贵州籍 α、β-地中海贫血患者的基因突变类型分析*

刘兴梅, 王茹蕾, 苏 莉, 李贵芳, 吴 娴, 黄盛文**
(贵州省人民医院 检验科, 贵州 贵阳 550002)

[摘 要] **目的:** 分析贵州籍 α、β-地中海贫血(地贫)患者的基因突变类型。**方法:** 收集平均红细胞体积(MCV)和平均血红蛋白含量(MCH)降低、或血红蛋白(Hb)电泳提示可能为 α-地贫或 β-地贫的贵州籍患者 1 406 例,应用跨越断裂位点聚合酶链反应(Gap-PCR)技术和反向杂交技术(reverse dot blot, RDB)分别检测 α、β-地贫患者的基因突变类型,并计算这些基因类型的分布频率。**结果:** 386 例 α-地贫患者、1 020 例 β-地贫患者及其基因携带者中,检出 12 种 α-地贫基因突变基因型和 8 种 β-地贫基因突变型;按分布频率,α-地贫基因突变基因型前 4 位依次为--sea/αα(65.54%)、$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$(16.32%)、$--sea/\alpha^{3.7}$(5.44%)和$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$(4.40%,β-地贫基因突变型前 4 位为 CD17/N(41.67%)、CD41-42/N(35.20%)、654-II/N(10.59%)和 CD17/CD17(3.63%)。**结论:** 贵州地区的 α、β-地贫突变谱与国内其他地区基本一致,突变类型以东南亚缺失型--sea、CD17 最常见。

[关键词] α 地中海贫血; β 地中海贫血; 基因突变; 基因型; 血红蛋白
[中图分类号] R556.61 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2018)07-0781-04
DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2018.07.008

Analysis of α, β-thalassemia Mutations in Guizhou

LIU Xingmei, WANG Rulei, SU Li, LI Guifang, WU Xian, HUANG Shengwen
(*Department of Laboratory Science, Guizhou People's Hospital, Guiyang 550002, Guizhou, China*)

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the types of α, β-thalassemia mutations in Guizhou. **Methods**: 1406 cases of α, β-thalassemia patients with lowered mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscle hemoglobin (MCH), together with Hb indication. Gap-polymerase chain reaction (Gap-PCR) and reverse dot blot hybridization (RDB) were adopted to detect three known α- and β-thalassemia mutations. Then distribution frequencies were analyzed. **Results**: Among 386 individuals with α-thalassemia and 1020 β-thalassemia patients, 12 α-thalassemia and 8 β-thalassemia major genotypes mutations were tested. The top four mutations of α-thalassemia are:--sea/αα(65.54%),$-\alpha3.7/\alpha\alpha$(16.32%),$--sea/\alpha3.7$ (5.44%) and $-\alpha4.2/\alpha\alpha$(4.40%); top four mutations of β-thalassemia are: CD17/N(41.67%),CD41-42/N(35.20%),654-II/N(10.59%) and CD17/CD17(3.63%). **Conclusion**: Spectrum of α, β-thalassemia in Guizhou is similar to those of other domestic regions, mutation type is manly the Southeast Asia Deletion, D-sea, CD17.

[**Key words**] α-thalassemia; β-thalassemia; gene mutation; genotype; hemoglobin

地中海贫血(简称地贫)是我国南方地区较常见的遗传病之一,在贵州地区发病率也较高。临床上常见的地贫有 α-地贫血和 β-地贫,可分为轻、中、重 3 种类型,重型地贫严重影响着患者的生活质量,甚至威胁生命,广东、海南等南方省份的重型地贫分子流行病学特征已有较多报道[1-3]。近年来,对贵州省部分地区的重型地贫分子流行病学的研究已有报道[4-5],但尚无较大样本的地贫基因突

*[基金项目]贵阳市科技计划项目[筑科合同(20151001)社 61 号]; 贵州省人民医院青年基金资助项目合同编号[GZSYQN(2016)14 号]
**通信作者 E-mail:hsw713@sina.com
网络出版时间:2018-07-18 网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20180718.1502.002.html

变类型的分析研究。本研究对贵州籍中386例α-地贫患者、1 020例β-地贫患者及其基因携带者基因型、基因频率进行调查，为贵州地区地贫的遗传咨询提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2010年09月～2015年10月平均红细胞体积(MCV)和平均血红蛋白含量(MCH)降低、血红蛋白(Hb)电泳提示可能为地贫的患者1 406例，均为贵州户籍，无亲缘关系，年龄0月～85岁。经基因检测确诊为α-地贫(386例)和β-地贫(1 020例)。本研究经医学伦理委员会审核及同意，患者均知晓本研究情况并签署知情同意书。

1.2 α、β-地贫筛查方法

取受检者EDTA-K_2抗凝血2 mL，采用红细胞指数分析、结合Hb结果进行筛查，MCV＜82 fL和(或)MCH＜27 pg，血清铁和铁蛋白正常者为地贫表型阳性。同时，血红蛋白A(HbA)≤2.5，或检出HbBarts或HbH，拟诊为α-地贫；或HbA≥2.5，拟诊为β-地贫。

1.3 基因诊断

取受检者EDTA-K_2抗凝血2 mL，提取DNA用于地贫基因诊断。基因诊断试剂购自深圳益生堂生物企业有限公司，PCR扩增采用E-Cycler TM 96仪(北京博奥生物有限公司)，PCR产物电泳结果用Syngene凝胶成像系统分析。应用跨越断裂位点聚合酶链反应(Gap-PCR)检测3种常见的α-珠蛋白基因缺失突变(--sea、$-\alpha^{4.2}$和$-\alpha^{3.7}$)，反向点杂交(reverse dot blot，RDB)技术检测3种常见的α珠蛋白基因点突变(α^{CS}、α^{QS}和α^{WS})；应用反向点杂交(reverse dot blot，RDB)技术检测中国人群中8种常见和9种少见β-地贫基因突变类型。突变类型为CD41-42(-CTTT)、IVS-Ⅱ-654(C＞T)、CD17(A＞T)、-28(A＞G)、CD71-72(＋A)、β^E(CD26 G＞A)、CD43(G＞T)、-29(A＞G)、CD27-28(＋C)、IVS-I-1(G＞T)、IVS-I-5(G＞C)、CD31(-C)、-30(T＞C)、-32(C＞A)、CD14-15(＋G)、Int(ATG＞AGG)及Cap(-AAAC)，操作步骤按试剂盒说明书进行。

2 结果

2.1 α-地贫基因检测结果

共检出386例α-地贫患者及其基因携带者，共检出12种α-地贫基因突变基因型，按分布频率从大到小依次为--sea/αα、$-\alpha^{3.7}$/αα、--sea/$\alpha^{3.7}$、$-\alpha^{4.2}$/αα、$-\alpha^{3.7}$/--sea、$\alpha^{cs}\alpha$/αα、$-\alpha^{3.7}$/$-\alpha^{3.7}$、--sea/$-\alpha^{4.2}$、$-\alpha^{3.7}$/$-\alpha^{4.2}$、--sea/$-\alpha^{cs}\alpha$、$\alpha^{QS}\alpha$/$\alpha^{QS}\alpha$和$-\alpha^{4.2}$/--sea；前4种突变类型较常见，所占比例为91.70%，后五种突变类型较少见，发病率低于2%，见表1。

表1 贵州籍386例α-地贫患者的突变基因型

Tab.1 Type distribution of gene mutations of 386 cases of α-thalassemia in Guizhou

突变基因型	α-地贫突变基因型	
	n	分布频率(%)
--sea/αα	253	65.54
$-\alpha^{3.7}$/αα	63	16.32
--sea/$\alpha^{3.7}$	21	5.44
$-\alpha^{4.2}$/αα	17	4.40
$-\alpha^{3.7}$/--sea	8	2.07
$\alpha^{cs}\alpha$/αα	8	2.07
$-\alpha^{3.7}$/$\alpha^{3.7}$	6	1.55
--sea/$\alpha^{4.2}$	5	1.30
$-\alpha^{3.7}$/$\alpha^{4.2}$	2	0.52
--sea/$\alpha^{cs}\alpha$	1	0.26
$-\alpha^{QS}\alpha$/αα$^{QS}\alpha$	1	0.26
$-\alpha^{4.2}$/--sea	1	0.26
合计	386	100.00

2.2 β-地贫基因检测结果

共检出1 020例β-地贫患者及其基因携带者中，有8种β-地贫基因突变型，依次为CD17/N(41.67%)、CD41-42/N(35.20%)、654-II/N(10.59%)、CD17/CD17(3.63%)、CD41-42/CD17(2.45%)、41-42/CD41-42(2.35%)、-28/N(2.25%)和CD71-72/N(1.86%)；前3种突变类型较常见，所占比例为78.24%，见表2。

表2 贵州籍1 020例β-地贫患者的突变基因型

Tab.2 Type distribution of gene mutations of 1 020 cases of β-thalassemia in Guizhou

突变基因型	β-地贫突变基因型	
	n	分布频率(%)
CD17/N	425	41.67
CD41-42/N	359	35.20
654-Ⅱ/N	108	10.59
CD17/CD17	37	3.63
CD41-42/CD17	25	2.45
CD41-42/CD41-42	24	2.35
-28/N	23	2.25
CD71-72/N	19	1.86

3　讨论

地贫是全世界最常见的遗传病之一，由 α 珠蛋白基因或 β 珠蛋白基因发生缺失或者点突变，导致 α 珠蛋白链或 β 珠蛋白链合成不足或完全不能合成而引起的遗传性溶血性贫血疾病。在我国南方，以广东、广西、云南、贵州和四川等省份为高发地区[6-9]，其中 α-地贫和 β-地贫基因携带率高达 15.35% 和 6.64% 。据报道，全球近 7% 的人口为地贫携带者，每年有 30～50 万患镰刀细胞贫血和地中海贫血的新生儿出生[10]。地贫的临床表现因基因缺陷的不同而有所差异，这对患者的治疗效果及预后具有一定的影响[11-12]。由于 α、β 珠蛋白肽链合成的减少或缺乏，导致红细胞内 HbA、HbA2 和 HbF 比例失调，最终导致贫血。因此，根据患者不同的 HbA2 和 HbF 含量可将地贫分为 α 型、β 型、δβ 型和 δ 型等，其中以 α-和 β-地贫较为常见。

α-地贫临床上分可为轻型、中间型和重型。轻型 α-地贫按 α 基因缺失的多少又可分为标准型 α-地贫（缺失两个 α 基因）和静止型 α-地贫（缺失 1 个 α 基因）。轻型 α-地贫可无任何临床症状，也可以无贫血或只轻度贫血，临床上容易漏诊。HbH 病属于中间型 α-地贫，其基因型为（-α/--）或为（α-/--），缺失 3 个 α 基因，仅可合成少量 α 链，β 链相对过多，多余的 β 链形成 β 链四聚体 β4，β4 即 HbH；此类患者临床表现差异大，有的贫血相当严重，有的病情较轻。α-地贫中最严重者为胎儿水肿综合征，基因型为（--/--），由于 4 个 α 基因完全不能合成 α 链，以至于 Hb Bart'S 氧亲和力高，释放给组织的氧很少，导致胎儿严重缺氧而全身水肿。胎儿患此症者大多于妊娠 30～40 周，平均 34 周时成为死胎或早产后不久即死亡。

β-地贫临床上分为轻型、中间型和重型。轻型 β-地贫多数患者症状不明显，无贫血或贫血较轻，可见小细胞、靶形红细胞及其他异形红细胞。中间型 β-地贫的临床症状、贫血程度鉴于轻型与重型之间。本病发病一般在 4 岁左右，贫血程度为慢性中度贫血，生长发育正常，脾中度肿大，红细胞异常较多见。重型 β-地贫是威胁生命的严重疾病，β 链几乎不能合成或合成很少。重型 β-地贫患者出生时与一般正常婴儿无异，血红蛋白成份主要是 HbF，HbA 减少不明显。但随着 r 链的合成量显著减少，出生约 6 个月后，患者即日渐苍白，出现黄疸、肝脾肿大、腹部膨隆、发育障碍以及智力迟钝等。重型 β-地贫病人可出现“愚样型面容”，形成原因与红细胞大量破坏，骨髓必须超常制造红细胞而使得骨髓腔扩大有关，患者贫血程度很严重，红细胞低色素明显、大小不等，形态上亦有明显异常。

贵州籍 386 例 α-地贫患者及其基因携带者中，共检出 12 种 α-地贫基因突变基因型，按分布频率依次为：--sea/αα（65.54%）、$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$（16.32%）、$--sea/\alpha^{3.7}$（5.44%）、$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$（4.40%）、$-\alpha^{3.7}/--sea$（2.07%）、$\alpha^{cs}\alpha/\alpha\alpha$（2.07%）、$-\alpha^{3.7}/\alpha^{3.7}$（1.55%）、$--sea/\alpha^{4.2}$（1.30%）、$-\alpha^{3.7}/\alpha^{4.2}$（0.52%）、$--sea/\alpha^{cs}\alpha$（0.26%）、$\alpha^{QS}\alpha/\alpha^{QS}\alpha$（0.26%）和 $-\alpha^{4.2}/--sea$（0.26%）；1 020 例 β-地贫患者及其基因携带者中，共检出 8 种 β-地贫基因突变型，依次为 CD17/N（41.67%）、CD41-42/N（35.20%）、654-II/N（10.59%）、CD17/CD17（3.63%）、CD41-42/CD17（2.45%）、CD41-42/CD41-42（2.35%）、-28/N（2.25%）和 CD71-72/N（1.86%）。以上结果表明，贵州地区 α-地贫以--sea/αα 发病率最高（65.54%），低于邻近同属福建闽北地区 82.67%[13]、广东东莞 73.30%[14] 和四川地区 78.80%[15]，高于云南 64.00%[16]、江西赣南地区 63.20%[17] 和重庆渝北区 5.77%[18]。中间型 α-地贫以 $--sea/\alpha^{3.7}$ 杂合型发病率最高（5.44%）。β-地贫以 CD17/N 发病率最高（41.67%），重型 β-地贫 CD17/CD17 发病率最高（3.63%）。浙江[19]、福建[13]、台湾[20]、江西[17] 以 IVS-II-654 最常见，南部的广东[14]、广西[21]、湖南[22] 和海南[23-24] 以 CD41-42 最常见，西部的重庆[25]、贵州和四川[26] 以 CDl7 最常见，西南部的云南以 βE（CD26）最常见[27]。

本研究对 386 例 α-地贫患者和 1 020 例 β-地贫患者及其基因携带者基因型进行分析，初步了解了贵州籍地贫患者的基因型，这有助于对该地区地贫危害性的评估，为有效防控重型地贫的出生缺陷提供基础数据。

4　参考文献

[1] 刘冬霞，刘玉线，黄美琼，等. 广东省清远地区地中海贫血基因分型情况分析[J]. 医学检验，2013，3（11）：93-95.

[2] 林华照，彭伟彬，马远珠，等. 广东省中重型地中海贫血患者疾病经济负担分析[J]. 医学研究生学报，

2015, 28(6):642 – 645
[3] 林向斌, 岑居荣, 李治亲, 等. 海南农村 347 对有中间型或重型地中海贫血遗传风险夫妇的相关情况调查分析[J]. 海南医学, 2014, (22):3397 – 3401.
[4] 单可人, 张惠, 何燕, 等. 贵阳地区重症 β-地中海贫血患儿及双亲基因突变型的分析[J]. 中华儿科杂志, 2002, 40(8): 493 – 495.
[5] 刘兴梅, 苏莉, 李贵芳, 等. 贵州地区重型 β-地中海贫血基因突变类型分析[J]. 贵阳医学院学报, 2016, 41(04):407 – 409,413.
[6] LI B, ZHANG X Z, YIN A H, et. al. High prevalence of thalassemia in migrant populations in Guangdong Province, China[J]. BMC Public Health, 2014, 14:905.
[7] HE S, QIN Q, YI S, et. al. Prevalence and genetic analysis of α- and β-thalassemia in Baise region, a multi-ethnic region in southern China[J]. Gene, 2017, 619:71 – 75.
[8] 贺静, 曾小红, 徐咏梅, 等. 中国云南汉族和傣族育龄人群的地中海贫血基因分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(1):150 – 156.
[9] HUANG S W, XU Y, LIU X M, et. al. The Prevalence and spectrum of α-thalassemia in Guizhou province of south China[J]. Hemoglobin, 2015, 39(4):260 – 3.
[10] YU X, YANG L Y, YANG H T, et. al. Molecular epidemiological investigation of thalassemia in the Chengdu region, Sichuan province, southwest China[J]. Hemoglobin, 2015, 39(6):393 – 397.
[11] 张瀚文, 朱宝生. 地中海贫血的治疗进展及预防[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(3):666 – 668.
[12] 江炎章. 广东省云浮地区女性和儿童地中海贫血基因分型情况分析[J]. 现代医院, 2018, 18(2):234 – 236,239.
[13] 罗娟莉, 陈小犊. 中国福建省闽北地区 470 例地中海贫血基因类型分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(2):540 – 545.
[14] 华仙丽, 李敬河, 梁爱芬, 等. 东莞地区 831 例地中海贫血基因检测结果分析[J]. 实验与检验医学, 2018,36(2):171 – 173.
[15] 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, 38(11):1304 – 1306.
[16] 张伟, 刘云春. 云南省人群地中海贫血基因突变特点的研究进展[J]. 生命科学仪器, 2017, 15(6):19 – 23,30.
[17] 刘萍, 黄俊高. 江西赣南地区 18 704 例地中海贫血产前筛查结果分析[J]. 中国现代医生, 2018, 56(6):16 – 19,23.
[18] 李琼. 某区 208 例地中海贫血基因检测结果的分析[J]. 中国医药指南, 2017, 15(32):166 – 167.
[19] 丁友法, 陈瑛, 王艳, 等. 浙江丽水地区 β-地中海贫血基因突变类型的研究[J]. 江西医学检验, 2005, 23: 508 – 509.
[20] LIN L I, LIN K S, LIN K H, et al. The Spectrum of beta-thalassemia mutations in Taiwan: Identification of a novelframeshift mutation [J]. Am JHumGenet, 1991, 48:809 – 812.
[21] 李燕, 黄善忠, 钟伟明. 广西贵港地区 β-地中海贫血基因突变类型与分布频率的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(3):325 – 326.
[22] 唐笑, 刘岱璿, 周梅华. 湖南地区地中海贫血基因检测结果及突变类型分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2017, 25(4):32 – 33 + 44.
[23] 张继业, 李晓娟, 符生苗. 海南省地中海贫血基因频率分析[J]. 海南医学, 2016, 27(8):1228 – 1230.
[24] 莫亚虹, 吴秀继. 海南地区 13 440 对育龄夫妇地中海贫血基因检测结果分析[J]. 中国热带医学, 2017, 17(12):1206 – 1209.
[25] 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]. 重庆医科大学学报, 2014, 39(5):694 – 697.
[26] 付月, 刘文君, 邓正华, 等. 四川泸州地区 228 例 0 ~ 18 岁地中海贫血患儿基因类型分析[J]. 现代预防医学, 2017, 44(7):1212 – 1216.
[27] 贺静, 曾小红, 徐咏梅, 等. 中国云南汉族和傣族育龄人群的地中海贫血基因分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(1):150 – 156.

(2018-03-26 收稿,2018-06-11 修回)
中文编辑: 文菁颖; 英文编辑: 赵 毅