

# 泰国缺失型 $\alpha$ 地中海贫血的家系分析及产前诊断

杜丽 王继成 秦丹卿 余丽华 袁腾龙 张艳霞 王奕霞 梁驹卿 尹爱华\*

(广东省妇幼保健院,广东 广州 511442)

**【摘要】 目的** 对 3 个泰国缺失型  $\alpha$  地中海贫血家系进行分析及产前诊断。**方法** 采集家系成员外周血进行血细胞分析及毛细管电泳血红蛋白分析;采集外周血及羊水、绒毛采用裂隙聚合酶链反应(Gap-PCR)以及 PCR 结合反向点杂交(PCR-RDB)方法进行常见 6 种  $\alpha$  珠蛋白基因突变的鉴定;采用裂隙聚合酶链反应(Gap-PCR)方法进行泰国缺失型  $\alpha$  地贫和菲律宾缺失型  $\alpha$  地贫基因检测。**结果** 在 3 个家系中检测到 2 例泰国缺失型  $\alpha$  地中海贫血携带者( $-^{THAI}/\alpha\alpha$ )及 1 例泰国缺失型复合 4.2 缺失型  $\alpha$  珠蛋白基因缺失导致的血红蛋白 H 病( $-^{THAI}/-\alpha^{4.2}$ ),并对 3 个家系进行了产前诊断,检测到 2 个胎儿为泰国缺失型  $\alpha$  地中海贫血携带者( $-^{THAI}/\alpha\alpha$ )。**结论** MCV 降低、Hb  $A_2$  降低而常规  $\alpha$  地贫基因检测未见异常的人群,尤其是有水肿胎生育史的家庭需要引起临床医生的重视,要考虑到罕见缺失型  $\alpha$  地中海贫血,对于常规检测提示为 $-\alpha^{3.7}$ 或 $-\alpha^{4.2}$ 纯合缺失而地贫筛查可疑 HbH 病者也要考虑罕见缺失型  $\alpha$  地中海贫血的可能性,对高风险家庭要进行产前诊断对于优生优育具有重要意义。

**【关键词】** 泰国缺失型  $\alpha$  地中海贫血; 基因诊断; 产前诊断

**【中图分类号】** R714.55 **【文献标识码】** A

**【Abstract】 Objective** Analysis and prenatal diagnosis to 3 families with THAI deletion  $\alpha$ -thalassemia. **Method** The family members' peripheral blood samples were analyzed by whole blood cell analysis and hemoglobin analysis with capillary zone electrophoresis (CZE),  $\alpha$  hemoglobin gene mutations were analysis by Gap-PCR and polymerase chain reaction-reverse dot blot (PCR-RDB) assay for peripheral blood samples, amniotic fluid and chorionic villus samples. **Results** 2 carriers of THAI deletion  $\alpha$ -thalassemia ( $-^{THAI}/\alpha\alpha$ ) and 1 case of hemoglobin H disease( $-^{THAI}/-\alpha^{4.2}$ ) were detected. 2 of 3 fetuses were carriers of THAI deletion  $\alpha$ -thalassemia( $-^{THAI}/\alpha\alpha$ ). **Conclusions** Clinicians should pay close attention to those who could be carriers of THAI deletion  $\alpha$ -thalassemia with reduced MCV and Hb $A_2$ . Prenatal diagnosis should be performed in high-risk families which has the vital significance for eugenic birth.

**【Key words】** THAI deletion  $\alpha$ -thalassemia; gene diagnosis; prenatal diagnosis

地中海贫血(Thalassemia)是我国南方地区最常见的单基因遗传病,主要分为  $\alpha$  地贫和  $\beta$  地贫。广东省生育人群  $\alpha$  地贫的基因携带率为 13.31%, $\beta$  地贫的基因携带率为 4.53%<sup>[1]</sup>。 $\alpha$  地中海贫血主要由  $\alpha$  珠蛋白基因缺失引起,我国常见的  $\alpha$  地贫基因缺失类型主要为 $-^{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ ,基因携带频率分别为 6.85%、3.68%和 1.27%,除此之外 $-^{THAI}$ 也是我国南方人群存在的缺失类型<sup>[2-5]</sup>。重型  $\alpha$  地贫胎

儿,又称 Bart's 水肿胎,多于怀孕晚期死于宫内,即使能怀孕至足月,也多于出生后数分钟内死亡,而且孕妇常合并妊高征、胎盘早剥和子痫抽搐,产时或产后大出血等产科危重并发症。Bart's 水肿胎多数是由于东南亚型  $\alpha$  基因纯合缺失( $-^{SEA}/-^{SEA}$ )引起,而东南亚型  $\alpha$  基因缺失( $-^{SEA}$ )复合泰国型  $\alpha$  基因缺失( $-^{THAI}$ )也可以导致水肿胎,且胎儿水肿的表现可能会更早<sup>[6,7]</sup>。我们对 3 个泰国型缺失  $\alpha$  地中海贫血家系进行分析,并进行了产前诊断,报告如下。

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2015.04.008

\* 通讯作者:尹爱华,E-mail:yinaiw@vip.126.com

## 1 对象与方法

1.1 对象 2013年1月至2014年12月在本院医学遗传中心就诊并进行产前诊断的3个家系。

1.1.1 家系1 孕妇就诊时孕11<sup>+</sup>周,G3P1A1,2012年孕23<sup>+</sup>周因“胎儿水肿、胎死宫内”引产一胎,要求进行产前诊断。孕妇本人地贫基因诊断为: $\alpha$ 地中海贫血,基因型为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ ,丈夫 $\alpha$ 地贫基因常规检测未见异常,随后其丈夫进行泰国型基因缺失和菲律宾型基因缺失进行检测,对其丈夫明确诊断后绒毛穿刺进行地贫产前基因诊断。

1.1.2 家系2 孕妇就诊时孕17<sup>+</sup>周,G1P0,外院进行地贫筛查可疑夫妻双方地贫,要求进行进一步检查。孕妇常规地贫基因诊断为 $-\alpha^{4.2}$ 纯合缺失,与筛查结果(可疑Hb H病)不符合,遂进一步进行泰国型基因缺失和菲律宾型基因缺失检测,诊断为 $-\text{THAI}/-\alpha^{4.2}$ (Hb H病),孕妇丈夫基因诊断为轻型 $\alpha$ 地中海贫血,基因型为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ ,对夫妇明确诊断后羊水穿刺进行地贫产前基因诊断。

1.1.3 家系3 孕妇就诊时孕16<sup>+</sup>周,G3P0A2,自述分别于2010年、2012年孕6<sup>+</sup>月因“胎儿水肿”引产,要求进行产前诊断。孕妇本人基因诊断为轻型 $\alpha$ 地中海贫血,基因型为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ ,孕妇丈夫地贫筛查可疑 $\alpha$ 地贫基因未见异常,随后其丈夫进行泰国型基因缺失和菲律宾型基因缺失进行检测,对其丈夫明确诊断后羊水穿刺进行地贫产前基因诊断。

## 1.2 方法

1.2.1 血液学分析 EDTA抗凝管采集3家系成员外周血2 ml,采用迈瑞2000血液分析仪进行红细胞参数分析。ACD抗凝管采集该3家系成员外周血2 ml,采用Sebia capillary2进行血红蛋白分析。

### 1.2.2 分子诊断

1.2.2.1 DNA提取 ACD抗凝管采集5家系成员外周血2 ml进行 $\alpha$ 地贫基因诊断,无菌羊水管采集羊水15 ml或者绒毛6支进行产前基因诊断,DNA抽提试剂盒采用QIAamp DNA Blood Mini Kit试剂盒,按试剂盒说明书提取步骤进行DNA的提取。应用复合荧光标记短串联重复序列(STR)方法排除羊水及绒毛样本母体组织的污染<sup>[8]</sup>,排除母

体组织污染之后才进行产前基因诊断。

1.2.2.2  $\alpha$ 地贫基因检测 采用单管四重PCR基因诊断技术检测 $-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ 3种 $\alpha$ 珠蛋白基因常见缺失型,采用裂隙聚合酶链反应结合反向点杂交(PCR-RDB)方法进行点突变的检测,检测范围包括 $\alpha^{\text{CS}}$ 、 $\alpha^{\text{QS}}$ 、 $\alpha^{\text{WS}}$ 3种点突变,基因诊断试剂由亚能生物技术有限公司(深圳)提供。

1.2.2.3  $\alpha$ 地贫( $-\text{THAI}/$ )和( $-\text{FIL}/$ )缺失检测 采用Gap-PCR方法检测 $\alpha$ 地贫( $-\text{THAI}/$ )和( $-\text{FIL}/$ )缺失,引物设计及反应条件参考文献<sup>[9]</sup>后自行设计,检测( $-\text{THAI}/$ )引物序列为THAI-F: GGCCTGAG-AGCCCTTCACG和THAI-R: CAAGTGGGCT-GAGCCCTTGAG,检测( $-\text{FIL}/$ )引物序列为:FIL-F: TGCAAATATGTTTCTCTCATTCTGTG和ATAACCTTTATCTGCCACATGTAGC。扩增产物长度分别为1024 bp及1166 bp。内对照 $\alpha 2$ 基因扩增产物长度为1800 bp。引物由上海英骏生物技术有限公司合成,PCR反应体系购自大连宝生物工程有限公司。扩增条件为:95℃预变性5分钟;95℃45秒→62℃60秒→72℃60秒,35个循环;72℃延伸7分钟。

## 2 结果

2.1 3家系成员的血液学指标分析及基因诊断结果 在3对夫妇中共检测到2例泰国型缺失 $\alpha$ 地中海贫血携带者( $-\text{THAI}/\alpha\alpha$ )及1例泰国型缺失复合4.2型缺失导致的血红蛋白H病( $-\text{THAI}/-\alpha^{4.2}$ )。血细胞分析提示2例泰国型缺失地贫杂合子平均红细胞容积(mean corpuscular volume, MCV)降低及血红蛋白A2(Hb A2)降低,临床表型与东南亚型缺失 $\alpha$ 地贫相似。1例泰国型基因缺失复合4.2型基因缺失(基因型: $-\text{THAI}/-\alpha^{4.2}$ )导致的Hb H病临床表型与东南亚型基因缺失复合4.2型基因缺失引起的Hb H病类似。3家系成员的血液学指标分析及基因诊断结果、产前诊断结果详见表1。3家系成员泰国缺失型 $\alpha$ 珠蛋白基因检测琼脂糖电泳图分别见图1、2、3。

2.3 产前诊断结果及妊娠结局 在进行产前诊断的这3个家系中,2个胎儿为泰国型缺失 $\alpha$ 地中海贫血携带者,经过遗传咨询,均继续妊娠。

表 1 3 家系成员血细胞分析、血红蛋白分析及基因诊断结果

家系	受检者	年龄	性别	Hb(g/L)	MCV(fl)	Hb A2(%)	Hb F(%)	Hb H(%)	Hb Barts(%)	基因型
家系 1	母亲	25	女	99	73.8	2.3	1.2	/	/	-SEA/ $\alpha\alpha$
	父亲	26	男	136	68.1	2.8	/	/	/	-THAI/ $\alpha\alpha$
	胎儿	13 <sup>+</sup> 周	/	/	/	/	/	/	/	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$
家系 2	母亲	20	女	72	62.1	0.9	/	12.7	0.4	-THAI/ $-\alpha^{4.2}$
	父亲	26	男	124	68.3	2.4	0.6	/	/	-SEA/ $\alpha\alpha$
	胎儿	19 <sup>+</sup> 周	/	/	/	/	/	/	/	-THAI/ $\alpha\alpha$
家系 3	母亲	31	女	110	69.7	2.3	1.5	/	/	-SEA/ $\alpha\alpha$
	父亲	33	男	152	67.4	2.4	0.8	/	/	-THAI/ $\alpha\alpha$
	胎儿	18 <sup>+</sup> 周	/	/	/	/	/	/	/	-THAI/ $\alpha\alpha$

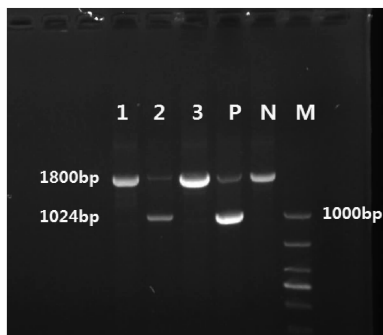


图 1 家系 1 父母及胎儿泰国缺失型  $\alpha$  地贫检测电泳图  
1: 母亲; 2: 父亲; 3: 胎儿; P: 阳性对照 (-THAI/ $\alpha\alpha$ ); N: 阴性对照; M: 分子量标志物



图 2 家系 2 父母及胎儿泰国缺失型  $\alpha$  地贫检测电泳图  
1: 母亲; 2: 父亲; 3: 胎儿; P: 阳性对照 (-THAI/ $\alpha\alpha$ ); N: 阴性对照; M: 分子量标志物



图 3 家系 3 父母及胎儿泰国缺失型  $\alpha$  地贫检测电泳图  
1: 母亲; 2: 父亲; 3: 胎儿; P: 阳性对照 (-THAI/ $\alpha\alpha$ ); N: 阴性对照; M: 分子量标志物

### 3 讨论

我国南方各省为地中海贫血高发区, 广东省育龄人群  $\alpha$  地贫的基因携带率达到 13% 以上,  $\alpha$  地贫的分子基础主要是大片段基因缺失, -SEA, - $\alpha^{3.7}$  和 - $\alpha^{4.2}$  为最常见的 3 种基因缺失类型。随着对地中海贫血认识的增加, 近年发现 -THAI 是我国南方地区仅次于常见 3 种缺失类型的一种  $\alpha$  珠蛋白基因缺失<sup>[2-7]</sup>。泰国型  $\alpha$  基因缺失与其他  $\alpha$  地中海贫血复合存在, 在临床上可以形成中重型  $\alpha$  地中海贫血, 即泰国缺失型的 Hb H 病和泰国缺失型的巴氏水肿胎<sup>[5-7]</sup>。泰国型缺失  $\alpha$  地中海贫血基因的缺失范围包括人  $\alpha$  珠蛋白基因簇中的多个基因, 其缺失片段较东南亚型更大, 包括  $\zeta$  基因<sup>[10]</sup>, 因此可能导致胎儿水肿的表现出现会更早<sup>[7]</sup>。

目前, 常规  $\alpha$  地中海贫血基因诊断只包括常见的 3 种基因缺失 (-SEA / - $\alpha^{3.7}$  / - $\alpha^{4.2}$  /) 和 3 种点突变 ( $\alpha^{CS}$  /  $\alpha^{QS}$  /  $\alpha^{WS}$  /), 尚未常规检测泰国缺失型, 因而容易造成误诊和漏诊。因此, 在地中海贫血基因诊断过程中, 应密切注意受检者的表型、地贫筛查结果与基因型是否一致, 在地贫筛查结果与地贫基因检测结果不一致时, 要考虑是否存在罕见缺失型  $\alpha$  地中海贫血, 尤其是生育过水肿胎的病例。在我们诊断的这 3 个家系中, 有 2 个家系有水肿胎引产史, 夫妻双方之一未明确  $\alpha$  地贫基因携带情况。有 1 例泰国型基因缺失复合 4.2 型基因缺失 (基因型: -THAI / - $\alpha^{4.2}$ ) 导致的 Hb H 病, 在外院只进行了常规  $\alpha$  基因诊断而误诊为 - $\alpha^{4.2}$  纯合缺失 (基因型: -

$\alpha^{4.2}/-\alpha^{4.2}$ )。在此,我们同时要强调在进行地中海贫血基因诊断时,一定不能忽略地中海贫血的筛查。

我们通过对这3个家系的总结,丰富了罕见缺失型 $\alpha$ 地中海贫血的资料。泰国缺失型 $\alpha$ 地中海贫血的准确检测对于遗传咨询和产前基因诊断具有重要的意义。

#### 参 考 文 献

- [1] So CC, So AC, Chan AY, et al. Detection and characterization of beta-globin gene cluster deletions in Chinese using multiplex ligation-dependent probe amplification [J]. *J Clin Pathol*, 2009, 62(12): 1107-1111.
- [2] 陈碧艳. 3例罕见地中海贫血家系分子诊断和产前诊断[J]. *海南医学院学报*, 2013, 19(4): 452-456.
- [3] 阙婷, 张强, 唐燕青, 等. 广西地区泰国缺失型 $\alpha$ 地中海贫血的调查研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(13): 1703-1706.
- [4] 唐燕青, 何升, 张强, 等. 泰国缺失型 $\alpha$ -珠蛋白生成障碍性贫血

血临床血液学表型分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(22): 2965-2966.

- [5] 玉晋武, 李东明, 韦媛, 等. 血红蛋白H病筛查与基因型分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2013, 21(8): 24-25.
- [6] 黄海龙, 林娜, 徐两蒲, 等. 产前诊断泰国缺失型 $\alpha$ 地中海贫血引起的胎儿巴氏水肿[J]. *中华妇产科杂志*, 2010, 45(4): 533.
- [7] Yang Y, Li DZ. Early onset of fetal hydrops associated with the  $\alpha$ -thalassaemia-(THAI) deletion [J]. *Hemoglobin*, 2014; 38(6): 431-434.
- [8] 尹爱华, 张畅斌, 梁驹卿, 等. 应用复合荧光标记STR-PCR排除绒毛取材中母体细胞污染[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2007, 28(S3): 203-205.
- [9] 徐湘民. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 北京: 人民军医出版社, 2011: 88-92.
- [10] Hartevelde CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2010, 5: 13.

(收稿日期: 2015-08-11)

编辑: 宋文颖

(上接第30页)

- [3] Wu J, Shen E, Shi D, et al. Identification of a novel Cys146X mutation of SOD1 in familial amyotrophic lateral sclerosis by whole-exome sequencing [J]. *Genet Med*, 2012, 14: 823-826.
- [4] Ajroud-Driss S, Siddique T. Sporadic and hereditary amyotrophic lateral sclerosis (ALS) [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852: 679-684.
- [5] Pramatarova A, Figlewicz DA, Krizus A, et al. Identification of new mutations in the Cu/Zn superoxide dismutase gene of patients with familial amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Am J Hum Genet*, 1995, 56: 592-596.
- [6] Heiman-Patterson TD, Blankenhorn EP, Sher RB, et al. Genetic background effects on disease onset and lifespan of the mutant dynactin p150Glued mouse model of motor neuron disease [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0117848.

- [7] Fong GC, Kwok KH, Song YQ, et al. Clinical phenotypes of a large Chinese multigenerational kindred with autosomal dominant familial ALS due to Ile149Thr SOD1 gene mutation [J]. *Amyotroph Lateral Scler*, 2006, 7: 142-149.
- [8] Vehviläinen P, Koistinaho J, Gundars G. Mechanisms of mutant SOD1 induced mitochondrial toxicity in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 126.
- [9] Su XW, Broach JR, Connor JR, et al. Genetic heterogeneity of amyotrophic lateral sclerosis: implications for clinical practice and research [J]. *Muscle Nerve*, 2014, 49: 786-803.

(收稿日期: 2015-09-30)

编辑: 宋文颖