

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.12.019

284 例珠蛋白生成障碍性贫血产前基因诊断结果分析

胡新年, 欧阳慧, 刘冬霞, 许伟华, 罗伟平, 龙 辉, 黄美琼
 清远市妇幼保健院优生与遗传实验诊断中心, 广东清远 511500

摘 要: **目的** 对 284 例珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)产前基因诊断结果进行回顾性分析。**方法** 缺失型 α 地贫的产前诊断采用跨越断裂点 PCR 技术, 非缺失型 α 地贫和 β 地贫的产前诊断采用反向斑点杂交技术进行检测。产前基因诊断完成 6~8 个月后, 实验室检测的 284 例样本均由产前诊断科医生进行随访。**结果** 284 例产前诊断样本均来自清远地区, α 地贫基因共检测 215 例, 其中产前诊断严重类型地贫 47 例(21.86%), 包括重型 α 地贫 36 例(16.74%)和中间型 α 地贫 11 例(5.12%), 轻型 α 地贫 111 例(51.63%), 正常基因型 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 57 例(26.51%); β 地贫基因共检测 52 例, 其中严重类型 β 地贫 17 例(32.08%), 轻型 β 地贫 20 例(35.09%), 正常基因型 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 15 例(28.30%)。复合型地贫 17 例, 检出重型 α 地贫 1 例(6.67%), 重型 β 地贫 1 例(6.67%), 中间型 α 地贫复合轻型 β 地贫 1 例(6.67%), 轻型 α 地贫复合轻型 β 地贫 14 例(82.35%)。3 例样本结果为轻型 α 地贫同时合并 18 三体综合征。37 例重型 α 地贫、9 例中间型 α 地贫、18 例严重类型 β 地贫和 3 例轻型 α 地贫伴随 18 三体综合征, 均在知情同意和自愿选择的原则下接受了终止妊娠的处理。**结论** 地贫高风险夫妇进行产前基因诊断, 可有效检出严重类型地贫患儿, 并能有效地防止重症地贫患儿的出生。

关键词: 珠蛋白生成障碍性贫血; 产前诊断; 基因检测

中图法分类号: R714.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)12-1733-03

Analysis of prenatal genetic diagnosis in 284 cases of thalassemia

HU Xinnian, OUYANG Hui, LIU Dongxia, XU Weihua, LUO Weiping, LONG Hui, HUANG Meiqiong
 Eugenics and Genetic Experimental Diagnosis Center, Qingyuan Maternal and
 Child Health Hospital, Qingyuan, Guangdong 511500, China

Abstract: **Objective** To retrospectively analyze the results of prenatal genetic diagnosis in 284 cases of thalassemia. **Methods** The deletions of α thalassemia were detected by Gap-PCR, the mutations of α thalassemia and β thalassemia were detected by reverse dot blot. All 284 samples for laboratory testing were followed up 6 to 8 months after the completion of prenatal genetic diagnosis. **Results** 284 cases of prenatal diagnosis came from Qingyuan area, α thalassemia were detected in 215 cases, of which the majors($n=47$, 21.86%), including severe α thalassemia($n=36$, 16.74%) and Intermediate α thalassemia($n=11$, 5.12%), the light type($n=111$, 51.63%) and the type($n=57$, 26.51%). β thalassemia was detected in 52 cases, including the majors($n=17$, 32.08%), the light type($n=20$, 35.09%) and the type($n=15$, 28.03%). 17 cases were detected in $\alpha\beta$ -thalassemia, β thalassemia combined with severe α thalassemia($n=1$, 6.67%), intermediate α thalassemia combined with β thalassemia($n=1$, 6.67%), severe β thalassemia combined with α thalassemia($n=1$, 6.67%), light β thalassemia combined with light α thalassemia($n=14$, 82.35%). The results of three samples were mild alpha thalassemia combined with trisomy 18 syndrome. Thirty-seven cases of severe α thalassemia, 9 cases of intermediate α thalassemia, 18 cases of severe β thalassemia, and 3 cases of mild α thalassemia with trisomy 18 syndrome underwent pregnancy termination with informed consent and voluntary choice. **Conclusion** Prenatal genetic diagnosis can effectively detect the severe type of children with thalassemia, and can effectively prevent the birth of children with severe thalassemia.

Key words: thalassemia; prenatal diagnosis; genetic testing

珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)是一种珠蛋白基因突变引起机体内的珠蛋白链的合成不足或缺失而导致的一种慢性溶血性贫血^[1]。目前实验室主要检测地贫为 α 地贫和 β 地贫, α 地贫一般分为静止

型、标准型、中间型和重型 4 种类型, β 地贫主要分为轻型、中间型和重型 3 种类型^[2]。重型 α 地贫患儿地贫患儿由于染色体上 4 个 α -基因缺失, 体内合成的 γ 链没有与 α 链结合形成 γ 四聚体, 一般在妊娠后期会

作者简介: 胡新年, 男, 主管技师, 主要从事分子遗传研究。

本文引用格式: 胡新年, 欧阳慧, 刘冬霞, 等. 284 例珠蛋白生成障碍性贫血产前基因诊断结果分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(12): 1733-1735.

造成婴儿宫内死亡流产或者出生后几小时内死亡,同时也会增加孕妇患癫痫、妊娠高血压综合征、产后出血等并发症的风险^[3-4]。重型 β 地贫患儿一般在出生 6 个月以后才表现出贫血的临床症状,需要依赖输血来进行治疗,一般存活至 10 岁^[5-8]。已有研究证明清远地区地贫基因的携带率约为 20.9%,属于地贫高发地带,因此,在清远地区开展地贫产前诊断具有重要意义^[9-10]。本文对本院开展的 284 例地贫基因产前诊断结果进行回顾性分析。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2019 年 10 月来清远市妇幼保健院咨询并进行地贫基因产前诊断的孕妇 284 例作为研究对象,孕妇孕周为 16~24 周,每位抽取约 20 mL 羊水分装为 3 管进行检测,本研究符合本院医学伦理委员会相关标准,并获得该伦理委员会批准,受检者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 基因提取 本实验室采用北京天根生物科技有限公司生产的羊水提取试剂盒提取基因,每次实验为双人平行实验,每次试验前均用分光光度计对每次提取的 DNA 浓度和纯度进行检测,以保证实验的准确性。

1.2.2 基因检测 缺失型 α 地贫的产前诊断采用跨越断裂点 PCR 技术,非缺失型 α 地贫和 β 地贫的产前诊断采用反向斑点杂交技术进行检测,所有的地贫基因检测试剂盒均来自于深圳亚能生物科技有限公司,检测的 α -缺失型为 $-(SEA)/\alpha\alpha$, $-\alpha(3.7)/\alpha\alpha$, $-\alpha(4.2)/\alpha\alpha$, α 非缺失型常见的包括 $\alpha CS\alpha/\alpha\alpha$, $\alpha QS\alpha/\alpha\alpha$, $\alpha WS\alpha/\alpha\alpha$ 。 β 地贫检测 17 种分别为 -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 codon。每次实验均有阳性、阴性和空白对照,对于罕见的或者超出检测范围的送至广东省妇幼保健院检测。

1.3 随访 产前基因诊断完成 6~8 个月后,实验室检测的 284 例样本均由产前诊断科医生进行随访,对于重型地贫患儿的后续处理均有追踪,对于非重型的患儿均有新生儿血红蛋白电泳筛查和回访,对于有地贫基因检测的新生儿则进行基因统计,已验证实验诊断的准确性。

2 结果

2.1 284 例地贫基因产前诊断结果分析 在检测的 284 例样本中,父母为同型 α 地贫共 215 例,其中检出重型 α 地贫 36 例,中间型 α 地贫 11 例,轻型 α 地贫 111 例,正常基因型 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 57 例。父母为同型 β 地贫共 52 例,其中检出中重型 β 地贫 17 例,轻型 β 地贫 20 例,正常基因型 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 15 例。父母一方为一种地贫基因携带者另一方为 α 复合 β 地贫基因或者双方均为 α 复合 β 地贫基因的样本 17 例,其中检出重型 α 地贫 1 例,中重型 β 地贫 1 例,中间型 α 地贫复合轻型

β 地贫 1 例,轻型 α 地贫复合轻型 β 地贫 14 例。

2.2 215 例 α 地贫基因检测结果分析 在 215 例羊水检测中检出重型 α 地贫 36 例,占 16.74%,中间型 α 地贫 11 例,占 5.12%,其中基因型 $-(SEA)/-\alpha(3.7)$ 8 例, $-(SEA)/\alpha(WS)$ α 、 $-(SEA)/\alpha(QS)$ α 和 $-(SEA)/\alpha(CS)$ α 各有 1 例,轻型 α 地贫 111 例,占 51.63%,基因型 $-(SEA)/\alpha\alpha$ 97 例, $\alpha(WS)$ $\alpha/\alpha\alpha$ 3 例, $-\alpha(4.2)/\alpha\alpha$ 2 例, $-\alpha(3.7)/\alpha\alpha$ 8 例,正常基因型 aa/aa 57 例,占 26.51%。

2.3 52 例 β 地贫基因检测产前诊断结果分析 52 例 β 地贫基因检测中检出中重型 β 地贫 17 例,基因型分别为 $\beta CD41-42/\beta CD17$ 2 例、 $\beta CD41-42/\beta CD41-42$ 4 例、 $\beta CD41-42/\beta IVS-II-654$ 5 例、 $\beta-28/\beta CD17$ 1 例、 $\beta-28/\beta IVS-II-654$ 2 例、 $\beta IVS-II-654/\beta CD17$ 1 例、 $\beta IVS-II-654/\beta CD26$ 1 例、 $\beta IVS-II-654/\beta-29$ 1 例,总占比 32.08%。轻型 β 地贫 20 例,基因型分别为 $\beta CD17/\beta N$ 2 例、 $\beta-28/\beta N$ 1 例、 $\beta-29/\beta N$ 1 例、 $\beta IVS-II-654/\beta N$ 1 例、 $\beta CD26/\beta N$ 2 例、 $\beta IVS-I-1$ 位点突变 1 例、 $\beta CD41-42/\beta N$ 10 例,总占比 35.90%。正常基因型 $\beta N/\beta N$ 15 例,占 28.30%。

2.4 17 例复合型地贫基因检测结果分析 17 例复合型地贫中,检出重型 α 地贫 $[-(SEA)/-(SEA)$, $\beta CD41-42/\beta N$] 1 例,占 6.67%,重型 β 地贫 $[\beta CD41-42/\beta-28, -\alpha(3.7)/\alpha\alpha]$ 1 例,占 6.67%,中间型 α 地贫复合轻型 β 地贫 $[-(SEA)/\alpha(3.7), \beta CD41-42/\beta N]$ 1 例,占 6.67%,轻型 α 地贫复合轻型 β 地贫 14 例,基因型分别为 $\beta CD41-42//\beta N$, $-(SEA)/\alpha\alpha$ 4 例, $-(SEA)/\alpha\alpha$, $\beta IVS-II-654/\beta N$ 1 例, $-(SEA)/\alpha\alpha$, $\beta CD43/\beta N$ 2 例, $-(SEA)/\alpha\alpha$, $\beta CD71-72/\beta N$ 1 例, $\alpha(WS)$ $\alpha/\alpha\alpha$, $\beta IVS-II-654/\beta N$ 1 例, $-\alpha(3.7)/\alpha\alpha$, $\beta CD41-42/\beta N$ 1 例, $-\alpha(3.7)/\alpha\alpha$, $\beta-28/\beta N$ 1 例, $-\alpha(4.2)/\alpha\alpha$, $\beta CD41-42/\beta N$ 1 例, $-\alpha(4.2)/\alpha\alpha$, $\beta IVS-II-654/\beta N$ 1 例,总占比 82.35%。

2.5 随访结果 产前基因诊断完成 6~8 个月后,电话随访共 67 例严重类型地贫患儿(37 例巴氏水肿胎、11 例中间型 α 地贫、1 例中间型 α 地贫复合轻型 β 地贫和 18 例严重类型 β 地贫患儿)和 3 例轻型 α 地贫伴 18 三体综合征胎儿,其中 37 例巴氏水肿胎、9 例中间型 α 地贫和 18 例严重类型 β 地贫患儿和 3 例轻型 α 地贫伴 18 三体综合征胎儿均在知情同意和自愿选择的原则下接受了终止妊娠的处理,有 2 例中间型 α 地贫和 1 例中间型 α 地贫复合轻型 β 地贫的孕妇未进行终止妊娠,140 例其他基因型的地贫患儿出生后均进行新生儿血红蛋白电泳筛查和地贫基因检测,检测结果与产前诊断结果完全吻合,有 5 个患儿失访,无人接听电话。

3 讨论

地贫是一种遗传性的溶血性贫血,在中国南方地区广泛分布^[11-12]。清远位于粤北地区,地域跨度广,

本地居民多,地贫基因携带率高,因此清远地区地贫防控具有重要意义。

清远地区 α 地贫携带率高,其中又以东南亚缺失型[基因型为 $-(SEA)/\alpha\alpha$]居多,东南亚缺失型表示患者缺失两条 α 蛋白基因链,当两个同为东南亚缺失型基因携带者结合有 25% 的概率生育重型 α 地贫患儿,本研究检测到 36 例重型 α 地贫患儿,经调查所有孕妇均终止妊娠。当父母一方为东南亚缺失型和另一方静止型基因携带者时,25% 的概率生育中间型 α 地贫患儿,本研究共检测到 11 例中间型 α 地贫,患者的表型存在个体差异性,本实验室在地贫基因检测中多次检测到成年的中间型 α 地贫患者,因此中间型 α 地贫患儿的去留取决于父母的要求。

β 地贫是由于 β 珠蛋白链突变引起的,与 α 地贫基因分型不同, β 地贫基因突变按照严重程度可以分为 β^+ 和 β^0 两种,当基因型为 β^+/β^+ 时,为中间型 β 地贫,基因型为 β^+/β^0 时,则根据个人表型可以表现出不同表型,可能为中间型 β 地贫或者重型 β 地贫患儿,基因型为 β^0/β^0 时,则为重型 β 地贫患儿,因此产前诊断科医生和实验人员在分析 β 地贫基因诊断结果时需要特别谨慎。父母双方均为 β 地贫基因携带者时,有 25% 的概率生育中重型 β 地贫患儿,本研究中 52 例 β 地贫基因检测中检出中重型 β 地贫 17 例,占 32.08%。

α 地贫复合 β 地贫的患者,临床症状较单种轻,主要原因是为复合型地贫患者,其 α 和 β -珠蛋白基因在体内同时存在缺陷,从而导致 α 珠蛋白链和 β 珠蛋白链合成同时减少,致使 α 链与 β 链的相对不平衡减轻^[13-14]。本研究中检测到 17 例复合型地贫基因,其中 2 例为重型地贫。

地贫目前没有较好的治疗方法,只能进行预防。当父母双方均为同型地贫基因携带者时,可以通过产前咨询和诊断,预防重型地贫患儿的出生。清远地区地贫基因携带率高,地域广阔,因此需要加大地贫的预防宣传,提高民众对该病的知晓率,对指导优生优育具有重要意义。

参考文献

[1] 刘凤芝,钟华,麦富巨. 687 例同型地中海贫血携带者羊水

产前基因诊断分析[J]. 中医临床研究,2019,11(33):121-123.

[2] 廖哈献,黄卫彤,李筱瑜. 广西南宁地区 300 对夫妻同型地中海贫血基因产前诊断结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2019,27(6):659-661.

[3] 徐婉芳,娄季武,林洋洋,等. 东莞地区 672 例地中海贫血高危孕妇的产前诊断[J]. 中国优生与遗传杂志,2019,27(5):578-579.

[4] 郭少云. 北海市 257 例羊水地贫基因产前诊断结果分析[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(4):187.

[5] PIRIYAKHUNTORN P, TANTIWORAWIT A, PHIM PHILAI M, et al. Impact of iron overload on bone remodeling in thalassemia[J]. Arch Osteoporos, 2020, 15(1): 143.

[6] 吴莎莎,何志旭,金皎,等. 贵州地区 82 例地中海贫血产前筛查基因诊断结果分析[J]. 中国当代医药,2018,25(16):124-126.

[7] 林娜,黄海龙,王燕,等. 福建地区 269 对同型地中海贫血基因携带者夫妇产前基因诊断结果分析[J]. 中国计划生育学杂志,2016,24(6):395-398.

[8] 姜柯安,刘东云,陈霞,等. 49 例同型地中海贫血携带者产前基因诊断分析[J]. 重庆医学,2017,46(10):1360-1362.

[9] 黄利华,刘冬霞,李伟明,等. 广东省清远地区人群 α -地中海贫血基因型及临床表型特点[J]. 第三军医大学学报,2017,39(6):584-588.

[10] 黄振勇,郭晓燕,吴爱娟,等. 广东清远地区 513 例地中海贫血高危孕妇产前基因诊断分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2019,27(2):145-147.

[11] 郝颖,袁晖,吴晓霞,等. 498 例地中海贫血产前基因诊断结果分析和方法学探讨[J]. 中国优生与遗传杂志,2017,25(4):28-31.

[12] NOPPARATANA C, NOPPARATANA C, SAECHAN V, et al. Prenatal diagnosis of α -and β -thalassemias in southern Thailand[J]. Int J Hematol, 2020, 111(2):284-292.

[13] 屈艳霞,陈桂兰,李志华,等. 产前地中海贫血基因诊断 257 例分析[J]. 中国计划生育学杂志,2015,23(5):324-327.

[14] 鞠爱萍,刘艳霞,林铿,等. 广州北部地区 $\alpha\beta$ 复合型地中海贫血基因型和血液学特征[J/CD]. 中华诊断学电子杂志,2020,8(2):121-125.

(收稿日期:2020-06-03 修回日期:2021-04-15)

(上接第 1732 页)

[16] 董秀慧,范玉,张树元,等. 皮肤软组织感染分离的甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌 TSST-1 基因及耐药性[J]. 中华医院感染学杂志,2020,30(16):2498-2501.

[17] HOPPE P A, HANITSCH L G, LEISTNER R, et al. Periorbital infections and conjunctivitis due to Pantone-Valentine Leukocidin (PVL) positive Staphylococcus aureus in children[J]. BMC Infect Dis, 2018, 18(1):371.

[18] 王敏,原明明,李树君,等. 成人细菌性皮肤病的病原菌分

布与耐药性研究[J]. 中国病原生物学杂志,2020,15(7):846-849.

[19] DROUGKA E, FOKA A, LIAKOPOULOS A, et al. A 12-year survey of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in Greece; ST80-IV epidemic[J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(1):796-803.

(收稿日期:2020-09-30 修回日期:2021-05-20)