

HK 型 α 珠蛋白生成障碍基因诊断及家系分析*

姚亚超¹, 李 磊², 李泽泳¹, 李亚红¹, 李 楠¹, 张 珍¹, 严 芳¹, 张 智^{1△} (1. 广东省第二人民医院检验医学部, 广州 510317; 2. 广州医科大学附属第三医院生殖医学中心/广东省生殖医学重点实验室, 广州 510150)

【摘要】 目的 建立 HK 型 α 珠蛋白生成障碍基因的分子诊断方法, 为临床产前诊断和遗传咨询提供指导。**方法** 单管多重 Gap-PCR 的方法检测 3 种常见 α 缺失型珠蛋白生成障碍, PCR 结合反向斑点杂交 (RDB) 技术检测 α^{CS} 、 α^{QS} 、 α^{WS} 3 种 α 非缺失型珠蛋白生成障碍, 巢式 PCR 检测 HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠蛋白生成障碍。总结 HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠蛋白生成障碍基因型及临床表型。比较 HK $\alpha\alpha$ 型胎儿基因变异与家系关系。**结果** 在 8 000 例疑似 α 珠蛋白生成障碍患者中, HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠蛋白生成障碍患者 27 例且存在 3 个 HK $\alpha\alpha$ 家系, 发现 1 例罕见的 α^{QS} 和 HK $\alpha\alpha$ 的混合杂合子 ($\alpha^{QS}/HK\alpha\alpha$)。**结论** 巢式 PCR 可检测 HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠蛋白生成障碍, 用于育龄夫妇的基因诊断和高风险胎儿的产前诊断。

【关键词】 α 珠蛋白生成障碍; 产前诊断; 系谱; HK $\alpha\alpha$

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 12. 006 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)12-1672-04

Molecular diagnosis and pedigree analysis of HK $\alpha\alpha$ thalassemia* YAO Ya-chao¹, LI Lei², LI Ze-yong¹, LI Ya-hong¹, LI Nan¹, ZHANG Zhen¹, YAN Fang¹, ZHANG Zhi^{1△} (1. Department of Clinical Laboratory Medicine, the Second People's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong 510317, China; 2. Department of Reproductive Medicine Center, Key Laboratory for Reproductive Medicine of Guangdong Province, Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510150, China)

【Abstract】 Objective To establish a method for detection the genotype of HK in α -thalassemia and to provide a precise pregnant diagnosis and an effective genetic counseling for thalassemia (thal). **Methods** The single tube complex PCR was used to detect 3 types of deletional α -thal. Reverse dot blotting (RDB)/PCR to detect 3 kinds of undeletional α -thal- α^{CS} , α^{QS} and α^{WS} which were common in Chinese population. The method of two-round nested PCR assay is successfully established to detect the genotype of HK in α -thal. Then we collect the clinical data of the patients with the genotype of HK in α -thal and analyse the association between the genotype and hematological phenotype. Further, we analyse the relationship between fetal genotype variation and the pedigree. **Results** A total of 8 000 cases from Guangdong were undergone thal genotype genetic diagnosis. Among the 8 000 cases, 27 cases were diagnosed as the genotype of HK in α -thal, including 3 pedigrees. We report the pregnant diagnosis results for which the parents had the same type of genotype. Moreover, the hematological phenotype data were collected. **Conclusion** The two-round nested PCR method could effectively detect the HK genotype in α -thal. Through careful molecular tests, one case of prenatal heterozygosity of $\alpha^{QS}/HK\alpha\alpha$ was identified, and the fetus is kept successfully through careful clinical counseling.

【Key words】 alpha-thalassemia; prenatal diagnosis; pedigree

α 珠蛋白生成障碍是一种世界范围的遗传性血液病, 主要发生在东南亚和中国的热带和亚热带区域^[1]。我国广西的 α 珠蛋白生成障碍携带率为 17.55%, 广东为 8.53%^[2]。 α 珠蛋白生成障碍是 α 珠蛋白基因簇的缺失或者非缺失突变而引起的小细胞低色素性贫血, α 珠蛋白基因簇的顺序为: 5'- ζ 2- Ψ ζ 1- Ψ α 2- Ψ α 1- α 2- α 1- θ -3'。 α 2 和 α 1 珠蛋白基因高度同源, 包含 3 段同源性序列 (X、Y、Z 同源盒); 这 3 个同源盒由非同源区域 (I、II、III) 截断隔开^[3]。

在我国南方珠蛋白生成障碍流行地区, $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 是最常见的几种 α 珠蛋白生成障碍的缺失类型^[2,4-5]。其他种类的 α 珠蛋白生成障碍, 如 $-\text{H}^{1.1}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{27.6}/\alpha\alpha$ 、 α 珠蛋白基因多联体 ($\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}$ 和 $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}4.2}$) 也被检测出^[6-8]。 α 珠蛋白基

因的缺失或者增多是同源性或者非同源性重组的结果, 常见 α 2 和 α 1 珠蛋白基因之间不平等交换可产生单个 α 珠蛋白基因的缺失 ($-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$), 以及对侧重复的三联体基因 ($\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}$ 和 $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}4.2}$), 这些突变均可通过 Gap-PCR 的方法检测^[9]。此外, 在 α 珠蛋白基因簇区域有更为复杂的交换, 可产生四联体基因 $\alpha\alpha\alpha\alpha$ 、成组出现的 α 2 和 α 1 珠蛋白基因 (α 212 和 α 121)、HK $\alpha\alpha$ 基因^[10-15]。HK $\alpha\alpha$ 基因是 $-\alpha^{3.7}$ 和 $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}4.2}$ 不等位交换形成, 仅有极少数文献报道^[14-15]。本研究拟建立一种检测 HK $\alpha\alpha$ 的方法, 通过产前诊断发现 1 例罕见 α^{QS} 和 HK $\alpha\alpha$ 的混合杂合子 ($\alpha^{QS}/HK\alpha\alpha$), 现对其进行验证并进行其家系分析。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 12 月至 2014 年 8 月广东省第

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (81400639); 广州医科大学博士启动基金项目 (2014C39)。

作者简介: 姚亚超, 女, 博士, 主管技师, 主要从事分子生物学研究。 Δ 通讯作者, E-mail: yalw135@126.com。

二人民医院 8 000 例疑似 α 珠蛋白生成障碍患者的孕前咨询夫妇、孕妇的资料。记录受检者姓名、性别、年龄等信息,血红蛋白(Hb)电泳、血常规检测结果资料和基因诊断结果,由广东省第二人民医院中心实验室汇总后输入 Excel 软件数据库中保存。

1.2 样本采集 采集受检者外周血 3 mL,乙二胺四乙酸抗凝;胎儿标本均为羊水,每例分 3 管共抽取羊水 10 mL。按磁珠法提取外周血标本的基因组 DNA,羊水标本采用 DNA 提取试剂盒(Qiagen 公司)由双人独立提取双份产前标本 DNA。

1.3 血液学表型分析 采用细胞计数仪(X-2100,日本 Sysmex 公司)进行红细参数分析;使用快速自动电泳分析系统(法国 Sebia 公司)进行 Hb 电泳及 Hb 组分定量检测。

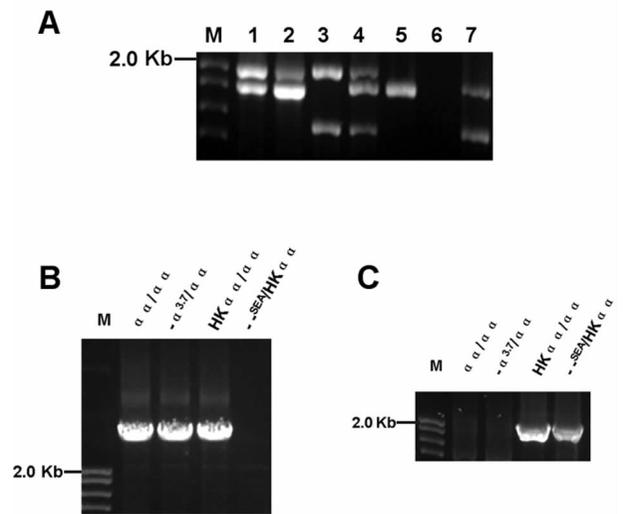
1.4 基因型分析 α 珠蛋白生成障碍的分子诊断采用单管多重跨越断裂位点聚合酶链反应(Gap-PCR)技术检测 3 种常见 α 缺失型珠蛋白生成障碍;相关引物参考文献[16],引物由上海英骏生物技术有限公司合成。采用 Takara 公司生产的 LA 酶配置 PCR 反应体系,反应条件:预变性 96 °C 5 min;先进行 10 个循环:98 °C 45 s,62 °C 1 min 30 s,72 °C 3 min;再进行 25 个循环:98 °C 30 s,62 °C 45 s,72 °C 3 min;最后延伸 72 °C 10 min。见表 1。PCR 结合反向斑点杂交(RDB)技术检测 α^{CS} 、 α^{QS} 、和 α^{WS} 3 种 α 非缺失型珠蛋白生成障碍。常规电泳检测发现的特殊条带标本,采用巢式 PCR 检测出 HK $\alpha\alpha$ 型珠蛋白生成障碍。Gap-PCR 检测常规 α 缺失后,扩增结果显示 $-\alpha^{3.7}$ 和 $\alpha 2$ 基因,且 $-\alpha^{3.7}$ 电泳条带非常细弱, $\alpha 2$ 基因条带浓粗时,经过 2 次电泳证实此现象,疑为 HK $\alpha\alpha$ 基因存在。电泳结果显示为 $-\alpha^{3.7}$ 、 $\alpha 2$ 基因、 $-\text{SEA}$ 3 个条带时,同样考虑 HK $\alpha\alpha$ 基因存在,对可疑样本再进行 HK $\alpha\alpha$ 检测。采用 Takara 公司生产的 LA 酶配置 PCR 反应体系,反应条件:预变性 95 °C 5 min;35 个循环:97 °C 1 min,60 °C 2 min,72 °C 4 min;最后延伸 72 °C 10 min。将巢式 PCR 第 1 轮扩增产物稀释 1 000 倍后,作为第 2 轮扩增的模板,采用 Takara 公司生产的 LA 酶配置 PCR 反应体系,反应条件:预变性 95 °C 5 min;35 个循环:97 °C 1 min,60 °C 2 min,72 °C 4 min;最后延伸 72 °C 10 min。使用针对部分 Z2+和 Z1 同源盒的引物($\alpha 2/3.7\text{-F}$ 和 3.7-R)来扩增 HK $\alpha\alpha$ 基因;基因型为 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 和 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 的标本在 1.9 Kb 位置处无相应条带的出现。

2 结 果

2.1 HK 型 α 地中海贫血基因分子诊断结果 Gap-PCR 检测常规 α 缺失后,扩增结果显示 $-\alpha^{3.7}$ 和 $\alpha 2$ 基因,且 $-\alpha^{3.7}$ 电泳条

带非常细弱, $\alpha 2$ 基因条带浓粗时,经过 2 次电泳证实此现象,疑为 HK $\alpha\alpha$ 基因存在。电泳结果显示为 $-\alpha^{3.7}$ 、 $\alpha 2$ 基因、 $-\text{SEA}$ 3 个条带时同样考虑 HK $\alpha\alpha$ 基因的存在。选择可疑标本 2 号和 4 号进行 HK 基因的验证。电泳结果显示各个组均扩增出 $\alpha 1$ 基因位置处的同源盒序列。将第 1 轮的扩增产物稀释 1 000 倍后作为第 2 轮扩增的模板,使用针对部分 Z2+和 Z1 同源盒的引物 $\alpha 2/3.7\text{-F}$ 和 3.7-R 来扩增 HK $\alpha\alpha$ 基因,基因型为 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 和 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 的标本在 1.9Kb 位置处无相应条带的出现。见图 1。

2.2 基因诊断及血液学分析结果 8 000 例基因分析确诊的珠蛋白生成障碍患者中, HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠蛋白生成障碍患者 27 例。27 例 HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠蛋白生成障碍患者中,检出 HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 19 例、 $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$ 7 例、 $\alpha^{QS}/\text{HK}\alpha\alpha$ 1 例;27 例 HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠蛋白生成障碍患者存在 3 例 HK $\alpha\alpha$ 家系。血液学分析结果显示, HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 的血常规结果表现正常; $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$ 患者的血常规检测结果表现为小细胞、低色素,但贫血症状较轻或无贫血。临床症状较 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 严重,但没有达到 $-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 的严重程度[17]。见表 2。



注: A 图为单管多重 Gap-PCR 方法检测 3 种常见 α 缺失型珠蛋白生成障碍;1: $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$; 2: HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$; 3: $-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$; 4: $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$; 5: 正常对照;6: 空白对照;7: SEA 对照。B 图为第 1 轮 PCR。C 图为巢式 PCR 检测 $-\alpha^{3.7}$ 条带。

图 1 巢式 PCR 检测 HK $\alpha\alpha$ 片段电泳图

表 1 多重及巢式 PCR 检测 α 地贫的引物序列

引物名称	序列(5'~3')	检测类型(产物大小)
A2/3.7-F	CCC CTC GCC AAG TCC ACC C	$-\alpha^{3.7}$ 缺失 (2 022/2 029 bp)
3.7-R	AAA GCA CTC TAG GGT CCA GCG	
A2/3.7-F	CCC CTC GCC AAG TCC ACC C	$\alpha 2$ 基因(1 800 bp)
A2-R	AGA CCA GGA AGG GCC GGT G	
4.2-F	GGT TTA CCC ATG TGG TGC CTC	$-\alpha 4.2$ 缺失 (1 628 bp)
4.2-R	CCC GTT GGA TCT TCT CAT TTC CC	
SEA-F	CGA TCT GGG CTC TGT GTT CTC	-- SEA 缺失(1 349 bp)
SEA-R	AGC CCA CGT TGT GTT CAT GGC	
L-anti4.2-F	CCT TGC ACC GGC CCT TCC TGG TC	X1 到 Z1 盒之间(4 500 bp)
L-3.7-R	CCT CAA AGC ACT CTA GGG TCC AGCC	

表 2 不同类型的 α 珠蛋白生成障碍患者的血液学资料分析 ($\bar{x} \pm s$)

基因型	n	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	Hb A(%)	Hb A2(%)
HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$	19	115.60 \pm 25.44	82.74 \pm 10.83	28.73 \pm 5.37	97.25 \pm 1.18	2.59 \pm 0.85
--SEA/HK $\alpha\alpha$	7	119.67 \pm 17.90	66.38 \pm 4.64	19.45 \pm 0.92	97.75 \pm 0.35	2.17 \pm 0.29
- $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	50	125.80 \pm 16.63	79.76 \pm 2.17	26.54 \pm 0.97	97.46 \pm 0.27	2.39 \pm 0.12
--SEA/ $\alpha\alpha$	50	109.73 \pm 10.34	68.65 \pm 2.73	21.00 \pm 1.35	97.56 \pm 0.32	2.33 \pm 0.10
--SEA/- $\alpha^{3.7}$	50	89.63 \pm 15.87	65.11 \pm 8.31	19.91 \pm 6.10	94.15 \pm 3.49	1.13 \pm 1.54

表 3 3 个 HK 型地中海贫血家系的血液学表型分析结果

家系编号	家系成员	Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	Hb A(%)	Hb A2(%)	Hb F(%)
家系 1	父亲 1	128	70.5	19.6	96.7	2.3	1.0
	母亲 2	120	69.7	22.3	97.7	2.3	0
家系 2	父亲 4	135	64.3	20.1	98.0	2.0	0
	母亲 5	87	62.8	17.7	97.6	2.4	0
家系 3	父亲 7	118	68.2	19.2	97.9	2.1	0
	母亲 8	113	87.2	30.8	97.4	2.6	0

2.3 产前诊断结果 产前诊断发现 3 个家系胎儿杂合子 3 例,其中 1 例为 HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$; 1 例为 $\alpha^{QS} \alpha/HK\alpha\alpha$; 另外 1 例为 --SEA/HK $\alpha\alpha$ 。见表 3、4。

表 4 3 个 HK 型地中海贫血家系基因诊断及产前诊断结果

家系	父亲基因型	母亲基因型	胎儿基因型	转归
1	--SEA/HK $\alpha\alpha$	--SEA/ $\alpha\alpha$	HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$	继续妊娠
2	--SEA/HK $\alpha\alpha$	$\alpha^{QS}\alpha/\alpha^{QS}\alpha$	$\alpha^{QS}\alpha/HK\alpha\alpha$	继续妊娠
3	--SEA/HK $\alpha\alpha$	HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$	--SEA/HK $\alpha\alpha$	继续妊娠

3 讨论

缺失型 α 珠蛋白生成障碍是 α 珠蛋白基因的 1 条或 2 条因同源性或非同源性重组而丢失。非平衡交叉连接会产生多种复杂的缺失基因型,其中 HK $\alpha\alpha$ 是一种极少见的非平衡交叉连接,表现为在同一条染色体上同时含有 - $\alpha^{3.7}$ 缺失及 $\alpha\alpha^{ani4.2}$ 基因的交叉连接片段^[14]。

基因型为 HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 的患者易被诊断为 - $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$, 并且与健康者比较, HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 患者的 α 球蛋白 mRNA 水平无明显差异^[18]。本研究统计分析不同类型的 α 珠蛋白生成障碍患者的血液学资料,结果显示 HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 的临床症状较 - $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 轻很多; 基因型为 --SEA/HK $\alpha\alpha$ 的患者不表现为 Hb H, 仅表现为轻度珠蛋白生成障碍, Hb > 100 g/L, 与相关学者的报道一致^[18-19]。而基因型为 --SEA/- $\alpha^{3.7}$ 的患者由于缺失了 3 个 α 珠蛋白基因, 临床上表现为 Hb H 疾病, Hb < 100 g/L。

本研究 8 000 例疑似 α 珠蛋白生成障碍患者中, HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠蛋白生成障碍患者 27 例, 阳性率约为 0.34%, 与广西地区 HK $\alpha\alpha$ 的携带率(0.07%) 有较大的差异^[18,20], 分析原因主要为标本选择不同, 本研究对象为筛查结果中疑似 α 珠蛋白生成障碍的患者, 本组 Hb A2 的参考值为 3.0%~3.5%, 静止型珠蛋白生成障碍临床症状轻微者可在筛查实验中检出, 从而得出较高的 HK $\alpha\alpha$ 阳性率。对于 HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠蛋白生成障碍的较高的携带率, 常规 Gap-PCR 检测技术易将 - $\alpha^{3.7}$ 误诊为 HK $\alpha\alpha$, 但 HK $\alpha\alpha$ 型珠蛋白生成障碍的临床表现不同于常见的 α 珠蛋白生成障碍, 容易误将轻度诊断为中重度, 因此 HK $\alpha\alpha$ 型 α 珠

蛋白生成障碍的分子诊断和产前诊断十分重要。

本研究根据 HK $\alpha\alpha$ 的发生机制, 即存在不同同源盒部位的基因重组^[14,18], 采用巢式 PCR 方法检测 HK 型珠蛋白生成障碍, 为后续基因诊断和产前诊断提供依据。本组证实 HK $\alpha\alpha$ 基因的存在, 但是 HK $\alpha\alpha$ 的发生机制比较特殊, 不能排除另外一条染色体合并 - $\alpha^{3.7}$ 缺失的可能, 患者确切的基因型需要进行家系分析。本研究表明产前诊断家系 2 的胎儿存在 HK $\alpha\alpha$ 的同时, 合并 α^{QS} 点突变。与以往报道^[14-15,21] 相比, $\alpha^{QS} \alpha/HK\alpha\alpha$ 为首次发现的基因型, 可将 HK $\alpha\alpha$ 的检测应用到产前诊断。

本研究对产前诊断保健的孕妇及其配偶都进行血液学表型筛查: 血常规、Hb 含量分析, 对疑为 α 珠蛋白生成障碍表型阳性的患者, 排除缺铁性贫血的情况下(如平均红细胞容积小于 80 fL 和平均红细胞血红蛋白含量小于 27 pg, Hb < 3.0% 者), 按常规 Gap-PCR 技术检测 --SEA、- $\alpha^{3.7}$ 、- $\alpha^{4.2}$, 若为阳性, 则其配偶也需做相同基因分析。本组 3 个 HK 家系因夫妻双方均为 α 珠蛋白生成障碍基因携带者, 根据遗传规律将会生育中重度珠蛋白生成障碍患儿, 其出生会给家庭和社会带来沉重的负担, 故育龄夫妇需开展 HK 型珠蛋白生成障碍表型筛查和基因诊断, 同时为曾生育中重度珠蛋白生成障碍患者或者为中重度珠蛋白生成障碍风险胎儿的家庭进行遗传咨询和产前诊断。

本研究采用 HK $\alpha\alpha$ 型珠蛋白生成障碍的分子诊断方法, 成功地进行了 3 个 HK $\alpha\alpha$ 家系的产前诊断。应用 HK $\alpha\alpha$ 珠蛋白生成障碍的表型筛查和基因诊断技术, 有助于我国 α 珠蛋白生成障碍高发区产前诊断水平的进一步提高。

参考文献

[1] Higgs DR, Gibbons RJ. The molecular basis of alpha-thalassaemia: a model for understanding human molecular genetics[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2010, 24(6): 1033-1054.

[2] Xu XM, Zhou YQ, Luo GX, et al. The prevalence and spectrum of alpha and beta thalassaemia in Guangdong Province: implications for the future health burden and

population screening[J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(5): 517-522.

[3] Michelson AM, Orkin SH. Boundaries of gene conversion within the duplicated human alpha-globin genes. Concerted evolution by segmental recombination[J]. *J Biol Chem*, 1983, 258(24): 15245-15254.

[4] Xiong F, Sun M, Zhang X, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of Southern China[J]. *Clin Genet*, 2010, 78(2): 139-148.

[5] Zesong L, Ruijun G, Wen Z. Rapid detection of deletional alpha-thalassemia by an oligonucleotide microarray[J]. *Am J Hematol*, 2005, 80(4): 306-308.

[6] Jia SQ, Li J, Mo QH, et al. Alpha thalassaemia as a result of a novel 11.1 kb deletion eliminating both of the duplicated alpha globin genes[J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(2): 164-167.

[7] Wei XF, Shang X, He DQ, et al. Molecular characterization of a novel 27.6kb deletion causing alpha(+) thalassaemia in a Chinese family[J]. *Ann Hematol*, 2011, 90(1): 17-22.

[8] Chen W, Zhang X, Shang X, et al. The molecular basis of beta-thalassaemia intermedia in southern China: genotypic heterogeneity and phenotypic diversity [J]. *BMC Med Genet*, 2010, 11(34): 31-35.

[9] Wang W, Ma ES, Chan AY, et al. Single-tube multiplex-PCR screen for anti-3.7 and anti-4.2 alpha-globin gene triplications[J]. *Clin Chem*, 2003, 49(10): 1679-1682.

[10] Beris P, Solenthaler M, Deutsch S, et al. Severe inclusion body beta-thalassaemia with haemolysis in a patient double heterozygous for beta(0)-thalassaemia and quadruplicated alpha-globin gene arrangement of the anti-4.2 type [J]. *Br J Haematol*, 1999, 105(4): 1074-1080.

[11] Gu YC, Landman H, Huisman TH. Two different quadruplicated alpha globin gene arrangements [J]. *Br J Haematol*, 1987, 66(2): 245-250.

[12] Fisher CA, Premawardhena A, de Silva S, et al. The molecular basis for the thalassaemias in Sri Lanka[J]. *Br J Haematol*, 2003, 121(4): 662-671.

[13] Law HY, Luo HY, Wang W, et al. Determining the cause of patchwork HBA1 and HBA2 genes: recurrent gene conversion or crossing over fixation events[J]. *Haematologica*, 2006, 91(3): 297-302.

[14] Wang W, Chan AY, Chan LC, et al. Unusual rearrangement of the alpha-globin gene cluster containing both the alpha3.7 and alpha alphaalphaanti-4.2 crossover junctions: clinical diagnostic implications and possible mechanisms[J]. *Clin Chem*, 2005, 51(11): 2167-2170.

[15] Li Z, Cai S, Rong K, et al. The first compound heterozygosity for HKalpha alpha allele and Southeast Asian deletion allele[J]. *Clin Bio Chem*, 2007, 40(5/6): 407-410.

[16] Chong SS, Boehm CD, Cutting GR, et al. Simplified multiplex-PCR diagnosis of common southeast asian deletional determinants of alpha-thalassaemia[J]. *Clin Chem*, 2000, 46(10): 1692-1695.

[17] 李莉艳, 李强, 宋兰林, 等. MCV、MCH 和血红蛋白 A2 检测在地中海贫血筛查中的价值[J]. *中华妇产科杂志*, 2012, 47(2): 96-100.

[18] Shang X, Li Q, Cai R, et al. Molecular characterization and clinical presentation of HKalpha alpha and anti-HKalpha alpha alleles in southern Chinese subjects[J]. *Clin Genet*, 2013, 83(5): 472-476.

[19] 荣卡彬, 张绪超, 陈志红, 等. α 地中海贫血 HK $\alpha\alpha$ /--SEA 杂合型的产前诊断及家系分析[J]. *中华检验医学杂志*, 2009, 32(11): 1266-1269.

[20] 黄海龙, 林娜, 李英, 等. 产前诊断罕见 HK $\alpha\alpha$ 复合东南亚缺失型 α 地中海贫血一例[J]. *中华围产医学杂志*, 2014, 17(7): 488-490.

[21] Pan HF, Long GF, Li Q, et al. Current status of thalassaemia in minority populations in Guangxi, China [J]. *Clin Genet*, 2007, 71(5): 419-426.

(收稿日期: 2014-12-20 修回日期: 2015-02-15)

(上接第 1671 页)

[2] Lloyd JD. Heart disease and stroke statistics-2010 update: a report from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2010, 121(45): 2246-2249.

[3] Kharitonova T, Mikulik R, Roine RO, et al. Association of early National Institutes of Health Stroke Scale improvement with vessel recanalization and functional outcome after intravenous thrombolysis in ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2011, 42(6): 1638-1643.

[4] 崔丽英, 李舜伟, 张微微, 等. 消旋-3-正丁基苯酞软胶囊与阿司匹林治疗急性缺血性脑卒中的多中心、随机、双盲双模拟对照研究[J]. *中华神经内科学杂志*, 2008, 41(9): 727-730.

[5] Gilligan AK, Thrift AG, Sturm JW, et al. Stroke units, tissue plasminogen activator, aspirin and neuroprotection: which stroke intervention could provide the greatest community benefit? [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2005, 20(3): 239-244.

[6] 崔丽英, 李舜伟, 吕传真, 等. 恩必普软胶囊治疗中度急性缺血性卒中的多中心开放临床研究[J]. *中国脑血管病杂志*, 2005, 21(3): 218-224.

(收稿日期: 2014-12-11 修回日期: 2015-02-10)