

• 论 著 •

梅州地区育龄人群地中海贫血基因的检测与分析

吴艳丽
(梅州市人民医院检验科, 广东 514000)

摘要:目的 了解梅州地区育龄人群地中海贫血基因携带情况。方法 采用血常规、血红蛋白电泳对进行产检或婚检的夫妻进行地中海贫血基因筛查。对初筛阳性标本再用反向斑点膜杂交技术进行基因检测并确诊。结果 初筛阳性的 208 例标本中,共检出 α -地中海贫血的标本 64 例, β -地中海贫血的标本 32 例, $\alpha\beta$ 复合地中海贫血 4 例,初筛阳性者中这 3 种地中海贫血的检出率分别为 30.67%、15.38%和 1.92%。结论 本研究可以为采取有效措施预防重型地中海贫血患儿的出生提供参考。
关键词:地中海贫血; 产前诊断; 基因检测
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.04.005 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2015)04-0442-02

Thalassemia gene detection and investigate in people of child-bearing age in Meizhou
Wu Yanli
(Meizhou People's Hospital, Meizhou, Guangdong 514000, China)

Abstract:Objective To investigate the prevalence of thalassemia gene carried by child-bearing age people in Meizhou area. Methods Use regular blood tests and hemoglobin electrophoresis to screen the suspect thalassemia patients in couples of child-bearing age who underwent premarital examination or pregnancy check in the hospital. Samples with positive results were tested by using hybridization reverse dot blot to make a definite diagnosis of thalassemia. Results 208 samples were screened to be positive, among which there were 64 cases of α -thalassemia carrier(30.67%), 32 cases of β -thalassemia carrier(15.38%), 3 case of combination thalassanemia(1.92%). Conclusion The study may provide a reference for taking effective measures to prevent the birth of children with thalassemia.
Key words:thalassemia; prenatal diagnosis; genetic testing

地中海贫血(简称地贫)是世界上发病率最高、危害性最大的一种单基因遗传性疾病,主要分为 α -地贫和 β -地贫。该病高发于地中海沿岸及东南亚各国的广大地区,中国以长江以南各省发病率较高,多见于广东、广西、海南、福建、云南、贵州、四川等地区^[1]。该病的发病机制是 α -和 β -珠蛋白基因的先天性缺陷,造成 α -及 β -珠蛋白肽链合成减少或缺失,从而引起血红蛋白(Hb)生成障碍,导致无效造血和溶血性贫血。该疾病到目前为止还没有有效的治疗方法,而产前诊断成为预防重型地贫患儿出生最有效的对策,可降低病残儿的出生率、提高人口素质。本研究对本地区地贫基因筛查和检测结果进行了分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2012 年 6 月至 2013 年 3 月在本院进行产检的夫妇以及部分婚检进行地中海贫血的血液学表型筛查,选取筛查结果为阳性的标本 208 份。

1.2 方法

1.2.1 血液学表型初筛 抽取上述产检或婚检者 EDTA 抗凝血 2 mL,用全自动血液分析仪进行血常规检查,测定平均红细胞体积(MCV)和平均血红蛋白水平(MCH),用醋酸纤维薄膜电泳法检测 Hb 电泳情况。血液学表型筛查阳性结果判定标准如下:MCV<80 fL、MCH<27 pg,同时若 HbA₂<2.5%则为 α -地贫,若 HbA₂>3.5%判断为 β -地贫。
1.2.2 基因检测并确诊 用试剂盒提取白细胞基因组 DNA

并进行 PCR 扩增,然后采用反向点杂交技术检测中国常见的 α -、 β -地贫基因突变或缺失的位点,其操作步骤和结果分析均按试剂盒使用说明书进行操作。试剂盒及检测试剂购自凯普生物技术公司。

2 结 果

2.1 地贫基因检测 初筛阳性标本共 208 份,在试剂盒所能检测的范围中共检出 α -地贫阳性者 64 例, β -地贫阳性者 32 例,初筛阳性标本中两种地贫的检出率分别为 30.76%、15.38%。 α -地贫中男性携带者 25 例,女性携带者 39 例; β -地贫中男性携带者 13 例,女性携带者 19 例,两种地贫类型基因缺失或突变的类型及出现概率分别见表 1、2。

表 1 64 例 α -地贫基因携带者的基因型分布		
基因型	<i>n</i>	所占比例(%)
—SEA/ $\alpha\alpha$	53	82.8
— $\alpha^{3,7}$ / $\alpha\alpha$	5	7.8
— $\alpha^{4,2}$ / $\alpha\alpha$	3	4.7
α^{QS}	2	3.1
α^{CS}	1	1.6
合计	64	100.0

2.2 α -地贫基因检测结果 试剂盒检测范围内检出 α -地贫基因携带者 64 例,见表 1。5 种类型的 α -地贫基因均被检出,其

中携带率最高的为——^{SEA},达 82.8%。

2.3 β-地贫基因检测结果 在试剂盒检测范围内检出 β-地贫基因携带者 32 例,见表 2。在所有 11 种 β-地贫基因缺陷中有 5 种 β-地贫基因被检出,其中携带率最高为 654M,达 43.8%。

2.4 αβ 复合型地贫的检出 本研究还检测出 αβ 复合型地贫基因 4 例,在 α 和 β-地贫双重杂合时 α-地贫基因特征通常被掩盖,临床表型多呈现 β-地贫特征,通常被诊断为 β-地贫,因此,对于 αβ 复合地贫基因携带者的检测应给予足够重视。

表 2 32 例 β-地贫基因携带者基因缺失或突变类型的分布

基因突变或缺失类型	n	所占比例(%)
41-42M	7	21.9
-28M	3	9.4
654M	14	43.8
71-72M	2	6.3
17M	6	18.7
43M	0	0.0
14-15M	0	0.0
-29M	0	0.0
β-EM	0	0.0
IVSI-1M	0	0.0
27-28M	0	0.0
合计	32	100.0

3 讨 论

地贫是一种常染色体遗传病^[2],分子遗传流行病学资料显示地贫基因突变类型和频率具有明显的地理和种族特异性,广泛分布于地中海沿岸地区和东南亚各国,中国的广西、广东、海南、云南、贵州、四川及香港地区比较常见,尤其在广西、广东和海南地区的发病率较高。这些地区重型 α-地贫,包括血红蛋白 H 病的发生率为 1.2%~8.1%,重型 β-地贫(包括中间型地贫)的发病率约为 0.04%^[3]。对于该病,目前尚没有很好的治疗方法,一旦新生儿出现重症地贫,就需要不断输血来延长患儿的生命^[4],而且不能阻止病情的进展。造血干细胞移植(包括骨髓、外周血、脐血)是根治该病的唯一临床方法^[5-10],而造血干细胞移植技术要求高,费用昂贵,一般家庭难以承受,同时也给整个社会带来沉重的经济负担。因此,对于该疾病的危害应该充分利用各种有效资源大力宣传,特别是经济、文化欠发达的偏远地区,尤为重要,让人们从思想上认识到该病的危害性,积极参加婚前检查和产前诊断来控制地贫患儿的出生。广东省梅州地区是典型的客家人聚集地,遗传背景较为相同,该地区属于地贫的高发区,并且经济欠发达,人们思想观念比较落后,对地贫的危害认识不足,不能从思想上接受地贫的诊断,因此地贫的发生率明显高于广东省平均水平。

本研究选取初筛阳性的标本 208 例,从中检测到 α 和 β-地贫共 93 例,在初筛阳性群体中占 44.71%。共检测到 5 种 α-地贫基因类型,5 种 β-地贫基因类型,这些均属于轻型 α 或者 β-地贫。轻型 α-地贫可分为静止型和标准型。静止型仅有轻度的 α 链合成减少,一般无临床症状;标准型可出现轻度贫血

或有其他的临床表现,但症状较轻。轻型的 β-地贫多数无贫血或其他临床症状,常在普查时才发现。本研究 α-地贫基因诊断中——^{SEA}/αα 基因型携带的频率最高,而 HbCS 和 HbQS 在本次研究中出现的概率相对较小,但对此两类 α-地贫也应该给予足够的重视。该地区应做好 α-地贫防治工作,对人群进行筛查,尤其是进行产检或婚检者,尽量避免轻型 α-地贫患者间婚配,对高危孕妇应尽早做好产前诊断,避免重型 α-地贫和 HbH 病患儿出生,并逐步减少地贫基因的遗传。在 β-地贫基因突变类型检测中发现 654M 和 41-42M 突变所占比例居前两位,共占 65.7%。另外 17M 突变所占比例也较高。对于一些 Hb 异常检测阴性者也不能完全排除 β-地贫缺陷的可能,有可能是由于该类基因型在试剂盒的检测范围以外,应根据需要选择其他试验进一步确证。研究表明,梅州地区的 β-地贫携带者的基因突变类型与其他南方城市相符,但同时又与其他地区有着明显的区域性差别,例如 654M 在所有的突变类型中所占最高比例,而广东省最常见的 β-地贫突变类型 41-42M 在本研究中所占比例排在第二位,这可能与本地区客家人群独特的遗传背景有关。

梅州地区地贫的发病率率和基因携带率较高,提高人们对地贫的认识,鼓励其参加婚前检查和产前诊断,对于降低地贫患儿的出生率,促进优生优育,提高人口素质具有重要意义,同时也可以减轻社会和家庭的负担。因此,对该地区人群进行地贫基因筛查,调查人群中的 α 和 β-地贫的发生率、基因类型及其频率将是今后工作的重点,以便为制定产前诊断预防策略奠定基础。

参考文献

[1] 石之麟,王沙燕,戴勇.地中海贫血分子诊断的研究进展[J].中国生育健康杂志,2003,14(3):189-190.

[2] 王培林.遗传病学[M].北京:人民卫生出版社,2000:841-847.

[3] 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,1993,63(6):382-385.

[4] 谢杏梅,廖灿,李坚,等.胎儿血红蛋白电泳在 α-珠蛋白生成障碍性贫血产前诊断中的应用[J].中国妇幼保健,2007,22(7):952-953.

[5] Abdulzahra MS, Al-Hakeim HK, Ridha MM. Study of the effect of Iron overload on the function of endocrine glands in male thalassemia patients[J]. Asian J Transfus Sci, 2011, 5(2): 127-131.

[6] 徐祥虎,朱宝生.珠蛋白生成障碍性贫血的分子诊断研究进展[J].分子诊断与治疗杂志,2011,3(4):283-288.

[7] 王健民,杨丹.造血干细胞移植治疗珠蛋白生成障碍性贫血[J].内科理论与实践,2010,5(4):280-285.

[8] 谢杏梅,廖灿,李坚,等.胎血血红蛋白电泳在 α-地中海贫血产前诊断中的应用[J].中国妇幼保健,2007,22(7):952-953.

[9] 孙耀君,郑立新,李汉金,等.静止型珠蛋白生成障碍性贫血平均红细胞体积与脆性[J].中国生育健康杂志,2007,18(3):147-148.

[10] 徐祥虎,朱宝生.珠蛋白生成障碍性贫血的分子诊断研究进展[J].分子诊断与治疗杂志,2011,3(4):283-288.