

# 厦门地区 3 715 例地中海贫血基因检测结果分析

成明 李健<sup>①</sup> 郭奇伟<sup>①</sup> 周裕林<sup>②</sup> 杨瑞娟 刘洪雪 厦门大学医学院 (福建 厦门) 361003

中国图书分类号 R75 文献标识码 E 文章编号 1001-4411(2015)12-1870-03; doi: 10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2015.12.27

**【摘要】** 目的: 调查厦门地区地中海贫血基因的携带率、基因突变类型及其频率分布。方法: 对 2013 年 1 月~2014 年 8 月在该院住院或门诊治疗的患者及健康体检人员共 3 715 例进行地中海贫血基因检测, 对检测结果进行统计分析。结果: 检测出静止型  $\alpha$ -地中海贫血 200 例 (5.4%), 中间型  $\alpha$ -地中海贫血 44 例 (1.2%), 标准型  $\alpha$ -地中海贫血 1 213 例 (32.6%),  $\beta$ -地中海贫血 787 例 (21.2%),  $\alpha$ -合并  $\beta$ -地中海贫血 69 例 (1.8%)。结论: 不同就诊对象地中海贫血检出率具有明显差异, 血常规是筛查地中海贫血高危孕妇的一个有效手段, 但也存在一些缺陷, 需引起重视。

**【关键词】** 地中海贫血 血常规筛查 基因诊断

## Analysis on gene detection results of 3 715 cases with thalassemia in Xiamen

CHENG Ming, LI Jian, GUO Qi-Wei, et al. Medical College of Xiamen University, Xiamen 361003, Fujian, China

**(Abstract)** **Objective:** To survey the carrying rate, types of gene mutation, and frequency distribution of thalassemia gene in Xiamen. **Methods:** Thalassemia gene detection was conducted among 3 715 patients treated in the hospital or in outpatient department of the hospital and healthy cases receiving physical examination, the results were analyzed statistically. **Results:** Among the cases, 200 cases (5.4%) were diagnosed as silent  $\alpha$ -thalassemia, 44 cases (1.2%) were diagnosed as intermediate  $\alpha$ -thalassemia, 1 213 cases (32.6%) were diagnosed as standard  $\alpha$ -thalassemia, 787 cases (21.2%) were diagnosed as  $\beta$ -thalassemia, 69 cases (1.8%) were diagnosed as  $\alpha$ -thalassemia combined with  $\beta$ -thalassemia. **Conclusion:** The detection rates of thalassemia among different objects vary, blood routine screening is an effective means for screening high-risk pregnant women, but there are some defects, which should be paid more attention to.

**(Key words)** Thalassemia; Blood routine screening; Genetic diagnosis

地中海贫血是一组常染色体隐性遗传病, 由于遗传基因缺陷致使血红蛋白中一种或一种以上珠蛋白链合成或缺或不足所导致的贫血或病理状态, 发病临床症状轻重不一, 轻者无明显临床症状, 无需治疗, 重者如重型  $\alpha$ -地中海贫血胎儿大多于妊娠 30~34 周以后成为死胎而流产或早产后数小时即死亡, 重型  $\beta$ -地中海贫血患儿如无适当输血, 多于幼年死亡。本病是世界范围内最常见的单基因遗传病之一, 我国以广东、广西和海南省多见。因本病的发病率高、临床危害严重且缺乏有效的治疗方法, 因此对高发区人群于婚前、孕前及产前进行基因检测, 提出医学建议, 避免下一代患儿的出生, 提高人口素质<sup>(1-3)</sup>。

我院于 2006 年率先在福建省开展孕妇地中海贫血筛查和基因诊断项目以来, 福建省的地中海贫血预防缺陷工作得到了很大的推进。但目前大部分医院的检测流程还是以血常规作为初筛手段, 继之以 gap-PCR 和斑点杂交等地中海贫血基因检测。有研究认为, 该技术流程的检测特异性和敏感性有待提高。本文就我院近两年来的地中海贫血基因检测结果与血常规筛查结果进行初步分析, 以为今后相关工作流程的完善提供指导。

### 1 对象和方法

①厦门市妇幼保健院

②通讯作者 厦门市妇幼保健院 E-mail: zhou\_yulin@126.com

**1.1 研究对象** 对 2013 年 1 月~2014 年 8 月在我院住院或门诊治疗的患者以及健康体检人员共 3 715 例进行地中海贫血基因检测, 其中女 3 034 例, 男 681 例, 年龄 18~43 岁。

#### 1.2 方法

**1.2.1 血常规筛查** 采用 SYSMEX 公司 XS-500i 的全自动五分类血球分析仪测定, 包括平均红细胞容积 (MCV) 测定和平均红细胞血红蛋白含量 (MCH), 阳性标准为  $MCV < 80$  fl 和 (或)  $MCH < 20$  pg。

**1.2.2 基因诊断** 由广东潮州凯普生物化学公司提供的  $\alpha$ -和  $\beta$ -地中海贫血基因检测试剂盒 (gap-PCR+膜杂交法), 该试剂盒针对人外周血样本, 用于检测中国人常见的 3 种缺失型  $\alpha$ -地中海贫血 ( $--SEA$ 、 $-\alpha3.7$ 、 $-\alpha4.2$ )、两种突变型  $\alpha$ -地中海贫血 (CS、QS) 及 11 种突变型  $\beta$ -地中海贫血 (41-42M/N、43M/N、654M/N、17M/N、14-15M/N、-28M/N、-29M/N、71-72M/N、27-28M/N、 $\beta EM/N$ 、IVSI-1M/N)。

**1.3 统计学方法** 采用 SPSS 16.0 统计软件对数据进行统计学处理, 计数数据采用  $\chi^2$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 不同就诊对象地中海贫血基因检测结果** 3 715 例地中海贫血基因检测样本, 根据其血常规筛查数据分为 3 组: 血常规未检测组、血常规正常组 (MCV

和 MCH 结果正常) 和血常规异常组 (MCV < 80 fl 和 (或) MCH < 27 pg 定义为异常)。其中, 血常规异常组 1 544 例, 检测出  $\alpha$ -地中海贫血 786 例、 $\beta$ -地中海贫血 358 例、 $\alpha$ -合并  $\beta$ -地中海贫血 33 例, 合计 1 177 例, 地中海贫血基因检出率为 76.23%; 血常规正常组 326 例, 检测出  $\alpha$ -地中海贫血 46 例、 $\beta$ -地中海贫血 22 例、 $\alpha$ -合并  $\beta$ -地中海贫血 0 例, 合计 68 例, 地中海贫血基因检出率为 20.86%; 血常规未检测组共 1 845 例, 检测出  $\alpha$ -地中海贫血 625 例、 $\beta$ -地中海贫血 407 例、 $\alpha$ -合并  $\beta$ -地中海贫血 36 例, 合计 1 068 例, 地中海贫血基因检出率为 57.8%。3 组中, 血常规正常组的地中海贫血基因检出率显著低于其他两组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ ); 血常规异常组的地中海贫血基因检出率显著高于其他两组。见表 1。

表 1 3 组不同人群地中海贫血基因检测结果

| 组别   | 基因检测异常<br>例数 | 基因检测正常<br>例数 | $\chi^2$ 值 | P 值      |
|------|--------------|--------------|------------|----------|
| 异常组  | 1 177        | 367          | 219.4      | <0.000 1 |
| 正常组  | 68           | 258          | 260.7      | <0.000 1 |
| 未检测组 | 1 068        | 777          | 29.86      | <0.000 1 |

2.2  $\alpha$ -地中海贫血突变基因型分布 3 715 例地中海贫血基因检测样本中, 检测出  $\alpha$ -地中海贫血基因阳性 1 457 例, 检出率为 39.2%, 其中静止型  $\alpha$ -地中海贫血 200 例, 中间型  $\alpha$ -地中海贫血 44 例, 标准型  $\alpha$ -地中海贫血 1 213 例。见表 2。

表 2  $\alpha$ -地中海贫血突变基因型分布

| 突变基因型                           | 例数<br>(女) | 例数<br>(男) | 基因表型 | 总计    | 构成比<br>(%) | 人群检出<br>率(%) |
|---------------------------------|-----------|-----------|------|-------|------------|--------------|
| $\alpha\alpha / - -^{SEA}$      | 1 074     | 126       | 标准型  | 1 200 | 82.4       | 32.3         |
| $-\alpha^{4.2} / -\alpha^{4.2}$ | 1         | 0         | 标准型  | 1     | 0.068      | 0.03         |
| $-\alpha^{4.2} / -\alpha^{3.7}$ | 3         | 0         | 标准型  | 3     | 0.2        | 0.08         |
| $-\alpha^{3.7} / -\alpha^{3.7}$ | 7         | 1         | 标准型  | 8     | 0.54       | 0.2          |
| $\alpha^{CS} / -\alpha^{3.7}$   | 0         | 1         | 标准型  | 1     | 0.068      | 0.03         |
| $\alpha\alpha / -\alpha^{3.7}$  | 105       | 19        | 静止型  | 124   | 8.5        | 3.3          |
| $\alpha\alpha / -\alpha^{4.2}$  | 33        | 6         | 静止型  | 39    | 2.7        | 1            |
| $\alpha^{OS} / \alpha\alpha$    | 21        | 4         | 静止型  | 25    | 1.71       | 0.7          |
| $\alpha^{CS} / \alpha\alpha$    | 7         | 1         | 静止型  | 8     | 0.55       | 0.21         |
| $\alpha^{WS} / \alpha\alpha$    | 3         | 1         | 静止型  | 4     | 0.27       | 0.1          |
| $- -^{SEA} / -\alpha^{3.7}$     | 34        | 1         | 中间型  | 35    | 2.4        | 0.9          |
| $- -^{SEA} / -\alpha^{4.2}$     | 5         | 0         | 中间型  | 5     | 0.34       | 0.1          |
| $\alpha^{WS} / - -^{SEA}$       | 4         | 0         | 中间型  | 4     | 0.27       | 0.1          |
| 合计                              | 1 297     | 160       |      | 1 457 | 100        | 39.2         |

2.3  $\beta$ -地中海贫血突变基因型分布 3 715 例地中海贫血基因检测样本中, 检测出  $\beta$ -地中海贫血阳性 787 例, 检出率为 21.1%。其中以 41-42M/N、654M/N 和 17M/N 三种基因型最为常见, 占总检出构成比的 85.33%, 在 3 715 例样本中, 还检测出  $\alpha$ -合并  $\beta$ -地中海贫血 69 例, 检出率为 1.8%。见表 3。

表 3  $\beta$ -地中海贫血突变基因型分布

| 突变基因型           | 例数<br>(女) | 例数<br>(男) | 总计  | 构成比<br>(%) | 人群检出<br>率(%) |
|-----------------|-----------|-----------|-----|------------|--------------|
| 654M/N          | 289       | 25        | 314 | 39.9       | 8.4          |
| 41-42M/N        | 221       | 18        | 239 | 30.4       | 6.4          |
| 17M/N           | 107       | 9         | 116 | 14.7       | 3.1          |
| -28M/N          | 51        | 8         | 59  | 7.49       | 1.6          |
| 27-28M/N        | 27        | 0         | 27  | 3.43       | 0.7          |
| $\beta$ EM/N    | 10        | 1         | 11  | 1.4        | 0.3          |
| INTM/N          | 7         | 2         | 9   | 1.14       | 0.24         |
| 71-72M/N        | 6         | 0         | 6   | 0.76       | 0.2          |
| IVSI-1M/N       | 2         | 0         | 2   | 0.25       | 0.05         |
| IVS 1-5M/N      | 2         | 0         | 2   | 0.25       | 0.05         |
| 17M/ $\beta$ EM | 1         | 0         | 1   | 0.13       | 0.025        |
| IVSI-1M/41-42M  | 1         | 0         | 1   | 0.13       | 0.025        |
| 合计              | 724       | 63        | 787 | 100        | 21.1         |

### 3 讨论

地中海贫血是由于珠蛋白基因缺失或突变, 导致珠蛋白肽链合成障碍,  $\alpha$  或  $\beta$  链失衡的遗传性血红蛋白病。通过本研究得知, 厦门地区 3 715 例不同来源的地中海贫血基因检测样本中,  $\alpha$ -地中海贫血突变基因型共检出 13 种、1 457 例 (39.2%), 其中最常见的是  $\alpha\alpha / - -^{SEA}$  (82.4%), 其次为  $\alpha\alpha / -\alpha^{3.7}$  (8.5%) 和  $\alpha\alpha / -\alpha^{4.2}$  (2.7%);  $\beta$ -地中海贫血突变基因型共检出 12 种、787 例 (21.1%), 其中最常见的是 654M/N (39.9%), 其次为 41 ~ 42M/N (30.4%) 和 17M/N (14.7%);  $\alpha$ -地中海贫血合并  $\beta$ -地中海贫血 69 例 (1.8%)。与 2007、2008 年本实验室的既往报道相比, 主要突变基因型和占比均类似, 但此次地中海贫血的检出率略低, 可能与此次检测样本除血常规筛查高危孕妇外, 还包括部分健康体检者有关<sup>(4)</sup>。

血常规检测是贫血诊断和治疗过程中必要的实验室检查项目, 不同病因引起的贫血病理不同, 各项参数的变化也各不相同。地中海贫血除血红蛋白成分改变外, 幼红细胞铁的利用也发生障碍, 主要是原卟啉与铁结合受到障碍, 呈小细胞低色素性, MCV、MCH 均降低符合该病的基本病理特征。因此, 国际血液病协会推荐将血常规检测 (尤其是 MCV、MCH

的检测) 作为地中海贫血的初筛实验。本研究血常规异常组的地中海贫血基因检出率显著高于血常规正常组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ ), 与既往研究报道结果相符。当前, 随着分子诊断技术的发展, 地中海贫血基因检测工作操作日益简单, 检测准确度较高, 因此该工作正逐渐走向临床, 成为很多医院分子诊断实验室的常规检测项目。但其与血常规检测比较, 其技术难度要求、工作量、检测时间和费用等均较高。因此, 临床上直接将地中海贫血基因检测作为地中海贫血防范的一线筛查技术明显不合适。而血常规检测操作方便可行, 也是孕妇体检的常规项目。因此, 在地中海贫血的出生缺陷干预中, 以血常规检测作为孕妇地中海贫血的初筛实验是可行的, 也是有必要的。但此次血常规筛查正常组中, 检测出  $\alpha$ -地中海贫血 46 例,  $\beta$ -地中海贫血 22 例, 合计 68 例, 地中海贫血基因检出率为 20.86% (68/326)。表明临床中血常规正常并不能完全排除地中海贫血发生的可能性<sup>(5-9)</sup>。

在此次检测的样本中, 血常规异常组检测出  $\alpha$ -地中海贫血 786 例,  $\beta$ -地中海贫血 358 例,  $\alpha$ -合并  $\beta$ -地中海贫血 33 例, 合计 1 177 例, 地中海贫血基因检出率为 76.23% (1 177/1 544)。表明血常规异常组中, 还是有一定比例的地中海贫血基因检测呈阴性。分析其原因: ①作为衡量小细胞低色素性的重要指标, MCV 测定和 MCH 的异常, 除了地中海贫血原因导致外, 还有其他多种原因也有可能产生。所以, 为提高血常规异常的地中海贫血基因检出率, 临床也应考虑多种筛查技术的结合使用。如血红蛋白电泳、高效液相色谱 (HPLC) 和毛细管电泳 (CE) 等, 可显著提高地中海贫血基因检出率。②虽然近年来分子诊断技术发展迅速, 相关分子诊断 (如地中海贫血基因检测) 技术也日益成熟, 但目前的检测技术还是以 gap-PCR 和斑点杂交技术为主, 这些技术主要检测的是中国人群地中海贫血基因突变的热点, 并不能覆盖所有地中海贫血所有突变位点。这样, 就存在临床地中海贫血漏筛的风险, 导致地中海贫血高危儿的出生, 给家庭和社会均带来严重负担<sup>(10-17)</sup>。

近些年来, 高通量测序技术得到迅猛发展, 该技术能同时对几十万到几百万条 DNA 分子进行序列测定, 具有通量高、速度快的优点。随着其成本的不断降低及技术的不断完善, 已被广泛应用于临床及科学研究。提示在临床工作中, 为提高孕妇地中海贫血的检出率, 避免漏诊的发生, 应考虑将有关技术应用到具体临床中。

#### 4 参考文献

1 钟萍, 朱春江. 桂林地区育龄妇女地中海贫血的流行病学调

- 查研究 (J). 中国优生与遗传杂志, 2010, 16 (10): 108-109.
- 2 Musallam KM, Taher AT, Cappellini MD *et al.* Clinical experience with fetal hemoglobin induction therapy in patients with  $\beta$ -thalassemia (J). Blood, 2013, 121 (12): 2199-2212.
- 3 余燕飞. 地中海贫血基因诊断对指导优生优育的价值分析 (J). 中国优生优育, 2013, 19 (4): 281-283.
- 4 吴琦嫦, 周裕林, 江雨, 等. 厦门地区  $\beta$  地中海贫血基因突变类型及产前基因诊断研究 (J). 中国优生与遗传杂志, 2007, 15 (12): 25-26.
- 5 贾冰, 林志芳, 纪新梅. 常用筛查方法在地中海贫血诊断中的临床应用 (J). 检验医学与临床, 2010, 7 (13): 1339-1340.
- 6 阮丽明, 周艳洁, 朱茂灵, 等.  $\alpha\beta$  复合型珠蛋白生成障碍性贫血的基因型及血液学分析 (J). 国际检验医学杂志, 2013, 34 (11): 1462-1464.
- 7 陈红英, 邹艳, 刘春艳.  $\alpha$ -地中海贫血基因诊断和血液学指标分析 (J). 中国优生与遗传杂志, 2014, 22 (1): 21-22.
- 8 沈寅琛. 平均红细胞体积和血红蛋白量在筛查地中海贫血中的价值 (J). 中国优生与遗传杂志, 2011, 19 (1): 62-63.
- 9 李铭臻, 潘干华, 周冰焱, 等.  $\beta$  地中海贫血筛查中 MCV 可靠性的分析 (J). 中国优生与遗传杂志, 2014, 22 (5): 22-23.
- 10 高慧, 罗韬, 胡淑芬, 等. 691 例地中海贫血各基因型检出率与筛查试验分析 (J). 中国优生与遗传杂志, 2011, 19 (12): 33-35.
- 11 杜娟, 覃靖. 16 443 例地中海贫血结果分析与研究 (J). 中国妇幼保健, 2008, 23 (31): 4435-4436.
- 12 Xiong F, Sun M, Zhang X, *et al.* Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China (J). Clin Genet, 2010, 78 (2): 139-148.
- 13 Zhang J, Zhu BS, He J, *et al.* The spectrum of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thalassemia mutations in Yunnan Province of Southwestern China (J). Hemoglobin, 2012, 36 (5): 464-473.
- 14 田文芳, 唐喜军, 易素芬. 广东省珠海地区  $\alpha$ -和  $\beta$ -地中海贫血基因突变类型研究 (J). 检验医学与临床, 2011, 8 (12): 1487-1488.
- 15 Lin M, Wang Q, Zheng L, *et al.* Prevalence and molecular characterization of abnormal hemoglobin in eastern Guangdong of southern China (J). Clin Genet, 2011, 81 (2): 165-171.
- 16 韦柳宏. 分子诊断学在地中海贫血诊断中的应用进展 (J). 海南医学, 2011, 22 (23): 130-132.
- 17 陈永秀, 蒙开喜. 地中海贫血实验室诊断技术进展 (J). 实验与检验医学, 2012, 30 (3): 256-258.

(2015-03-23 收稿)

(编校 薛丽萍)