

• 调查报告 •

广西贵港地区 β -地中海贫血基因突变类型与分布频率的探讨

李 燕, 黄善忠, 钟伟明
(广西贵港市妇幼保健院检验科, 广东贵港 537300)

摘 要:目的 了解贵港地区 β -地中海贫血的基因型构成情况及其分布, 为制定贵港地区 β -地中海贫血防治计划, 有效降低 β -地中海贫血的发病率提供参考。方法 应用双重 PCR 结合反向斑点杂交技术对贵港地区 507 例经筛查至少符合 HbA2 增高、HbF 增高或者发现 HbE 带三项之一的样本进行 β -地中海贫血 8 种常见和 9 种稀少的突变点进行基因分析。结果 在受检的 507 例样本中共检出杂合子 486 例, 纯合子 11 例, 双重杂合子 10 例。检出 18 种基因组合类型。其中 CD41-42、CD17、CD-28、IVS-II-654、CD71-72、 β E 是贵港地区最主要的 6 种 β -地中海贫血基因类型, 分别占 56.02%、20.71%、7.89%、4.14%、2.96%、2.17%。这 6 种突变点占全部检出突变频率的 97.72%。结论 贵港地区 β -地中海贫血以中国人发病率高的突变类型为主, 发现稀少的突变类型病例。

关键词: β -地中海贫血; 基因型; 反向斑点杂交
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.03.029 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2013)03-0325-02

Investigation of β -thalassemia gene mutation types and frequency distribution in Guigang

Li Yan, Huang Shanzhong, Zhong Weiming

(Department of Clinical Laboratory, Maternity and Child Care Hospital, Guigang, Guangxi 537300, China)

Abstract:Objective To acquaintance the composing and distribution of β -thalassemia genotypes, so as to provide basis for β -thalassemia prevention plan for Guigang and to help drop β -thalassemia incidence effectively. **Methods** There were 507 cases of specimens in Guigang, which at least met one of the following three criteria: HbA2 inceasing, HbF increasing, having HbE. **Results** In 507 specimens, there were 486 cases of heterozygous, 11 cases of homozygous, and 10 cases of double heterozygous, respectively. 18 gene types of β -thalassemia had been found in Guigang, and 6 major gene types among them were CD41-42, CD17, CD-28, IVS-II-654, CD71-72, and β E, accounted for 56.02%, 20.71%, 7.89%, 4.14%, 2.96%, and 2.17%, respectively. The above 6 types of mutations covered 97.72% of all the mutations detected. **Conclusion** The major mutation types of β -thalassemia in Guigang area were the types with high incidence in China. There were few cases taking unusual mutation detected.

Key words: beta-thalassemia; genotype; reverse spots hybrid

β -地中海贫血是最常见的单基因常染色体遗传性疾病, 特点为血红蛋白的 β -珠蛋白链合成减少或缺失, 该病在世界广泛流行分布。目前全世界约有 1.5 亿^[1] β -地中海贫血基因携带者, 据现有流行病学调查资料显示, 广东省 β -地中海贫血携带率达到了 1.83%~3.36^[2], 广西柳州地区 β -地中海贫血携带率 6.78%^[3], 广西梧州地区 β -地中海贫血携带率 8.15%^[4]。了解该病高发地区的人群的致病基因携带和发病情况, 对我国制定该病的预防和控制政策具有十分重要的意义。因此本研究 507 例来本院就诊的经筛查疑是 β -地中海贫血的样品进行 8 种常见和 9 种稀少的突变点进行基因分析。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 自 2011 年 1 月至 2012 年 5 月在我院就诊的贵港地区人群 507 例患者, 经地贫筛查至少符合 HbA2 $\geq$ 3.5%、HbF $\geq$ 2% 或发现 HbE 带三项之一。

1.2 样品采集和处理 抽取外周静脉血 2 mL, EDTA-K₂ 抗凝, 2~8℃ 保存。

1.3 试剂与仪器 DNA 提取试剂和 β -地中海贫血诊断试剂盒均为深圳亚能生物技术有限公司提供。基因扩增仪为杭州晶格科学仪器有限公司 K640 型。电热恒温振荡水槽为上海精宏实验设备有限公司 DKZ-2 型。

1.4 方法

1.4.1 基因组 DNA 提取: 按照 DNA 提取试剂盒操作说明进行。

1.4.2 单管二重 PCR 反应 采用 25 μ L 扩增体系操作按照 β -地中海贫血诊断试剂盒说明进行。

1.4.3 RDB 杂交 取 15ML 塑料离心管, 放入标有样品编号的膜条, 加入 A (2 $\times$ SSC, 0.1% SDS) 液 5~6 mL 及所有 (25 μ L) PCR 产物, 拧紧管盖。将离心管放入沸水浴中加热 10 min, 放入杂交箱 42℃ 杂交 1.5~4 h。然后按说明洗膜、显色、结果判读。

2 结 果

贵港地区 β -地中海贫血基因型以 CD41-42、CD17、CD-28、IVS-II-654、CD71/72、 β E7 种突变型为主。占 97.72%。在受检的 507 例样本中共检出杂合子 486 例, 占 95.86%, 纯合子 11 例, 占 2.17%, 双重杂合子 10 例, 占 1.97%。检出 18 种基因组合类型。具体的基因类型及基因突变分布频率见表 1~2。

表 1 507 例 β -地中海贫血基因突变分布情况

基因突变类型	<i>n</i>	百分比 (%)	临床诊断
杂合子			
CD41-42/ N	284	56.02	轻型 β -地中海贫血
CD17/ N	105	20.71	轻型 β -地中海贫血
CD-28/ N	40	7.89	轻型 β -地中海贫血

续表 1 507 例 β-地中海贫血基因突变分布情况			
基因突变类型	n	百分比(%)	临床诊断
IVS-II-654/ N	21	4.14	轻型 β-地中海贫血
CD71-72/ N	15	2.96	轻型 β-地中海贫血
βE / N	11	2.17	轻型 β-地中海贫血
IVS-I-1/ N	6	1.18	轻型 β-地中海贫血
CD43/ N	2	0.39	轻型 β-地中海贫血
CD-29/ N	1	0.20	轻型 β-地中海贫血
5'UTRCaP+1/ N	1	0.20	轻型 β-地中海贫血
双重杂合子			
CD41-42/ CD71-72	3	0.59	重型 β-地中海贫血
CD41-42/ CD-28	2	0.39	重型 β-地中海贫血
CD41-42/CD 17	2	0.39	重型 β-地中海贫血
41-42/ IVS-I-1	1	0.20	重型 β-地中海贫血
CD17/CD27-28	1	0.20	重型 β-地中海贫血
CD-28/βE	1	0.20	中间型 β-地中海贫血
纯合子			
CD41-42/CD41-42	9	1.78	重型 β-地中海贫血
CD17/CD17	2	0.39	重型 β-地中海贫血
合计	507	100.00	

表 2 507 例 β-地中海贫血基因突变频*					
基因突	杂合子	纯合子	双重杂合子	总例数	基因位点突变率(%)
CD41-42	284	9	8	310	58.71
CD17	105	2	3	112	21.21
CD-28	40	0	3	43	8.14
IVS-II-654	21	0	0	21	3.98
CD71-72	15	0	3	18	3.41
βE	11	0	1	12	2.27
IVS-I-1	6	0	1	7	1.33
CD43	2	0	0	2	0.38
CD	0	0	1	1	0.19
5'UTRCaP+1	1	0	0	1	0.19
CD-29	1	0	0	1	0.19
合计	486	11	20	528	100.00

*：在计算每一个突变位点的突变率时，纯合子和双重杂合子被重复计算，如：41-42 纯合子 9 例，在计算 41-42 突变位点时算 18 例。

3 讨 论

地中海贫血是最早在分子水平上阐述其病理学机制的人类遗传病之一，也是世界上发病率最常见的单基因常染色体遗传性疾病之一，并且是一组严重威胁人类健康的致死、致残的遗传性血液病。β-地中海贫血是主要的一种地贫类型。β-地中海贫血分子基础是 β-基因发生突变，使 β-珠蛋白肽链缺如(β⁰)或合成不足(β⁺)，多余的 α-珠蛋白沉积在红细胞膜上，造成红细胞损坏的一组遗传性溶血性贫血^[5]。是我国南方较为常见

的隐性遗传病。由于该病具有高度遗传异质性，致使基因突变类型和突变频率随地域和人种变化而呈现明显的地域和种族差异。目前世界上已发现 170 多种 β-地中海贫血突变基因，导致我国 β-地中海贫血发生的突变基因的 29 种。本研究结果显示 β-地中海贫血基因突变频率与广州地区的基因突变频率有一定差异^[6]，与深圳东部、湖北等地区的基因分布率也有一定差异^[7-8]，这与地理位置的改变有一定的关系。本研究结果还表明本地区最常见的 6 种突变依次为：CD41-42、CD17、CD-28、IVS-II-654、CD71-72、βE。这个结果前 5 种占 95.45%与文献报道的相符^[9-11]，βE 占的比例比文献^[12]报道的高，这需要扩大样本数量后进行确认。

从上述结果分析，贵港地区 β-地中海贫血以中国人常见的 6 种突变为主，其中 HbA2 增高对 β-地中海贫血的诊断是一项最重要的筛查指标。受检的 507 例标本中共检出杂合子 486 例，纯合子或双重杂合子 21 例。纯合子或双重杂合子的检出提示地贫防治工作仍要加强。应加强婚检的地贫筛查，对婚检地贫筛查阳性者进行地贫基因诊断，对高危人群进行产前诊断，避免重症地贫患儿的出生，为降低人口出生缺陷做努力，从而提高人口素质。

参考文献

[1] CaoA, Galanello R, Rosatelli CM. Prenatal diagnosis and screening of the haemoglobinopathies[J]. B Aillieres Clin Hematol, 1998, 11 (1): 215-238.

[2] 杜传书. 地中海贫血研究的现状与未来[J]. 中华医学遗传杂志, 1996, 13(5): 257-258.

[3] 唐宁. 广西柳州市常住人口 β-地中海贫血的基因型及其分布[J]. 实验与检验医学, 2009, 27(4): 371-372.

[4] 黄莹, 郭柳薇, 李颖莉, 等. 广东广西交界地区地中海贫血发生率及基因检测结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(9): 12-14.

[5] Knu Tson F, Alfonso R, Dupuis K, et al. Pho-tochemical inactivation of bacteria and HIV in buffy-coat-derived platelet concentrates under conditions that perserve in vitro platelrt functionR [J]. Vox Sanguinis, 2003, 84(2): 256-264.

[6] 华亮, 李婉玲, 朱冰, 等. 5402 例地中海贫血高风险儿童 β-地中海贫血基因分析[J]. 中国儿童血液与肿瘤杂志, 2011, 16(3): 125-128.

[7] 罗史科, 张松, 邹汉良, 等. 应用液态基因芯片技术对 132 例 β-地中海贫血基因检测分析[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(7): 647-648.

[8] 陈丽, 曹文静, 张洪波, 等. 湖北地区 84 例地中海贫血基因诊断分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2009, 17(6): 11-12.

[9] 谢健敏, 梁玉全, 吴素琴, 等. 广东顺德地区 β-地中海贫血流行病学调查[J]. 中国热带医学, 2008, 8(10): 1687-1688.

[10] 黄有文, 王荣新, 查丹玉, 等. β-0 与 β-+ 地中海贫血双重杂合子的研究[J]. 华南国防医学杂志, 1995, 24(1): 28-29.

[11] 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): 629-630.

[12] 谢丹尼, 黄莉, 曾桂春, 等. 广西部分地区地中海贫血筛查与监测网的建立[J]. 中国优生与遗传杂志, 2002, 10(4): 112-114.