

# 中国人 $\beta$ 地中海贫血 CD37(TGG→TAG) 突变的血液学特点研究

秦丹卿<sup>1,2</sup>, 姚翠泽<sup>1,2</sup>, 王继成<sup>1,2</sup>, 梁杰<sup>1,2</sup>, 包秀琴<sup>1,2</sup>, 杜丽<sup>1,2\*</sup>

(1. 广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511442; 2. 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** 探讨中国人  $\beta$  地中海贫血 CD37(TGG→TAG) 突变类型的血液学特点, 为临床诊断和遗传咨询提供指导。**方法** 对于产前地中海贫血筛查结果提示为  $\beta$  地中海贫血突变携带者的病例采用液相芯片法及  $\beta$  珠蛋白基因 DNA 测序方法进行基因诊断, 并对检测到 CD37(TGG→TAG) 突变的携带者病例进行回顾性血液学特点分析。**结果** 共检出 12 例  $\beta$  地中海贫血 CD37(TGG→TAG) 突变阳性病例, 其中 11 例为单纯杂合子, 1 例为杂合子合并(--<sup>SEA</sup>/)型  $\alpha$  地中海贫血杂合缺失, 未检出该突变纯合子病例。**结论**  $\beta$  地中海贫血 CD37(TGG→TAG) 突变导致  $\beta^0$  地中海贫血, 其杂合子多有轻度贫血或无贫血症状, 极个别病例表现中度贫血。杂合子合并(--<sup>SEA</sup>/)型  $\alpha$  地中海贫血杂合缺失的血液学表型与单纯 CD37(TGG→TAG) 突变杂合子类似, 未有明显减轻其临床表型的作用。

**【关键词】**  $\beta$  地中海贫血; CD37 突变; 基因型; 表型

**【中图分类号】** R714.53 **【文献标识码】** A

## Hematological features of CD37 (TGG→TAG) mutation of $\beta$ -thalassemia in Chinese

Qin Danqing<sup>1,2</sup>, Yao Cuize<sup>1,2</sup>, Wang Jicheng<sup>1,2</sup>, Liang Jie<sup>1,2</sup>, Bao Xiuqin<sup>1,2</sup>, Du Li<sup>1,2\*</sup>

1. Medical Genetics Center of Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 511442, China;

2. Maternal and Children Metabolic-Genetic Key Laboratory of Guangdong, Guangzhou 511442, China

\* Corresponding author; Du Li, E-mail: lier28@163.com

**【Abstract】Objective** To analyze the hematological features of Chinese people with CD37 (TGG→TAG) mutation and to offer advice for thalassemia diagnosis and genetic counseling. **Methods** Liquid chip method and gene sequencing were used to determine the genotypes of the samples which suspected of  $\beta$ -thalassemia. A retrospective analysis of hematological features for the cases with CD37 (TGG→TAG) mutation was reviewed. **Results** Twelve cases were identified as heterozygote for CD37 (TGG→TAG) mutation, including one case co-inherited with Southern Asian  $\alpha$ -thalassemia deletion (--<sup>SEA</sup>/ $\alpha\alpha$ ). No homozygous cases were detected. **Conclusion** Patients with CD37 (TGG→TAG) mutation are associated with a phenotype of  $\beta^0$ -thalassemia. Most of the heterozygote presented with mild anemia or asymptomatic. Only rare cases have features of intermedia phenotype. The presence of (--<sup>SEA</sup>/ $\alpha\alpha$ ) mutation in a heterozygous individual could not ameliorate the clinical symptoms.

**【Key words】**  $\beta$ -thalassemia; CD37 mutation; Genotype; Phenotype

由于  $\beta$  珠蛋白基因 (*HBB*) 突变导致  $\beta$  珠蛋白

肽链合成减少或缺如而引起的  $\beta$  地中海贫血 ( $\beta$  地贫) 是一类慢性遗传性溶血性疾病。据 HbVar 数据库 (<http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/>)

counter)收录统计,迄今为止全世界已报道近300种可引起 $\beta$ 地贫的 $\beta$ 珠蛋白基因突变类型,在中国人群中已发现约50余种<sup>[1]</sup>。重型 $\beta$ 地贫患儿目前尚无理想的治疗方法,昂贵的治疗费用及严重的并发症给患者和其家庭带来巨大的精神痛苦和沉重负担,通过对高风险夫妇进行产前基因诊断是目前公认的首选预防措施<sup>[2]</sup>。

CD37 密码子(TGG→TAG)突变是位于 $\beta$ 珠蛋白基因第二外显子(*HBB*: c. 113 G>A)的一种罕见点突变类型,属于无义突变。由于此突变会形成不稳定的、不具有正常功能的 $\beta$ 珠蛋白肽链,所以其临床表型为 $\beta^0$ 地贫。本研究对CD37突变携带者的基因型和表型进行分析讨论,为临床精准的产前诊断和遗传咨询策略提供依据。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2014年1月至2020年6月就诊于广东省妇幼保健院医学遗传中心并且地贫筛查结果提示可疑为 $\beta$ 地贫携带者的病例,采集外周血样本时均签署知情同意书。

### 1.2 方法

1.2.1 DNA样本制备 所有受检对象抽取外周静脉血各2ml,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝,采用MagPure Tissue & Blood DNA KF Kit试剂盒(广州美基生物,广东广州),按照试剂盒说明书步骤提取外周血基因组DNA。

1.2.2 常见地中海贫血基因突变类型诊断 应用PCR-流式荧光杂交法(液相芯片法)地中海贫血基因检测试剂盒(中山大学达安基因股份有限公司,广东广州)检测中国南方人群中常见的 $\alpha$ 地中海贫血( $\alpha$ 地贫)3种缺失类型(--SEA/-、- $\alpha^{4.2}$ /和- $\alpha^{3.7}$ /)、3种点突变( $\alpha^{CS}$ α/、 $\alpha^{QS}$ α/和 $\alpha^{WS}$ α/)及17种 $\beta$ 地贫突变类型,严格按照试剂说明书和仪器说明书进行实验操作。

1.2.3  $\beta$ 珠蛋白基因测序 引物设计和PCR反应条件参考文献<sup>[3]</sup>。扩增完成后PCR产物送上海英潍捷基生物有限公司进行双向测序。测序结果应用Sequence Scanner分析软件(Applied Biosystems,美国)进行序列分析。

## 2 结果

通过 $\beta$ 珠蛋白基因测序共检测到CD37(TGG→TAG)突变阳性病例12例,均为成年人,其中男性5例,女性7例。测序结果见图1。12例中有11例为杂合子,基因型为 $\beta^{CD37}/\beta^N$ ;1例同时检出(--SEA/-)型 $\alpha$ 地贫杂合缺失,基因型为--SEA/αα、 $\beta^{CD37}/\beta^N$ ;未检出纯合子病例。回顾11例单纯杂合子病例的血常规和血红蛋白(--SEA)白(Hb)电泳结果提示Hb为(87.0~135.0)g/L,平均红细胞体积(mean corpuscular volume,MCV)为57.5~71.9fL,平均红细胞Hb量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)为18.4~23.3pg,血红蛋白A<sub>2</sub>(hemoglobin A<sub>2</sub>, HbA<sub>2</sub>)为4.6%~5.7%。所有病例的血液学指标和基因诊断结果详见表1。

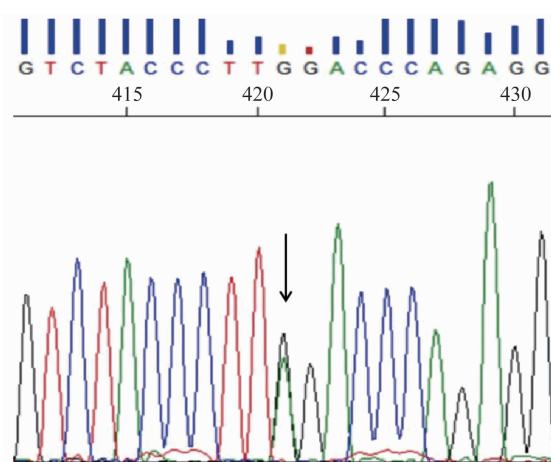


图1 CD37(TGG→TAG)测序结果

注:箭头所示为正向测序结果 *HBB*, c. 113 位点处 AG 杂合峰

表1 12例CD37(TGG→TAG)突变携带者的血液学指标及基因诊断结果

病例	性别	年龄(岁)	血液学指标					基因型
			Hb(g/L)	MCV(fL)	MCH(pg)	HbA <sub>2</sub> (%)	HbF(%)	
1	男	31	135.0	60.5	19.7	5.7	0.0	$\beta^{CD37}/\beta^N$
2	女	27	110.0	69.1	22.7	4.6	6.6	$\beta^{CD37}/\beta^N$
3	女	25	87.0	57.5	18.4	5.0	1.0	$\beta^{CD37}/\beta^N$
4	女	26	103.0	62.4	20.1	4.8	2.3	$\beta^{CD37}/\beta^N$
5	女	26	104.0	71.9	23.3	5.3	5.2	$\beta^{CD37}/\beta^N$
6	女	26	104.0	65.9	20.3	4.6	6.8	$\beta^{CD37}/\beta^N$
7	女	24	106.0	63.4	20.0	5.6	1.8	$\beta^{CD37}/\beta^N$
8	女	24	110.0	62.5	18.8	5.7	0.0	$\beta^{CD37}/\beta^N$
9	男	31	120.0	58.0	19.2	5.3	0.0	$\beta^{CD37}/\beta^N$
10	男	30	130.0	68.0	20.0	4.8	2.4	$\beta^{CD37}/\beta^N$
11	男	19	131.0	61.1	20.0	5.1	1.8	$\beta^{CD37}/\beta^N$
12	男	29	127.0	67.1	22.4	5.6	0.0	--SEA/αα、 $\beta^{CD37}/\beta^N$

### 3 讨论

目前发现的 $\beta$ 珠蛋白基因CD37位点无义突变类型包括CD37(TGG→TGA)和CD37(TGG→TAG)两种。前者在美国约旦人和以色列的阿拉伯人中最常见,在中国人群中仅发现1例<sup>[4-6]</sup>;后者在我国南方人群较多见,于1995年在广东人群中首次报道<sup>[7]</sup>。CD37(TGG→TAG)突变是 $\beta$ 珠蛋白基因的第37位密码子编码的色氨酸突变为终止密码子,在翻译过程中导致肽链合成提前终止,形成不稳定的、不具有正常功能的 $\beta$ 珠蛋白肽链,所以临床表现为 $\beta^0$ 地贫。

本研究发现的11例单纯CD37(TGG→TAG)突变杂合子,血液学指标提示MCV和MCH值均显著降低,HbA<sub>2</sub>值增高且均>4.5%,与已报道的临床资料一致<sup>[8-10]</sup>,也与其他 $\beta^0$ 突变位点杂合子的血液学指标相符合<sup>[2]</sup>。 $\beta$ 地贫虽属于常染色体隐性遗传,但 $\beta^0$ 杂合子有时表现出轻微贫血症状,本研究检出的杂合子病例中除1例表现为中度贫血以外,其余均表现轻度贫血或无贫血症状。如表1所示,此例中度贫血病例的MCV和MCH值在所有病例中为最低。既往针对广西桂林人群地贫突变谱的流行病学调查研究也曾检出1例CD37(TGG→TAG)杂合子表现为中间型地贫,因此该研究也提出此种突变应归类为罕见显性突变<sup>[11]</sup>。

目前在中国人群中尚未发现CD37(TGG→TAG)突变纯合子病例,该突变合并 $\alpha$ 地贫的病例也仅报道一次<sup>[10]</sup>,为CD37(TGG→TAG)杂合子合并(- $\alpha^{3.7}$ /)型杂合缺失,其血液学表型同单纯杂合子类似。我们的研究也检测到1例CD37(TGG→TAG)杂合子合并(--SEA/)型杂合缺失,与单纯杂合子比较该病例表现为轻型地贫特征,进一步提示合并 $\alpha$ 地贫对该突变杂合子病例的临床症状并无影响。

根据CD37突变在不同地区人群中分布情况的研究表明<sup>[9]</sup>,此种突变分布范围较广泛,除南方地区外,其他地区人群也有检出。因此,针对该种突变进行筛查和基因诊断是十分必要的。本研究通过对

CD37(TGG→TAG)突变的血液学特点进行讨论,期望通过这些病例的总结和分析,为临床精准的产前诊断和遗传咨询策略提供依据。

### 参 考 文 献

- [1] TAHER AT, WEATHERALL DJ, CAPPELLINI MD. Thalassaemia [J]. Lancet, 2018, 391(10116): 155-167.
- [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,2002.
- [3] 秦丹卿,杜丽,丁红珂,等.一种罕见的同义突变导致 $\beta$ -地中海贫血的基因诊断和表型分析[J].中国实验血液学杂志,2020,28(2):577-582.
- [4] SADIQ MF, HUISMAN TH. Molecular characterization of beta-thalassemia in north Jordan [J]. Hemoglobin, 1994, 18(4-5): 325-32.
- [5] FARAON R, DARAGHMAH M, SAMARAH F, et al. Molecular characterization of  $\beta$ -thalassemia intermedia in the West Bank, Palestine [J]. BMC Hematol, 2019, 19: 4.
- [6] 钟惠珠,谢杏梅,李冬至.中国人少见的 $\beta$ 地中海贫血基因突变一家二例报告[J].中国优生与遗传杂志,2009,17(1):37-38.
- [7] XU X M, LIAO C, LIU Z Y, et al. A novel amber mutation in a beta zero-thalassaemia gene (beta 37TGG→TAG), with direct detection by mapping the restriction fragments in amplified genomic DNA [J]. Br J Haematol, 1995, 90(4): 960-962.
- [8] LI D Z, LIAO C, LI J, et al. The codon 37 (TGG→TAG) beta(0)-thalassaemia mutation found in a Chinese family [J]. Hemoglobin, 2006, 30(2): 171-173.
- [9] 吴维青,郝颖,古艳,等. CD37(TGG TAG)突变在罕见 $\beta$ 地贫病例中的分布情况研究[J].中国优生与遗传杂志,2011,19(8):10-11.
- [10] 李育敏,李俭,熊丹,等.一罕见 $\beta$ 地贫基因CD37(TGG→TAG)突变复合 $\alpha$ 地贫家系的分子遗传学特征[J].临床检验杂志,2018,36(5):359-361.
- [11] TANG W J, ZHANG C L, LU F F, et al. Spectrum of  $\alpha$ -thalassaemia and  $\beta$ -thalassaemia mutations in the Guilin Region of southern China [J]. Clin Biochem, 2015, 48(16-17): 1068-1072.

(收稿日期:2020-08-15)

编辑:宋文颖