维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2002)04-0451-03

β-地中海贫血基因分析与临床

刘筱梅[1]，徐酉华[1]，邓 兵[2]
（1.重庆医科大学儿科学院血液科；2.重庆医科大学儿科学院血液遗传室，重庆 400014）

【摘 要】目的：探讨β-地中海贫血的基因型与临床表现之间的关系。方法：小细胞低色素贫血患儿外周血用血红蛋白电泳法作临床诊断。以8种中国人最常见的β地中海贫血寡核苷酸探针阵列用荧光斑点杂交法对患儿及其父母进行基因突变分析。结果：24例患儿中重型地中海贫血14例，β^E3例，轻型7例，发现10种基因突变类型。轻型者其基因型全部为杂合子，重型1例是纯合子（17/17），13例是双重杂合子。他们的临床表现为起病早，贫血程度重，HbF显著增高，需要长期输血才能维持其生命和生长发育。β^E中1例为重型，2例为中间型。结论：β-地中海贫血的临床表现和其基因型密切相关，本地区重型β-地中海贫血以双重杂合子多见，患儿双亲均为携带者。本组病例中以CD17，IVS-Ⅱ-654，CD71-72基因突变发生率较高。β^E的患儿临床表现差异较大。

【关键词】β-地中海贫血；基因；临床
【中国图书分类法分类号】R556.61 【文献标识码】A 【收稿日期】2002-01-09

The genotype and clinical features of β-thalassemia

LIU Xiaomei,et al
(Department of Hematology, College of Pediatrics, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To study the genotype of β-thalassemia in Chongqing area. *Methods*: 24 patients with β-thalassemia were diagnosed by hemoglobin electrophoresis from patients with hypochromic microcytic anemia . Fluorescence dot blot hybridization was performed in all patients and their parents by 8 most commonly used oligonucleotide probes in China. *Results*: 14 patients with β-thalassemia major, 7 patients with β-thalassemia minor and 3 patients with β-thalassemia combined with HbE were diagnosed . 10 kinds of gene mutations were identified among these patients. The genotypes in β-thalassemia minor are all heterozygotes. One homozygote and 13 double heterozygotes were found with patients in β-thalassemia major. Clinical features of β-thalassemia major include early episode, severe anemia and increased HbF level. Long-term transfusion was all required for these patients to maintain the life and growth. Among 3 patients with β-thalassemia combined with HbE, one is with thalassemia major and the rest are with thalassemia intermedia. *Conclusion* : The clinical features of β-thalassemia is closely related to the genotype. Double heterozygote is the most common genotype in Chongqing area and the parents of the patients are all carrier. The mutation of CD17, IVS-Ⅱ-654 and CD71-72 are the most common genotypes in this study. The clinical features in the patients with β-thalassemia combined with HbE varied greatly.

【Key words】β-thalassemia; Genotype; Clinical features

β-地中海贫血是发病率较高的遗传性疾病，重庆及四川地区是高发区。从1999年12月起将基因分析应用于临床诊断，现将资料较完整的24例病人报告如下。

1 资料与方法

1.1 对象

24例患儿中，男16例，女8例，年龄2个月至13岁。重型患儿发病年龄2个月至1岁。全部患儿来自重庆和川东地区的不同家庭，均为汉族。

1.2 方法

1.2.1 血红蛋白电泳和HbF检测

制备Hb液：取抗凝血2ml，弃去血浆，生理盐水洗3次，加入1.4倍于血球体积的双氧水，0.5倍体积的四氯化碳，混匀，3000r/min离心15min，取上清液备用。

测定HbF：取Hb液0.1ml加入1/12N 氢氧化钾1.6ml，1min后加入半饱和的 $(NH_4)_2SO_4$ 3.4ml混匀过滤。另一试管

作者介绍：刘筱梅（1969- ），女，主治医师，
主要研究方向：小儿血液肿瘤。

维普资讯 http://www.cqvip.com

加入4ml双氧水和0.02mlHb液比色计算结果。

血红蛋白电泳：2×8cm醋纤薄膜在TEB液中浸泡20min以上取出，吸去多余水分后，用Hb液3～5μl点样，点样端置于阴极，电压140～200V，30～50min电泳。电泳完毕，取下用丽春红染液染色15～20min，漂洗至底板无色，将各区带剪下，加TEB液4ml(HbA为8ml)洗脱30min后比色，计算血红蛋白百分比。

1.2.2 基因分析

取患儿及其父母的静脉血5ml提取DNA，PCR引物1、5'-GTA CGG CTG TCA TCA CTT AGA CCT CA-3'；2、5'-TGC AGC TTG TCA CAG TCC AGC TCA CT-3'；3、5'-GTG TAC ACA TAT TGA CCA AA-3'；4、5'-AGC ACA CAG ACC AGC ACG TT3'。引物1、2扩增β珠蛋白基因转录启动区到第二外显子之间601bp基因段，引物3、4是针对IVS-Ⅱ中核苷酸（nt）654突变设计的，长422bp，两段PCR产物包含已发现的中国人β珠蛋白基因的18种突变类型。电泳检查PCR产物，样品经碱变性后点在硝酸纤维素膜上，8对寡核苷酸探针用r-32P-ATP在T_4多聚激酶作用下进行5'末端标记，在特定温度下与硝纤膜上的DNA杂交，放射自显影12～24h冲片获得结果[1]。

2 结 果

2.1 按国内分类标准[2]，24例患儿中有14例重型，3例β^E，7例轻型。重型患儿全部表现为起病早（2月～12月），中重度小细胞低色素贫血，Hb低于70 g/L，HbA_2全部正常，HbF：32.9%～97.8%，均有脾肿大(肋下2～4cm)。其中1例合并G-6-PD缺陷。3例βE中1例表现较重，2例为中间型。轻型患儿中1例合并特发性肺含铁血黄素沉着症，1例合并甲亢。

2.2 24例患儿中发现10种基因突变类型，它们发生频率是CD17（35%），IVS-Ⅱ-654（25%），CD41-42（12.5%），β^E26（7.5%），CD71-72（5%），nt-29(5%)，CD43、CD27-28、nt-28、IVS-I-1均为2.5%。

2.3 14例重型患儿中17/17纯合子1例，双重杂合子13例，基因组合为17/654（4例），17/41-42（2例），41-42/654（2例），17/71-72，-29/654，-29/IVS-I-1，-28/654，71-72/27-28各1例。3例β^E为17/26β^E，654/26β^E，43/26β^E。

2.4 14例重型患儿中有10例父母都进行了基因分析，父母双方全为杂合子轻型地中海贫血。3例β^E患儿的父母一方为杂合子地贫，一方为HbE病。轻型患儿的父或母为杂合子地贫，有1例轻型患儿的父母均为杂合子地贫。

3 讨 论

β-地中海贫血是β-珠蛋白肽链合成障碍所引起的遗传性溶血性贫血，其典型的临床表现是小细胞低色素贫血，重型患儿起病早，贫血重，常伴有肝脾肿大，可有地中海贫血面容，HbF明显增高，HbA_2常正常。轻型患儿因贫血程度轻容易被忽略，或误诊为缺铁性贫血而盲目补铁，常不伴有肝脾肿大，HbF正常，HbA_2常增高。本组中重型地中海贫血患儿均符合上述表现。轻型患儿常因其他的疾病就诊而检查出有地中海贫血，本组中1例患儿即因甲亢和支气管炎入院。1例患儿合并G-6-PD缺陷，1例患儿合并肺含铁血黄素沉着症，他们的实验室检查提示为轻型地中海贫血，但贫血程度却偏重，不能用轻型地中海贫血解释，转而考虑其它原因所致的贫血而确诊。故地中海贫血也可合并其他原因的贫血，临床上贫血较重的轻型地中海贫血，不能满足于此诊断，而应进一步追查其它病因。

地中海贫血的遗传方式为常染色体隐性遗传，如父母中有一人为携带者，其后代1/2正常，1/2为轻型患儿。父母双方均为携带者，其后代1/2正常，1/4为轻型，1/4为重型患儿。本组病例中重型患儿的父母双方都是携带者，轻型患儿的父母一方是携带者或双方都是携带者，符合这一遗传特点。

地中海贫血的分子基础是点突变。β-珠蛋白基因簇位于11号染色体上，当其中某个碱基发生替代或缺失、嵌入，其转录就受阻，不能产生β链mRNA或生成异常的mRNA，或mRNA前体的剪接加工发生障碍,从而导致β-珠蛋白合成障碍[3]。其中CD17、CD43、CD71-72、CD41-42是由于氨基酸密码碱基替换、嵌入或缺失，而产生一个终止密码，使β-珠蛋白合成提前终止，生成短链无效珠蛋白。位于TATAbox的nt-28、nt-29突变使基因转录水平降低，mRNA含量及β-珠蛋白合成减少。IVS-Ⅱ-654影响mRNA前体正常剪接，生成异常mRNA和不稳定β-珠蛋白[1]。故β-地中海贫血的临床表现与基因表型密切相关。从本文的结果可以看出，基因表型为纯合子或双重杂合子，因几乎不能合成正常的β-珠蛋白，实验室检查HbF显著增高，临床表现为重型。而轻型者其基因型均为杂合子。但是HbE合并β-地中海贫血者临床表现差异较明显，本文3例患

维普资讯 http://www.cqvip.com

儿中仅1例是重型与文献报道一致[4]。在本文的14例重型患儿中，HbF为32.9%～97.8%,其中基因型为两个密码子突变（71-72/27-28; 17/41-42; 17/17; 17/71-72）的患儿的HbF增高似乎更明显，这与上述珠蛋白合成障碍的分子基础一致。

24例患儿共检测出10种基因突变，其中以CD17、IVS-Ⅱ-654、CD41-42发生频率最高，与其他报道基本一致[4~6]，但IVS-Ⅱ-654发生率较高，是否有地区差异尚需大样本调查结果。

因β-地中海贫血分子基础及遗传方式较明确，故把基因分析应用于临床，做好婚前，产前检查和遗传咨询，对于预防β-地中海贫血，避免重型β-地中海贫血患儿出生有重要意义。

参 考 文 献

[1] 邓 兵，张 锦. 四川东部地区β-地中海贫血分子基础及产前诊断11例[J]. 中国小儿血液，1997;3:99-100.

[2] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 第2版，北京：科学出版社，1998;49-50.

[3] 苏承武，梁 荣，梁 徐，等. 应用聚合酶链反应技术检测广西儿童β-地中海贫血基因突变类型[J]. 中华儿科杂志，1995;33(1):41-43.

[4] 方建培，李文益，邓庆丽，等. 21例β-地中海贫血患儿的临床和基因诊断[J]. 实用儿科临床杂志，1995;10(5):259-261.

[5] 林洗平，赵应斌，苏承武，等. 13例重型β-地中海贫血的临床观察和基因分析[J]. 临床儿科杂志，1996;14(5):302-303.

[6] 刘伯林，方 军，刘菽秋，等. 成都地区β-地中海贫血基因突变型及产前基因诊断初步分析[J]. 华西医科大学学报，1995;26(4):361-366.

（上接第438页）

但股浅静脉第一对瓣膜，抗逆向压力强，其关闭正常时，压力仍可传导致远端，致使抗逆向压力弱的交通支瓣膜先发生关闭不全[5]。(2)交通支功能不全大多合并浅静脉功能不全，二者共同促成并加重下肢淤血，导致皮肤营养障碍性改变[6]。(3)“腓肠肌肌泵”功能异常，与小腿内侧交通支功能不全互相影响，导致皮肤发生改变。因此，下肢慢性静脉功能不全临床表现尤其是皮肤改变是多种因素造成局部血流动力学异常所致，而受多种因素影响的交通支功能不全可能是导致皮肤改变的主要原因。这提示了治疗小腿内侧交通支功能不全对改善慢性静脉功能不全的临床表现尤其是皮肤改变有着重要意义。

参 考 文 献

[1] Prepared by AN HOCCOMMITTEE AMERICAN VENOUS FORUM Classification and grading of chronic venous disease in the lower limbs: a consensus statement[J]. J Cardiovasc Surg, 1997;38(5):437-441.

[2] Delis KT, Ibegbuna V, Nicolaids AN. Prevalence and distribution of incompetent perforating veins in chronic venous insufficiency[J]. J Vasc Surg, 1998;28:815-825.

[3] Stuart WP. The relationship between the number, competence, and diameter of medial calf perforating veins and the clinical status in healthy and patients with lower-limb venous disease[J]. J Vasc surg, 2000;32(1):138-143.

[4] 金云法，张柏根. 交通支瓣膜功能不全在下肢静脉曲张中的意义[J]. 上海第二医科大学学报，1994;14(1):1-4.

[5] 孙建民，张培华，蒋米尔. 下肢深静脉倒流性功能不全和瓣膜功能定位检测[J]. 上海第二医科大学学报，1989;9(4):286-289.

[6] Sakurai T, Gupta PC, Matsnshita M, et al. Correlation of the anatomical distribution of venons reflux with clinical symptoms and venous haemodynamics in primary varicose veins[J]. Br J Surg, 1998;85:213-216.