

中国人血红蛋白 HbQ-Thailand 的研究¹⁾

曾溢滔 黄淑帧 任兆瑞 周霞娣 仇效坤

(上海市儿童医院医学遗传研究室)

关键词 异常血红蛋白;地理分布; α 珠蛋白基因组织

内 容 提 要

本文综合报道在中国大陆发现的十个 HbQ-Thailand 家系及其在中国大陆的地理分布,并对 α^Q 基因组织进行分析。

HbQ-Thailand (简称 HbQ) 是一种慢速异常血红蛋白,首先由 Vella 等在新加坡的一个华人家庭中发现 (Valla 等, 1958), 继后在东南亚其它国家和地区 (Lorkin 等, 1970), 我国台湾省 (Blackwell 等, 1970) 和大陆 (曾溢滔等, 1983) 等地均有发现。由于 HbQ 在探讨 α -珠蛋白基因组织和突变发生的分子基础以及群体研究方面具有特殊的价值, 吸引着国内外许多学者的兴趣。自 1980 年, 我国开展了大规模的血红蛋白病普查, 从全国许多省、市送到上海市儿童医院医学遗传研究室完成化学结构分析的近 200 个异常血红蛋白样品中, 共发现十个 HbQ-Thailand 家系。本文综合报道这些 HbQ 家系的研究结果和遗传学资料, 并对 HbQ 的地理分布及 α^Q 的发生进行了讨论。

十个 HbQ 家系均为汉族, 原籍为我国南方的江西、广东和广西三省。共调查了 64 名成员, 发现 30 名 HbQ 患者, 其中包括三例 HbQ-H 病患者。所有 HbQ 杂合子均无临床症状和血液学变化。但三例 HbQ-H 病患者均有不同程度的贫血和肝脾肿大等溶血表现。血液学检查发现红细胞形态不规则, 有 H 包涵体, 网织红细胞数增高。血红蛋白检查发现在他们的血液中不仅有大量的 HbQ, 而且还有 HbH, 但无 HbA 和 HbA₂ (黄淑帧等, 1984)。

一、HbQ 的化学结构分析

各家系 HbQ 患者的 ACD 抗凝静脉血制成溶血液和珠蛋白, 按上海市儿童医院医学遗传研究室的常规方法 (曾溢滔等, 1984) 进行血红蛋白的理化性质测定, 珠蛋白的尿素柱层析解离和纯化, 胰酶消化和消化产物的指纹图谱分析或高效液相色谱 (HPLC) 分离, 异常肽段嗜热菌酶第二次酶解和 HPLC 的再分离, 以及肽段的氨基酸组成测定和顺

1) 本研究部分受美国国立卫生研究院科研基金 (USPHS Research Grant HLB-29623) 的资助。

序分析,证实 HbQ 的 α 链N端第 74 位门冬氨酸被组氨酸替代(曾溢滔等, 1983)。

二、HbQ 患者的 α 珠蛋白基因组织分析

取 HbQ-H 病患者抗凝静脉血,抽提白细胞中的 DNA,用限制性内切酶 Bgl II 消化后作 α 珠蛋白基因图谱分析,发现包括 α_2 珠蛋白基因及其两侧共 4.2Kb 的片段缺失,与中国人中常见的左侧缺失型 α -地中海贫血 2 的缺失片段大小一致(图 1),证实 α_1 珠蛋白基因的位点是 α^Q ,而与其连锁的 α_2 珠蛋白基因同时发生缺失,故 HbQ-H 病人的基因型应为 $-\alpha^Q/-$ 。

起点 origin 12.5 7.7kb

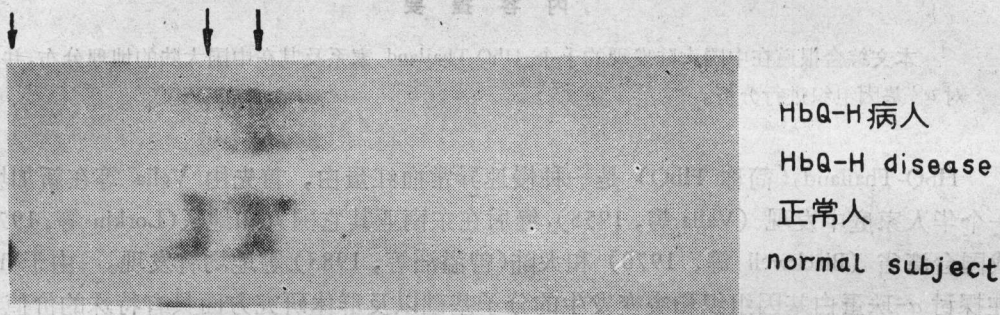


图 1 用限制性内切酶 Bgl II 消化生成的 DNA 片段放射性自显影图(用 [32 P] α -cDNA 作探针)

Autoradiogram of DNA fragment produced by digestion with restriction endonuclease Bgl II ([32 P] α -cDNA is used as probe)

三、讨 论

HbQ 是我国较常见的一种异常血红蛋白。根据我们近年来对全国各地近 200 个家系异常血红蛋白化学结构分析的资料统计,HbQ 的发生率仅次于 HbE 和 Hb New York。把本文报道的十个 HbQ 家系依其发现的省份绘制成 HbQ-Thailand 在中国大陆的分布图(图 2)。从图中可以看出,HbQ 集中分布在我国南方,这与 HbQ 在东南亚也较常见的地理分布相吻合。迄今为止文献报道的 HbQ 患者均为华人或华裔(Weatherall 和 Clegg, 1981)。因此 HbQ 的这种地理分布,对人群的迁移和民族之间的关系提供了有价值的资料。

在一般人群中,每个双倍体基因组合有四个 α 珠蛋白基因(Lehmann 等, 1968),即每一条 16 号染色体上都有两个相互连锁的 α 位点,分别称为 α_2 (左侧)和 α_1 (右侧)基因,如果缺失一个 α 珠蛋白基因,导致 α 地中海贫血 2;缺失二个 α 珠蛋白基因,导致 α 地中海贫血 1;如缺失三个 α 珠蛋白基因则产生 HbH 病(Kan 等, 1975),因此推测 HbQ-H 病患者血液中没有 HbA 和 A₂ 是由于与 α^Q 连锁的那个 α 珠蛋白基因也同时缺失。Lie-

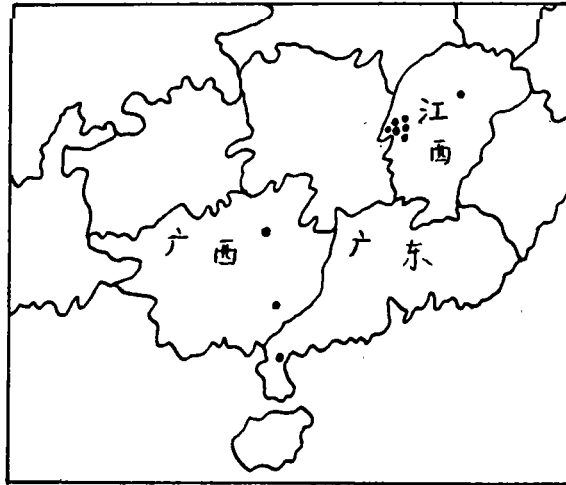


图 2 HbQ 在中国南方的地理分布

Geographical distribution of HbQ in South China

Injo 等 (1979) 曾对两名 HbQ-H 病患者进行了 α 珠蛋白基因的限制性内切酶酶谱和 DNA 分子杂交分析, 实验结果证实与 α^Q 连锁的另一个 α 珠蛋白基因确实是缺失的。但他们由于受当时所使用的内切酶的限制, 尚未能判断缺失的 α 基因究竟是 α_1 基因还是 α_2 基因。我们对 HbQ-H 病患者的研究进一步发现缺失的位点是 α_2 珠蛋白基因 (左侧缺失型)。这一结论与 Pagnier 等 (1982) 在柬埔寨发现的一个 HbQ 家系的 α 珠蛋白基因组织的分析结果完全相同。至今各国报道的 HbQ 病例无一例外地都同时组合了 α 地中海贫血 2。这提示这种组合在形成的一开始或许就具有某种选择优势而世代保存下来, 并使 α^Q 以较高的频率存在在人群之中, 因此探讨 α^Q 的发生和这种组合的特殊关系确是令人感兴趣的课题。在我国南方, α 地中海贫血 2 的发生率很高, 我们推测可能在原有 α 地中海贫血 2 的基础上发生了 α^Q 点突变, 才形成 HbQ 中异常血红蛋白与 α 地中海贫血这种特殊的双重组合, 其途径可能有三: (1) 16 号染色体上的 α_2 基因完全缺失 (缺失片段大小为 4.2Kb), 然后在 α_1 位点上再发生顺式点突变。(2) 16 号染色体上的 α_2 基因缺失 (缺失片段大小为 4.2Kb), 而 α_1 位点上发生反式点突变, 再通过基因的同源交换形成 α_2^{del} 与 α_1^Q 呈顺式排列。(3) 携有 α_1^Q 的 16 号染色体在减数分裂时与同源染色体发生错配和基因间的不等交换, 导致 α_2 基因的缺失和顺式的 α^Q 点突变。

由于人类双倍体基因组的 α 珠蛋白基因共有四个位点, 理论上任何一个位点均可发生突变而产生不同的基因型。因此是否在人群中还存在着与右侧缺失型 α 地中海贫血 2 相复合的 HbQ, 以及不是 α_1 位点, 而是 α_2 位点突变为 α^Q 的情况呢? 至少在另一种异常血红蛋白 Hb G-Philadelphia (Milner 等, 1976) 已发现 Hb G 成分自 20—100% 不等的 α 珠蛋白基因不同组合的各种基因型, 以及 HbG 的纯合子和不与 α 地中海贫血 2 伴随的 Hb G (Weatherall 和 Clegg, 1981, Bruzdinski 等, 1984)。因此进一步对我国各地区发现的 HbQ 作广泛和深入的研究, 特别是对 HbQ 的 α 基因组织和结构进行分析,

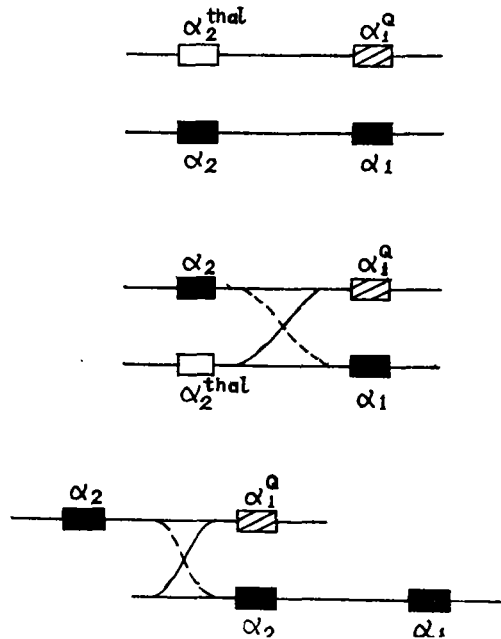


图 3 α_2^{thal} 与 α_1^{Q} 连锁的可能机制

- (1) α_2 基因缺失, α_1 基因发生顺式点突变;
- (2) α_2 基因缺失, α_1 基因发生反式点突变, 并发生基因的同源交换;
- (3) 染色体错配和基因间不等交换

Production of linked α_2^{thal} and α_1^{Q} genes by

- (1) hemoglobin Q mutation occurring on α_1 locus of the *16 chromosome bearing a deleted α_2 gene;
- (2) a chromosomal cross-over occurring between the two *16 chromosomes bearing α_2^{thal} or α_1^{Q} respectively;
- (3) an unequal cross-over occurring between the two *16 chromosomes, one of which bearing a hemoglobin Q mutation on the α_1 locus

将能揭示 α^{Q} 基因的起源和在人群中分布的异质性, 对于民族的迁移和民族起源关系的研究具有重要意义。

承蒙桂林市人民医院、江西萍乡矿务局职工医院、江西中医学院附属中医院、广西医学院和湛江医学院等单位提供分析样品, 谨致谢意。

(1984年9月3日收稿)

参 考 文 献

- 黄淑帧、盛敏、仇效坤、曾溢滔、易顺成、王长奇、周选明、文海萍, 1984. HbQ-H 病的生化遗传研究. 遗传, 6: 26—28.
- 曾溢滔、黄淑帧、周霞梯、盛敏、冯际平、陈美珏、仇效坤、易顺成、王长奇、周选明、文海萍, 1983. 在中国发现的一个 HbQ-Thailand 家系的研究. 生物化学和生物物理学报, 15: 423—432.
- 曾溢滔、黄淑帧, 1984. 在我国发现的异常血红蛋白的化学结构研究. 生物化学和生物物理学报, 16: 270—276.
- Blackwell, R. Q. and C. S. Lin, 1970. Hemoglobin G Taichung: $\alpha 74 \text{ Asp} \rightarrow \text{His}$. B. B. A., 200: 70—75.
- Bruzdzinski, C. J., K. L. Sisco, S. J. Ferruci and D. L. Rucknagel, 1984. The occurrence of the α G-Philadelphia globin allele on a double-locus chromosome. Am. J. Hum. Genet. 36: 101—109.
- Kan, Y. W., A. M. Dozy, H. E. Varmus, J. M. Taylor, J. P. Holland, L. E. Lie-Injo, J. Ganesan, and D. Todd, 1975. Deletion of α -globin genes in hemoglobin H disease demonstrate multiple α -globin structural loci. Nature, 255: 255—256.
- Lehmann, H. and R. W. Carrell, 1968. Difference between α and β thalassemia, possible duplication of α chain gene. Br. Med. J., 4: 748—750.
- Lie-Injo, L. E., A. M. Dozy, Y. W. Kan, M. Loose and D. Todd, 1979. The α -globin genes adjacent to the gene for Hb Q 74 Asp \rightarrow His is deleted but not that three fourths of the α -globin genes are deleted in Hb Q-thalassemia. Blood, 54: 1407—1416.
- Lorkin, P. A., D. Charlesworth, H. Lehmann, S. Tsuchida and L. E. Lie-Injo, 1970. Two hemoglobin Q $\alpha 74$ (EF3) and $\alpha 75$ (EF4) Asp \rightarrow His. Br. J. Hematol., 19: 117—125.
- Milner, P. F. and T. H. J. Huisman, 1976. Studies of the proportion and synthesis of hemoglobin G Philadelphia in red cells of heterozygites and a homozygote and a heterozygote for both hemoglobin G and α -thalassemia. Br. J. Hematol., 34: 207—220.
- Pagnier, J., J. Elion and C. Lapoumeroulie, 1982. Homozygous deletion of α -thalassemia association

- with unequal expression of two remaining α_1 gene (α_1 and α_2) *Br. J. Hematol.*, 52: 115—125.
- Vella, F., R. H. C. Wells, J. A. M. Agra and H. Iemann, 1958. A hemoglobinopathy involving hemoglobin H and new (Q) hemoglobin. *Br. Med. J.* 1: 752—755.
- Weatherall, D. J. and J. B. Clegg, 1981. *The Thalassemia Syndrome* p. 619, Third Edition, Blackwell, Oxford, London.

A STUDY ON HEMOGLOBIN Q-THAILAND IN CHINA¹⁾

Zeng Yitao Huang Shuzhen Ren Zhaorui Zhou Xiadi Qiu Xiaokun

(Laboratory of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital)

Key words Abnormal Hemoglobin; Geographical Distribution; Organization of α -globin Genes

Summary

This paper presents the data of a study on ten HbQ families found in China mainland. Of the ten, 30 individuals were HbQ carriers. Three of them were double heterozygotes for HbQ and α -thalassemia genes and had HbQ-H disease, a severe hemolytic anemia associated with HbQ, H, and Q₂ but no HbA or A₂ in their blood.

From the geographical distribution of HbQ in China, it is clear that this variant is common in the southern part of China and is consistent with the fact that HbQ is more commonly found in South-East Asia.

Analysis of chemical structure of the variant, including separation of globin chains by CMC, digestion of the abnormal α -chain with TPCK-trypsin, using finger-printing and HPLC of the tryptic digests, digestion of the abnormal peptide and HPLC of thermolytic digests, as well as analysis of amino acids composition and the sequencing of the abnormal peptide, indicated that aspartic acid was replaced by histidine at α 74.

DNA was isolated from leucocytes of the HbQ-H patients and then digested with restriction endonuclease Bgl II. The results showed that normal 12.5 Kb α -specific fragment was absent but only one 7.7 Kb α -specific fragment present in the Bgl II pattern, It thus indicated that these cases of HbQ-H disease corresponded to a leftward deletion form of α -thalassemia and the genotype of the patients was identified as $-\alpha^Q/-$.

The origin of the linkage of HbQ with leftward deletion of α -thalassemia 2 genes was discussed and considered that it would result from: (1) HbQ mutation occurring on the α_1 locus of the #16 chromosome bearing a deletion of gene; or (2) a chromosome cross-over occurring between the two #16 chromosome bearing α_2^{thai} or α_1^Q gene respectively; or (3) an unequal cross-over occurring between the two #16 chromosomes, one of which bearing a HbQ mutation on the α_1 locus.

1) This study was in part supported by USPHS Research Grant HLB-29623