

• 临床论著 •

云南省德宏地区 154 例地中海贫血的基因型研究

葛世军 禹崇飞 杨必清 易薇 黄铠 刘红仙 黄小琴 褚嘉 杨昭庆

【摘要】 目的 鉴定云南德宏地区地中海贫血病例中的基因突变类型和基因型,从而深入阐明该病的临床表型异质性和分子病理机制。方法 采用多重缺口 PCR 技术检测常见的 α 珠蛋白基因缺失型突变,采用 DNA 序列测定检测 β 珠蛋白基因(HBB)中的基因突变和核苷酸变异,对 154 例云南省德宏地区的地中海贫血进行基因突变检测和基因型分析。结果 154 例中有 82 例呈现 α 地中海贫血表型,其中 71 例(86.59%)检测出 $-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 三种常见 α 地中海贫血基因突变,构成 5 种基因型, $-\alpha^{3.7}$ 突变等位基因所占比例最高。有 72 例为 β 地中海贫血表型,其中 68 例(94.44%)检测出-28、CD17、CD26(HbE)、CD41-42、CD71-72、IVS-1-5、IVS-II-654 共 7 种 β 地中海贫血基因突变,在患者中构成 9 种 β 突变基因型;HbE 突变等位基因最为多见并与其他 β 地中海贫血突变成 HbE/ β^0 地中海贫血基因型。在 20 例 β 地中海贫血患者中检测到 α 地中海贫血基因突变,构成 10 种 $\alpha\beta$ 地中海贫血基因型。在 β 地中海贫血中还检测到 rs713040、rs10768683 和 rs1609812 共 3 个 HBB 基因内的 SNP 位点。结论 云南德宏地区的地中海贫血具有明显的遗传异质性,不同基因突变类型的共存和相互作用可能是影响临床表现的主要因素,高的 $-\alpha^{3.7}$ 和 HbE 突变等位基因频率是该地区地中海贫血基因型分布的显著特点。

【关键词】 地中海贫血; 突变; 基因型; 血红蛋白 E; 多态性, 单核苷酸

The genotypes of 154 patients with thalassemia in Dehong prefecture of Yunnan province Ge Shijun*, Yu Chongfei, Yang Biqing, Yi Wei, Huang Kai, Liu Hongxian, Huang Xiaoqin, Chu Jiayou, Yang Zhaoqing. *Clinical Laboratory, People's Hospital of Dehong Prefecture, Mangshi 678400, China
Corresponding author: Yang Zhaoqing, Email: zyang@imbcams.com.cn

【Abstract】 Objective To identify gene mutations and genotypes in patients with thalassemia in Dehong Dai and Jingpo autonomous prefecture of Yunnan province, thereby to further elucidate the molecular characterization of the clinical heterogeneity and pathological mechanism of thalassemia in the region. **Methods** The gene mutations and genotypes in 154 of cases with thalassemia in Dehong prefecture of Yunnan province, were identified by using multiple Gap-PCR for detecting the common alpha globin gene deletions, and using DNA sequencing for identifying beta globin gene mutations and DNA variants. **Results** In the 154 cases, 82 cases had alpha thalassemia hematological phenotype, in which the common alpha thalassemia mutation $-\text{SEA}$, $-\alpha^{3.7}$ and $-\alpha^{4.2}$ were detected in 71 cases (86.59%) and formed 5 genotypes. $-\alpha^{3.7}$ was the most common mutant allele. 72 cases presented beta thalassemia phenotype, in which -28, CD17, CD26(HbE), CD41-42, CD71-72, IVS-1-5 and IVS-II-654 mutations were detected in 68(94.44%) cases and formed 9 genotypes. HbE was the most prevalent and it co-inherited with other β thalassemia mutations to form frequent HbE/ β^0 -Thalassemia. Alpha thalassemia mutations were found in 20 cases of beta thalassemia patients and formed 10 alpha-beta compound thalassemia genotypes. Three HBB intragenic SNPs, rs713040, rs10768683 and rs1609812, were found in beta thalassemia

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.03.006

基金项目: 云南省应用基础重点研究项目(2013FA023); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2012AA021802); 国家自然科学基金项目(31371265)

作者单位: 678400 芒市, 云南省德宏州人民医院检验科(葛世军、禹崇飞、杨必清、易薇); 中国医学科学院北京协和医学院医学生物学研究所医学遗传学研究室(黄铠、刘红仙、黄小琴、褚嘉祐、杨昭庆)

通讯作者: 杨昭庆, Email: zyang@imbcams.com.cn

patients. **Conclusions** Thalassemia in Dehong prefecture of Yunnan province is highly heterogenic on genotype, the co-existing and interaction among the different mutations could be the major factor affects clinical phenotype of thalassemia. The high frequencies of $-\alpha^{3.7}$ and HbE alleles are major molecular epidemiological features in Dehong region in Yunnan, China.

【Key words】 Thalassemia; Mutation; Genotype; Hemoglobin E; Polymorphism, single nucleotide

地中海贫血是一组人类常染色体隐性遗传性血液病,其病理机制主要是珠蛋白基因突变导致一个或多个血红蛋白珠蛋白肽链的合成速率降低或缺失,形成不平衡的珠蛋白肽链,从而产生红细胞损伤、溶血及肝脾肿大、骨骼及生长发育障碍等临床表现。分别由 α 和 β 珠蛋白基因突变所导致的 α 和 β 地中海贫血是最常见的两种类型。每条人的16号染色体上有2个 α 珠蛋白基因,呈现 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 基因型,常见的缺失型突变可导致一个($-\alpha/\alpha\alpha$)或多个 α 基因缺失($--/-\alpha$),临床表现普遍随缺失基因的增多而症状加重。 β 珠蛋白基因则以点突变最为多见,目前已报道了826种HBB基因变异,其中超过200个致病突变^[1],根据影响 β 肽链合成的性质分为轻度降低合成速率的 β^+ 突变类型,或合成显著减少或缺失的 β^0 突变类型。地中海贫血在临床表现上具有非常显著的异质性,可以从无明显临床症状到严重溶血性贫血乃至危及生命。珠蛋白基因突变的类型及基因型的组合直接影响 α /非 α 珠蛋白肽链之间的比例失衡,是造成临床表现差异的主要因素^[2]。

地中海贫血是东南亚地区及我国南方多个省市的高发性遗传性血液病,在云南的多个地区和人群中具有高发流行。多数观点认为地中海贫血的流行与疟疾流行相关,基因型呈现有地理上的分布差异。云南地处热带、亚热带地区,历史上是疟疾的高发流行区,早期的流行病学调查就显示云南的地中海贫血等血红蛋白病的携带率为全国最高^[3]。近年来对云南傣族、景颇族、德昂族、阿昌等少数民族中部分人群的调查研究中报道了高达40%~50%的地中海贫血检出率^[4-5],表明地中海贫血是显著危害当地人群身体健康的高发性遗传性疾病。德宏傣族景颇族自治州地处中缅交界,有多个少数民族在此聚居,一些人群中检出了较高的地中海贫血携带率,对基因型的分析可为该病的临床表现和病理机制分析提供基因水平的依据,对患者的临床治疗方案选择及预后判定提供关键参考。同时也有助于深入了解当地的该病的分子流行病学特点,制定有针

对性的人群预防筛查及临床诊断策略,从而有效减少重症患儿出生。本研究对云南省德宏傣族景颇族自治州的154例地中海贫血患者进行了 α 和 β 地中海贫血的基因突变检测和基因型分析,现将结果报道如下。

资料和方法

一、研究对象

154例抗凝外周静脉血样本来自2012年到2013年间云南省德宏傣族景颇族自治州人民医院就诊的地中海贫血疑似患者,年龄从0.5个月至60岁,其中有傣族78例(50.65%),汉族23例(14.94%),其余的包括景颇族、德昂族、傈僳族、基诺族、瑶族等其他民族;患者均为德宏州籍贯居民、相互之间无亲缘关系。根据知情同意的原则,获取外周静脉血样3 ml。

二、研究方法

1. 地中海贫血的血液学筛查:当天采集的外周静脉血液样本采用全自动血细胞分析仪检测红细胞平均容积(MCV)和红细胞平均血红蛋白含量(MCH)。对 $MCV < 80.0$ fl和(或) $MCH < 27.0$ pg的样本用常规醋酸纤维薄膜电泳法进行微量血红蛋白电泳,分别以 $HbA_2 < 2.5\%$ 和 $HbA_2 > 3.5\%$ 判定为 α 和 β 地中海贫血表型阳性。外周静脉血样采用Axygen血液全基因组DNA提取试剂盒(Axygen,中国杭州)分离基因组DNA后进行 α 和 β 地中海贫血基因突变的检测和基因型分析。

2. α 珠蛋白基因突变检测:所有患者采用单管多重缺口PCR(Gap-PCR)的方法,在一管PCR反应体系中同时检测 $--^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 三种缺失型 α 珠蛋白基因突变。PCR扩增引物及反应条件按文献描述进行^[6],扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳及溴化乙锭染色后成像分析结果。根据Gap-PCR的特异性扩增产物片段长度判定 α 珠蛋白基因突变类型和基因型:正常 α 基因、 $--^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ 基因突变型的PCR产物片段长度分别为1 800 bp、1 349 bp、2 022 bp和1 628 bp。

3. β 珠蛋白基因突变检测: 对 β 地中海贫血表型阳性者采用 PCR-DNA 序列测定的方法检测 β 珠蛋白基因 (HBB) 突变和 DNA 序列变异。以 NCBI 数据库中位于 11 号染色体的珠蛋白基因核酸序列 NG_000007 为参考序列, 采用 Primer3 软件设计扩增 HBB 基因的 PCR 引物以及测序引物。PCR 上游引物 F1 的序列为 5'-TGGTATGGGGCCAAGAGATA-3', 下游引物 R1 的序列为 5'-TTTGCAGCCTCACCTTCTTT-3', 扩增片段长度为 1 973 bp, 包括了 HBB 基因的全部外显子和内含子以及部分 3'端和 5'端的基因序列。PCR 产物经纯化后采用 BigDye™ Terminator v3.1 测序试剂(美国 ABI 公司), 用测序引物进行分段双向 DNA 序列测定, 所得结果与 NCBI 数据库参考核酸序列进行对比分析。

结 果

1. 地中海贫血表型: 经 MCV 和 (或) MCH 检测及血红蛋白电泳分析, 154 例患者中有 82 例的 $HbA_2 < 2.5\%$, 属 α 地中海贫血表型阳性, 有 72 例 $HbA_2 > 3.5\%$, 属 β 地中海贫血表型阳性。

2. α 地中海贫血基因突变: 采用单管多重 Gap-PCR 方法检测 α 地中海缺失型突变的部分代表性电泳结果见图 1。在 82 例 α 地中海贫血表型阳性病例中, 有 71 例 (86.59%) 检测出 $--^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 三种常见缺失型 α 地中海基因突变, 构成 5 种基因型, 有 11 例未检测到常见的缺失突变类型。各 α 基因突变类型及其在患者中的分布见表 1。在 α 地中海贫血病例组中, 以 $-\alpha^{3.7}$ 等位基因最多见, 占突变等位基因总数的 60.40%, 其次是 $--^{SEA}$, 占 35.64%, $-\alpha^{4.2}$ 则较少。 $-\alpha^{3.7}$ 和 $--^{SEA}$ 突变在各个民族中均有检出分布。值得注意的是, 在 β 地中海贫血病例组中, 有 20 例检测出 α 珠蛋白基因突变, 形成 $\alpha\beta$ 复合突变杂合子。

3. β 地中海贫血基因突变: 采用 PCR-DNA 序列测定方法检测 β 地中海贫血基因突变和 HBB 基因序列变异的部分代表性峰形结果见图 2。在 72 例 β 地中海贫血表型阳性的样本中, 有 68 例 (94.44%) 检测出 β 地中海基因突变, 尚有 4 例未检测到 HBB 基因突变。共检出一 28 (A>G)、CD17 (A>T)、CD26 (G>A)、IVS-I-5 (G>C)、CD41-42 (-TCTT)、CD71-72 (+A) 和 IVS-II-654 (C>T) 7 种 β 地中海贫血基因突变, 形成 9 种 β 突变杂合子和双重突变杂合子基因型。并且, 有 20 例 β 地中海贫血患

者同时具有 α 和 β 珠蛋白基因突变, 形成 10 种 $\alpha\beta$ 地中海贫血复合突变杂合基因型。不同类型的 β 突变与 α 突变形成 $\alpha\beta$ 复合杂合子, 本组中所有 $\alpha\beta$ 复合地中海贫血患者均表现为 β 地中海贫血表型阳性 ($HbA_2 > 3.5\%$)。各 β 基因突变和 $\alpha\beta$ 复合突变类型的分布见表 1。 β 地中海贫血基因突变类型中以 CD26 (HbE 或 β^E) 基因突变最多见, 占 β 突变等位基因的 62.34%, 其次是 CD17 (15.58%) 和 CD41-42 突变 (12.99%)。CD26 突变与 β^0 型突变 CD17、CD41-42 和 CD71-72 的共遗传在患者中形成多种双重杂合子突变类型即 HbE/ β^0 地中海贫血。

表 1 154 例地中海贫血病例中的基因突变类型及分布

突变	表型	n	AN	P(%)
α 地中海贫血				
$-\alpha^{3.7}$	α^+/α	25	61	60.40(61/101)
$--^{SEA}$	α^0/α	16	36	35.64(36/101)
$-\alpha^{4.2}$	α^+/α	0	4	3.96(4/101)
$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	α^0/α^0	10	—	—
$-\alpha^{3.7}/--^{SEA}$	α^+/α^0	16	—	—
$-\alpha^{4.2}/--^{SEA}$	α^+/α^0	4	—	—
未检测出常见 α 突变		11	—	—
β 地中海贫血				
CD26(G>A)	β^E/β^N	24	48	62.34(48/77)
CD17(A>T)	β^0/β^N	4	12	15.58(12/77)
CD41-42(-TCTT)	β^0/β^N	7	10	12.99(10/77)
CD71-72(+A)	β^0/β^N	2	3	3.90(3/77)
-28(A>G)	β^+/β^N	0	1	1.30(1/77)
IVS-I-5(G>C)	β^0/β^N	1	1	1.30(1/77)
IVS-II-654(C>T)	β^+/β^N	1	2	2.60(2/77)
CD26/CD17	β^E/β^0	7	—	—
CD26/CD41-42	β^E/β^0	1	—	—
CD26/IVS-II-654	β^E/β^+	1	—	—
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha/CD26$	$\alpha\beta$	5	—	—
$--^{SEA}/\alpha\alpha/CD26$	$\alpha\beta$	5	—	—
$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}/CD26$	$\alpha\beta$	3	—	—
$-\alpha^{3.7}/--^{SEA}/CD26$	$\alpha\beta$	1	—	—
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha/CD26/CD71-72$	$\alpha\beta$	1	—	—
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha/CD41-42$	$\alpha\beta$	1	—	—
$--^{SEA}/\alpha\alpha/CD41-42$	$\alpha\beta$	1	—	—
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha/CD71-72$	$\alpha\beta$	1	—	—
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha/CD17$	$\alpha\beta$	1	—	—
$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha/-28$	$\alpha\beta$	1	—	—
未检测出 HBB 基因突变		4	—	—
合计		154		

注: n: 患者样本例数; AN: 突变等位基因数目; P (%): 某等位基因在该组突变等位基因总数中所占的百分比; α : 正常 α 珠蛋白链; α^0 : α 珠蛋白链合成缺失; α^+ : α 珠蛋白链合成减少; β^N : 正常 β 珠蛋白链; β^0 : β 珠蛋白链合成缺失; β^+ : β 珠蛋白链合成减少

此外, 除了上述 24 种地中海贫血突变基因型, 采用 DNA 序列测定的方法, 还在 β 地中海贫血患者中检测到 3 种 HBB 基因内的单核苷酸多态性位

点(SNP),包括8例CD2 CAT>CAC同义突变(rs713040)、3例IVS-II-16 G/C多态(rs10768683)和4例IVS-II-666 T/C多态(rs1609812),部分SNP位点的DNA测序结果见图2。

讨 论

地中海贫血是遗传性血液系统疾病,目前还没有经济有效的治愈方法。近年来由于生活环境和营养状况的改善,之前容易夭折的病例症状得以控制或减轻,重症病例获得比以往更长的存活期,轻型携带者常由于无明显的临床症状而容易漏诊,使基因突变及在人群中扩散,这些因素均可导致群体中地中海贫血的基因突变频率和患病率增加,对医疗资源缺乏、检测手段尚不完善的不发达地区危害尤为严重^[7]。一般来说,地中海贫血的临床表现严重程度主要取决于 α 与非 α 珠蛋白肽链之间的不平衡性,患者的地中海贫血基因突变类型及其基因型组合是影响这种平衡的主要因素。例如 β^0/β^0 一般引起重型症状,中间型地中海贫血则根据基因型和修饰因子的不同有较宽的临床表现谱;而 α 地中海贫血突变合并 β 地中海贫血时,可降低 α 与非 α 肽链失衡的比例而使地中海贫血症状减轻,是 β 地中海贫血临床表现的重要修饰因子^[8]。云南省德宏地区在地理上与泰国、缅甸、柬埔寨等东南亚地中海贫血高发区相隔较近,并且聚居着傣族、景颇族、德昂、布朗、阿昌族等多个相对隔离的、有着长期居住历史的少数民族。以往的研究提示该地区有较高的地中海贫血发生率^[9],对德宏地区病例中基因型的分析有助于进一步阐明该地区地中海贫血的分子流行病学特点、基因型与表型的相关性、基因突变的源流和人群迁移等。

在本组获得的病例中,共检测出3种常见的缺失型 α 珠蛋白基因突变和7种 β 珠蛋白基因突变,共形成24种基因型。可以看出,德宏地区的地中海贫血分子病理基础具有明显的遗传异质性,同类表型可由多种不同的基因型引起。在基因突变类型的分布上,本组病例中的 α 珠蛋白基因突变以 $-\alpha^{3.7}$ 最为多见, $-\text{SEA}$ 其次。尽管本组病例的样本量相对较少,并且傣族患者占有较多比例,但结合此前对本地区德昂族和阿昌族中部分人群的地中海基因突变研究结果^[5,9],仍然提示云南德宏地区有较高比例的 $-\alpha^{3.7}$,这与云南省其他一些地区^[10]及我国其他地中海贫血高发区的结果有所不同,如广东和福建

省的病例中 $-\text{SEA}$ 显著多于其他类型^[11-12]。由于这一突变型在人群中常常呈现静止型而不引起明显的地中海贫血临床表现,容易产生较多漏诊,在高发地区容易引起人群中基因频率增高,容易形成突变纯合子,或容易与其他类型的 α 珠蛋白突变携带者婚配形成复合突变,导致中、重度贫血症状患儿的出生率增加。在本研究的 β 地中海贫血病例中还检测到相当比例的 $-\alpha^{3.7}$ 突变。因此,对所有待查对象进行 α 地中海贫血基因检测可显著降低静止型突变的漏检率,是德宏地区值得推广实施的筛查和诊断策略。

值得注意的是,在本组病例的 β 地中海贫血突变类型中,CD26(HbE)是最常见的突变类型,其次是CD17和CD41-42突变,这与此前对该地区人群的筛查结果和云南南部地区人群中 β 地贫突变检测结果相似^[5,13]。而广东、福建、重庆等地区的病例则以CD41-42和IVS-II-654突变多见,CD26突变非常少见^[11-12,14],德宏地区的 β 地中海贫血基因型分布与其他云南南部地区较为相似,但与云南省外的我国其他南方地区有明显不同。HbE在全球范围内以泰国北部、柬埔寨和周边地区最多,人群中携带率高达70%^[7],多数学者认为HbE的流行与恶性疟的自然选择相关。云南省德宏地区与这些地中海贫血高发区在地理位置上相距较近,疟疾流行状况及自然环境也较为相似,在历史上还有过人群的迁移和交流,这些可能是造成德宏地区及其他云南南部地区有较多HbE的重要原因。由于德宏地区有傣族、景颇族等多个少数民族聚居,也可能是由于这些民族的早期定居人群携带有较多的HbE,形成奠基者效应(Founder effect)而使后代中该突变型的比例显著增加。此外,德宏地区多个少数民族中存在较高的族内通婚现象也可能是导致多个民族中HbE频率较高的一个主要原因。此前有报道在德宏地区德昂族中检测到的58例 β 地中海贫血均为HbE突变^[5]。本组病例中的傣族中也检测到较多的HbE,同时还包括CD17及CD41-42等类型,可以看出,基因突变类型在各民族间呈现出有相似也有差异的特点,可能与民族源流和迁移、疾病谱流行、自然选择等因素相关,其分布规律及成因等还需在各个民族中深入研究。

HbE常导致轻型的 β 地中海贫血临床表现,根据与其他 β 突变形成的杂合状态及所合并的 α 珠蛋白基因型不同,可导致患者呈现无明显临床症状或

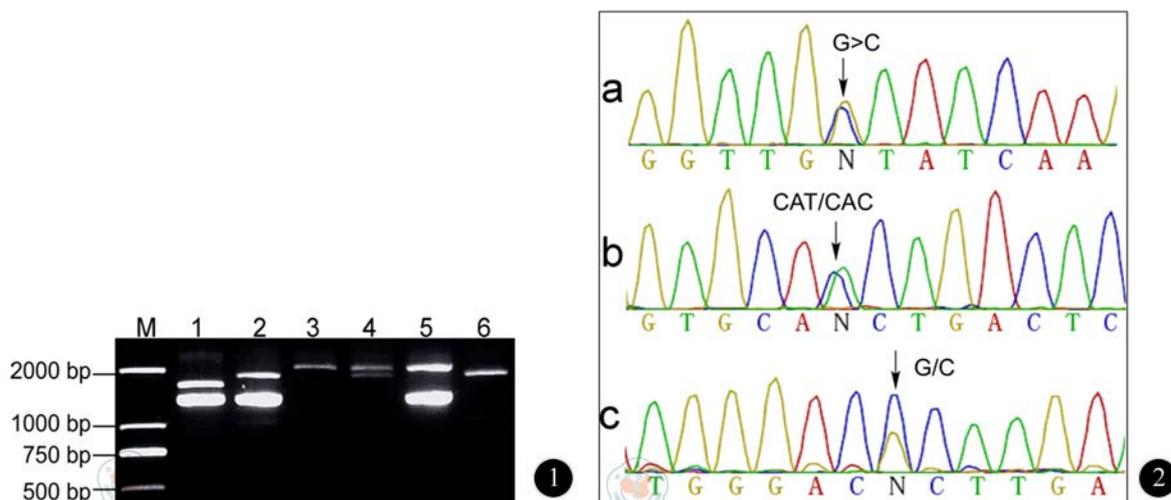


图1 单管多重Gap-PCR检测 α 珠蛋白基因型的电泳结果。M: DNA分子量标准Takara DL2000; 电泳道1~6分别代表被检测样品, α 珠蛋白基因型分别是: 1: $-\alpha^{4.2}/-\text{SEA}$; 2: $-\text{SEA}/\alpha\alpha$; 3: $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$; 4: $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$; 5: $-\alpha^{3.7}/-\text{SEA}$; 6: $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ (正常对照样品) 图2 β 地中海贫血病例中HBB基因DNA序列测定结果峰形图。a: 致病突变IVS-II-5 (G>C) 杂合子; b: CD2 CAT/CAC杂合子 (SNP rs713040多态性); c: IVS-I-16 G/C杂合子 (SNP rs10768683多态性)

出现轻度贫血^[15]。HbE 与其他 β 珠蛋白基因突变复合形成的 HbE 地中海贫血是亚洲地区最常见的重型 β 地中海贫血类型, 是世界范围内约 50% 重型 β 地中海贫血病例的突变基因型^[15]。本组结果显示, 云南德宏地区病例中存在有 HbE 与 α 和 β 珠蛋白基因突变形成的多种复合突变类型, 尤其是与 CD17 和 CD41-42 等 β^0 突变形成 HbE/ β^0 地中海贫血基因型。HbE/ β^0 是与云南相邻的泰国和东南亚等地区中最常见的复合突变类型, 在这些地区的临床表现多呈现中间型地中海贫血, 临床症状差异大, 常出现血氧含量较低、消化和神经系统损伤、心脏衰竭致死等, 并且患者常因对病原体的易感性增加而出现感染及死亡^[15-16]。本研究的结果提示, 较高的 HbE 等位基因频率是云南德宏地区人群中地中海贫血分子流行病学的一个显著特点。由于 HbE 容易与其他珠蛋白突变尤其是 β^0 形成复合突变类型而产生较宽的临床表现谱, 对基因型的分析有助于为临床诊断和预后判定提供关键性参考依据, 同时也有助于寻找和发现更多的临床表型修饰因子, 深入揭示该病的发病机制。

在本组 β 地中海贫血病例中还发现外显子区 CD2 CAT/CAC (rs713040)、内含子区 IVS-I-16 G/C (rs10768683) 和 IVS-II-666 T/C (rs1609812) 3 个单核苷酸多态性 (SNP) 位点。从本研究的结果中, 尚未发现这些 SNP 位点与民族、临床表型或特定基因突变类型之间的显著关联性, 还需通过扩大样本量进行相应的单倍型分析。这些多态性位点

也在广东和其他中国南方地区的 β 地中海贫血病例中检测出^[12,17], 结合本组研究结果, 表明我国南方多个地区和人群中均存在这些位点的多态性。目前对这些基因内 SNP 位点的生物学功能尚不清楚, 但这些 SNP 位点已作为分子标记物在产前基因诊断中得以应用, 例如判断致病突变的父方或母方来源。rs713040 由于位于基因的外显子区域, 在使用异源性干细胞移植方法治疗重型血红蛋白病时可用于同时监测供体和受体的 DNA 及 RNA, 是临床上监测干细胞移植效率的有效生物学标记^[18]。rs1609812 则在一些人群的全基因组关联分析 (GWAS) 研究中显示与 1 型糖尿病有显著相关^[19]。有的学者还利用这些多态性位点构成的基因型来分析人群中地中海贫血基因突变的起源及与临床表现的相关性^[20]。我们的结果表明, 云南人群中存在有这些富含信息量的 SNP 位点多态性, 可作为分子遗传标记。进一步调查和分析这些位点的频率和基因型可为研究云南不同人群和地区 β 地中海贫血基因突变的单倍型、揭示云南与周边相邻国家或地区之间基因突变的源流、不同群体之间的相互关系等提供更多的分子遗传学信息。

本研究的结果表明, 云南省德宏地区的地中海贫血存在有多种致病基因突变类型和基因型, 突变类型分布特点与云南省其他南部地区有相似性及差异性, 并且存在多个基因内 SNP 位点的多态性。这些都为临床表型分析提供了分子遗传学参考依据。同时也看到, 在本研究中仍然有部分地中海贫

血阳性表型的病例尚未检测出常见的珠蛋白基因突变类型,提示可能存在其他的珠蛋白基因突变类型或存在其他影响表型的遗传修饰因子,对胎儿血红蛋白(HbF)与基因型和临床表现之间的关系还需开展研究;仍然需要获得更多的病例及临床资料进行临床表型与突变型的关联分析。目前还缺乏对云南各地区、各民族地中海贫血的系统性分子流行病学调查数据,我们认为不仅需要筛查人群中的致病突变类型和基因型,注重病例家系的基因型分析,同时还需要获得人群中珠蛋白基因多态性位点的分布数据,对该病进行更加有效的诊断、预防控制和治疗。

参 考 文 献

- [1] Giardine B, Borg J, Viennas E, et al. Updates of the hbvar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 42(Database issue):D1063-1069.
- [2] Muncie HL, Jr., Campbell J. Alpha and beta thalassemia[J]. *Am Fam Physician*, 2009, 80(4): 339-344.
- [3] Zeng YT, Huang SZ. Disorders of haemoglobin in china[J]. *J Med Genet*, 1987, 24(10): 578-583.
- [4] 姚莉琴, 邹团标, 范丽梅, 等. 德宏州傣、景颇、德昂、阿昌族 0-7 岁儿童地中海贫血调查[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2011, 19(5): 117-118, 112.
- [5] 葛世军, 禹崇飞, 禹祖祥, 等. 芒市地区德昂族地中海贫血基因筛查[J]. *社区医学杂志*, 2011, 9(24): 49-50.
- [6] 易薇, 姚莉琴, 邹团标, 等. 云南傣族儿童中 α 地中海贫血基因突变类型研究[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2012, 20(6): 7-10.
- [7] Williams TN, Weatherall DJ. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(9): a011692.
- [8] Thein SL. The molecular basis of beta-thalassemia[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2013, 3(5): a011700.
- [9] 葛世军, 禹崇飞, 禹祖祥, 等. 338 例阿昌族人群中地中海贫血筛查及确认结果分析[J]. *医学理论与实践*, 2012, 25(3): 351-353.
- [10] 温柏平, 樊茂, 代宏剑, 等. 昆明地区儿童地中海贫血筛查和基因诊断分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2011, 13(2): 104-106.
- [11] 徐两蒲, 黄海龙, 王燕, 等. 福建省籍各地市人群中地中海贫血的分子流行病学研究[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2013, 30: 403-406.
- [12] 刘玲, 蒋玮莹, 许世艳, 等. 广东地区地中海贫血致病基因的基因型及 13 珠蛋白基因多态性研究[J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(7): 595-599.
- [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] 王欢, 刘申, 黄君富, 等. 953 例重庆地区地中海贫血基因突变类型分析[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(17): 1802-1804.
- [15] Fucharoen S, Weatherall DJ. The hemoglobin e thalassemias[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(8): a011734.
- [16] Moiz B, Hashmi MR, Nasir A, et al. Hemoglobin e syndromes in pakistani population[J]. *BMC Blood Disord*, 2012, 12: 3.
- [17] Chan K, Yam I, Leung KY, et al. Detection of paternal alleles in maternal plasma for non-invasive prenatal diagnosis of beta-thalassemia: A feasibility study in southern chinese[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2010, 150(1): 28-33.
- [18] Armistead PM, Mohseni M, Gerwin R, et al. Erythroid-lineage-specific engraftment in patients with severe hemoglobinopathy following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Exp Hematol*, 2008, 36(9): 1205-1215.
- [19] Concannon P, Chen WM, Julier C, et al. Genome-wide scan for linkage to type 1 diabetes in 2,496 multiplex families from the type 1 diabetes genetics consortium[J]. *Diabetes*, 2009, 58(4): 1018-1022.
- [20] Bilgen T, Arikian Y, Canatan D, et al. The association between intragenic snp haplotypes and mutations of the beta globin gene in a turkish population[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2011, 46(3): 226-229.

(收稿日期: 2013-12-10)

(本文编辑: 戚红丹)

葛世军, 禹崇飞, 杨必清, 等. 云南省德宏地区 154 例地中海贫血的基因型研究 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2014, 8(3): 385-390.