

云南省德宏州盈江县傣族育龄人群地中海贫血流行病学调查

谢美娟^{1,3}, 滕聪聪^{1,3}, 龙 岚^{1,3}, 刘永幸², 陈新超², 张 杰^{3*}

(1. 昆明理工大学 医学院, 云南 昆明 650031; 2. 盈江县妇幼保健院 院长办公室, 云南 盈江 679300;
3. 云南省第一人民医院 医学遗传科, 云南 昆明 650032)

摘要:目的 了解地中海贫血(简称地贫)在中国云南省德宏州盈江县傣族育龄人群的地贫基因携带率、突变类型及频率,为出生缺陷防控提供理论依据。方法 对盈江县的400例傣族育龄人群进行血常规检测、血红蛋白电泳分析、珠蛋白基因二代测序。结果 在受检的400例盈江县傣族育龄人群中,共检出219例地贫基因的携带者,地贫基因的携带率为54.75%(219/400)。α-地贫基因携带者133例,携带率为33.25%(133/400),最为常见的基因型为 $-\alpha^{3.7}$,其次是 $--^{SEA}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ 。β-地贫基因携带者47例,携带率为11.75%(47/400),CD26(G>A)突变类型最为常见。α复合β地贫基因携带者39例,携带率为9.75%(39/400)。对各种α-地贫血液学特征进行比较分析, $--^{SEA}$ 突变类型的红细胞平均血红蛋白含量(MCH)相对较低;α^{CS}α突变类型的Hb A₂相对较低。对于β-地贫的血液学特征进行比较分析,CD17(A>T)的红细胞平均容积(MCV)相对较低。结论 盈江县地贫携带率为54.75%,属于地贫高发地区,地贫最为常见的类型为 $-\alpha^{3.7}$ 和CD26(G>A)。研究数据能为该地区临床遗传咨询工作提供理论支持。

关键词: 地中海贫血;血液学特征;基因型;傣族

中图分类号:R394 文献标志码:A

Epidemiological investigation of thalassemia in childbearing age population of Dai nationality in Yingjiang County, Dehong Prefecture, Yunnan Province, China

XIE Mei-juan^{1,3}, TENG Cong-cong^{1,3}, LONG Lan^{1,3}, LIU Yong-xing², CHEN Xin-chao², ZHANG Jie^{3*}

(1. Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650031; 2. Hospital Office,
Maternal and Child Health Hospital of Yingjiang, Yingjiang 679300; 3. Department of Medical Genetics,
the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China)

Abstract: Objective To investigate the gene carrying rate, mutation spectrum and frequency of thalassemia in the childbearing age population of Dai nationality in Yingjiang County, Dehong Prefecture, Yunnan Province, China and to provide a theoretical basis for strategy maiming for the prevention and control of thassemia birth defects.

Methods Totally 400 cases of childbearing age population of Dai nationality in Yingjiang County were subjected to routine blood testing, capillary electrophoresis, and next generation sequencing. **Results** Among the 400 cases 219(54.75%) thalassemia gene carriers were found. There were 133(33.25%) carriers having α-thalassaemia gene. The most common genotype was $-\alpha^{3.7}$, followed by $--^{SEA}$ and $-\alpha^{4.2}$. There were 47(11.75%) carriers of

收稿日期:2020-11-10 修回日期:2021-04-09

项目基金:国家自然科学基金(81860040)

* 通信作者 (corresponding author): kmzhjie@aliyun.com

β -thalassemia gene, and the mutation type CD26 (G>A) was the most common type. There were 39 (9.75%, 39/400) carriers of composite α and β thalassemia. According to comparative analysis of the hematological characteristics of various α -thalassemias, mean corpuscular hemoglobin (MCH) of --^{SEA} and Hb A₂ of α^{CS} were relatively low. According to comparative analysis of the hematological characteristics of β -thalassemia, mean corpuscular volume (MCV) of CD17 (A>T) was relatively low. **Conclusions** The carrying rate of thalassaemia in Yingjiang County is 54.75%, indicating it is a high incidence area of thalassaemia. The most common types are $-\alpha^{3.7}$ and CD26 (G>A). The results reported here may provide evidence for genetic counseling in areas with high incidence of thalassaemia.

Key words: thalassemia; hematological characteristics; genotype; Dai nationality

地中海贫血(thalassemia, 简称地贫)是一种以严重贫血、骨骼变形、肝脾肿大等为主要临床表现的疾病,因其首次在地中海地区发现所以命名为地中海贫血。地贫是一组常染色体隐性遗传导致的单基因遗传病,是由于珠蛋白链合成异常导致溶血性贫血,会出现各种相应的临床表现^[1-2]。

地贫在中国南方较为高发,尤其是云南^[3]、广西^[4]、海南^[5]、广东^[6]等省份。地贫的分布具有明显的多样性和遗传异质性,不同地区地贫突变类型不同。云南省民族众多,已经发表的数据显示,傣族地贫的发病率较高。本课题组于2016年对西双版纳等地区傣族人群进行珠蛋白基因二代测序,地贫检出率高达49.5%^[7]。此外,其他研究也表明,壮族、景颇族、阿昌族、德昂族检出率也较高^[8]。不同种族群体中地贫突变率的地理分布存在明显差异,云南省南部尤为高发。盈江县地处云南省西南部为傣族、阿昌族的聚居地,与缅甸等地贫高发的国家相邻。为了解盈江县傣族地贫流行病学现状,本研究对云南省德宏州盈江县400例傣族育龄人群进行血液学及地贫基因相关检测,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 对象:收集2019年至2020年云南省德宏州盈江县傣族育龄人群,共400例,年龄为18~47岁,受检者均为盈江县籍贯居民、相互之间无亲缘关系。根据知情同意的原则,抽取外周静脉血样3 mL。本研究通过医院伦理委员会的批准(编号:2018GJ108)。在样本采集前,受试者均签署知情同意书。

1.1.2 仪器与试剂:Sysmex XE-5000全自动血液分析仪及其配套试剂(TOSOH公司);Capillarys 2全自动毛细管电泳仪及配套试剂(Sebia公司);天隆

NP968核酸提取仪及其配套试剂(西安天隆科技有限公司);NanoDrop 2000超微量分光光度计(北京科誉兴业科技发展有限公司);MGISEQ-2000基因测序仪(华大智造科技股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 血常规检测:用全自动血细胞分析仪检测血红蛋白(hemoglobin, HGB)、红细胞平均容积(mean corpuscular volume, MCV)和红细胞平均血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)。

1.2.2 血红蛋白电泳:使用毛细管血红蛋白电泳对血样进行血红蛋白分析。主要检测血红蛋白A(hemoglobin A, Hb A)、血红蛋白A2(hemoglobin A2, Hb A₂)、血红蛋白F(hemoglobin F, Hb F)以及异常条带。

1.2.3 二代测序(next generation sequencing, NGS):使用天隆 NP968 核酸提取仪及其配套试剂从200 μ L血液样本中提取基因组DNA。将DNA提取物排列在96孔板中,并通过NanoDrop 2000定量浓度。将分析限制在DNA浓度>20 ng/ μ L, A₂₆₀/A₂₈₀比值在1.8和2.0之间的样品。设计特异性引物用于地贫相关基因HBA1、HBA2、HBB的扩增。将扩增产物按照文库制备方案进行文库构建,包括PCR-pooling产物纯化、超声打断、打断后纯化、末端修复、末端修复后纯化、加“A”、加“A”后纯化、接头连接、片段分选,根据片段大小分选文库A、文库B,使用MGISEQ-2000上机进行结果分析^[6]。

1.3 统计学分析

统计 α 、 β 地贫基因携带率、基因突变类型、血液学特征,应用SPSS 17.0统计软件进行分析,组间比较采用独立性样本 t 检验,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。

2 结果

2.1 基因携带率

在受检的 400 例人群中,共检出 219 例地贫基因的携带者,地贫基因的携带率为 54.75% (219/400)。其中 α -地贫基因型以 $-\alpha^{3.7}$ 最为常见, β -地贫基因型以 CD26 (G>A) 最为常见。根据基因类型分述如下(表 1)。

2.1.1 α -地贫的基因突变类型及携带率:共检出 α -地贫基因携带者 133 例,人群携带率为 33.25% (133/400)。共检出 6 种等位基因,分别是 $-\alpha^{3.7}$ 、 $--^{SEA}$ 、 α^{CS} 、 α^{WS} 、Hb Hekinan II (HbA1:c.84G>T)、 $-\alpha^{4.2}$ 。

2.1.2 β -地贫的基因突变类型及携带率:共检出 β -地贫基因携带者 47 例,人群携带率为 11.75% (47/400)。共检出 4 种基因突变类型,分别是 CD26 (G>A)、CD17 (A>T)、CD41-42 (-TTCT)、IVS-I-1 (G>A)。

2.1.3 α 复合 β 地贫突变类型及携带率:共检出 α 复合 β 地贫基因携带者 39 例,人群携带率为 9.73% (39/400),占检出地中海贫血的 17.81% (39/219)。

2.2 血液学参数分析

2.2.1 α -地贫血液学和电泳特征:各种 α -地贫血液学特征进行组间独立性样本 *t* 检验, $--^{SEA}$ 突变类型的 MCH 相对较低, α^{CS} 突变类型的 Hb A₂ 相对较低(表 2)。

表 1 地贫病例中的基因突变类型及分布

Table 1 Types and distribution of gene mutations in thalassaemia cases

mutation	phenotype	n	AN	constituent ratio/%	carrier rate/%
α -thalassemia		133	195	100	
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$	α/α^+	86*	155	79.49(155/195)	21.50(86/400)
$\alpha\alpha/--^{SEA}$	α/α^0	9	17	8.72(17/195)	2.25(9/400)
$\alpha\alpha/\alpha^{CS}\alpha$	α/α^+	8	12	6.15(12/195)	2.00(8/400)
$\alpha\alpha/\alpha^{WS}\alpha$	α/α^+	7	8	4.10(8/195)	1.75(7/400)
Hb Hekinan II (HbA1;c.84G>T)	α/α^+	1	2	1.03(2/195)	0.25(1/400)
$\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$	α/α^+	1	1	0.51(1/195)	0.25(1/400)
$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	α^+/α^+	17*	-	-	4.25(17/400)
$-\alpha^{3.7}/--^{SEA}$	α^+/α^0	2*	-	-	0.50(2/400)
$\alpha^{WS}\alpha/-\alpha^{3.7}$	α^+/α^+	1*	-	-	0.25(1/400)
$\alpha^{CS}\alpha/-\alpha^{3.7}$	α^+/α^+	1*	-	-	0.25(1/400)
β -thalassemia		47	85	100	
CD26 (G>A)	β/β^+	38	71	83.53(71/85)	9.50(38/400)
CD17 (A>T)	β/β^0	6	7	8.24(7/85)	1.50(6/400)
CD41-42 (-TTCT)	β/β^0	2	5	5.88(5/85)	0.50(2/400)
IVS-I-1 (G>A)	β/β^0	1	2	2.35(2/85)	0.25(1/400)
composite α and β thalassaemia		39			
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}+CD26 (G>A)$	-	24*	-	-	6.00(24/400)
$\alpha\alpha/--^{SEA}+CD26 (G>A)$	-	6	-	-	1.50(6/400)
$\alpha^{CS}\alpha/-\alpha^{3.7}+CD26 (G>A)$	-	2*	-	-	0.50(2/400)
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}+CD41-42 (-TTCT)$	-	2*	-	-	0.50(2/400)
Hb Hekinan II +CD41-42 (-TTCT)	-	1	-	-	0.25(1/400)
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}+CD17 (A>T)$	-	1*	-	-	0.25(1/400)
$\alpha\alpha/\alpha^{CS}\alpha+CD26 (G>A)$	-	1	-	-	0.25(1/400)
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}+IVS-I-1 (G>A)$	-	1*	-	-	0.25(1/400)
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}+Hb Dhoburi (HBB;c.380T>G)$	-	1*	-	-	0.25(1/400)
total		219			

n. number of patient samples; AN. number of mutant alleles; α . normal α -globin chain; α^0 . α -globin chain synthesis was completely absent; α^+ . α -globin chain synthesis was partially reduced; AN took the $-\alpha^{3.7}$ type as an example; statistics * value $86+17\times 2+2+1+1+24+2+2+1+1+1=155$.

表 2 α -地贫血液学参数的变化Table 2 Changes in hematological parameters of α -thalassaemia ($\bar{x}\pm s$)

mutation	n	Hb/(g/L)	MCV/fL	MCH/pg	Hb A/%	Hb A ₂ /%
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$	86	142.57±16.96	82.74±8.17	27.20±7.12	97.10±0.84	2.69±0.28
$-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	17	126.65±18.50	71.21±2.99	22.60±0.72	97.42±0.27	2.54±0.19
$\alpha\alpha/--SEA$	9	131.22±13.98	70.79±9.33	21.28±0.87	97.33±0.33	2.37±0.21
$\alpha\alpha/\alpha^{CS}\alpha$	8	129.63±22.17	84.13±4.40	28.59±5.40	97.18±0.42	2.15±0.09
$\alpha\alpha/\alpha^{WS}\alpha$	7	137.00±16.89	85.20±7.58	27.66±2.97	97.34±0.34	2.66±0.34

Only the samples more than 3 cases were counted.

2.2.2 β -地贫血液学和电泳特征:对于对 β -地贫的血液学特征进行组间独立性样本 t 检验,CD17(A>T)的MCV相对较低(表3)。

2.2.3 α 复合 β 地贫血液学和电泳特征: α 复合 β 地贫的血常规参数和血红蛋白电泳结果与单纯的 β 地贫基因携带者无差异(表4)。

3 讨论

地贫是一种会导致严重贫血的疾病,目前还没有有效的治疗方法。由于地贫基因携带者通常无明显的临床症状,会导致医务人员漏诊,以致中重度地贫患儿的出生。傣族人群为地贫高发人群,因此对云南省德宏州盈江县傣族人群进行地贫流行病学调查具有一定的意义。

本研究检测的样本数为400例,确诊地贫的有219例,人群地贫基因携带率为54.74%(219/400),提示盈江县为地贫较为高发的地区。 α -地贫最为常见的类型为 $-\alpha^{3.7}$,其次是 $--SEA$,这与之前对云南德宏^[9]报道一致。本研究中的 $-\alpha^{3.7}$ 突变型表现为

静止型携带者,不出现明显临床症状; $--SEA$ 突变类型中MVC、MCH偏低,提示其可能会导致轻度贫血,该两种突变类型与之前的报道吻合^[10-11]。 $\alpha^{CS}\alpha$ 临床上可表现为静止型携带者或者轻度贫血, $\alpha^{WS}\alpha$ 杂合子通常为静止型携带者,本研究中这两类突变类型的血液学特征也与之前的报道一致^[12-13]。本研究检出2例Hb Hekinan II(Hb A₁:c.84G>T)突变,其表现为无症状。该种突变的特征为 $\alpha 1$ 链的第27个氨基酸位置处的谷氨酸被天冬氨酸代替,首次发现于一个46岁的日本男性,未引起蛋白结构明显的变化,携带者杂合突变多为无症状^[14]。

β -地贫中CD26(G>A)构成比最高,CD26(G>A)杂合子表型为轻型贫血或无症状携带者。此外本研究检出33例CD26(G>A)复合 α 地贫,均未出现明显贫血症状。CD26(G>A)纯合突变或者CD26(G>A)/ β^0 双重杂合突变可能会表现出较重的临床症状,需输血治疗,是云南省最常见的中重度 β 地贫的原因之一^[15]。

表 3 β -地贫血液学参数的变化Table 3 Changes in hematological parameters of β -thalassemia ($\bar{x}\pm s$)

mutation	n	Hb/(g/L)	MCV/fL	MCH/pg	Hb A/%	Hb A ₂ /%
CD26(G>A)	38	136.58±17.12	76.61±4.75	31.12±38.00	71.04±1.64	3.50±0.37
CD17(A>T)	6	133.33±8.24	67.08±15.14	19.49±1.07	93.22±1.37	5.83±0.14

表 4 $\alpha\beta$ -地贫血液学参数的变化Table 4 Changes in hematological parameters of composite α and β thalassaemia ($\bar{x}\pm s$)

mutation	n	Hb/(g/L)	MCV/fL	MCH/pg	Hb A/%	Hb A ₂ /%
$\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}+CD26$	24	137.54±18.17	79.74±5.84	26.09±1.63	74.00±4.64	3.73±0.55
$\alpha\alpha/--SEA+CD26$	6	138.17±21.46	67.52±2.29	21.30±0.70	80.07±0.76	3.82±0.37

在云南少数民族地区进行地贫系统性分子流行病学的调查,开展孕前婚前检查,能够减少地贫基因携带者生育中重度地贫患儿,提高人民健康水平,减少疾病负担。本研究对云南德宏州盈江县傣族育龄

人群进行地贫流行病学的调查研究,为该地区地贫遗传咨询和产前基因诊断提供了临床数据,为今后进行有效地地贫防控奠定了一定基础。

参考文献:

- [1] Xu X, Wu X. Epidemiology and treatment of beta thalassemia major in China [J]. *Pediatr Invest*, 2019, 4: 43-47.
- [2] 史丽芳,余东林,刘雪会,等. β -654 地中海贫血小鼠骨髓红系终末分化的阶段特异性转录组特征[J]. *基础医学与临床*, 2020,40: 1182-1189.
- [3] Zhang J, Zhu BS, He J, *et al.* The spectrum of α -and β -thalassemia mutations in Yunnan Province of Southwestern China[J]. *Hemoglobin*, 2012, 36: 464-473.
- [4] Luo S, Chen X, Chen L, *et al.* Analysis of Hb levels and degree of anemia in relation to genotype in 615 patients with hemoglobin H disease [J]. *Expert Rev Hematol*, 2020, 13: 1027-1033.
- [5] Yao H, Chen X, Lin L, *et al.* The spectrum of α - and β -thalassemia mutations of the Li people in Hainan Province of China[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2014, 53: 16-20.
- [6] Yin A, Li B, Luo M, *et al.* The prevalence and molecular spectrum of α - and β -globin gene mutations in 14,332 families of Guangdong Province, China [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e89855.doi:10.1371/journal.pone.0089855.
- [7] He J, Song W, Yang J, *et al.* Next-generation sequencing improves thalassemia carrier screening among premarital adults in a high prevalence population: the Dai nation-ality, China[J]. *Genet Med*, 2017, 9: 1022-1031.
- [8] 陈祖聪,葛世军,番云华,等. 少数民族地区血红蛋白病在贫血病人中的比例及在各民族间的分布情况[J]. *云南医药*, 2011, 32: 242-243.
- [9] 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]. *中华临床医师杂志*, 2014, 8: 385-390.
- [10] Charoenwijitkul T, Singha K, Fucharoen G, *et al.* Molecular characteristics of α + -thalassemia (3.7 kb deletion) in Southeast Asia: molecular subtypes, haplotypic heterogeneity, multiple founder effects and laboratory diagnostics[J]. *Clin Biochem*, 2019, 71: 31-37.
- [11] Pornprasert S. Hematological characterization of compound heterozygous hemoglobin Hope/E patients with and without alpha-thalassemia-1 SEA type deletion [J]. *Clin Lab*, 2013, 59: 1183-1185.
- [12] Liao C, Zhou JY, Xie XM, *et al.* Screening for Hb Constant Spring in the Guangdong Province, South China, using the Sebia capillary electrophoresis system [J]. *Hemoglobin*, 2011, 35: 87-90.
- [13] Jiang F, Ju AP, Li J, *et al.* Hb Westmead (HBA2; c.369C>G): hematological characteristics in heterozygotes with and without α^0 -thalassemia [J]. *Hemoglobin*, 2020, 44: 153-155.
- [14] Harano T, Harano K, Imai N, *et al.* An electrophoretically silent hemoglobin variant, Hb Hekinan [α 27(B8) Glu→Asp] found in a Japanese [J]. *Hemoglobin*, 1988, 12: 61-65.
- [15] 李友琼,黄惠嫔,覃桂芳,等. 血红蛋白 E 的表型与基因型分析[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33: 861-864.