

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.14.011

16 249 例川东北地区珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果分析*

宋琪玲¹,何勇均¹,黄思月²,刘青松^{3△}

1. 川北医学院附属医院产前诊断中心,四川南充 637000;2. 四川赛尔医学检验有限公司,四川南充 637131;3. 四川省成都市妇女儿童中心医院产前诊断中心,四川成都 610032

摘 要:目的 探讨川东北地区珠蛋白生成障碍性贫血致病基因分布特征。方法 选取 2016 年 1 月至 2019 年 12 月在川北医学院附属医院和四川赛尔医学检验中心有限公司接受珠蛋白生成障碍性贫血基因检测的患者共 16 249 例,对其结果进行分析并检测其珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型。结果 16 249 例患者中共检出 2 467 例珠蛋白生成障碍性贫血患者,阳性率为 15.18%(2 467/16 249)。其中, α -珠蛋白生成障碍性贫血有 1 318 例,占 53.43%(1 318/2 467); β -珠蛋白生成障碍性贫血有 1 086 例,占 44.02%(1 086/2 467); α 合并 β -珠蛋白生成障碍性贫血 63 例,占 2.55%(63/2 467)。 α -珠蛋白生成障碍性贫血中最常见的是 SEA 杂合缺失,共 666 例,占 50.53%(666/1 318);其次是 3.7 位点杂合缺失,共 489 例,占 37.10%(489/1 318);血红蛋白 H 病 65 例,占 4.93%(65/1 318)。 β -珠蛋白生成障碍性贫血中最常见的是 17 位点杂合突变,共 347 例,占 31.95%(347/1 086);其次是 41~42 位点杂合突变,共 318 例,占 29.28%(318/1 086)。结论 川东北地区珠蛋白生成障碍性贫血基因阳性率高于四川省平均水平,在该地区广泛开展珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,有助于预防珠蛋白生成障碍性贫血患儿的出生。

关键词:珠蛋白生成障碍性贫血; 基因型; 川东北; 基因检测

中图分类号:R556.5 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2021)14-2026-04

Analysis of gene detection results of 16 249 cases of globinogenesis dysplasia anemia in northeastern Sichuan*

SONG Qiling¹, HE Yongjun¹, HUANG Siyue², LIU Qingsong^{3△}

1. Department of Prenatal Diagnosis Center, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China; 2. Sichuan Sail Medical Inspection Company Limited, Nanchong, Sichuan 637131, China; 3. Department of Prenatal Diagnosis Center, Chengdu Women and Children's Central Hospital, Chengdu, Sichuan 610032, China

Abstract: Objective To investigate the distribution characteristics of the pathogenic genes of globinogenic anemia in northeastern Sichuan. **Methods** A total of 16 249 patients were selected from September 2016 to July 2019 in Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College and Sichuan Sail Medical Inspection Company Limited to detect the gene of globin dysgenesis anemia. The results were analyzed and the type of mutation of the globinogenic anemia was detected. **Results** A total of 2 467 patients with globinogenesis anemia were detected out of 16 249 patients, and the positive rate was 15.18% (2 467/16 249). Among them, there were 1 318 cases of α -globinogenesis anemia, accounting for 53.43% (1 318/2 467). There were 1 086 cases of β -globinogenesis anemia, accounting for 44.02% (1 086/2 467). There were 63 cases of α combined with β -globinogenesis anemia, accounting for 2.55% (63/2 467). The most common α -globinogenesis anemia was the loss of heterozygosity in SEA, with 666 cases, accounting for 50.53% (666/1 318); followed by loss of heterozygosity at 3.7 sites, with 489 cases, accounting for 37.10% (489/1 318). 65 cases of hemoglobin H disease, accounting for 4.93% (65/1 318). The most common β -globinogenesis anemia was heterozygous mutation at position 17, with 347 cases, accounting for 31.95% (347/1 086), followed by heterozygous mutation at position 41-42, with 318 cases, accounted for 29.28% (318/1 086). **Conclusion** The positive rate of the globinogenic anemia gene in northeastern Sichuan is higher than the average level of Sichuan Province. The widespread implemen-

* 基金项目:川北医学院科研发展计划项目(2020JC018,CBY17-A-YB28);四川省南充市市校合作科技战略合作专项(NSMC20170438)。
作者简介:宋琪玲,女,技师,主要从事分子遗传相关研究。△ 通信作者,E-mail:35590551@qq.com。
本文引用格式:宋琪玲,何勇均,黄思月,等.16 249 例川东北地区珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果分析[J].检验医学与临床,2021,18(14):2026-2028.

tation of globinogenic anemia gene testing in this area can help prevent the birth of children with globinogenic anemia.

Key words:globinogenesis anemia; genotype; northeastern Sichuan; genetic testing

珠蛋白生成障碍性贫血是目前世界范围内最常见且发病率较高的遗传学溶血性疾病,主要是由珠蛋白基因缺失或突变等原因导致的珠蛋白合成障碍的单基因遗传病。珠蛋白生成障碍性贫血具有明显的地域性,在我国呈现出南高北低的发病特点,主要以广东、广西、海南、四川等地区发病率较高,珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率为 1.92%~14.96%^[1]。四川地域广阔,地形多样,兼具平原和丘陵,民族多样。近年来,有研究报道四川地区珠蛋白生成障碍性贫血发病率呈上升趋势^[2],但目前对川东北地区,包括南充、遂宁等,较大数据的珠蛋白生成障碍性贫血基因结果分析较少,为更加准确地了解南充及遂宁等地区珠蛋白生成障碍性贫血的发病特点,准确预防和诊断本地区珠蛋白生成障碍性贫血,减少出生缺陷,本研究对川东北地区 16 249 例珠蛋白生成障碍性贫血患者进行筛查并分析其基因型,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2019 年 12 月在川北医学院附属医院及四川赛尔医学检验有限公司接受珠蛋白生成障碍性贫血基因检测的患者共 16 249 例。其中男 1 845 例,女 14 404 例,年龄 0 个月至 63 岁。本研究经川北医学院附属医院伦理委员会审查通过。

1.2 方法

1.2.1 DNA 分离提取 采用乙二胺四乙酸二钾无菌真空抗凝管采集研究对象外周血标本 2 mL,采用全自动 DNA 提取仪磁珠法提取 DNA,所用仪器和试剂购自中山大学达安基因股份有限公司。

1.2.2 PCR 扩增 将 α、β-珠蛋白生成障碍性贫血 PCR mix 与 Taq 酶按要求混匀后,取 45 μL 分装到 0.2 mL PCR 管中;向已分装反应液的 PCR 管中加入 5 μL DNA 模板,瞬时离心后,上机扩增。

1.2.3 扩增产物的导流杂交 严格按照杂交试剂盒说明书(购自广东凯普生物科技股份有限公司)进行检测。

1.2.4 结果判断 根据试剂盒提供的珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果分析图比较分析判断结果。

1.2.5 室内质控和室间质控 室内质控:杂交膜条上有 3 个 α 和 6 个 β 正常对照点,每次试验所有正常对照点均应显色,突变纯合子及缺失纯合子除外,否则需重新提取 DNA、PCR 扩增、杂交。同时,为排除试验过程出现污染,防止假阳性结果出现,使用蒸馏水作阴性质控,全程参与提取、扩增、杂交,阴性质控结果无任何杂交显色点,视为试验过程无污染。此外,将已知珠蛋白生成障碍性贫血型别的阳性标本按照检测标本量分装保存于-70℃,试验时已知珠蛋白

生成障碍性贫血型别的阳性标本与检测标本同步处理,全程参与提取、扩增、杂交,得到已知相同的珠蛋白生成障碍性贫血型别,视为该批珠蛋白生成障碍性贫血结果在控、可靠。室间质控:实验室每年均参加了中华人民共和国国家卫生健康委员会组织的 2 次珠蛋白生成障碍性贫血基因分型检测的室间质控,成绩均为 100%。

1.3 统计学处理 使用 Excel2016 建立数据库,采 SPSS22.0 统计软件对数据进行处理和分析,计数资料以例数和百分率表示。

2 结果

2.1 α-珠蛋白生成障碍性贫血患者的基因型和构成比 16 249 例患者中共检出 2 467 例珠蛋白生成障碍性贫血患者,在 2 467 例珠蛋白生成障碍性贫血患者中 α-珠蛋白生成障碍性贫血 1 318 例,构成比为 53.43%(1 318/2 467),包含 13 种亚型。其中,静止型 α-珠蛋白生成障碍性贫血以 αα/αα^{3.7} 为主,占 37.10%(489/1 318);标准型 α-珠蛋白生成障碍性贫血以 —SEA/αα 为主,占 50.53%(666/1 318);血红蛋白 H 病以 —SEA/αα^{3.7} 为主,占 2.43%(32/1 318)。α-珠蛋白生成障碍性贫血的基因诊断结果及临床分型的详细情况见表 1。

表 1 α-珠蛋白生成障碍性贫血患者基因型和构成比

临床分型	基因型	n	构成比(%)
静止型	αα/αα ^{3.7}	489	37.10
	αα/αα ^{4.2}	52	3.95
	αα/αα ^{CS}	14	1.06
	αα/αα ^{QS}	14	1.06
	αα/αα ^{WS}	13	0.99
标准型	—SEA/αα	666	50.53
	αα ^{3.7} /αα ^{3.7}	3	0.23
	αα ^{WS} /αα ^{WS}	1	0.08
	αα ^{4.2} /αα ^{4.2}	1	0.08
	—SEA/αα ^{3.7}	32	2.43
血红蛋白 H 病	—SEA/αα ^{4.2}	25	1.90
	—SEA/αα ^{CS}	7	0.53
	—SEA/αα ^{QS}	1	0.08

2.2 β-珠蛋白生成障碍性贫血患者基因型和构成比 在 2 467 例珠蛋白生成障碍性贫血患者中 β-珠蛋白生成障碍性贫血 1 086 例,构成比为 44.02%(1 086/2 467),但全为轻型 β-珠蛋白生成障碍性贫血。共检出 11 种突变基因型,包括 CD17(A→T)、CD41/42(TCTT)、IVSII654(C→T)、NT-28(A→G)、

29(A→G)、CD43(G→T)、CD14-15(+G)、CD71-72(+A)CD27-28(+C)、βE3(G→A)、CAP(A→C 或-AAAC)。其中,轻型 β-珠蛋白生成障碍性贫血以 β17/βN 为主,占 37.20%(347/1 086);其次为 β41-42/βN,占 29.28%(318/1 086);β-珠蛋白生成障碍性贫血的基因诊断结果及临床分型的详细情况见表 2。

表 2 β-珠蛋白生成障碍性贫血患者基因型和构成比			
临床分型	基因型	n	构成比(%)
轻型	β17/βN	347	31.95
	β41-42/βN	318	29.28
	β654/βN	243	22.38
	βE/βN	64	5.89
	β71/72/βN	53	4.88
	β-28/βN	38	3.50
	β-29/βN	10	0.92
	β27/28/βN	7	0.64
	β14-15/βN	3	0.28
	CAP	2	0.18
	β43/βN	1	0.92

2.3 α 合并 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因型和构成比 在 2 467 例珠蛋白生成障碍性贫血患者中 α 合并 β-珠蛋白生成障碍性贫血共 63 例,构成比为 2.55%(63/2 467),包含 9 种亚型。其中以——SEA/β41-42 占比最高,占 33.33%(21/63);其次为 αα^{3.7}/β17,占 15.87%(10/63);α 合并 β-珠蛋白生成障碍性贫血的基因诊断结果及临床分型的详细情况见表 3。

表 3 α 合并 β-珠蛋白生成障碍性贫血基因型和构成比		
基因型	n	构成比(%)
——SEA/β41-42	21	33.33
αα ^{3.7} /β17	10	15.87
αα ^{4.2} /β654	8	12.70
αα ^{4.2} /β17	7	11.11
αα ^{3.7} /β654	6	9.52
——SEA/β17	6	9.52
αα ^{WS} /β41-42	2	3.17
αα ^{4.2} /αα ^{4.2} /β41-42	2	3.17
αα ^{3.7} /β71-72	1	1.59

3 讨 论

本研究基因诊断阳性率为 15.18%(2 467/16 249),明显高于已报道的四川地区珠蛋白生成障碍性贫血基因检测平均阳性率^[1]。本次研究样本较大,基本覆盖南充地区,遂宁地区部分覆盖,且均采用基因检测进行诊断,更能准确反映川东北地区人员珠蛋白生成障碍性贫血基因携带情况。在 2 467 例基因诊

断阳性患者中,α-珠蛋白生成障碍性贫血有 1 318 例,占 53.43%(1 318/2 467);β-珠蛋白生成障碍性贫血有 1 086 例,占 44.02%(1 086/2 467);α 合并 β-珠蛋白生成障碍性贫血 63 例,占 2.55%(63/2 467)。总体依然是以 α-珠蛋白生成障碍性贫血为主,与其他研究一致^[2-4]。

在 1 318 例 α-珠蛋白生成障碍性贫血中,最常见的是 SEA 杂合缺失,共 666 例,占 50.53%(666/1 318);其次是 3.7 位点杂合缺失,共 489 例,占 37.10%(489/1 318)。本研究中 α-珠蛋白生成障碍性贫血以——SEA/αα、αα/αα^{3.7} 为主,该结果与部分研究报道的 α-珠蛋白生成障碍性贫血基因常见基因型一致^[3-6]。当 SEA 杂合缺失患者进行婚配时,对其配偶进行珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,可预防血红蛋白 H 病患儿及重型珠蛋白生成障碍性贫血患儿的出生。本研究共检出血红蛋白 H 病 65 例,占 4.93%(65/1 318)。血红蛋白 H 病的临床表现个体化差异较大,及早的采用珠蛋白生成障碍性贫血基因检测确诊有利于疾病治疗,尤其是儿童患者的血红蛋白 H 病^[7]。

1 086 例 β-珠蛋白生成障碍性贫血中最常见的是 17 位点杂合突变,共 347 例,占 31.95%(347/1 086);其次是 41~41 位点杂合突变,共 318 例,占 29.28%(318/1 086)。与研究报道的珠蛋白生成障碍性贫血基因型分布基本一致^[7-8]。本研究中 1 086 例患者全为轻型 β-珠蛋白生成障碍性贫血,原因一方面是本样本数有限,另一方面中间型和重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血临床表现较重,大部分可能已经前往其他医院进行治疗,无法收集资料。中间型 β-珠蛋白生成障碍性贫血临床表现差异大,且很难根据其基因型预测临床表现;重型 β-珠蛋白生成障碍性贫血患儿多在出生后数月患病,目前尚无理想的治疗方法^[9]。

在 2 467 例珠蛋白生成障碍性贫血患者中 α 合并 β-珠蛋白生成障碍性贫血共 63 例,构成比为 2.55%(63/2 467),包含 9 种亚型。α 合并 β-珠蛋白生成障碍性贫血又称复合型珠蛋白生成障碍性贫血,与其他疾病不同,是由 α-珠蛋白和 β-珠蛋白同时发生生成障碍,反而一定程度上缓解了 α/β 链的不平衡,使血红蛋白组成趋于正常,临床表现也相对较轻^[10]。尽管 α 合并 β-珠蛋白生成障碍性贫血患者在临床表现上不一定比单纯 α-珠蛋白生成障碍性贫血或 β-珠蛋白生成障碍性贫血严重,但遗传给下一代的概率更高^[11]。

综上所述,川东北地区珠蛋白生成障碍性贫血基因阳性率高于四川平均水平。α-珠蛋白生成障碍性贫血患者较 β-珠蛋白生成障碍性贫血患者多见,α-珠蛋白生成障碍性贫血主要基因型为——SEA/αα、αα/αα^{3.7};β-珠蛋白生成障碍性贫血主要基因型为 β17/βN、β41-42/βN。在四川东北部地区广泛开展珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,有助于预防珠蛋白生成障碍性贫血患儿的出生。(下转第 2033 页)

induces autophagy dysfunction via lysosomal impairment and amplifies sepsis-induced acute lung injury[J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018: 6757368.

[10] 邱诗宝, 胡艺婷, 何钦, 等. 一起焊接作业致七例急性肺损伤事故调查分析[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2019, 37(1): 60-62.

[11] 卜克, 王璐, 刘林刚. 保护素 DX 对脓毒症小鼠急性肺损伤的保护作用[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(9): 28-32.

[12] 杨尧, 朱耀斌, 李刚, 等. 辛伐他汀联合间充质干细胞治疗急性肺损伤效果研究[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2016, 30(12): 1170-1173.

[13] 杨文萍, 孔冰冰, 赵欣, 等. 辛伐他汀对脓毒症小鼠肺损伤的保护作用[J]. *实用药物与临床*, 2017, 20(7): 733-736.

[14] SIONKOWSKA A, WALCZAK M, MARTA M. Preparation and characterization of collagen/chitosan composites with silver nanoparticles[J]. *Polym Compos*, 2020, 41(3): 951-957.

[15] WANG C Z, FU Y C, JIAN S C, et al. Synthesis and characterization of cationic polymeric nanoparticles as simvastatin carriers for enhancing the osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *J Colloid Interface Sci*, 2014, 432(2): 190-199.

[16] 邵换璋, 王存真, 朱文亮, 等. 辛伐他汀对脓毒症和严重脓毒症患者外周血单核细胞 Toll 样受体 4 的影响[J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28(2): 159-163.

[17] 胡萍, 胡倩, 张秀霞. 辛伐他汀纳米粒对脓毒症致急性肺损伤小鼠肺组织 iNOS/eNOS 平衡的调节及对预后的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(4): 341-344.

[18] 郭明杰, 郑霞. 辛伐他汀纳米粒通过调节诱导型一氧化氮合酶/内皮型一氧化氮合酶系统对小鼠脓毒症相关急性肺损伤的影响[J/CD]. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2018, 11(6): 393-399.

[19] TENHU E, TERSJRVI J, CRUZEIRO M L, et al. Gene polymorphisms of TLR4 and TLR9 and haemophilus influenzae meningitis in angolan children[J]. *Genes*, 2020, 57(42): 52-60.

[20] 刘洋, 王守田. 右美托咪啶对内毒素血症大鼠急性肺损伤 TLR9 信号相关因子的作用[J]. *解剖科学进展*, 2015, 21(6): 635-638.

[21] 陈欧, 汤展宏, 胡军涛. Toll 样受体 4 在脓毒症并发急性肺损伤中的作用[J]. *广东医学*, 2019, 40(8): 1048-1052.

[22] ALI I, MANZOOR Z, KOO J E, et al. 3-Hydroxy-4, 7-megastigmadien-9-one, isolated from *ulva pertusa*, attenuates TLR9-mediated inflammatory response by down-regulating mitogen-activated protein kinase and NF- κ B pathways[J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 435-440.

[23] 苏俊孟, 郭晖, 夏飞, 等. 脾多肽对急性肺损伤大鼠 TLR9 信号相关因子的影响[J]. *贵州医科大学学报*, 2017, 42(3): 296-299.

(收稿日期: 2020-11-06 修回日期: 2021-04-10)

(上接第 2028 页)

参考文献

[1] 徐湘民. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 1 版. 北京: 人民军医出版社, 2011: 55-59.

[2] 毛家丽, 董巍, 刘友, 等. 四川地区地中海贫血基因型分析[J]. *检验医学与临床*, 2017, 10(1): 58-62.

[3] 杨嫄, 朱丽丹, 张颖, 等. 重庆地区 108 140 例疑似贫血患者地中海贫血筛查及检出基因型分析[J]. *第三军医大学学报*, 2020, 42(17): 1750-1756.

[4] 李春莉, 杨梅, 李秋红. 重庆地区 34 800 例育龄期夫妇异常血红蛋白病分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(4): 1316-1320.

[5] BENDER M A, YUSUF C, DAVIS T, et al. Newborn screening practices and alpha-thalassemia detection-United States, 2016[J]. *MMWR*, 2020, 69(36): 166-170.

[6] KATTANIS A, FORNI G L, AYDINOK Y. Changing patterns in the epidemiology of β -thalassemia[J]. *Eur J Haematol*, 2020, 105(6): 692-703.

[7] NUNCHAI C, SIRICHOTIYAKUL S, TONGSONG T. Optimal cutoff of mean corpuscular volume (MCV) for screening of alpha-thalassemia 1 trait[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2020, 46(5): 774-778.

[8] SINGHA K, TAWEENAN W, FUCHAROEN G, et al. Erythrocyte indices in a large cohort of β -thalassemia carrier: implication for population screening in an area with high prevalence and heterogeneity of thalassemia[J]. *Int J Lab Hematol*, 2019, 41(4): 513-518.

[9] VIPRAKASIT V, EKWATTANAKIT S. Clinical classification, screening and diagnosis for thalassemia[J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2018, 32(2): 193-211.

[15] BRANCALEONI V, DI-PIERRO E, MOTTA I, et al. Laboratory diagnosis of thalassemia[J]. *Int J Lab Hematol*, 2016, 38(1): 32-40.

[10] LU F, DAI Q, ZHANG X, et al. Comparison between capillary zone electrophoresis and capillary isoelectric focusing for thalassemia screening in southern China[J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(8): e22567.

[11] JIANG F, ZUO L, LI D, et al. Molecular epidemiology and hematologic characterization of $\delta\beta$ -thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin in 125, 661 families of greater Guangzhou area, the metropolis of southern China[J]. *BMC Med Genet*, 2020, 21(4): 230-235.

(收稿日期: 2020-12-09 修回日期: 2021-04-23)