

桂林市城镇育龄人群地中海贫血现状调查

邓俊耀 龙安翼 李慧

【摘要】 目的 调查桂林市城镇育龄人群地中海贫血(地贫)的现状。方法 用红细胞平均容积(MCV)和血红蛋白电泳法对所有调查对象进行地贫筛查,对筛查出疑为 α 地贫或 β 地贫标本进一步采用PCR结合反向点杂交法(RDB)进行基因检测,以检出地贫基因来确诊。结果 在1580例受检者中,确定 α 地贫基因型的有79例,检出率为5.00%, α 地贫在男女性中检出率分别为5.32%、4.68%,差异无统计学意义($\chi^2=3.04, \chi^2 < \chi_{0.05(1)}=3.84, P>0.05$);确定 β 地贫基因型的有114例,检出率为7.22%, β 地贫在男女性中检出率分别为7.85%、6.58%,差异无统计学意义($\chi^2=0.95, \chi^2 < \chi_{0.05(1)}=3.84, P>0.05$);总的地贫检出率为12.22%(193/1580)。 α 地贫共检出10种基因型,以轻型 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 为主,检出率为3.54%;静止型以 $-\alpha^{37}/\alpha\alpha$ 居多,轻型以 $-^{SEA}/\alpha\alpha$ 居多,中间型以 $-^{SEA}/\alpha^{CS}$ 居多;其构成比分别为7.59%、70.88%、2.53%; β 地贫共检出7种基因型,以CD41-42(-TTCT)居多,检出率为3.16%,其中最常见3种基因型CD41-42(-TTCT)、CD17(A \rightarrow T)和IVS-II-654(C \rightarrow T),构成占突变基因的87.71%; β 、 α 复合型地贫检出率为0.63%。**结论** 桂林市城镇育龄人群地贫检出率较高。

【关键词】 地中海贫血; 育龄人群; 现状调查

Survey on thalassemia among people of reproductive age in Guilin city, Guangxi, China DENG Jun-yao, LONG An-yi, LI Hui. Laboratory of Reproductive Medical Center, Hospital of Guilin Women and Children, Guilin 541000, China

【Abstract】 Objective To study the present situation of thalassemia among people at reproductive age in Guilin city. Methods A complete red blood cell mean cell volume (RBCMVC) was detected as well as hemoglobin electrophoresis analysis were done for all samples. Suspected α or β thalassemia cases, were screened out and α and β thalassemia genes were detected by PCR-RDB. Results Among 1580 cases, 79 cases were detected α thalassemia gene positive, with the detection rate as 5.00%. The detection rates on α thalassemia were 5.32%, 4.68% in males and females, but no significant difference ($\chi^2=3.04, \chi^2 < \chi_{0.05(1)}=3.84, P>0.05$). 114 cases were detected carrying β thalassemia gene with the detection rate as 7.22%. The detection rates on β thalassemia were 7.85%, 6.58% in males and females, with no significant difference ($\chi^2=0.95, \chi^2 < \chi_{0.05(1)}=3.84, P>0.05$). The overall detection rate of thalassemia was 12.22% (193/1580). α thalassemia were found to have had ten genotypes, with $-^{SEA}/\alpha\alpha$ the most common one and the detection rate was 3.54%. $-\alpha^{37}/\alpha\alpha$ appeared the majority in the static α thalassemia and $-^{SEA}/\alpha\alpha$ took the majority in the light α thalassemia, while $-^{SEA}/\alpha^{CS}$ was the major one in the intermedia α thalassemia, with gene contributions of 7.59%, 70.88% and 2.53%. β thalassemia was detected having seven genotypes, with CD41-42 (-TTCT) the most common one in β thalassemia, and the detection rate was 3.16%. The commonly seen three mutations, CD41-42 (-TTCT), CD17 (A \rightarrow T) and IVS-II-654 (C \rightarrow T) were accounted for 87.71% of β thalassemia. The detection rate on thalassemia α and β combination was 0.63%. Conclusion The detection rate of thalassemia among people at productive age in Guilin city was relatively high.

【Key words】 Thalassemia; People of reproductive age; Cross-sectional study

地中海贫血(地贫)是由珠蛋白基因缺失或突变导致肽链合成障碍而引起的溶血性贫血,是广西地区患病率最高和危害性最大的人类单基因遗传病之一。桂林市居住有十几个民族,有关桂林市城镇育龄人群的地贫存在状况,过去曾有过报道,但缺乏详细资料,且 α 地贫存在状况鲜见报道,为更好地了解桂林市城镇育龄人群地贫的现状,于2007年开展了育龄妇女地贫筛查及基因检测,现将调查结果报道如下。

对象与方法

1. 对象: 调查范围桂林市5个城区人口,2007年1—12月在桂林市妇女儿童医院做婚前检查和未做婚前检查但在该院做产前检查的孕妇及其丈夫共1580人。年龄20~45岁,男女性各790人。

2. 标本采集: 每位研究对象采集早晨空腹静脉血液标本2 ml,于含EDTA-K2的真空采血管内,2 h内检测红细胞平均容积(MCV),剩余血妥善保管留做血红蛋白电泳及基因分析。

3. 仪器: SystemKX-21 自动血细胞分析仪(日

本), Sebia 全自动血红蛋白电泳仪(法国), AmpGene Syetem—DNA ThermalCycler4800(美国)。

4. 试剂: ① 血球分析试剂: 日本 SystemKX-21 自动血细胞分析仪原配套进口试剂; ② 血红蛋白电泳试剂: 法国 Sebia 全自动血红蛋白电泳仪原配套进口试剂; ③ 地贫基因检测试剂: α 地贫能检测 3 种常见缺失型 α 地贫基因($--^{SEA}/- \alpha^{37}/- \alpha^{42}/$), 3 种非缺失突变型 α 地贫基因(HbCS, HbQS, HbWS); β 地贫能检测 17 种 β 地贫基因型[CD41-42(-TTCT)、CD43(A→T)、IVS- II -654(C→T)、-28(A→G)、-29(A→G)、-30(T→C)、-32(C→A)、CD71-72(+A)、 βE (GAG→AAG)、CD17(A→T)、CD14-15(+G)、CD31(-C)、CD27-28(+C)、IVS- I -1(G→A, G→T)、IVS-1-5(G→C)、CAP + 1(A→C)、initiation codon(ATG→AGG)], 均采用 PCR-反向斑点杂交技术(RDB)分析, 由深圳亚能生物技术有限公司提供。

5. 方法: 先按照 SystemKX-21 自动血细胞分析仪和 Sebia 全自动血红蛋白电泳仪的标准操作程序, 检测 MCV 和血红蛋白电泳, 联合进行地贫筛查, 结果判断: ①若 MCV > 79 fl, HbA 和 HbA2 量正常, 则视为地贫筛查正常; ②若 MCV < 79 fl, HbA 和 HbA2 量正常, 且检测血清铁蛋白量正常, 则不考虑地贫; ③若 MCV < 79 fl, HbA2 ≤ 2.5%, 则疑为 α 地贫; ④若 MCV < 79 fl, HbA2 > 3.5% 或同时有 HbF > 3%; 或 HbA2 正常或相对减少, 但 HbF > 3%, 则疑为 β 地贫或 β 地贫与 α 地贫复合型。③、④进一步做按地贫基因检测相关标准程序检测 α -和 β -地贫基因, 以检出地贫基因来确诊地贫。同时对所有已确定 β 地贫基因的标本均再进行 α 地贫基因分析, 以诊断 β 地贫复合 α 地贫。

6. 统计学分析: 采用 SPSS 10.0 统计软件对实验数据进行分析, α 地贫和 β 地贫性别间检出率差异采用 χ^2 检验。

结 果

1. α 和 β 地贫检出情况: 在 1580 人份的血样本中, 共筛出 81 例疑为 α 地贫, 115 例疑为 β 地贫; 81 例中除 2 例外其他均确定 α 地贫基因型, 其中男性 42 例, 女性 37 例。 α 地贫检出率为 5.00% (79/1580), 95% CI 为 3.89 ~ 6.06; 其中静止型 16 例, 检出率为 1.01% (16/1580), 95% CI 为 0.56 ~ 1.56; 轻型 59 例, 检出率为 3.73% (59/1580), 95% CI 为 2.81 ~ 4.71; 中间型 4 例, 检出率为 0.25% (4/1580), 95% CI 为 0.06 ~ 0.56; α 地贫在男女性中检出率分别为 5.32% (42/790)、4.68% (37/790), 95% CI 分别为 4.17 ~ 6.40、3.63 ~ 6.11, 两性

检出率比较差异无统计学意义 ($\chi^2=3.04, \chi^2 < \chi_{0.05(1)}=3.84, P>0.05$)。在 115 例疑为 β 地贫中除 1 人外其余均确定 β 地贫基因型, 男 62 例, 女 52 例, β 地贫检出率为 7.22% (114/1580), 95% CI 为 5.82 ~ 8.39, β 地贫在男女性中检出率分别为 7.85% (62/790)、6.58% (52/790), 95% CI 分别为 6.40 ~ 9.07、5.27 ~ 7.74, 两性检出率比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.95, \chi^2 < \chi_{0.05(1)}=3.84, P>0.05$)。 α 地贫与 β 地贫总共确诊 193 例, 总的地贫检出率为 12.22% (193/1580), 95% CI 为 10.20 ~ 13.43。在 114 例被确定 β 地贫基因型的样品中, 有 10 例检出为 β 地贫复合 α 地贫, 检出率为 0.63% (10/1580), 95% CI 为 0.29 ~ 1.08。在检出的 193 例已确定地贫基因型的人群中, 有 6 对男女双方同时携带有地贫基因, 其中同型地贫 4 对(其中 2 对均为 β 地贫、1 对均为 α 地贫、1 对均为 β 地贫复合 α 地贫), 检出率为 0.51% (8/1580), 95% CI 为 0.21 ~ 0.92; 不同型地贫 2 对(其中 1 对男性为 α 地贫、女性为 β 地贫; 另 1 对男性为 β 地贫、女性为 α 地贫), 检出率为 0.25% (4/1580), 95% CI 为 0.06 ~ 0.56。

2. α 地贫基因缺失或突变类型及其分布: 在 79 例已确定 α 地贫基因型中共检出 10 种基因型, 以轻型 $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 为主, 在构成比中, 静止型以 $- \alpha^{37}/\alpha\alpha$ 居多, 轻型以 $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 居多, 中间型以 $--^{SEA}/- \alpha^{CS}$ 居多。缺失型 α 地贫占 91.14%, 非缺失型 α 地贫占 8.86% (表 1)。

3. β 地贫基因突变类型及其分布: 在筛选出的 114 例确定为 β 地贫基因型中。其突变基因种类较少, 17 种仅检出 7 种, 其中以 CD41-42(-TTCT) 居多, 以 3 种基因型 CD41-42(-TTCT)、CD17(A→T) 和 IVS- II -654(C→T) 为最常见, 占突变基因的 87.71% (表 2)。

4. β 地贫复合 α 地贫的基因型及分布: 在 114 例已确定 β 地贫基因型中有 10 例检出 α 地贫基因, 经鉴

表 1 桂林市 79 例 α 地贫基因型及分布特点

基因型	例数	构成比(%)	检出率(%)	95%CI
静止型				
$- \alpha^{37}/\alpha\alpha$	6	7.59	0.38	0.14 ~ 0.76
$- \alpha^{42}/\alpha\alpha$	3	3.80	0.19	0.04 ~ 0.48
$\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$	4	5.06	0.25	0.06 ~ 0.56
$\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$	2	2.53	0.13	0.01 ~ 0.37
$\alpha\alpha^{WS}/\alpha\alpha$	1	1.27	0.06	0.00 ~ 0.25
轻型				
$--^{SEA}/\alpha\alpha$	56	70.88	3.54	2.65 ~ 4.50
$- \alpha^{37}/- \alpha^{37}$	3	3.80	0.19	0.04 ~ 0.48
中间型				
$--^{SEA}/- \alpha^{CS}$	2	2.53	0.13	0.01 ~ 0.37
$--^{SEA}/- \alpha^{37}$	1	1.27	0.06	0.00 ~ 0.25
$--^{SEA}/- \alpha^{42}$	1	1.27	0.06	0.00 ~ 0.25
合计	79	100.00	5.00	3.89 ~ 6.06

定有 7 种不同基因型, β 地贫复合 α 地贫基因型及分布特点见表 3。

表 2 桂林市 114 例 β 地贫基因型及分布特点

基因型	例数	构成比 (%)	检出率 (%)	95% CI
CD41-42(-TTCT)	50	43.85	3.16	2.34 ~ 4.09
CD17(A→T)	31	27.19	1.96	1.32 ~ 2.71
IVS- II -654(C→T)	19	16.67	1.21	0.73 ~ 1.82
-28(A→G)	3	2.63	0.19	0.04 ~ 0.48
-29(A→G)	3	2.63	0.19	0.04 ~ 0.48
CD71-72(+A)	7	6.15	0.45	0.18 ~ 0.85
IVS- I -1(G→A, G→T)	1	0.88	0.06	0.00 ~ 0.25
合计	114	100.00	7.22	5.82 ~ 8.39

表 3 桂林市育龄人群 β 地贫复合 α 地贫基因型及分布特点

基因型	例数	构成比 (%)	检出率 (%)	95% CI
CD41-42(-TTCT)/复合-- ^{SEA} /αα	4	40.00	0.27	0.07 ~ 0.58
CD41-42(-TTCT)/复合-α ³⁷ /αα	1	10.00	0.06	0.00 ~ 0.25
IVS- II -654(C→T)复合-- ^{SEA} /αα	1	10.00	0.06	0.00 ~ 0.25
CD17(A→T)/复合-- ^{SEA} /αα	1	10.00	0.06	0.00 ~ 0.25
CD41-42(-TTCT)/复合-α ⁴² /αα	1	10.00	0.06	0.00 ~ 0.25
CD41-42(-TTCT)/复合αα ^{CS} /αα	1	10.00	0.06	0.00 ~ 0.25
CD17(A→T)/复合-α ³⁷ /αα	1	10.00	0.06	0.00 ~ 0.25
合计	10	100.00	0.63	0.29 ~ 1.08

讨 论

α 地贫调查以往通常用新生儿脐带血定量检测 HbBart's 进行初筛, 而本次调查对象为育龄人群, 即成年人, 只能选取外周血进行初筛, 经检测 MCV 和血红蛋白电泳筛出可疑者, 再经基因分析确诊。本次调查 α 地贫的检出率为 5.00%, 其中轻型 α 地贫由于绝大多数外周血 MCV < 79 fl 和血红蛋白电泳的 HbA2 ≤ 2.5%, 不易漏筛, 而检出率较高(为 3.73%), 可以说检测结果比较可靠。中间型 α 地贫即 HbH 病, 用血红蛋白电泳即可正确诊断^[1], 几乎无漏筛现象, 但由于 HbH 病是严重影响生存质量的疾病, 患此病者有相当部分因无劳动能力难以成婚, 而未能参加婚前或产前地贫筛查, 使得 HbH 病检出率下降, 仅为 0.25%; 静止型 α 地贫由于多数外周血 MCV 和血红蛋白电泳正常, 容易漏筛, 使检出率低(1.01%)。由此可以看出本次 α 地贫调查检出率应比实际患病率低。

本次调查 β 地贫检出率为 7.22%, 因 β 地贫外周血有 MCV < 79 fl, 血红蛋白电泳 HbA2 > 3.5% 或同时有 HbF > 3%; 或 HbA2 正常以及相对减少, 但 HbF > 3% 等特点。采用 MCV 和血红蛋白电泳联合初筛, 提高了灵敏度, 防止了漏筛, 加上采用基因分析确诊, 可以认为本次 β 地贫调查结果比较可靠。

地贫基因分析结果显示, α 地贫共检出 10 种基因型, 以轻型--^{SEA}/αα 为主, 检出率为 3.54%, 中间型

检出率相对较低, 可见--^{SEA}/α^{CS}、--^{SEA}/α³⁷、--^{SEA}/α⁴²型。在构成中, 静止型以-α³⁷/αα 居多, 轻型以--^{SEA}/αα 居多, 中间型以--^{SEA}/α^{CS} 居多; 缺失型 α 地贫占 91.14%, 非缺失型 α 地贫占 8.86%, 其中 HbCS、HbQS、HbWS 都能检出, 以 HbCS 多见。由于静止型容易漏筛, 检出率低, 造成--^{SEA}/αα 构成比高达 70.88%, 但 α 地贫基因谱基本与段山等^[2]报道的广西地区 α 地贫基因谱相似。 β 地贫调查结果有 7 种基因型, 以 CD41-42(-TTCT) 居多, 检出率为 3.16%, 其次为 CD17(A→T)、IVS- II -654(C→T)、CD71-72(+A)、-28(A→G)、-29(A→G) 和 IVS- I -1(G→A, G→T)。其中本市最常见的基因型为 CD41-42(-TTCT)、CD17(A→T) 和 IVS- II -654(C→T), 与广西其他地区报告的最常见 β 地贫基因型结果 CD41-42(-TTCT)、CD17(A→T) 和 -28(A→G) 有所不同^[1,3,4], 最常见的基因型 -28(A→G) 在本次调查中仅占突变基因构成比的 2.63%。 β 地贫复合 α 地贫的基因型的检出率为 0.63%。检出的 7 种基因型中, 以 CD41-42(-TTCT)/复合--^{SEA}/αα 多见, 该结果与哈迪-温伯格定律的预期值基本吻合。

由于 α 、 β 地贫携带者无性别差异, 因此男女性携带 α 地贫或 β 地贫概率均等, 若夫妻同为相同型地贫基因携带者时, 应属高风险生育^[5]。本调查结果显示, 男女性双方同型地贫基因携带者检出率为 0.51%, 即可以说 196 对夫妻中就有一对夫妻有较高机会生育重型地贫患儿, 这为遗传咨询和产前诊断提供了有价值的基础资料, 也提示应重点加强对育龄人群地贫携带者筛查, 以防止重型地贫患儿的出生。

本次调查筛查出 2 例 α 地贫和 1 例 β 地贫未确定基因型, 可能是检测的基因型种类有限或实验误差引起; 总的地贫检出率为 12.22%, 可以说桂林市城镇育龄人群地贫检出率较高。由于 α 地贫检出率比实际患病率低, 因此, 桂林市育龄人群地贫实际患病率应比本次调查地贫检出率更高些。

参 考 文 献

- [1] 张新华, 周英杰, 李平萍, 等. 广西南宁市农村育龄人群地中海贫血筛查及基因型和血液学参数分析. 中华流行病学杂志, 2006, 27(9): 769-772.
- [2] 段山, 李洪义, 陈争, 等. 中国南方 α 地中海贫血基因突变型研究. 中国实验血液学杂志, 2003, 11(1): 57-58.
- [3] 蔡稔, 李莉艳, 梁昕, 等. 柳州市城镇人群 α 和 β 地中海贫血的发生率调查和基因型鉴定. 中华流行病学杂志, 2002, 23(4): 281-285.
- [4] 黄俊琳, 莫伟容, 梁荣, 等. 广西梧州地区地中海贫血的基因型分析与临床观察. 广西医学, 1994, 16(1): 15-17.
- [5] 蒋玉欢, 李增宝, 王英, 等. 婚前婚配群体的地中海贫血携带者筛查与基因检测分析. 中国妇幼保健, 2004, 19: 104.

(收稿日期: 2008-06-12)

(本文编辑: 尹廉)