

·信息研究·

深圳地区育龄人群地中海贫血基因型分布调查

袁 晖¹, 吴维青², 吴晓霞¹, 李 辉², 谢建生^{2*}

(深圳市妇幼保健院/南方医科大学附属深圳市妇幼保健院, 1 产科, 2 中心实验室, 广东深圳, 518028)

摘 要:【目的】了解深圳地区育龄人群中 α - β 地中海贫血基因型的分布情况。【方法】通过检测育龄男女外周血的平均红细胞容积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)和血红蛋白电泳进行地中海贫血的筛查。对于6276例筛查阳性者用PCR及反向斑点膜杂交技术(Reverse Dot Blot Hybridization, RDB法)进行 α - β 地中海贫血基因诊断, 未检测到常见突变者进一步行基因突变热点测序、比对检测。【结果】5503例进行了 α 地贫基因诊断, 共检出11种 α 地贫基因型共2129例, 其中常见缺失型 α 地贫基因型 $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$, 构成比分别为76.84%、15.12%、5.26%, 共97.22%。2947例进行了 β 地贫基因诊断, 共发现14种 β 地贫基因型共1059例, 其中最常见6种突变类型分别为 $\beta 41-42(-TCTT)$ 、 $\beta IVS-2-654(C\rightarrow T)$ 、 $\beta CD17(A\rightarrow T)$ 、 $\beta -28(A\rightarrow T)$ 、 $\beta CD26(G\rightarrow A)$ 、 $\beta CD71/72(+A)$, 共占94.71%。其中通过 β 珠蛋白基因全长DNA序列分析, 首次在广西籍患者中发现1种在中国人种中罕见报道的突变: $CD37$ 突变($G\rightarrow A$), 此前仅发现于中国广东人和阿富汗人中。【结论】深圳地区是国内地贫发生率较高和遗传背景较复杂的地区, 但是仍以广东人为主, 其 α - β 地贫基因型分布的特点符合广东省的基本特点。对育龄人群进行地贫的筛查和基因诊断, 对提高人口素质有重要作用。

关键词: 地中海贫血; 基因突变; 分子流行病学**中图分类号:** R556**文献标志码:** A**文章编号:** 1672-3554(2012)04-0553-05

A Survey on Distribution of Thalassemic Genotypes in Reproductive Population in Shenzhen

YUAN Hui¹, WU Wei-qing², WU Xiao-xia¹, LI Hui², XIE Jian-sheng²

(1. Department of Obstetrics, 2. Central Laboratory, Shenzhen Maternity and Child Healthcare Hospital Affiliated to Southern Medical University, Shenzhen 518028, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the genotype distribution of both α - and β -thalassemia in Shenzhen city. 【Method】Couples in the reproductive age were screened by detection of mean corpuscle volume (MCV), mean corpuscle hemoglobin (MCH) and electrophoresis of hemoglobin. A total of 6276 positive samples were detected and further identified by PCR and Reverse dot blot hybridization (RDB) for the genotype of thalassemia. Samples with positive phenotypes but without common gene mutations were analyzed by DNA sequencing technology. 【Result】2129 samples with 11 kinds of α -thalassemia gene mutations were detected from 5503 high risk individuals. The three most common mutations were as follows: $--^{SEA}/\alpha\alpha$ (76.84%), $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (15.12%) and $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ (5.26%). 1059 samples with 14 kinds of β -thalassemia gene mutations were detected from 2947 high risk individuals. The six most common mutations were as follows: $\beta 41-42(-TCTT)$, $\beta IVS-2-654(C\rightarrow T)$, $\beta CD17(A\rightarrow T)$, $\beta -28(A\rightarrow T)$, $\beta CD26(G\rightarrow A)$, $\beta CD71/72(+A)$, and its total percentage was 94.71%. A rare β -thalassemia gene mutation was detected from a Guangxi patient for the first time: $CD37$ mutation ($G\rightarrow A$), which was only found in Cantonese and Afghan before. 【Conclusion】The characteristics of α -, β -thalassemia genotype in Shenzhen were consistent with that in Guangdong province.

Key words: thalassemia; gene mutation; molecular epidemiology

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2012, 33(4):553-557]

据世界卫生组织估计, 世界人口中约有4.5%的人群携带地贫基因, 每年出生的各类重症地贫

(包括与其它血红蛋白病的复合型)患儿数至少有20万。我国长江以南各省是地贫的高发区^[1-3]。据

收稿日期: 2012-03-13

基金项目: 深圳市科技计划项目(医疗卫生类)重点项目(201001016)

作者简介: 袁 晖, 副主任医师, E-mail: yuahnuiYYHH@163.com; *通信作者: 谢建生 E-mail: jianshengxie2000@yahoo.com.cn

现有流行病学调查资料显示,广东、广西、海南、台湾和香港地区人群中 α 地贫发生率高达 4% ~ 15%; β 地贫发生率约为 1% ~ 6%^[1-3]。其中广东、广西两省地中海贫血基因携带者分别达 11% 和 13%^[4]。深圳市地处我国地贫高发区域,且深圳为移民城市,人群遗传背景复杂,调查育龄人群中 α 和 β 地贫的基因突变类型及其分布特征具有重要意义。本研究对 2004 年 9 月至 2007 年 9 月在深圳市妇幼保健院进行检查的地中海贫血初筛阳性的 6 276 名育龄男女进行地贫基因检测,并分析统计其基因类型及构成情况。

1 材料与方法

1.1 研究对象及方法

2004 年 9 月至 2007 年 9 月,所有来深圳市妇幼保健院行孕前或产前检查的育龄男女进行全血细胞分析进行地中海贫血初筛。以平均红细胞体积(Mean corpuscle volume, MCV) < 80 fl 和/或平均红细胞血红蛋白含量 (Mean corpuscle hemoglobin, MCH) < 27 pg 者为筛查阳性,纳入调查。纳入调查者共 6 276 名,其中女性 3 524 名,男性 2 752 名,年龄在 22~48 岁。筛查阳性者再进行血红蛋白电泳,对 HbA₂ ≤ 2.5 % 及有 HbH、HbBart's 或 HbCS 条带者进行 α 地贫基因检测; HbA₂ ≥ 3.5% 或正常但 HbF > 3% 者进行 β 地贫基因检测。用 PCR 及 RDB 法进行基因诊断,未检测到常见突变者行基因突变热点测序、比对。

1.2 试剂

缺失型 α 地贫基因检测采用单管四重 PCR 基因诊断技术,试剂盒由深圳亚能生物技术有限公司提供;非缺失型 α 地贫和 β 地贫的基因检测采用反向斑点膜条杂交技术(RDB 法),试剂盒由深圳益生堂生物有限公司提供。表型阳性而 α 基因诊断试剂盒及 RDB 法未见基因型异常的样品通过 PCR 扩增 α 珠蛋白基因的常见突变区域和 β 珠蛋白全长测序。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 12.0 统计软件进行数据的统计分析。

2 结 果

2.1 深圳地区育龄人群 α 地贫基因检测结果

在 6 276 例疑似地贫者中有 5 503 例进行了 α 地贫基因诊断,确定为 α 地贫者 2 129 例。共检出 11 种 α 地贫基因型,包括:--SEA/ $\alpha\alpha$ 、- $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$ 、- $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$ 、--SEA/- $\alpha^{3.7}$ 、--SEA/- $\alpha^{4.2}$ 、- $\alpha^{3.7}$ /- $\alpha^{3.7}$ 、- $\alpha^{4.2}$ /- $\alpha^{4.2}$ 、 $\alpha\alpha^{CS}$ / $\alpha\alpha$ 、 $\alpha\alpha^{QS}$ / $\alpha\alpha$ 、 $\alpha\alpha^{WS}$ / $\alpha\alpha$ 、--SEA/ $\alpha^{CS}\alpha$ 。其中常见缺失型 α 地贫基因型 --SEA/ $\alpha\alpha$ 、- $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$ 、- $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$,构成比分别为 76.84%、15.12%、5.26%,共 97.22%。 α 地贫基因型别及其构成比详细情况见表 1。

表 1 深圳地区育龄人群 α 地贫基因类型及其构成比
Table 1 α -thalassemia genotype distribution in the reproductive population in Shenzhen

α -thalassemia genotype	n	Percentage(%)
--SEA/ $\alpha\alpha$	1 636	76.84
- $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$	322	15.12
- $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$	112	5.26
--SEA/- $\alpha^{3.7}$	35	1.64
--SEA/- $\alpha^{4.2}$	10	0.48
- $\alpha^{3.7}$ /- $\alpha^{3.7}$	6	0.29
- $\alpha^{4.2}$ /- $\alpha^{4.2}$	2	0.09
$\alpha\alpha^{CS}$ / $\alpha\alpha$	2	0.09
$\alpha\alpha^{QS}$ / $\alpha\alpha$	2	0.09
$\alpha\alpha^{WS}$ / $\alpha\alpha$	1	0.05
--SEA/ $\alpha^{CS}\alpha$	1	0.05
Total	2 129	100.00

根据受检人群的籍贯,分为广东、广西、湖南、四川、江西 5 省人群进行 α 地贫基因型别分布情况的分析。5 个不同省份人群中发病率最高的 α 地贫前 3 位均为--SEA/ $\alpha\alpha$ 、- $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$ 、- $\alpha^{4.2}$ / $\alpha\alpha$,其构成比均在 97% 以上。5 省人群的 α 地贫基因型别及其构成比详细情况见表 2。

2.2 深圳地区育龄人群 β 地贫基因检测结果

在 6 276 例疑似地贫者中有 2 947 例进行了 β 地贫基因诊断,确定为 β 地贫者 1 059 例。共发现 14 种 β 地贫基因型,其中最常见的 6 种突变类型分别为 β 41-42(-TCTT)、 β IVS-2-654(C→T)、 β CD17 (A→T)、 β -28 (A→T)、 β CD26 (G→A)、 β CD71/72(+A),共占 94.71%。 β 地贫基因型别及其构成比详细情况见表 3。根据受检人群的籍贯,分为广东、广西、湖南、四川、江西 5 省人群进行 β 地贫基因型别分布情况的分析。广东、广西、湖南、四川、江西 5 省籍贯人群的 β 地贫基因突变型前

表 2 深圳地区不同籍贯人群 α 地贫基因型分布情况

Table 2 α-thalassemia genotype distribution of different ethnic people in Shenzhen

α-thalassemia genotype		Guangdong		Guangxi		Hunan		Sichuan		Jiangxi	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Stable	−α ^{3.7} /αα	184	12.18	17	10.97	26	23.21	17	22.37	18	20.92
Type	−α ^{4.2} /αα	73	4.83	14	9.03	6	5.36	4	5.26	2	2.33
	αα ^{CS} /αα	2	0.13	0	0	0	0	0	0	0	0
	αα ^{QS} /αα	2	0.13	0	0	0	0	0	0	0	0
	αα ^{WS} /αα	1	0.07	0	0	0	0	0	0	0	0
Moderate	−− ^{SEA} /αα	1211	80.20	120	77.42	78	69.64	54	71.05	64	74.42
type	−α ^{3.7} /−α ^{3.7}	3	0.20	0	0	0	0	1	1.32	0	0
	−α ^{4.2} /−α ^{4.2}	1	0.07	0	0	0	0	0	0	0	0
HbH	−− ^{SEA} /−α ^{3.7}	24	1.59	3	1.93	2	1.79	0	0	2	2.33
type	−− ^{SEA} /−α ^{4.2}	8	0.53	1	0.65	0	0	0	0	0	0
	−− ^{SEA} /−α ^{CS} α	1	0.07	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		1510	100	155	100	112	100	76	100	86	100

表 3 深圳地区育龄人群 β 地贫基因类型及其构成比

Table 3 β-thalassemia genotype distribution in the reproductive population in Shenzhen

β-thalassemia genotype	n	Percentage(%)
CD41-42	400	37.81
IVS-2-654	316	29.87
CD17	128	12.00
-28	109	10.30
CD26	26	2.46
CD71/72	24	2.27
-29	18	1.70
CD27/28	17	1.60
IVS-1-1	7	0.66
CD43	5	0.47
CAP	4	0.38
CD14-15	3	0.28
Int	1	0.10
CD37	1	0.10
Total	1059	100.00

3位依次分别为 CD41-42、IVS-2-654、-28;CD41-42、CD17、IVS -2 -654;IVS -2 -654、CD41 -42、CD17;CD17、CD41 -42、IVS -2 -654;IVS -2 -654、CD41-42、CD17 和-28(并列第 3 位)。5 省人群的 β 地贫基因型别及其构成比详细情况见表 4。

2.3 1 例罕见 β 珠蛋白基因突变的发现

1 例广西籍男性患者,27 岁,其血常规表现为:RBC5.95×10¹²/L,Hb 135 g/L,MCV72.1fl,MCH24.6pg,

血红蛋白电泳 HbA2 为 4.3%。其家族成员未进行地贫基因检测,但未发现有重型地贫患者。对此患者进行常规的 β 基因检测未发现异常,但通过 β 珠蛋白基因全长 DNA 序列分析发现此患者携带一种罕见的 β 珠蛋白基因突变:CD37 (G→A)突变。β 珠蛋白基因 CD37 密码子(TGG-TAG)突变为无义突变,即由色氨酸密码子转变为终止密码,使得蛋白质翻译过程提前终止,形成不稳定的、不具备正常功能的 β 珠蛋白链,其表型为 β⁰ 地贫。此种突变较为罕见,此前仅发现于中国广东人和阿富汗人中^[5-6]。其测序见图 1。

3 讨 论

深圳是一个移民城市,遗传背景复杂,但由我们统计的数据可以看到 5 个省份人群中缺失型 α 地贫的 3 种基因−−^{SEA}/αα,−α^{3.7}/αα,−α^{4.2}/αα 所占的比例都依次处于前三位,说明在南方 5 省人群中缺失型 α 地贫常见基因类型相同。我们的统计结果发现,广东地区 α 地贫以 α 地贫 1 为主,其中更以东南亚型(−−^{SEA}/αα)占多数。我们在 2129 例确诊 α 地贫基因突变者中检出 1 636 例−−^{SEA}/αα,构成比为 76.84%,在所有基因型中检出率是最高的。而从临床分型来看,静止型、轻型和中间型构成比分别为 18.88%,79.01%,2.11%,可见轻型在临床所占比例最多,这与轻型中的基因型以东南亚型为主有关。

表 4 深圳地区不同籍贯人群 β 地贫基因型分布情况
Table 4 β -thalassemia genotype distribution of different ethnic people in Shenzhen

β -thalassemia genotype	Guangdong		Guangxi		Hunan		Sichuan		Jiangxi	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
CD41-42	256	39.63	61	54.96	24	23.53	14	31.12	15	30
IVS-2-654	208	32.20	12	10.81	34	33.33	8	17.78	18	36
CD17	44	6.81	24	21.62	22	21.57	15	33.33	7	14
-28	88	13.62	2	1.80	6	5.89	2	4.44	7	14
CD26	11	1.70	0	0	4	3.92	4	8.89	1	2
CD71/72	13	2.01	6	5.41	1	0.98	0	0	0	0
-29	9	1.39	1	0.90	4	3.92	1	2.22	1	2
CD27/28	8	1.24	0	0	3	2.94	1	2.22	1	2
IVS-1-1	3	0.46	4	3.60	0	0	0	0	0	0
CD43	1	0.16	1	0.90	2	1.96	0	0	0	0
CAP	1	0.16	0	0	2	1.96	0	0	0	0
CD14-15	3	0.46	0	0	0	0	0	0	0	0
Int	1	0.16	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	646	100	111	100	102	100	45	100	50	100

Note: the CD37 mutation of another Guangxi patient is not listed

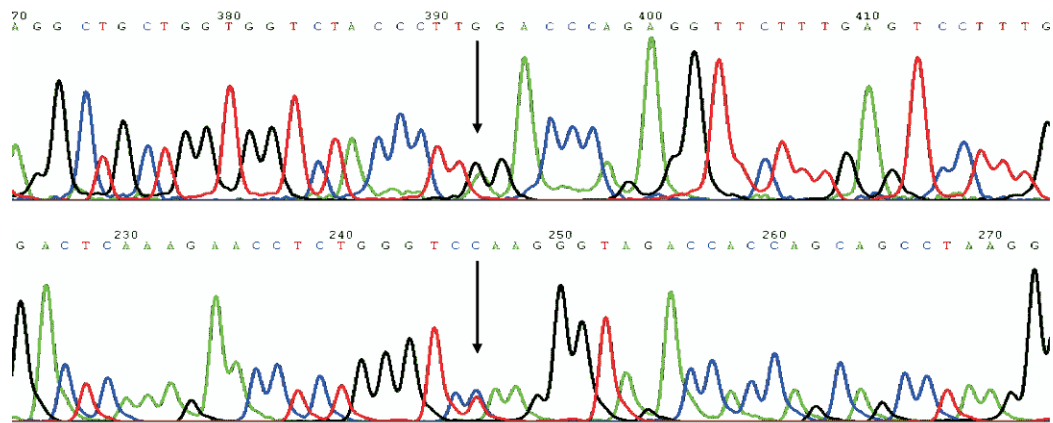


图 1 CD37(TGG-TAG)测序结果
Fig.1 CD37 (TGG-TAG) DNA sequencing result

在 α 地贫 2 中,右侧缺失型($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$)主要分布在广东、湖北、云南等省区,左侧缺失型($-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$)主要分布在广西和江西^[7]。我们在 2 129 例 α 地贫杂合子中,分别检出 322 例右侧缺失型和 112 例左侧缺失型,说明深圳市 α 地贫 2 以右侧缺失型为主,由于我们的标本主要来自广东人,这与上面提到的报道相印证。

统计数据中我们发现共有 46 例中间型血红蛋白 H 病(HbH 病)患者,且年龄在 22 ~ 36 岁之间,其中广东籍人群中发现 33 例。HbH 病是非致死性疾病,但大多数 HbH 病会有轻度或中度贫

血、肝脾肿大;可有黄疸,常因服用氧化性药物或合并感染而出现溶血危象,在妊娠期病情可明显加重,严重影响患者的生存质量。如此多的 HbH 病患者可能与既往人们对于地贫的认识不够深刻和医疗水平有限有一定的关系。HbH 病患者的出生会给社会和家庭带来很大的负担,给优生优育带来困难,加强产前咨询和产前诊断是减少 HbH 病的最主要途径。

在我国人群中,已发现的 β 地贫突变类型有 39 种之多。本次调查中共发现 14 种 β 地贫基因突变类型,我们所检测到的突变类型种类只占目

前在华人中已发现的 39 种 β 地贫突变类型种类的 1/3,这一方面说明 β 地贫基因异质性大,另一方面也反映出地域分布的差异。国内报道中国人最主要 6 种 β 地贫突变基因^[8]分别为: $\beta 41-42(-TCTT)$ 、 $IVS-2-654(C \rightarrow T)$ 、 $\beta 17(A \rightarrow T)$ 、TATA 盒 $nt-28(A \rightarrow T)$ 、 $\beta 71-72(+A)$ 、 $CD26(G \rightarrow A)$ 。在国内 β 地贫高发区, $CD41-42(-TTCT)$ 基因突变在广东、广西、台湾、四川、海南四省占首位。 $IVS-2-654$ 基因突变在香港占首位,而在广东、台湾、四川、海南等位居 $CD41-42$ 突变之后。 $CD17$ 基因突变在广西仅次于 $CD41-42$ 突变^[9]。本研究确诊的 1059 例 β 地贫杂合子中,以上 6 种常见突变类型占 94.71%,说明深圳地区 β 地贫的基因型也以这 6 种突变类型为常见。

由我们的数据可以看出,深圳地区的广东、广西、湖南、四川、江西 5 省籍贯人群的 β 地贫基因突变型前 3 位依次分别为 $CD41-42$ 、 $IVS-2-654$ 、 -28 ; $CD41-42$ 、 $CD17$ 、 $IVS-2-654$; $IVS-2-654$ 、 $CD41-42$ 、 $CD17$; $CD17$ 、 $CD41-42$ 、 $IVS-2-654$; $IVS-2-654$ 、 $CD41-42$ 、 $CD17$ 和 -28 (并列第 3 位)。五个省份虽然都各自呈现不同的特点,但均与引文中的报道的比例顺序相似或相同^[8-12]。

$CD37$ 突变较为罕见,此前仅发现于中国广东人和阿富汗人中^[5-6],在中国人群中的突变频率尚未有确切的统计。本研究是首次在中国广西人中发现这种突变方式,突变的发现丰富了我国的地贫基因谱,并且提示此突变也许在中国更大范围的人群中存在,其起源、携带频率等情况将需要更多病例及更深入的研究来证实。

由于深圳人群多来自广东、广西、四川、湖南等南方地贫高发省区,地中海贫血在深圳地区检出率高,开展有关地贫的宣传教育 and 大规模的人群筛查对指导优生优育、提高人口素质具有重大意义。本文获得的深圳地区育龄人群中的 α 和 β 地贫基因类型和构成比的资料可为制订该地区地贫的预防计划提供有价值的参考,对于地贫的防治具有重要意义。

参考文献:

- [1] 全国血红蛋白病研究协作组. 20 省、市、自治区 60 万人血红蛋白病调查[J]. 中华医学杂志, 1983, 63(6): 382-385.
- [2] Ko TM, Xu X. Molecular study and prenatal diagnosis of alpha- and beta-Thalassemias in Chinese [J]. J Formos Med Assoc, 1998, 97(1): 5-15.
- [3] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The Prevalence and spectrum of alpha and Beta thalassemia in Guangdong Province: implications for the future health Burden and population screening [J]. J Clin Pathol, 2004, 57(5): 517-522.
- [4] 张俊武, 龙桂芳, 等. 血红蛋白与血红蛋白病[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2003: 156.
- [5] Li D, Liao C, Li J, et al. The codon 37 (TGG $\rightarrow$ TAG) beta zero -thalassemia mutation found in a Chinese family [J]. Hemoglobin, 2006, 30(2): 171-173.
- [6] Kornblit B, Tøxning P, Birgens H. Beta-thalassemia due to a novel nonsense mutation at codon 37 (TGG $\rightarrow$ TAG) found in an Afghanistani family [J]. Hemoglobin, 2005, 29(3): 209-213.
- [7] 陈 坚, 孙 琼, 陈美珏, 等. 125 例 HbH 患者 α 珠蛋白基因的分析 [J]. 上海医学, 1999, 22(1): 83-86.
- [8] 曾溢滔. 人类血红蛋白 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 163-164.
- [9] Zheng CG, Liu M, Du J, et al. Molecular spectrum of α - and β -globin gene mutations detected in the population of Guangxi Zhuang Autonomous Region, People's Republic of China [J]. Hemoglobin, 2011, 35(1): 28-39.
- [10] 宋健辉, 杨于嘉, 杜 鹃, 等. 湖南地区 β 珠蛋白生成障碍性贫血 90 例基因分析 [J]. 实用儿科临床杂志, 2004, 5(12): 151-154.
- [11] 石西南, 褚嘉祐, 杨昭庆. 中国不同省区 β 地中海贫血基因变异的分布特征[J]. 医学综述, 2011, 17(4): 495-497.
- [12] 李熙鸿, 王晓阳, 汪风兰, 等. 四川地区重型 β -地中海贫血患儿及双亲基因突变的研究[J]. 四川大学学报, 2004, 35(3): 388-390.

(编辑 张思健)