

保山市育龄人群地中海贫血基因诊断结果分析

李朋¹⁾, 耿琼华²⁾, 樊庆素²⁾, 李学美²⁾, 张杰³⁾, 张子丽²⁾, 吴彩薇²⁾, 胡玉珍²⁾
(1)云南省第三人民医院医学检验科, 云南昆明 650011; 2)保山市隆阳区妇幼保健院遗传生殖科, 云南保山 678000; 3)云南省第一人民医院医学遗传科, 云南昆明 650032)

[摘要] 目的 了解云南省保山市育龄人群地中海贫血基因携带情况。方法 利用高通量测序技术对 874 例样本进行 α -地贫及 β -地贫检测, 统计分析人群分布特征。结果 874 例样本中检出地贫基因阳性样本 251 例, 地贫基因的人群阳性率为 28.72%(251/874); α -地贫基因阳性样本 140 例, 阳性率为 16.02%(140/874), 以基因突变类型 $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ 为主; β -地贫阳性样本 95 例, 阳性率为 10.87%(95/874), 以基因型 CD26 为主; $\alpha\beta$ -复合型地贫基因阳性样本 16 例, 阳性率为 1.83%(16/874); 汉族人群和少数民族人群地贫携带差异性比较差异具有统计学意义($P < 0.01$)。此外另检出 α -珠蛋白基因三联体阳性率为 1.49%(13/874), 以基因型 $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$ 为主。结论 保山市是地贫高发地区, 地中海贫血阳性率较高, 最为常见的突变类型是 $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ 和 CD26。研究对保山地区地贫防控、临床遗传咨询工作提供了一定的理论依据。

[关键词] 地中海贫血; α -珠蛋白基因三联体; 遗传咨询

[中图分类号] R394 [文献标志码] A [文章编号] 2095-610X(2024)09-0030-05

Analysis of Genetic Diagnosis Results for Thalassemia in Childbearing Age Population in Baoshan City

LI Peng¹⁾, GENG Qionghua²⁾, FAN Qingsu²⁾, LI Xuemei²⁾, ZHANG Jie³⁾,
ZHANG Zili²⁾, WU Caiwei²⁾, HU Yuzhen²⁾

(1) Medical Laboratory Department, The Third People's Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650011; 2) Genetics and Reproduction of Maternal and Child Health Care Hospital in Longyang District of Baoshan City, Baoshan Yunnan 678000; 3) Dept. of Medical Genetics, The First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] Objective To investigate the gene-carrying rate of thalassemia in the population of Baoshan. Methods A total of 874 samples were α -thalassemia and β -thalassemia detected by NGS, and the ethnic characteristics of the population were statistically analyzed. Results There were 251 cases of positive thalassemia gene, accounting for 28.72%(251/874). There were 140 α -thalassemia carriers, with a positive rate of 16.02%(140/874). The most common gene mutation type was $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$. There were 95 β -thalassemia carriers, with a positive rate of 10.87%(95/874). The most common gene mutation type was CD26. There were 16 α - and β -thalassemia compound carriers, with a positive rate of 1.83%(16/874); Comparison of the differences between Han and Ethnic populations in thalassemia carry ($P < 0.01$) was statistically significant. There were 13 α -globin gene triplet carriers, with a positive rate of 1.49%(13/874). The most common gene mutation type was $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$. Conclusions Baoshan region population has a high thalassemia carrier frequency. The most common gene

[收稿日期] 2024-03-21

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82160319); 云南省中青年学术与技术带头人(202105AC160034); 云南省应用基础研究基金资助项目(202301AS070007); 云南省教育厅科学研究基金项目资助(2024J0862)。

[作者简介] 李朋(1988~), 男, 黑龙江海伦人, 理学硕士, 主管技师, 主要从事遗传病筛查与诊断的临床研究工作。

[通信作者] 胡玉珍, E-mail: 643814931@qq.com

mutation type was $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ and CD26. This study provides theoretical support for thalassemia prevention and control as well as clinical genetic counseling in the Baoshan region.

[**Key words**] Thalassemia; α -globin gene triple; Genetic counseling

地中海贫血(Thalassemia)简称地贫(Thal),是指因珠蛋白基因突变或缺失引起的一组以珠蛋白生成障碍为特征的血红蛋白病,是最常见的单基因遗传病之一^[1]。地贫主要流行分布在长江流域以南,云南,贵州,广东及广西^[2]。目前,全世界每年超过中间型和重型地贫患儿5万例,给家庭和社会带来了严重的负担^[3]。通过对人群基因携带者的筛查、产前诊断,是目前防治地贫的首选措施。

地贫主要以 α -地贫和 β -地贫最为常见,危害性也最大^[4]。 α -地贫主要是由于 α -珠蛋白基因点突变或基因缺失导致 α -珠蛋白肽链合成减少或缺失而引起的遗传性疾病。 β -地贫主要是由于 β -珠蛋白基因突变或缺失引起 α 和 β 珠蛋白链的比例失衡,导致溶血的遗传性疾病。此外 α -珠蛋白基因三联体是由于16号染色体在减数分裂时的同源配对期间,出现了X、Y、Z同源盒不等交换而导致的^[5],主要分为 $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$ 与 $\alpha\alpha\alpha^{anti4.22}$ 种类型。

传统地贫筛查方法是使用血常规和/或血红蛋白电泳进行初筛检测后,进一步检测采用跨越断裂点PCR(gap-polymerase chain reaction PCR, GAP-PCR)和采用PCR-反向点杂交技术(reverse dot blot PCR, RDB-PCR)来检测常见地贫基因型。高通量测序技术,一次可以将数以百万计的基因序列进行测定,对一个物种的转录和基因组进行详细、全面的分析,具有更高的覆盖率及准确性。

云南省是地贫高发地区,保山市位于云南省西南部,东与大理白族自治州、临沧市接壤,北与怒江傈僳族自治州相连,西与德宏傣族景颇族自治州毗邻,西北、正南同缅甸交界。保山地区地贫流行病学的系统调查还较为缺乏,本研究旨在填补相关保山地区地贫数据,为该地区出生缺陷防控、临床遗传咨询工作提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2022年2月至2023年11月期间在保山市隆阳区妇幼保健院就诊,自愿进行地贫基因诊断的18~45岁育龄人群874例,签署知情同意书,统

计民族、地区等信息。采用高通量测序技术对样本进行地贫基因检测。纳入标准:(1)18岁至45岁,主动进行地贫基因诊断的优生优育就诊的育龄人群;(2)民族、性别、年龄等信息明确。排除标准:(1)年龄、民族信息不全者;(2)样本间存在血缘关系。本研究通过云南省第三人民医院伦理委员会审批(2023KY185)。

1.2 研究方法

采集外周血EDTA-K2抗凝3 mL,提取DNA后,对提取的DNA进行浓度测定。设计地贫相关基因引物对DNA进行PCR扩增,扩增产物用于文库构建,构建好文库后用高通量测序技术对样本进行基因测序^[6],得出基因突变类型构成比(%)=(某种基因突变型例数/地贫基因突变总例数) $\times 100\%$,少数民族基因突变类型构成比(%)=(某个少数民族阳性例数/少数民族突变总数)。

1.3 统计学处理

采用Excel对样本信息,实验数据进行录入,利用SPSS20.0软件对地贫携带情况,民族携带情况等数据进行分析。计数资料用%表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 地贫检测结果

本研究的对象是来医院就诊的18~45岁优生优育的育龄人群,共计874例样本(45%为男性,55%为女性),其中248例为少数民族,包含傣族、白族、彝族等19种少数民族人群。在874例育龄人群样本中,检出地贫基因阳性样本251例,地贫基因的人群阳性率为28.72%(251/874)。其中 α -地贫基因阳性样本140例, β -地贫阳性样本95例, $\alpha\beta$ -复合型地贫基因阳性样本16例。

2.1.1 α -地贫检测结果 α -地贫基因阳性样本140例, α -地贫基因突变阳性率为16.02%(140/874),占检出地贫基因阳性样本的55.78%(140/251),检出13种基因突变类型,突变基因型中以 $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ 为主,构成比为70.71%(99/140),其次为 $\alpha\alpha/--^{SEA}$ 构成比10.00%(14/140)、 $\alpha\alpha/\alpha^{CS}$ 构成比7.14%(10/140)。罕见突变类型1例,HBA1:c.293A>G,见表1。

表1 α -地贫的基因突变类型Tab. 1 Types of gene mutations in α -Thalassemia

基因型	<i>n</i>	构成比(%)
$\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$	99	70.71
$\alpha\alpha/-_{SEA}$	14	10.00
$\alpha\alpha/\alpha^{CS}\alpha$	10	7.14
$-\alpha^{3.7}/_{SEA}$	4	2.86
$\alpha\alpha/\alpha^{4.2}$	4	2.86
$\alpha^{HK}\alpha/\alpha\alpha$	2	0.43
$-\alpha/\alpha^{3.7}$	1	0.71
$-\alpha^{3.7}/\alpha^{CS}\alpha$	1	0.71
$-\alpha^{3.7}/-_{SEA}$	1	0.71
$-\alpha^{3.7}/\alpha^{3.7}$	1	0.71
$\alpha\alpha/\alpha^{QS}\alpha(HBA2:c.377T>C)$	1	0.71
Hb Hekinan II(HBA1:c.84G>T)	1	0.71
HBA1:c.293A>G	1	0.71
	140	100

2.1.2 β -地贫检测结果 β -地贫基因阳性样本95例, β -地贫基因的人群阳性率为10.87%(95/874), 占检出地贫基因阳性样本的37.85%(95/251), 其中检出15种基因突变类型, 突变基因型以CD26为主, 构成比为80%(76/95)。其次为CD17占3.16%(3/95), CD41-42占3.16%(3/95), 见表2。

表2 β -地贫的基因突变类型Tab. 2 Types of gene mutations in β -Thalassemia

基因型	<i>n</i>	构成比(%)
CD26(HBB:c.79G>A)	76	80
CD17(HBB:c.52A>T)	3	3.16
CD41-42(HBB:c.126_129delCTTT)	3	3.16
IVS-II-654(HBB:c.316-197C>T)	2	2.11
3' UTR+132(HBB:c.132C>T)	1	1.05
CD8/9(HBB:c.27dupG)	1	1.05
CD71-72(HBB:c.217dupA)	1	1.05
3' UTR+129(HBB:c.129T>A)	1	1.05
Hb G-Copenhagen(HBB:c.142G>A)	1	1.05
Hb New York(HBB:c.341T>A)	1	1.05
IVS-II-5(HBB:c.315+5G>C)	1	1.05
Hb Dhonburi(HBB:c.380T>G)	1	1.05
Hb Glibbon(HBB:c.373C>A)	1	1.05
$\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$ 合并CD26	1	1.05
$\alpha\alpha\alpha^{anti4.2}$ 合并CD26	1	1.05
	95	100

2.1.3 $\alpha\beta$ -复合型地贫检测结果 $\alpha\beta$ -复合型地贫基因阳性样本16例, $\alpha\beta$ -复合型地贫基因人

群阳性率为1.83%(16/874), 占检出地贫基因阳性样本的6.37%(16/251), 其中检出4种基因突变类型, 突变基因型以 $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ 合并CD26 12例为主, 构成比为75.00%(12/16), 其次 $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ 复合CD17 2例12.50%(2/16), $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ 复合Hb SanBruno 1例6.25%(1/16), $-\alpha^{3.7}/\alpha^{3.7}$ 复合CD26 1例6.25%(1/16)。

2.2 α -珠蛋白三联体检测结果

α -珠蛋白基因三联体阳性样本13例, 携带率为1.49%(13/874), 以 $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$ 携带为主, 阳性率为1.03%(9/874), 构成比为69.23%(9/13); 其次为 $\alpha\alpha\alpha^{anti4.2}$, 阳性率为0.46%(4/874), 构成比为30.77%(4/13)。

2.3 少数民族地贫检测结果

在874例样本中, 626例为汉族, 汉族阳性样本为153例, 阳性率为17.51%(153/874)。248例为少数民族, 少数民族地贫阳性样本98例, 阳性率为11.21%(98/874)。汉族人群和少数民族人群地贫携带差异性比较($P < 0.01$), 差异具有统计学意义。其中傣族阳性样本最多为31例, 阳性率为65.96%(31/47), 其次白族21例, 阳性率为36.84%(21/57), 彝族16例, 阳性率为33.33%(16/48), 傈僳族9例, 阳性率为21.43%(9/42), 景颇族6例, 阳性率为50%(6/12), 见表3。

3 讨论

地中海贫血是云南省地区危害较重的地方病, 西双版纳州地贫阳性率49.5%^[6], 文山州地贫阳性率为40.84%^[7]。在国内其他地区地贫阳性率情况如下: 四川省地贫阳性率38.71%^[8], 广西省地贫阳性率24.51%^[9], 广东省地贫阳性率11.07%^[10], 贵州省地贫阳性率7.57%^[11]。国际上相邻地区地贫阳性率情况如下: 缅甸地贫阳性率15.6%^[12], 老挝地贫阳性率35%^[13] 云南省保山市的地贫基因阳性率28.72%, 在保山周边几个地区医院就诊人群地贫阳性率情况如下: 大理州地贫阳性率19.93%^[14], 临沧市地贫阳性率10.97%^[15], 怒江州地贫阳性率26.30%^[15], 德宏州地贫阳性率54.15%^[16]。

α -地贫基因阳性样本140例, α -地贫基因突变阳性率为16.02%, 突变基因型中以 $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ 为最常见突变类型与昆明地区前期报导的常见突变类型一致^[17]。 β -地贫基因阳性样本95例, β -地贫基因突变阳性率为10.87%, 突变基因型以

表3 少数民族地贫阳性携带情况

Tab.3 Positive carrying of Thalassemia among ethnic minorities

少数民族	阳性人数(n)	人数(n)	阳性率(%)	构成比(%)
傣族	31	47	65.96	31.63
白族	21	57	36.84	21.43
彝族	16	48	33.33	16.33
傈僳族	9	42	21.43	9.18
景颇族	6	12	50	6.12
阿昌族	3	5	/	3.06
苗族	3	8	/	3.06
布依族	2	3	/	2.04
德昂族	2	4	/	2.04
满族	2	2	/	2.04
回族	1	4	/	1.02
水族	1	1	/	1.02
佤族	1	3	/	1.02
怒族	0	3	/	0
布朗族	0	3	/	0
纳西族	0	2	/	0
哈尼族	0	2	/	0
瑶族	0	1	/	0
壮族	0	1	/	0
总计	98	248	39.52	100

注: /少数民族5个阳性样本以内的不计算阳性率。

CD26 为主, 与在滇西南携带情况一致, 在滇东、滇北是以 CD17, CD41-42 为主。保山地区的地贫突变类型与以傣族为主的少数民族地区滇西南德宏相同, 但与滇南的傣族聚集地西双版纳地区不同, 西双版纳地区 α -地贫突变类型以 $\alpha\alpha^{SEA}$ 为主, β -地贫突变类型以 CD41-42 为主^[10], 提示地贫基因突变类型具有明显的地域差异。保山地区人群 α -地贫阳性率高于 β -地贫阳性率, 这与前期研究报导相符^[18]。

α -珠蛋白基因三联体阳性样本 13 例, 阳性率为 1.49%, 以 $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$ 携带为主, $\alpha\alpha\alpha^{anti4.2}$ 携带次之。相邻省份贵州省 0.94%^[19], 以 $\alpha\alpha\alpha^{anti4.2}$ 携带为主。携带情况高于贵州, 并且携带具有差异性, 说明具有一定的区域异质性。在我国其他省份携带阳性情况如下: 广东省为 1.99%^[20], 广西地区为 0.68%^[21], 在国外, 伊朗地区 1.39%^[22], 印度地区携带率为 1.1%^[23]。

由于 α -珠蛋白基因三联体携带者通常无症状^[24], 不属于地贫, 在本研究中也未统计入地贫携带率中; 然而, 当 α -珠蛋白基因三联体合并 β -地贫时, 可导致中间型 β -地贫, 其临床表现

可出现从轻度至中度甚至重度贫血^[25]。研究报导中意大利 16 例中间型 β -地贫中有 10 例为 β -地贫合并 α -珠蛋白基因三联体^[26], 斯里兰卡 2% 的 β -地贫患者会合并 α -珠蛋白基因三联体^[27]。本次研究中有两例 α -珠蛋白基因三联体合并 β -地贫样本, 但其临床表现仅为轻度贫血。云南省 α -珠蛋白基因三联体报导相对较少, 本研究补充了 α -珠蛋白基因三联体的相关数据, 以供相关研究参考。

云南省保山市少数民族众多, 在 874 例样本中, 248 例为少数民族, 少数民族地贫阳性样本 98 例, 阳性率为 11.21%(98/874)。汉族人群和少数民族人群地贫携带差异性比较($P < 0.01$), 差异具有统计学意义。其中傣族阳性样本最多 31 例, 阳性率为 65.96%, 其次白族 21 例, 阳性率为 36.84%, 彝族 16 例, 阳性率为 33.33%。其他研究也提示了傣族人群地贫阳性率较高^[6]。

本研究结果显示地贫基因阳性率为 28.72%, 基因突变类型种类多样, 提示保山地区为地贫的高发地区之一。地贫可防可控难治, 应重视对保山地区育龄人群的地贫筛查和基因诊断以及提供遗传咨询, 减少或避免中重度地贫患儿的出生。

[参考文献]

- [1] Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators[J]. Bull World Health Organ, 2008, 86(6): 480-487.
- [2] 麦凤鸣, 颜双鲤. 地中海贫血筛查指标的分析评价 [J]. 中华全科医学, 2013, 11(03): 350+387.
- [3] 黄林环, 王子莲. 地中海贫血的筛查 [J]. 实用妇产科杂志, 2023, 39(02): 87-90.
- [4] Rosatelli C, Falchi A, Scalas M, et al. Hematological phenotype of the double heterozygous state for alpha and beta thalassemia[J]. Hemoglobin., 1984, 8(1): 25-35.
- [5] Luo X, Zhang X M, Wu L S, et al. Prevalence and clinical phenotype of the triplicated α -globin genes and its ethnic and geographical distribution in Guizhou of China[J]. BMC Med Genomics., 2021, 14(1): 97.
- [6] He J, Song W H, Yang J L, et al. Next-generation sequencing improves thalassemia carrier screening among premarital adults in a high prevalence population: The Dai ethnic group, China[J]. Genetics in Medicine, 2017, 19(9): 1022-1031.

- [7] 江涛, 吴波丹, 黄丹, 等. 云南省文山壮族苗族自治州地中海贫血筛查及基因诊断结果分析 [J]. 昆明理工大学学报(自然科学版), 2023, 48(5): 162-167.
- [8] Xu X M, Zhou Y Q, Luo G X, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province: Implications for the future health burden and population screening [J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(5): 517-522.
- [9] 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.
- [10] 王智慧, 吴洁丽, 白文静, 等. 孕妇地中海贫血遗传性耳聋及脊髓性肌萎缩症三联筛查在出生缺陷预防中的作用 [J]. 中国妇幼保健, 2024, 39(4): 734-739.
- [11] 王芳, 张汝益, 邓东阳, 等. 贵阳地区地中海贫血基因突变类型及民族分布特点分析 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2021, 29(6): 1887-1891.
- [12] Bancone G, Gilder Me, Chowwowat N, et al. Prevalences of inherited red blood cell disorders in pregnant women of different ethnicities living along the Thailand-Myanmar border [J]. *Wellcome Open Res*, 2017, 2: 72.
- [13] Williams T N, Weatheralli D J. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies [J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2012, 2(9): 1485-1495.
- [14] 杨锡彤, 杨宗梅, 马蓉, 等. 云南省大理白族自治州地中海贫血基因诊断结果分析 [J]. 中国全科医学, 2019, 22(35): 4342-4345.
- [15] 姚莉琴, 邹团标, 刘锦桃, 等. 云南省 15 个特有少数民族 7 岁以下儿童地中海贫血的调查研究 [J]. *中华妇幼临床医学杂志(电子版)*, 2013, 9(3): 337-343.
- [16] 滕聪聪, 徐咏梅, 唐树萍, 等. 云南省德宏州傣族育龄人群地中海贫血流行病学调查 [J]. 基础医学与临床, 2022, 42(10): 1504-1508.
- [17] 唐健, 吕梦欣, 何建萍, 等. 昆明地区 5284 例孕妇地中海贫血基因检测分析 [J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(7): 80-84.
- [18] 朱宝生, 贺静, 张杰, 等. 云南省地中海贫血基因携带者及患者 α 和 β 珠蛋白基因突变谱与产前基因诊断 [J]. *中华妇产科杂志*, 2012, 47(2): 85-89.
- [19] 杨宇航. 基于高通量测序技术的贵州省地中海贫血分子流行病学特征分析 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2019.
- [20] 魏小凤, 徐湘民, 郭晓玲等. 广东人群中 α 珠蛋白基因多拷贝频率分布研究 [J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(10): 1376-1380.
- [21] Long J, Liu E. The carriage rates of $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$, $\alpha\alpha\alpha^{anti4.2}$, and HK $\alpha\alpha$ in the population of Guangxi, China measured using a rapid detection qPCR system to determine CNV in the α -globin gene cluster [J]. *Gene*, 2021, 768: 145296.
- [22] Hamid M, Keikhaei B, Galehdari H, et al. Alpha-globin gene triplication and its effect in beta-thalassemia carrier, sickle cell trait, and healthy individual [J]. *EJHaem*, 2021, 2(3): 366-374.
- [23] Nadkarni A, Phanasgaonkar S, Colah R, et al. Prevalence and molecular characterization of alpha-thalassemia syndromes among Indians [J]. *Genet Test*, 2008, 12(2): 177-180.
- [24] Zhuang J, Jiang Y, Wang Y, et al. Molecular analysis of α -thalassemia and β -thalassemia in Quanzhou region Southeast China [J]. *J Clin Pathol*, 2020, 73(5): 278-282.
- [25] Quek L, Theins L. Molecular therapies in beta-thalassaemia [J]. *Br J Haematol*, 2007, 136(3): 353-365.
- [26] Camaschella C, Mazza U, Roetto A, et al. Genetic interactions in thalassemia intermedia: analysis of beta-mutations, alpha-genotype, gamma-promoters, and beta-LCR hypersensitive sites 2 and 4 in Italian patients [J]. *Am J Hematol*, 1995, 48(2): 82-87.
- [27] Premawardhena A, Fisher C A, Olivieri N F, et al. A novel molecular basis for beta thalassemia intermedia poses new questions about its pathophysiology [J]. *Blood*, 2005, 106(9): 3251-3255.