

# 海南省三亚地区珠蛋白生成障碍性贫血的基因分型研究\*

利振坤<sup>1</sup>, 李 强<sup>2</sup>, 麦 珍<sup>1△</sup> (1. 海南省三亚市人民医院检验科 572000; 2. 海南省三亚市中医院检验科 572000)

**【摘要】 目的** 初步对三亚地区人群珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)进行基因分型以了解该地区地贫患病率及其高发的基因类型。**方法** 收集 1 164 例外周血,用跨越断裂点聚合酶链反应及反向斑点膜条杂交技术进行地贫基因分型检测。**结果** 1 164 例外周血中  $\alpha$  地贫 344 例(29.55%), $\beta$  地贫 92 例(7.90%), $\alpha\beta$  复合型地贫 10 例(0.86%)。地贫阳性率为 38.3%。 $\alpha$  地贫前 4 位的基因型及基因构成比分别是: $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (128 例)37.20%、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ (82 例)23.84%、 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ (50 例)14.53%、 $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$ (38 例)11.05%; $\beta$  地贫前 4 位的突变位点名称分别是:CD41-42(66 例)、IVS-II-654(12 例)、-28(6 例)、-29(4 例)。**结论** 三亚地区地贫以  $\alpha$  地贫为主,具有区域性的特点,且发生率较高,加强对育龄人群的地贫全面筛查及基因诊断。

**【关键词】**  $\alpha$  珠蛋白生成障碍性贫血;  $\beta$  珠蛋白生成障碍性贫血; 基因检测

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.01.019 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)01-0046-02

**Study on genotyping of thalassemia in Sanya area of Hainan Province\*** LI Zhen-kun<sup>1</sup>, LI Qiang<sup>2</sup>, MAI Zhen<sup>1△</sup>  
(1. Department of Clinical Laboratory, Sanya Municipal People's Hospital, Sanya, Hainan 572000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Sanya Municipal Hospital of Chinese Medicine, Sanya, Hainan 572000, China)

**【Abstract】 Objective** To conduct the genotyping of thalassemia in Sanya area for understanding the prevalence of thalassemia and its high-incidence genotypes in this area. **Methods** 1 164 peripheral blood samples were collected to detect the thalassemia genotyping by using the leaping breakpoint PCR and reverse dot blot membrane strip hybridization technique. **Results** Among 1 164 peripheral blood samples, 344 cases were  $\alpha$ -thalassemia, 92 cases were  $\beta$ -thalassemia and 10 cases were  $\alpha, \beta$  mixed thalassemia. The positive rate of thalassemia was 38.3%. The top 4 genotypes in  $\alpha$ -thalassemia and genetic constituent ratio were  $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  (128 cases, 37.20%),  $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  (82 cases, 23.84%),  $-\text{SEA}/\alpha\alpha$  (50 cases, 14.53%) and  $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$  (38 cases, 11.05%); the top 4 mutation site names in  $\beta$ -thalassemia were CD41-42 (66 cases), IVS-II-654 (12 cases), -28 (6 cases) and -29 (4 cases) respectively. **Conclusion** Thalassemia in Sanya area is mainly  $\alpha$ -thalassemia with regional characteristics and higher incidence. Therefore the comprehensive thalassemia screening and genetic diagnosis in the childbearing population should be strengthened.

**【Key words】**  $\alpha$ -thalassemia;  $\beta$ -thalassemia; genetic testing

珠蛋白生成障碍性贫血又称地中海贫血(简称地贫)是一种基因遗传性疾病,发病原因是 16 号染色体的  $\alpha$  地贫基因或 11 号染色体的  $\beta$  地贫基因发生缺失或突变导致珠蛋白缺乏或不足,而引起的贫血或病理状态。随着分子诊断技术的不断发展,基因诊断已经成为检测地贫的金标准。本研究通过用跨越断裂点聚合酶链反应(Gap-PCR)及反向斑点膜条杂交技术对外周抗凝血进行  $\alpha, \beta$  地贫基因分型检测,以了解三亚地区人群地贫的基因型,为该地区人群地贫防治工作提供依据,预防中间型或重症地贫患儿的出生。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2014 年 3 月至 2014 年 12 月在三亚市人民医院、三亚市中医院就诊和健康体检的 1 164 例地贫患者的外周抗凝血(乙二胺四乙酸抗凝),其中男 283 例、女 881 例,年龄 2 d 至 45 岁。

**1.2 仪器与试剂** 核酸扩增仪(杭州博日公司 TC-48/H 基因扩增仪;美国 PE 公司 2400 基因扩增仪),地贫基因检测试剂盒(深圳亚能生物技术有限公司)。

**1.3 方法**  $\alpha$  地贫检测应用 Gap-PCR 技术, $\beta$  地贫检测采用反向斑点膜条杂交技术。实验严格按试剂说明书操作。

## 2 结 果

**2.1  $\alpha$  地贫基因检测结果** 1 164 例外周血中,检出  $\alpha$  地贫 344 例,检出率为 29.55%,其前 4 位的基因型分别为: $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  11.00%(128/1 164)、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$  7.04%(82/1 164)、 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$  4.30%(50/1 164)、 $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$  3.26%(38/1 164)。根据基因型与临床分型的关系,344 例  $\alpha$  地贫中,静止型 210 例,标准型 88 例,中间型 6 例,重型 40 例。见表 1。

**2.2  $\beta$  地贫基因位点突变检测结果** 1 164 例外周血中,检出  $\beta$  地贫 92 例,检出率为 7.90%,前 4 位的基因位点突变是:CD41-42(5.67%)、IVS-II-654(1.03%)、-28(0.52%)、-29(0.34%),见表 2。

**2.3  $\alpha\beta$  复合型地贫基因位点突变检测结果**  $\alpha\beta$  复合型地贫(同时具有  $\alpha\beta$  地贫基因)10 例,其中  $-\alpha\alpha/\alpha^{3.7} + \text{CD41-42}$ 、 $\alpha^{4.2}$  纯合子 + CD41-42 各 2 例, $\alpha^{4.2}$  杂合子 + CD41-42 有 6 例。检出率为 0.86%。见表 3。

\* 基金项目:海南省三亚市医疗卫生科技创新科研课题(YW1327)。

作者简介:利振坤,男,大专,主管技师,主要从事分子生物学研究。△ 通讯作者,E-mail:mai-zhen@163.com。

表 1 α 地贫基因型及构成比

基因型	n	表型	构成比(%)
-α <sup>3.7</sup> /αα	128	静止型	37.20
-α <sup>4.2</sup> /αα	82	静止型	23.84
--SEA/αα	50	标准型	14.53
-αα <sup>3.7</sup> /-α <sup>4.2</sup>	38	标准型	11.05
α <sup>4.2</sup> 纯合子	26	重型	7.56
α <sup>3.7</sup> 纯合子	14	重型	4.07
-α <sup>4.2</sup> /--SEA	4	中间型	1.17
-α <sup>3.7</sup> /--SEA	2	中间型	0.58

表 2 β 地贫基因位点突变检出率及构成比(%)

突变位点	n	检出率	构成比
CD41-42	66	5.67	71.74
IVS-II-654	12	1.03	13.04
-28	6	0.52	6.53
-29	4	0.34	4.35
CD71-72	2	0.17	2.17
CD17	2	0.17	2.17
合计	92	7.90	100.00

注:位点没有突变的不在统计表中。

表 3 复合型地贫基因型及检出率

基因型	n	检出率(%)
-αα/α <sup>3.7</sup> +CD41-42	2	0.17
α <sup>4.2</sup> 纯合+CD41-42	2	0.17
α <sup>4.2</sup> 杂合+CD41-42	6	0.52
合计	10	0.86

### 3 讨 论

地贫是由于人体珠蛋白基因突变或者缺失而导致的某种珠蛋白链合成障碍,造成 α、β-珠蛋白肽链合成速度的不平衡而导致的溶血性贫血。地贫为世界上发病率最高、危害性最大的单基因遗传性疾病之一。广泛分布于地中海国家及其经济高度发展的沿海地区。我国长江以南各省发病率高,多见于广东、广西、海南、香港、福建、云南、贵州、四川 等地区。

地贫常见的两种类型是 α 地贫和 β 地贫。东南亚缺失型 --SEA/αα 是东南亚和我国南方主要的基因型,有研究显示广东 --SEA/αα 的所占比例几乎是 -α<sup>3.7</sup>/αα 和 -α<sup>4.2</sup>/αα 之和<sup>[1]</sup>,文献<sup>[2]</sup>报道广西百色市的 --SEA/αα 的构成比为 46.7%。缺失型地贫常见基因型为 -α<sup>3.7</sup>/αα 和 -α<sup>4.2</sup>/αα。-α<sup>3.7</sup>/αα 最为常见<sup>[3]</sup>,在非洲、地中海、东南亚等人群中有很高的发病率,主要发生在印度和尼泊尔;缺失型 -α<sup>4.2</sup>/αα 主要发生在亚洲人群。全球分布最广的基因型是 -α<sup>3.7</sup>/αα,除了东南亚和中国南方,在其他地区的基因型构成比中几乎达 80%<sup>[3]</sup>,有的甚至只有这种基因型。本研究结果显示,α 地贫阳性率为 29.55%,α 地贫前 4 位的基因型及构成比分别为:-α<sup>3.7</sup>/αα (37.20%)、-α<sup>4.2</sup>/αα (23.84%)、--SEA/αα (14.53%)、-α<sup>3.7</sup>/

-α<sup>4.2</sup> (11.05%), 三亚地区 α 地贫的基因类型与地中海、东南亚、中国南方等地区的相符,差别不大,但是构成比有明显的差异。三亚地区 α 地贫构成比为,--SEA/αα : -α<sup>3.7</sup>/αα : -α<sup>4.2</sup>/αα = 1 : 2.56 : 1.64。与文献<sup>[4]</sup>报道的海口市 α 地贫构成比相比也存在很大的差异,这说明三亚地区 α 地贫具有区域性的特点。

我国长江以南及广东、广西等地人群中最常见的 β 地贫基因突变类型是 CD41-42(-TTCT)、IVS-II-654(C→T)、CD17(A→T)、IVS-II-28(A→G)、CD71-72(+A)约占中国人 β 地贫基因总数的 90%<sup>[5]</sup>,海口市 β 地贫前 5 位基因型依次是:CD41-42、IVS-II-654、-28、CD17 和 CD71-72<sup>[4]</sup>。本研究结果显示,三亚地区 β 地贫基因突变类型以 CD41-42、IVS-II-654、-28、-29 为主(表 2),分别占 β 地贫的 71.74%、13.04%、6.53%、4.35%,与我国广东<sup>[5]</sup>、广西<sup>[5]</sup>及海口<sup>[4]</sup>的 β 地贫基因突变类型相一致,没有明显的区域性差异。

三亚地区 αβ 复合型地贫检出率为 0.86%。复合型地贫检测不可小视,其携带者临床表现多表现为 β 地贫特征,α 地贫很难被发现。当夫妻双方一方为 αβ 复合型地贫基因携带者,而另一方为 α 地贫,双方都是 α 地贫标准型,则有四分之一的概率生育 Hb Bart's 水肿胎儿<sup>[6-8]</sup>。因此加强对育龄人群的地贫全面筛查及基因诊断,是预防重型地贫儿出生的有效措施。

根据 α 地贫的基因缺失情况及临床表现,α 地贫可分为静止型(缺失 1 个 α 基因)、标准型(缺失 2 个 α 基因)、中间型(缺失 3 个 α 基因)、重型(缺失 4 个 α 基因)<sup>[9-10]</sup>。静止型和标准型又称轻型 α 地贫,患者可以没有任何临床症状或仅有轻微的贫血,而不容易被发现;中间型地贫患儿需经常输血,成年后基本丧失劳动力,生存质量明显下降;重型又称 Hb Bart's 胎儿水肿综合征,胎儿常死于宫内或出生后几小时死亡。目前地贫治疗尚无根治的办法,地贫患儿的出生给家庭带来极大的精神压力和经济负担。

总之,应该认识到地贫的危害性,积极响应和呼吁婚检、孕检、产检,尽最大地努力减少遗传性疾病对家庭和社会造成的危害,最大限度地降低地贫的发生率。

### 参考文献

- [1] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassemia in Guangdong province, implications for future health burden and population screening[J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5): 517-522.
- [2] Pan H, Long G, Li Q, et al. Current status of thalassemia in minority populations in Guangxi, China[J]. Clin Genet, 2007, 71(5): 419-426.
- [3] 曾小云, 陈晨春, 陈萍, 等. 广西三城市 7 岁下儿童 α 地中海贫血基因型[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(3): 413-416.
- [4] 涂志华, 黄慈丹. 海口地区人群地中海贫血基因型分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(10): 28-29.
- [5] 贺静, 朱宝生, 朱洁, 等. 地中海贫血基因诊断和产前的研究[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(28): 4086-4088.
- [6] 陈运春, 王海波, 吴智明, 等. 海南省 1 620 例地中海贫血基因突变检测分析[J]. 中国优生与遗传杂志, (下转第 50 页)

### 3 讨 论

我国 20 世纪 50 年代之前,TP 报告率极低,随着社会的发展和开放,近代 TP 发病率迅速上升。TP 由于病程较长,患者基数大,2014 年 TP 患者数在法定传染病中排第 3 位。梁燕鲜等<sup>[4]</sup>研究通过 GM(1,1)灰色模型,预测 TP 发病率将继续快速上升,MSM 等高危人群 TP 感染率将持续上升。沈鹏等<sup>[2]</sup>报告重庆地区 MSM 人群庞大,TP 感染率较高,各区 MSM 群体感染率 8%~10%。卫生部出台 TP 防控十年规划中提出,MSM 群体综合防治是防控体系的重要任务。

本研究结果显示,本地区 MSM 群体累计感染率 14.2%,明显高于对照组( $P < 0.05$ ),同时随着年龄升高,感染率呈上升趋势;年龄、性伴侣、安全套使用是 TP 的独立影响因素。相关研究认为肛交较性交传播 STD 风险大,直肠柱状上皮较阴道鳞状上皮脆弱,肛交行为极易损伤黏膜,增加病原微生物侵入机会<sup>[4-5]</sup>,与本研究结果一致。另有研究认为,MSM 人群性知识淡薄,性安全意识低下,安全套使用率低造成 STD 高发<sup>[6]</sup>。本研究发现,非固定性伴侣、安全套使用率低是 MSM 群体 TP 感染的危险因素,提示 MSM 群体加强定期 STD 检测外,应继续加强健康干预,对 TP 患者进行医疗救治和性行为追踪和管理,倡导性交时的安全套使用。当前 MSM 群体是 STD 的极高危人群,在城市新增人类免疫缺陷病毒(HIV)、TP 和淋病患者中,MSM 人群占比超过 30%。同时由于 MSM 群体固定性伴侣比例较低(本研究中仅 45.6%),多个性伴侣或性滥交现象严重,使 MSM 群体高 TP 感染率进一步加速 TP 的传播扩散<sup>[7]</sup>。

临床中 TP 感染检测常用方法为 RPR、TPPA 和 TRUST 试验,RPR 试验检查的是人体血浆反应素<sup>[8]</sup>。此种反应素不具有特异性,TP 感染可使人体产生大量反应素,但其他组织细胞损伤反应也可能产生反应素,RPR 阳性者并不一定感染 TP,如本研究中 RPR 阳性 83 例中 TPPA 阳性 54 例(65.1%),但由于其快速性和经济性,常用作 TP 初筛。TPPA 属于抗原血清试验,有着很高的敏感度和特异性,一般用作确认试验。但 TPPA 试剂较贵,检测时需手工完成、实验耗时长、结果判断难以自动化,因此不利于大批量标本检测,主要用于其他方法筛检后的阳性标本的确诊。TP-TRUST 检测 TP 抗体滴度,特异度高最高,部分地区 TPPA 阳性患者需进一步进行 TRUST 试验确诊,TPPA、TRUST 双阳性才报告为 TP 感染,但双阳检测成本非常高、耗费时间长。TRUST 另一优势是能够定量评价 TP 抗体量,反映 TP 病程和疾病程度,为 TP 的治疗提供依据,并作为 TP 治疗效果的评价指标。

综上所述,MSM 群体 TP 感染率较高,防控形势严峻,MSM 群体定期 TP 筛查有一定必要。结合本研究结果,对 MSM 初筛采用经济、快捷的 RPR;确定疑似 TP 感染者后,采样进行 TPPA 试验确诊,提高诊断准确率;确诊感染者可进行 TRUST 试验进一步明确诊断,也可根据 TRUST 结果提供医疗救助。通过积极治疗 TP 感染者,降低 TP 传染性,控制传染源,同时抗体滴度也作为临床治疗效果评价。降低 TP 感染率最根本的方法还是一级预防,即倡导安全性行为,安全套是最经济、最有效的方法,通过群体教育、干预提高 MSM 群体安全知识,改变风险性行为,提高安全套使用率。

### 参考文献

[1] 陈克江,赵希友,陈亮,等.永川区男男性行为人群 HIV/梅毒感染率及高危行为特征分析[J].重庆医学,2012,41(17):1730-1733.

[2] 沈鹏,王振维,潘传波,等.重庆市主城某区 MSM 人群 HIV/梅毒感染情况及影响因素分析[J].重庆医学,2010,39(8):956-957.

[3] Serwin AB, Koper M, Unemo M, et al. Clinical and epidemiological characteristics of males with syphilis in Biaystok, Poland in 2008-2013[J]. Przegl Epidemiol, 2015, 69(1):41-45.

[4] 梁燕鲜,王亚菲,翟林.江苏省艾滋病、淋病和梅毒发病率 GM(1,1)灰色模型预测研究[J].南通大学学报:医学版,2013,33(1):21-23.

[5] 蔡于茂,宋亚娟,洪福昌.深圳市 2 943 例 MSM 梅毒感染影响因素分析[J].中国艾滋病性病,2013,19(10):756-758.

[6] Best J, Tang W, Zhang Y, et al. Sexual behaviors and HIV/Syphilis testing among transgender individuals in China: implications for expanding HIV testing services [J]. Sex Transm Dis, 2015, 42(5):281-285.

[7] 丛迎,陈秀英,雷永良,等.男性梅毒感染戒毒者 TRUST 试验抗体滴度及相关因素分析[J].实用预防医学,2015,22(4):465-467.

[8] 顾友祥,姜俊.多种梅毒抗体检测方法的比较[J].检验医学与临床,2012,9(4):391-393.

(收稿日期:2015-05-28 修回日期:2015-08-22)

(上接第 47 页)

2014,22(2):18-19.

[7] 胡兰萍,王卫红,贺骏,等.长沙地区 10 987 例育龄人群地中海贫血筛查结果分析[J].中国优生与遗传杂志,2014,22(3):44-45.

[8] 张慧敏,李少英,刘维强,等.αβ 复合型地中海贫血的分子检测及血液学分析[J].中国优生与遗传杂志,2011,19

(7):31-32.

[9] 甘冰,黄伟媚.αβ 复合型地中海贫血基因检测分析[J].临床荟萃,2014,29(2):200-201.

[10] 李贵才,谢鹤,王朋朋,等.潮州地区地中海贫血患儿基因突变类型分析[J].中华全科医学,2012,10(6):877-879.

(收稿日期:2015-05-20 修回日期:2015-08-15)