

• 调查报告 •

云南德宏地区傣族人群珠蛋白生成障碍性贫血社区群体筛查和基因诊断结果分析

葛世军¹, 禹崇飞¹, 禹祖祥¹, 陈祖聪², 尹兆清²

(德宏州医疗集团人民医院: 1. 检验科; 2. 儿科, 云南芒市 678400)

摘要:目的 了解该地区傣族人群珠蛋白生成障碍性贫血(Thal)患病率和基因缺失突变类型。方法 对 710 例傣族人群进行红细胞指数、微量血红蛋白(Hb)电泳、HbA2 定量检测初筛,以聚合酶链反应(PCR)和反向点杂交技术鉴定 β -Thal 基因突变类型,以跨越断裂位点 PCR(GAP-PCR)技术和凝胶电泳鉴定 α -Thal 基因缺失类型。结果 α -和 β -Thal 检出率分别为 25.35% (180/710)、14.51% (103/710), β -Thal 复合 α -Thal 检出率为 29.13% (30/103)。结论 该地区傣族人群 Thal 检出率较高,应积极制订有效的干预和控制措施,降低 Thal 患儿的出生率。

关键词:珠蛋白生成障碍性贫血; 流行病学; 基因诊断; 血红蛋白电泳; 傣族

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.06.038

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)06-0717-02

Gene diagnostication and screening of thalassemia of Dai Nationality in Dehong Yun'nan

Ge Shijun¹, Yu Congfei¹, Yu Zuxiang¹, Chen Zucong², Yin Zhaoqing²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Paediatrics, People's Hospital of Dehong Medical Group, Mangshi Yun'nan 678400, China)

Abstract: Objective To investigate the incidence ratio and mutation type of thalassemia(Thal) of Dai Nationality in this region. **Methods** 710 cases of subjects of Dai Nationality were enrolled and screened for red blood cell parameters, micro-dosage hemoglobin(Hb) electrophoresis and HbA2 quantitation. β -Thal mutation genotypes were identified through polymerase chain reaction(PCR) and reverse dot-blotting hybridization. α -Thal gene deletion were diagnosed by GAP-PCR and gel electrophoresis. **Results** Detection rates of α - and β -Thal were 25.35% (180/710) and 14.51% (103/710) respectively, of β -Thal combined with α -Thal was 29.13% (30/103). **Conclusion** The detection rate of Thal might be relatively high in Dai Nationality in this region. Effective intervention and control should be strengthened for decreasing the birth rate of child patient with Thal.

Key words: thalassemia; epidemiology; gene diagnosis; hemoglobin electrophoresis; Dai nationality

珠蛋白生成障碍性贫血(thalassemia, Thal)是因常染色体隐性遗传而导致某类珠蛋白生成受抑而引起的一组溶血性贫血疾病,目前尚无法根治^[1-3]。中国南方地区是该病高发区。基因检测是诊断 Thal 的最可靠方法,但 Thal 基因有高度有异质性,突变类型的分布有明显的种族与地域差异^[4]。本研究对德宏地区傣族人群 Thal 基因检出率及突变类型进行了调查,结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 德宏地区陇川县、梁河县 4 所中小学校学生、部分教师和学校附近部分村民共计 710 例,男性 352 例、女性 358 例,年龄 5 个月至 64 岁。

1.2 仪器与试剂 杭州博日荧光定量聚合酶链反应(PCR)扩增仪、日本希森美康 XT-1800i 全自动血液分析仪、美国 CVP 凝胶成像仪、韩国 Combi 分子杂交箱北京六一仪器厂 31B 型琼脂糖水平电泳仪。亚能生物技术(深圳)有限公司 α -Thal 和 β -Thal 基因检测试剂盒。 α -Thal 试剂盒可检测中国人群常见 3 种基因缺失型- $\alpha^{3,7}$ 、- $\alpha^{4,2}$ 、--SEA; β -Thal 试剂盒可检测中国人群 8 个常见位点和 9 个少见位点 β -Thal 基因点突变类型。

1.3 方法 采集调查对象乙二胺四乙酸二钾抗凝静脉血 2 mL,在 8 h 内取 500 μ L 标本置 EP 管中, -20 $^{\circ}$ C 保存,用于 Thal 基因检测。用全自动血细胞分析仪对剩余全血标本进行红细胞平均体积(MCV)和红细胞平均血红蛋白含量(MCH)检测;MCV 和 MCH 低于正常参考值者^[5],用常规四氯化碳法制备血红蛋白(Hb)溶液,以 pH8.6 醋酸纤维薄膜行不连续 Hb 微量电泳;微量电泳 HbA2 带增宽者行 HbA2 定量测定, HbA2>3.5%者进行 β -Thal 基因鉴定。所有调查对象均行 α -Thal 基因鉴定。

2 结果

2.1 初筛结果 710 例受检者中 MCV 和 MCH 低于正常参考值者 399 例,微量 Hb 电泳 HbA2 增宽,未出现快速区带, 120 例受检者 HbA2>3.5%。

2.2 β -Thal 检出率 β -Thal 基因检出率为 14.51% (103/710),共检出 6 种 β -Thal 突变类型(见表 1)。103 例 β -Thal 异常者 α -Thal 基因检出率为 29.13% (30/103),均为 β EM 杂合子复合 $\alpha\alpha$ /- $\alpha^{3,7}$ 。

2.3 α -Thal 检出率 α -Thal 基因检出率为 25.35% (180/710),共检出 5 种 α -Thal 类型(见表 2)。

表 1 不同 β -Thal 突变类型检出情况

突变类型	例数(n)	构成比(%)
β E 杂合子	94	91.26
β E 纯合子	2	1.94
41-42M	1	0.97
17M/ β E	1	0.97
17M	4	3.88
71-72M	1	0.97
合计	103	100.00

表 2 不同 α -Thal 突变类型检出情况

突变类型	例数(n)	构成比(%)
$\alpha\alpha$ /- $\alpha^{3,7}$	134	74.44
- $\alpha^{3,7}$ /- $\alpha^{3,7}$	8	4.44
$\alpha\alpha$ /--SEA	34	18.89
- $\alpha^{3,7}$ /--SEA	2	1.11
- $\alpha^{3,7}$ /- $\alpha^{4,2}$	2	1.11
合计	180	100.00

3 讨 论

β-珠蛋白基因 26 位密码子 GAG 突变为 AAG,不但导致 β26Glu→Lys 而产生 HbE,更重要的是该突变可激活邻近的隐蔽切接点,使正常切接的 βE mRNA 产量下降,而异常切接的 βE mRNA 不稳定,表现为 β-Thal^[6]。商品试剂盒把 βE (AAG→GAG)作为 β-Thal 的 1 个突变位点,说明已把 HbE 划为 β-Thal,本组也将其计入 β-Thal。醋酸纤维薄膜电泳出现快速区带常用于诊断 α-Thal, HbA2 定量检测常用于诊断 β-Thal,但标准型和静止型 α-Thal 患者外周血 Hb 往往正常, Hb 电泳结果也正常,使临床诊断有一定困难,易导致漏诊^[7]。基因检测则能够检出标准型和静止型 α-Thal,提高了检出率提高。

郑敏和罗建明报道广西南宁地区 Thal 检出率居南方高发区之首,α-和 β-Thal 检出率分别高达 14.95%和 1.52%^[8]。本组调查显示德宏地区傣族 α-和 β-Thal 检出率分别为 25.35%和 14.51%,明显高于前者,且 β-Thal 复合 α-Thal 的发生率也较高(29.13%)^[9]。德宏地区傣族人群 Thal 检出率高,可能与所处的特殊地理环境有关。考古资料显示,傣族、德昂族的先民于秦汉之际即定居于今德宏境内,是德宏现有的最古老民族;明清初,由于战争和屯垦戍边等原因,景颇族、傈僳族、汉族及其他少数民族相继迁入^[10]。追溯 6 个世居民族在德宏的定居史,对照各民族 Thal 检出率,可以初步证实:在德宏定居史越长的民族,其 Thal 检出率越高^[11]。此外,较普遍的族内通婚现象也可能是造成检出率较高的原因。

Thal 严重影响人体健康,但目前尚无法根治,仅能采取对症支持治疗,且治疗费用较高。产前基因检测是干预重症患儿出生的有效方法^[1]。杂合子和(或)多重致病基因携带者不仅可将杂合子基因遗传给子代,而且有可能增加双重杂合子、纯合子及重症患儿出生率。因此,对于血液学实验筛查指标均正常者,也应进行基因检测,以排除静止型和标准型 α-Thal 的可能。

随着生活水平的提高,公众健康意识越来越强,因此,可通

过积极开展社会宣教、人群调查、重点筛查、遗传咨询、产前基因诊断等工作对 Thal 患儿出生率进行干预和控制,从而实现优生优育,全面提高人口素质。

参考文献

- [1] Chakrabarty P, Rudra S, Hossain MA, et al. Iron chelation therapy and thalassemia-an overview[J]. Mymensingh Med J, 2011, 20(3):513-519.
- [2] Borgna-Pignatti C, Gamberini MR. Complications of thalassemia major and their treatment[J]. Expert Rev Hematol, 2011, 4(3): 353-366.
- [3] 张俊武, 龙桂芳. 血红蛋白病[M]. 南宁:广西科学技术出版社, 2003, 151-201.
- [4] 张力, 区小冰. 广东地区 β 地中海贫血的基因分析与临床观察[J]. 临床血液学杂志, 2008, 21(1): 5-8.
- [5] 马婧, 杨惠. 血常规红细胞参数对 β 地中海贫血诊断、筛查价值探讨[J]. 中外医疗, 2008, 3(13): 1-2.
- [6] Zeng YT, Huang SZ. Disorders of haemoglobin in China[J]. J Med Genetics, 1997, 24(3): 578-583.
- [7] 刘壮. 珠蛋白生成障碍性贫血研究进展[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(3): 237-240.
- [8] 郑敏, 罗建明. 广西地区地中海贫血病 G6PD 缺乏症患者 G6PD 基因突变类型的初步研究[J]. 临床儿科学杂志, 2007, 25(1): 35-39.
- [9] 徐葵, 曾瑞萍. 对 142 例 β 地中海贫血基因携带者进行缺失型 α 地中海贫血 1 基因分析[J]. 中华血液学杂志, 1999, 20(4): 206-207.
- [10] 陈茂云, 蒋照洪. 德宏年鉴[M]. 德宏: 德宏年鉴出版社, 2006: 4-12.
- [11] 杨艳秋, 葛世军, 番云华, 等. 德宏地区地中海贫血社区群体筛查和基因诊断[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(6): 536-539.
- [12] 代宏剑, 温柏平, 杨俊逸. 地中海贫血的实验室诊断进展[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 251-257.

(收稿日期:2011-10-08)

(上接第 716 页)

据文献报道,北京地区 8 个区县 2006 年宋内志贺菌所占比例可能小于 40%,但 2007 年宋内型志贺菌在 7 个区县成为志贺菌流行的主要血清型(超过 50%),仅通州区福氏志贺菌仍占优势。各区县志贺菌分离量较低,仅昌平区(2007 年)和大兴区(2010 年)超过 50 株,但本次集中分离到 15 株,甚至超过了某些区县全年的分离量。2006 年之前,北京地区以福氏志贺菌为主,且目前的研究重心也是福志贺菌的致病性及耐药性。但 2009 年 10 个省(自治区、直辖市)的 20 个县(区、市)细菌性痢疾国家级监测点的数据显示,北京、贵州、福建以宋内志贺菌为主^[13]。由此可见,应及时根据流行菌株变迁的趋势,调整研究方向,从而为北京市细菌性痢疾疫情的防控,以及患者的治疗提供科学的依据。

参考文献

- [1] 徐伟,曹卫华,马建新,等.北京市朝阳区 2003-2008 年细菌性痢疾的流行特征分析[J]. 职业与健康, 2010, 26(16): 1809-1812.
- [2] 赵建忠,耿荣,董晓根,等. 2009 年北京市丰台区细菌性痢疾诊断情况调查[J]. 职业与健康, 2011, 27(7): 782-783.
- [3] 李敏,蔡旺林,白晓潇,等. 2004~2010 年北京市石景山区细菌性痢疾流行病学分析[J]. 首都公共卫生, 2011, 5(2): 63-65.
- [4] 赵颖,孙素梅,王斌. 北京市大兴区感染性腹泻多病原监测结果分

- 析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(9): 2264-2265.
- [5] 陈达廷,甘亚弟,郭欣武,等. 2010 年北京市大兴区细菌性痢疾监测[J]. 首都公共卫生, 2011, 5(1): 24.
- [6] 张晶波,崔光辉,王丽萍,等. 北京市西城区 2005~2007 年志贺氏菌菌型变化及药敏分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(10): 982-984.
- [7] 牛桓彩,张金菊,马文军. 2006~2008 年昌平区细菌性痢疾病原学监测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(1): 159-161.
- [8] 刘重程,李宏通. 2009 年北京市昌平区细菌性痢疾监测结果分析[J]. 疾病监测, 2010, 25(9): 705~706.
- [9] 卜丽薇,唐一清,周景林. 2006~2007 年通州区志贺菌检测与耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(12): 2669~2670.
- [10] 孙培源,胥婕,董建平,等. 海淀区 2007 年实验室确诊与临床诊断细菌性痢疾临床症状综合分析[J]. 现代预防医学, 2010, 37(5): 914-916.
- [11] 边锋芝,苑广盈,孙玉国,等. 志贺菌产 ESBLs 酶的检测及其耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 35(5): 449-453.
- [12] 黄文智,李淑英. 细菌性痢疾病原血清分型及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(10): 873-877.
- [13] 隋吉林,张静,孙军玲,等. 2009 年中国细菌性痢疾监测分析疾病监测[J]. 2010, 25(12): 947-950.

(收稿日期:2011-10-08)