

杭州萧山地区地中海贫血基因突变类型分析

苏萍 周其良 王丽凤 楼洁 蔡文亮 陆任理 孙晓

【摘要】目的 分析杭州萧山地区地中海贫血患者基因检测结果,了解萧山地区地中海贫血基因突变类型。**方法** 选取 2016 年 4 月至 2020 年 8 月浙江萧山医院收治的疑似地中海贫血患者 358 例,采用 PCR+ 导流杂交法进行常规 α 、 β 地中海贫血基因检测。**结果** 358 例受检者经过基因检测确诊 236 例,阳性率为 65.92%。236 例中携带 α 地中海贫血基因 64 例, β 地中海贫血基因 168 例, α 合并 β 地中海贫血基因 4 例。64 例 α 地中海贫血基因中共检测出 4 种常见 α 地中海贫血等位基因,以东南亚缺失型 $\alpha\alpha/--SEA$ 基因最多共 53 例,占比为 82.81%。比较少见的 α 地中海贫血 2 基因型中非缺失型纯合子 $\alpha CS\alpha/\alpha CS\alpha$ 有 1 例。168 例 β 地中海贫血基因携带者共检测出 7 种常见 β 地中海贫血等位基因,以 CD41-42 基因型最多共 60 例,占比 35.71%。**结论** 杭州萧山地区地中海贫血基因突变类型中 α 地中海贫血等位基因以东南亚缺失型 $\alpha\alpha/--SEA$ 基因最多, β 地中海贫血等位基因以 CD41-42 基因最多; β 地中海贫血基因检出率明显高于 α 地中海贫血基因。

【关键词】 地中海贫血 基因类型 杭州萧山地区

Genotypes of α - and β -thalassemia detected in Hangzhou Xiaoshan area SU Ping, ZHOU Qiliang, WANG Lifeng, LOU Jie, CAI Wenliang, LU Renli, SUN Xiao. Department of Hematology, Zhejiang Xiaoshan Hospital, Hangzhou 311200, China
Corresponding author: SU Ping, E-mail: pingsu98322@163.com

【Abstract】Objective To analyze the genotypes of α - and β -thalassemia detected in Xiaoshan area of Hangzhou.
Methods A total of 358 patients with suspected thalassemia admitted to Zhejiang Xiaoshan Hospital from April 2016 to August 2020 were enrolled, the α - and β -thalassemia genes were detected by PCR and flow-through hybridization. **Results** The thalassemia genes were detected in 236 cases, with a positive rate of 65.92%. Among the 236 cases, 64 cases carried α -thalassemia gene, 168 cases carried β -thalassemia gene, and 4 cases carried α -thalassemia and β -thalassemia genes. Four common α -thalassemia alleles were detected in 64 cases of α -thalassemia, and the Southeast Asian type $\alpha\alpha/--sea$ gene was the most common allele (53 cases), accounting for 82.81%. Among 2 rare α -thalassemia genotypes, one was the non-deletion homozygous $\alpha CS\alpha/\alpha CS\alpha$. Seven common β -thalassemia alleles were detected in 168 β -thalassemia gene carriers, and CD41-42 genotype was the most common one (60 cases), accounting for 35.71%. **Conclusion** Among the thalassemia genotypes detected in Xiaoshan area of Hangzhou, the Southeast Asian deletion type $\alpha\alpha/--sea$ is the most common allele of α -thalassemia gene, and CD41-42 is the most common β -thalassemia allele. The detection rate of β -thalassemia gene is significantly higher than that of α -thalassemia gene.

【Key words】 Thalassemia Gene type Hangzhou Xiaoshan area

地中海贫血又称珠蛋白生成障碍性贫血,是由于珠蛋白基因突变或者缺失导致 α 和 β 珠蛋白生成障碍引起的单基因遗传性疾病^[1]。根据合成受阻的珠蛋白肽链类型,地中海贫血可分为 α 、 β 、 δ 、 $\delta\beta$ 、 $\gamma\beta$ 型,其中以 α 、 β

型最为常见^[2]。地中海贫血在我国长江以南地区多见,广西、广东和海南 3 省高发^[3-4]。随着社会经济的发展,杭州市萧山区外来常驻人口明显增多,人口结构重组,来院就诊的地中海贫血患者日益增多。浙江萧山医院于 2016 年起率先在萧山地区开展地中海贫血患者基因检测。本研究对近 4 年地中海贫血患者基因突变类型检测结果予以统计分析,以期为本地区地中海贫血临床诊疗和遗传咨询提供参考。

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2021.43.4.2020-3543

基金项目:杭州市萧山区重大科技计划项目(2020309)

作者单位:311200 浙江萧山医院血液内科

通信作者:苏萍, E-mail: pingsu98322@163.com

1 对象和方法

1.1 对象 2016 年 4 月至 2020 年 8 月在本医院就诊经初筛(红细胞平均体积 <80 fl,红细胞平均血红蛋白量 <27 pg 或有家族史)疑似地中海贫血患者 358 例,经基因检测确诊地中海贫血 236 例,其中男 65 例,女 171 例;年龄 0.6~82(27.5 $\pm$ 3.4)岁。

1.2 方法 常规采用无菌抗凝管(EDTA 抗凝管)抽取患者静脉血 2 ml,样本采集后立即送检。采用 PCR+导流杂交法对所有标本予以检测人抗凝静脉血样本中 3 种缺失性 α 地中海贫血(--SEA、 $-\alpha 3.7$ 、 $-\alpha 4.2$),3 种突变型 α 地中海贫血(CS、QS、WS)及 17 个位点的 19 种突变型 β 地中海贫血类型。PCR 试剂盒于 -20°C 储存,杂交试剂盒于 4°C 储存。采用生物素标记的引物同时对 α 珠蛋白基因缺失、基因突变区域和 β 珠蛋白基因突变区域进行特异性扩增,将扩增产物与标记不同缺失或突变类型地中海贫血探针的尼龙膜在导流杂交仪上进行导流杂交,然后通过化学显色对结果进行判读。

2 结果

2.1 地中海贫血患者检测结果 358 例初筛疑似患者中经基因检测确诊地中海贫血 236 例,检出率为 65.92%。236 例中 α 地中海贫血基因携带者 64 例, β 地中海贫血基因携带者 168 例, α 合并 β 地中海贫血基因携带者 4 例。

2.2 α -地中海贫血基因检测结果 64 例 α 地中海贫血基因携带者共检测出 4 种常见 α 地中海贫血等位基因,以东南亚缺失型 $\alpha\alpha$ --SEA 基因最多共 53 例,占比为 82.81%。其次是 α 地中海贫血 2 基因型 $\alpha\alpha$ -3.7 共 7 例,占比为 10.94%。再次是 α 地中海贫血 2 基因型 $\alpha\alpha$ -4.2(静止型)3 例,占比为 4.69%。比较少见的是 α 地中海贫血 2 基因型中检出 1 例非缺失型纯合子 $\alpha\text{CS}\alpha/\alpha\text{CS}\alpha$,占比为 1.56%。见表 1。

表 1 64 例 α 地中海贫血各基因型突变频率

基因型	<i>n</i>	占比(%)
$\alpha\alpha$ --SEA	53	82.81
$\alpha\alpha$ -3.7	7	10.94
$\alpha\alpha$ -4.2	3	4.69
$\alpha\text{CS}\alpha/\alpha\text{CS}\alpha$	1	1.56
合计	64	100.00

2.3 β 地中海贫血基因检测结果 168 例 β 地中海贫血基因携带者共检测出 7 种常见 β 地中海贫血等位基

因,以 CD41-42 基因型最多共 60 例,占比为 35.71%。其次是 IVS-II-654 基因型共 45 例,占比为 26.79%。再次是 CD17 基因型,占比为 25.00%。见表 2。

表 2 168 例 β 地中海贫血各基因型突变频率

基因型	<i>n</i>	占比(%)
CD41-42	60	35.71
-28	6	3.57
CD17	42	25.00
CD26	4	2.38
CD43	7	4.17
CD71-72	4	2.38
IVS-II-654	45	26.79
合计	168	100

2.4 α 合并 β 地中海贫血基因检测结果 236 例地中海贫血基因携带者中检出 α 合并 β 地中海贫血基因携带者 4 例,其中--SEA/ $\alpha\alpha$ 合并 CD41-41 为 2 例,--SEA/ $\alpha\alpha$ 合并 CD17 为 1 例, $\alpha\text{QS}\alpha/\alpha\alpha$ 合并 CD17 为 1 例。见表 3。

表 3 4 例 α 合并 β 地中海贫血基因突变类型(例)

地中海贫血基因类型	CD41-41	CD17
--SEA/ $\alpha\alpha$	2	1
$\alpha\text{QS}\alpha/\alpha\alpha$	0	1

2.5 地中海贫血患者出生地分布 236 例地中海贫血基因携带者中出生地以杭州市萧山区为最多,占比为 22.03%(52/236),其他地区前 3 位依次为广西省 34 例(14.41%),广东省 28 例(11.87%),四川省 20 例(8.47%)。见表 4。

表 4 236 例地中海贫血患者出生地分布

出生地	<i>n</i>	占比(%)
广西省	34	14.41
广东省	28	11.87
四川省	20	8.47
贵州省	19	8.05
云南省	19	8.05
安徽省	15	6.36
江苏省	9	3.81
江西省	9	3.81
河南省	8	3.39
湖南省	6	2.54
湖北省	5	2.12
陕西省	2	0.85
浙江省丽水市	10	4.24
浙江省杭州市萧山区	52	22.03
合计	236	100.00

3 讨论

地中海贫血是全球分布最广、累及人群最多的遗传性疾病之一。全球约有 5 亿人是地中海贫血基因携带者,为全球排名第 3 的出生缺陷性疾病。起初因被发现于地中海之滨的意大利和希腊而被命名,地域分布遍及非洲、地中海、中东和东南亚地区,尤其是在地中海和东南亚区域,其地理分布与疟疾抵抗区域相关^[5]。地中海贫血杂合子具有抵抗疟原虫感染和降低恶性疟疾严重程度的作用,是人类对抗疟疾而发生的基因突变,是自然选择的结果。

成人体内 Hb 由以下 3 种构成:HbA($\alpha_2\beta_2$)、HbF($\alpha_2\gamma_2$)和 HbA2($\alpha_2\delta_2$)。每种 Hb 都有 2 个 α 珠蛋白和 2 个非 α 珠蛋白肽链组成。地中海贫血由于 1 个或多个珠蛋白基因及其调控序列的点突变或缺失致使珠蛋白链合成率减低,导致珠蛋白链合成不平衡,Hb 生成缺陷的贫血或病理状态^[6]。人类 α 珠蛋白基因位于 16 号染色体,正常人自父母双方各继承 2 个 α 珠蛋白基因($\alpha\alpha/\alpha\alpha$)合成足够的 α 珠蛋白链,当由于 α 珠蛋白链生成障碍所致贫血时称之为 α 地中海贫血,大多数是由于 α 珠蛋白基因的缺失所致,少数由基因点突变造成。又因 α 珠蛋白基因缺失的程度不同, α 地中海贫血在临床表型中分为静止型($-\alpha/\alpha\alpha$)、标准型($---/\alpha\alpha$)、中间型($---/-\alpha$)和重型($---/---$,即 Hb Bart 胎儿水肿综合征)。静止型和轻型临床症状不明显,中重型地贫患者依赖输血治疗,给家庭及社会造成极大的经济及精神负担。重型 α 地中海贫血的胎儿在孕晚期会因严重贫血、水肿、肝脾肿大等死于宫内,或出生后数小时死亡。

人类 β 珠蛋白基因位于 11p15.5, β 珠蛋白链是由自父母双方各继承的 1 个 β 珠蛋白基因合成,当由于 β 珠蛋白链生成障碍所致贫血时称之为 β 地中海贫血,大多数是由于 β 珠蛋白基因的点突变所致,少数为基因缺失。根据 β 珠蛋白链合成情况,分为 β_0 和 β_+ 地中海贫血,前者指突变导致 β 链合成完全受阻,无 β 链合成;后者是指突变导致 β 链合成部分受阻,有少量 β 链合成。 β 地中海贫血根据临床表现可分为轻型、中间型、重型(Cooley 贫血)。重型的 β 地贫患儿出生后数月内发生慢性溶血性贫血,要靠定期输血维持,且生长发育严重受限,患儿生活质量极差。

本研究中 358 例受检者经过基因检测确诊 236 例,检出率为 65.92%(236/358)。236 例受检者中 α 地中海贫血基因携带者 64 例, β 地中海贫血基因携带者 168 例, α 合并 β 地中海贫血基因携带者 4 例。64 例 α 地中

海贫血基因中共检测出含有 4 种常见 α 地中海贫血等位基因,以东南亚缺失型 $\alpha\alpha/--SEA$ 基因最多,其次是 α 地中海贫血 2 基因型 $\alpha\alpha/-3.7$,再次是 α 地中海贫血 2 基因型 $\alpha\alpha/-4.2$ 。168 例 β -地中海贫血基因携带者共检测出 7 种常见 β 地中海贫血等位基因,以 CD41-42 基因型最多,其次是 IVS-II-654 基因型,再次是 CD17 基因型。以上数据显示 α 地中海贫血中以东南亚缺失型 $\alpha\alpha/--SEA$ 基因最为常见(82.81%), β 型地中海贫血中以 CD41-42 基因最为常见,与以往报道一致^[7], α 地中海贫血和 β 地中海贫血基因突变类型频率分布和中国南方地区基本一致^[8]。236 例地中海贫血基因携带者中,杭州市萧山区出生的占比为 22.03%,比较少见的 α 地中海贫血 2 基因型中非缺失型纯合子 $\alpha CS\alpha/\alpha CS\alpha$ 有 1 例,说明在临床工作中要高度重视并加强孕产妇的地中海贫血基因检测与筛选。

236 例地中海贫血受检者中 β 地中海贫血基因检出率明显高于 α 地中海贫血,与高发的广西省^[9]、广东省^[10]地区呈现相反的结果。但纵观浙江省内,丽水市畲族居民中 β 地中海贫血有较高的携带率^[11]。浙江省宁波市也有类似特点, β 地中海贫血基因检出率高于 α 型, β 地中海贫血基因类型中以 IVS-II-654 多见^[12]。浙江省湖州市的数据显示 β 地中海贫血基因高于全国平均水平,远高于当地的 α 地中海贫血阳性率^[13]。浙江省温州市的 β 地中海贫血检出率大于 α 地中海贫血,也是以 β 地中海贫血为主^[14]。以上数据均与吴蓓颖等^[15]研究上海市地中海贫血发病类型一致。本研究结果表明,杭州萧山地区的地中海贫血基因突变类型与省内其他地区及周边地区结果一致。除了可能是部分静止型 α 地中海贫血人群无贫血表现未就诊而未被发现,导致 α 地中海贫血检出率下降外,也说明遗传异质性所致的地域差异性很大。鉴于浙江省目前尚缺乏大样本地中海贫血基因统计数据,杭州市相关数据更是欠缺,本研究从区域性角度为本地区的地中海贫血临床诊疗和遗传咨询提供参考。

临床中,普通民众以及一些基层医院临床医师对地中海贫血认识尚不足,有时甚至把地中海贫血误当缺铁性贫血。另外,地中海贫血作为常染色体单基因隐性遗传疾病,与性别无关,无表征的地中海贫血基因携带者有可能会把地中海贫血遗传给子女,生出中间型或重型地中海贫血的孩子。对于这一点,大家的意识还不强。本院作为前身以妇幼保健院为主的大型综合性医院,有必要全面开展地中海贫血的基因筛查与检测。

目前地中海贫血没有有效的治疗手段,唯一能根治的方法是异基因造血干细胞移植,但花费高,风险大,中重型地中海贫血患儿的出生对家庭和社会都是沉重的负担,故当前的主要任务就是要预防和控制此类患儿的出生。规范化诊断筛查尤为必要^[16],血液学检查一般包括以下几点。(1)外周血涂片观察红细胞形态:靶形红细胞,嗜碱性点彩等。(2)红细胞参数:一般以红细胞平均体积、红细胞平均血红蛋白量为首选筛查指标,如红细胞平均体积 $<80\text{ fl}$ 或(和)红细胞平均血红蛋白量 $<27\text{ pg}$ 可作为地中海贫血的可疑指标之一。(3)红细胞渗透脆性试验:在低渗盐溶液中,其渗透脆性下降。(4)Hb电泳分析。(5)不稳定 Hb 检测:包括异丙醇试验,Hb H 包涵体试验等,用于 Hb H 病和其他异常 Hb 病的筛查。基因诊断是检测地中海贫血的金标准,随着地中海贫血基因的分子诊断技术的迅猛发展,无创性产前诊断技术可以检测母亲血浆胎儿游离 DNA 是否含有 β 地中海贫血突变基因,在患儿出生前进行有效的诊断与防治。

综上所述,在城市化发展的时代背景下,在临床工作中积极宣传地中海贫血知识,对相关人群,尤其是孕产妇和儿童,实行地中海贫血基因筛查和检测,早发现、早干预、对避免重型地中海贫血患儿的出生及提高出生人口质量有重要意义。

4 参考文献

- [1] 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.
- [2] 于霞, 朱静. 珠蛋白生成障碍性贫血的治疗进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(15): 1868-1871. DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.15.017.
- [3] Pingsen Z, Ruiqiang W, Heming W. Molecular Spectrum of α - and β -Thalassemia Mutations in a Large Ethnic Hakka Population in Southern China[J]. Hemoglobin, 2018, 42(2):117-121. DOI: 10.1080/03630269.2018.1470094.
- [4] Xie XM, Wu MY, Li DZ. Evidence of Selection for the α -Globin Gene Deletions and Triplications in a Southern Chinese Population[J]. Hemoglobin, 2015, 39(6):442-444. DOI:10.3109/03630269.2015.1072551.
- [5] McGann PT, Williams AM, Ellis G, et al. Prevalence of inherited blood disorders and associations with malaria and anemia in Malawian children[J]. 2018, 2(21): 3035-3044. DOI:10.1182/bloodadvances.2018023069.
- [6] Liaska A, Petrou P, Georgakopoulos CD, et al. β -Thalassemia and ocular implications: a systematic review[J]. BMC Ophthalmology, 2016, 16(1):102-115. DOI:10.1186/s12886-016-0285-2.
- [7] 周丽萍, 姜艳华. 孕期地中海贫血筛查的区域性现状分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 26(8):61-63.
- [8] 杨阳, 张杰. 中国南方地区地中海贫血研究进展[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(1):276-280. DOI:10.7534/j.issn.1009-2137.2017.01.050.
- [9] 侯姝芳, 朱俊芳, 陈燕, 等. 8757 例地中海贫血基因诊断结果分析与研究[J]. 中国产前诊断杂志(电子版), 2018(1):26-29.
- [10] 许莉莉, 甄理, 韩瑾, 等. 4325 例地中海贫血产前诊断的病例分析[J]. 中国临床新医学, 2020, 13(10):973-976. DOI:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.10.05.
- [11] 刘丽华, 陈瑛, 丁友法, 等. 浙西南地区畲族 β -海洋性贫血流行病学调查研究[J]. 中华儿科杂志, 2002, 40(4):218-221. DOI: 10.3760/j.issn.0578-1310.2002.04.008.
- [12] 葛群芳, 张怡, 牧启田, 等. 313 例浙江省宁波地区携带地中海贫血基因患者基因类型特点分析[J]. 中华地方病学杂志, 2019, 38(10): 844-848. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4255.2019.10.016.
- [13] 杨胜, 沈国松, 金帆. 浙江北部地区孕妇地中海贫血筛查及基因型构成分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2019, 36(5):519-521. DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2019.05.027.
- [14] 徐琦煜, 周武, 钱菁菁, 等. 温州地区地中海贫血基因突变类型分析[J]. 温州医科大学学报, 2017, 47(11):840-843. DOI:10.3969/j.issn.2095-9400.2017.11.014.
- [15] 吴蓓颖, 江岑, 王也飞, 等. 血常规、血清铁及血红蛋白电泳联合检测在地中海贫血非高发地区的筛查意义[J]. 中华血液学杂志, 2016, 37(10):908-911. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.10.019.
- [16] 吴学东, 徐肖肖, 朱易萍. 地中海贫血分类及诊断规范[J]. 中国实用儿科杂志, 2018, 033(012):957-961.

(收稿日期:2020-09-09)

(本文编辑:李媚)