

厦门地区 α -地中海贫血基因缺失及突变类型分析*

邱玥莹, 张 玲, 王厚照
(解放军 174 医院检验科, 福建厦门 361003)

摘 要:目的 分析厦门地区 α -地中海贫血基因缺失及突变类型和频率。方法 采用导流杂交 PCR 方法检测血样中 α -地中海贫血 3 个 α -地中海贫血缺失基因、2 个 α -地中海贫血突变基因。结果 在 585 例患者中, 共检测出 55 例 α -地中海贫血基因缺失, 阳性检出率为 9.40%, 2 例 α -地中海贫血基因突变, 阳性检出率为 0.34%。结论 厦门地区 α -地中海贫血基因缺失比例较高, 占阳性标本的 96.5%, 基因突变型较少。

关键词: α -地中海贫血; 导流杂交; 基因缺失; 基因突变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.062 文献标识码: B 文章编号: 1673-4130(2014)23-3280-02

α -地中海贫血(thalassemia, 以下简称 α -地贫)是由于常染色体遗传性缺陷导致的单基因隐性遗传病, 是珠蛋白基因缺失或点突变所致^[1], 引起常见血红蛋白合成减少或缺乏。我国长江以南也是该病的高发区。广东、广西、福建等省区的人群基因携带率高达 8.53%~11.19%^[2]。而 95% 以上的 α -地贫是由于 α -珠蛋白基因大片段缺失所致^[3], 目前为止已有至少 36 种缺失型被鉴定, 国内报道主要有 8 种^[4]。东南亚缺失型(-SEA)、右侧缺失(- $\alpha^{3,7}$)和左侧缺失(- $\alpha^{4,2}$)是最常见的 3 种 α -地贫缺失类型, 累计占 α -地贫的 85% 以上^[2]。CS(CD142; TAA-CAA)、QS(CD125 和 CTG-CCG)是最常见的 α -地贫基因突变型。目前对 α -地贫缺乏有效的治疗方法, 通过遗传筛查和产前基因诊断检测 α -地贫是控制该病发生的唯一途径。因此, 检测 3 种基因缺失型和 2 种基因突变型, 对于在我国南方开展以预防 α -地贫为目标的优生优育具有重要意义。厦门地处福建省的东南沿海, 研究分析该地区的 α -地贫基因缺失及突变情况变得尤为重要。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 血样采集 585 例送检血样来自 2013 年 1 月至 2014 年 3 月本院生殖中心就诊的患者。其中男 239 例, 年龄(34.0±3.7)岁, 女 346 例, 年龄(27.0±4.6)岁, 血样之间无亲缘关系。

1.1.2 主要试剂与仪器 DNA 快速提取试剂盒、 α -地贫基因检测试剂盒(潮州凯普生物科技有限公司); BIO-RADS1000 梯度 PCR 仪(美国伯乐公司); MMH-2 型导流杂交仪(潮州凯普生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 全血 DNA 的提取 采集静脉血, 用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝, 用 DNA 快速提取试剂盒提取 DNA 基因组。操作按说明书进行。

1.2.2 单管多重 PCR 用于 α -地贫基因扩增的 PCR 试剂盒由潮州凯普生物科技有限公司提供。操作参照说明书进行。显色后肉眼观察, 阳性结果为蓝紫色斑点。条膜上的探针排列位顺序及结果判断, 见图 1。

NP CSN QSN $\alpha^{3,7}$
SEA CSM QSM $\alpha^{4,2}$

上列中前 3 行为膜条上 β -地贫基因检测区, NP 为染色体上的 α 基因正常对照; CSN、QSN 为相应 CS、QS 的正常对照。

1.3 统计学处理 采用 Excel 2010 对实验数据进行整理; 采

用 SPSS11.0 统计软件进行统计分析; 采用描述性方法, 分析厦门地区 α -地贫基因缺失及突变型。

2 结 果

2.1 α -地贫缺失基因阳性检出率 在 585 例血样中, 359 例有 55 例 α -地贫基因缺失, 阳性检出率为 9.40%。其中 SEA 缺失型 37 例, 占 6.32%; $\alpha^{3,7}$ 缺失型 11 例, 占 1.88%; $\alpha^{4,2}$ 缺失型 1 例, 占 1.20%。

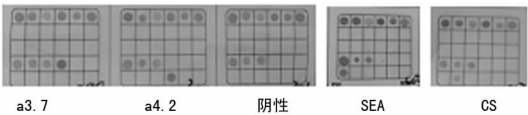


图 1 探针膜条排序图

2.2 α -地贫基因突变阳性检出率 在 585 例血样中, 检测到 2 例 α -地贫基因突变, 全是 CS 突变型, 未检测到 QS 基因突变型 α -地贫。

3 讨 论

定位于 16 号染色体 16p13.3 位点上的一个或多个 α 珠蛋白基因缺失或突变是 α -地贫发生分子基础。根据其分子缺陷分为基因片断缺失型和非缺失型两大类, 其中缺失型是 α 地贫的主要类型^[6]。正常二倍体细胞含有 4 个 α -珠蛋白基因拷贝, 就一个单倍体而言, α -地贫的遗传缺陷可以分为 3 类: (1) 缺失 1 个 α 基因的 α -地贫 2; (2) 缺失 2 个 α 基因的 α -地贫 1; (3) 非缺失型, α 基因发生点突变等。目前已发现 79 种此类缺失, 其中东南亚缺失型(SEA<含有 2 个基因>)、右缺失型($\alpha^{3,7}$)、左缺失型($\alpha^{4,2}$)是最常见的缺失类型。依据影响基因表达的环节不同又可将非缺失型分为 3 类: (1) mRNA 的加工突变成无效的 mRNA, 见于剪接位点的 IVS-I-117(G-A)突变和产生延长 α 珠蛋白链突变都属于此类变异; (2) 翻译突变, 导致 RNA 加工障碍; (3) 翻译后调节突变导致生成不稳定的 α 珠蛋白链, 如常见的 CS(CD142)、QS(CD125)突变。国内已报道了 12 中非缺失型 α -地贫, 其中 CS 突变是我国南方最常见的非缺失型 α -地贫^[7]。

α -地贫在我国具有一定的地区差异性, 文献报道, 我国广东、广西、福建等东南地区是 α -地贫的高发区。厦门地区地处福建的东南沿海, 其 α -地贫基因突频率及缺失情况是本研究的重点。本研究选择了特定的人群, 准备怀孕的青年男女。在本院生殖中心就诊的患者中随机抽取的 585 例患者中, 检测出了 57 例 α -地贫患者。其中 55 例为 α -地贫基因缺失型, 占所检测

* 基金项目: 厦门市科技计划项目(3502Z20144036)。

阳性例数的 96.50%，同文献报道的福建地区 95% 以上为 α -地贫基因缺失型相一致^[3]；2 例 α -地贫基因突变型，全部为 CS 基因突变型，未检出其他类型的基因突变型。

α -地贫的基因诊断方法主要有以下几种：限制性片断长度多态性连锁分析、寡核苷酸探针杂交技术、等位基因特异性扩增技术、反向斑点杂交技术（RDB）、PCR-探针杂交技术、红细胞休克管定量法和导流杂交技术^[8-9]。本研究采用最新的导流杂交技术，主动将目标分子导向固定在基因芯片上特别设计的探针，跟捕捉到的分子进行杂交而产生复合物，同时不受限制的分子则穿过芯片被清除。导流杂交法提高了分子间的相互作用，将传统的杂交二维平面作用提升到三维空间的相互作用。即操作简便，又缩短了检测时间，由原来的需要杂交过夜，变成现在当天即可出结果。提高了 α -地贫的基因诊断效率，方便临床医生尽早拿到诊断结果，利用该方法检测的结果同国内报道的其他方法检测结果基本一致^[2]。

本研究结果显示，厦门地区的 α -地贫同国内报道的地区分布特征相符，并具有自己的特点，对该地区生殖医学服务提供新的技术支撑，对提高本地区优生优育水平具有一定的理论指导作用。

参考文献

[1] 魏明, 廖灿, 李茹, 等. 高分辨溶解曲线分析技术检测 α 地中海贫血常见三种点突变[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(4): 463-465.

• 经验交流 •

- [2] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong province: implications for the future health burden and population screening[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5): 517-522.
- [3] 蔡稔, 李莉艳, 梁昕, 等. 广西柳州市城镇人群 α 和 β 地中海贫血的发生率调查和分子鉴定[J]. 中华流行病学杂志, 2002, 23(2): 281-285.
- [4] Jia SQ, Li J, Mo QH, et al. Alphathalassaemia result of anovel 111.1 kb deletion eliminating both of the duplicated alpha globin genes[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(1): 164-167.
- [5] 吕晓萍, 李体远, 戴勇, 等. 人乳头瘤状病毒快速导流杂交与传统杂交方法比较基因分型及临床应用[J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(6): 618-621.
- [6] 张学武. 地中海贫血的异质性分析[J]. 国际数学及血液学杂志, 2012, 35(3): 255-257.
- [7] 段山, 李洪义, 陈争, 等. 中国南方 α -地中海贫血基因突变型研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2003, 11(1): 54-60.
- [8] 李莉艳, 莫秋华, 徐湘民. 反向点杂交快速诊断非缺失型 α 地中海贫血[J]. 中华医学遗传学杂志, 2003, 20(4): 345-347.
- [9] 焦淑静. 快速导流杂交基因芯片法检测人乳头瘤病毒的实验室观察[J]. 中国实用医药, 2013, 7(2): 251-254.

(收稿日期: 2014-06-29)

小儿轮状病毒感染与脂肪泻的关系

邓劲松¹, 刘友迎¹, 龚国忠¹, 蒲 芮², 胡 然¹, 蒲泽晏¹

(1. 遂宁市中心医院, 四川遂宁 629000; 2. 成都医学院, 四川成都 610083)

摘要:目的 探讨轮状病毒的生物学因素与小儿脂肪泻的关系。方法 通过收集遂宁市中心医院门诊婴幼儿患者的新鲜粪便标本 145 例, 包括轮状病毒腹泻与细菌性肠炎 2 组患者。145 例婴幼儿患者标本中 75 例是由轮状病毒引起的病毒性腹泻, 74 例是由各种炎性反应引起的感染型腹泻。轮状病毒引起的腹泻标本组设为观察组, 由各种炎性反应引起的腹泻标本设为对照组。利用胶体金法和显微镜镜检观察引起婴幼儿腹泻的原因。结果 用显微镜镜检发现脂肪泻呈阳性 44%, 而白细胞镜检呈阳性 (+~++) 则只有 13%, 2 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在对照组中, 发现脂肪泻呈阳性为 7%, 而白细胞镜检成阳性 (+~++) 为 71% ($P < 0.05$), 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 在引起婴幼儿感染性腹泻的病因中, 轮状病毒感染是夏、秋、冬季常见的病因, 轮状病毒感染可导致患儿脂肪泻。因此, 患儿脂肪泻时检测粪便轮状病毒将有重要的临床意义。

关键词: 婴幼儿; 轮状病毒; 脂肪泻; 白细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.23.063

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2014)23-3281-02

婴幼儿腹泻的原因有很多, 在夏、秋、冬季节, 以轮状病毒感染较为常见。轮状病毒所引起的腹泻属于病毒性腹泻, 为世界上最常见的可以引起婴幼儿腹泻的病毒类型之一^[1]。在中国患有腹泻的每年有 1.76 次/人, 并且农村高于城市^[2], 婴幼儿患得腹泻的概率远高于成人。而且, 轮状病毒可以导致肠黏膜的损伤, 使大便镜检中发现脂肪泻。现以由轮状病毒导致的腹泻标本设为观察组与以其他炎性反应导致的腹泻设为对照组, 从而区别由轮状病毒引起的病毒性腹泻与其他原因引起的腹泻, 为临床检验提供便捷。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集了遂宁市中心医院 2013 年秋季门诊婴幼儿患者 145 例, 包括轮状病毒腹泻与细菌性肠炎 2 组患者。其中年龄最小 1 个月, 年龄最大 6 岁。75 例为轮状病毒引起的婴幼儿腹泻(观察组), 70 例为其他细菌性炎性反应所引起的腹泻(对照组)。

1.2 临床表现 这 145 例患者都为腹泻患者, 每天排便有 3 次或者 3 次以上。其中 75 例由轮状病毒引起腹泻的粪便属于水样便, 伴有呕吐、发烧、腹痛等现象, 70 例由其他炎性反应引起腹泻的粪便有多种外观(稀便、水样便、脓血便等), 伴有呕吐、食欲不振、发烧等现象。

1.3 实验室检查 对 145 例标本进行大便常规检查, 白细胞与脂肪球用显微镜镜检, 症状加白细胞 1~3/HP 判断为阳性, 症状加脂肪球每高倍镜下少到中量以上判断为阳性。轮状病毒检测由(北京万泰生物药业有限公司)提供的金标试剂卡检测, 按照说明判断结果。

1.4 统计学处理 这 2 组的统计学数据均采用 Excel 统计软件处理分析, 其腹泻类型、脂肪泻、白细胞等均采用百分制的方式表达, 采用小样本的正太分布概率进行比较, 检验水准为 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果