司提供的基因提取试剂盒提取 DNA。

**1.2.2 珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断** 采用潮州凯普公司提供检测试剂盒对标本进行基因诊断。扩增仪采用 ABI 7500。 $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血采用 Gap-PCR 技术扩增,  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血采用一般 PCR 技术扩增。扩增产物经反向点杂交法 (RDB) 杂交, 通过酶促反应判读结果。同步检测 3 种缺失型  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血 (--SEA、 $-\alpha 3.7$ 、 $-\alpha 4.2$ )、3 种突变型  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血 (CS、QS、WS)、15 种基因型  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血 (IVS-II-654、-28、-29、CD14-15、CD17、CD27-28、 $\beta E$ 、CD41-42、CD43、CD71-72、IVS-I-1、IVS-I-5、Cap、Int、CD31)。

## 2 结果

**2.1 检测结果** 405 例疑似携带者经过基因诊断, 确诊 191 例, 检出率为 47.2%。其中  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血 114 例 (59.7%),  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血 74 例 (38.7%),  $\alpha\beta$  复合珠蛋白生成障碍性贫血 3 例 (1.6%)。首次在莆田市发现 1 例三重杂合子珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者。

**2.2  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血基因型检测结果** 114 例  $\alpha$  珠

蛋白生成障碍性贫血患者中最常见的基因型是--SEA, 其次是  $-\alpha 3.7$ 。各种基因突变型及突变频率见表 1。双重  $\alpha$  杂合子检出 4 例, 基因型分别为  $-\alpha 3.7$ /--SEA 和  $-\alpha 4.2$ /--SEA。检出  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血纯合子 1 例。

**2.3  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血基因型检测结果** 74 例  $\beta$  基因携带者中基因突变频率为 38.7%。具体各基因型及突变频率见表 2。未检出  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血纯合子和双重  $\beta$  杂合子。

**2.4  $\alpha\beta$  复合珠蛋白生成障碍性贫血基因型检测结果** 检出 3 例 (1.6%)  $\alpha\beta$  复合珠蛋白生成障碍性贫血患者。 $-\alpha 3.7$ / $\alpha\beta$ -28、和--SEA/ $\alpha\beta$ -28 各检出 1 例。检出莆田市首例三重杂合子, 基因型为  $-\alpha 4.2$ / $\alpha\beta E$ /CD41-42, 为国内罕见基因型。

表 1  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血基因型及突变频率

基因型	n	突变频率 (%)
--SEA/ $\alpha\alpha$	83	72.8
$-\alpha 3.7$ / $\alpha\alpha$	18	15.8
$-\alpha 4.2$ / $\alpha\alpha$	3	2.6
$\alpha QS\alpha$ / $\alpha\alpha$	3	2.6
$\alpha WS\alpha$ / $\alpha\alpha$	2	1.8
$-\alpha 3.7$ /--SEA	2	1.8
$-\alpha 4.2$ /--SEA	2	1.8
$-\alpha 3.7$ / $-\alpha 3.7$	1	0.8
合计	114	100.0

表 2  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血基因型及突变频率

基因型	n	突变频率 (%)
IVS-II-654/N	40	54.0
CD41-42/N	16	21.6
CD17/N	10	13.5
-28/N	4	5.4
$\beta E$ /N	2	2.7
CD27-28/N	1	1.4
IVS-I-1/N	1	1.4
合计	74	100.0

### 3 讨 论

珠蛋白生成障碍性贫血是中国南方危害最大的遗传病之一,发病率全球第 3。 $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血是由于位于 16 号染色体上的  $\alpha$  珠蛋白基因缺失或突变使  $\alpha$  珠蛋白合成受抑制,造成  $\alpha$  链减少,过剩的  $\beta$  链在红细胞内沉积,使红细胞变形性降低,红细胞破坏增多。 $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血是由于位于 11 号染色体上的  $\beta$  珠蛋白基因突变导致  $\beta$  珠蛋白合成受抑制,过剩的  $\alpha$  链在红细胞内沉积导致红细胞过度被破坏。

本研究显示莆田市  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血基因构成前 3 位是--SEA、- $\alpha$ 3.7、- $\alpha$ 4.2,这与我国广东、广西、四川、重庆等地报道一致<sup>[1-4]</sup>。莆田市  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血基因构成前 3 位分别是 IVS-II-654/N、CD41-42/N 和 CD17/N。国内其他地区  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血的主要 3 种基因型也相同,但是在排序上有不同,体现出  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血较  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血有更明显的地区差异性和遗传异质性。同时发现在福建省内,IVS-II-654/N 是最主要的  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血基因型<sup>[5-7]</sup>。

本次研究发现在疑似携带者中珠蛋白生成障碍性贫血的检出率为 47.2%,很大比例的疑似携带者珠蛋白生成障碍性贫血基因检测为阴性。原因有:(1)是本次珠蛋白生成障碍性贫血筛查主要手段为血常规检测,判断筛查阳性的标准为血红蛋白(Hb) $<110$  g/L,红细胞平均血红蛋白量(MCH) $<27$  pg,红细胞平均体积(MCV) $<80$  fL。符合这种血常规结果的疾病不只有珠蛋白生成障碍性贫血,还有缺铁性贫血、铁粒幼细胞贫血、慢性病贫血等。(2)是检测范围有限,只能检测已知基因型,少见或未知基因型不能检出。Galehdari 等<sup>[8]</sup>用基因测序技术在伊朗发现 42 种  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血基因型,远高于本研究采用方法所能检测的 15 种基因型。基因测序技术能检测更多的珠蛋白生成障碍性贫血基因型,但是实验要求条件高,检测费用高,目前还难以在临床广泛使用。

本次研究病例中,进行珠蛋白生成障碍性贫血基因检测的人群主要是育龄妇女和儿童,成年男性和老年男女性别较少。由此可见,经过多年在妇幼保健系统中的推广及经验交流,妇产

• 临床研究 •

科医生和儿科医生对血常规存在异常的病例警惕性较高。由于没有莆田市珠蛋白生成障碍性贫血方面的流行病学调查数据支持,其他普通专科医生的珠蛋白生成障碍性贫血防治观念淡薄。珠蛋白生成障碍性贫血预防相关知识急需进一步普及和推广,以减少珠蛋白生成障碍性贫血的漏诊。

### 参考文献

- [1] 刘富华,贾艺聪,陈洁晶,等. 广西地区 13 589 例地中海贫血筛查结果及基因突变类型分析[J]. 临床血液学杂志, 2015,28(6):966-969.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 王霞,江虹,贾劲,等. 四川地区人群地中海贫血的筛查及基因分析[J]. 生物医学工程学杂志, 2011,28(1):135-137.
- [5] 成明,李健,郭奇伟,等. 厦门地区 3 715 例地中海贫血基因检测结果分析[J]. 中国妇幼保健, 2015,30(12):1870-1872.
- [6] 黄海龙,徐两蒲,林娜,等. 福州地区 153 例地中海贫血基因突变类型、频率及产前诊断研究[J]. 海峡预防医学杂志, 2009,15(4):1-3.
- [7] 吴琦嫦,周裕林,江雨,等. 厦门地区  $\beta$  地中海贫血基因突变类型及产前基因诊断研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2007,15(12):25-26.
- [8] Galehdari H, Salehi B, Azmoun S, et al. Comprehensive spectrum of the  $\beta$ -Thalassemia mutations in Khuzestan, southwest Iran[J]. Hemoglobin, 2010,34(5):461-468.

(收稿日期:2016-01-28 修回日期:2016-05-26)

## 骨髓细胞髓过氧化物酶染色质控体系的建立

蒋朝晖,邱先艳,余红岚<sup>△</sup>

(贵阳市第一人民医院检验科 550002)

**摘要:**目的 探讨自制乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝正常外周静脉血片作为骨髓细胞髓过氧化物酶(MPO)染色阳性对照的可能性,初步建立 MPO 染色的质控体系。方法 选取 EDTA 抗凝的正常外周静脉血制成 200 张血片,分为不固定组和固定组(95%乙醇固定),每隔 15 d 各组取 10 张血片进行 MPO 染色,观察其阳性率和积分变化。结果 血片中 MPO 酶活性随着时间推移而减弱,经 95%乙醇固定后,其阳性率能维持 90 d 左右;而 MPO 阳性积分一直随时间推移而减低,且固定组与不固定组差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 可选用自制 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝正常外周静脉血片经 95%乙醇固定后作为 MPO 染色的阳性对照,其有效期约为 90 d。

**关键词:**骨髓细胞; 髓过氧化物酶染色; 外周静脉血; 阳性对照; 质控体系

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.15.041

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)15-2155-03

目前临床主要依靠骨髓细胞形态学(M)、细胞免疫学(I)、细胞遗传学(C)和分子生物学(M)联合方法(MICM 分型)对

白血病进行诊断和分型<sup>[1]</sup>。但部分基层医院受到设备及技术水平的限制,对于白血病的初步诊断还主要依靠形态学。由于

<sup>△</sup> 通讯作者,E-mail:123900828@qq.com。