检验与临床

广东韶关地区异常血红蛋白的分子流行病学调查

马占忠　杨辉　林敏　杨立业　黄文波　何凤屏　谢秀萍　郭艳乐

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81101329);韶关市科技计划项目(2013CX/K10);韶关市医药卫生科研计划项目(Y13199)

作者单位:512026　韶关市,汕头大学医学院附属粤北人民医院检验科(马占忠　何凤屏　谢秀萍　郭艳乐)
521021　潮州市,南方医科大学附属潮州市中心医院检验实验中心(杨辉　林敏　杨立业)
512026　韶关市,韶关学院医学院医学技术系(黄文波)

通讯作者:杨立业,E-Mail:yangleeyee@sina.com

【摘要】 **目的**　调查广东韶关地区异常血红蛋白(hemoglobin, Hb)的分子流行病学特点。**方法** 对 2011 年 11 月至 2012 年 5 月来我院就诊的 9731 例调查对象进行血细胞分析和 Hb 电泳筛查, 对电泳异常标本进行基因测序。**结果**　共发现 45 例异常 Hb 患者,发生率为 0.46%,其中 E 区带 7 例,G/D 区带 9 例,J 区带 7 例,K 区带 6 例,Q 区带 16 例。基因测序结果显示,α 珠蛋白基因变异 25 例,基因频率为 1.285×10^{-3},β 珠蛋白基因变异 20 例,基因频率为 1.028×10^{-3};发现 9 种异常 Hb 类型,包括 Hb Q-Thailand 16 例,HbE 7 例,Hb G-Chinese 6 例,Hb New York 6 例,Hb G-Coushatta 3 例,Hb J-Bangkok 3 例,Hb J-Broussais 2 例, Hb Ottawa 1 例,Hb G-Taipei 1 例。**结论**　韶关地区的异常 Hb 的发生率高于全国平均水平,异常 Hb 的基因类型及分布体现出客家人群特有的南方人群和北方人群交汇融合的特点。

【关键词】 异常血红蛋白;分子流行病学;基因测序

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2014.03.013

Molecular epidemiology survey of abnormal hemoglobin in Shaoguan region of Guangdong Province

MA Zhan-zhong[1], YANG Hui[2], LIN Min[2], et al. [1]Department of Clinical Laboratory, YueBei People´s Hospital Affiliated to Shantou Medical College, Shaoguan 512026, China　[2]Department of Clinical Center, the Affiliated Chaozhou Center Hospital of Nanfang Medical University, Chaozhou 521021, China

【Abstract】 **Objective**　To investigate the molecular epidemiological characteristics of abnormal hemoglobin (Hb) in Shaoguan, Guangdong Province. **Methods**　A total of 9731 cases local people from November 2011 to May 2012 were subjected to blood cell analysis and Hb electrophoresis screening. Electrophoresis abnormal specimens were further gene sequencing. **Results**　45 cases of abnormal Hb were found. The incidence was 0.46%, including 7 case E zone, 9 cases G/D zone, 7 cases J zone, 6 cases K zone, 16 cases Q zone. Gene sequencing results showed that there were 25 cases α likeglobin mutation and 20 cases β likeglobin mutation, and the gene frequency were 1.285×10^{-3} and 1.028×10^{-3}, respectively. 9 kinds of abnormal Hb were found including 16 cases of Hb Q-Thailand, 7 cases of HbE, 6 cases of Hb G-Chinese, 6 cases of Hb New York, 3 cases of Hb G-Coushatta, 3 cases of Hb J-Bangkok, 2 cases of Hb J-Broussais, 1 case of Hb Ottawa, 1 case of Hb G-Taipei. **Conclusion**　The incidence of abnormal Hb in Shaoguan is higher than the average of China. The gene type and distribution show a particular Hakka genetic characteristic of gene flow confluence of the south and north of China.

【Key words】 Abnormal hemoglobin; Molecular epidemiology; Gene sequencing

广东省是异常血红蛋白(hemoglobin, Hb)的高发区,异常 Hb 类型丰富,韶关位于广东省北部,是多民族聚居的地区,也是客家民系的聚居地之一。研究血红蛋白病在某个地域和民族的发病率以及分布可以追溯该民族的渊源及其迁徙历史[1]。为了明确该地区异常 Hb 的分子流行病学特点, 本文研究对韶关地区进行了异常 Hb 的分子流行病学调查。

1　资料与方法

1.1　临床资料　选择 2011 年 11 月至 2012 年 5 月期间来我院体检中心体检及普通门诊就诊者共 9731 例为调查对象。

1.2　方法

1.2.1 血细胞分析　采用 Sysmex XT2000i 全自动血液分析仪进行各项血液参数分析。

1.2.2 Hb 电泳　采用醋酸纤维薄膜电泳,依照电泳区带位置分为 H、J、K、A、F、Q、G/D 及 E 组,操作程序按照《全国检验操作规程》第三版。

1.2.3 DNA 提取　采用深圳亚能生物科技有限公司的 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA。

1.2.4 α 和 β 珠蛋白的基因扩增　对筛查阳性样本的 α 珠蛋白基因和 β 珠蛋白基因进行 PCR 扩增,引物序列参照文献[2]。扩增体系均为 50 μl,其中包括基因组 DNA 100 ng、200 μmol/L dNTPs 和 2.0 mmol/L $MgCl_2$, 上下游引物各 1 μmol/L,2.5 U Taq DNA 聚合酶(大连宝生物工程有限公司)。α 珠蛋白基因和 β 珠蛋白基因扩增条件均为:95 ℃预变性 5 min,94 ℃ 1 min,55 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min, 扩增 35 个循环,72 ℃延伸 5 min。

1.2.5 PCR 扩增产物测序　PCR 产物进行纯化,使用 ABI3730 双向测序。

2　结果

2.1 电泳筛查结果　本文研究 9731 例调查对象,发现 45 例异常 Hb 患者, 发生率为 0.46%(45/9731)。其中 E 区带 7 例,G/D 区带 9 例,J 区带 7 例,K 区带 6 例,Q 区带 16 例。

2.2 异常 Hb 基因类型　经基因测序共发现 9 种异常 Hb (见图 1、2), 其中 α 珠蛋白基因变异 25 例(25/45),基因频率为 1.285×10^{-3},β 珠蛋白基因变异 20 例(20/45),基因频率为 1.028×10^{-3}。α 与 β 基因突变频率,均符合 Hardy-Weinberg 平衡,表明研究对象来自同一群体,具有较好的代表性。

本文研究结果显示韶关地区异常 Hb 类型有:Hb Q-Thailand (HBA1:e.223G > C) 16 例,Hb E (HBB:c.79G> A)7 例,Hb G-Chinese(HBA2:c.91G> C) 和 Hb NewYork (HBB:c.341T> C) 各 6 例(6/45),Hb G-Coushatta (HBB:c.68A > C) 和 Hb J-Bangkok (HBB:c.170G> A) 各 3 例 (3/45),Hb J-Broussais 2 例,Hb Ottawa (HBA1:c.46G> C) 和 Hb G-Taipei(HBB:c.68A> G)各 1 例。

3　讨论

本文研究调查了韶关地区 9731 例受试对象,发现异常 Hb 45 例,发生率为 0.46%,韶关地区异常 Hb 发生率高于广东省的平均发生率(0.368%)和全国的平均发生率 0.337%, 远高于长江以北 15 省的平均水平(0.290%),亦高于长江以南 14 省的平均水平 (0.367%), 仅低于云南 (5.934%) 和江西 (0.507%)[2,3]。

韶关是客家人聚居地之一, 客家人是居住在岭南地区有上千年历史的一个重要民系。据史料记载,客家先民主要来自中原汉族, 是历代因战乱从中原大规模迁徙而至, 在南迁过程中闽粤赣地区的古越族移民融合而形成客家民系[4]。通过本文以往对梅州客家人的异常 Hb 分子流行病学调查发现的基因类型及频率可以看出, 客家人群具有南方人群与北

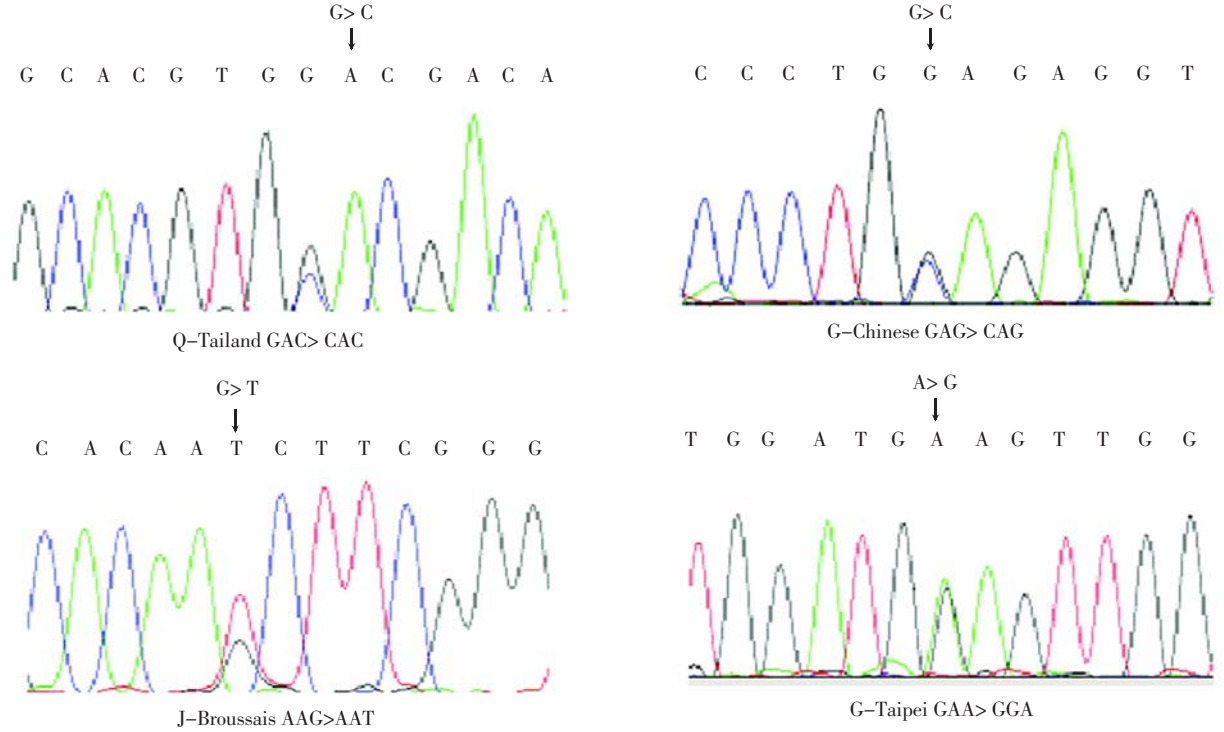

图 1　异常血红蛋白测序图

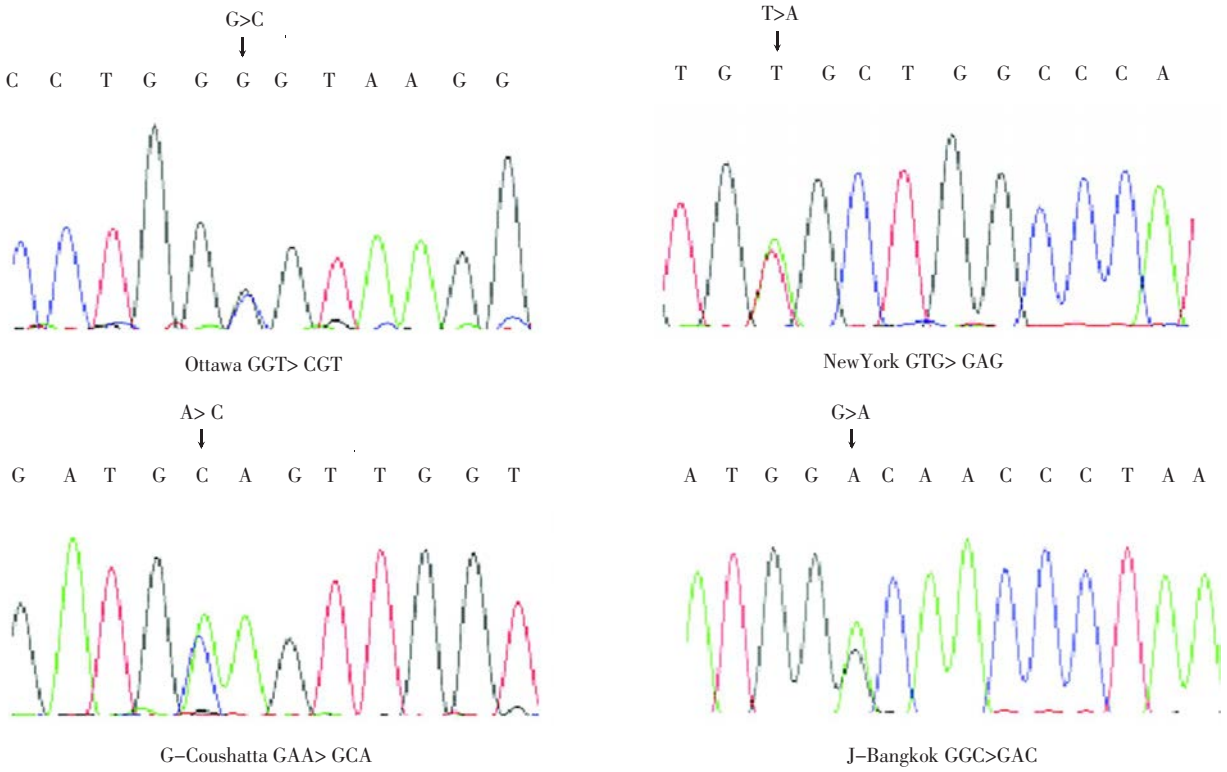

图 2 异常血红蛋白测序图

方人群交汇融合的特点，既有较高比例的北方人群常见的异常 Hb G/D 组，也有南方人群常见的异常 Hb E 组和 J 组[5]，本文研究中 Hb 电泳结果与这一结论吻合。进一步基因分析发现韶关地区异常 Hb 以 Hb Q -Thailand、Hb E、Hb G -Chinese 和 Hb NewYork 为主，其异常 Hb 的分布符合南方地区的特征。发现的 G 组异常 Hb 也以南方常见的 Hb G-Chinese 为主，而与我国北方以 Hb G-Coushatta 为主不同[6]。

本文研究结果发现，韶关地区以 Hb Q-Thailand 最多，远高于第二位的 Hb E，亦明显高于其他地区和民族的此种异常 Hb 的发生率，支持以往的 Hb Q-Thailand 主要分布于客家人，随着客家人祖先南迁和漂泊传递到世界的推论[1]。此外，本文研究还发现了 2 例 J-Broussais，1978 年此种异常 Hb 在一个澳大利亚家庭中发现，此后分别在法国人、法裔加拿大人和日本人中都有发现[7-8]，中国的首例报告也是在与韶关临近的梅州客家人中发现[9]，通过分析两地的异常 Hb 分布，发现两者相似度很高，由此可推测两地的客家人由共同的祖先南迁而来。

4 参考文献

1 杜若甫，主编. 中国人群体遗传学. 北京：科学出版社，2004，202-206.

2 Lin M, Wang Q, Zheng L, et al. Prevalence and molecular characterization of abnormal hemoglobin in eastern Guangdong of southern China. Clin Genet, 2012, 81: 165-171.

3 Lin M, Han ZJ, Wang Q, et al. Molecular epidemiological survey of hemoglobinopathies in the Wuxi region of Jiangsu Province, eastern China. Hemoglobin, 2013, 37: 454-466.

4 李辉，潘悟云，文波，等. 客家人起源的遗传学分析. 遗传学报，2003，30：873-879.

5 Lin M, Wen YF, Yang LY, et al. Hemoglobinopathy: molecular epidemiological characteristics and health effects on Hakka people in the Meizhou region, southern China. PLoS One, 2013, 8: e55024.

6 王妍，林敏，韩志君，等. 江苏省无锡地区异常血红蛋白病的流行病学调查. 实用医学杂志，2012，28：316-318.

7 Fleming PJ, Arnold BJ, Thompson EO, et a1. Hb I alpha16 Lys leads to Glu and Hb Broussais alpha90 Lys leads to Asn in Australian families. Pathology, 1978, 10: 317-327.

8 Braconnier F, Cohen-Solal M, Schlegel N, et a1. Broussais alpha-2 90 Lys leads to Asn beta-2A(FG2) discovered in a Martinique family. Comparison of several analytical technics. Nouv Rev Fr Hematol, 1975, 15: 333-342.

9 温应芳，林敏，刘桂荣，等. 广东梅州地区的异常血红蛋白的分子流行病学调查. 重庆医科大学学报，2011，36：1496-1499.

（收稿日期：2014-05-25）

（本文编辑：张志成）