

β -地中海贫血杂合子携带 α -地中海贫血 1 基因发生率

韩俊英, 曾瑞萍, 胡 彬

(中山医科大学遗传教研室, 广东 广州 510089)

摘要: 【目的】研究广东地区人群中 β -地中海贫血(β -地贫)杂合子携带 α -地中海贫血(α -地贫)1 基因的发生率。【方法】采用反向点杂交法检测 β -地贫基因。采用跨越缺失区断裂点 PCR 法检测 α -地贫 1 基因。【结果】在 500 例 β -地贫杂合子 DNA 标本中, 共检出 43 例合并 α -地贫 1, 检出率为 8.6%。【结论】广东地区 β -地贫杂合子中合并 α -地贫 1 的发生率为 8.6%, 在遗传咨询和产前诊断过程中需要引起重视。

关键词: α -地中海贫血/遗传学; β -地中海贫血/遗传学; 杂合子; 聚合酶链反应; 反向点杂交

中图分类号: R363.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-257X(2001)01-0011-03

The Incidence of β -thalassemia Heterozygote Carrying α -thalassemia-1 Gene

HAN Jun-ying, ZENG Rui-ping, HU Bin

(Department of Medical Genetics, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510089, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the incidence of β -thalassemia (β -thal) heterozygote carrying α -thalassemia (α -thal) 1 gene in Guangdong area. 【Methods】 β -thal genes were screened by reverse dot blotting (RDB). In β -thal DNA samples α -thal 1 genes were amplified using gap-PCR method. 【Results】43 α -thal-1 cases were identified among the 500 β -thal traits. The rate is 8.6%. 【Conclusion】In Guangdong area the incidence of β -thal heterozygote carrying α -thal-1 gene is 8.6%, which should be paid much attention in the genetic counselling and prenatal diagnosis.

Key words: α -thalassemia/genetics; β -thalassemia/genetics; heterozygote; polymerase chain reaction; reverse dot blotting

地中海贫血(地贫)是一种发病率较高的血液系统遗传病,我国南方为高发区。根据我室在广东地区随机人群中进行的地贫筛查资料^[1], α -地贫杂合子的检出率为 8.3%, β -地贫杂合子的检出率为 2.6%。两种不同类型地贫杂合子之间婚配,即有生育 α -与 β -地贫双重杂合子的机会。 β -地贫合并 α -地贫的病例或家系都已见报道^[2~6]。香港 Lam 等^[6]1997 年报道 158 例 β -地贫基因携带者中 7.0% 为复合 α -地贫 1 双重杂合子。我室于 1996~1997 年期间也曾对 142 例 β -地贫基因携带者进行了 α -地贫 1 基因分析研究^[7],发现 β -地贫杂合子中有 9.2% 为 α -地贫 1 基因携带者。为了

了解广东地区人群中 β -地贫合并 α -地贫 1 的准确发生率,本实验对 500 例 β -地贫基因携带者进行了 α -珠蛋白基因分析研究。

1 材料和方法

1.1 标本来源

标本来自我室地贫筛查室和基因诊断室,广东籍男性 264 例,女性 236 例,年龄分布在 21~43 岁,平均 31 岁。

1.2 标本制备

取外周血 3 mL,肝素抗凝,常规酚氯仿抽提基

收稿日期: 2000-06-15

基金项目: 广东省“五个一”重点科研基金资助项目(522202009)

作者简介: 韩俊英(1965-),女,河南登封人,博士生,主要研究方向:地中海贫血的分子遗传学。

基因组 DNA, TE 溶解, 用紫外分光光度计测量 DNA 浓度并稀释成 0.1 g/L。

1.3 β -珠蛋白基因检测

1.3.1 β -珠蛋白基因区 PCR 扩增 采用两对生物素标记的引物(Bio-C1、Bio-C2; Bio-C3、Bio-C4)扩增中国人常见的 β -基因点突变区^[8], PCR 条件: 94 °C 30 s, 55 °C 50 s, 72 °C 1 min, 35 个循环, 最后 72 °C 延伸 5 min。

1.3.2 反向点杂交(reverse dot blotting, RDB)

将扩增产物与结合有中国人较常见的 16 种 β -基因点突变寡核苷酸探针的尼龙膜条(达安)进行反向点杂交^[8], 鉴定 β -基因点突变类型。

1.4 PCR 法扩增东南亚型 α -地贫 1 基因

采用跨越缺失区断裂点 PCR 扩增法, 合成 3 条引物(p1、p2、p3), 检测 α -地贫 1 ($-^{SEA}/\alpha\alpha$)。PCR 扩增体系包括: DNA 0.1 μ g, 3 条引物各 0.2 μ mol/L, dNTP 0.2 mmol/L, 10 \times PCR buffer 3 μ L, 2 U *Taq* 酶, 30 μ L 反应体系。扩增条件: 94 °C 45 s, 56 °C 45 s, 72 °C 1 min, 共 30 个循环, 最后 72 °C 延伸 7 min。产物用 15 g/L 的琼脂糖(含有 EB)凝胶电泳, 紫外灯下观察结果^[7]。正常人可见一条 224 bp 条带, Bart's 水肿胎可见一条 630 bp 条带, α -地贫 1 杂合子可见 224 bp 和 630 bp 两条带(图 1)。

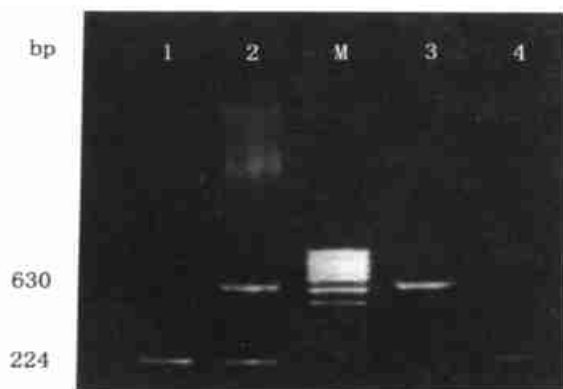


图 1 正常人和各型 α -地中海贫血 DNA PCR 产物电泳

Fig. 1 PCR product electrophorogram of normal and α -thal DNA

1, 4: normal; 2: α -thal 1;
3: Bart's; M: 100 bp marker

2 结果

通过 PCR 扩增, 500 例 β -地贫标本中共检出 43 例(8.6%)合并有 α -地贫 1。其基因型分布见

表 1。

表 1 β -地中海贫血合并 α -地中海贫血双重杂合子基因型分布

Table 1 Genotype distribution of β -thal and α -thal 1 dual heterozygote

	α -thal 1($-^{SEA}/\alpha\alpha$)
$\beta^{41V/42(-TCTT)}/\beta^A$	16
$\beta^{654(G\rightarrow T)}/\beta^A$	14
$\beta^{-28(A\rightarrow G)}/\beta^A$	6
$\beta^{17(A\rightarrow T)}/\beta^A$	4
$\beta^{71V/72(+\Delta)}/\beta^A$	2
$\beta^{43(G\rightarrow T)}/\beta^A$	1
Total	43

3 讨论

人类有 4 个 α -珠蛋白基因, 位于第 16 对染色体上, 每条染色体上有两个 α -基因(α_1, α_2)。在东南亚地区 α -基因的改变以缺失较为常见。缺失数目和范围有种族和地区差异⁹。广东地区 α -地贫 1 以东南亚型($-^{SEA}/\alpha\alpha$)比较常见。因此该实验重点检测 β -地贫复合东南亚型 α -地贫 1 双重杂合子。本次实验检出 8.6%(43/500)的 β -地贫患者携带有 α -地贫 1 基因, 介于文献^[6]报道的 7.0%和文献^[7]报道的 9.2%之间, 与广东地区人群中的 α -地贫杂合子检出率 8.3%相符, 提示广东地区 α -地贫杂合子发生率在 β -地贫患者中与普通人群中相同。因此在遗传咨询和产前诊断时, 对于一个 β -地贫基因携带者还要考虑同时又是一个 α -地贫杂合子的可能性。

一般实验室筛查地贫是根据红细胞脆性降低或平均红细胞容积(MCV)下降来判断的, 再结合 HbA₂ 和 HbF 水平来判定是 α -地贫或 β -地贫。当 β -珠蛋白基因发生突变时, β -珠蛋白肽链的合成及功能受到影响, HbA 含量下降, 相对地 HbA₂ 和/或 HbF 含量升高; α -地贫时, HbA₂ 与 HbF 正常或降低。当 β -地贫合并 α -地贫时, 多表现为 HbA₂ 和/或 HbF 水平升高和红细胞脆性改变等 β -地贫的特征, 而 α -地贫的特征被掩盖, 因此临床上多诊断为 β -地贫。 β -地贫合并 α -地贫双重杂合子若与 α -地贫 1 杂合子婚配, 即有 1/4 机会生育 Bart's 水肿胎。我室近年在遗传咨询和产前诊

断中曾经遇到一些夫妇,其中一方为 α -地贫1杂合子,另一方为 β -地贫杂合子,却因生育 Bart's 水肿胎而就诊,最后经基因诊断证实 β -地贫杂合子一方实际上是 β -地贫合并 α -地贫1双重杂合子^[8]。本实验检测出在广东地区 β -地贫携带者同时又携带有 α -地贫1基因的发生率与广东地区人群中的 α -地贫杂合子发生率相符,因此,准确诊断 β -地贫合并 α -地贫双重杂合子对遗传咨询和准确进行产前诊断都具有重要意义。

参考文献:

[1] 曾瑞萍,胡彬,金龙金. 广东地区 HbH 病基因型分析及高危胎儿基因诊断[J]. 中华医学遗传学杂志, 1996, 13(5): 266.

[2] Krishnamurti L, Chui D H, Dallaire M, *et al.* Coinheritance of alpha-thalassemia-1 and hemoglobin E/beta Zero-thalassemia: practical implication for neonatal screening and genetic counseling [J]. J Pediatr, 1998, 132(5): 863.

[3] Giordano P C, Hartevelde C L, Bok L A, *et al.* A complex haemoglobinopathy diagnosis in a family with both

beta zero- and alpha (zero/+)-thalassemia homozygosity [J]. Eur J Hum Genet, 1999, 7(2): 163.

[4] Rhodes S L, Plonczynski M, Harrell A, *et al.* Double Heterozygosity for the codon beta 39 C-to-T nonsense mutation and a triplicate alpha-globin gene locus can cause "dominantly" inherited beta-thalassemia intermedia [J]. Am J Med Sci, 1999, 317(5): 341.

[5] Villegas A, Munoz J A, Risueno C F, *et al.* Association of alpha and beta thalassaemia with alpha gene triplication in one family [J]. Med Clin Barc, 1997, 108(20): 781.

[6] Lam Y H, Ghosh A, Tang M H, *et al.* The risk of alpha thalassaemia in offspring of beta thalassaemia carriers in HongKong [J]. Prenat Diagn, 1997, 17(8): 733.

[7] 徐葵,曾瑞萍. 对 142 例 β -地中海贫血基因携带者进行缺失型 α -地中海贫血 1 基因分析[J]. 中华血液学杂志, 1999, 20(4): 206.

[8] 曾瑞萍,余升红,胡彬. α -与 β -地中海贫血双重杂合子基因诊断[J]. 中华血液学杂志, 1998, 19(10): 525.

[9] Ko T M, Xu X. Molecular study and prenatal diagnosis of alpha and beta thalassaemias in Chinese [J]. J Formos Med Assoc, 1998, 97(1): 5.

(编辑 张敏瑞)

(上接第7页)

[4] 李雯,李海标. 霍乱毒素对金满地鼠视网膜节细胞再生作用的研究[J]. 解剖学报, 2001(2): 待发表.

[5] Holm K, Isacson O. Factors intrinsic to the neuron can induce and maintain its ability to promote axonal outgrowth: a role for Bcl2? [J]. TINS, 1999, 22(6): 270.

[6] 李雯,李海标. 霍乱毒素对金满地鼠视网膜节细胞存活的影响[J]. 神经科学进展, 1999, 5(1): 73.

[7] Meyer-Franke A, Wilkinson G A, Bares B A, *et al.* Depolarization and cAMP elevation rapidly recruit trkB to the plasma membrane of CNS Neurons [J]. Neuron, 1998, 21(4): 681.

[8] Hanson M G Jr, Shen S, Wiemelt A P, *et al.* Cyclic

AMP elevation is sufficient to promote the survival of spinal motor neurons in vitro [J]. J Neurosci, 1998, 18(18): 7361.

[9] Meyer-Franke A, Kaplan M R, Rfrieger F W, *et al.* Characterization of the signaling interactions that promote the survival and growth of developing retinal ganglion cells in culture [J]. Neuron, 1995, 15(4): 805.

[10] Zafra F, Lindholm D, Castren E, *et al.* Regulation of BDNF and NGF mRNA in primary cultures of hippocampal neurons and astrocytes [J]. J Neurosci, 1992, 12(12): 4793.

(编辑 刘清海)