

· 论 著 ·

两省交界地区 β 地中海贫血复合缺失型 α 地中海贫血的发生率及基因诊断

郭柳薇, 黄 瑾, 李颖莉

(广西医科大学第七附属医院, 广西 梧州 543001)

摘要:目的 研究两省(广东、广西)交界地区 β 地中海贫血杂合子复合缺失型 α 地中海贫血的基因型及发生率。方法 采用 RDB/PCR 技术检测 17 种中国人较常见 β 地中海贫血基因突变位点。采用单管多重 PCR 技术检测 3 种缺失型 α 地中海贫血(左缺失- $\alpha^{4.2}$ 缺失, 右缺失- $\alpha^{3.7}$ 缺失, 东南亚型缺失--SEA)。结果 在 217 例 β 地中海贫血杂合子标本中共检出 30 例复合缺失型 α 地中海贫血, 检出率为 13.82%。其中 β 地中海贫血杂合子合并--SEA/ $\alpha\alpha$ 20 例(9.21%), 合并- $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$ 7 例(3.22%), 合并- $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$ 2 例(0.92%), 合并--SEA/ $\alpha^{4.2}$ 1 例(0.46%)。检出的 30 例 β 地中海贫血基因突变类型共有 8 种, 分别是 CD41-42(-TCTT)、TATAboxnt-28(A→G)、CD17(A→T)、CD71-72(+A)、IVS-II nt654(C→T)、 βE (G→A)、TATAboxnt-29(A→G)、CD43(G→T)。结论 两省交界地区人群 β 地中海贫血杂合子复合缺失型 α 地中海贫血的发生率为 13.82%, β 地中海贫血基因突变类型呈现多样性。在遗传咨询和产前诊断中应引起重视。

关键词: α 地中海贫血; β 地中海贫血; 基因诊断

中图分类号: R556.9; Q344.13

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)14-1827-02

Incidence and genetic diagnosis of β -thalassemia compound α -thalassemia in the border area of two provinces

GUO Liu-wei, HUANG Ying, LI Ying-li

(The Seventh Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Wuzhou 543001, China)

Abstract: Objective To investigate the genotype and incidence of β -thalassemia compound α -thalassemia in the border area of Guangdong and Guangxi. **Methods** The 17 β -thalassemia mutation were detected by reverse dot blot(RDB). Three kinds of deletion α -thalassemia were detected by gap-PCR. **Results** Of 217 β -thalassemia, 30 were detected to be combined with α -thalassemia; 20 combined with --SEA/ $\alpha\alpha$ (9.21%), 7 combined with - $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$ (3.22%), 2 combined with - $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$ (0.92%), 1 combined with --SEA/ $\alpha^{4.2}$ (0.46%). In the 30 heterozygotes, 8 types mutation were as follow: CD41-42(-TCTT), TATAboxnt-28(A→G), CD17(A→T), CD71-72(+A), IVS-II nt654(C→T), βE (G→A), TATAboxnt-29(A→G), CD43(G→T). **Conclusion** 13.82% of β -thalassemia compound α -thalassemia were found in the border area of Guangdong and Guangxi. The type of gene mutation in β -thalassemia were multifarious. It should be pay attention to the genetic counseling and prenatal diagnosis.

Key words: α -thalassemia; β -thalassemia; gene diagnosis

地中海贫血(Thalassemia)是由于珠蛋白肽链合成受到部分或完全抑制,造成肽链合成不平衡所引起的一组遗传性溶血性贫血,分为 α 地中海贫血和 β 地中海贫血。由于珠蛋白缺失的多样性,所致缺乏的珠蛋白链的类型、数量及临床表现不一^[1]。 α 地中海贫血和 β 地中海贫血是中国南方(尤其是广东和广西)最常见、发病率最高、危害最大的人类遗传病之一。梧州市在地理上是广东与广西交界的地方,根据本院两省交界地区随机人群筛查资料表明, α 地中海贫血基因检出率为 9.44%, β 地中海贫血基因检出率为 8.15%^[2]。两种不同类型地中海贫血杂合子之间婚配,即有生育 α 与 β 地中海贫血双重杂合子的机会。为了解两省交界地区 β 地中海贫血杂合子复合缺失型 α 地中海贫血的发生率及基因型分布,本实验对 217 例 β 地中海贫血基因携带者进行了 α 珠蛋白基因分析研究,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 217 例标本为广西梧州市及其周边的岑溪、苍梧、藤县和广东的封开、郁南、都城等地来本院产检的孕妇及其丈夫以及部分婚检者,受检者中男 80 例,女 137 例。年龄 20~40 岁。

1.2 地中海贫血基因诊断 由深圳亚能生物技术有限公司提供试剂,按说明进行操作。

1.3 标本采集和制备 用 EDTA-K₂ 抗凝血 2 mL,用全血

DNA 快速提取试剂从抗凝全血中抽提人基因组 DNA,按说明进行操作。

1.4 β 地中海贫血基因检测 采用 RDB/PCR 技术检测 17 种中国人较常见 β 地中海贫血基因突变位点。取 3 μ L DNA(2~200 ng/L)加入反应管中,PCR 条件:50 $^{\circ}$ C 15 min, 95 $^{\circ}$ C 10 min, 然后 94 $^{\circ}$ C 60 s \rightarrow 55 $^{\circ}$ C 30 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 30 s 经 35 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。将扩增产物与结合有中国人较常见的 17 种 β 地中海贫血基因突变寡核苷酸探针的膜条进行反向点杂交,检测中国人常见的 8 个位点:CD41-42(-TCTT), IVS-2-654(C \rightarrow T), CD17(A \rightarrow T), -28(A \rightarrow G), CD26(G \rightarrow A), CD71-72(+A), CD43 G \rightarrow T, -29 A \rightarrow G) 和 9 个少见位点突变(起始密码子 ATG \rightarrow AGG, CD14-15(+G), CD27-28(+C), -32(C \rightarrow A), -30(T \rightarrow C), IVS-1-1(G \rightarrow T), IVS-1-5(G \rightarrow C), CD31(-C), CAP+40+43(-AAAC))。

1.5 α 地中海贫血基因诊断 采用单管多重 PCR 技术检测 3 种缺失型 α 地中海贫血(左缺失- $\alpha^{4.2}$ 缺失, 右缺失- $\alpha^{3.7}$ 缺失, 东南亚型缺失--SEA)。取 DNA 3 μ L(2~200 ng/L)加入反应管中。PCR 反应条件:97 $^{\circ}$ C 15 min, 然后 98 $^{\circ}$ C 45 s \rightarrow 64 $^{\circ}$ C 90 s \rightarrow 72 $^{\circ}$ C 180 s 经 35 个循环,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。取 8 μ L 的 PCR 产物在 1.2% 的琼脂糖凝胶(加 EB)电泳,紫外灯下观察基因图谱为 1 800 bp、2 000 bp、1 600 bp、1 300 bp 的条带,分别为 α 珠蛋白正常基因, - $\alpha^{3.7}$ 缺失型、- $\alpha^{4.2}$ 缺失型、--SEA 缺失型

的扩增产物。

2 结 果

RDB 检测 β 珠蛋白基因结果:检测出 217 例 β 地中海贫血基因携带者。在 217 例 β 地中海贫血中共检出 30 例复合缺失型 α 地中海贫血。检出率为 13.82%。其中 β 地中海贫血杂合子合并 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 20 例(占 9.21%),合并 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 7 例(3.22%),合并 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 2 例(0.92%),合并 $-\text{SEA}/-\alpha^{4.2}$ 1 例(0.46%)。检出的 30 例 β 地中海贫血基因突变类型共有 8 种,分别是 CD41-42(-TCTT)、TATAboxnt-28(A→G)、CD17(A→T)、CD71-72(+A)、IVS-II nt654(C→T)、 $\beta\text{E}(G\rightarrow A)$ 、TATAboxnt-29(A→G)、CD43(G→T)。具体结果见表 1、2。

表 1 217 例 β 地中海贫血杂合子基因型分布

基因型	n	%
$\beta\text{CD41-42}(-\text{TCTT})/\beta^A$	106	48.84
$\beta\text{TATAboxnt-28}(A\rightarrow G)/\beta^A$	35	16.12
$\beta\text{CD17}(A\rightarrow T)/\beta^A$	24	11.05
$\beta\text{IVS-II nt654}(C\rightarrow T)/\beta^A$	25	11.52
$\beta\text{CD71-72}(+A)/\beta^A$	16	7.37
$\beta\text{E}(G\rightarrow A)/\beta^A$	7	3.22
$\beta\text{TATAboxnt-29}(A\rightarrow G)/\beta^A$	3	1.38
$\beta\text{CD43}(G\rightarrow T)/\beta^A$	1	0.46
合计	217	100.00

表 2 30 例轻型 β 地中海贫血复合 α 地中海贫血双重杂合子基因分布

基因型	n	$-\text{SEA}/$	$-\alpha^{3.7}/$	$-\alpha^{4.2}/$	$-\text{SEA}/$
		$\alpha\alpha$	$\alpha\alpha$	$\alpha\alpha$	$-\alpha^{4.2}$
$\beta\text{CD41-42}(-\text{TCTT})/\beta^A$	10	8	2	0	0
$\beta\text{TATAboxnt-28}(A\rightarrow G)/\beta^A$	7	5	2	0	0
$\beta\text{CD17}(A\rightarrow T)/\beta^A$	5	3	1	0	1
$\beta\text{IVS-II nt654}(C\rightarrow T)/\beta^A$	2	0	1	1	0
$\beta\text{CD71-72}(+A)/\beta^A$	2	1	0	1	0
$\beta\text{E}(G\rightarrow A)/\beta^A$	2	2	0	0	0
$\beta\text{TATAboxnt-29}(A\rightarrow G)/\beta^A$	1	1	0	0	0
$\beta\text{CD43}(G\rightarrow T)/\beta^A$	1	0	1	0	0
合计	30	20	7	2	1

3 讨 论

在地中海贫血高发区, β 地中海贫血复合 α 地中海贫血的检出率已引起人们的关注。人类有 4 个 α -珠蛋白基因位于 16 对染色体上,每条染色体上有 2 个 α -基因($\alpha 1$ 和 $\alpha 2$)。如果一条 16 号染色体缺失 1 个 α 基因者称为 α^+ 地中海贫血(亦称 α 地中海贫血 2),缺失 2 个 α 基因者称为 α^0 地中海贫血(亦称 α 地中海贫血 1)。在东南亚地区 α -基因的改变以缺失型较为常见,最常见的为东南亚缺失($-\text{SEA}/\alpha\alpha$)、左缺失($-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$)及右缺失($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$)。

本组资料显示,两省交界地区 α 、 β 复合型地中海贫血的检出率为 13.82%,其中复合 α 地中海贫血 1 的检出率为 9.21%,

复合右缺失 α 地中海贫血 2 为 3.22%,复合左缺失 α 地中海贫血 2 为 0.92%。与韩俊英等^[3-4]报道的大致相符。值得注意的是有 1 例 CD17(A→T)复合 HbH($-\text{SEA}/-\alpha^{4.2}$),出现 3 种基因型同存现象。这类地中海贫血不仅有 β 基因的缺陷而且又有 α 基因的缺失,这使得 α 和 β 珠蛋白链的失衡状态有所改善,相应的临床症状减轻,表现为中间型地中海贫血^[5]。常常表现 β 地中海贫血的特征,如果不作基因诊断,往往会掩盖 α 地中海贫血的存在。

引起 β 地中海贫血的分子机制主要是 β 珠蛋白基因点突变,是中国南方最常见的遗传性溶血性疾病之一。据文献报道,全世界已发现 300 多种点突变类型,中国人占 21 种,且以 CD41-42(-TCTT)、IVS-II nt654(C→T)、CD17(T→A)、-28(A→G)、CD71-72(+A)为最常见。从表 1、2 看出本组确诊的 217 例 β 地中海贫血杂合子中以上 5 种突变类型占 94.93%,与黄欣秋^[6]报道的相似,但基因位点突变率排序有所不同。

在 2 种相同类型地中海贫血杂合子婚配,生育重型地中海贫血患儿的概率为 1/4,1 个 β 地中海贫血杂合子与 1 个 α 地中海贫血杂合子婚配无生育重型地中海贫血患儿的危险。但生育 α 、 β 复合型地中海贫血双重杂合子的概率为 1/4。在 α 、 β 复合型地中海贫血发生率这样高的情况下,这种 $\alpha\beta$ 地中海贫血双重杂合子无论与 α 或 β 地中海贫血杂合子婚配,均有 1/4 的概率生育重症地中海贫血患儿。即胎儿水肿综合征或 β 地中海贫血重症患儿,重型 β 地中海贫血患者靠长期输血为生,大多也因严重贫血或继发感染在儿童期死亡,给社会和家庭带来沉重的经济负担^[7]。随着分子生物技术的不断发展和基因检测方法的日趋成熟,积极开展地中海贫血高发区人群的筛查,准确诊断 β 地中海贫血复合缺失型 α 地中海贫血,对及时指导婚配,避免重症地中海贫血患儿的出生具有重要意义。

参考文献:

- [1] 李军,殷和.地中海贫血的诊断技术及进展[J].重庆医学,2009,38(7):864.
- [2] 黄旭,郭柳薇,李颖莉,等.广东广西交界地区地中海贫血发生率及基因检测结果分析[J].中国优生与遗传杂志,2008,16(9):12.
- [3] 韩俊英,曾瑞萍,胡彬.广东地区 β 地中海贫血复合缺失型 α 地中海贫血双重杂合子检出率[J].中华血液学杂志,2001,22(10):514.
- [4] 区小冰,黄钰君,张力,等.小儿 α 、 β 复合型地中海贫血基因诊断及临床表现[J].临床血液学杂志:输血与检验版,2007,4(4):147.
- [5] 李德发,祖莹,孙平,等.合并 α 珠蛋白基因缺失的 β 地中海贫血患儿基因型分析[J].中国优生与遗传杂志,2005,13(3):23.
- [6] 黄欣秋.21 例 β 地中海贫血的基因类型与临床表现分析[J].广西医学,2009,31(4):497.
- [7] 莫建坤,区小冰,黎永新. β -地中海贫血患者与其父母地中海贫血基因检测结果分析[J].广东医学,2006,27(7):1001.