

## • 调查报告 •

广西地区泰国缺失型  $\alpha$ -地中海贫血的调查研究

阙婷, 张强, 唐燕青, 何升, 李东明, 黄朋, 周林, 赖允丽  
(广西壮族自治区妇幼保健院遗传代谢中心实验室, 广西南宁 530003)

**摘要:**目的 探讨广西地区泰国缺失型  $\alpha$ -地中海贫血的检出率和血液学特点, 减少或避免重型胎儿的出生。方法 收集 2011 年 12 月至 2012 年 11 月静脉外周血, 采用 Gap-PCR 方法进行泰国缺失型  $\alpha$ -地中海贫血基因检测。结果 发现 55 例泰国型缺失型  $\alpha$  地贫, 检出率为 0.61%, 40 例为泰国型缺失杂合子, 15 例为泰国型 HbH 病 (5 例-THAI/ $\alpha$ 4.2, 4 例-THAI/ $\alpha$ 3.7, 5 例-THAI/ $\alpha$ CS $\alpha$ , 1 例-THAI/ $\alpha$ WS $\alpha$ )。结论 广西地区泰国缺失型  $\alpha$ -地中海贫血具有较高的携带率, 应列为常规项目进行基因诊断和产前诊断。

**关键词:** 广西;  $\alpha$  地中海贫血; 聚合酶链反应; 产前诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.13.030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)13-1703-02

### Study on the value of Thailand deletion of thalassemia in the region of Guangxi

Que Ting, Zhang Qiang, Tang Yanqing, He Sheng, Li Dongming, Huang Peng, Zhou Lin, Lai Yunli

(Genetic Metabolic Central of Lab Maternal and Child Health Hospital of Guangxi

Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530003, China)

**Abstract: Objective** To explore the distribution rate of the thailand deletion of thalassemia and reduce or avoid the fetus birth defects in guangxi people. **Methods** From December 2011 to November 2012 a total of 8 985 patients venous blood, detection the type of thailand thalassemia by using the method of gap-polymerase chain reaction(Gap-PCR). **Results** 8 985 cases were found 84 cases of thailand deletion of thalassemia, the detection rate was 0.61%, among which 40 cases cases of Thailand type of deletion heterozygous, 15 cases were the tape of Thailand HbH disease (5 cases of THAI/ $\alpha$ 4.2 and 4 cases of THAI/ $\alpha$ 3.7, 5 cases of THAI/ $\alpha$ CS $\alpha$ , 1 case THAI/ $\alpha$ WS $\alpha$ ). **Conclusion** The region of guangxi Thailand deletion thalassemia of alpha have high carrying rate and shall be classified as conventional genetic diagnosis or prenatal diagnosis.

**Key words:** Guangxi; alpha-thalassemia; polymerase chain reaction; prenatal diagnosis

$\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血是一种血红蛋白合成障碍常染色隐性遗传性疾病,  $\alpha$  链的合成受到部分抑制, 缺失一个  $\alpha$ + 基因或两个  $\alpha 0$  基因的缺陷引起的一系列不同的基因类型。因父母双方为东南亚型的  $\alpha 0$  缺陷导致胎儿血红蛋白 ( $\alpha 2\gamma 2$ ) 没有生成, 而形成多余的胎儿  $\gamma$  链 ( $\gamma 4$ ) 的重型  $\alpha$ -地中海贫血称为 Hb Bart's 胎儿水肿综合征。因 Hb Bart's 具有非常高的氧亲和力和, 无法解决胎儿宫内供氧的生理机能, 所以导致胎儿在宫内受累或分娩后半小时内死亡的妊娠结局。曾报道过泰国缺失合并东南亚型  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血地中海贫血引起的胎儿巴氏水肿<sup>[1-4]</sup>。所以, 临床上除了检测  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血检测常见 3 种缺失型 (-SEA/), (-4.2/), (-3.7/), 还应根据临床表型检测泰国型  $\alpha$  缺失。泰国型缺失 (-THAI) 的范围包括正常类  $\alpha$  珠蛋白基因簇中的  $\zeta 2, \zeta 1, \phi \alpha 2, \phi, 1, 2, 1,$  和  $\theta 1$  基因。缺失范围为 chr116:199800-233300, 且累及胚胎期表达的  $\zeta 2$  基因<sup>[5]</sup>。以我院进行就诊地贫基因诊断的育龄家庭和婚检人群为对象, 旨在初步掌握广西地区泰国缺失型  $\alpha$ -地中海贫血的检出率和血液学特点等参考数据, 同时更好的完善地贫基因诊断流程, 为临床提供遗传咨询和避免重型地贫胎儿的出生。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 以 2011 年 12 月至 2012 年 11 月在广西壮族自治区妇幼保健院遗传科和妇保科就诊的育龄者和婚检者的外周静脉血样本共 8 985 例。

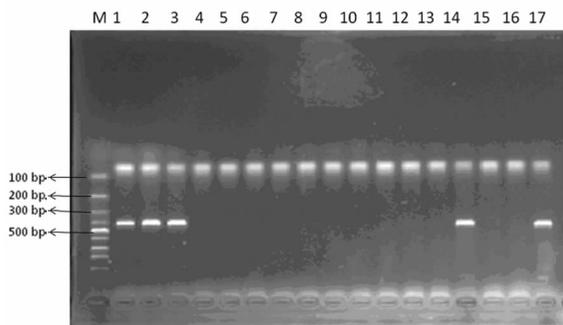
### 1.2 方法

**1.2.1 地贫表型检查** 外周静脉血常规检测采用 SEY2010 全自动血液分析仪进行血液学分析和血红蛋白分析采用 Bio-rad Variant II 检测 HbA<sub>2</sub>。

**1.2.2 地贫常规基因检测** DNA 提取: 采用厦门致善公司提供全自动 DNA 提取试剂。按照地中海贫血诊断的一般原则和基本流程, 首先进行 6 种常见  $\alpha$ -地中海贫血基因型检测<sup>[6]</sup>。采用 Gap-PCR 检测-SEA/、- $\alpha$ 3.7/和- $\alpha$ 4.2/和采用 RDB-PCR 检测 Hb CS、Hb WS 和 Hb QS  $\alpha$  点突变和 17 种常见  $\beta$  地中海贫血突变。操作按照说明书进行。

**1.2.3 泰国缺失型  $\alpha$ -地中海贫血基因检测** (1) 泰国缺失型  $\alpha$ -地中海贫血诊断的一般流程: 先检测受检样品的 3 种常见缺失类型, 再检测 (-THAI/ $\alpha\alpha$ ) 缺失, 由于已在检测 3 种常见缺失类型时完成内参序列扩增, 因此本研究方法所用的扩增体系中不设置正常内对照片段。采用 Gap-PCR 技术进行检测泰国型, 泰国型缺失引物设计参照文献<sup>[7]</sup>合成, 引物序列为 THAI-F: CAC GAG TAA AAC ATC AAG TAC ACT CCA GCC 和 THAI-R: TGG ATC TGC ACC TCT GGG TAG GTT CTG TAC C; THAI-F 和 THAI-R 扩增泰国型缺失等位基因片段扩增片段长度为 411 bp; 上述引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。PCR 反应体系共 25  $\mu$ L。(2) PCR 扩增条件: 95  $^{\circ}$ C 预变性 10 min; 98  $^{\circ}$ C 45 s  $\rightarrow$  62  $^{\circ}$ C 90 s  $\rightarrow$  72  $^{\circ}$ C 3 min, 35 个循环, 72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min 后终止反应。(3) PCR 扩增产物电泳分析: PCR 产物 10  $\mu$ L 加 1  $\mu$ L 6 $\times$  loading Buffer, 标准 DNA 分子量 Marker (100 bp DNA Ladder), 于 2% 琼脂糖凝

胶, 5 V/cm 电压电泳 40~45 min. 电泳结束后, Bio-Rad 凝胶成像仪观察结果结果见图 1, 明确基因缺失类型。



M: DNA 标准带; 泳道 1、2、15、17: -THAI/αα; 泳道 3: -THAI/α3.7; 其余泳道: αα/αα。

图 1 泰国型缺失电泳图

1.3 统计学处理 计量资料采用 SPSS 17.0 软件对泰国型杂合子和泰国型 HbH 病的比较分析进行方差齐性检验, 组间比较采用 SNK 检验或成组秩和检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 地中海贫血基因型及构成比 从 8 985 例外周血标本中, 检出 55 例泰国缺失型 α-地中海贫血, 检出率为 0.61%。其中最常见基因型为 -THAI/αα (0.45), 其次为 -THAI/α4.2

(0.05)、-THAI/αCS (0.05%), 见表 1。

表 1 55 例泰国型地中海贫血基因型及构成比

基因型	n	构成比 (%)
缺失型	—	—
-THAI/αα	39	0.43
-THAI/αα 复合 β41-42/β	1	0.01
非缺失型	—	—
-THAI/α4.2	5	0.05
-THAI/α3.7	3	0.03
-THAI/αCS	5	0.05
-THAI/αWS 复合 β41-42/β	1	0.01
-THAI/α3.7 复合 β0/β	1	0.01

—: 无数据。

2.2 泰国型杂合子与泰国型 HbH 病及正常基因型人群临床表型特点 从表 2 可知, 基因型 -THAI/α $\delta$  (-THAI/α3.7、-THAI/α4.2、-THAI/αCS $\alpha$ 、-THAI/αWS $\alpha$ ) 的患者血液学特点为中度且小细胞低色素贫血, 电泳 A2 值正常或降低, 同时含有无或有 HbH 带。-THAI/αα 与 -THAI/α $\delta$  组间齐方差比较  $P < 0.01$ , 差异有统计意义。

表 2 泰国型杂合子、泰国型 HbH 病及正常基因型人群血常规和电泳检测结果的比较

基因型	n	Hb	MCV	MCH	HbA2
αα/αα	2 184	133±37.95	86.00±19.69	29.44±8.08	2.99±2.44
-THAI/αα	40	115±17.04*	65.78±6.30*	19.26±2.37*	2.10±0.42*
-THAI/α $\delta$	15	82±20.21*	61.89±3.26*	17.65±1.39*	1.82±0.30*
F 值	—	53.48	779.52	2 001.35	0.258
P 值	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

\*:  $P < 0.05$ , 与 αα/αα 基因型比较; -THAI/α $\delta$ : 包括 -THAI/α3.7、-THAI/α4.2、-THAI/αCS $\alpha$ 、-THAI/αWS $\alpha$ ; —: 无数据。

## 3 讨论

广西地区是地中海贫血的高发区, α 地中海贫血发生率为 14.59%<sup>[8]</sup>。α 珠蛋白基因缺失或突变的多态性, 导致 α 地贫也有多种类型。到本院进行咨询人群调查发现泰国型地中海贫血在广西地区的携带率为 0.6%。从数据分析到泰国缺失型 α-地中海贫血在广西地区占有相当高的比率。且近年国内有报道因泰国型地中海贫血复合东南亚缺失地中海贫血而导致的 Hb Bart's 胎儿水肿综合征及泰国型缺失地中海贫血复合其他 α-地中海贫血导致不同类型的 HbH 病的病例<sup>[1-5]</sup>。特别是重视那些曾生育 Hb Bart's 胎儿水肿综合征的携带者且无法确诊夫妇双方基因型, 但前提须排除因细小病毒 B19 感染在怀孕期间导致非免疫性胎儿水肿、流产, 宫内胎儿死亡 (IUGR) 导致的胎儿水肿综合征<sup>[9]</sup>。

目前本实验室在进行产前诊断时发现一例泰国缺失型 α 地中海贫血复合东南亚缺失型 α 地中海贫血的 Hb Bart's 胎儿水肿综合征胎儿, 并在妊娠晚期死产或中期引产。因在县级医院一直无法查明原因而转诊我院, 对此本实验室进行父母双方血液学检测、电泳分析和地贫基因检测以及超声检查来追踪家系调查。妻子血液学参数: Hb121、MCV 65.7、MCH 19.9、A22.3,

丈夫血液学参数: Hb131、MCV68.5、MCH 20.2、A22.5。地贫基因结果如下: 妻子基因结果 αα/αα, 丈夫基因结果 -SEA/αα。超声检测结果发现胎儿有巨大胎盘、腹水、肝大、肠管回声增强、心胸比例增大、三尖瓣返流、心包积液的指征。随后对其孕妇进行产前诊断检测发现 Hb Bart's 胎儿水肿。因此高度怀疑孕妇有可能有 α 基因片段上有大片段的缺失, 经 GaP-PCR 技术检测妻子 α 基因结果为 -THAI/αα。

然而, 目前国内临床上 α 珠蛋白地中海贫血基因检测方法普遍采用多重 Gap-PCR 检测体系是根据 PCR 特异性扩增片段定性检测我国南方最常见的 3 种缺失类型 (-SEA/α)、(-4.2/α)、(-3.7/α), 尚且未将泰国缺失型扩增体系与上述 3 种常见缺失类型一起进行单管多重 PCR 进行检测。因而易造成漏诊。所以, 根据筛查者的地贫表型, 选择全面的诊断方法, 优化地中海贫血基因检测诊断流程, 建立规范的诊断程序, 加强临床医生与实验室人员的沟通, 对检测泰国型缺失的携带者, 提高产前诊断, 防止重型地贫患儿的出生。

综上所述, 通过调查广西地区泰国缺失型 α-地中海贫血携带率和血液学的特点, 建立泰国型缺失杂合子和泰国型 HbH 病的血液学指标参考范围, 对检出泰国型缺失杂合子和泰国型缺失复合其他缺失或突变导致 HbH 病有一 (下转第 1706 页)

3%), 差异有统计学意义( $\chi^2 = 87.94, P < 0.05$ )。

表 1 不同年龄之间乙肝表面抗原 HBsAg 分布情况

组别	乙肝表面抗原		总人数(n)	阳性率(%)
	阳性人数(n)	阴性人数(n)		
未成年组	57	2 393	2 450	2.3
中青年组	1 740	10 600	12 340	14.1
老年组	214	1 926	2 140	10.1
合计	2 011	14 919	16 930	26.5

表 2 不同年龄之间丙型肝炎抗体(HCVAb)分布情况

组别	丙型肝炎抗体		总人数(n)	阳性率(%)
	阳性人数(n)	阴性人数(n)		
未成年组	39	1 251	1 290	0.3
中青年组	55	10 455	10 510	0.5
老年组	35	1 905	1 940	1.8
合计	129	13 611	13 740	2.6

### 3 讨 论

在本地区人群中进行的统计结果显示乙型肝炎表面抗原(HBsAg)老年组(10.1%)、中青年组(14.1%)、未成年组(0.3%)差异有统计学意义( $\chi^2 = 291.20, P < 0.05$ ), 未成年组乙型肝炎表面抗原感染率在我国 2010 年乙肝防控规划将我国乙型肝炎表面抗原携带率降至 7% 以下内<sup>[1]</sup>。

而中青年感染率高因为中青年人社会活动多, 交往范围广, 在外就餐饮酒的机会多, 自我保护意识差, 传染的机会多等因素有关。综上所述, 近年来, 群众对乙肝的治疗采取积极措施, 对乙肝疫苗的接种更是积极主动, 使得乙肝的检出率呈下降趋势, 但是目前全球还没有根治乙肝的特效药物, 因此加强乙肝疫苗接种及宣传工作, 是防止乙型肝炎病毒(HBV) 传染的有效手段。同时广大群众应定期进行乙型肝炎病毒标志物的检测, 对乙肝疫苗无或低免疫应答者及时进行乙肝疫苗的加强接种, 预防和阻断乙型肝炎病毒(HBV) 的感染, 有效阻断乙

肝的传播。

本地区丙型肝炎抗体(HCVAb)老年组(1.8%)阳性率低于全球感染率(3%)<sup>[2]</sup>在我国感染率范围(1%~3.25%)<sup>[3-4]</sup>之内。老年组高于未成年组(0.3%)和中青年组(0.5%)差异有统计学意义( $\chi^2 = 87.94, P < 0.05$ ), 丙肝病毒主要经输血、母婴、性接触、使用非一次性注射针头等传播, 本地区老年组丙型肝炎感染率高可能主要是因为老年人输血、血液透析、手术等相对较高<sup>[5]</sup>, 但有研究表明近半数 HCV 感染者传播途径不明, 目前 HCV 占输血后肝炎 80%~90%<sup>[6]</sup>, 由于丙肝病毒特点, HCV 感染者大多数无自觉症状, 氨基转移酶正常或仅轻度升高, 发现感染大多数为偶然性的。因此, 在普通人群常规检查中检查抗-HCV 显得尤为重要<sup>[7-8]</sup>, 否则容易导致很大一部分 HCV 感染者漏诊并错过最佳治疗时机, 要真正掌握当前 HCV 感染状况并有效控制 HCV 的传播蔓延, 应把检查范围扩大到普通人群早发现早治疗。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 2006~2010 年全国乙型病毒性肝炎防治规划[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2006, 13(1): 1-4.
- [2] 蔡倩. 亚太地区丙型肝炎治疗的近况[J]. 国外医学: 流行病学传染病学分册, 2000, 27(2): 85.
- [3] 陈青, 彭小谋, 高志良, 等. 4 种引起慢性感染的肝炎相关病毒的流行病学研究[J]. 广东医学, 2000, 21(7): 551-553.
- [4] 戴志澄, 祁国明. 中国病毒性肝炎-血清流行病学调查(上卷)[M]. 北京: 北京科学技术文献出版社, 1997: 60.
- [5] 周友乾, 尹凤鸣. 湘南地区住院患者丙型肝炎病毒感染方式的特征分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(6): 443-445.
- [6] 楼宾, 陈瑜. 临床病毒学检验[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 943-946.
- [7] 何尹, 郭勇. 常规体检检测丙型肝炎病毒抗体的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2007, 4(8): 711-713.
- [8] 王珏, 程茂良, 吴锋. 输血前感染性指标检测结果分析及其意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2006, 5(7): 965.

(收稿日期: 2012-12-28)

(上接第 1704 页)

定的临床意义, 同时提供  $\alpha$  地贫产前诊断准确信息, 对降低或避免 Hb Bart's 胎儿水肿综合征和中重型 HbH 病的患儿的出生有重要意义。因此, 通过此次的调查, 个人建议各级医院的临床医生和实验室人员加强对泰国型缺失携带的认识, 并将其作为一个常规项目进行开展基因检测和产前诊断, 以防止出现漏诊或误诊, 更好给予临床提供遗传咨询和产前诊断指导。

### 参考文献

- [1] 陈萍, 李树权, 李敏清, 等. 泰国缺失型  $\alpha$  地中海贫血 1 的产前基因诊断[J]. 中华医学遗传学杂志, 2007, 24(2): 247.
- [2] Chen FE, Ooi C, Ha SY, et al. Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in Chinese patients[J]. N Engl J Med, 2000, 343(8): 544-550.
- [3] 黄海龙, 林娜, 徐两蒲, 等. 林元 产前诊断泰国缺失型  $\alpha$  地中海贫血 1 引起的胎儿巴氏水肿[J]. 中华妇产科杂志, 2010, 45(4): 533.
- [4] Ko TM, Chen TA, Hsieh MI, et al. Alpha-thalassemia in the four

major aboriginal groups in Taiwahun[J]. Hum Genet, 1993, 92: 79.

- [5] Winichagoon P, Higgs DR, Goodbourn SE, et al. The molecular basis of  $\alpha$ -thalassaemia in Thailand[J]. Embo J, 1984, 3: 1813-1818.
- [6] 肖奇志, 周玉球, 张永良, 等. 单管多重 PCR 结合 RDB 技术在  $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血产前诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(3): 271-273.
- [7] Liu YT, Old JM, Miles K, et al. Rapid detection of alpha-thalassaemia deletions and alpha-globin gene triplication by multiplex polymerase chain reactions[J]. Br J Haematol, 2000, 108: 295-299.
- [8] 全国血红蛋白病调查协作组. 120 个省、市、自治区 60 万人血红蛋白调查[J]. 中华医学杂志, 1983, 63(6): 382-385.
- [9] Riipinen A, Väisänen E, Nuutila M, et al. Parvovirus b19 infection in fetal deaths[J]. Clin Infect Dis, 2008, 47(12): 1519-25.

(收稿日期: 2012-12-28)