

珠海地区地中海贫血基因检测结果分析

李磊, 罗桂香, 李恋湘, 肖奇志

珠海市妇幼保健院检验科, 广东 珠海 519001

【摘要】 目的 了解珠海地区孕前地中海贫血基因检测中 α -缺失型地贫和 β -地贫的基因检出情况。方法 回顾性分析 2018 年 1 月至 2019 年 6 月在珠海市妇幼保健院参加孕前检查的 25 320 对夫妇(50 640 人)的地贫基因检测结果。结果 25 320 对夫妇的地贫基因携带率为 13.73% (6 951/25 320), 其中 α -地贫基因携带率为 9.85% (4 986/25 320), β -地贫基因携带率为 3.88% (1 965/25 320); α -地贫基因携带者检出 9 种基因型, 5 种缺失型 α -地贫基因为--^{SEA}、- $\alpha^{3.7}$ 、- $\alpha^{4.2}$ 、--^{THAI}、 $\alpha\alpha^{HK}$, 其等位基因构成比分别为 77.10%、15.94%、6.32%、0.50%、0.14%; β -地贫基因携带者共检出 16 种基因型, 其等位基因排在前 6 位的型别分别为 CDs41-42 (40.81%)、IVS- II nt654 (25.14%)、TATA box-28 (16.03%)、CD17 (8.96%)、CD26 (3.41%)、CDs71-72 (2.39%)。结论 珠海市新婚夫妇地贫基因携带率仍较高, 携带者需加强遗传咨询, 对于符合产前诊断指征的孕妇及时进行遗传咨询和干预管理, 严控重型地贫出生率, 优生优育。

【关键词】 地中海贫血; 产前筛查; 基因频率; 基因检测; 型别

【中图分类号】 R556.6¹ **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2021)01-0088-03

Analysis of thalassemia gene detection results in Zhuhai city. LI Lei, LUO Gui-xiang, LI Lian-xiang, XIAO Qi-zhi. Department of Clinical Laboratory, Zhuhai Municipal Maternity and Child Healthcare Hospital, Zhuhai 519001, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the gene frequency of α -thalassemia and β -thalassemia before pregnancy in Zhuhai city. **Methods** The results of genetic testing for thalassemia in 25 320 married couples who participated in pre-pregnancy eugenic health examination in Zhuhai Municipal Maternity and Child Healthcare Hospital from January 2018 to June 2019 were retrospectively analyzed. **Results** The carrying rate of thalassemia gene in 25 320 married couples (50 640 persons) was 13.73% (6 951/25 320), of which 9.85% (4 986/25 320) were α -thalassemia genes and 3.88% (1 965/25 320) were β -thalassemia genes. A total of 9 genotypes were detected in the carriers of α -thalassemia gene carriers, and the allele composition ratios of the five deleted α -thalassemia genes of -SEA, - $\alpha^{3.7}$, - $\alpha^{4.2}$, -^{THAI}, and $\alpha\alpha^{HK}$ were 77.10%, 15.94%, 6.32%, 0.50%, and 0.14%, respectively. A total of 16 genotypes were detected in β -thalassemia gene carriers, while the top six alleles were CDs41-42 (40.81%), IVS- II nt654 (25.14%), TATA box-28 (16.03%), CD17 (8.96%), CD26 (3.41%), CDs71-72 (2.39%). **Conclusion** The carrier rate of thalassemia genes in married couples in Zhuhai City is still high, and the carriers should strengthen genetic counseling. For those who meet the prenatal diagnosis indications, prenatal diagnosis should be carried out in time, birth rate of severe thalassemia should be strictly controlled, and eugenics should be improved.

【Key words】 Thalassemia; Prenatal screening; Gene frequency; Gene test; Type

地中海贫血(thalassemia)简称地贫,是由于珠蛋白基因缺失导致血红蛋白合成障碍的一组遗传性贫血,在我国以广东、广西及海南地区的发病率最高,具有明显的种族差异和地域差异^[1]。地贫根据临床表型可分为轻型、中型、重型三种临床表型^[2]。 α -地贫是 16 号染色体短臂末端 α 珠蛋白基因缺陷所致,实验室检测中 α -地贫以缺失型为主; β -地贫为位于 11p15.5 上的 β 珠蛋白基因发生核苷酸的插入、置换及缺失所致, β -地贫以突变为主,广东省已检出 20 多种。轻型地贫患者仅表现为小细胞低色素贫血或无明显临床表现,中型地贫患者临床表现差异很大,重型 α -地贫多在出生前或出生后不久死亡,重型 β -地贫患儿则需终身输血治疗。我院实验室自 2013 年 3 月承担全市地中海贫血筛查与诊断工作以来,目前已形成一套有效的筛查和确诊手段。本文以 2018 年 1 月至 2019 年 6 月期间在我院进行地中海贫血筛查的新婚夫妇为对象,对

市行政中心香洲区及市西区(辖金湾区、斗门区、横琴新区暂无数据)婚检人群的地贫基因检测结果进行回顾性分析,为该病的遗传咨询提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 1 月至 2019 年 6 月在珠海市妇幼保健院参加孕前检查的新婚夫妇 25 320 对,年龄 18~45 岁,平均(27.5±6.5)岁,所纳入夫妇双方中至少有一方为珠海户籍人群,连续样本。红细胞平均指数异常指标为红细胞平均体积(MCV)<82 fL,或红细胞平均血红蛋白量(MCH)<27 pg。所有夫妇均签署知情同意书。

1.2 主要仪器与试剂 贝克曼 LH780 全自动血液分析仪及配套试剂、黑马 9600 型 PCR 扩增仪、致善 96S 实时荧光 PCR 扩增仪、GSG-2000 核酸/蛋白凝胶图像分析系统。 α 缺失型地中海贫血基因检测试剂盒(深圳亚能生物技术有限公司)、 β 地中海贫血基因检测

通讯作者:李磊, E-mail: 379962812@qq.com

试剂盒(深圳益生堂生物有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集及保存 采集婚检者外周静脉血 2 mL 于 EDTA 抗凝管充分混匀,于 2 h 内进行血常规检测,一周内进行地贫基因检测。检测后样本于 -20℃ 冰箱保存以备复查。

1.3.2 全血 DNA 提取 上述标本均采用厦门致善生物科技有限公司生产的自动核酸提取仪抽提人类白细胞基因组 DNA,TE 溶解,采用紫外分光仪测定其浓度,在使用时稀释至 20 μg/μL。

1.3.3 纳入标准 血常规分析以 MCV<82fL 或 MCH<27 pg 为筛查阳性。Gap-PCR 技术检测 α 地贫基因 --^{SEA}/、-α^{3.7}/、-α^{4.2}/、--^{THAI}、αα^{HK} 5 种缺失。PCR 反向点杂交(reverse blot dot, RDB)技术检测 β 地贫基因 17 种点常见突变。表型属于 β 地贫但未检出突变的,再用荧光 PCR 熔解曲线法检测,可检测中国人 25 种常见突变。实验设置阴阳性及空白对照,试剂批间进行性能比对。

1.4 统计学方法 采用 SPSS20.0 软件进行数据处理,计数资料以率(%)表示。采用描述性统计方法描述地贫筛查的携带率及基因型别分布情况。

2 结果

2.1 地贫表型筛查 通过血常规中红细胞平均指数筛查,25 320 对(50 640 人)受检者中共筛查出表型阳性 7 066 例,经基因诊断分析确定携带者为 6 951 例,小细胞低色素贫血 14 例、单纯小细胞性贫血 17 例、缺铁性贫血 84 例。地贫基因的携带阳性率为 13.73%

(6 951/50 640),在本地区阐明人群中地贫发生率、地贫类型及基因频率是一项基础性工作,本地区 α 地贫基因携带者 4 986 例,携带率为 9.85% (4 986/50 640),β 地贫基因携带者 1 965 例,携带率为 3.88% (1 965/50 640)。其中 β 地贫基因携带率略高于广州地区大人群调查得出的 3.36%,这与人群背景的不同密切相关。此外,本地区地贫仍以 α 地贫为主,β 地贫次之。

2.2 α-缺失型地贫基因检测 4 986 例 α 地贫基因携带者中共检出 9 种基因型,分别为 --^{SEA}/αα (3 830/4 986)、-α^{3.7}/αα (706/4 986)、-α^{4.2}/αα (225/4 986)、-α^{3.7}/-α^{3.7} (62/4 986)、-α^{3.7}/--^{SEA} (101/4 986)、-α^{4.2}/--^{SEA} (39/4 986)、-α^{4.2}/-α^{4.2} (11/4 986)、--^{THAI}/αα 9 例、αα^{HK} 3 例。可见进入基因筛查的携带者还是以缺失两个 α 基因的标准型地贫为主,这也是当前地贫防控的主要对象,必须予以重视。基因型构成比分别为 75.33%、16.34%、6.44%、1.27%、0.44%、0.14%、0.06%。其中 --^{SEA}、-α^{3.7}、-α^{4.2} 的等位基因构成比分别为 76.36%、17.91%、5.50%,见表 1。

2.3 β-地贫基因检测 1 965 例 β 地贫基因携带者共检出 12 种基因型,其中构成比最高的前 6 种基因型分别为 CDs41-42、IVS- II nt654、TATA box-28、CD17、CD26、CDs71-72,此 6 种突变型别占 β-地贫突变检出的 90% 以上,构成比分别为 40.81%、25.14%、16.03%、8.96%、3.41%、2.39%,此外本研究发现 1 例高度怀疑 β 地贫的患者(HbA 为 26.9%,HbF 为 10.8%),试剂盒未检出常见突变,疑为缺失型罕见 β 地贫,有待进一步通过家系分析测序分型,见表 2。

表 1 α 缺失型地贫基因携带率及等位基因构成比

等位基因	例数	等位基因数	基因携带率	基因频率	等位基因构成比
-- ^{SEA}	3 970	3 970	57.11 (3 970/6 951)	39.81 (3 970/9 972)	76.36 (3 970/5 199)
-α ^{3.7}	931	931	13.39 (931/6 951)	9.34 (931/9 972)	17.91 (9 31/5 199)
-α ^{4.2}	286	286	4.11 (286/6 951)	2.87 (286/9 972)	5.50 (2 86/5 199)
-- ^{THAI}	9	9	0.13 (9/6 951)	0.09 (9/9 972)	0.17 (9/5 199)
αα ^{HK}	3	3	0.04 (3/6 951)	0.03 (3/9 972)	0.06 (3/5 199)
合计	5 199	5 199	74.79 (5 199/6 951)	52.16 (5 199/9 972)	100.00 (5 199/5 199)

表 2 β 地贫基因携带率及等位基因构成比

等位基因	例数	等位基因数	基因携带率	基因频率	等位基因构成比
CDs41-42	802	802	11.54 (802/6 951)	20.41 (802/3 930)	40.81 (802/1 965)
IVS- II nt654	494	494	7.11 (494/6 951)	12.57 (494/3 930)	25.14 (494/1 965)
TATA box-28	315	315	4.53 (315/6 951)	8.02 (315/3 930)	16.03 (315/1 965)
CD17	176	176	2.53 (176/6 951)	4.48 (176/3 930)	8.96 (176/1 965)
CD26	67	67	0.96 (67/6 951)	1.70 (67/3 930)	3.41 (67/1 965)
CDs71-72	47	47	0.68 (47/6 951)	1.20 (47/3 930)	2.39 (47/1 965)
TATA box-29	19	19	0.27 (19/6 951)	0.48 (19/3 930)	0.97 (19/1 965)
CDs27-28	15	15	0.22 (15/6 951)	0.38 (15/3 930)	0.76 (15/1 965)
CDs14-15	9	9	0.13 (9/6 951)	0.23 (9/3 930)	0.46 (9/1 965)
IVS- I -1-nt	6	6	0.09 (6/6 951)	0.15 (6/3 930)	0.31 (6/1 965)
CDs43	5	5	0.07 (5/6 951)	0.13 (5/3 930)	0.25 (5/1 965)
TATA box-90	3	3	0.04 (3/6 951)	0.08 (3/3 930)	0.15 (3/1 965)
CD37	3	3	0.04 (3/6 951)	0.08 (3/3 930)	0.15 (3/1 965)
Init	2	2	0.03 (2/6 951)	0.05 (2/3 930)	0.10 (2/1 965)
IVS- II -5	1	1	0.01 (1/6 951)	0.03 (1/3 930)	0.05 (1/1 965)
CD30	1	1	0.01 (1/6951)	0.03 (1/3 930)	0.05 (1/1 965)
合计	1 965	1 965	28.27 (1 965/6 951)	50.00 (1 965/3 930)	100.00 (1 965/1 965)

2.4 香洲区及西区地贫检出情况 在 25 320 对婚检夫妇中,香洲区婚检人群 11 000 人,西区婚检人群为 39 640 人。其中 α -地贫携带率分别为 7.64% (840/11 000)、10.46% (4 146/39 640)。 β -地贫检出率分别为 3.32% (365/11 000)、4.04% (1 600/39 640)。 α -地贫复合 β -地贫检出率分别为 1.51% (166/11 000) 和 1.42% (560/39 640)。

3 讨论

地中海贫血,是一组严重威胁人类健康的单基因遗传病。因其具有致死性和致残性,可导致出生死亡或缺陷而引起人们广泛关注^[1]。其中以 α -和 β -地中海贫血最为常见。全世界地中海贫血基因携带率为 2.62%,多见于东南亚国家和印度次大陆地区。我国的广东、广西、海南等省为高发地区^[4]。

珠海市是一座典型的“移民”城市,香洲区为主城区,户籍地多为外省,西区多为本地户籍。从回顾性分析的孕检夫妇户籍来看,包括双亲之一为外省籍的家庭在内,珠海市大约有 40% 的新一代为有外省市背景的人群^[5]。本研究显示:珠海市户籍人群中 β -地贫基因携带率为 3.88%,高于广州市大群调查得出的 3.36%^[6]。其主要原因与两地人群背景的不同密切相关。珠海市户籍人群中缺失型 α -地贫占据绝对优势,除--^{SEA}型别为主(76.36%)外,- $\alpha^{3.7}$ /型别也高达 17.91%。因此该区域人群中由于婚配产生的可预测的高风险胎儿类型中,除首位为重型 Hb Bart's 水肿胎外,Hb H 病(--^{SEA}/ $\alpha^{3.7}$ 或--^{SEA}/ $\alpha^{4.2}$)也要引起足够的重视,在香洲区婚检的夫妇中,夫妻双方中一方为北方户籍的人群占有相当部分比例。而西区婚检的夫妇中多为本地户籍,这是地贫检出率要高于香洲区的主要原因。因此,粤籍居民是本市预防 α 地贫的重点人群,其次为其他南方省籍移居本市的居民。此外,香洲区及西区检测人群中 α -地贫复合 β -地贫检出率分别为 1.51% 和 1.42%,总检出率为 2.93%。在该回顾性分析中,血液表型与基因分析检测结果不符的样本中(已排除缺铁性贫血),据文献报道,其原因包括其他异常血红蛋白的干扰或存在特定修饰作用等^[7]。

由于中间型和重型的 α -地贫或 β -地贫均为致死性或致残性血液病,目前仍无理想的治愈方法,因此,可以通过大规模人群地贫筛查、基因分型检测、遗传咨询服务,避免受累胎儿的出生是最佳选择^[8-10]。地中海贫血基因同型携带者婚配的下一代有 1/4 的机会患

重症地中海贫血^[11]。本研究中检出 9 例--^{THAI}型地贫,尽管是罕见地贫的一种,但是复合--^{SEA}后形成的非免疫性水肿也是形成水肿胎儿的重要原因。检出 3 例 $\alpha\alpha^{\text{HK}}$,为在同一条染色体上含有- $\alpha^{3.7}$ 和 anti4.2 不平衡交叉链接的片段,明确其基因型别后便于及时进行遗传咨询。因此,监测本地区人群中地中海贫血患者的基因类型和频率,对减少地中海贫血的危害、提高本地区的人口素质有着重要意义。

总之,对珠海市育龄人群进行地贫筛查,可有效检出高风险夫妇;由于本地区筛查人群多为已婚待孕,因此,有必要加强高风险夫妇的产前追踪,及时实施产前诊断严控重型地贫患儿的出生。以基因诊断为金标准^[12],通过系统的分子筛查手段调查珠海地区婚检夫妇人群地贫基因携带率,为大规模控制中重型地贫患儿出生提供预防计划及有益的借鉴^[13]。

参考文献

- [1] 涂志华,周知,吴维学,等.海南省东方市育龄夫妇地中海贫血基因检测结果分析[J].中华地方病学杂志,2018,37(1):69-72.
- [2] 马秋琼,周丽,严芝光,等.防城港市边境地区儿童地中海贫血基因类型分析[J].右江医学,2018,46(2):147-150.
- [3] LI CK. New trend in the epidemiology of thalassaemia [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017, 39: 16-26.
- [4] SUN G, LI X, PI J, et al. Current research problems of chronic arsenicosis in China [J]. J Health Popul Nutr, 2006, 24(2): 176-181.
- [5] 肖鸽飞,周玉球,张旭华,等. α -地中海贫血的新生儿筛查[J].中华围产医学杂志,2002,5(1):46-48.
- [6] 铭臻,赵文忠,朱志勇,等.广东省免费孕产优生健康检查地中海贫血基因检测结果分析[J].中国计划生育学杂志,2016,24(7):454-457.
- [7] SHANG X, XU X. Update in the genetics of thalassemia: What clinicians need to know [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017, 39: 3-15.
- [8] 李莉,林晓丹,陈文璟.400 例地中海贫血基因检测分析[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2012,33(2):209-212.
- [9] 吴艳丽.梅州地区育龄人群地中海贫血基因的检测与分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(4):442-443.
- [10] 梁莉,黄桂芳,赵建辉,等.百色壮族人群地中海贫血基因类型及产前诊断结果临床研究[J].中华临床医师杂志(电子版),2016,10(16):2516-2519.
- [11] 李琼.某区 208 例地中海贫血基因检测结果的分析[J].中国医药指南,2017,15(32):166-167.
- [12] 何文,王晓东,余海燕.妊娠合并地中海贫血研究现状[J].中华妇幼临床医学杂志(电子版),2017,13(1):14-19.
- [13] 陆海燕.血常规红细胞参数在诊断、筛查地中海贫血中的意义[J].医学理论与实践,2017,30(10):1515-1516.

(收稿日期:2020-06-04)