

昆明市育龄人群地中海贫血基因检测结果分析

李彬, 谢敏, 孔艳, 田梦

昆明安琪儿妇产医院妇产科, 云南 昆明

收稿日期: 2023年3月8日; 录用日期: 2023年4月29日; 发布日期: 2023年5月8日

摘要

目的: 研究昆明市育龄人群地中海贫血基因携带率、基因突变类型等遗传学特征。方法: 应用高通量测序技术对在本院就诊的育龄妇女及其配偶进行地中海贫血基因检测。结果: 在7254例受检者中, 共检出阳性515例, 阳性率为7.1%。其中, α -地贫携带者检出333例(64.7%), 人群携带率为4.6%; β -地贫携带者检出119例(23.1%), 人群携带率为1.64%; α -地贫复合 β -地贫检出23例(4.5%), 异常血红蛋白变异类型检出20例(3.9%), 其他变异类型检出20例(3.9%)。结论: α -地贫基因以 $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 缺失型为主, 共检出177例; β -地贫基因以Hb E beta+杂合突变为主, 共检出41例。通过高通量测序技术, 检出罕见 α -地贫变异类型72例, 罕见 β -地贫变异类型12例。结论: 昆明地区地中海贫血基因突变类型多样, 通过高通量测序技术能够有助于检测出较为罕见的基因突变类型, 丰富当地的地中海贫血基因数据库, 对地中海贫血的预防和控制具有积极作用。

关键词

地中海贫血, 昆明, 基因突变, 基因携带率

Analysis of Gene Test Results of Thalassemia in Reproductive Age Population in Kunming

Bin Li, Min Xie, Yan Kong, Meng Tian

Department of Obstetrics & Gynaecology, Kunming Angel Women's & Children's Hospital, Kunming Yunnan

Received: Mar. 8th, 2023; accepted: Apr. 29th, 2023; published: May 8th, 2023

Abstract

Objective: To analyze the genetic characteristics of the gene carrying rate and gene mutation type of thalassemia in reproductive age population in Kunming. **Methods:** High-throughput sequencing technology was used to detect thalassemia genes in women of reproductive age and their spouses

in this hospital. Results: Among 7254 cases, 515 cases were detected positive, the positive rate was 7.1%. Among them, 333 cases were classified as α -thalassemia (64.7%), and the carrying rate was 4.6%. 119 cases were β -thalassemia (23.1%), and the carrying rate was 1.64%. There were 23 cases (4.5%) of α -thalassemia complex β -thalassemia, 20 cases (3.9%) of abnormal hemoglobin variants, and 20 cases (3.9%) of other variants. α -thalassemia genes were mainly $-\alpha 3.7/\alpha\alpha$ -deletion genes, and 177 cases were detected. Hb E beta+ heterozygous mutation was dominant in β -thalassemia gene, and 41 cases were detected. 72 cases of rare alpha-thalassemia variant and 12 cases of rare β -thalassemia variant were detected by high-throughput sequencing technology. Conclusions: There are various types of thalassemia gene mutations in Kunming area. High-throughput sequencing technology can detect rarer gene mutation types and enrich the local thalassemia gene database, which plays a positive role in the prevention and control of thalassemia.

Keywords

Thalassemia, Kunming, Gene Mutation, Gene Carrying Rate

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

地中海贫血(Thalassemia, 简称地贫)是一类由珠蛋白基因缺陷(缺失、突变)导致的遗传性溶血性疾病, 是全球分布最广、受累人群最多的一种单基因遗传病。我国长江以南的广东[1]、广西[2]、贵州[3]和云南[4]等省是地中海贫血的高发地区。据调查, 我国约有地贫基因携带者 3000 余万人[5]。地中海贫血为常染色体隐性遗传病, 如果夫妻双方是同型的地贫基因携带者, 则生育重型地贫患儿的风险增加[6]。此外, 地贫基因携带者往往有不同程度的贫血症状, 妊娠可加重贫血的程度, 甚至会导致一系列与贫血相关的产科并发症[7]。因此, 提高公众对地中海贫血疾病的认知和开展育龄人群的地贫基因筛查是地中海贫血防控的重要措施。

本研究旨在通过高通量测序技术对昆明地区育龄人群进行地中海贫血基因携带情况的调查分析, 为育龄人群地中海贫血的诊断、遗传咨询以及产前诊断提供理论依据和指导。

2. 材料与方法

2.1. 研究对象

选取 2020 年 1 月至 2022 年 11 月在我院就诊的育龄妇女及其配偶共 7254 例为研究对象, 其中男性 3589 例, 女性 3665 例。受检者均无血缘关系, 近半年内无输血史。经门诊医生充分宣教后, 所有受检者均签署知情同意书。本研究受到昆明安琪儿妇产医院医学伦理委员会的监督(伦理批准号为: ANGGYY 2019120305)。

2.2. 方法

2.2.1. 样本采集

用 EDTA 抗凝管采集受检者外周血 3 ml 送检。

2.2.2. 基因检测 and 数据分析

采用 Gap-PCR 结合高通量测序技术对样本进行 α -及 β -珠蛋白基因检测。外周血样本经磁珠法提取和

纯化基因组 DNA、DNA 片段化、PCR 扩增、末端修复、连接文库接头、文库定量等步骤，最后进行高通量测序。测序数据结合生物信息学分析软件进行自动化分析。检测范围包括 4 种 α -地中海贫血缺失型(--SEA、- α 3.7、- α 4.2、--THAI)、3 种 β -地中海贫血缺失型(Chinese Ggamma (Agammadeltabeta) 0、SEA-HPFH、台湾型)、超过 153 种 α -地中海贫血突变型以及超过 348 种 β -地中海贫血突变型。

3. 结果

在送检的 7254 例样本中，共检出地中海贫血基因携带者 515 例，携带率为 7.1% (515/7254)。其中， α -地贫携带者检出 333 例(64.7%)，人群携带率为 4.6%； β -地贫携带者检出 119 例(23.1%)，人群携带率为 1.64%； α -地贫复合 β -地贫检出 23 例(4.5%)，异常血红蛋白变异类型检出 20 例(3.9%)，其他变异类型检出 20 例(3.9%)。

3.1. α -地中海贫血基因类型

在 333 例 α -地中海贫血阳性样本中，检出缺失型 4 种，非缺失型 8 种，其中 $\alpha\alpha$ /- α 3.7 基因型最为常见，为 177 例(53.15%)，见表 1。

Table 1. The mutation types and constituent ratio of α -thalassemia gene
表 1. α -地中海贫血基因突变类型及构成比

基因型	例数(n)	携带率(%)	构成比(%)
$\alpha\alpha$ /- α 3.7	177	2.44%	53.15%
$\alpha\alpha$ /--SEA	47	0.65%	14.11%
$\alpha\alpha$ /- α 4.2	13	0.18%	3.90%
- α 3.7/- α 3.7	4	0.06%	1.20%
Hb Constant Spring 杂合	12	0.17%	3.60%
Hb Westmead 杂合	4	0.06%	1.20%
Hb Quong Sze 杂合	4	0.06%	1.20%
IVS I-1 AGGT > AGAT donor 杂合	4	0.06%	1.20%
Hb Phnom Penh 杂合	2	0.03%	0.60%
IVS-I-38 (C > T)杂合	1	0.01%	0.30%
α 珠蛋白三联体 $\alpha\alpha\alpha$ anti3.7	32	0.44%	9.61%
α 珠蛋白三联体 $\alpha\alpha\alpha$ anti4.2	33	0.45%	9.91%
合计	333	4.59%	100.00%

3.2. β -地中海贫血基因类型

在 119 例 β -地中海贫血阳性样本中，共检出 16 种基因变异类型，包括 14 种突变型和 2 种缺失型，见表 2。

3.3. α -复合 β -地中海贫血基因类型

检出 23 例 α -复合 β -地贫携带者。其中， $\alpha\alpha$ /- α 3.7 复合 Codons 41/42 (-TTCT) beta0 杂合子 7 例； $\alpha\alpha$ /- α 3.7 复合 Hb E beta+杂合 3 例； $\alpha\alpha$ /--SEA 复合 Codon 17 (A > T) beta0 杂合子 2 例； $\alpha\alpha$ /--SEA 复合 Codons 41/42

(-TTCT) beta0 杂合子 2 例; Hb Constant Spring 复合 Codon 17 (A > T) beta0 杂合子 2 例; Hb E beta+杂合复合 α 珠蛋白三联体 *aaaanti3.7* 杂合子 2 例; Hb Westmead 复合 Hb E beta+杂合子 1 例; Codons 41/42 (-TTCT) beta0

Table 2. The mutation types and constituent ratio of β -thalassemia gene
表 2. β -地中海贫血基因突变类型及构成比

基因型	例数(n)	携带率(%)	构成比(%)
Hb E beta+杂合	41	0.57%	34.45%
Codons 41/42 (-TTCT) beta0 杂合	27	0.37%	22.69%
Codon 17 (A > T) beta0 杂合	18	0.25%	15.13%
IVS-II-654 (C > T) beta+杂合	14	0.19%	11.76%
IVS-II-63 (T > C) beta (0 or + unclear)杂合	4	0.06%	3.36%
-29 (A > G) beta+杂合	2	0.03%	1.68%
Codons 27/28 (+C) beta0 杂合	2	0.03%	1.68%
Codons 71/72 (+A) beta0 杂合	2	0.03%	1.68%
IVS-II-726 (A > G) beta+杂合	2	0.03%	1.68%
-102 (C > A) beta+杂合	1	0.01%	0.84%
-28 (A > G) beta+杂合	1	0.01%	0.84%
3'UTR + 129 (T > A) beta++杂合	1	0.01%	0.84%
5'UTR + 43 to + 40 (-AAAC) beta+杂合	1	0.01%	0.84%
IVS-I-13 (G > T) beta (0 or + unclear)杂合	1	0.01%	0.84%
中国型 $G\gamma + (A\gamma\delta\beta)$ 0 缺失杂合	1	0.01%	0.84%
台湾型缺失杂合	1	0.01%	0.84%
合计	119	1.64%	100.00%

复合 α 珠蛋白三联体 *aaaanti4.2* 杂合子 1 例; $\alpha\alpha$ - α 3.7 复合 Codon 17 (A > T) beta0 杂合子 1 例; $\alpha\alpha$ - α 3.7 复合 α 珠蛋白三联体 *aaaanti3.7* 杂合子 1 例; Hb E beta+复合 α 珠蛋白三联体 *aaaanti3.7* 杂合子 1 例。

3.4. 异常血红蛋白

检出 20 例异常血红蛋白变异携带者, 涉及 16 种基因变异类型, 包括 Hb Beijing (HBA2:c.51G > T) 杂合, Hb Bushey (HBB:c.367T > C)杂合, Hb G-Coushatta (HBB:c.68A > C)杂合, Hb Groene Hart (α 1)杂合, Hb G-Taipei (β)杂合, Hb Hekinan II (α 1)杂合, Hb I (α 1)杂合, Hb Izmir (β)杂合, Hb J-Wenchang-Wuming (HBA1:c.34A > C)杂合, Hb Kempton (HBA1:c.110T > A)杂合, Hb Nanchang (HBA2:c.46G > A)杂合, Hb New York (HBB:c.341T > A)杂合, Hb New York (β)杂合, Hb Owari (α 1)杂合, Hb San Bruno (β)杂合, Hb Gibbon (β)杂合。

3.5. 额外检出的其他变异类型

检出 20 例 HBA1、HBA2 和 HBB 基因的新发变异, 其致病性目前尚不清楚。

4. 讨论

地中海贫血是我国南方地区最常见的单基因遗传病之一。地贫基因携带者往往有不同程度的贫血症

状, 女性携带者孕期可能加重贫血的程度, 甚至发生与贫血相关的产科并发症, 危害母亲健康, 同时由于孕妇血液中血红蛋白浓度降低, 可能导致胎儿宫内生长受限甚至死胎。若夫妻双方均为同型地贫基因携带者, 则可能生育重型地贫患儿。重型 α 地贫, 常在宫内死亡或分娩后半小时内死亡; 重型 β 地贫患儿多在出生后 3~6 个月发病, 需终生输血治疗, 给社会和患病家庭带来深重的负担[8] [9]。因此, 对育龄人群进行地中海贫血的筛查和诊断是保障母婴健康、改善围产儿结局的关键措施。

目前普遍采用的地贫基因检测技术包括跨越断裂位点 PCR (Gap-PCR)、基因芯片等, 检测范围存在局限性, 检出率低。随着测序技术的快速发展以及检测成本的不断下降, 高通量测序技术在地中海贫血的筛查和诊断方面得到了越来越广泛的应用。高通量测序技术成本可控, 检测周期短, 覆盖位点全面, 可对地贫基因序列的所有变异位点进行检测, 因此不仅能够检出常见地贫基因, 而且在新发变异和罕见变异检测方面有很大优势[10] [11] [12] [13]。

本研究共检测出罕见变异类型 84 例, 占地贫阳性样本的 16.3%, 共涉及 15 种型别, 其中 4 例 IVS-I-1 (AGGT > AGAT) donor 杂合, 1 例 IVS-I-38 (C > T) 杂合, 2 例 Hb Phnom Penh 杂合, 32 例 α 珠蛋白三联体 $\alpha\alpha\alpha\text{anti}3.7$, 33 例 α 珠蛋白三联体 $\alpha\alpha\alpha\text{anti}4.2$, 1 例中国型 $G\gamma + (A\gamma\delta\beta)$ 0 缺失杂合, 1 例台湾型缺失杂合, 1 例-102 (C > A) beta+杂合, 1 例-88 (C > T) beta+杂合, 1 例 3'UTR +129 (T > A) beta++杂合, 1 例 IVS-I-13 (G > T) beta (0 or + unclear)杂合, 4 例 VS-II-63 (T > C) beta (0 or + unclear)杂合, 2 例 IVS-II-726 (A > G) beta+杂合。本研究检出的 α -珠蛋白三联体为 65 例, 占 0.89%。大部分观点认为, α -珠蛋白基因拷贝数增加使 α -珠蛋白肽链和 β -珠蛋白肽链之间的比例不平衡, 因此大多数 β -地贫变异复合 α -珠蛋白三联体的患者表型为中重度贫血。但也有报道证明, β -地贫变异复合 α -珠蛋白三联体携带者没有出现贫血迹象。2021 年伊朗一项研究, 在 67 名 β -地贫变异复合 α -珠蛋白三联体的患者中, 只有 4 名的血红蛋白低于 90 g/L, 且没有需要定期输血的患者[14]。因此, 对 β -地贫变异复合 α -珠蛋白三联体如何进行遗传咨询具有很大的挑战。

本研究采用 Gap-PCR 结合高通量测序技术对昆明地区育龄人群进行地中海贫血基因的检测。研究表明, 昆明地区育龄人群地贫基因携带率较高, 变异类型丰富, 通过高通量测序发现了较多的罕见变异类型, 对丰富本地地贫基因数据库以及地中海贫血的精准防控具有重要意义。

参考文献

- [1] Li, B., Zhang, X.Z., Yin, A.H., *et al.* (2014) High Prevalence of Thalassemia in Migrant Populations in Guangdong Province, China. *BMC Public Health*, **14**, Article No. 905. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-14-905>
- [2] He, S., Qin, Q., Yi, S., *et al.* (2017) Prevalence and Genetic Analysis of α - and β -Thalassemia in Baise Region, a Multi-Ethnic Region in Southern China. *Gene*, **619**, 71-75. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.02.014>
- [3] Huang, S.W., Xu, Y., Liu, X.M., *et al.* (2015) The Prevalence and Spectrum of α -Thalassemia in Guizhou Province of South China. *Hemoglobin*, **39**, 260-263. <https://doi.org/10.3109/03630269.2015.1041037>
- [4] 贺静, 曾小红, 徐咏梅, 等. 中国云南汉族和傣族育龄人群的地中海贫血基因分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(1): 150-156.
- [5] 北京天使妈妈慈善基金会, 北京师范大学中国公益研究院. 中国地中海贫血蓝皮书: 中国地中海贫血防治状况调查报告(2020) [M]. 北京: 中国社会科学出版社, 2021.
- [6] Xu, G.D., Wang, C.F., Wang, J.L., *et al.* (2022) Prevalence and Molecular Characterization of Common Thalassemia among People of Reproductive Age in the Border Area of Guangxi-Yunnan-Guizhou Province in Southwestern China. *Hematology*, **27**, 672-683. <https://doi.org/10.1080/16078454.2022.2080427>
- [7] 中华医学会围产医学分会, 中华医学会妇产科学分会产科学组. 地中海贫血妊娠期管理专家共识[J]. 中华围产医学杂志, 2020, 23(9): 577-584.
- [8] Musallam, K.M., Rivella, S., Vichinsky, E. and Rachmilewitz, E.A. (2013) Non-Transfusion-Dependent Thalassemias. *Haematologica*, **98**, 833-844. <https://doi.org/10.3324/haematol.2012.066845>
- [9] Xuan, S. and Xu, X. (2017) Update in the Genetics of Thalassemia: What Clinicians Need to Know. *Best Practice &*

-
- Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, **39**, 3-15. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.10.012>
- [10] Shang, X., Peng, Z., Ye, Y.H., *et al.* (2017) Rapid Targeted Next-Generation Sequencing Platform for Molecular Screening and Clinical Genotyping in Subjects with Hemoglobinopathies. *eBioMedicine*, **23**, 150-159. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.08.015>
- [11] He, J., Song, W., Yang, J., *et al.* (2017) Next-Generation Sequencing Improves Thalassemia Carrier Screening among Premarital Adults in a High Prevalence Population: The Dai Nationality, China. *Genetics in Medicine*, **19**, 1022-1031. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.218>
- [12] Zhao, J.H., Li, J., Lai, Q.H. and Yu, Y.P. (2020) Combined Use of Gap-PCR and Next-Generation Sequencing Improves Thalassemia Carrier Screening among Premarital Adults in China. *Journal of Clinical Pathology*, **73**, 488-492. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2019-206339>
- [13] 王珂, 党瑜慧, 李芝兰, 等. 高通量测序技术筛检地中海贫血的临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(4): 1220-1226.
- [14] Hamid, M., Keikhaei, B., Galehdari, H., Saberi, A., Sedaghat, A., Shariati, G. and Mohammadi-Anaei, M. (2021) Alpha-Globin Gene Triplication and Its Effect in Beta-Thalassemia Carrier, Sick Cell Trait, and Healthy Individual. *eJHaem*, **2**, 366-374. <https://doi.org/10.1002/jha2.262>