

• 论 著 •

云南德宏地区 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血 基因型与血液学特点分析*

桑国鑫^{1,2}, 黄 锐², 林克勤², 易 薇³, 孙 浩², 黄小琴², 马绍辉², 褚嘉祐², 杨昭庆^{2△}

(1. 昆明医科大学, 云南昆明 650500; 2. 中国医学科学院/北京协和医学院/医学生物学研究所医学遗传学
研究室, 云南昆明 650118; 3. 德宏傣族景颇族自治州人民医院检验科, 云南德宏 678402)

摘 要:目的 分析 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血(下称地贫)的基因型与血液学特点。方法 对云南德宏地区 427 例 $\alpha\beta$ 复合型地贫患者及 989 例对照组单纯 β 地贫患者进行血常规检测和常见地贫基因突变检测。结果 427 例 $\alpha\beta$ 复合型地贫患者中共检出 11 种突变类型和 38 种基因型。突变类型以 $-\alpha^{3.7}$ 和 β^{CD26} 突变为主, 基因型以 $-\alpha^{3.7}/\beta^{CD26}$ 型为主。在 $\alpha\beta$ 复合地贫中, β^+/β^A 复合单个 α 基因缺陷时, 其平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)高于单纯 β^+/β^A 型地贫。 β^+/β^A 复合 2 个或 3 个 α 基因缺陷时, 其血红蛋白、MCV、MCH 低于单纯 β^+/β^A 型地贫。 β^0/β^A 复合 3 个 α 基因缺陷时, 其 MCV、MCH 低于单纯 β^0/β^A 型地贫。结论 云南德宏地区的 $\alpha\beta$ 复合型地贫基因型存在显著的异质性, 突变谱复杂多样, 其血液学表型异质性与构成它的 α 、 β 突变类型及其相互作用有关。由于地贫高发区的 $\alpha\beta$ 复合型地贫患者在婚育中具有较高的生育重度地贫患儿的风险, 建议加强筛查和遗传咨询。

关键词: 珠蛋白生成障碍性贫血; 复合突变; 基因型; 血液学表型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.13.008 **中图法分类号:**R556.7

文章编号:1673-4130(2020)13-1568-04 **文献标识码:**A

Analysis of genotype and hematological characteristics of $\alpha\beta$ compound thalassemia in Dehong area in Yunnan*

SANG Guoxin^{1,2}, HUANG Kai², LIN Kegin², YI Wei³, SUN Hao², HUANG Xiaoqin²,
MA Shaohui², CHU Jiayou², YANG Zhaoqing^{2△}

(1. Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650500, China; 2. Department of Medical
Genetics Laboratory, Chinese Academy of Medical Sciences/Peking Union Medical
College/Institute of Medical Biology, Kunming, Yunnan 650118, China; 3. Department of Clinical
Laboratory, People's Hospital of Dehong Dai Jingpo Autonomus
Prefecture, Dehong, Yunnan 678402, China)

Abstract: Objective To analyze the genotype and hematological characteristics of $\alpha\beta$ compound thalassemia. **Methods** Blood routine and common thalassemia gene mutation were detected in 427 patients with $\alpha\beta$ compound thalassemia and 989 patients with β -thalassemia in Dehong area in Yunnan. **Results** A total of 11 mutation types and 38 genotypes were detected in 427 patients with $\alpha\beta$ compound thalassemia. The mutation types were mainly $-\alpha^{3.7}$ and β^{CD26} , the most common genotype was $-\alpha^{3.7}/\beta^{CD26}$. In the $\alpha\beta$ compound thalassemia, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) values in β^+/β^A thalassemia with one α globin gene deletion were significantly higher than those in individuals with normal α -globin genotype. hemoglobin, MCV and MCH values in β^+/β^A thalassemia with two or three α globin gene deletion were significantly lower than those in individuals with normal α -globin genotype. MCV and MCH values in β^0/β^A thalassemia with three α globin gene deletion were significantly lower than those in individuals with normal α -globin genotype. **Conclusion** The $\alpha\beta$ compound thalassemia genotype has regional heterogeneity, and the mutation spectrum is complex and diverse in Dehong area in Yunnan. The hematological characteristics of $\alpha\beta$ compound thalassemia are related to the mutation types of α and β gene. Patients with $\alpha\beta$ compound thalassemia have a relatively high probability of giving birth to children with moderate and severe thalassemia, so it is suggested that

* 基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFC1201704);云南省应用基础研究计划重点项目(2016FA048)。

作者简介:桑国鑫,女,硕士研究生在读,主要从事血红蛋白病的分子遗传学机制研究。△ 通信作者,E-mail:zyang@imbcams.com.cn。

本文引用格式:桑国鑫,黄锐,林克勤,等.云南德宏地区 $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血基因型与血液学特点分析[J].国际检验医学杂志,2020,41(13):1568-1571.

the areas with high incidence of thalassemia pay more attention to the screening of $\alpha\beta$ compound thalassemia.

Key words: thalassemia; compound mutation; genotype; hematological indicators

珠蛋白生成障碍性贫血(下称地贫)是世界范围内最常见的遗传性疾病之一,是由于珠蛋白基因缺陷影响红细胞膜的功能和稳定性的一类溶血性贫血^[1-2]。我国南方是地贫的流行地区,一些地区的人群中有较高的基因突变携带率,尤其是在云南西南部, $\alpha\beta$ 复合型地贫比例上升^[3-5],当 $\alpha\beta$ 复合型地贫患者与单纯 α 地贫患者或 β 地贫患者婚配,可能生育中间型或重型地贫患儿,父母均为 $\alpha\beta$ 复合型地贫患者时,生育重型患儿的可能性更大^[6]。有研究表明 $\alpha\beta$ 复合型地贫临床严重程度与 α 基因缺陷的数量和 β 基因突变类型密切相关^[7-9]。而目前我国不同地区 $\alpha\beta$ 复合型地贫血液学特点的数据还相对较少,明显制约了对该类疾病的临床诊疗和遗传咨询。本文对云南德宏地区 $\alpha\beta$ 复合型地贫患者的基因型和血液学指标进行研究分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象来源于2014—2018年在云南省德宏傣族景颇族自治州人民医院就诊的 $\alpha\beta$ 地贫患者,排除血液学特点复杂的新生儿和儿童患者,选择年龄在18~60岁的1 416例地贫患者为研究对象,将纳入的地贫患者分为试验组和对照组,其中试验组427例,同时含有 α 地贫突变和 β 地贫突变;对照组989例,仅含有 β 地贫突变。研究中样本和数据的采集按照知情同意原则进行。

1.2 方法

1.2.1 血常规检查 获取2 mL乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝静脉血,血常规各项指标采用XT-1800i全自动血细胞分析仪(Sysmex公司,日本)检测。

1.2.2 地贫常见基因突变检测 从患者静脉血中提取DNA,采用地贫(α/β)基因检测试剂盒(PCR-流式荧光杂交法,达安基因,广州),基于Magpix液态悬浮

芯片检测平台(Luminex,美国)检测23种地贫基因突变。包括--^{SEA}、- $\alpha^{3.7}$ 、- $\alpha^{4.2}$ 、 α^{WS} 、 α^{QS} 、 α^{CS} 、 $\beta^{CD41-42}$ 、 $\beta^{IVS-II-654}$ 、 β^{CD17} 、 β^{28} 、 β^{CD26} 、 $\beta^{CD71-72}$ 、 β^{CD43} 、 β^{29} 、 β^{Int} 、 $\beta^{CD14-15}$ 、 $\beta^{CD27-28}$ 、 β^{32} 、 β^{30} 、 $\beta^{IVS-I-1}$ 、 $\beta^{IVS-I-5}$ 、 β^{CD31} 和 β^{Cap} 。

1.3 统计学处理 采用SPSS24处理数据,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 $\alpha\beta$ 复合型地贫的基因突变类型及构成比 在427例 $\alpha\beta$ 复合型地贫中,共检出5种 α 突变类型,最常见的是- $\alpha^{3.7}$ (69.00%),其次为--^{SEA}(17.00%) and α^{CS} (9.70%);检出6种 β 突变类型,最常见的是 β^{CD26} (85.70%),其次为 β^{CD17} (5.90%)和 $\beta^{CD41-42}$ (4.80%)。见表1。

2.2 $\alpha\beta$ 复合型地贫的基因型 共检测出38种基因型,其中- $\alpha^{3.7}/\beta^{CD26}$ 基因型最常见(49.20%),其次分别为--^{SEA}/ β^{CD26} (8.70%)和 $\alpha\alpha^{CS}/\beta^{CD26}$ (6.60%)。见表2。

表 1 427 例 $\alpha\beta$ 复合型地贫的突变类型及构成比

类型	突变	n	构成比(%)
β -地贫	β^{CD26} (G>A) (HBB;c. 79G>A)	394	85.70
	β^{CD17} (A>T) (HBB;c. 52A>T)	27	5.90
	$\beta^{CD41-42}$ (-TCTT) (HBB;c. 126_129delCTTT)	22	4.80
	$\beta^{CD71/72}$ (+A) (HBB;c. 216_217insA)	8	1.70
	$\beta^{IVS-II-654}$ (C>T) (HBB;c. 316-197C>T)	6	1.30
	β^{28} (A>G) (HBB;c. -78A>C)	3	0.65
	β 等位基因总数	460	100.00
α -地贫	- $\alpha^{3.7}$	341	69.00
	-- ^{SEA}	82	17.00
	α^{CS}	48	9.70
	α^{WS}	13	2.60
	- $\alpha^{4.2}$	9	1.80
	α 等位基因总数	493	100.00

表 2 427 例 $\alpha\beta$ 复合型地贫的基因型(n)

突变类型	基因型	β^+/β^A			β^0/β^A			β^+/β^+		β^+/β^0			总计
		CD26	-28	IVS-II-654	CD17	CD41-42	CD71-72	CD26- CD26	CD26/IVS- II-654	CD26/ CD41-42	CD26/ CD17	CD26/ CD71-72	
- $\alpha/\alpha\alpha$	- $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	210	3	2	12	12	4	14	1	1	3	2	264
	- $\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6
$\alpha^T/\alpha\alpha$	$\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$	28	—	—	4	—	—	4	—	—	—	—	36
	$\alpha\alpha^{WS}/\alpha\alpha$	9	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	10
-/ $\alpha\alpha$	$\alpha\alpha/--^{SEA}$	37	—	1	6	4	—	3	—	—	—	—	51
	- $\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	20	—	1	—	1	1	1	—	—	—	—	24
	- $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha^{CS}$	4	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	6
	- $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha^{WS}$	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
-/- α	- $\alpha^{3.7}/--^{SEA}$	17	—	1	—	3	—	—	—	—	—	—	21
	$\alpha\alpha^{CS}/--^{SEA}$	5	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	6
	$\alpha\alpha^{WS}/--^{SEA}$	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1
总计		338	3	5	24	21	6	23	1	1	3	2	427

注:- $\alpha/\alpha\alpha$ 表示1个 α 基因缺失; $\alpha^T/\alpha\alpha$ 表示1个 α 基因突变;-/ $\alpha\alpha$ 表示2个 α 基因缺失或突变;-/- α 表示3个 α 基因缺失或突变; β^+ 表示 β 链部分合成; β^0 表示 β 链完全不能合成;-表示无数据。

表 3 αβ 复合型地贫的血液学特点($\bar{x}\pm s$)

β 突变类型	α 突变类型	n	血红蛋白(g/L)	红细胞($\times 10^{12}$ /L)	MCV(fL)	MCH(pg)
β ⁺ /β ^A	-α/αα	221	122.28±25.52	4.73±0.88	78.01±7.73 ^a	25.92±3.07 ^a
	α ^T α/αα	37	118.00±24.88	4.63±0.93	77.76±6.96 ^a	25.61±2.70 ^a
	--/αα	65	108.74±27.16 ^a	4.99±1.08	67.73±7.77 ^a	21.82±3.34 ^a
	--/-α	23	85.70±23.90 ^a	4.89±1.35	58.30±12.68 ^a	18.10±4.21 ^a
	αα/αα	772	121.47±23.84	4.85±0.88	75.68±6.44	25.12±2.61
β ⁰ /β ^A	-α/αα	28	104.50±23.60	5.04±0.97	65.46±5.01	20.65±2.21
	α ^T α/αα	5	98.20±14.32	4.92±0.64	62.22±2.95	19.92±0.92
	--/αα	13	111.85±34.71	5.24±1.45	65.37±8.14	21.35±2.46
	--/-α	5	95.20±8.14	5.53±0.75	55.16±6.46 ^a	17.40±2.19 ^a
	αα/αα	147	100.19±23.17	4.97±1.10	63.70±7.29	20.24±2.60
β ⁺ /β ⁺	-α/αα	15	100.27±29.89	4.79±1.09	63.13±8.16	20.83±3.29
	α ^T α/αα	4	117.00±16.33	5.67±0.66	60.18±2.48	20.60±0.53
	--/αα	5	106.40±12.74	4.78±0.55	66.30±9.83	22.44±2.89
	αα/αα	37	108.32±23.87	5.08±1.16	62.88±5.55	21.46±2.57
β ⁺ /β ⁰	-α/αα	6	79.00±16.28	4.06±0.52	59.18±6.66	19.35±2.31
	αα/αα	33	70.73±22.75	3.39±0.92	68.22±8.45	20.95±3.45

注:β⁺/β^A组、β⁰/β^A组、β⁺/β⁺组、β⁺/β⁰组中,与基因型αα/αα比较,^a*P*<0.05。

2.3 αβ 复合型地贫的血液学特点 将 αβ 复合型地贫按照其 β 地贫突变类型的不同分为 4 组(β⁺/β^A 组、β⁰/β^A 组、β⁺/β⁺组、β⁺/β⁰组),各组内不同 α 突变类型分别与 αα/αα 突变类型(即仅含有 β 突变的对照组)进行比较,结果显示 β⁺/β^A 合并-α/αα、α^Tα/αα 时,平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)高于单纯 β⁺/β^A 组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。β⁺/β^A 合并--/αα、--/-α 时,血红蛋白、MCV、MCH 明显低于单纯 β⁺/β^A 组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。β⁰/β^A 合并--/-α 时,MCV、MCH 明显低于单纯 β⁰/β^A 组,差异有统计学意义(*P*<0.05)。其余复合型地贫的血液学指标与仅含 β 突变的对照组(即 α 突变类型为 αα/αα)比较,差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 3。

3 讨 论

本研究对云南德宏地区 αβ 复合型地贫的基因突变类型和基因型进行了分析,共检出 11 种突变类型,38 种基因型。除了单一 α 突变复合单一 β 突变(78.80%)、单一 α 突变复合复合 β 突变(6.50%)、复合 α 突变复合单一 β 突变(13.50%)、还发现 2 例罕见的 4 个突变类型共存的基因型(-α^{3.7}/-α^{3.7} 复合 β^{CD26}/β^{CD26}、-α^{3.7}/α^{CS}α 复合 β^{CD26}/β^{CD26}),表明云南德宏地区的 αβ 复合型地贫具有明显的遗传异质性。本研究中云南德宏地区 αβ 复合型地贫以-α^{3.7} 和 β^{CD26} 突变为 主,这与该地的地贫分子流行病学特征相符^[4,10]。在我国其他地区,β 地贫突变类型 90% 以上为 β²⁸、β^{CD17}、β^{CD41-42}、β^{CD71-72}、β^{IVS-II-654}^[11],而 β^{CD26} 突变在我国云南地区及相邻的东南亚地区高发,这可能与恶性疟原虫的

自然选择作用有关^[4]。本研究中 αβ 复合型地贫常见的基因型为-α^{3.7}/β^{CD26},与广西、广东和海南地区常见的基因型--SEA/β^{CD41-42}、--SEA/β^{CD41-42} 和-α^{3.7}/β^{CD41-42} 有所不同,这主要是因为各地区人群中 α 地贫和 β 地贫的突变谱及构成比不同^[12-14]。本研究结果表明 αβ 复合型地贫的突变谱和基因型存在地域异质性,与各地区的珠蛋白基因突变分子流行病学特征有关。

本研究结果显示 αβ 复合型地贫的血液学特征与 α 基因的缺陷个数及具体的 β 突变类型有关,当 β⁺/β^A 型复合单个 α 基因缺陷(缺失突变和点突变)时,MCV、MCH 升高,这与以前的研究结果一致^[15]。而 β⁰/β^A 型复合单个 α 基因缺陷时,MCV、MCH 差异无统计学意义(*P*>0.05),这可能是由于 α 链和 β 链的合成减少,缓解了 α 链和 β 链的不平衡程度,从而影响血液学指标^[16-17]。但这种不平衡缓解的能力是有限的,当 β 链的合成严重减少时,单个 α 基因异常对其血液学指标的影响不明显。β⁺/β^A 型复合 2 个 α 基因异常时,各研究中 MCV、MCH 的变化情况不一致,在伊朗人群中发现其 MCV、MCH 高于单纯 β 地贫^[17]。在泰国人群中发现 β²⁸ 地贫杂合子(β⁺/β^A 型)合并 2 个 α 基因异常时,其 MCV、MCH 与单纯的 β 地贫杂合子差异无统计学意义(*P*>0.05)^[15];而当 β^{CD26} 突变(β⁺/β^A 型)复合 2 个 α 基因异常时,其 MCV、MCH 低于单纯 β 地贫杂合子^[8],这与本研究结果相似。本研究中 β^{CD26} 突变在 β⁺/β^A 型中占 97.69%,β⁺/β^A 型合并 2 个 α 基因异常时,其血红蛋白、MCV、MCH 低于单纯 β⁺/β^A 组。这表明各研究结果的不一致可能与地理人群以及 β⁺/β^A 的具体基

因型有关,进一步表明 $\alpha\beta$ 复合型地贫的血液学特点存在较大异质性,与构成它的 α 、 β 突变类型及其相互作用有关。

本研究结果显示, $\alpha\beta$ 复合型地贫的 MCV、MCH 的均值在地贫的血液学筛查异常范围内($MCV < 82$ fL、 $MCH < 27$ pg),提示该筛查截断值在 $\alpha\beta$ 复合型地贫初筛过程中有较好的诊断价值。从表 3 可以看出 $-\alpha^{3.7}/\beta^{CD26}$ 型地贫虽然多表现为小细胞低色素,但并未表现出贫血,在临床上呈现无症状,在筛查和诊断时容易被忽略,并且在地贫流行区有较大概率与携带其他地贫突变型的人婚配而增加生育中、重型地贫患儿的风险。这提示在地贫高发区要重视 $\alpha\beta$ 复合型地贫的筛查并有针对性地制订合理的筛查和防控策略。因此建议在地贫高发区除了血液学常规检查外,对婚育人群尤其是妇女进行地贫基因突变检测,以降低漏检率,从而减少重症患儿的出生,降低当地的卫生经济负担。

4 结 论

本研究初步揭示了德宏地区 $\alpha\beta$ 复合型地贫患者的基因型与血液学特点,表明复合型地贫突变谱复杂多样、血液学特征存在较大异质性。除了珠蛋白基因突变类型以外,修饰基因等其他遗传因素以及营养和感染等环境因素均可对地贫的表型产生影响,这些因素对 $\alpha\beta$ 复合型地贫的基因型和表型特征的影响还需要进一步在不同地区和民族人群的更多样本中进行探讨和分析。建议在地贫高发区除了血液学常规检查外,对婚育人群尤其是妇女进行地贫基因突变检测,以降低漏检率,从而减少重症患儿的出生,降低当地的卫生经济负担。

参考文献

- [1] PERERA S, ALLEN A, SILVA I, et al. Genotype-phenotype association analysis identifies the role of alpha globin genes in modulating disease severity of beta thalassaemia intermedia in Sri Lanka[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):10116-10121.
- [2] XIE X M, LIU Y N, LI J, et al. A Kruppel-Like factor 1 gene mutation ameliorates the severity of beta-thalassaemia: a case report[J]. Hemoglobin, 2019, 29(6):1-3.
- [3] METTANANDA S, HIGGS D R. Molecular basis and genetic modifiers of thalassemia[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2018, 32(2):177-191.
- [4] 葛世军,禹崇飞,杨必清,等.云南省德宏地区 154 例珠蛋白生成障碍性贫血的基因型研究[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2014, 8(3):385-390.
- [5] 王秀,曹桂群,文强,等.德阳地区珠蛋白生成障碍性贫血基因型分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(10):1261-1263.
- [6] 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]. 国际生殖健康与计划生育杂志, 2015, 34(4):324-327.
- [7] ZHONG L, GAN X, XU L, et al. The phenomena of balanced effect between alpha-globin gene and of beta-globin gene[J]. BMC Med Genet, 2018, 19(1):145-149.
- [8] SANCHAISURIYA K, FUCHAROEN G, SAE-UNG N, et al. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of alpha-thalassemia in Thailand[J]. Ann Hematol, 2003, 82(10):612-616.
- [9] LI J, XIE X M, LIAO C, et al. Co-inheritance of alpha-thalassaemia and beta-thalassaemia in a prenatal screening population in mainland China[J]. J Med Screen, 2014, 21(4):167-171.
- [10] 黄铠,易薇,杨必清,等.傣族、水族和仫佬族人群的 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因突变分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(5):18-21.
- [11] 陈汉彪,尹爱华,张彦,等.高分辨率熔解曲线法检测中国 5 种常见 β -珠蛋白生成障碍性贫血突变[J]. 热带医学杂志, 2013, 13(5):602-605.
- [12] HE S, LI J, LI D, et al. Molecular characterization of alpha- and beta-thalassemia in the Yulin region of Southern China[J]. Gene, 2018, 655(3):61-64.
- [13] 周冰燚,赵文忠,李铭臻,等.广东地区 16336 例珠蛋白生成障碍性贫血初筛阳性样本基因型分析[J]. 中国医药导报, 2016, 13(32):73-77.
- [14] 李猛,项松鹤,丁一,等.中国海南省三亚地区珠蛋白生成障碍性贫血基因类型分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2018, 26(4):1146-1150.
- [15] YAMSRI S, SANCHAISURIYA K, FUCHAROEN G, et al. Genotype and phenotype characterizations in a large cohort of beta-thalassemia heterozygote with different forms of alpha-thalassemia in northeast Thailand [J]. Blood Cells Mol Dis, 2011, 47(2):120-124.
- [16] WEE Y C, TAN K L, KULDIP K, et al. Alpha-thalassaemia in association with beta-thalassaemia patients in Malaysia: a study on the co-inheritance of both disorders[J]. Community Genet, 2008, 11(3):129-134.
- [17] SALEH-GOHARI N, KHADEMI BAMI M, NIKBAKHT R, et al. Effects of alpha-thalassaemia mutations on the haematological parameters of beta-thalassaemia carriers[J]. J Clin Pathol, 2015, 68(7):562-566.

(收稿日期:2019-10-02 修回日期:2020-01-06)