

1 例罕见的缺失型 β 珠蛋白生成障碍性贫血及其家系分析

欧阳慧¹, 胡新年¹, 许伟华¹, 蓝仙娥², 祝少凤², 刘冬霞¹, 黄奕雅¹, 龙 辉¹
广东省清远市妇幼保健院: 1. 优生与遗传实验诊断中心; 2. 临床检验中心, 广东清远 511515

关键词: 重型珠蛋白生成障碍性贫血; 家系; 罕见基因型; 持续血红蛋白增高症
中图分类号: R556 文献标志码: C 文章编号: 1672-9455(2020)17-2447-02

珠蛋白生成障碍性贫血(以下简称地贫)是一种遗传性恶性贫血疾病,目前临床实验室主要检测类型包括 3 种 α 缺失($-\alpha^{SEA}/\alpha\alpha, -\alpha^{3.7}/\alpha\alpha, -\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$)、3 种点突变($\alpha^{CS}\alpha/\alpha\alpha, \alpha^{QS}\alpha/\alpha\alpha, \alpha^{WS}\alpha/\alpha\alpha$)和 17 种常见 β 地贫[-28、-29、-30、-32、CD14-15、CD17、CD26(βE)、CD27-28、CD31、CD41-42、CD43、CD71-72、IVS-I-1、IVS-I-5、IVS-II-654、CAP+1、initiation condon],其中 β 地贫的发生机制主要是 β 珠蛋白链上的基因发生突变,使得 β -珠蛋白合成障碍,进而导致 α 珠蛋白和 β 珠蛋白的合成比例不平衡,而多余的 α 珠蛋白沉积在红细胞细胞膜上会持续发生作用,影响红细胞细胞膜的功能^[1]。遗传性持续性胎儿血红蛋白增高症(HPFH)是由 β 珠蛋白基因簇大片段缺失导致,它属于一种遗传异质性的血红蛋白病,在患儿红细胞中存在大量的胎儿血红蛋白(Hb)F,血液学中临床检测结果是正常的或轻度偏低,携带者常常无临床症状或者只有轻微的临床症状,但在 Hb 电泳检测时 HbF 水平增高(一般大于 10%)^[2]。HPFH 包括非缺失型和缺失型两种, β 地贫基因携带者和东南亚型遗传性持续性胎儿血红蛋白增高症(SEA-HPFH)基因携带者婚配后就会有 1/4 的概率生育中间型或重型 β 地贫患儿,因此,HPFH 患儿的产前诊断非常重要^[3-4]。

目前国内外关于此类病例家系报道较少。由于在实验室中常规的地贫基因检测试剂盒无法检测出 SEA-HPFH,使其容易出现漏检。本实验室发现 1 例 41-42 突变复合 SEA-HPFH β 缺失型的患儿,并对此进行了家系调查及临床表型分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患儿,男,12 d,由外院送至本院优生与遗传实验诊断中心新生儿筛查室进行地贫筛查,筛查结果为 HbA 2.1%、HbF 97.9%,提示为重型 β 地贫,儿童保健中心召回患儿进一步进行地贫基因检

测,其基因型疑为 β 地贫 $\beta CD41-42(-TTCT)$ 纯合子。对其父母进行基因型分析:患儿的父亲,男,26 岁,地贫基因检测结果是 $\beta CD41-42(-TTCT)$ 杂合突变携带者;患儿的母亲,女,24 岁,地贫基因诊断未检出异常,与筛查结果不符(小细胞低色素性,HbF 为 23.7,明显增高),对其进一步做罕见地贫基因型的检测,结果为 SEA-HPFH(东南亚型) β 缺失型地贫。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 分别采集患儿、患儿母亲及患儿父亲的外周静脉血各 2 mL,以乙二胺四乙酸抗凝,共 3 份血液标本,并让患儿父母签署知情同意书。

1.2.2 血液学的表型分析 采用 XN-1000 血细胞自动分析仪(日本希森美康公司)进行红细胞的参数分析。

1.2.3 Hb 成分分析 采用毛细管电泳仪(法国 SEBIA 公司)对 Hb 成分进行定量或者定性分析。

1.2.4 常见地贫基因分析 实验室使用深圳亚能生物技术有限公司地贫检测试剂盒,采用跨越断裂点 PCR(Gap-PCR)和 DNA RAD-PCR 进行常规地贫基因型的检测。实验过程严格按照本实验室地贫检测操作作业指导文件进行操作。

1.2.5 罕见 β 地贫基因检测诊断 标本与深圳亚能生物技术有限公司的实验室进行联合检测,采用 DNA 测序、多重链接探针扩增技术、缺口 PCR 及血红蛋白持续增多症缺失型电泳等技术进行检测。

2 结 果

2.1 血液学表型分析 患儿几项贫血相关的指标水平平均降低,表示为小细胞低色素性贫血,怀疑为重型的 β 地贫。患儿的父亲几项贫血相关的指标均降低,表示为小细胞低色素性贫血,HbA₂ 水平升高,疑为轻型 β 地贫。患儿母亲 MCV 和 MCH 水平轻度偏低,疑为 β 地贫或 HPFH。见表 1。

表 1 患儿及其父母的血液学表型和基因型

成员	年龄(岁)	平均红细胞体积(fL)	平均红细胞血红蛋白含量(pg)	Hb(g/L)	HbA(%)	HbA ₂ (%)	HbF(%)
患儿	1	64.7	22.5	114	2.1	0	97.9
父亲	26	66.5	21.5	127	89.7	6.0	4.3
母亲	24	79.3	26.1	116	72.3	4.0	23.7

2.2 常见地贫基因检测 患儿母亲的检测结果提示未见异常,患儿父亲检出 β CD41-42(-TTCT)杂合突变,患儿检出 β 珠蛋白基因 CD41-42(-TTCT)纯合突变。

2.3 缺失型 β 地贫基因检测 患儿和其母亲均检出 SEA-HPFH β 缺失型,患儿父亲的检测结果提示未见异常。

3 讨论

β 地贫是由 β 珠蛋白基因发生点突变、微小的缺失或者插入所引起。迄今为止,我国已发现 46 种基因突变类型。 β 珠蛋白基因簇位于 α 珠蛋白基因簇区域的第 11 号的染色体短臂的 15.5 区域,而它的基因簇上含有 1 个胚胎期表达基因(ϵ)、2 个胎儿期表达基因($G\gamma$ 和 $\alpha\gamma$)、2 个成人期表达基因(β 和 δ)、1 个假基因($\Psi\beta$)^[5-6]。在中国人群中,SEA-HPFH 是一种常见的以高 HbF 为表型的 β 地贫基因缺失突变,首次发现于柬埔寨和越南,因此被称作东南亚型(或越南型)HPFH。目前的地贫试剂盒普遍只能检测 β 地贫最常见的 17 种点突变类型,并未包括 SEA-HPFH,因而在常见地贫基因检测中存在此类地贫被漏诊或误诊的可能。同时 SEA-HPFH 杂合的患者与 β 地贫携带者结合有可能导致中间型或重型 β 地贫患儿出生,因此对罕见型地贫基因的检测越来越受到重视^[7-8]。

在本研究中,患儿母亲的血常规检测结果显示为轻度的小细胞低色素性贫血,怀疑为地贫基因携带者,而进行的常见地贫基因检测却未发现 β 地贫点突变,但 HbF 水平明显升高,若排除慢速异常 HbQ/G 带,则怀疑为 HPFH 基因携带者。CHANGSRI 等^[9]报道,非缺失型 HPFH 的 HbF 水平多为 5.0%~15.0%,而缺失型 HPFH 的 HbF 水平多为 15.0%~30.0%。因此,初步判断患儿母亲为缺失型 HPFH,从而进一步送至深圳亚能生物技术有限公司进行缺失型的地贫基因检测,结果证实为 SEA-HPFH 基因携带者。患儿父亲的血常规检测结果显示为小细胞低色素性贫血,HbA₂ 和 HbF 水平明显升高,进一步做常见地贫基因检测,结果为 β CD41-42(-TTCT)杂合突变,为轻型的 β 地贫。患儿血常规检测结果显示为小细胞低色素性贫血,提示为重型 β 地贫,进一步常见地贫基因检测结果为 β 珠蛋白基因 CD41-42(-TTCT)纯合突变表型,根据家系调查,外送深圳亚能生物技术有限公司做罕见地贫,结果显示为 41-42 突变合并 SEA-HPFH β 缺失型,地贫基因型为 β CD41-42/ β SEA-HPFH,提示为中间型或重型 β 地贫。由此分析,患儿同时遗传了父亲和母亲的 β 突变基因。当 SEA-HPFH 合并 β 地贫突变时会出现中间

型或者重型 β 地贫,临床可表现为中度或者重度贫血。

对于地贫血液学筛查表型为阳性的患儿,当 Hb 电泳结果为阳性时,特别是 HbF 水平异常升高的,在进行常见地贫基因检测完成以后,需要对照其他相关结果看是否需要进一步进行罕见地贫基因检测,必要时需进行基因测序^[10]。此外,地贫基因检测结果显示为纯合突变或纯合缺失的患儿,需进行家系调查或进一步检测确定基因型,避免出现地贫基因检测常规试剂盒无法检测出来而误诊、漏诊的情况。因此,为了提高出生人口质量,应重视优生优育,减少中间型、重型地贫患儿的出生,同时需要加强基层产前筛查医师的遗传基础知识。

参考文献

- [1] 丁燕玲,黄际卫.地中海贫血罕见突变的研究进展[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(2):4-5.
- [2] 曾小红,朱宝生.遗传性持续性胎儿血红蛋白增高症(HPFH)的分子机制[J/CD].中国产前诊断杂志(电子版),2012,4(2):26-31.
- [3] 李莉艳,常清贤,靳旺杰,等.十个缺失型 β 地中海贫血家系的产前诊断[J].中华围产医学杂志,2012,15(10):616-618.
- [4] 荣卡彬,黄革,蒋文玲,等.中间型 β 地中海贫血家系基因分子生物学特征分析[J].中华检验医学杂志,2009,32(4):412-416.
- [5] 冉健,裴元元,魏凤香.深圳地区 α -地中海贫血及 $\alpha\beta$ -复合地中海贫血的相关性研究[J].中国妇幼保健,2016,31(7):1468-1471.
- [6] 李育敏,李俭,熊丹,等.一罕见 β 地贫基因 CD37(TGG→TAG)突变复合 α 地贫家系的分子遗传学特征[J].临床检验杂志,2018,36(5):359-361.
- [7] 潘宏贵,林庆芳,莫文娟,等.贺州地区 1 067 对育龄夫妇地中海贫血基因诊断回顾性研究[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(72):34-35.
- [8] 靳旺杰,李莉艳,钟梅,宋兰林,阚文宏.102 例罕见地中海贫血基因突变测序分析[J].国际检验医学杂志,2017,38(15):2019-2021.
- [9] CHANGSRI K, AKKARAPATHUMWONG V, JAMSAI D, et al. Molecular mechanism of high hemoglobin F production in Southeast Asian-type hereditary persistence of fetal hemoglobin[J]. Int J Hematol, 2006, 83(3): 229-237.
- [10] 吕荣钰,文飞球,陈小文,等.常规基因检测阴性的地中海贫血疑似病例再行进一步基因检测仍有 7% 的阳性发现[J].中国循证儿科杂志,2014,9(4):274-277.