

- cancer on quality of life—the components and means for management [J]. *Gynecol Oncol*, 2007, 107(3): 572-577.
- [2] 耿建祥, 黄华艺, 刘建华, 等. HPV 感染疾病相关问题专家共识(2017)[J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(12): 1238-1241.
- [3] 王轶英, 王悦, 乔友林, 等. 中国宫颈癌筛查未来之路—细胞学初筛的弃或守[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2017, 33(3): 324-326.
- [4] HUH W K, AULT K A, CHELMOW D, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancerscreening: interim clinical guidance [J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 136(2): 178-182.
- [5] 李凌佳, 张胜, 刘彤云, 等. 人乳头瘤病毒分子流行病学及临床相关疾病诊疗进展[J]. *皮肤病与性病*, 2017, 39(1): 21-23.
- [6] 严鸣光, 殷卫兵. 高危型 HPV 基因型在门诊就诊人群中的分布特征[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2018, 10(1): 30-33.
- [7] 马莉, 丛笑, 卞美璐, 等. 高危型 HPV 分型检测作为子宫颈癌及其癌前病变初筛手段的探讨[J]. *中华妇产科杂志*, 2015, 50(4): 246-252.
- [8] 王珑, 吴霞, 谢爱华, 等. 赣南地区 1452 例女性宫颈重度炎症和 TCT 阳性患者人乳头瘤病毒(HPV)感染型别分析探讨[J]. *实验与检验医学*, 2017, 35(5): 791-793.
- [9] 夏艳, 金志军, 倪云翔, 等. 上海市人乳头瘤病毒感染及病毒分型与宫颈病变的探讨[J]. *第二军医大学学报*, 2017, 38(12): 1526-1531.
- [10] 林亚珍, 唐忠辉, 黄仲庆, 等. 漳州地区 HPV 感染的基因型分布特点与宫颈病变的关系[J]. *山西医科大学学报*, 2014, 45(12): 1147-1150.
- [11] HARIRI S, BENNETT N M, NICCOLAI L M, et al. Reduction in HPV 16/18-associated high grade cervical lesions following HPV vaccine introduction in the United States-2008-2012[J]. *Vaccine*, 2015, 33(13): 1608-1613.
- [12] 姬川刚, 甘霖, 彭霖希, 等. 高危型 HPV 分型检测在宫颈疾病诊治中的应用价值[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2015, 7(6): 29-32.
- [13] 梁艳华, 毕超, 梁景耀, 等. 不同亚型 HPV 感染与女性宫颈疾病的相关性[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2017, 9(3): 196-200.
- [14] DUNNE E F, MARKOWITZ L E. Emerging Infections: Genital human papillomavirus infection [J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 43(5): 624-629.
- [15] ARK Y, LEE E, CHOI J, et al. Comparison of the abbot real time high-risk human papillomavirus (HPV), roche cobas HPV, and hybrid capture 2 assays to direct sequencing and genotyping of HPV DNA[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(7): 2359-2365.
- [16] 殷艳, 韦业平, 黄燕, 等. HPV 分型检测在宫颈细胞学阴性妇女宫颈病变诊断中的临床意义[J]. *山西医科大学学报*, 2016, 47(3): 281-284.

(收稿日期: 2018-09-27 修回日期: 2018-12-25)

• 短篇论著 •

德阳地区地中海贫血基因型分析

王 秀, 曹桂群, 文 强, 徐志红

(德阳市人民医院生殖遗传科, 四川德阳 618000)

摘要:目的 了解德阳地区地中海贫血(地贫)的基因型检出情况及分布特点。方法 对 2012 年 2 月至 2018 年 9 月该院就诊疑诊为地贫患者 2 498 例采用聚合酶链反应和反向斑点杂交技术进行地贫基因检测。结果 2 498 例疑诊患者中检出地贫基因携带者 1 537 例, 检出率为 61.53%, 共检出 41 种地贫基因突变类型, 其中 α 地贫 756 例, 占 49.19% (756/1 537); 前 4 位 α 地贫的基因型及构成比分别为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ [74.87% (566/756)]、 $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$ [12.70% (96/756)]、 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 合并 $-\alpha 3.7$ [3.70% (28/756)]、 $\alpha 4.2/\alpha\alpha$ [2.65% (20/756)]。 β 地贫 752 例, 占 48.93% (752/1 537), 检出前 4 位突变基因型及构成比分别是 CD41-42 [35.37% (266/752)]、IVS-2-654 [26.60% (200/752)]、CD17 [24.20% (182/752)]、-28 [5.98% (45/752)]; $\alpha\beta$ 复合型地贫 29 例, 占 1.89% (29/1 537), 主要以 CD41-42 合并 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 和 $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$ 为主。结论 德阳地区地贫基因的检出率较高且类型较多, α 地贫与 β 地贫携带率相接近, 分布具有区域性特点, 可为该地区地贫的诊疗与遗传咨询、产前诊断提供依据。

关键词:地中海贫血; 基因型; 聚合酶链反应; 四川**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.027**中图法分类号:**R556.6; R446.61**文章编号:**1673-4130(2019)10-1261-04**文献标识码:**B

地中海贫血(地贫)是一种常染色体隐性遗传病, 是由于编码珠蛋白的基因发生缺失或点突变, 使珠蛋

白链合成缺陷或不足所致的遗传性溶血性贫血。在我国主要以 α 地贫和 β 地贫最为常见^[1]。在长江以南地区,广东、广西、四川、海南等地发病率较高。由于重型 α 地贫患儿大多数在怀孕的中晚期宫内死亡,而重型 β 地贫患儿除定期输血、除铁治疗和造血干细胞移植外,尚无有效的治愈方法,只能通过生育前进行胎儿羊水细胞的地贫基因产前诊断,提早发现并终止妊娠,从而避免重型地贫患儿的出生^[2]。为初步了解德阳地区人群中 α 地贫和 β 地贫基因型的分布情况,本研究对 2 498 例疑似地贫患者进行了基因型分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 2 月至 2018 年 9 月本院门诊及住院部就诊的 2 498 例疑似地贫患者作为研究对象。血常规检测为小细胞低色素性贫血,以平均红细胞比容小于 80 fL,平均红细胞血红蛋白小于 27 pg 作为筛查依据^[3],部分患者为有地贫家族史,需进一步确诊者。其中男 462 例,女 2 036 例;年龄生后 5 h~84 岁。

1.2 样本采集与处理 采用枸橼酸钠抗凝管采集静脉全血 2 mL,及时按 DNA 提取试剂盒说明书的方法提取 DNA 检测或置于 -20 °C 冰箱冷冻保存并于 7 d 内提取 DNA 检测。

1.3 主要设备与检测试剂 主要设备为美国 BIO-RAD 定量扩增仪,凯普 HB 2012A 核酸分子杂交仪等。采用潮州凯普生物化学有限公司生产的血液基因 DNA 提取试剂盒(离心柱型)和 α/β 地贫基因检测试剂盒。

1.4 方法 采用聚合酶链反应(PCR)和反向斑点杂交技术进行地贫基因检测(PCR+导流杂交法),检测 3 种缺失型 α -地贫(-SEA、- α 3.7、- α 4.2)、3 种突变型 α -地贫(CS、QS、WS)及 17 个位点的 19 种突变型 β -地贫。 α/β 地贫基因扩增及检测采用凯普配套 DNA 提取试剂盒提取 DNA 基因组,提取的样本 DNA 进行 PCR 扩增,扩增产物进行导流杂交。杂交显色后人工肉眼判读,阳性结果为蓝紫色斑点。操作过程参照凯普地贫基因检测试剂说明书进行。

2 结果

2.1 地贫基因检出率 2 498 例疑似患者检出地贫基因携带者 1 537 例,检出率为 61.53%,共检出 41 种地贫基因突变类型,其中 α -地贫 756 例,占 49.19%(756/1 537), β -地贫 752 例,占 48.93%(752/1 537), $\alpha\beta$ 复合型地贫 29 例,占 1.89%(29/1 537)。

2.2 α 地贫的基因类型及其分布 756 例 α -地贫基因携带者中检出 13 种基因型,前 4 位 α -地贫的基因型及构成比分别为 -SEA/ $\alpha\alpha$ (74.87%)、- α 3.7/ $\alpha\alpha$

(12.70%)、-SEA/ $\alpha\alpha$ 合并 - α 3.7 (3.70%)、- α 4.2/ $\alpha\alpha$ (2.65%)。根据临床特点区分,静止型 145 例 (19.18%),标准型 571 例 (75.53%),中间型 40 例 (5.29%)。见表 1。

表 1 α -地贫基因型及构成比

基因型	n	表型	构成比(%)
-SEA/ $\alpha\alpha$	566	标准型	74.87
- α 3.7/ $\alpha\alpha$	96	静止型	12.70
- α 4.2/ $\alpha\alpha$	20	静止型	2.65
-SEA/- α 3.7	28	中间型	3.70
-SEA/- α 4.2	7	中间型	0.93
- α 3.7/- α 3.7	3	标准型	0.40
- α 3.7/- α 4.2	2	标准型	0.26
HbQs 突变	15	静止型	1.98
HbCs 突变	7	静止型	0.93
HbWs 突变	7	静止型	0.93
-SEA/ $\alpha\alpha$ 合并 HbCs 突变	3	中间型	0.40
- α 4.2/ $\alpha\alpha$ 合并 HbWs 突变	1	中间型	0.13
HbCs 突变 HbQs 突变	1	中间型	0.13
合计	756		100.00

2.3 β -地贫的基因类型及其分布 752 例 β -地贫基因突变类型以 CD41-42 (35.37%)、IVS-2-654 (26.60%)、CD17 (24.20%)、-28 (5.98%) 为主。其基因型和构成比见表 2。

表 2 β -地贫基因型及构成比

基因型	n	构成比(%)
CD41-42	266	35.37
IVS-2-654	200	26.60
CD17	182	24.20
-28	45	5.98
CD27-28	17	2.26
CD71-72	14	1.86
-29	10	1.33
CD43	7	0.93
CAP	2	0.27
β E	2	0.27
CD14-15	2	0.27
CD41-42/ β E	2	0.27
CD41-42/-28	1	0.13
CD27-28/ β E	1	0.13
CD27-28/CD27-28	1	0.13
合计	752	100.00

2.4 $\alpha\beta$ 复合地贫的基因类型 $\alpha\beta$ 复合地贫 29 例,

涉及 5 种 α -地贫基因突变类型和 5 种 β -地贫基因突变类型。复合型 α -地贫基因型以--SEA/ $\alpha\alpha$

(48.28%)、 $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$ (31.03%)为主, β -地贫基因突变类型多见于 CD41-42(58.62%)。见表 3。

表 3 $\alpha\beta$ 复合地贫基因型及构成比[n(%)]

β 基因型	n	--SEA/ $\alpha\alpha$	$-\alpha 3.7/\alpha\alpha$	$-\alpha 4.2/\alpha\alpha$	CS	CS 合并 WS
CD41-42	17	9(31.03)	5(17.24)	2(6.90)	0(0.00)	1(3.45)
CD17	7	2(6.90)	3(10.34)	1(3.45)	1(3.45)	0(0.00)
IVS-2-654	3	1(3.45)	1(3.45)	1(3.45)	0(0.00)	0(0.00)
CD43	1	1(3.45)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
-29	1	1(3.45)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
合计	29	14(48.28)	9(31.03)	4(13.79)	1(3.45)	1(3.45)

3 讨 论

地贫是全球分布最广、累及人群最多的一种单基因遗传病。在我国南方各地报道的地贫检出率为 2.50%~20.00% [4]。由于地贫基因携带率存在明显的地域差异,在不同种族、不同地域具有不同的分布特点,德阳地区 2 498 例疑诊患者检出地贫基因携带者 1 537 例,检出率为 61.53%, α -地贫检出率为 30.26%, β -地贫检出率为 30.10%, $\alpha\beta$ 复合地贫检出率为 1.16%,检出率明显高于四川自贡、遂宁、泸州地区等。 α 型和 β 型地贫基因阳性病例的比值为 1.01 : 1,较自贡(1.27 : 1)低,高于遂宁(0.58 : 1)、泸州(0.65 : 1)[5-7]。表明德阳地区地贫检出率较高, α 地贫与 β 地贫检出率相接近,与毗邻地区明显不同。

本研究 α 地贫 756 例,检出 13 种 α 地贫基因类型,主要以东南亚型(--SEA/ $\alpha\alpha$ 缺失型)为主(74.86%), $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$ 缺失型占 12.70%,--SEA/ $\alpha 3.7$ 缺失型占 3.70%, $-\alpha 4.2/\alpha\alpha$ 缺失型占 2.65%。德阳地区 α 地贫基因常见类型与贺钰磊等[8]报道的四川地区相似,但构成比稍有所不同。其中非缺失型比例为 3.97%,以 HbQS 突变占多数(15/30),这点又与四川地区、广东和广西地贫高发地区非缺失突变以 HbCS 突变占多数不同[8-10]。

本研究 β 地贫 752 例,检出 12 种突变基因类型,15 种基因组合形式,杂合突变为主。前 4 位依次为 CD 41-42、IVS-2-654、CD17、-28。这 4 类基因型总例数为 693 例,占 92.15%。德阳地区 β 地贫主要类型为 CD 41-42,与相关研究结果相似[5-6],与陈红英等[7]和唐敏等[11]报道的四川泸州地区和川南地区以 CD17 突变型为主有差异。

本研究 $\alpha\beta$ 复合型地贫 29 例(1.89%),13 种基因突变类型,与相关文献报道的自贡地区复合型地贫检出率为 2.06%相近[5]。 $\alpha\beta$ 复合地贫基因型以 β -地贫 CD41-42 复合 α -地贫--SEA/ $\alpha\alpha$ 和 $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$ 为主,可能与--SEA/ $\alpha\alpha$ 、 $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$ 与 CD41-42 在德阳地区地

贫基因型中最为常见有关。据文献报道, $\alpha\beta$ 复合型地贫患者无论与 α 或 β 地贫患者婚配,下一代均可能生出中或重型地贫患儿,如双方均为 $\alpha\beta$ 复合型地贫患者,生出重型患儿的概率将会大大提升[12]。

德阳地区人口历经“湖广填四川”、支援三线建设人群的迁移混杂,遗传背景复杂,地贫检出率较高且基因类型较多,共检出 41 种, α 地贫与 β 地贫携带率相接近,分布具有区域性特点。本研究较好地了解了德阳地区地贫的基因型检出情况及分布特点,为开展地贫的产前诊断提供了有益资料。因此,作为高发地区,积极开展地贫人群的基因检测,对夫妇双方均为地贫携带者或已生育过地贫儿的孕妇进行产前诊断,防止重型地贫儿出生是降低地贫发生率最有效的预防措施[8]。有效贯彻遗传咨询及产前诊断,对地贫的预防、诊治均具有十分重要的临床意义。

参考文献

- [1] 张之南,郝玉书,赵永强,等. 血液病学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2011:393-394.
- [2] LI D, LIAO C, LI J, et al. Prenatal diagnosis of β -thalassaemia in Southern China[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2006, 128(1/2): 81-85.
- [3] Sin S Y, Ghosh A, Tang L C, et al. Ten years' experience of antenatal mean corpuscular volume screening and prenatal diagnosis for thalassaemias in Hong Kong[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2000, 26(3): 203-208.
- [4] 王燕燕, 李晓辉, 徐西华. 地中海贫血诊治进展与我国现状[J]. 中国实用儿科杂志, 2013, 28(6): 473-476.
- [5] 万富明, 欧丽琼, 缪群英. 自贡地区地中海贫血基因分布特征分析[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(6): 833-835.
- [6] 李凤, 唐雪梅, 蒲泽晏, 等. 遂宁地区珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(24): 3533-3534.
- [7] 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(下转第 1280 页)

量 DNA 通过单细胞全基因扩增技术实现对胚胎染色体的全面筛查^[18], 将从胚胎上提取细胞的活检形式改成从培养液中提取 DNA, 保留了胚胎样本的完整性。相信随着科技的进步, PGS 和 PGD 会用于各种生殖遗传疾病方面的检测, 对罗氏易位携带者的 PGD 技术会越来越成熟和可靠。

参考文献

[1] WANG B, NIE B, TANG D et al. Analysis of meiotic segregation patterns and interchromosomal effects in sperm from 13 robertsonian translocations[J]. *Balkan J Med Genet*, 2017, 20(1): 43-50.

[2] XIE Y, XU Y, WANG J, et al. Preliminary analysis of numerical chromosome abnormalities in reciprocal and Robertsonian translocation preimplantation genetic diagnosis cases with 24-chromosomal analysis with an aCGH/SNP microarray[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2018, 35(1): 177-186.

[3] LAUDAT A, SERERO S, SERIDI I, et al. Trisomy 13 by robertsonian translocation rob (13;13)(q10;q10)+13: about one case[J]. *Ann Biol Clin(Paris)*, 2017, 75(6): 695-698.

[4] HUANG S, JUNEAU K, BOGARD P E et al. Identifying robertsonian translocation carriers by microarray-based DNA analysis[J]. *Fetal Diagn Ther*, 2016, 40(1): 59-62.

[5] 白文俊, 耿冲. 男性因素与复发性流产[J]. *实用妇产科杂志*, 2016, 32(2): 94-95.

[6] SHA J, LIU F, ZHANG B, et al. Next-generation sequencing and karyotype analysis for the diagnosis of robertsonian translocation type trisomy 13: a case report[J]. *Iran J Public Health*, 2017, 46(6): 848-851.

[7] 张月萍, 朱赛娟, 刘素英, 等. 胚胎植入前诊断中多轮荧光原位杂交效果及影响因素分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2013, 30(5): 522-527.

[8] BEYER C E, WILLATS E. Natural selection between day 3 and day 5/6 PGD embryos in couples with reciprocal or Robertsonian translocations[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2017, 34(11): 1483-1492.

[9] LUKASZUK K, PUKSZTA S, OCHMAN K, et al. Healthy baby born to a robertsonian translocation carrier

following next-generation sequencing-based preimplantation genetic diagnosis: a case report[J]. *AJP Rep*, 2015, 5(2): e172-175.

[10] YANG Z, LIN J, ZHANG J, et al. Randomized comparison of next-generation sequencing and array comparative genomic hybridization for preimplantation genetic screening: a pilot study[J]. *BMC Med Genomics*, 2015, 8: 30

[11] NISSON H, KILTZ R, CEKLENIAK N, et al. Miscarriage rate comparison of PGS cycles performed with array comparative genome hybridization (aCGH) and next generation sequencing (NGS) [J]. *Fertility and Sterility*, 2016, 106(3): e162.

[12] 张雯珂, 徐晓菲, 李敏, 等. 染色体易位携带者胚胎植入前遗传学诊断进展[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2015, 34(4): 324-327.

[13] XU J, ZHANG Z, NIU W, et al. Mapping allele with resolved carrier status of robertsonian and reciprocal translocation in human preimplantation embryos[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(41): E8695-8702.

[14] FRAGOULI E. Preimplantation genetic diagnosis: present and future[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2007, 24(6): 201-207.

[15] 徐宾, 加米拉·热扎克, 夏燕, 等. 维吾尔族罗伯逊易位型 21 三体综合征四例[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2016, 33(3): 427.

[16] LIEBAERS I, DESMYTTERE S, VERPOEST W, et al. Report on a consecutive series of 581 children born after blastomere biopsy for preimplantation genetic diagnosis [J]. *Hum Reprod*, 2010, 25(1): 275-282.

[17] SCHENDELAAR P, MIDDELBURG K J, BOS A F, et al. The effect of preimplantation genetic screening on neurological, cognitive and behavioural development in 4-year-old children: follow-up of a RCT[J]. *Hum Reprod*, 2013, 28(6): 1508-1518.

[18] XU J, FANG R, CHEN L, et al. Noninvasive chromosome screening of human embryos by genome sequencing of embryo culture medium for in vitro fertilization[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(42): 11907-11912.

(收稿日期: 2018-10-15 修回日期: 2019-01-28)

(上接第 1263 页)

国儿童保健杂志, 2013, 21(11): 1139-1141.

[8] 贺钰磊, 徐鸣, 谢雅梅, 等. 四川地区 α 地中海贫血基因检测结果及分布特征分析[J]. *四川医学* 2017, 28(11): 1303-1304.

[9] 张强, 范歆, 何升, 等. 广西地区缺失型 α 地中海贫血基因分布特征[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(10): 941-943.

[10] 曾瑞萍, 胡彬, 金龙金. 广东地区血红蛋白 H 病基因型分析及高危胎儿基因诊断[J]. *中华医学遗传学杂志*, 1996,

13(5): 266-268.

[11] 唐敏, 邓正华, 温先勇, 等. 川南地区 β 地中海贫血基因突变类型的分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(15): 2154-2155.

[12] 蔡永林, 郑裕明, 汤敏中, 等. β -地中海贫血复合缺失型 α -地中海贫血双重杂合子的分子检测及血液学分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2007, 15(1): 195-197.

(收稿日期: 2018-10-26 修回日期: 2019-01-14)