

广东省珠海地区 α -和 β -地中海贫血基因突变类型研究

田文芳,唐喜军,易素芬(广东省珠海市第二人民医院检验科 519000)

【摘要】 目的 研究广东省珠海地区地中海贫血的基因突变类型及基因构成比。**方法** 对 2008~2010 年本院送广州金域医学检验中心基因诊断室的血样检测结果进行分析。**结果** 2008~2010 年本院共送检标本 209 例,检出地贫表型阳性 150 例,检出 α -地中海贫血基因 77 例,其最常见的突变类型是-SEA/ $\alpha\alpha$; β -地中海贫血 73 例,共检出 5 种 β -基因突变类型其最常见的突变类型是 CD41-42,其次是 IVS-II-654。**结论** 本研究为珠海地区的遗传咨询和制定该地区人群筛查的地贫预防计划提供了有价值的基础资料;由于产前筛查的普及,地贫知识的宣传,地贫基因类型趋向单一化,此次研究检出的 β -地贫基因突变类型低于 2003 年相关文献报道的类型。

【关键词】 α -地中海贫血; β -地中海贫血; 基因突变; 构成比
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.12.038 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)12-1487-02

地中海贫血是世界上最常见及发病率最高的单基因遗传血液病,在我国广东、广西、海南等沿海省份人群携带率最高,地中海贫血(简称“地贫”),系由于珠蛋白的合成降低或消失,而血红蛋白一般不发生结构上的变化,故亦称珠蛋白合成障碍性贫血^[1]。分布最广和最严重的是 α -和 β -地贫。 α -地贫是由于 α 珠蛋白基因的缺失或点突变使 α 珠蛋白合成减少或缺失导致,分缺失型和非缺失型 2 种,其中缺失型是我国 α 地贫的主要类型^[2]。在临床上 α 地贫可分 4 种类型,分别为静止型、轻型(标准型)、血红蛋白 H 病、Hb Brat’s 水肿胎; β -地贫是由于 β 珠蛋白链合成显著减少或缺失所致, β 地贫的基因缺陷,主要是由于点突变所致,临床上将 β -地贫分为 3 种类型,分别为轻型、中间型和重型。目前本病尚无有效治疗方法,携带者检查及产前基因诊断是惟一防止新的患儿出生,提高人口素质的有效措施^[2-3]。珠海属于地中海贫血的高发区,本文对珠海地区 150 例地中海贫血患者的地贫基因突变类型进行研究,探讨珠海地区各种地中海贫血基因突变的类型及构成比,有助于遗传咨询和产前诊断,对于优生优育、提高人口素质具有重大意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008~2010 年来本院就诊的孕前、产前、婚检及体检的患者中送广州金域医学检验中心基因诊断室进行地贫基因检测确诊的 α -和 β -地中海贫血基因携带者 150 例。年龄 1 个月至 76 岁。

1.2 方法 方法由广州金域医学检验中心基因诊断室提供。Thal 基因检测:用无菌 EDTA 抗凝管抽取静脉血 2 mL, α -Thal 基因用 GAP-PCR 法检测,试剂由亚能公司提供; β -Thal 基因用反向点杂交(RDB)法检测,试剂由深圳益生堂生物公司提供。

2 结果

2.1 阳性检出率及各种基因突变类型的人数分布:2008~2010 年共送检 209 例,其中 150 例检出有地中海贫血基因。地中海贫血各种基因突变类型和人数分布见表 1 和表 2。

表 1 77 例 α -地中海贫血基因突变类型及构成比

基因突变类型	<i>n</i>	构成比(%)
-SEA / $\alpha\alpha$	60	77.92
- α 3,7/ $\alpha\alpha$	11	14.29
- α 4,2/ $\alpha\alpha$	6	7.79
合计	77	100.00

2.2 150 例阳性标本中,检出 α -地中海贫血基因 77 例,-SEA/ $\alpha\alpha$ 型 60 例,- α 3,7/ $\alpha\alpha$ 型 11 例,- α 4,2/ $\alpha\alpha$ 型 6 例; β -地中海贫血基因 73 例,CD41-42 型 23 例,IVS-II-654 型 20 例,-28 型 12 例,CD17 型 13 例,CD71-72 型 5 例。各个基因类型及构成比分布见表 1 和表 2。

表 2 73 例 β -地中海贫血基因突变类型及构成比

基因突变类型	<i>n</i>	构成比(%)
CD41-42	23	31.51
IVS-II-654	20	27.40
CD17	13	17.80
-28	12	16.44
CD71-72	5	6.85
合计	73	100.00

3 讨论

地中海贫血是一组常染色体单基因隐形遗传病。它是由珠蛋白基因突变,使珠蛋白生物合成受阻、产量不足或缺如所致,导致慢性溶血或严重缺氧致死,是我国长江以南各省发病率最高、影响最大的遗传病之一。我国广东属地中海贫血高发地区,其基因携带率为 10%~13%^[3]。珠海市户籍人群中 β 地贫的基因携带率为 2.2%^[1], α 地贫的携带率为 7.33%^[4]。

本研究发现,珠海市人群中最常见的 α -地中海贫血基因突变类型是-SEA / $\alpha\alpha$ 型(77.92%),其次是- α 3,7/ $\alpha\alpha$ 型(14.29%)和- α 4,2/ $\alpha\alpha$ 型(7.79%)。最常见的 β -地中海贫血基因突变类型是 CD41-42 (31.51%),其次就是 IVS-II-654 (27.40%),相对较低的几种突变按顺序列出分别是 CD17 (17.80%)、-28(16.44%)、CD71-72(6.85%)。其主要的基因突变类型构成比同文献报道的广东省其他地区类似^[5]。

另外,本研究发现,2008~2010 年本院就诊的患者中, β -地中海贫血基因突变类型,与 2003 年王小金等^[1]报告的有比较大的差异。2003 年王小金等^[1]报道检测到 9 种突变类型,2008~2010 年本院就诊的患者中仅检测到 5 种突变类型,其占首位的突变类型均是 CD41-42 型。原因可能是由于产前筛查的普及,地贫知识的宣传,地贫基因类型趋向单一化。

地中海贫血是一种遗传病,目前尚无良好的根治办法,因此以预防为主,干预地贫患儿的出生显得尤其重要,目前惟一可防范重症地贫的方法就是专业干预。一旦新生儿出现重症

地贫,惟一可行的办法就是不断输血,但输血不能从根本上解除疾病,只能暂时延长患者的寿命;而造血干细胞移植技术,由于其费用惊人而让一般家庭难以承受,难以推广。由中国国家计生委倡导的出生缺陷干预工程近几年在广东局部高发地区也开始了试点,该工程项目是指通过科学的医疗技术分阶段对人口出生缺陷进行干预。本研究结果有助于更深入地了解该地区地中海贫血基因突变的类型、频率和分布,对于珠海市地中海贫血的遗传咨询、携带者筛查、优化产前诊断、提高人口素质有一定的参考价值。

参考文献

[1] 王小金,肖鸽飞,郭晓莉,等. 广东省珠海市户籍人群中 β -地中海贫血的分子流行病学调查[J]. 中国优生与遗传杂

志,2003,11(5):10-11.

[2] 吴冠芸. α -地中海贫血的早期产前基因诊断[J]. 中国医学科学院学报,1984,12(6):389-393.
[3] 杜传书. 地中海贫血研究的现状与未来[J]. 中华医学遗传学杂志,1996,13(5):257-258.
[4] 周玉球,李莉艳,肖鸽飞,等. 珠海市户籍人群中 α -地中海贫血的分子流行病学调查[J]. 中华医学遗传学杂志,2002,19(4):358-360.
[5] 褚玉新,王晓春,胡朝晖. 广东省 β -地中海贫血基因突变类型研究[J]. 中国地方病学杂志,2010,29(2):78-79.

(收稿日期:2011-04-19)

• 临床研究 •

中国苗族人群血管紧张原和血管紧张素转化酶基因多态性与原发性高血压的关系

祝有国¹,符辉明²,向亚东¹(湖南省湘西自治州人民医院:1. 核医学科;2. 肾内科 416000)

【摘要】 目的 研究血管紧张素原(AGT)基因 M235T 分子变异和血管紧张素转化酶(ACE)基因 I/D 多态性与原发性高血压(EH)的关系。**方法** 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 EH 组 159 例和健康对照组 147 例 AGT 基因多态性,采用 PCR 技术检测 EH 组 159 例和健康对照组 147 例 ACE 基因多态性。**结果** EH 组 AGT-TT 基因型频率(63. 53%)明显高于对照组(45. 580%),差异有统计学意义($P<0. 05$),ACE-DD 型基因频率(36. 48%)明显高于对照组(17. 69%),差异有统计学意义($P<0. 05$)。**结论** AGT 基因的突变与苗族人群 EH 的发病具有相关性,对男性 EH 影响可能更大。AGE-D 基因与苗族人群 EH 的发病相关联。

【关键词】 原发性高血压; 血管紧张素原; 血管紧张转换酶; 聚合酶链反应; 基因; 多态性
DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 12. 039 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)12-1488-03

原发性高血压(EH)的发生发展与遗传因素和多种环境因素相关,肾素-血管紧张素系统(RAS)在维持体液平衡、摄盐、和血压调节方面起着重要作用,其中血管紧张素原(AGT)是该系统的唯一初始底物。AGT 和血管紧张素转化酶(ACE)是 RAS 的重要组成部分,AGT 和 ACE 基因多态性的变异可以改变血浆 AGT 和 ACE 含量水平。人 AGT 基因定位于 1 号染色体长臂 42-43 区,AGT C DNA 由 1455 个核苷酸组成,编码含有 485 个氨基酸蛋白质。AGT 基因由 5 个外显子和 4 个内含子构成全长 13×10^3 ,至今已发现 AGT 基因有 15 种变异,其中第 2 外显子上第 704 位核苷酸 T-突变导致第 235 位氨基酸由蛋氨酸变成苏氨酸(M235T)。目前对于 M235T 等位基因的研究较多^[1]。人 ACE 基因定位于染色体 17q23 区,有 26 个外显子和 25 个内含子,其中第 16 内含子中有一个 287 bp 的 DNA 片段所存在插入[Insertion, I/缺失(deletion, D)]多态性^[2]。AGT 基因型 M235T 突变和 ACE 基因第 16 内含子插入或缺失与 EH 的关系是目前许多学者研究的热点,但有关与苗族人群相关性报告不多,本研究旨在探讨 AGT 和 ACE 基因多态性与苗族人群 EH 发病关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 健康对照组 147 例均为同期健康体检者,男 83 例,女 64 例;平均年龄(57. 6 $\pm$ 10. 3)岁。经详细询问病史,查体 X 线胸片、ECG、B 超及血生化检查排除 EH,且无心脑血管病或糖尿病家族史。

1.1.2 EH 组 159 例均为 2007 年 3 月至 2011 年 1 月在本院肾内科住院患者,男 96 例,女 63 例,平均年龄(59. 2 $\pm$ 10. 6)岁。高血压诊断标准:血压 140/90 mm Hg(1 mm Hg=0. 133 kPa)排除继发性高血压、冠心病和脑梗死患者。以上两组均为苗族,家族婚姻史为世代族内通婚。来源于湖南省西部吉首市、怀化市及重庆市秀山县、贵州省铜仁地区等毗邻地区的苗族聚居区。

1.2 方法

1.2.1 人基因组 DNA 的抽取 抽取外周静脉血 5 mL 以乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na₂)抗凝,用 6% Dextran(M6. 0 万)分离白细胞、蛋白酶 K 消化细胞核,氯仿抽取和乙醇沉淀,双重水重溶基因组 DNA。具体步骤参考《分子克隆实验指南》。

1.2.2 AGT 基因 M235T 分子变异和 ACE 基因 I/D 多态性检测 AGT 基因 M235T 分子变异检测采用 PCR/RFLP 方法分析,引物位于 AGT 基因第 2 外显子内,由 Gibco-BRL 公司合成,其序列 5'-CGTTTGTGCAGGGCGTGGCTCTC-3'和 5'-AGGGTGCTGTCCACAACCTGGACCC-5' (AC 为非配对碱基),在 AGT 基因第 2 外显子内 704 外核苷酸 T 转变 C,并不改变限制性酶切位点,但产生一个适合被 Tth^[11] (CNNNGTC)酶切的“半位点”,与之相应的另一个“半位点”的引入是通过存在两个非配对碱基的 PCR 引物来完成。PCR 反应终体积为 50 μ L。PCR 循环参数(94 $^{\circ}$ C 4 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,68 $^{\circ}$ C 1 min,72 $^{\circ}$ C 1 min,30 cycles,72 $^{\circ}$ C 8 min)扩增目的基因。PCR 产物经 Tth112(Promega 公司)限制性内切酶酶切(具体操作过程