

# 广西崇左市中学生地中海贫血流行病学调查及基因突变类型分析

李向阳 蓝静 罗瑞贵 张天朗 农勤聪 杨万伟 曾丽红 张新华

**【摘要】** 目的 对广西崇左市中学生进行地中海贫血(地贫)流行病学调查,了解地贫基因携带率和地贫基因突变类型。方法 2008年6月10—20日在崇左市所辖7个区县(市)中抽签分别确定一所中学,在志愿参加调查的学生中按当地人口0.5‰比例确定调查人数,检测12~16岁学生1097名(男515名,女582名),其中壮族968名(男438名,女530名),汉族128名(男76名,女52名),瑶族1名(男性)。以Cell Dyn 1700全自动血细胞分析仪进行血细胞分析,以血红蛋白自动分析仪——VARIANT进行血红蛋白F和血红蛋白A<sub>2</sub>(HbA<sub>2</sub>)定量检测。HbA<sub>2</sub>≥4%为β地贫另进行α和β地贫基因分析,HbA<sub>2</sub><4%但平均红细胞体积(MCV)≤80 fl的标本进行α地贫基因分析。结果 1097名学生中地贫总检出率为25.62%。其中检出α地贫218例(19.87%),β地贫50例(4.56%),α地贫复合β地贫13例(1.19%)。男生检出地贫133例(25.83%),女生检出地贫148例(25.43%),男女生间检出率差异无统计学意义(P>0.05)。968名壮族学生检出地贫255例(26.34%),128名汉族学生检出地贫25例(19.52%),壮族学生检出率高于汉族学生,差异有统计学意义(P<0.01)。检出3种缺失型α地贫基因(-α<sup>37</sup>/,-α<sup>42</sup>/和-<sup>SEA</sup>/)和3种非缺失型α地贫基因(αα<sup>CS</sup>/,αα<sup>WS</sup>/和αα<sup>OS</sup>/),其中αα<sup>WS</sup>/检出率较高。β地贫基因突变类型以CD41-42最为常见。地贫MCV低于健康对照,差异有统计学意义(P<0.01)。在MCV为79~80 fl的样本中检出α地贫,如果以MCV<79 fl为地贫表型阳性的指标,则有32例漏诊,漏诊率达2.97%。结论 广西崇左市中学生地贫基因携带率高,壮族学生检出率高于汉族学生;αα<sup>WS</sup>/检出率较高,β地贫基因突变类型以CD41-42最为常见。

**【关键词】** 地中海贫血;基因型;壮族;中学生

**Epidemiological investigation and genotype of thalassemia on middle school students in Chongzuo, Guangxi** Li Xiang-yang, LAN Jing, LUO Rui-gui, ZHANG Tian-lang, NONG Qin-cong, YANG Wan-wei, ZENG Li-hong, ZHANG Xin-hua. Department of Pediatrics Chongzuo Maternity and Child Health Hospital, Chongzuo 532200, China

Corresponding author: ZHANG Xin-hua, Email: zhx303@263.net

**【Abstract】** Objective To investigate the carrier ratio and the genotype of thalassemia among students of secondary school in Chongzuo, Guangxi. Methods From June 10-20, 2008 among 7 regions of Chongzuo, 1 secondary school was randomly chosen from each region, and the number of student volunteers was determined by 0.5‰ proportion of the local population size. 1097 students were screened, including 515 boys and 582 girls of 12-16 year olds. Among them, 968 cases were Zhuang (438 boys and 530 girls) 128 cases were Han (76 boys and 52 girls) and one case was Yao nationalities (boy). Analysis of blood cells was detected by Cell Dyn 1700 automatic hemocyte analysator while hemoglobin F (HbF) and hemoglobin A<sub>2</sub> (HbA<sub>2</sub>) were detected by hemoglobin autoanalyse variant. Among those with HbA<sub>2</sub>≥4% that belonged to β-thalassemia before α and β-thalassemia gene were analyzed to identify the genotypes. If HbA<sub>2</sub> was <4% but MCV≤80 fl, α-thalassemia gene was analyzed. Results Among 1097 cases, 218 were α-thalassemia (19.87%), 50 were β-thalassemia (4.56%) and 13 were combination of α β-thalassemia (1.19%). The overall detected ratio was 25.62%. 133 cases with thalassemia were boys (25.83%) and 148 were girls (25.43%) with no significant difference (P>0.05). 255 cases of thalassemia were Zhuang (26.34%), and 25 were Han nationality (19.52%). The detected ratio among Zhuang nationality was higher than in Han nationality and with significant difference statistically (P<0.01). 3 kinds of deletion (-α<sup>37</sup>/, -α<sup>42</sup>/, -<sup>SEA</sup>/) and another 3 kinds of non-deletion (αα<sup>CS</sup>/, αα<sup>WS</sup>/, αα<sup>OS</sup>/)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.06.008

基金项目:广西卫生厅科学基金(Z2008006);广西自然科学基金(0447104)

作者单位:532200 广西崇左市妇幼保健院(李向阳、蓝静、农勤聪、杨万伟);解放军第三〇三医院血液科(罗瑞贵、张天朗、曾丽红、张新华)

通信作者:张新华, Email: zhx303@263.net

$\alpha$ -thalassemia genotype were identified, with a higher rate of  $\alpha\alpha^{WS}$ . Among the  $\beta$ -thalassemia genotype, CD41-42 appeared the most common genotype. MCV of thalassemia was lower than in the controls, with significant difference ( $P < 0.01$ ). 78-90 fl of  $\alpha$ -thalassemia was detected from the MCV specimen. If taken  $MCV < 79$  fl as the positive phenotype of thalassemia, 32 cases were misdiagnosed. The rate of missed diagnosed cases was 2.97%. **Conclusion** Rate of thalassemia carrier among students of secondary school in Chongzuo, Guangxi was considered to be high, especially those belonged to Zhuang nationality were higher than the Hans. The carrier rate of  $\alpha\alpha^{WS}$  was higher, with CD41-42 the most common genotype.

**[Key words]** Thalassemia; Genotype; Zhuang nationality; Studen

地中海贫血(地贫)是我国南方最常见的遗传病,以往的调查结果表明广西南宁和柳州是高发区,地贫基因检出率分别为 26.55% 和 17.97%<sup>[1,2]</sup>。广西崇左市是壮族人群居住为主的地级市,约有 230 万人口,一些初步调查结果显示该地区的地贫有较高的检出率<sup>[3]</sup>,但缺乏详细的流行病学资料。由于该病的重型为致死性疾病,中间型常致患者丧失劳动能力,在高发区会对人口质量构成严重威胁,目前公认首选防治对策是通过产前诊断淘汰受累胎儿从而达到预防的目的。为更准确地了解崇左市人群地贫基因携带情况,以中学生为调查对象按当地壮族和汉族人口比例进行抽样调查,明确该市地贫的基因检出率和基因类型及其分布特点。

### 对象与方法

1. 调查对象:在崇左市各区县(市)按实际人口 0.5% 的比例于 2008 年 6 月 10-20 日采集中学生样本。由市教育局和卫生局协调组织各区县(市)随机抽签确定一所中学,由学校组织同一年级学生进行地贫知识讲座,从中抽签确定 2~4 个班,在自愿参加调查的学生中按照已确定的每区县(市)总人数和民族比例人数抽签确定参加学生,避免有近亲关系的学生同时参加。调查对象为崇左市所辖 1 区 1 县级市和 5 个县的 7 所中学 1097 名学生(江州区 171 名、凭祥市 55 名、扶绥县 200 名、大新县 179 名、天等县 155 名、宁明县 203 名和龙州县 134 名),其中男 515 名,女 582 名,年龄 12~16 岁。壮族 968 名(男 438 名,女 530 名),汉族 128 名(男 76 名,女 52 名),瑶族 1 名(男性)。

2. 调查方法:抽取静脉血 4 ml,以 EDTA 抗凝,所有样品均进行血细胞分析、HbF 和 HbA<sub>2</sub> 检测。平均红细胞体积(MCV)  $\leq 80$  fl(为减少漏诊,在国际地贫协会确定的  $MCV < 79$  fl 为地贫表型阳性指标的基础上扩大 2 fl<sup>[4]</sup>)和 HbA<sub>2</sub>  $\geq 4\%$  的标本进行中国人 17 种  $\beta$  地贫基因分析,  $MCV \leq 80$  fl 和 HbA<sub>2</sub>  $< 4\%$  的标本进行 3 种缺失型  $\alpha$  地贫基因和 5 种非缺失型  $\alpha$

地贫基因分析,为调查  $\alpha\beta$  地贫的存在状况,所有进行  $\beta$  地贫基因分析的标本均同时进行 3 种缺失型  $\alpha$  地贫基因和 5 种非缺失型  $\alpha$  地贫基因分析。

### 3. 基因型分析:

(1)血液学表型分析:采用美国产 Cell Dyn 1700 全自动血细胞分析仪进行血细胞分析。以美国 BIO-RAD 公司生产的 Hb 自动分析仪-VARIANT( $\beta$  Thalassemia Short Program)进行血红蛋白分析和定量检测 HbF 和 HbA<sub>2</sub>。

(2)地贫基因分析:3 种常见缺失型  $\alpha$  地贫基因 ( $-\alpha^{37}$ 、 $-\alpha^{42}$ 、 $--^{SEA}$ )分析采用 Gap-PCR 技术,5 种非缺失型  $\alpha$  地贫基因 ( $\alpha\alpha^{CS}$ 、 $\alpha\alpha^{QS}$ 、 $\alpha\alpha^{WS}$ 、 $\alpha\alpha^{CD30}$ 、 $\alpha\alpha^{CD59}$ )和 17 种  $\beta$  地贫基因 (41-42、71-72、17、-28、26、IVS-II-654、IVS-I-1、IVS-I-5、43、31、27/28、-32、-29、30、14-15、CAP 和 Int)分析采用反向斑点杂交技术检测<sup>[5]</sup>。

4. 诊断标准:按《血液病诊断及疗效标准》重型和中间型  $\beta$  地贫临床诊断主要根据 HbF 和 Hb 来确定,轻型  $\beta$  地贫和静止型  $\beta$  地贫基因携带者根据 HbA<sub>2</sub> 和 HbF 来确定,中间型  $\alpha$  地贫根据血红蛋白 H 区带诊断,轻型和静止型  $\alpha$  地贫根据基因检测结果诊断<sup>[6]</sup>。

5. 统计学分析:实验数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,多组计量资料间比较进行方差分析,计数资料间比较进行  $\chi^2$  检验。

### 结 果

1. 人群中地贫基因检出率:在 1097 名学生中检出  $\alpha$  地贫 218 例,检出率为 19.87%,其中静止型  $\alpha$  地贫 132 例,轻型  $\alpha$  地贫 81 例,中间型  $\alpha$  地贫 5 例。检出  $\beta$  地贫 50 例,均为杂合子,检出率为 4.56%。检出  $\alpha$  地贫复合  $\beta$  地贫 13 例,检出率为 1.19%,地贫总检出率为 25.62%。男生检出地贫 133 例(25.83%),女生检出地贫 148 例(25.43%),男女生间检出率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。江州区、凭祥市、扶绥县、大新县、天等县、宁明县和龙州县分别检出地贫 51、19、37、47、39、52 和 36 例,检出率分别为 29.82%、

34.55%、17.28%、26.26%、25.16%、25.62% 和 26.87%，各地区间检出率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

2. 地贫基因类型及其分布: 经基因分析检出中国人常见的 3 种缺失型  $\alpha$  地贫基因 ( $-\alpha^{3.7}/$ ,  $-\alpha^{4.2}/$  和  $--^{SEA}/$ ) 和 3 种非缺失型  $\alpha$  地贫基因 ( $\alpha\alpha^{CS}/$ ,  $\alpha\alpha^{WS}/$  和  $\alpha\alpha^{OS}/$ ), 未检出  $\alpha\alpha^{CD30}/$  和  $\alpha\alpha^{CD59}/$  基因, 检出较多的  $\alpha\alpha^{WS}/$  (HbWestmead), 值得重视。静止型  $\alpha$  地贫、轻型  $\alpha$  地贫和中间型  $\alpha$  地贫基因型和检出率见表 1。血液学表型分析查出的 50 例  $\beta$  地贫阳性样本均确定了基因突变类型, 基因谱与以往在广西其他地区报道类似<sup>[1,2,7]</sup>, 突变类型都较少, 仅有 7 个类型, 最常见的 3 种基因也是 CD41-42 (-CTTT) 移码突变、CD17 (T-A) 无义突变和 CD-28(A-G) 转录突变。检出的 13 例  $\alpha\beta$  复合型地贫有 11 种不同类型的基因型:  $\beta 17/N$  复合  $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $\beta 17/N$  复合  $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha^{WS}$ 、 $\beta 41-42/N$  复合  $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 、 $\beta 71-72/N$  复合  $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $\beta IVS-II-654/N$  复合  $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $\beta IVS-II-654/N$  复合  $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 、 $\beta IVS-II-654/N$  复合  $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $\beta IVS-I-1/N$  复合  $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  和  $\beta 26/N$  复合  $\alpha\alpha^{CS}/\alpha\alpha$  各 1 例,  $\beta 17/N$  复合  $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$  和  $\beta 41-42/N$  复合  $\alpha\alpha^{WS}/\alpha\alpha$  各 2 例。

表 1 广西崇左市 1097 名中学生  $\alpha$  地贫基因型和检出率

基因型	例数	检出率 (%)
静止型	132	12.03
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$	48	4.37
$\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$	26	2.37
$\alpha\alpha/\alpha\alpha^{WS}$	30	2.73
$\alpha\alpha/\alpha\alpha^{CS}$	26	2.37
$\alpha\alpha/\alpha\alpha^{OS}$	2	0.18
轻型	81	7.38
$\alpha\alpha/--^{SEA}$	74	6.75
其他组合	7	0.64
中间型	5	0.46
$\alpha\alpha^{3.7}/--^{SEA}$	4	0.36
$\alpha\alpha^{WS}/--^{SEA}$	1	0.09

3. 各族学生地贫检出率与基因突变类型: 968 名壮族学生检出地贫 255 例, 总检出率为 26.34%; 128 例汉族学生检出地贫 25 例 (19.52%); 1 例瑶族学生为  $\alpha$  地贫。壮族学生地贫检出率高于汉族学生, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ) (表 2)。壮族  $\beta$  地贫基因突变类型也是以  $\beta CD41-42$  (-CTTT) 移码突变、 $\beta CD17$  (T-A) 无义突变和  $\beta CD-28$  (A-G) 转录突变为最常见。 $\alpha$  地贫基因类型中  $\alpha\alpha^{WS}$  / 检出率较高 (表 3), 而以往的调查除南宁市 (也是壮族人较多的地区) 外没有检测到  $\alpha\alpha^{WS}$  /, 因此  $\alpha\alpha^{WS}$  / 是否为壮族人群特有还有待进步研究。

表 2 广西崇左市 968 名壮族学生和 128 名汉族学生地贫基因检出数和检出率 (%)

地贫	壮族学生		汉族学生	
	例数	检出率	例数	检出率
$\alpha$	199	20.56	18	14.06
$\beta$	45	4.65	5	3.90
$\alpha\beta$	11	1.13	2	1.56
合计	255	26.34	25	19.52*

注: \* $P < 0.01$

表 3 广西崇左市 968 名壮族学生静止型  $\alpha$  地贫基因类型和  $\beta$  地贫基因突变类型

基因型	$\alpha$ 地贫		基因型	$\beta$ 地贫	
	例数	构成比 (%)		例数	构成比 (%)
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$	46	38.66	CD41-42	19	42.22
$\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$	24	20.17	CD17	9	20.00
$\alpha\alpha/\alpha\alpha^{WS}$	24	20.17	CD28	6	13.33
$\alpha\alpha/\alpha\alpha^{CS}$	23	19.32	CD26	4	8.89
$\alpha\alpha/\alpha\alpha^{OS}$	2	1.68	IVS-II-654	1	2.22
合计	119	100.00	IVS-I-1	3	6.67
			CD71-72	3	6.67
			合计	45	100.00

4. 地贫与 MCV 关系: 静止型  $\alpha$  地贫 132 例、轻型  $\alpha$  地贫 81 例、 $\beta$  地贫杂合子 50 例、 $\alpha\beta$  复合型地贫 13 例的 MCV 均低于未查出地贫基因、Hb 正常的 798 名健康学生 (18 名学生不明原因 Hb 低于正常不作统计对象), 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。其中以  $\beta$  地贫杂合子和  $\alpha\beta$  复合型地贫最低 (两者间差异无统计学意义,  $P > 0.05$ ), 其次是轻型  $\alpha$  型地贫; 静止型  $\alpha$  地贫 MCV 较为接近健康对照组 (表 4)。在 MCV 为 79 ~ 80 fl 的样本中 Hb 分析未检出  $\beta$  地贫, 但基因分析检出 1 例轻型  $\alpha$  型地贫 ( $--^{SEA}/$ ), 31 例静止型  $\alpha$  型地贫 (12 例  $-\alpha^{3.7}/$ 、6 例  $-\alpha^{4.2}/$ 、9 例  $\alpha\alpha^{WS}/$ 、4 例  $\alpha\alpha^{CS}/$ ), 如果以  $MCV < 79$  fl 为地贫表型阳性的指标, 则有 32 例漏诊, 漏诊率达 2.92% (32/1097)。

表 4 地贫学生与健康对照 MCV 值

组别	例数	MCV (fl)
健康对照	798	82.22 ± 3.99
静止型 $\alpha$ 地贫	132	75.80 ± 3.37*
轻型 $\alpha$ 地贫	81	64.14 ± 4.09*
$\beta$ 地贫杂合子	50	61.04 ± 4.98*
$\alpha\beta$ 复合型地贫	13	61.23 ± 7.74* <sup>b</sup>

注: \* 与健康对照比较  $P < 0.01$ ; <sup>b</sup> 与  $\beta$  地贫杂合子比较  $P > 0.05$

### 讨 论

本研究显示崇左市中学生  $\alpha$  和  $\beta$  地贫的基因总检出率为 25.62%。如果夫妇均携带同类型地贫基因 (如  $\beta$  地贫与  $\beta$  地贫、静止型  $\alpha$  地贫与  $--^{SEA}/$  基因型轻型  $\alpha$  地贫和  $--^{SEA}/$  基因型轻型  $\alpha$  地贫与  $--^{SEA}/$  基因型轻型  $\alpha$  地贫)

贫)就有可能生下重型或中间型 $\alpha$ 或 $\beta$ 地贫的子女,从人口素质考虑本调查的地贫基因检出率值得重视。本次检出 13 例 $\alpha\beta$ 复合型地贫,人群中检出率高达 1.19%,从一侧面说明 $\alpha$ 和 $\beta$ 这两种地贫在该地区的发生率高,在做地贫遗传咨询和产前诊断时要重视。

本研究检出较多的 $\alpha\alpha^{ws}/(32/1097)$ ,检出的 1 例 $\alpha\alpha^{ws}$ 复合-- $SEA$ /双重杂合子,没有 HbH 区带也没有贫血,只有 MCV 的下降。HbWestmead 是一种轻度不稳定的血红蛋白变异体,是由于 $\alpha$ 珠蛋白基因密码子 122CAC $\rightarrow$ CAG 突变所致,-- $SEA$ /复合 $\alpha\alpha^{ws}$ 的双重杂合子其临床表现和血液学资料与 HbH 病相同,脾脏轻度增大或正常,MCV 低于正常,无 HbH 区带<sup>[8]</sup>,但也有文献报道-- $SEA$ /复合 $\alpha\alpha^{ws}$ 的双重杂合子无贫血或仅有轻度贫血<sup>[9]</sup>,因此在婚育中对于-- $SEA$ / $\alpha\alpha$ 与 $\alpha\alpha^{ws}/\alpha\alpha$ 的组合如何进行遗传咨询和产前诊断有待进一步研究。

血液学表型分析对地贫的筛查有重要意义,Hb 分析可诊断异常血红蛋白和 $\beta$ 地贫,HbA<sub>2</sub>是轻型和静止型 $\beta$ 地贫的主要依据,而应用全自动血红蛋白分析仪(高效液相色谱法)检测 HbA<sub>2</sub>有较高的准确性和实用性<sup>[5]</sup>。东南亚缺失型(-- $SEA$ )轻型 $\alpha$ 地贫可通过肽链分析(检出 Zeta 链)诊断<sup>[10]</sup>,而非东南亚缺失型轻型 $\alpha$ 型和静止型 $\alpha$ 地贫要进行基因分析才能诊断<sup>[6]</sup>,但可应用血细胞分析中的 MCV 进行初筛,因此 MCV 作为地贫表型阳性的指标在地贫高发区有实用意义,但部分静止型 $\alpha$ 型地贫 MCV 正常,易导致漏诊,由于这一原因推测崇左市地贫基因携带率可能更高。

(参加本项研究的还有解放军第三〇三医院血液科王荣新、蓝

小英、岑艳陶、韦灵、李静、李平萍、黄慧婷、周天红、尹晓林、周亚丽、王丽、陆清娇、陆眩奉和骆焕艳,一并志谢)

参 考 文 献

- [1] 张新华,周艳洁,李平萍,等. 广西南宁农村育龄人群中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] 蔡稔,李莉艳,梁昕,等. 柳州市城镇人群 $\alpha$ 和 $\beta$ 地中海贫血发生率调查和基因型鉴定. 中华流行病学杂志, 2002, 23(4): 281-285.
- [3] 李向阳,刘志昂,罗瑞贵,等. 平均红细胞体积降低儿童的珠蛋白生成障碍性贫血基因携带率. 实用儿科临床杂志, 2007, 22(17): 1333-1334.
- [4] Old J, Traeger-Synodinos J, Galanello R, et al. Prevention of thalassaemias and other haemoglobin disorders. Vol 2. Nicosia, Cyprus: Thalassaemia International Federation, 2005: 1-39.
- [5] 张新华,周艳洁,罗瑞贵,等. 南宁育龄人群 $\beta$ 地中海贫血筛查及血红蛋白 A<sub>2</sub> 截断值的确定. 中华检验医学杂志, 2007, 30(1): 53-55.
- [6] 张新华,黄有文. 珠蛋白生成障碍性贫血/张之南. 血液病诊断及疗效标准. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007: 29-35.
- [7] 张俊武,龙桂芳. 血红蛋白与血红蛋白病. 南宁: 广西科学技术出版社, 2003: 151-235.
- [8] 蒋南华,梁徐,文晓军,等. 应用聚合酶链反应附加 Stu I 内切酶谱检测 HbWestmead 基因突变. 中华血液学杂志, 1991, 12(12): 570-572.
- [9] 陈萍,林伟雄,李树全. 三例 HbWestmead 复合东南亚缺失型 $\alpha$ 地中海贫血 1 的分析. 中华血液学杂志, 2005, 26(10): 619-621.
- [10] 唐磊,赵文忠,卢晓,等. -- $SEA$ 型地中海贫血标志蛋白 Zeta 链蛋白的克隆表达与鉴定. 中国实验诊断学, 2005, 9(4): 491-494.

(收稿日期: 2009-01-17)

(本文编辑: 张林东)

· 有错即改 ·

本刊 2009 年第 2 期作者单位更正

本刊 2009 年第 2 期第 171 ~ 174 页“北海道型汉坦病毒核蛋白基因的克隆表达及其免疫原性”的第二作者邹洋工作单位改为“首都医科大学附属北京友谊医院热带医学研究所”。谨此更正。

本刊编辑部