

深圳市龙华区地中海贫血基因分型情况分析

吴文钦,熊成霞,蔡梦珊

(中山大学孙逸仙纪念医院检验科,广东 广州 510000)

摘要:目的 了解深圳市龙华区地中海贫血基因突变类型及分布状况,为该地区优生优育提供参考和指导。方法 收集2017年1月~2019年12月到深圳市龙华区人民医院进行地中海贫血筛查人群12898例,通过检测血常规,对红细胞平均体积(MCV)<80 fl和/或红细胞平均血红蛋白含量(MCH)<27 pg的标本通过血红蛋白电泳进行地中海贫血的初筛,初筛表型阳性者则进一步行地中海贫血基因诊断,分析基因诊断结果。结果 12,898例地中海贫血初筛阳性受检者3126例,阳性率为24.23%;基因诊断为地中海贫血905例,检出率为7.02%; α -地中海贫血547例,检出率为4.24%,常见缺失类型基因型为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{37}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{42}/\alpha\alpha$,分别占64.53%、20.48%、8.23%, $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 基因阳性率高于其它基因突变型,不同基因缺失型构成比较,差异有统计学意义($P<0.05$); β 地中海贫血基因突变324例,检出率为2.51%,共检出13种基因型,均为杂合子,其常见突变类型基因型为CD41-42、IVS-II-654、-28,分别占35.49%、24.69%、15.12%,CD41-42基因突变检出率高于其它基因突变型,不同基因突变类型检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$); α 、 β 复合型地中海贫血34例。结论 深圳市龙华区地中海贫血有一定的发病率,基因突变类型十分复杂,东南亚缺失型($-\text{SEA}/\alpha\alpha$)是 α -地中海贫血基因型中最为常见,而 β -地中海贫血中,以CD41-42突变和IVS-II-654突变最为常见,该地区 α 、 β 地中海贫血基因型构成排序基本符合广东省地中海贫血基因分布特点,应对该地区育龄人群开展地中海贫血相关知识宣传、加强孕前筛查以及产前诊断,促进优生优育。

关键词:地中海贫血;基因分型;基因诊断;基因突变

中图分类号:R446.11

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2021.14.039

文章编号:1006-1959(2021)14-0142-03

Analysis on the Genotyping of Thalassemia in Longhua District, Shenzhen

WU Wen-qin, XIONG Xu-xia, CAI Meng-shan

(Department of Laboratory Medicine, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510000, Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To understand the types and distribution of thalassemia gene mutations in Longhua District, Shenzhen, and provide reference and guidance for prenatal and postnatal care in this area. **Methods** A total of 12,898 patients who went to Shenzhen Longhua District People's Hospital for thalassemia screening from January 2017 to December 2019 were collected. Through blood routine testing, the specimens with mean red blood cell volume (MCV) <80 fl and/or mean red blood cell hemoglobin content (MCH) <27 pg were screened for thalassemia by hemoglobin electrophoresis. Those with a positive phenotype in the initial screening will be further diagnosed with thalassemia and the results of the genetic diagnosis will be analyzed. **Results** 12,898 cases of thalassemia were screened positive for 3126 cases, the positive rate was 24.23%; 905 cases of thalassemia were genetically diagnosed, and the detection rate was 7.02%; There were 547 cases of α -thalassemia, the detection rate was 4.24%, and the common deletion genotypes were $-\text{SEA}/\alpha\alpha$, $-\alpha^{37}/\alpha\alpha$, $-\alpha^{42}/\alpha\alpha$, which accounted for 64.53%, 20.48%, and 8.23%, respectively, $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ gene positive rate was higher than that of other gene mutation types, and the difference in composition of different gene deletion types was statistically significant ($P<0.05$); There were 324 cases of β -thalassemia gene mutations, with a detection rate of 2.51%. A total of 13 genotypes were detected, all of which were heterozygous. The common mutation types were CD41-42, IVS-II-654, -28, which accounted for 35.49%, 24.69%, and 15.12% respectively. The detection rate of CD41-42 gene mutation was higher than that of other gene mutation types and different gene mutation types. Compared with the detection rate, the difference was statistically significant ($P<0.05$); There were 34 cases of α and β complex thalassemia. **Conclusion** There is a certain incidence of thalassemia in Longhua District, Shenzhen, and the types of gene mutations are very complicated. The Southeast Asian deletion type ($-\text{SEA}/\alpha\alpha$) is the most common α -thalassemia genotype. Among β -thalassemias, CD41-42 mutations and IVS-II-654 mutations are the most common. The order of α and β -thalassemia genotypes in this area is basically in line with the characteristics of thalassemia gene distribution in Guangdong Province. The population of childbearing age in this area should carry out the promotion of thalassemia-related knowledge, strengthen pre-pregnancy screening and prenatal diagnosis, and promote prenatal and postnatal care.

Key words: Thalassemia; Genotyping; Genetic diagnosis; Gene mutation

地中海贫血(thalassemia)是常见的单基因遗传性、一组常染色体不完全显性遗传性疾病^[1],是由珠蛋白基因缺失或突变引起的珠蛋白肽链合成不平衡,导致血红蛋白中至少有一种珠蛋白合成缺乏或不足,引起贫血或溶血性疾病。依据珠蛋白链缺乏的种类进行命名和分类,将其分为 α 、 β 、 δ 、 γ 、 $\delta\beta$ 、 $\gamma\delta\beta$ 等6种类型,以 α -地中海贫血和 β -地中海贫血分布最广同时也最为常见^[2,3]。按珠蛋白链减少的程度分为完全无生成的 α^0 、 β^0 珠蛋白生成障碍性贫血,部分生成的 α^+ 、 β^+ 珠蛋白生成障碍性贫血。目前

可通过加强孕前筛查和产前诊断等相关手段来防止重症地中海贫血患儿的出生,但医学上还没有理想的治愈方法,所以加强地中海贫血相关知识的宣传,加强育龄人群开展地中海贫血筛查和产前诊断尤为重要^[4]。据报告^[5],地中海贫血在我国南方各省是高发地区,尤其是两广地区以及海南省发病率最高。深圳作为全国性经济中心和国际化城市,人口流动性大,外来人口占绝大多数,不同人群之间通婚导致该地区地中海贫血基因类型逐渐多元化。本研究通过对深圳市龙华区地区 α 与 β 地中海贫血基因突变类型基因分型情况的分析讨论,从而为本地区地中海贫血宣传、遗传咨询、孕前筛查以及产前诊断提供

作者简介:吴文钦(1994.9-),男,广东湛江人,本科,检验技师,主要从事生物化学、免疫学等相关基础研究

理论依据和相关指导,报道如下。

1 资料与办法

1.1 一般资料 收集2017年1月~2019年12月到深圳市龙华区人民医院进行地中海贫血筛查人群共12,898例,其中男性5982例,女性6916例,年龄19~40岁,平均年龄(27.47±6.54)岁。

1.2 方法

1.2.1 血细胞分析 采用日本希森美康(SYSMEX)XS-1000i血液分析仪检测血常规参数,MCV<80 fl和/或MCH<27 pg,为地中海贫血初筛阳性指标。

1.2.2 血红蛋白电泳分析 采用法国西比亚(SEBIA)高压液相毛细管电泳仪进行血红蛋白电泳分析,HbA₂≤2.5%,怀疑为α-地中海贫血基因携带者,进行α-地中海贫血基因诊断;HbA₂≥3.5%,HbF正常或者增高,怀疑为β-地中海贫血基因携带者,进行β-地中海贫血基因诊断。

1.2.3 初步筛查地中海贫血阳性判断标准 对MCV<80 fl和/或MCH<27 pg的标本进行地中海贫血初筛,若HbA₂和HbF结果中有一项或两项异常者均判为地中海贫血初筛阳性。

1.2.4 地中海贫血基因诊断 分为检测缺失型α-地中海贫血和突变β-地中海贫血基因型的方法。α-地中海贫血采用跨越断裂点技术(Gap-PCR),检测中国人群已知的三种α-地中海贫血常见缺失型突变:--SEA、-α^{4.2}、-α^{3.7}。采用PCR-膜反向点杂交技术(RDB-PCR)检测β-地中海贫血常见17种基因位点突变,即CD41-42、IVS-II-654、CD71-72、-28、CD17、βE、CD31、CD43、-32、-29、-30、CD27/28、IVS1-1、CD14-15、IVS1-5、CAP、Int。所有表型阳性标本均送至广州金域检验医学中心检测完成,并对地中海贫血基因分型情况进行回顾性分析。

1.3 统计学方法 采用SPSS 20.0统计学软件进行数据分析,计数资料以[n(%)]表示,行χ²检验,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血液筛查结果 12,898例筛查对象经血液学常规初筛疑似地中海贫血3126例,初筛阳性率为24.23%(3126/12,898),经地中海贫血基因确诊905

例,地中海贫血基因检出率为7.02%(905/12,898),其中α-地中海贫血547例,检出率为4.24%(547/12,898),β-地中海贫血324例,检出率为2.51%(324/12,898),αβ复合型地中海贫血34例,检出率为0.26%(34/12,898)。

2.2 地中海贫血基因诊断结果

2.2.1 α-地中海贫血基因突变类型分析 α-地中海贫血检出7种基因型,包括--SEA/αα、-α^{3.7}/αα、-α^{4.2}/αα、-α^{3.7}/--SEA、-α^{4.2}/--SEA、-α^{3.7}/-α^{4.2}和-α^{3.7}/-α^{3.7},其中--SEA/αα所占比例最高,其次为-α^{3.7}/αα和-α^{4.2}/αα,且--SEA/αα基因型阳性率高于其它基因突变型,不同基因缺失型构成比间比较,差异有统计学意义(P<0.05),见表1。

表1 α-地中海贫血基因突变类型及其构成比(n,%)

基因类型	n	构成比
α 杂合子		
--SEA/αα	353	64.53
-α ^{3.7} /αα	112	20.48
-α ^{4.2} /αα	45	8.23
α 双杂合子		
-α ^{3.7} /--SEA	18	3.29
-α ^{4.2} /--SEA	9	1.65
-α ^{3.7} /-α ^{4.2}	6	1.09
α 纯合子		
-α ^{3.7} /-α ^{3.7}	4	0.73

2.2.2 β-地中海贫血基因突变类型分析 β-地中海贫血共检出12种突变,13种基因型,均为杂合子,突变类型主要以CD41-42单突变杂合子为主,其次为IVS-II-654杂合子,CD41-42基因突变检出率高于其它基因突变型,不同基因突变类型检出率比较,差异有统计学意义(P<0.05),见表2。

2.2.3 αβ复合型地中海贫血基因突变类型分析 αβ复合型地中海贫血共检出17种基因型,以--SEA/αα/CD41-42、--SEA/αα/IVS-II-654联合突变为主,另外还检出两种罕见型--SEA/αα/βE、--SEA/αα/βE,CD41-42,αβ复合型地中海贫血基因突变类型及其构成比见表3。

表2 β-地中海贫血基因突变类型及其构成比(n,%)

基因类型	n	构成比	基因类型	n	构成比
CD41-42 杂合子	115	35.49	βE 杂合子	6	1.85
IVS-II-654 杂合子	80	24.69	CD43 杂合子	5	1.55
-28 杂合子	49	15.12	-29 杂合子	3	0.93
CD17 杂合子	25	7.71	CD14-15 杂合子	1	0.31
CD71-72 杂合子	19	5.86	CAP 杂合子	1	0.31
CD27/28 杂合子	11	3.40	βE,CD41-42 双重杂合子	1	0.31
IVS1-1 杂合子	8	2.47			

表3 $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血基因突变类型及其构成比(n, %)

基因类型	n	构成比	基因类型	n	构成比
$\alpha\beta$ 复合杂合子			$-\alpha^{37}/\alpha\alpha/CD17$	3	8.82
$--^{SEA}/\alpha\alpha/CD41-42$	5	14.72	$-\alpha^{37}/\alpha\alpha/IVS-II-654$	2	5.89
$--^{SEA}/\alpha\alpha/IVS-II-654$	4	11.76	$-\alpha^{37}/\alpha\alpha/-28$	2	5.89
$--^{SEA}/\alpha\alpha/CD71-72$	1	2.94	$-\alpha^{37}/\alpha\alpha/CD71-72$	1	2.94
$--^{SEA}/\alpha\alpha/-28$	1	2.94	$-\alpha^{42}/\alpha\alpha/CD41-42$	3	8.82
$--^{SEA}/\alpha\alpha/CD17$	3	8.82	$-\alpha^{42}/\alpha\alpha/CD17$	1	2.94
$--^{SEA}/\alpha\alpha/\beta E$	1	2.94	$-\alpha^{42}/\alpha\alpha/IVS-II-654$	1	2.94
$--^{SEA}/\alpha\alpha/-29$	1	2.94	双重杂合子		
$-\alpha^{37}/\alpha\alpha/IVS1-1$	1	2.94	$--^{SEA}/\alpha\alpha/\beta E, CD41-42$	1	2.94
$-\alpha^{37}/\alpha\alpha/CD41-42$	3	8.82			

3 讨论

根据 α 珠蛋白的异常情况,临床上可分为四种类型:1个 α 基因异常,称为 α -地中海贫血静止型,基因型为 $\alpha\alpha/\alpha-$,患者平时无症状,无异常血象的改变;2个 α 基因异常,称为 α -地中海贫血标准型,基因型为 $\alpha/-\alpha$,患者平常无明显症状或轻度贫血,血象为红细胞呈低色素小细胞;3个 α 基因异常,基因型为 $\alpha/-/-$,称为 HbH 病,患者表现有代偿性溶血性贫血症状,血象呈现小细胞低色素改变,血红蛋白电泳出现 HbH 和 Barts 带,大部分细胞中出现 HbH 包涵体;4个 α 基因异常,基因型为 $-/-/-$,称为胎儿水肿综合征(hydrops fetalis syndrome),亦称 Hb Barts 病,此类胎儿多死于宫内,或出生后数小时内死亡。 α -地中海贫血缺失型是我国主要类型,东南亚缺失型($--^{SEA}$)、左侧缺失($-\alpha^{42}$)和右侧缺失($-\alpha^{37}$)是我国最常见的 α -地中海贫血缺失类型^[6]。本研究共检出疑是地中海贫血 3126 例,地中海贫血基因确诊 905 例,地中海贫血筛查阳性率为 24.23%,基因诊断地中海贫血携带率为 7.02%。在 905 例地中海贫血患者中, α -地中海贫血 547 例, α -地中海贫血携带率为 4.24%,其中东南亚缺失型($--^{SEA}$)353 例,右侧缺失($-\alpha^{37}$)112 例,左侧缺失($-\alpha^{42}$)45 例,缺失型 HbH 病($--^{SEA}/\alpha^{37}$)18 例,缺失型 HbH 病($--^{SEA}/\alpha^{42}$)9 例,右、左侧缺失 α 双杂合子($-\alpha^{37}/-\alpha^{42}$)6 例,右侧缺失 α 纯合子 4 例。表明该地区 α -地中海贫血人群中以东南亚缺失型为主,占 α -地中海贫血的 64.53%,因而该地区育龄人群在进行相关婚前检查、孕前筛查以及产前诊断时,可将 α -地中海贫血的东南亚缺失型($--^{SEA}/\alpha\alpha$)作为孕检、产检等优生优育措施的重点监控对象。

β -地中海贫血患儿出生时一般无明显症状,多在婴儿时期发病,依据珠蛋白链合成受抑制情况,临床上可分四型:重型、中间型、轻型和遗传性胎儿 Hb 持续增多症。重型患者往往是 β 地中海贫血基因纯合子或双重杂合子,即两个 β 基因都发生突变。本研究共检出 β -地中海贫血 324 例, β 地中海贫血携带率为 2.51%,共检出 12 种突变,13 种基因型,

CD41-42 杂合子 115 例、IVS-II-654 杂合子 80 例、-28 杂合子 49 例、CD17 杂合子 25 例,共占 β -地中海贫血的 83.02%。因而可将 CD41-42 突变、IVS-II-654 突变、CD17 突变、-28 突变这 4 种突变类型作为该地区育龄人群 β -地中海贫血孕前筛查和产前诊断的重点监控对象。目前在医学上,地中海贫血尚无理想的治愈性手段,提倡育龄夫妇把地中海贫血作为孕前常规检测以主动发现阳性病例,防止纯合子患儿出生。另外,本研究还发现少数 $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血 34 例,检出率为 0.26%,占地中海贫血的 3.76%,共检出 17 种基因型,以 $--^{SEA}/\alpha\alpha/CD41-42$ 、 $--^{SEA}/\alpha\alpha/IVS-II-654$ 联合突变为主。这表明在深圳市龙华区地中海贫血有一定的发病率,地中海贫血基因突变类型多样且复杂,应加强孕前检查以及产前诊断,做到优生优育。

综上所述,深圳市龙华区 α 、 β 地中海贫血基因构成基本符合广东省地中海贫血基因分布特点,应对该地区育龄人群开展地中海贫血相关知识宣传、加强孕前筛查以及产前诊断,促进优生优育。

参考文献:

- [1]徐珊珊,李铭臻,周冰,等.广东省育龄夫妇地中海贫血的基因型分析[J].山西医药杂志,2020,49(23):3195-3197.
- [2]Pang W, Long J, Weng X, et al. Identification of Three Types of α -Thalassemia Deletion, $-\alpha^{21.9}$, $-\alpha^{2.4}$, and $--THAI$, and Their Frequencies, in One Family in the Population of Southern Guangxi Zhuang Autonomous Region, People's Republic of China[J]. Hemoglobin, 2018, 42(1):37-42.
- [3]李聪.血红蛋白电泳联合地中海贫血基因检测在地中海贫血早期诊断中的应用价值及准确性分析[J].中国社区医师, 2021, 37(1):95-96.
- [4]彭杨.地中海贫血基因诊断指导优生优育的价值研究[J].中国医药科学, 2018, 8(23):218-220.
- [5]张文新,于婷,孙楠,等.地中海贫血基因检测试剂盒抽验质量分析[J].分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(3):279-282, 304.
- [6]杨发达,高维鸿,梁丽笙,等.佛山市 9236 例孕产妇 301 型地中海贫血基因检测结果分析[J].分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(9):1147-1151.

收稿日期:2021-02-04;修回日期:2021-02-12

编辑/王朵梅