

长寿区孕期人群珠蛋白生成障碍性贫血血液学筛查及基因检测的研究*

左凌燕,何泽真[△],车 显,张 敏,文 皓

(重庆市长寿区妇幼保健院产科 401220)

[摘要] 目的 对长寿区孕期人群珠蛋白生成障碍性贫血血液进行筛查及基因检测,指导优生优育和提供产前诊断。方法 选取 2013 年 1 月至 2014 年 10 月在长寿区妇幼保健院就诊的 1 760 名孕妇作为研究对象进行血红蛋白(Hb)成分分析,对珠蛋白生成障碍性贫血进行初级筛选;对初筛结果阳性、血常规异常的孕妇和其配偶进行珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,确定基因型。结果 对 1 760 名孕妇进行 Hb 成分分析,其中怀疑为 α -珠蛋白生成障碍性贫血者 27 例,阳性率为 1.53%,怀疑为 β -珠蛋白生成障碍性贫血者 25 例,阳性率为 1.42%;对 465 名受检者进行珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,其中女性 438 名中,珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者阳性率为 31.51%;男性 27 名中,珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者阳性率为 33.33%。结论 孕期常规行珠蛋白生成障碍性贫血的筛查,对发病率高的地区的生育指导具有重要意义,为进一步进行基因诊断和遗传咨询提供基础。

[关键词] 珠蛋白生成障碍性贫血;血液学筛查;基因检测;产前诊断**[中图分类号]** R556**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)31-4370-03

Blood screening and gene detection of thalassemia in the pregnant couples in Changshou district*

Zuo Lingyan, He Zezhen[△], Che Xian, Zhang Min, Wen Hao

(Department of Obstetrics, Maternal and Child Care Service Centre of Changshou District, Chongqing 401220, China)

[Abstract] **Objective** To establish blood screening and genetic detection of thalassemia trait in pregnant couples in Changshou area so as to provide guidance for aristogenesis and prenatal diagnosis. **Methods** A total of 1 760 pregnancy in maternal and child health hospital treated from January 2013 to October 2014 were selected for study. The component of hemoglobin was analyzed as primary screening and genotype of pregnant couples were ensured in which primary screening result is positive. **Results** There were 27 cases suspected as α -thalassemia (positive rate was 1.53%) and 25 cases suspected as β -thalassemia(positive rate was 1.42%) in the primary screening($n=1\ 760$). The positive rate of gene carrier were 31.51% ($n=438$) in women and 33.33% ($n=27$) in men. **Conclusion** The routine screening of thalassemia could guide aristogenesis in high incidence area and provide terms of prenatal diagnosis and genetic counseling.

[Key words] beta-thalassemia; blood chemical analysis; gene detection; prenatal diagnosis

珠蛋白生成障碍性贫血,又称海洋性贫血、地中海贫血,是由于珠蛋白基因的缺陷使珠蛋白肽链合成减少或不能合成,导致红细胞内血红蛋白(Hb)的组成成分发生改变,引起的慢性溶血性贫血。珠蛋白生成障碍性贫血是全球最大的单基因遗传病之一,被世界卫生组织列为危害人类健康的 6 种常见病之一^[1]。在中国,珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率为 1.00%~23.00%,广泛分布于我国南方地区,主要型别为 α -珠蛋白生成障碍性贫血和 β -珠蛋白生成障碍性贫血^[2]。广东、广西、海南、四川、重庆等地区为高发区域。重型 α -珠蛋白生成障碍性贫血是致死性的出生缺陷,重型 β -珠蛋白生成障碍性贫血出生 1 年内发病,病情呈进行性加重,仅能依靠输血和去铁治疗维持生命,且花费巨大。未经治疗者多于未成年之前夭折。目前临床上仍然缺乏有效治疗手段。因此,通过产前筛查,对高风险的胎儿进行产前诊断,以期淘汰重型珠蛋白生成障碍性贫血患儿是目前国际上公认的预防珠蛋白生成障碍性贫血的最有效的途径。本研究通过 Hb 成分分析和基因检测的方法筛查长寿区孕期人群珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者,以期对产前诊断和遗传咨询提供依据和指导优生优育,现将结果报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 收集本院产科 2013 年 1 月至 2014 年 10 月

就诊的 1 760 名孕妇,进行珠蛋白生成障碍性贫血知识宣传,对其进行 Hb 成分分析,统计受检者信息及检验结果。对 Hb 成分分析结果阳性者,签署知情同意书,进一步做珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,并对检验结果的基因缺陷型别进行统计。对珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果为阳性者,其配偶加做珠蛋白生成障碍性贫血基因检测。

1.2 方法

1.2.1 Hb 成分分析检查^[3] (1)对样本采用比色法进行红细胞孵育渗透脆性实验,比值小者,红细胞抵抗力较小,脆性增加。反之抵抗力增大。正常参考范围为:成人 65%~100%,结果小于 65%为阳性。(2)电阻抗法测定平均红细胞体积(MCV)及红细胞体积分布宽度(RDW),RDW 正常参考范围为小于或等于 15.0%,MVC 正常参考范围为 80~100 fL,不在此范围内即为阳性。(3)比色法测定 Hb,女性正常参考范围为 110~150 g/L, <110 g/L 为阳性。(4)采用琼脂糖凝胶电泳法测定 Hb(A+F)、Hb(A2)含量, Hb(A+F)正常参考范围为成人 96.50%~97.50%, Hb(A2)正常参考范围为 2.5%~3.5%,不在此范围内为阳性。若碱性电泳显示 Hb(A2)下降,主要见于 α 轻型珠蛋白生成障碍性贫血;若碱性电泳显示 Hb(A+F)下降,则怀疑 β 轻型珠蛋白生成障碍性贫血,不排

* 基金项目:重庆市长寿区科委科技计划项目(cs2014025)。 作者简介:左凌燕(1971—),主治医师,本科,主要从事孕前保健、遗传优生咨询。 [△] 通讯作者, E-mail:114798489@qq.com。

除复合 α 珠蛋白生成障碍性贫血。

1.2.2 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测^[4] 珠蛋白生成障碍性贫血血液学筛查阳性者采用 PCR 技术和基因测序技术进行基因检测分析。对基因检测为携带者的孕妇再对其配偶进行基因检测。主要检测我国常见的 17 种 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因突变和 3 种常见的 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因缺失及 3 个最常见 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因突变位点。

1.3 观察指标 (1)在告知孕妇并取得同意的情况下,观察 Hb 成分分析检查结果,与正常参考值进行比较,统计初次筛查结果为阳性的孕妇信息。(2)基因检测情况:通过 PCR 技术与基因测序技术检测我国常见的 17 种 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因突变和 3 种常见的 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因缺失及 3 个最常见 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因突变位点。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据分析,结果的描述主要使用绝对数和构成比(%),为了方便对结果的分析 and 对比采用图表统计处理。

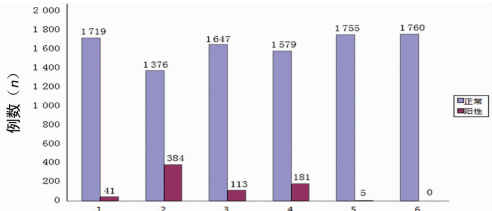
2 结 果

2.1 Hb 成分分析结果 自 2013 年 1 月至 2014 年 10 月,对在本院就诊的 1 760 例孕期人群进行 Hb 成分分析,作为珠蛋白生成障碍性贫血初筛的方法。其中怀疑为 α -珠蛋白生成障碍性贫血者 27 例,阳性率为 1.53%,怀疑为 β -珠蛋白生成障碍性贫血者 25 例,阳性率为 1.42%,异常 Hb 带为 5 例,阳性率 0.28%,总计阳性率为 3.24%。具体结果如下。

2.1.1 血常规及异常 Hb 带检查结果 1 760 例受检者中,红细胞孵育渗透脆性试验结果阳性为 41 例,且均为偏低;RDW 实验结果阳性为 384 例;MCV 实验结果阳性为 113 例,其中大于 100 为 59 例,<80 为 54 例;Hb 实验结果阳性为 181 例;5 名检测到异常 Hb 带但均未检测 Hb H 包涵体,图表统计见

图 1。

2.1.2 Hb 碱性电泳结果 1 760 例受检者中,Hb 成分分析结果正常 1 613 例,占比 91.65%;Hb(A2)碱性电泳实验结果阳性为 50 例;Hb(A+F) 碱性电泳实验结果阳性为 51 例。



1:红细胞孵育渗透脆性试验;2:RDW;3:MCV;4:Hb;5:异常 Hb 带;6:Hb H 包涵体。

图 1 血常规及异常 Hb 带检测情况

2.2 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果 血液筛查为阳性的孕妇对其珠蛋白生成障碍性贫血基因检查,检测为携带者的妇女进一步检查其配偶基因,在 2013 年 1 月至 2014 年 10 月,共计有 465 名受检者进行珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,其中,男 27 名,女 438 名。438 名女性中,76 名诊断为 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者,62 名诊断为 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者,女性人群阳性率为 31.51%;27 名男性中,4 名 α 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者,5 名诊断为 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者,男性人群阳性率为 33.33%。见表 1。珠蛋白生成障碍性贫血基因分型检测结果统计见表 2。本次研究共检测出 3 对夫妻为同型珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者,均前往上级医院行产前诊断,最终 3 例胎儿均明确为珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者。

表 1 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测情况

性别	n	α -珠蛋白生成障碍性贫血基因携带(n)	β -珠蛋白生成障碍性贫血基因携带(n)	无珠蛋白生成障碍性贫血基因携带(n)	珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率(%)
女性	438	76	62	300	31.51
男性	27	4	5	18	33.33
合计	465	80	67	318	31.61

表 2 珠蛋白生成障碍性贫血基因分型检验缺陷位点情况

珠蛋白生成障碍性贫血基因缺陷位点	例数(n)
α 珠蛋白生成障碍性贫血 1 基因(SEA)	80
α 珠蛋白生成障碍性贫血 1 基因杂合子(-/ $\alpha\alpha$)	45
α 珠蛋白生成障碍性贫血 2 基因(3.7/4.2)	1
基因缺失(3.7 型),杂合子(-/ $\alpha\alpha$)	28
基因缺失(4.2 型),杂合子(-/ $\alpha\alpha$)	6
β 珠蛋白生成障碍性贫血血基因分型(17 种突变)	67
-28 位点突变基因杂合子	2
-29 位点突变基因杂合子	1
CD17 位点突变基因杂合子	28
CD41-42 位点突变基因杂合子	15
IVS-II-654 位点突变基因杂合子	19
β E 位点突变基因杂合子	2

3 讨 论

珠蛋白生成障碍性贫血是一种先天的血液疾病,和父母的遗传有关。患者的红细胞较脆弱且容易死亡,其带氧能力不足,超过某种程度无法正常生活;是一种常染色体隐性基因遗传,在四川、重庆、云南等省发病率较高^[5-7],基因携带率为 6.00%左右,目前无较好的治疗方法^[8]。若夫妻为同型地中海型贫血的带因者,每次怀孕,其子女有 1/4 的机会为正常,1/2 的机会为携带者,另 1/4 的机会为重型地中海型贫血患者。在珠蛋白生成障碍性贫血的诊断方法中^[9-12],Hb 成分分析作为孕早期人群大面积筛查的方法^[13],是一种综合性检查方法,根据其检查结果结合镜检血红蛋白 H 包涵体,给出综合性的建议与解释,是珠蛋白生成障碍性贫血初步筛查的首选方法。对初筛结果阳性、血常规异常者进行珠蛋白生成障碍性贫血基因检测^[14-16],是珠蛋白生成障碍性贫血检查的金标准,可以直接确诊,避免漏诊、误诊,确定患者的基因型,作为遗传咨询依据,指导产前诊断,同时预测家族成员的珠蛋白生成障碍性贫血发病风险,指导婚育。本研究通过对长寿地区孕期人群珠蛋白生成

障碍性贫血中流行病学研究,实施正规的珠蛋白生成障碍性贫血基因检查,得出本地区珠蛋白生成障碍性贫血发病率。采用 PCR 和反向斑点杂交、RDB 技术是针对中国人群特点进行珠蛋白生成障碍性贫血确诊的最佳方案。通过对长寿地区珠蛋白生成障碍性贫血临床观察与统计分析,建立一套针对孕妇的常规珠蛋白生成障碍性贫血筛查模式,预防珠蛋白生成障碍性贫血出生缺陷,填补此病在长寿区产前筛查领域研究的空白。

本研究对象 1 760 例,怀疑为 α -珠蛋白生成障碍性贫血者 27 例,阳性率为 1.53%,怀疑为 β -珠蛋白生成障碍性贫血者 25 例,阳性率为 1.42%,异常 Hb 带为 5 例,阳性率 0.28%,总计阳性率为 3.42%。为得到 1 760 例孕妇珠蛋白生成障碍性贫血发病率的准确信息,对检验为阳性的孕妇进行基因检测,对确有携带致病基因的孕妇其配偶再进行基因检测,以指导优生优育,珠蛋白生成障碍性贫血致病基因为常染色体隐性遗传,若孕妇不携带致病基因,除基因突变外不可能生育患儿,若孕妇携带致病基因,则有必要对其配偶进行基因检测,进一步评估生育珠蛋白生成障碍性贫血患儿的可能,若其配偶也为携带者,有 1/4 的可能生育出患儿,可提供产前诊断和遗传咨询依据,为孕期妇女是否继续妊娠提供决策的依据^[17]。

综上所述,珠蛋白生成障碍性贫血在四川、重庆地区的发病率高,目前国内外均无有效的根治性方法,群众对此遗传性疾病还未引起广泛关注,应大力开展珠蛋白生成障碍性贫血知识的普及与宣传工作,在产前检查中常规珠蛋白生成障碍性贫血的筛查,为基因诊断和遗传咨询提供基础,防止重度新生儿珠蛋白生成障碍性贫血的出生,对优生优育和提高人口素质具有重要意义。

参考文献

[1] 张银辉,张允奇,黄烈,等.珠蛋白生成障碍性贫血诊断实验的选择在临床的应用价值[J].中华全科医学,2011,9(3):454-456.

[2] 黄道连,袁春雷,冯丹艺. $\alpha\beta$ 复合型珠蛋白生成障碍性贫血筛查结果分析[J].中国小儿血液与肿瘤杂志,2011,16(5):214-216,224.

[3] 李莉艳,李强,宋兰林,等.MCV、MCH 和血红蛋白 A2 检测在珠蛋白生成障碍性贫血筛查中的价值[J].中华妇产科杂志,2012,47(2):96-100.

[4] 朱宝生,贺静,张杰,等.云南省珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者及患者 α 和 β 珠蛋白基因突变谱与产前基因诊断[J].中华妇产科杂志,2012,47(2):85-89.

[5] 余永雄,黄丽,陈唯.梧州婚配群体的 α 珠蛋白生成障碍性贫血携带者筛查与基因诊断分析[J].重庆医学,2012,41(10):1002-1003.

[6] 姚莉琴,邹团标,杨发斌,等.云南边境 10 个少数民族儿童珠蛋白生成障碍性贫血的流行病学调查[J].中华医学遗传学杂志,2011,28(5):579-582.

[7] 马星卫,许吟,戴薇,等.贵阳地区 1143 例孕妇珠蛋白生成障碍性贫血筛查及基因检测结果分析[J].重庆医学,2013,42(17):1990-1991.

[8] Rachmilewitz EA, Giardina PJ. How to treat thalassemia [J]. Blood, 2011, 118(13):3479-3488.

[9] 代宏剑,温柏平.地中海贫血的实验诊断进展[J].国际检验医学杂志,2011,32(2):251-252.

[10] Benz EJ. Newborn screening for α -thalassemia—keeping up with globalization[J]. N Engl J Med, 2011, 364(8):770-771.

[11] 刘贵建,孙士鹏.珠蛋白生成障碍性贫血的实验诊断:项目和的选择及临床应用评价[J].中华检验医学杂志,2012,35(5):385-389.

[12] 郝颖,徐志勇,金晴,等.一种新的 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因突变类型的分子诊断和产前基因诊断[J].中华血液学杂志,2011,32(4):245-248.

[13] 司徒文慈,阙贵珍,胡映红,等.MCV、RDW 和 RBC 脆性在产前筛查珠蛋白生成障碍性贫血中的价值[J].实用医学杂志,2011,27(16):2976-2977.

[14] 周玉球.珠蛋白生成障碍性贫血表型筛查和基因诊断的现状 & 展望[J].中华检验医学杂志,2012,35(5):394-398.

[15] Chen YL. Capillary electrophoresis combining three-step multiplex polymerase chain reactions for diagnosing α -thalassemia[J]. Electrophoresis, 2011, 32(3/4):379-385.

[16] 温柏平,樊茂,代宏剑,等.昆明地区儿童珠蛋白生成障碍性贫血筛查和基因诊断分析[J].中国当代儿科杂志,2011,13(2):104-106.

[17] 阅婷,李旺,李东明,林飞,等.孕早期胎儿地中海贫血基因型与血液学表型和产前诊断适应证的遗传研究[J].实用妇产科杂志,2014,30(6):435-439

(收稿日期:2015-07-21 修回日期:2015-07-10)

(上接第 4369 页)

Unwashed filtered shed blood collected after knee and hip arthroplasties. A source of autologous red blood cells[J]. J Bone Joint Surg Am, 1991, 73(8):1169-1178.

[19] Erskine JG, Fraser C, Simpson R et al. Blood loss with knee joint replacement[J]. J R Coll Surg Edinb, 1981, 26(5):295-297.

[20] Cid J, Lozano M. Tranexamic acid reduces allogeneic red cell transfusions in patients undergoing total knee arthro-

plasty: results of a meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Transfusion, 2005, 45(8):1302-1307.

[21] Lozano M, Basora M, Peidro L, et al. Effectiveness and safety of tranexamic acid administration during total knee arthroplasty[J]. Vox Sang, 2008, 95(1):39-44.

[22] 魏雪梅,张晋萍.氨甲环酸注射液致严重过敏反应[J].药物不良反应杂志,2005,7(2):145.

(收稿日期:2015-06-29 修回日期:2015-07-16)