

- ods[J]. Chin J Chem, 2011, 29(7): 1353-1358.
- [2] Pannia E, Cho CE, Kubant R, et al. Role of maternal vitamins in programming health and chronic disease[J]. Nutr Rev, 2016, 74(3): 166-180.
- [3] Duthie SJ. Folic acid deficiency and cancer: mechanisms of DNA instability[J]. Br Med Bull, 1999, 55(3): 578-592.
- [4] 曹金如, 陈寿云. 东莞地区男性不育患者 Y 染色体 AZF 基因微缺失分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(6): 791-792.
- [5] 宋革, 王奇玲, 刘兴章, 等. 男性不育患者 2406 例染色体异常分析[J]. 中国计划生育学杂志, 2012, 20(4): 257-259.
- [6] 张美华, 盖凌, 于建春, 等. 染色体多态性与男性不育的关系分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2012, 4(2): 34-36.
- [7] 严芳, 张智, 李亚红, 等. 309 例男性不育患者的染色体核型分析[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(23): 3287-3288.
- [8] 陈起莹, Ng V, 梅节, 等. 生育和不育男性精液维生素 B<sub>12</sub>、叶酸、活性氧和精子质量的比较[J]. 卫生研究, 2001, 30(2): 80-82.
- [9] 余立萍, 谭德福. 维生素 B<sub>12</sub> 缺乏症的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(11): 1584-1585.
- [10] 周应敏, 吴代福, 汤纯香, 等. 冻存液添加维生素 B<sub>12</sub>、解冻液添加 BSA 及肝素对大熊猫精子的影响[J]. 四川动物, 2007, 26(3): 669-672.
- [11] Iqbal MP, Ishaq M, Kazmi KA, et al. Role of vitamins B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> and folic acid on hyperhomocysteinemia in a Pakistani population of patients with acute myocardial infarction [J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2005, 15(2): 100-108.

(收稿日期: 2016-10-11 修回日期: 2016-12-16)

## 自贡地区地中海贫血基因分布特征分析

万富明, 欧丽琼, 缪群英

(自贡市妇幼保健院检验科, 四川自贡)

**摘要:**目的 了解自贡地区人群中地中海贫血(简称地贫)基因型突变类型及其分布特征。方法 对 2015 年 2 月至 2016 年 7 月来该院就诊的疑似地贫的患者采用 PCR 和反向斑点杂交技术进行地贫基因检测, 从而进行确诊和分析。结果 2 477 例疑似患者中检出地贫基因携带者 1 068 例, 占 43.12%(1 068/2 477);  $\alpha$ -地贫 586 例, 占 54.9%(586/1 068);  $\beta$ -地贫 460 例, 占 43.10%(460/1 068);  $\alpha\beta$  复合型地贫 22 例, 占 2.1%(22/1 068)。男性 871 例, 基因携带者 305 例, 占 35.02%; 女性 1 606 例, 基因携带者 763 例, 占 47.51%。共检测出 36 种地贫基因突变类型, 突变频率较高的前 5 位依次为——SEA/ $\alpha\alpha$ 、CD41-42、CD17、IVS-2-654、- $\alpha$ 3.7/ $\alpha\alpha$  突变。在  $\alpha\beta$  复合型地贫中,  $\beta$ -地贫基因突变类型为 CD17、CD41-42 和 -28;  $\alpha$ -地贫基因突变类型主要为 - $\alpha$ 3.7/ $\alpha\alpha$ 、——SEA/ $\alpha\alpha$ 、- $\alpha$ 4.2/ $\alpha\alpha$ 。结论 了解该地区地贫基因突变类型及频率可为该地区地贫的预防控制、遗传咨询和临床诊疗提供参考。

**关键词:**地中海贫血; 基因突变; 自贡

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.06.042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)06-0833-03

地中海贫血(简称地贫)是最常见且发病率较高的单基因常染色体显性遗传性疾病, 其发病原因为珠蛋白基因缺陷引起的珠蛋白肽链合成减少,  $\alpha$  链与非  $\alpha$  链比例失衡而导致遗传性溶血性疾病。地贫是我国南方最常见的遗传病之一, 在广东省、广西壮族自治区、海南省的人群发生率较高。近年来, 四川地区地贫发生率呈上升趋势, 人群中地贫基因携带率达 4.7%<sup>[1]</sup>。由于地贫基因携带率存在明显的地域差异, 为初步了解自贡地区地贫基因携带特征, 预防地贫患儿的出生, 减少出生缺陷, 本研究对 2015 年 2 月至 2016 年 7 月于本院就诊的疑似地贫患者进行地贫基因型分析, 现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2 477 例送检血液标本来自 2015 年 2 月至 2016 年 7 月于本院就诊的疑似地贫人群。其中男 871 例、女 1 606 例, 年龄为 1 d 至 56 岁, 平均 21 岁。

**1.2 试剂与仪器**  $\alpha$ -、 $\beta$ -地贫基因检测试剂(PCR+导流杂交法)购自潮州凯普生物化学有限公司; LineGene9660 荧光定量 PCR 检测系统购自杭州博日科技有限公司; MMH-2 型导流杂交仪购自潮州凯普生物科技公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集及保存** 抽取受检者静脉全血 2 mL, 用 EDTA 抗凝, 充分混匀, 置 -20 °C 保存待检测。

**1.3.2 全血 DNA 提取** 采用凯谱配套 DNA 快速提取试剂盒提取 DNA 基因组。操作过程按说明书进行。

**1.3.3 基因扩增及检测** 采用 PCR 和反向斑点杂交技术进行地贫基因检测。用于地贫基因扩增的 PCR 试剂盒购自潮州凯普生物化学有限公司。操作参照说明书进行。显色后人工肉眼观察, 阳性结果为蓝紫色斑点。

**1.4 统计学处理** 采用 Access2003 对实验数据进行记录、整理; 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析, 计数资料以百分率表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 地贫基因检出率** 在 2 477 例疑似地贫的人群中共检出 1 068 例地贫, 占 43.12%(1 068/2 477);  $\alpha$ -地贫 586 例, 占 54.9%(586/1 068);  $\beta$ -地贫 460 例, 占 43.10%(460/1 068);  $\alpha\beta$  复合型地贫 22 例, 占 2.1%(22/1 068)。

**2.2 不同性别人群地贫基因的携带状态** 男性 871 例, 基因携带者 305 例, 占 35.02%; 女性 1 606 例, 基因携带者 763 例,

占 47.51%；女性地贫基因的检出率高于男性( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.3  $\alpha$ -地贫基因型的分布** 586 例地贫基因携带者中, $\alpha$ -地贫基因突变类型以 --SEA/ $\alpha\alpha$  (71.16%)、- $\alpha$ 3.7/ $\alpha\alpha$  (15.02%)、- $\alpha$ 4.2/ $\alpha\alpha$  (3.75%)、- $\alpha$ 3.7/--SEA (2.90%)、 $\alpha$ CS $\alpha$ / $\alpha\alpha$  (2.73%)、 $\alpha$ QS $\alpha$ / $\alpha\alpha$  (2.22%) 为主,见表 2。

**2.4  $\beta$ -地贫基因类型分布特征** 460 例  $\beta$ -地贫基因突变类型以 CD41-42 (34.13%)、CD17 (26.3%)、IVS-2-654

(25.65%)、-28(6.3%) 为主。见表 3。

表 1 同性别地贫基因携带状态( $n$ )

性别	$\alpha$ 地贫	$\beta$ 地贫	$\alpha\beta$ 地贫	合计
男	170	131	4	305
女	416	329	18	763
合计	586	460	22	1 068

表 2  $\alpha$ -地贫基因型的分布与构成比(%)

基因型	$n$	构成比	基因型	$n$	构成比	基因型	$n$	构成比
--SEA/ $\alpha\alpha$	417	71.16	$\alpha$ QS $\alpha$ / $\alpha\alpha$	13	2.22	- $\alpha$ 3.7/ $\alpha$ QS $\alpha$	1	0.17
- $\alpha$ 3.7/ $\alpha\alpha$	88	15.02	$\alpha$ WS $\alpha$ / $\alpha\alpha$	4	0.68	- $\alpha$ 3.7/- $\alpha$ 4.2	1	0.17
- $\alpha$ 4.2/ $\alpha\alpha$	22	3.75	- $\alpha$ 4.2/--SEA	4	0.68	- $\alpha$ 3.7/- $\alpha$ 3.7	1	0.17
- $\alpha$ 3.7/--SEA	17	2.9	--SEA/ $\alpha$ CS $\alpha$	1	0.17			
$\alpha$ CS $\alpha$ / $\alpha\alpha$	16	2.73	$\beta$ QS $\alpha$ / $\alpha$ QS $\alpha$	1	0.17			

表 3  $\beta$ -地贫基因型分布与构成比(%)

基因型	$n$	构成比	基因型	$n$	构成比	基因型	$n$	构成比
CD41-42	157	34.13	CD27-28	8	1.74	IVS-2-654/CD71-72	1	0.22
CD17	121	26.30	CD71-72	5	1.09	-29	1	0.22
IVS-2-654	118	25.65	CD43	4	0.87	CD17/CD17	1	0.22
-28	29	6.30	CD14-15	2	0.43			
$\beta$ E	12	2.61	CAP	1	0.22			

**2.5  $\alpha\beta$ 复合型地贫基因分布**  $\alpha\beta$ 复合型地贫 22 例,涉及 5 种  $\beta$ -地贫基因突变类型和 3 种  $\alpha$ -地贫基因突变类型。复合型地贫基因突变类型以 - $\alpha$ 3.7/ $\alpha\alpha$  (68.18%)、--SEA/ $\alpha\alpha$  (27.27%)、- $\alpha$ 4.2/ $\alpha\alpha$  (4.55%) 为主。见表 4。

表 4  $\alpha\beta$ 复合地贫基因型分布与构成比[ $n$ (%)]

$\beta$ 基因型	$n$	- $\alpha$ 3.7/ $\alpha\alpha$	--SEA/ $\alpha\alpha$	- $\alpha$ 4.2/ $\alpha\alpha$
CD17	7	6(27.27)	1(4.55)	0(0.00)
CD41-42	7	4(18.18)	3(13.64)	0(0.00)
-28	4	3(13.64)	1(4.55)	0(0.00)
IVS-2-654	3	1(4.55)	1(4.55)	1(4.55)
CD43	1	1(4.55)	0(0.00)	0(0.00)
合计	22	15(68.18)	6(27.27)	1(4.55)

3 讨 论

地贫是发病率最高的一种人类单基因遗传性溶血性疾病。不同区域、不同种族之间地贫基因携带率存在差异。在长江以南各省(区)均有相关报道,其中广东、广西、海南、福建、重庆、四川等地区发病率较高<sup>[1-2]</sup>。自贡地区 2 477 例受检者检出地贫基因携带者 1 068 例,检出率 43.12%, $\alpha$ -地贫检出率 23.66%, $\beta$ -地贫检出率 18.57%, $\alpha\beta$ -复合型地贫检出率 0.89%, $\alpha$ -地贫检出率大于  $\beta$ -地贫检出率,高于重庆<sup>[2]</sup>、泸州<sup>[3]</sup> 等毗邻地区,与刘富华等<sup>[4]</sup>报道的广西地区情况基本相似。在受检者中,地贫基因携带率男性为 35.02%,女性为 47.51%,高于男性。因此,应当加强本地区地贫的筛查和基因型分析检

查,做好地贫预防控制工作。

$\alpha$ -地贫分为缺失型和非缺失型 2 种,目前已发现至少有 43 种缺失类型,中国人群中发现 9 种。此次研究检出 13 种  $\alpha$ -地贫基因类型,自贡地区  $\alpha$ -地贫基因类型较多,遗传背景较为复杂,缺失型以东南亚型缺失(--SEA/ $\alpha\alpha$ ,71.16%)、右缺失型(- $\alpha$ 3.7/ $\alpha\alpha$ ,15.02%)、左缺失型(- $\alpha$ 4.2/ $\alpha\alpha$ ,3.75%) 为主,非缺失型主要为  $\alpha$ CS $\alpha$ / $\alpha\alpha$ 、 $\alpha$ QS $\alpha$ / $\alpha\alpha$ 、 $\alpha$ WS $\alpha$ / $\alpha\alpha$  点突变。现已发现  $\beta$ -珠蛋白基因突变类型有 200 多种,最主要的是点突变(启动子、剪切位点、移码、无义突变等),少数为控制区突变及类  $\beta$  基因缺失。此次研究检出 11 种  $\beta$ -地贫突变类型,13 种基因组合形式,杂合突变为主,前 5 位依次为 CD41-42、CD17、IVS-2-654、-28、 $\beta$ E,占  $\beta$ -地贫检出总数 94.99%,与 2014 年四川省统计的 CD17 为主有差异,与何建维等<sup>[5]</sup>报道较为一致。此次研究检出  $\alpha\beta$ -复合型地贫 22 例(2.06%),10 种基因突变类型,低于甘冰等<sup>[6]</sup>报道,与张莉<sup>[7]</sup>报道的重庆地区复合型地贫检出率 2.01% 相近。 $\alpha\beta$ -复合型地贫中以  $\beta$ -地贫复合 - $\alpha$ 3.7/ $\alpha\alpha$ (68.18%) 和 --SEA/ $\alpha\alpha$ (27.27%) 为主,复合 - $\alpha$ 4.2/ $\alpha\alpha$  少见。自贡地区地贫基因类型分布具有较明显的地域性差异。本次调查共检出 36 种地贫基因型,较好地了解了自贡地区地贫基因分布特征及发生频率,所获资料可为本地区制定地贫防治计划、开展遗传咨询和临床诊疗提供参考依据。

参考文献

[1] 李熙鸿,王晓阳,汪凤兰,等. 四川地区重型  $\beta$ -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.

- [2] 杜伟, 欧阳小峰, 甘承文, 等. 重庆地区 8 024 例地中海贫血筛查结果及地贫基因型分析[J]. 重庆: 重庆医科大学学报, 2014, 39(5): 694-697.
- [3] 陈红英, 邹艳, 刘春艳, 等. 四川泸州地区贫血患儿地中海贫血筛查和基因诊断结果分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2013, 21(11): 1139-1141.
- [4] 刘富华, 贾艺聪, 陈洁晶, 等. 广西地区 13 589 例地中海贫血筛查结果及基因突变类型分析[J]. 临床血液学杂志, 2015, 28(6): 966-969.

- [5] 何建维, 黄恒柳, 张燕, 等. 重庆地区地中海贫血基因突变类型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(18): 2488-2489.
- [6] 甘冰, 黄伟媚.  $\alpha\beta$  复合型地中海贫血基因检测分析[J]. 临床荟萃, 2014, 29(2): 200-201.
- [7] 张莉. 重庆  $\alpha$  复合  $\beta$  地中海贫血基因型及与临床关系的分析——附 52 例报关系密切[D]. 重庆医科大学, 2013.

(收稿日期: 2016-10-13 修回日期: 2016-12-25)

## • 临床研究 •

# ANA 与抗 ENA 抗体谱联合检测对系统性红斑狼疮的诊断价值

朱华强, 李婉怡<sup>△</sup>, 吴 茜, 陈 曦, 杨俊宇

(绵阳市中心医院, 四川 621000)

**摘要:**目的 探讨抗核抗体(ANA)和抗(可溶性抗原)ENA 抗体谱联合检测对系统性红斑狼疮(SLE)的诊断价值。方法 将 78 例 SLE 确诊患者纳入研究作为 SLE 组, 将 60 例其他自身免疫性疾病(AID)患者作为疾病对照组(其他 AID 组), 将 55 例健康者体检者作为健康对照组。分别采用间接免疫荧光法(IIF)和免疫印迹法(LIA)对 ANA 和抗 ENA 抗体(抗-ENA)谱进行检测。结果 SLE 组和其他 AID 组的 ANA 和抗-ENA 阳性率均明显高于健康对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。nRNP/Sm、Sm、dsDNA、Nuc、His 和 Rib 6 项抗体指标在 SLE 组与其他 AID 组之间比较, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。抗-ENA 中, 对 SLE 诊断的特异度较高的指标有: Sm(98.33%)、His(96.67%)、Nuc(96.67%)、dsDNA(96.00%)、Rib(95.00%); 敏感度排序靠前依次为: SSA(64.10%)、Ro-52(52.56%)、nRNP/Sm(48.72%)、Nuc(43.59%)、dsDNA(42.30%)、Sm(34.62%); 同时满足特异度高且敏感度较高的指标为: nRNP/Sm、Nuc、dsDNA、Rib、Sm、His。5 种联合检测模式中, ANA+dsDNA+Nuc 模式的阳性率明显高于其他 4 组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。结论 联合检测 ANA 和抗-ENA 谱可以提高 SLE 诊断的确诊率, 减少漏诊、误诊, 对 SLE 的早期诊断、治疗和病情监测有重要的临床价值。

**关键词:** 红斑狼疮, 系统性; 抗体, 抗核; 抗体, 抗可溶性抗原; 诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.06.043

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)06-0835-04

系统性红斑狼疮(SLE)是自身免疫介导的, 以免疫炎症为突出临床表现的, 多因素引起的, 累及多器官的自身免疫性疾病(AID)。患者 B 淋巴细胞活化, 血液中出现多种自身抗体。目前, 检测自身抗体的主要方法是间接免疫荧光法(IIF)和线性免疫印迹法(LIA)。这两种方法联合检测可以准确、及时地为临床提供可靠数据。本研究选取了 78 例 SLE 确诊患者作为研究对象, 采用 IIF 检测抗核抗体(ANA), LIA 法检测 15 种特异性自身抗体, 即抗可溶性抗原(ENA)抗体(抗-ENA)谱, 通过统计方法分析各指标及特定抗体组合的阳性率、抗-ENA 谱的特异度和敏感度, 探讨受检指标及指标组合对 SLE 的诊断价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 8 月至 2016 年 7 月于本院风湿科就诊或住院的 SLE 患者 78 例作为疾病研究组(SLE 组), 其他 AID 患者 60 例作为疾病对照组(其他 AID 组), 同期健康体检者 55 例作为健康对照组。纳入研究的 78 例 SLE 患者均符合 2009 年美国风湿病学会修订的 SLE 诊断标准<sup>[1]</sup>, 排除药物性狼疮、类风湿性关节炎、原发性干燥综合征、合并肿瘤者, 年龄 16~76, 平均(36.52±13.23)岁, 男 6 例、女 71 例, 男女比例 1:12。其他 AID 组 60 例, 年龄 17~72(39.56±12.68)岁, 其中男 7 例、女 53 例, 男女比例 1.00:7.6。其他 AID 组病例包括类风湿性关节炎 24 例、干燥综合征 20 例、系统性化症及硬皮病 6 例、皮炎 6 例、混合性结缔组织病 4 例, 分别参照相关

诊断标准进行诊断。健康对照组 50 例, 均为来自本院体检中心健康体检者, 年龄 16~68 岁, 平均(37.35±12.35)岁, 其中, 男 6 例、女 49 例, 男女比例为 1.00:8.2。3 组之间性别构成、年龄比较差异无统计学差异( $P > 0.05$ ), 具有可比性。

**1.2 仪器与试剂** 检测 ANA 和抗-ENA 谱抗体的试剂盒、EUROBlotMaser II 型和扫描分析判读软件(EUROScan)均为德国欧蒙医学诊断有限公司产品。检测 ANA 所用荧光显微镜为日本产 Olympus 公司 BX-51 型荧光显微镜。

## 1.3 方法

**1.3.1 标本采集** 于清晨抽取患者空腹静脉血 3~4 mL, 静置 15 min 后 4 000 r/min 离心 10 min 分离血清备用。当日未能立即检测的血清样本存放于 -20 °C 冰箱保存, 3 d 内检测。

**1.3.2 ANA 和抗-ENA 谱抗体检测** 采用 IIF 检测 ANA, ANA 基质片包括人喉癌上皮细胞(Hep-2)和灵长类肝组织切片。受检血清按 1:100、1:320、1:1 000、1:3 200 稀释后加入基质片反应区, 室温反应 30 min; 用磷酸盐缓冲溶液(PBS)冲洗后于 PBS 中浸泡 5 min, 取出, 加入异硫氰酸荧光素标记的抗人 IgG 抗体, 室温反应 30 min; 用磷酸盐缓冲溶液(PBS)冲洗后于 PBS 中再浸泡 5 min, 取出, 甘油封片; 用 490nm 波长激发光, 在荧光显微镜下观察 ANA 荧光及荧光核型, 以抗体滴度  $\geq 1:100$  为 ANA 检测阳性; 采用 LIA, 用免疫印迹仪(EUROBlotMaser II)检测抗-ENA 谱 15 种特异性自身抗体,

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 447698786@qq.com。