

· 综 述 ·

多地区珠蛋白生成障碍性贫血的分子流行病学研究进展

王诗韵, 贾伟平*

(上海交通大学附属第六人民医院内分泌代谢科, 上海 200233)

【摘 要】珠蛋白生成障碍性贫血, 即地中海贫血, 是一组人类最常见的单基因遗传病。据世界卫生组织估计, 全球范围内至少有7%的人口携带该病致病基因, 主要分布于非洲、地中海、东南亚等热带及亚热带地区, 其引发的溶血性贫血严重危害着人类健康。因此, 进一步了解高发地区人群该病基因携带率、基因突变谱及分布特征, 对于疾病的预防、诊断和治疗有着重要意义。本文就国内外高发地区珠蛋白生成障碍性贫血的分子流行病学相关研究进展进行综述。

【关键词】血红蛋白; 地中海贫血; 基因突变; 遗传病

【中图分类号】 R556

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2014.000217

Molecular epidemiology of thalassemia in multiple geographic regions: a research progress

WANG Shi-Yun, JIA Wei-Ping*

(Department of Endocrinology and Metabolism, the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China)

【Abstract】 Thalassemia is a group of the most common human monogenic disorders. According to the World Health Organization, at least 7% of the population worldwide carries thalassemia associated genes. This disease is mainly distributed in Africa, Mediterranean, Southeast Asia and other tropical and subtropical regions. Hemolytic anemia caused by thalassemia is really harmful to human health. So it is of great importance to investigate the gene prevalence and spectrum of thalassemia in several areas with high incidences all over the world for the disease prevention, diagnosis and treatment. In this paper, we reviewed the research progress in molecular epidemiological analysis of thalassemias in multiple regions.

【Key words】 hemoglobin; thalassemia; gene mutation; inherited disorder

This work was supported by the Major Cultivation Project of National Natural Science Foundation of China (91331110).

Corresponding author: JIA Wei-Ping, E-mail: wpjia@sjtu.edu.cn

珠蛋白生成障碍性贫血, 即地中海贫血 (简称地贫), 作为最常见的遗传性溶血性贫血病, 其分子基础为珠蛋白基因的突变或缺陷, 导致珠蛋白肽链合成速率降低, 从而使各种肽链含量失衡, 游离的肽链容易沉降于红细胞上, 进一步引起红细胞在骨髓及外周血循环中被破坏。该病由Cooley等^[1]于1925年首先在意大利移民后代中发现, 故当时称之为库利贫血。随后, 系列调查表明, 这种溶血性贫血广泛分布于地中海的中部和东部地区, 地中海贫血 (mediterranean anemia) 因此得名。由于希腊文“thalass”代表“海”, “anemia”为“贫血”的意思, 故又称其为海洋性贫血 (thalassemia)。其临床

表现的多样性受到遗传背景和环境因素的共同作用^[2]。地贫在中东、印度、东南亚、中亚及外高加索等地区有较高发生率^[3], 究其原因, “疟疾选择学说”——即疟疾抗性造成的选择优势使珠蛋白缺陷基因在群体中保持一定频率, 被普遍认可^[4]。在我国, 长江以南的多个省区如广西、广东、海南、福建, 以及云南、贵州等少数民族密集区域是地贫的高发地区^[5]。另外, 突变、迁徙、隔离、漂变、融合、近亲婚配等因素参与不同民族、地区之间地贫分布差异的形成^[6]。面对全球地贫的高发生率, 进一步了解地贫的基因携带率、基因突变谱及分布特征, 对于该疾病的预防、诊断和治疗有着重要意义。

收稿日期: 2014-07-02; 修回日期: 2014-08-06

基金项目: 国家自然科学基金重大培育项目 (91331110)

通信作者: 贾伟平, E-mail: wpjia@sjtu.edu.cn

本文就国内外多个高发地区珠蛋白生成障碍性贫血分子流行病学相关研究进展综述如下。

1 伊朗

伊朗位于地中海东部地区,疟疾在其国家内呈现中度流行。通过对疟疾流行地区 α 地贫患者的研究发现^[7],被感染红细胞表面的高水平抗体成为抵抗疟原虫的有利因素。根据 α 肽链编码基因缺失与否,可分为缺失型和非缺失型 α 地贫。其中一个 α 基因的缺失记为 α^+ 地贫;两个 α 基因缺失则记为 α^0 地贫。 α^+ 地贫患者对抗疟疾的有效性使得该地区 α 地贫基因型逐渐从纯合子趋于杂合子。多地区大规模 α 地贫等位基因筛查表明^[8],伊朗发病率最高的 α 地贫基因型为右缺失型- α 3.7kb(缺失范围包括 α^2 基因3'端和 α^1 基因5'端在内的3.7kb DNA片段),基因携带率为60.2%。

此外,一项针对1048例小细胞低色素性贫血患者的基因型分析发现多项新型变异^[8]。通过 α 珠蛋白基因测序可知,3种新型 α^2 基因变异分别为CD34(CTG->CCG)、CD83(CTG->CGG)和无义突变CD7(AAG->UAG);另外2种新变异位于 α^1 基因上,即IVS-I-116(A->G)和CD44(+C)。关于IVS-I-116(A->G)突变,前期报道均位于 α^2 基因上^[10,11]。其发病机制为内含子碱基置换,导致剪接位点共识序列的破坏,从而产生异常的mRNA,使4条肽链中任何一条发生合成障碍,导致红细胞膜骨架异常,珠蛋白链沉淀,红细胞脆性降低,产生以脾和骨髓溶血为主的 α^+ 地贫。这些新变异不仅丰富了该地区 α 珠蛋白基因变异谱,更为指导地贫患者临床诊断、遗传咨询和产前诊断,分析 α 珠蛋白基因突变产物及其对人体健康造成的影响提供了有价值的基础资料。

2 泰国和印度

众所周知, β 地贫根据基因突变程度可以分为全缺失 β^0 地贫和部分减少 β^+ 地贫。按临床表现则分为轻型 β 地贫、中间型 β 地贫、重型 β 地贫以及胎儿血红蛋白持续存在症(hereditary persistence of fetal hemoglobin, HPFH)。其中,重型 β 地贫患者几乎不能合成 β 链,过剩的 α 链沉积在红细胞膜表面,引起膜的性能改变,会产生严重的溶血反应。对东南亚血红蛋白病的研究发现,复合型地贫占有相当比例^[12]。 $\alpha\beta$ 复合型地贫就是其中之一。由于复合型地贫患者其后代患中、重型地贫风险高于单纯 α 或 β 地贫携带者,故复合型地贫的检测对于指导遗传咨询

和产前诊断具有十分重要的临床价值。轻型 β 地贫复合 α 地贫(轻型复合型)常表现出 β 地贫携带者的临床特征,且症状较单纯 α 地贫或 β 地贫有所减轻,这可能是由于 α 链/非 α 链不平衡状况的改善从而减少体内无效造血所致。重型 β 地贫复合 α 地贫(重型复合型)患者的贫血程度轻重不一,大都表现为中间型地贫^[13]。

非缺失型地贫复合缺失型 α 地贫或缺失型 β 地贫的血液学表型也有所不同。Viprakasit等^[14]在泰国人群中发现4种罕见非缺失型 α 地贫变异,包括初始密码子变异CD1(-A), IVS-I-1(G->A)剪接位点变异, Hb Queens Park [α^1 CD32(ATG->AAG)]以及Hb Westmead [α^2 CD122(CAC->CAG)]。前3种变异和 α^0 地贫的复合作用可导致非缺失型Hb H病[- α (T) α 或- $\alpha\alpha$ (T)]。据相关报道,非缺失型Hb H病临床表型通常比缺失型Hb H病(- α)更加严重。然而,此例临床症状却较单纯 α 地贫轻,其相关作用机制还有待阐明。

Hb D-Punjab [β CD121(GAA->CAA)]广泛流行于印度西北部^[15],其 β 链121位谷氨酸位于分子表面非功能位,不参与血红素和珠蛋白链的结合,它的替代不影响血红蛋白分子结构和功能。因此,一般情况下,不产生任何临床症状。当其与Hb S复合存在时,血液学表型为镰状细胞贫血^[16]。在阿拉伯发现的1例Hb D Punjab复合 β 地贫也出现了 β 地贫的相关临床症状^[17],这意味着仅从血液学表型分析可能会造成静止型地贫的漏诊。

综上所述,复合型地贫的基因型和表现型关系比较复杂,仅仅根据基因突变类型不能完全预测血液学表型。在一方有 α 地贫情况下,孕前应对 β 地贫杂合子同时进行 α 地贫基因检测,避免复合型地贫的漏诊、误诊,从而进一步指导产前诊断和降低重型地贫患儿的出生。因此,开发更加先进的实验室分子检测技术来提供复合型地贫的基因咨询和诊断就显得尤为重要。

3 中国

我国长江以南的多个省区,如两广地区、福建、海南、贵州、云南等地是地贫的高发地区。多项大型人群地贫筛查均报道^[18-20],我国 α 地贫缺失型和非缺失型突变分别以-SEA、- α 3.7kb、- α 4.2kb和Hb CS、Hb WS、Hb QS为常见。对于点突变较为多见的 β 地贫而言,各地基因突变谱不尽相同。福建省开展的 β 地贫筛查显示^[21,22], IVS-II-654(C->T)和CD41/42(-TCTT)是最常见的突变类型,占据所有

突变的76.3%。其中, CD36 (-C) 和CD30 (AGG->GGG) 以及CD22 (GAA->AAA) 突变在中国人中首次发现; 两广及贵州地区均以CD41/42 (-TCTT) 和CD17 (AAG->TAG) 为常见 β 珠蛋白突变基因; 朱宝生等^[23]对云南省10 033例人群进行 β 地贫基因突变筛查表明, 该地区 β 珠蛋白基因变异以CD26 (GAG->AAG) 即Hb E最为常见。该位点突变能够激活邻近的隐蔽剪接点, 从而与正常剪接点竞争, 导致正常 β 珠蛋白肽链合成减少, 产生小细胞低色素性贫血的血液学表型。当其与不同类型地贫复合遗传时, 表型变化范围从无症状到严重溶血^[24,25]。复合 β 地贫点突变时, 患者血液学表型较Hb E纯合子加重^[26,27]; 与 α 地贫复合存在时^[28], 由于 α 链和 β 链同时合成障碍, 使得两种珠蛋白链的比例相对均衡, 患者血液学表型相对缓和。

通过对我国地贫高发地区开展大规模婚检及产前筛查, 能够进一步了解该地区地贫基因突变谱及各种突变类型分布情况, 从而找出流行病学规律, 为制定该地区地贫预防计划提供参考。

4 展 望

珠蛋白生成障碍性贫血作为单基因遗传病, 预防是控制该病流行的关键。扩大人群筛查范围, 加强宣教力度来进一步指导合理婚配, 鼓励产前遗传咨询与基因诊断来降低地贫的发病率。目前地贫主要的诊断技术包括常规血筛查、基因诊断、胎儿产前无创性基因检测等。其中, 基因诊断经历了DNA点杂交、限制性内切酶酶谱分析、限制性内切片段长度多态性连锁分析、寡核苷酸探针杂交、聚合链酶反应 (polymerase chain reaction, PCR) 体外基因扩增和芯片技术等发展阶段。PCR及其相关发展技术已成为最为普遍的诊断方法。近年来, 高分辨熔解曲线分析 (high resolution melting analysis, HRM) 技术备受关注^[34]。这是一种全新的突变扫描和基因分型的遗传分析方法。该操作不受突变碱基位点与类型局限, PCR结束后即可运行高分辨熔解, 进而完成对样品突变筛查、单核苷酸多态性、甲基化等分析。鉴于其快速高效与价格低廉的优势, HRM技术有望成为产前筛查的重要手段。地贫所致的溶血性贫血目前尚无有效的治疗方法。一般治疗主要包括去铁治疗、脾切除术、输血治疗和造血干细胞移植等。反义核酸技术及小RNA干扰技术等基因治疗手段是这场革命的核心, 基因调控和病毒载体也许能改进治疗手段, 但如何克服基因同源重组和病毒载体带来的副作用, 仍值得进一步的探索和研究^[30]。

【参考文献】

- [1] Cooley TB, Lee P. Erythroblastic anemia[J]. Am J Dis Child, 1932, 43: 705.
- [2] Dell'edera D, Epifania AA, Milazzo GN, *et al.* Identification of patients with defects in the globin genes[J]. J Prenat Med, 2013, 7(4): 47-50.
- [3] Cao A, Kan YW. The prevention of thalassemia[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2013, 3(2): a011775.
- [4] Weatherall DJ. Current trends in the diagnosis and management of haemoglobinopathies[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2007, 67(1): 1-2.
- [5] 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.
- [6] Denic S, Aden B, Nagelkerke N, *et al.* β -Thalassemia in Abu Dhabi: consanguinity and tribal stratification are major factors explaining the high prevalence of the disease[J]. Hemoglobin, 2013, 37(4): 351-358.
- [7] Rahimi Z. Genetic epidemiology, hematological and clinical features of hemoglobinopathies in Iran[J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 803487.
- [8] Jalali H, Mahdavi MR, Roshan P, *et al.* Alpha thalassemia gene mutations in neonates from Mazandaran, Iran, 2012[J]. Hematology, 2014, 19(4): 192-195.
- [9] Bayat N, Farashi S, Hafezi-Nejad N, *et al.* Novel mutations responsible for alpha-thalassemia in Iranian families[J]. Hemoglobin, 2013, 37(2): 148-159.
- [10] Harteveld CL, Van Lom K, Gomez Garcia EB, *et al.* The Dutch IVS-I-116 (A-->G) (alpha2) thalassemia mutation induces Hb H inclusion bodies when found in combination with the-alpha3.7 deletion defect[J]. Hemoglobin, 2003, 27(1): 49-51.
- [11] Harteveld CL, Heister JG, Giordano PC, *et al.* An IVS1-116 (A-->G) acceptor splice site mutation in the alpha 2 globin gene causing alpha + thalassaemia in two Dutch families[J]. Br J Haematol, 1996, 95(3): 461-466.
- [12] Fucharoen G, Yooyen K, Chaibunruang A, *et al.* A newly modified hemoglobin H inclusion test as a secondary screening for α -thalassemia in Southeast Asian populations[J]. Acta Haematol, 2014, 132(1): 10-14.
- [13] Chaibunruang A, Karnpean R, Fucharoen G, *et al.* Genetic heterogeneity of hemoglobin AEBart's disease: a large cohort data from a single referral center in Northeast Thailand[J]. Blood Cells Mol Dis, 2014, 52(4): 176-180.
- [14] Viprakasit V, Ekwattanakit S, Chalaow N, *et al.* Clinical presentation and molecular identification of four uncommon alpha globin variants in Thailand. Initiation codon mutation of alpha2-globin gene (HBA2: c.1delA), donor splice site mutation of alpha1-globin gene (IVSI-1, HBA1: c.95+1G>A), hemoglobin Queens Park/Chao Pra

- Ya (HBA1: c.98T > A) and hemoglobin Westmead (HBA2: c.369C > G)[J]. *Acta Haematol*, 2014, 131(2): 88–94.
- [15] Mutreja D, Tyagi S, Tejwani N, *et al*. Double heterozygous hemoglobin Q India/hemoglobin D Punjab hemoglobinopathy: report of two rare cases[J]. *Indian J Hum Genet*, 2013, 19(4): 479–482.
- [16] Patel S, Purohit P, Mashon RS, *et al*. The effect of hydroxyurea on compound heterozygotes for sickle cell-hemoglobin D-Punjab-A single centre experience in eastern India[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2014, 61(8): 1341–1346.
- [17] Belhoul KM, Bakir ML, Abdulrahman M. Misdiagnosis of Hb D-Punjab/beta-thalassemia is a potential pitfall in hemoglobinopathy screening programs: a case report[J]. *Hemoglobin*, 2013, 37(2): 119–123.
- [18] Yin A, Li B, Luo M, *et al*. The prevalence and molecular spectrum of alpha- and beta-globin gene mutations in 14332 families of Guangdong Province, China[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89855.
- [19] Yao H, Chen X, Lin L, *et al*. The spectrum of alpha- and beta-thalassemia mutations of the Li people in Hainan Province of China[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2014, 53(1–2): 16–20.
- [20] Wen BP, Fan M, Dai HJ, *et al*. Biochemical screening and genetic diagnosis of thalassemia in children from Kunming[J]. *Chin J Contemp Pediatr*, 2011, 13(2): 104–106. [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.]
- [21] Huang H, Xu L, Lin N, *et al*. Molecular spectrum of beta-thalassemia in Fujian Province, Southeastern China[J]. *Hemoglobin*, 2013, 37(4): 343–350.
- [22] Xu LP, Huang HL, Wang Y, *et al*. Molecular epidemiological analysis of α - and β -thalassemia in Fujian Province[J]. *Chin J Med Genet*, 2013, 30(4): 403–406. [徐两蒲, 黄海龙, 王燕, 等. 福建省籍各地市人群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(4): 403–406.]
- [23] Zhu BS, He J, Zhang J, *et al*. A study on gene mutation spectra of alpha- and beta-globin gene mutations in thalassemia populations of Yunnan Province and the prenatal gene diagnosis[J]. *Chin J Obstet Gynecol*, 2012, 47(2): 85–89. [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.]
- [24] Li YQ, Huang HP, Qin GF, *et al*. Phenotype and genotype analysis of hemoglobin E[J]. *Chin J Hematol*, 2012, 33(10): 861–864. [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(10): 861–864.]
- [25] Fucharoen S, Weatherall DJ. The hemoglobin E thalassemias[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(8). doi: 10.1101/cshperspect.a011734.
- [26] Atichartakarn V, Chuncharunee S, Archararit N, *et al*. Prevalence and risk factors for pulmonary hypertension in patients with hemoglobin E/ β -thalassemia disease[J]. *Eur J Haematol*, 2014, 92(4): 346–353.
- [27] Pornprasert S, Moriyama A, Kongthai K, *et al*. Detection of beta-thalassemia/hemoglobin E disease in samples which initially were diagnosed as homozygous hemoglobin E[J]. *Clin Lab*, 2013, 59(5–6): 693–697.
- [28] Li DZ, Zhou JY, Xie XM, *et al*. Association of Hb New York with Hb E and $\alpha(0)$ thalassemia in a Chinese woman identified by Sebia Capillary S2 system[J]. *Hemoglobin*, 2012, 36(2): 157–160.
- [29] Lin M, Jiao JW, Zhan XH, *et al*. High resolution melting analysis: a rapid screening and typing tool for common β -thalassemia mutation in Chinese population[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e102243.
- [30] Maakaron JE, Cappellini MD, Taher AT. An update on thalassemia intermedia[J]. *J Med Liban*, 2013, 61(3): 175–182.

(编辑: 周宇红)