

• 调查报告 •

481 例珠蛋白生成障碍性贫血疑似患者基因突变类型分析

张银汉¹, 李建新¹, 喻 晶¹, 刘 森², 刘晓翌¹, 吴夏枫¹, 邹德学¹
(北京大学深圳医院: 1. 检验科; 2. 妇产科, 广东 深圳 518036)

摘 要:目的 了解珠蛋白生成障碍性贫血(THal)疑似患者中 α -THal 与 β -THal 基因型分布情况。方法 采用单管多重 gapPCR 技术检测 3 种常见的缺失型 α -THal 基因, PCR 结合反向点杂交法检测 β 珠蛋白基因 17 个突变位点。结果 481 例疑似患者中, α -THal 检出率为 29.5%(142/481), $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 型 α -THal 基因总检出率最高, 为 22.7%(109/481); β -THal 检出率为 23.9%(115/481), CD41-42, IVS 2nt654, CD17、-28 型 β -THal 基因检出率依次为 7.5%、5.0%、4.2%、2.5%; 检出 3 例 $\alpha\beta$ 复合型 THal。结论 该地区 THal 疑似患者中 α 和 β -THal 检出率较高; 基因诊断能够为遗传咨询、临床治疗和婚育指导提供有价值的基础资料, 对优生优育、干预重型 THal 患儿的出生具有重要意义。

关键词:地中海贫血; 基因突变; 基因频率
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.06.044 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2012)06-0727-02

Gene mutation analysis in 481 suspected patients with thalassemia in certain area
Zhang Yinghan¹, Li Jianxin¹, Yu Jing¹, Liu Miao², Liu Xiaoyi¹, Wu Xiaofeng¹, Zou Dexue¹
(1. Clinical Laboratory; 2. Gynecology and Obstetrics, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen Guangdong 518036, China)

Abstract:Objective To analyze the distribution of different types of α and β -Thalassemia(THal) gene mutation in suspected patients with THal in this area. **Methods** Single-tube multiplex-polymerase chain reaction assay and reverse dot blot assay were performed to detect the three commonest deletion type of α -THal gene and the 17 mutation loci of β -THal gene. **Results** In 481 cases of suspected patients with THal, 29.5%(142/481) were with α -THal, of which the positive rate of $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ type, 22.7%(109/481), was the highest. The detection rate of β -THal was 23.9%(115/481), and the frequency of gene mutation type CD41-42, IVS 2nt654, CD17 and -28 was 7.5%, 5.0%, 4.2% and 2.5%, respectively. 3 cases were demonstrated with $\alpha\beta$ complex THal. **Conclusion** The detection rate of α and β -THal might be relatively high in this area. Gene diagnosis could provide useful information for hereditary consultation, clinical therapy and procreative guidance, and might be worthy for prepotency and avoiding newborns with severe THal.

Key words: thalassemia; gene mutation; gene frequency

珠蛋白生成障碍性贫血(thalassemia, THal)是一组由珠蛋白基因缺失或突变导致肽链生成障碍而引起的遗传性、溶血性血红蛋白病, 常见的类型有 α -THal 和 β -THal。中国南方为 THal 高发区, 尤以广东、广西、海南等地为甚^[1], 其中广西地区 α -THal 和 β -THal 发病率分别高达 11.19% 和 6.78%^[2-3]。父母双方为 α 或 β -THal 基因携带者时, 其子女有可能为 β -THal 复合 α -THal 双重杂合子; 双重杂合子个体无论与 α 或 β -THal 杂合子个体婚配, 均有可能生育重型 THal 患儿, 而重型 THal 患儿只能依靠长期输血才能维持生命^[4-5]。因此, 选择适当的检测方法快速、准确地作出诊断, 预防性干预重型 THal 患儿的出生, 对优生优育工作十分重要。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010 年 8 月至 2011 年 3 月本院产科和血液科收治的 THal 疑似患者 481 例, 女性 264 例, 男性 217 例, 年龄 18~49 岁。

1.2 仪器与试剂 采用单管多重 gapPCR α -THal 基因检测试剂及 PCR 结合反向点杂交法 β -THal 基因检测试剂购自深圳益生堂生物企业有限公司; 单管多重 gapPCR 可检测 3 种常见的缺失型 α -THal 基因, 即 $-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$; PCR 结合反向点杂交法可检测 β 珠蛋白基因 17 个位点的突变。梯度 PCR 扩增仪、高速离心机购自德国 Eppendorf 公司, Dolphin-1D 凝胶成像系统及杂交箱购自美国 Wealtec 公司。

1.3 方法 常规方法采集受试者乙二胺四乙酸抗凝外周静脉

血 2 mL, 改良盐析法抽提全血基因组 DNA 后进行 α -THal 及 β -THal 基因检测。

1.4 数据计算 采用微软公司 EXCEL 软件进行相关数据结果的计算。

2 结 果

2.1 α 及 β -THal 检出情况 481 例疑似患者中, 检出 α -THal 142 例, β -THal 115 例, 其中 $\alpha\beta$ 复合型 THal 患者 3 例, 共检出 THal 患者 254 例, 检出率为 52.8%(254/481)。

2.2 α -THal 基因检测结果 481 例疑似患者中检出 α -THal 142 例, 检出率为 29.5%(142/481)。 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 型基因突变检出率最高, 其总检出率为 22.7%(109/481), 占 α -THal 患者的 76.8%(109/142)。不同 α -THal 基因型检出率见表 1。

表 1 142 例 α -THal 基因频率

α -THal 基因突变类型	阳性数(n)	基因频率(%)
$-\text{SEA}/\alpha\alpha$	109	22.7
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	15	3.1
$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	5	1.0
$-\text{SEA}/-\text{SEA}$	4	0.8
复合型 α 地贫	9	1.9

2.3 β -THal 基因检测结果 481 例疑似患者中检出 β -THal

115 例,检出率为 23.9%(115/481)。不同 β -THal 基因型检出率见表 2。

表 2 115 例 β -THal 基因频率		
β -THal 基因突变类型	阳性数(n)	基因频率(%)
CD41-42	36	7.5
IVS 2nt654	24	5.0
CD17	20	4.2
-28	12	2.5
少见位点	15	3.1
复合型 β 地贫	8	1.7

2.4 $\alpha\beta$ 复合型 THal 检测结果 共检出 3 例 $\alpha\beta$ 复合型 THal 患者,具体基因型见表 3。

表 3 3 例 $\alpha\beta$ 复合型 THal 基因型		
病例	α -THal 基因型	β -THal 基因型
1	$-\alpha^{4,2}/\alpha\alpha$	CD17
2	$-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$	IVS 2nt654
3	$--SEA/\alpha\alpha$	CD41-42

3 讨 论

THal 是一组因珠蛋白肽链合成障碍而导致的遗传性、溶血性贫血,是中国南方地区最常见、危害最大的遗传病之一^[2]。本研究中, α 和 β -THal 患者检出率为 52.8%(254/481),高于其他相关文献的报道,可能与所选择的研究对象不同有关^[6-7]。481 例疑似患者中, α -THal 检出率为 29.5%(142/481), $--SEA/\alpha\alpha$ 型基因总检出率为 22.7%(109/481),占 α -THal 的 76.8%(109/142),提示 $--SEA/\alpha\alpha$ 为深圳地区最为常见的 α -THal 基因型; β -THal 检出率为 23.9%(115/481),较为常见的 β -THal 基因型依次为 CD41-42、IVS 2nt654、CD17 和-28,与有关报道结果相符^[8]。

本研究在 α -THal 杂合子患者中检出 3 例 β -THal 基因携带者,该发现在临床工作中不容忽视。笔者对这 3 例 $\alpha\beta$ 复合型 THal 患者进行了血常规和血红蛋白电泳检测,结果显示其各项红细胞参数检测结果的异常程度弱于单纯杂合子患者,据此,笔者认为可能是因为 $\alpha\beta$ -THal 双重杂合子生成 α 和 β 链的相对不平衡程度较单纯 α 或 β -THal 杂合子更轻,其贫血症状也因此有所减轻,与其他学者的观点一致^[9-10]。作者后续研究证实(结果未列出),3 例 $\alpha\beta$ 复合型 THal 患者各项红细胞参数

检测结果与单纯 β -THal 杂合子患者比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示此类双重杂合子的诊断不能依赖血液学分析,只能凭借基因诊断技术。

基因诊断能直接针对致病基因进行诊断,准确揭示重型患者和没有临床症状的静止型患者的病因,将其应用于产前诊断,能有效防止严重 THal 患儿的出生,降低 THal 发病率,对提高新生儿遗传素质具有极其重要的意义。以 gapPCR 作为 THal 筛查的首选方法,可首先确定受检者是否为缺失型 α -THal 基因携带者,再根据血红蛋白电泳结果进行 β -THal 基因检测,从而明显降低 $\alpha\beta$ 复合 THal 双重杂合子的漏检率,并为遗传咨询和产前诊断提供更为准确、可靠的信息。

参考文献

[1] 梁玉全,吴素芹,谢健敏,等. 广东顺德地区 α -和 β -地中海贫血的分子流行病学调查[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 629-633.

[2] 全国血红蛋白病协作组. 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(6): 382-385.

[3] 蔡稔,李莉艳,梁昕,等. 柳州市城镇人群 α 和 β 地中海贫血的发生率调查和基因型鉴定[J]. 中华流行病学杂志, 2002, 23(4): 281-284.

[4] 肖维威,徐湘民,徐铃等. 中国人缺失型 α -地中海贫血的分子基础及产前基因诊断[J]. 第一军医大学学报, 1998, 18(1): 68-72.

[5] 曾瑞萍,李洪义. 地中海贫血的基因诊断与产前诊断[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2006, 11(1): 41-45.

[6] 万淑梅,余艳红,苏桂东,等. 280 例 β -地中海贫血高风险患儿的产前基因诊断分析[J]. 现代妇产科进展, 2004, 13(5): 390-391.

[7] 黄越华,陈赤,曾粤. 2004 年广西壮族自治区检测地区出生缺陷检测结果分析[C]//第二届发展中国家出生缺陷与残疾国际大会论文集. 北京: 中华医学会, 2005: 61.

[8] Zeng YT, Huang SZ. Disorders of haemoglobin in China[J]. J Med Genet, 1987, 24(10): 578-583.

[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] 张玲,曾征宇,胡朝晖,等. 广东地区 β -珠蛋白生成障碍性贫血复合缺失型 α -珠蛋白生成障碍性贫血的分布调查[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 799-800.

(收稿日期:2011-12-12)

(上接第 726)

在产前和胎儿出生后进行 G6PD 活性检测。

参考文献

[1] 杨发达,贾璋林,谭桂彩,等. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性检测标本的相关探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 639-642.

[2] 陈运生,蒋玮莹,李长钢,等. G6PD 比值法检测葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因突变女性杂合子影响因素的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(5): 385-390.

[3] Jacobasch G, Rapoport SM. Hemolytic anemias due to erythrocyte enzyme deficiencies[J]. Mol Aspects Med, 1996, 17(2): 143-170.

[4] 张家骥,魏克伦,薛辛东. 新生儿急救学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 539-541.

[5] 杜传书. 漫谈“蚕豆病”和“葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症”[J]. 新医学, 2001, 32(11): 696-697.

[6] 张苏坚,潘丽晖,张春生,等. 血红蛋白电泳和 G6PD 联合检测在诊断贫血中的价值[J]. 中国热带医学, 2009, 9(4): 753-754.

[7] 樊瑜,李广华,毕燕玲. 广州地区 2400 例孕妇夫妇 G6PD 缺乏症筛查分析[J]. 中国热带医学, 2007, 7(10): 1847, 1854.

[8] 龙易勤. 新生儿红细胞葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺陷 176 例分析[J]. 中国综合临床, 2002, 18(11): 1047.

[9] 区丽群,崔金环,林蔚,等. 应用 G6PD/6PDG 比值法检测育龄夫妇 6-磷酸葡萄糖脱氢酶[J]. 现代检验医学杂志, 2004, 19(4): 31

[10] 黄木营. 普宁地区新生儿溶血性黄疸 62 例临床分析[J]. 中国遗传与优生杂志, 2000, 8(1): 79.

(收稿日期:2011-10-08)