

• 论 著 •

川南地区 β 地中海贫血基因突变类型的分析

唐 敏, 邓正华, 温先勇, 彭 瑛, 周 攀
(泸州医学院附属医院检验科, 四川 泸州 646000)

摘 要:目的 了解川南地区 β 地中海贫血(简称 β 地贫) 发生情况、基因突变类型及构成比, 制定 β 地贫防治计划, 有效降低 β 地贫的发病率提供数据参考。**方法** 采用聚合酶链反应(PCR)和反向斑点杂交(RDB)技术对川南地区疑诊为地贫基因携带者进行 β 地贫基因分析。**结果** 319 例疑似病例中检出 192 例 β 地贫基因携带者, 检出率为 60.1%; 17 种 β 地贫基因突变类型中共检出 9 种, 突变频率较高的前 3 位依次为 CD17(41.3%), CD41-42(27.39%), IVS-II-654(24.35%)。**结论** 川南地区 β 地贫发生率较高, 应加强 β 地贫血液学筛查和基因诊断, 对预防重型地贫患儿的出生有重要意义。

关键词: β 地中海贫血; 突变类型; 频率; 川南地区
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.15.012 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)15-2154-02

Analysis of thalassemia genotypes in south of Sichuan region

Tang Min, Deng Zhenghua, Wen Xianyong, Peng Ying, Zhou Pan

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the types and frequency of gene mutations of β -thalassemia in south of Sichuan area, so as to provide basis for β -thalassemia prevention plan and to help drop β -thalassemia incidence effectively. **Methods** Polymerase chain reaction(PCR)and reverse dot blot(RDB)techniques were employed to perform diagnostic analysis for β -thalassemia genes in suspected thalassemia patient in south of Sichuan region. **Results** The detection rate of β -thalassemia was 60.1% among 319 cases; 9 genes mutation types was found among 17 β -thalassemia genes mutation types. Three types of gene mutations had highest frequency of occurrence, followed by CD17 41.3%, CD41-42 27.39%, IVS- II -654 24.35%. **Conclusion** The gene mutation rate of β -thalassemia are higher in south of Sichuan region. In order to prevent the birth of children with intermedial and major thalassemia, the significance is important to strengthen hematology screenings and genetic diagnosis for β -thalassemia.

Key words: β -thalassemia; mutation types; frequency; south of Sichuan region

β 地中海贫血(简称 β 地贫)是由于 β 珠蛋白基因突变导致 β 珠蛋白肽链缺如($\beta 0$)或合成不足($\beta +$)而引起的遗传性溶血性疾病, 为常染色体隐性遗传病^[1]。 β 地贫主要为 β 珠蛋白基因点突变或个别核苷酸的丢失或插入, 导致 β 珠蛋白基因转录, hnRNA 加工或 mRNA 翻译异常引起。该病在中国以南方多见, 尤以贵州、四川、广西、广东为多^[2]。本文对川南地区 319 例疑似地贫患者的基因突变类型进行研究, 探讨该地区 β 地贫基因突变的类型及构成比, 为有效降低 β 地贫的发病提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 2 月至 2014 年 4 月前来本院检查, 血常规平均红细胞体积(MCV) ≤ 80 fL, 平均红细胞血红蛋白(MCH) < 27 pg 筛查阳性, 怀疑地贫的患者^[3]进行 β 地贫基因检查, 共 319 例作为研究对象。

1.2 样本采集及保存 抽取 2 mL EDTA 抗凝的全血, 充分混匀, 置于 -20°C 保存待检测。

1.3 仪器与试剂 Sysmex XT-2000i, C1000 Thermal Cycler PCR 扩增仪, FYY-3 型分子杂交仪; 血常规试剂是 Sysmex 系列原装五分类试剂; 基因型检测试剂盒购于深圳亚能生物有限公司。

1.4 方法

1.4.1 血液学表型分析 采用五分类全自动血细胞分析仪对 EDTA 的外周血进行 MCV、MCH 检测, 符合 $\text{MCV} \leq 80$ fL 和 $\text{MCH} < 27$ pg 筛查阳性者直接进行 β 地贫基因检测。

1.4.2 基因型检测 采用 PCR 和 RDB 方法诊断中国人群中常见及稀少突变的共 17 种 β 地贫基因突变类型, 包括 CD41-42(-TTCT), IVS-II-654(C \rightarrow T), CD17(A \rightarrow T), -28(A \rightarrow G), CD71-72(+A), CD43(G \rightarrow T), -29(A \rightarrow G), CD14-15(+G), -32(C \rightarrow A), IVS-I-1(G \rightarrow T, G \rightarrow A), IVS-I-5(G \rightarrow C), CD31(-C), βE (GAG \rightarrow AAG), -30(T \rightarrow C) CD27-28(+C), CAP+1(A \rightarrow C), 5'UTR(-AAAC), intM(ATG \rightarrow AGG)具体步骤严格按试剂说明书进行操作。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理, 计数资料采用百分率表示, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

319 例疑似地贫患者中, 检出 192 例 β 地贫携带者, 检出率为 60.1%。中国人常见 17 种 β 地贫基因突变类型中检出 9 种类型, 包括 CD17, CD41-42, IVS-II-654, -28, CD71-72, -32, βE , -29, CD14-15, 其具体基因型及构成比见表 1; 9 种等位基因分布见表 2。

表 1 β 地贫基因突变类型及构成比

β 地贫基因型	<i>n</i>	构成比(%)
纯合子		
CD17/CD17	9	4.68
CD41-42/CD41-42	5	2.60
杂合子		
CD17/N	65	33.85
CD41-42/N	41	21.35

作者简介:唐敏,女,检验技师,主要从事分子诊断方面的研究。

续表 1

β 地贫基因突变类型及构成比		
β 地贫基因型	<i>n</i>	构成比(%)
IVS-II-654 /N	40	20.83
-28/N	3	1.56
CD71-72/N	2	1.04
βE /N	1	0.52
-29/N	1	0.52
CD14-15/N	1	0.52
双重杂合子		
IVS-II-654/CD17	7	3.65
IVS-II-654/CD41-42	6	3.13
CD41-42/CD17	3	1.56
-28/CD17	2	1.04
IVS-II-654/-28	2	1.04
IVS-II-654/-32	1	0.52
CD41-42/CD71-72	1	0.52
CD41-42/βEM	1	0.52
CD41-42/-32	1	0.52
合计	192	100.00

表 2

β 地贫等位基因及构成比		
基因类型	等位基因数(<i>n</i>)	基因构成比(%)
CD17	95	41.30
CD41-42	63	27.39
IVS-II-654	56	24.35
-28	7	3.04
CD71-72	3	1.30
-32	2	0.87
βE	2	0.87
-29	1	0.43
CD14-15	1	0.43
合计	230	100.00

3 讨 论

据国内、外相关文献报道,β 珠蛋白基因突变类型有 360 种以上,且不同地区、种族的人群中基因突变类型存在差异^[4]。本研究中,研究人群主要来源于川南地区,319 例疑似地贫患

者中,检出 192 例 β 地贫携带者,其检出率为 60.1%,17 种 β 地贫基因突变类型共检出 9 种,其中,前 3 位分别是 CD17、CD41-42、IVS-II-654 型基因构成比分别为 41.3%、27.39%、24.35%。表明本地区主要类型为 CD17,与文献[5-6]研究具有相似性,而广西地区以 CD41-42 突变类型为主,有一定差异^[7]。

β-地贫临床上主要表现为慢性溶血性贫血,重症患者只能靠输血维持生命,但仍然难以存活至成年,并且目前尚无有效的治疗方法^[3]。因此,本病重在预防,应用基因检测技术进行产前诊断可有效预防重症地中海贫血患儿的出生。PCR 结合 RDB 技术成熟,是临床应用中检测 β 地贫的主要基因检测方法^[8]。本地区 β 地贫发病率较高,对其基因突变类型及构成比进行研究,积累及获取 β 地贫遗传流行病学资料,积极开展人群筛查,做好婚前指导,对避免重型患儿的出生有重要意义。

参考文献

[1] 麦凤鸣,颜双鲤.地中海贫血筛查指标的分析评价[J]. 中华全科医学,2013,11(3):350.

[2] 全国血红蛋白病研究协作组. 20 省、市、自治区 60 万人血红蛋白调查[J]. 中华医学杂志,1983,63(1):382-385.

[3] 吕福通,谢丹尼.地中海贫血的相关研究进展[J]. 中国计划生育学杂志,2013,21(7):490-493.

[4] Firdous N,Gibbons S,Modell B. Falling prevalence of beta-thalassaemia and eradication of malaria in the Maldives[J]. J Community Genet,2011,2(3):173-189.

[5] 李熙鸿,王晓阳,汪凤兰,等. 四川地区重型 β-地中海贫血患儿及双亲基因突变的研究[J]. 四川大学学报:医学版,2004,35(3):388-390.

[6] 杨夕,汪文明,安刚,等. 南川地区地中海贫血基因分型的分析[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(21):2830-2834.

[7] 何升,李东明,赖允丽,等. 2685 例贫血患儿 β-地中海贫血基因分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2013,21(4):29-33.

[8] Phylipsen M, Vogelaar IP, Schaap RA, et al. A new alpha(O)-thalassemia deletion found in a Dutch family(-(AW))[J]. Blood Cells MolDis,2010,45(2):133-135.

(收稿日期:2015-05-06)

(上接第 2153 页)

治疗和预后提供一定的依据。

参考文献

[1] 蒋陵岚,李启宇. 71 例婴幼儿 EB 病毒感染的临床特征分析[J]. 实用预防医学,2010,17(7):1369-1370.

[2] Delecluse I J,Feederle R,O'Sullivan B,et al. Epstein Barr virus-associated tumours;an update for the attention of the working pathologist[J]. J Clin Pathol,2007,60(12):1358-1364.

[3] 黄志卓,谢正德,闫静,等. EB 病毒相关噬血细胞性淋巴瘤组织细胞增生症患儿的 EB 病毒感染特征[J]. 实用儿科临床杂志,2012,20(3):181-183.

[4] 王伟杰,阮仙利. 小儿传染性单核细胞增多症免疫状态变化及临床意义[J]. 浙江中西医结合杂志,2012,22(4):299-300.

[5] 王亚军,王尚昆. 519 例小儿 EB 病毒感染临床分析[J]. 中国医学工程,2011,19(1):128-130.

[6] Scherrcnburg J,Piriou ER,Nanlohy NM,et al. Detailed analysis of Epstein-Barr vilus-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cell responses during infectious mononucleosis [J]. Ciln Exp ImmBnoI,2008,153(2):231-239.

[7] Hoshino Y,Nishikawa K,Ito Y,et al. Kinetics of Epstein-Barvrius load and virus-specific CD8⁺ T cell in acute infectious mononucleosis[J]. J clin Virol,2010,23(1):244-246.

[8] Barbara C,Mandvi B,Jacqueline B,et al. Prolonged illness after Infectious Mononucleosis is associated with altered immunity but not with increased viral load[J]. J Infect Dis,2006,193(5):664-671.

[9] 王强,王佐凤,董巍,等. CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞及 Foxp3 在儿童传染性单核细胞增多症发病中的作用[J]. 中华妇幼临床医学杂志,2013,9(2):144-147.

(收稿日期:2015-02-22)