

# HK $\alpha\alpha$ 地中海贫血的基因诊断及临床表型分析

杜丽 王继成 秦丹卿 胡昕听 袁腾龙 张艳霞 梁驹卿 尹爱华\*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心、广东省妇幼代谢与遗传病重点实验室, 广东 广州 511442)

**【摘要】 目的** 对 HK $\alpha\alpha$  地中海贫血病例进行基因诊断, 分析 HK $\alpha\alpha$  病例临床表型, 为遗传咨询提供指导。**方法** 对在本院就诊的 HK $\alpha\alpha$  病例进行血常规、血红蛋白电泳、基因诊断及产前诊断, 分析病例的临床表型。**结果** 共检测出 HK $\alpha\alpha$  病例 33 例, 包括 HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$  15 例、 $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$  16 例、 $\alpha^{\text{WS}}\alpha/\text{HK}\alpha\alpha$  1 例、 $-\alpha^{4.2}/\text{HK}\alpha\alpha$  1 例。并对 5 个家庭进行了产前诊断, 检出  $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$  胎儿 1 例, 通过遗传咨询, 避免了选择性终止妊娠。**结论** 结论 HK $\alpha\alpha$  地中海贫血的基因诊断可以减少病例的漏诊或误诊, 临床表型的分析可以为精准的遗传咨询提供指导。

**【关键词】** 地中海贫血; 基因诊断; HK $\alpha\alpha$

**【中图分类号】** R714.55 **【文献标识码】** A

**【Abstract】 Objective** To investigate the gene diagnosis and clinical presentation of HK $\alpha\alpha$  thalassemia and to provide an effective genetic counseling. **Method** Whole blood cell analysis, capillary zone electrophoresis (CZE), Gap-PCR and polymerase chain reaction - reverse dot blot (PCR-RDB) assay were performed to the HK $\alpha\alpha$  Thalassemia, and analyze the hematological phenotype data of HK $\alpha\alpha$  Thalassemia. **Results** 33 cases of HK $\alpha\alpha$  thalassemia were detected, including 15 cases of HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ , 16 cases of  $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$ , 1 case of  $\alpha^{\text{WS}}\alpha/\text{HK}\alpha\alpha$  and 1 case of  $-\alpha^{4.2}/\text{HK}\alpha\alpha$ . 5 pedigrees were carried out prenatal diagnosis and 1 fetus of Hb  $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$  was detected. The couple choosed to continue the pregnancy. **Conclusions** Gene diagnosis of HK $\alpha\alpha$  thalassemia can make accurate diagnosis, avoiding the misdiagnosis. The analysis of HK $\alpha\alpha$  thalassemia clinical presentation can provide an effective genetic counseling.

**【Key words】** thalassemia; gene diagnosis; HK $\alpha\alpha$

$\alpha$ 地中海贫血(简称 $\alpha$ 地贫)是我国南方各省携带率最高、影响最大的遗传病,广东省育龄人群 $\alpha$ 地贫的基因携带率达13%<sup>[1]</sup>。导致 $\alpha$ 地贫的基因缺陷主要是 $\alpha$ 珠蛋白基因缺失,少数是 $\alpha$ 珠蛋白基因点突变。在我国南方最常见的缺失类型有 $-\text{SEA}/$ 、 $-\alpha^{3.7}/$ 、 $-\alpha^{4.2}/$ 三种, $-\alpha^{3.7}/$ 和 $-\alpha^{4.2}/$ 主要是由于 $\alpha$ 珠蛋白基因簇同源序列不等交换的结果,一条16号染色体缺失了3.7kb( $-\alpha^{3.7}/$ )或4.2kb( $-\alpha^{4.2}/$ ),另一条染色体则形成 $\alpha$ 三联体( $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}/$ )或 $\alpha$ 三联体( $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}4.2}/$ )<sup>[2]</sup>。HK $\alpha\alpha$ 基因是 $\alpha$ 珠蛋白基因簇同源重组和不等位交换形成一种包含 $-\alpha^{3.7}$ 片段和 anti4.2

片段的特殊结构,目前仅有少数文献报道。很多临床医生在进行遗传咨询及处理时存在很多困惑,我们希望通过我们临床咨询的总结和分析,为临床遗传咨询提供依据。我们对在本院医学遗传中心行地中海贫血基因诊断和产前诊断检测到的HK $\alpha\alpha$ 病例进行了总结和分析,现报告如下。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象 选择自2014年1月至2016年12月在广东省妇幼保健院医学遗传中心进行地中海基因诊断和产前诊断检出的HK $\alpha\alpha$ 病例。

### 1.2 方法

1.2.1 血细胞参数分析 EDTA 抗凝管采集外周血 2 ml,采用迈瑞 2000 血液分析仪进行红细胞参数分析。

1.2.2 血红蛋白电泳检测 ACD 抗凝管采集外周血 2 ml,采用法国 Sebia 公司生产的 CAPILLARYS 2 FLEX PIERCING 全自动毛细管电泳仪及配套试剂进行血红蛋白电泳检测。

1.2.3 外周血 DNA 提取 采用 MagPure Tissue&Blood DNA KF Kit 试剂盒,羊水或绒毛标本 DNA 提取采用 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。

1.2.4 应用复合荧光标记 STR-PCR 方法排除绒毛、羊水样本母体组织的污染<sup>[3]</sup>,排除母体组织污染之后才能进行产前基因诊断。

1.2.5 常规地中海贫血基因检测 采用 gap-PCR、PCR-RDB 或 PCR-流式荧光杂交法检测  $\alpha$  珠蛋白基因 3 种常见缺失(—<sup>SEA</sup>/、— $\alpha^{3.7}$ /、— $\alpha^{4.2}$ /)、3 种点突变( $\alpha^{CS}$ / $\alpha$ 、 $\alpha^{WS}$ / $\alpha$ 、 $\alpha^{QS}$ / $\alpha$ )及  $\beta$  珠蛋白基因 17 种突变。基因诊断试剂由亚能生物技术有限公司(深圳)及中山大学达安基因股份有限公司提供。

1.2.6 anti4.2 片段的基因检测 采用 gap-PCR 技术检测 anti4.2 片段,检测结果需结合常见  $\alpha$  地贫基因检测结果及家系诊断结果综合分析来判断样本基因型。基因诊断试剂由亚能生物技术有限公司(深圳)提供。

2 结果

2.1 HK $\alpha\alpha$  病例的血液学指标分析及基因诊断结果 共检测到 33 例 HK $\alpha\alpha$  病例,其中 HK $\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$  有 15 例,—<sup>SEA</sup>/HK $\alpha\alpha$  有 16 例, $\alpha^{WS}$ / $\alpha$ /HK $\alpha\alpha$  有 1 例,— $\alpha^{4.2}$ /HK $\alpha\alpha$  有 1 例。血细胞分析提示—<sup>SEA</sup>/HK $\alpha\alpha$  病例平均红细胞容积(mean corpuscular volume,MCV)降低及血红蛋白 A<sub>2</sub>(Hb A<sub>2</sub>)降低,呈小细胞低色素性表现,轻度贫血或无贫血,临床表型与东南亚型缺失  $\alpha$  地贫相似,HK $\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$  病例各血液学指标无明显变化。HK $\alpha\alpha$  病例的血液学指标分析及基因诊断结果详见表 1。

表 1 33 例 HK $\alpha\alpha$  地中海贫血血细胞分析、血红蛋白分析及基因诊断结果

基因型	例数(例)	MCV(fl)	MCH(pg)	Hb(g/L)	Hb A2(%)	Hb A(%)
HK $\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$	15	88.65±4.06	30.53±2.01	126.8±22.10	2.73±0.13	96.91±0.46
— <sup>SEA</sup> /HK $\alpha\alpha$	16	67.34±4.44	21.51±2.52	123.56±13.44	2.29±0.22	97.61±0.34
$\alpha^{WS}$ / $\alpha$ /HK $\alpha\alpha$	1	87.5	28.3	118	2.6	97.4
— $\alpha^{4.2}$ /HK $\alpha\alpha$	1	84.1	25.8	131	2.7	97.3

2.3 产前诊断结果 共 5 个家系进行了产前诊断,具体见表 2。其中家系 3 起初因孕妇— $\alpha^{3.7}$ / $\alpha\alpha$ ,孕妇丈夫—<sup>SEA</sup>/ $\alpha\alpha$  行产前诊断,胎儿常规地贫检测发现 gap-PCR 电泳出现 3 条带(— $\alpha^{3.7}$ /、—<sup>SEA</sup>/、

$\alpha\alpha$ /),可疑—<sup>SEA</sup>/HK $\alpha\alpha$ ,遂进行孕妇及胎儿的 anti4.2 片段的基因检测,经家系分析,孕妇基因型纠正为 HK $\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$ ,胎儿基因型为—<sup>SEA</sup>/HK $\alpha\alpha$ 。经过遗传咨询,夫妇选择继续妊娠。

表 2 5 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 A(%)	Hb F(%)	基因型
家系 1	母亲	30	女	112	67.9	2.4	97.6	/	— <sup>SEA</sup> / $\alpha\alpha$
	父亲	36	男	135	64.3	2.3	96.7	1	— <sup>SEA</sup> /HK $\alpha\alpha$
	胎儿	12+周	/	/	/	/	/	/	HK $\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$
家系 2	母亲	25	女	107	66.7	2.4	97.6	/	$\alpha^{QS}$ / $\alpha$ / $\alpha\alpha$
	父亲	34	男	144	67.2	2	98	/	— <sup>SEA</sup> /HK $\alpha\alpha$
	胎儿	19+周	/	/	/	/	/	/	$\alpha^{QS}$ / $\alpha$ /HK $\alpha\alpha$
家系 3	母亲	22	女	113	87.2	2.8	96.5	0.7	HK $\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$
	父亲	28	男	128	70.3	2.4	97	0.6	— <sup>SEA</sup> / $\alpha\alpha$
	胎儿	18+周	/	/	/	/	/	/	— <sup>SEA</sup> /HK $\alpha\alpha$
家系 4	母亲	34	女	129	92.4	2.9	97.1	/	HK $\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$
	父亲	36	男	134	68.5	2.3	96.9	0.8	— <sup>SEA</sup> / $\alpha\alpha$
	先证者	7	男	114	67	2.1	97.9	/	— <sup>SEA</sup> /HK $\alpha\alpha$
	胎儿	18+周	/	/	/	/	/	/	$\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$
家系 5	母亲	27	女	99	63.8	2.3	96.5	1.2	— <sup>SEA</sup> / $\alpha\alpha$
	父亲	33	男	138	87.5	2.7	97.3	/	$\alpha^{WS}$ / $\alpha$ /HK $\alpha\alpha$
	胎儿	13+周	/	/	/	/	/	/	$\alpha^{WS}$ / $\alpha$ / $\alpha\alpha$

### 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, $-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 和 $-\alpha^{4.2}$ 为最常见的3种基因缺失类型。随着检测技术的提高及对地中海贫血认识的增加,越来越多的HK $\alpha\alpha$ 病例被发现<sup>[4-5]</sup>,然而还有很多临床医生和实验室人员对于HK $\alpha\alpha$ 存在疑惑,HK $\alpha\alpha$ 病例的临床表型分析对于遗传咨询和准确诊断具有重要的意义。

3.1 实验室人员的经验对于HK $\alpha\alpha$ 病例检出的重要性 如前所述,HK $\alpha\alpha$ 基因是 $\alpha$ 珠蛋白基因簇同源重组和不等位交换形成一种包含 $-\alpha^{3.7}$ 片段和anti4.2片段的特殊结构,包含正常的 $\alpha 2$ 基因和 $-\alpha^{3.7}$ 基因片段,所以在常规 $\alpha$ 地贫基因检测时,HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 、HK $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 会出现相同的基因检测结果,都可以扩增出 $-\alpha^{3.7}$ 及 $\alpha\alpha$ 片段,所以一般情况下HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 、HK $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ 就会漏诊,按照 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 基因检测结果发出。但是因为HK $\alpha\alpha$ 基因包含正常的 $\alpha 2$ 基因和 $-\alpha^{3.7}$ 基因片段,HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 在电泳时因产物的量有差异可能表现为琼脂糖电泳条带的亮度的差异,与 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 电泳结果并不完全相同,这需要有经验的检测人员才能发现。 $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$ 病例在进行常规基因检测时会出现 $-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 及 $\alpha\alpha$ 片段,出现3条带,有些检测人员对HK $\alpha\alpha$ 不了解,可能无法解释检测的结果,按照 $-\text{SEA}/-\alpha^{3.7}$ 发放检测结果或者发出一个不明确的检测结果,这样会造成误诊或漏诊。所以,实验室检测人员的知识和经验对于准确的基因诊断结果非常重要,一个优秀的遗传咨询与产前诊断中心需要强有力的实验室人员支撑。

3.2 HK $\alpha\alpha$ 的遗传咨询 HK $\alpha\alpha$ 基因包含正常的 $\alpha 2$ 基因和 $-\alpha^{3.7}$ 基因片段,不存在基因量的减少,所以不引起临床表型的改变。我们通过对这33例HK $\alpha\alpha$ 病例的总结发现,HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 携带者的临床表型与正常人无明显差异, $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$ 患者与 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 携带者表现类似,都是轻型 $\alpha$ 地中海贫血的典型特征,无血红蛋白H病的表现,这也与以往的一些研究一致<sup>[6-11]</sup>。如果夫妻双方一方为

$-\text{SEA}/\alpha\alpha$ ,一方为HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ,那么这对夫妇是不需要进行产前诊断的。如果夫妻双方因一方为 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ ,一方为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ 行产前诊断,胎儿常规地贫gap-PCR检测发现电泳出现三条带( $-\alpha^{3.7}/-\text{SEA}/\alpha\alpha$ ),这时候要高度可疑为 $-\text{SEA}/\text{HK}\alpha\alpha$ ,需要进一步检测确诊。HK $\alpha\alpha$ 病例的临床资料分析为遗传咨询提供了更多的依据,HK $\alpha\alpha$ 地中海贫血的准确诊断可以避免不必要的介入性穿刺手术,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] Yin A, Li B, Luo M, et al. The prevalence and molecular spectrum of  $\alpha$  and  $\beta$  globin gene mutations in 14,332 families of Guangdong province, China[J]. PLoS One, 2014, 9(2):e89855.
- [2] 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,2011:16-17.
- [3] 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.
- [4] He S, Qin Q, Yi S, et al. Prevalence and genetic analysis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thalassemia in Baise region, a multi-ethnic region in southern China[J]. Gene, 2017, 619:71-75.
- [5] Huang Q, Wang X, Tang N, et al. Simultaneous genotyping of  $\alpha$ -thalassemia deletional and nondeletional mutations by real-time PCR-based multicolor melting curve analysis[J]. J Mol Diagn, 2017, 19(4):567-574.
- [6] Shang X, Li Q, Cai R, et al. Molecular characterization and clinical presentation of HK $\alpha\alpha$  and anti-HK $\alpha\alpha$  alleles in southern Chinese subjects[J]. Clin Genet, 2013, 83(5):472-476.
- [7] 姚亚超,李磊,李泽泳,等.HK型 $\alpha$ 珠蛋白生成障碍基因诊断及家系分析[J].检验医学与临床,2015,12:1672-1675.
- [8] 阙婷,李东明,李旺,等.香港型 $\alpha$ 地中海贫血杂合子地中海贫血经验分析和分子机制[J].中国优生与遗传杂志,2014,12:19-20.
- [9] Wu MY, Li J, Li SC, et al. Frequencies of HK $\alpha\alpha$  and anti-HK $\alpha\alpha$  Alleles in Chinese carriers of silent deletional  $\alpha$ -thalassemia[J]. Hemoglobin, 2015, 39(6):407-411.
- [10] Wu MY, Li J, Li SC, et al. Compound heterozygosity for HK $\alpha\alpha$  and an in Cis deletion of double  $\alpha$  genes presents as  $\alpha$ -thalassemia trait[J]. Hemoglobin, 2015, 39(4): 256-259.
- [11] 陈文璟,温旺荣,苏运钦,等.用巢氏PCR检测防止香港型地中海贫血漏诊[J].临床检验杂志,2014,09:713-715.

(收稿日期:2017-05-26)

编辑:宋文颖