

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.10.020

## 49 例同型地中海贫血携带者产前基因诊断分析

姜柯安, 刘东云, 陈霞, 李雪齐, 贾朝莉, 黄国宁<sup>△</sup>

(重庆市妇幼保健院遗传与生殖研究所 400013)

**[摘要]** **目的** 探讨防止严重类型地中海贫血(简称地贫)患儿出生的有效手段和重要意义。**方法** 2013年1月至2015年12月于该院产前检查的孕妇及配偶通过地贫筛查和基因诊断,对确诊的49例同型地贫携带者夫妇进行羊水地贫产前基因诊断,并在产前诊断后进行随访。**结果** 在49例同型地贫携带者夫妇中,基因诊断检测出 $\alpha$ -地贫主要突变类型为 $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ (50.0%)、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (36.5%)、 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ (11.5%), $\beta$ -地贫主要突变类型为CD17/N(42.0%)、CD41-42/N(26.0%)、IVS-II-654/N(22.0%)。产前诊断检测出HbH病4例,Bart's水肿胎儿2例,重型 $\beta$ -地贫10例, $\alpha$ -地贫携带者19例, $\beta$ -地贫携带者10例, $\alpha$ -地贫合并 $\beta$ -地贫1例,健康胎儿3例。随访结果与产前诊断结果相符。**结论** 通过开展地贫产前筛查和产前诊断能有效地防止重症地贫患儿出生。

**[关键词]** 地中海贫血;基因诊断;产前诊断

**[中图分类号]** R174.6

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2017)10-1360-03

## Analysis on prenatal gene diagnosis in 49 cases carrying same type thalassemia

Jiang Kean, Liu Dongyun, Chen Xia, Li Xueqi, Jia Chaoli, Huang Guoning<sup>△</sup>

(Genetic and Reproductive Institute, Chongqing Municipal Health Center for Women and Children, Chongqing 400013, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the effective means and important significance for preventing the born of neonatal patients with severe thalassemia. **Methods** Among the pregnant women and spouses receiving prenatal examination in our hospital from January 2013 to December 2015 were performed the thalassemia screening and gene diagnosis, 49 couples carrying the same type thalassemia were conducted the prenatal amniotic fluid thalassemia gene diagnosis and follow up after prenatal diagnosis. **Results** In 49 couples carrying the same type thalassemia, the main gene mutation types of  $\alpha$ -thalassemia detected by the gene diagnosis were  $-\text{SEA}/\alpha\alpha$ (50.0%),  $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (36.5%) and  $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ (11.5%), which of  $\beta$ -thalassemia were CD17/N(42.0%), CD41-42/N(26.0%) and IVS-II-654/N(22.0%). The results of prenatal diagnosis showed that there were 4 cases of HbH disease, 2 cases of Bart's hydrops fetus, 10 cases of severe  $\beta$ -thalassemia, 19  $\alpha$ -thalassemia carriers, 10  $\beta$ -thalassemia carriers, 1 case of co-inheritance of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thalassemia, and 3 health fetuses. The follow up results were consistent with those of prenatal diagnosis. **Conclusion** Conducting prenatal screening and diagnosis of thalassemia in pregnant women can effectively prevent the birth of neonatal patients with severe thalassemia.

**[Key words]** thalassemia; genetic diagnosis; prenatal diagnosis

地中海贫血(简称地贫)是一类由于珠蛋白合成障碍而引起的慢性溶血性疾病,是世界上最常见的单基因遗传病之一,世界上约有4.8%的人携带变异的珠蛋白基因<sup>[1]</sup>。根据珠蛋白肽链合成受到抑制的类型,主要分为 $\alpha$ -地贫和 $\beta$ -地贫。重型 $\alpha$ -地贫是一种致死性疾病,该类患儿称为血红蛋白Bart's水肿胎,多造成流产、死胎或出生后不久死亡<sup>[2]</sup>;重型 $\beta$ -地贫患儿通常在出生后6~9个月出现溶血性贫血,多数在5岁以前死亡,即使存活也需要终身输血维持生命<sup>[3-4]</sup>。地贫患者主要分布在我国南方地区,贵州、四川及重庆等西南地区也是地贫高发区;相关流行病学研究显示重庆地区儿童 $\alpha$ -地贫携带率为5.20%<sup>[5]</sup>, $\beta$ -地贫携带率为1.51%<sup>[6]</sup>。因此在重庆地区进行地贫产前诊断对优生优育具有重要意义,现将本院近年来开展地贫产前基因诊断的结果回顾性分析如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2013年1月至2015年12月在本院进行孕期检查或优生遗传咨询的孕妇及配偶,通过血常规结合血红蛋白电泳进行筛查,对筛查为阳性的疑似地贫携带者夫妇进行基因诊断。经地贫基因诊断结果显示夫妻双方为同型地贫携带者

共49例,均进行产前诊断;孕妇年龄22~41岁,平均(28.2±4.5),孕16~25周,平均(19.9±2.5)周;夫妇双方均为重庆市户籍人口。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,所有夫妇均签署知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 样本采集** 采集夫妇双方外周血各2 mL,用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝;胎儿标本为每例抽取羊水20 mL,对有母体血污染的羊水标本经细胞培养后再用于基因分析<sup>[7]</sup>。

**1.2.2 基因分析** 将外周血和羊水进行基因组DNA提取后,按照试剂盒操作说明书进行基因分析。 $\alpha$ -地贫缺失型基因检测试剂盒购自中山大学达安基因股份有限公司, $\alpha$ -地贫突变型和 $\beta$ -地贫基因检测试剂盒购自深圳亚能生物技术有限公司。(1) $\alpha$ -地贫基因诊断:应用单管多重Gap-PCR技术检测 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$ 和 $-\text{SEA}$ 这3种常见的 $\alpha$ -珠蛋白基因缺失突变。应用单管多重PCR体系结合反向点杂交(reverse dot blot, RDB)技术检测 $\alpha^{\text{QS}}$  $\alpha$ 、 $\alpha^{\text{CS}}$  $\alpha$ 和 $\alpha^{\text{WS}}$  $\alpha$ 这3种常见的 $\alpha$ -珠蛋白基因点突变。(2) $\beta$ -地贫基因诊断:应用单管多重PCR体系结合RDB技术检测中国人常见的17种 $\beta$ -珠蛋白基因点突变,依次为CD41-42

(-TCTT)、CD17(A→T)、IVS-II-654(C→T)、-28(A→G)、CD71-72(+A)、βE(G→A)、-29(A→G)、CD43(G→T)、CD31(-C)、CD14-15(+C)、Int(T→G)、CD27-28(+C)、IVS-I-5(G→C)、IVS-I-1(G→T)、-30(T→C)、-32(C→A)、CAP+40+43(-AAAC)。

**1.2.3 随访** 根据地贫产前诊断结果对所有受检者进行优生遗传咨询和指导,基于知情和自愿原则下,孕妇自愿选择是否对重型地贫和中间型地贫胎儿采取干预措施,并对妊娠结局进行随访。同时在婴儿出生半年后对其是否贫血及生长发育情况进行随访,以验证产前诊断结果的准确性。

**2 结果**

**2.1 基因分析** 共 24 对夫妇双方均为 α-地贫携带者,从基因型构成比来看,其携带静止型-α<sup>3.7</sup>/αα 占 36.5%(19/52),-α<sup>4.2</sup>/αα 占 11.5%(6/52),α<sup>CS</sup>α/αα 占 1.9%(1/52);携带东南亚型--SEA/αα 占 50.0%(26/52)。共 25 对夫妇双方均为 β-地贫携带者,从基因型构成比来看,其携带 CD41-42/N 突变基因型占 26.0%(13/50),IVS-II-654/N 占 22.0%(11/50),CD17/N 占 42.0%(21/50),其余 4 种突变占 10.0%(5/50),CD27-28/N、-28/N、-29/N、CD43/N 分别占 2.0%、2.0%、2.0%、4.0%。其中有 4 例是 α-地贫缺失型合并 β-地贫突变型。

表 1 α-地中海贫血产前基因诊断胎儿情况

基因型	例数[n(%)]	临床分型
αα/αα	1(3.7)	正常
-α <sup>3.7</sup> /αα	9(33.3)	静止型
-α <sup>4.2</sup> /αα	1(3.7)	静止型
α <sup>CS</sup> α/αα	1(3.7)	静止型
-α <sup>3.7</sup> /-α <sup>3.7</sup>	1(3.7)	轻型
--SEA/αα	8(29.6)	轻型
--SEA/-α <sup>3.7</sup>	3(11.1)	中间型
--SEA/-α <sup>4.2</sup>	1(3.7)	中间型
--SEA/--SEA	2(7.4)	重型

表 2 β-地中海贫血产前基因诊断胎儿情况

基因型	例数[n(%)]	临床分型
N/N	2(8.7)	正常
CD17/N	5(21.7)	轻型
IVS-II-654/N	3(13.0)	轻型
CD41-42/N	2(8.7)	轻型
CD43/N	1(4.3)	轻型
IVS-II-654/CD41-42	1(4.3)	重型
CD17/CD41-42	3(13.0)	重型
IVS-II-654/CD17	1(4.3)	重型
CD27-28/CD41-42	1(4.3)	重型
IVS-II-654/IVS-II-654	1(4.3)	重型
CD17/CD17	3(13.0)	重型

**2.2 产前诊断** 通过对 49 例孕妇进行孕中期羊水地贫产前诊断,结果检测到正常胎儿 3 例,静止型 α-地贫 11 例,轻型 α-

地贫 8 例,中间型 α-地贫(HbH 病)4 例,重型 α-地贫(Bart's 水肿胎)2 例;轻型 β-地贫 10 例,重型 β-地贫 10 例;检测到轻型 α-地贫合并轻型 β-地贫 1 例。见表 1、2。

**2.3 随访** 所有怀严重类型(重型和中间型)地贫胎儿的孕妇,均在遗传咨询和知情自愿原则下选择终止妊娠;所有非严重类型胎儿在出生半年后对其贫血和生长发育情况进行随访,随访结果与产前诊断结果相符。

**3 讨论**

人类珠蛋白基因簇分为 α 珠蛋白基因簇和 β 珠蛋白基因簇。α 珠蛋白基因簇位于 16 号染色体短臂,每条染色体上均有两个 α 珠蛋白基因;β 珠蛋白基因簇位于 11 号染色体短臂,每条染色体上只有一个 β 珠蛋白基因;若两类基因发生突变则会引起相应的贫血疾病<sup>[8]</sup>。目前发现的 α-地贫基因突变类型至少有 81 种,其中点突变 46 种,缺失突变 35 种<sup>[9]</sup>;β-地贫突变类型至少有 200 种,主要为点突变<sup>[10]</sup>。在本研究中通过对 49 对同型地贫携带者夫妇进行基因检测,结果显示 α-地贫基因突变类型主要为--SEA 缺失型(50.0%)和-α<sup>3.7</sup> 缺失型(36.5%);而 β-地贫基因突变类型主要为 CD17(42.0%)、CD41-42(26.0%)和 IVS-II-654(22.0%),与重庆和国内其他地区文献报道的主要突变类型相似<sup>[11-13]</sup>。

地中海贫血是常染色体隐性遗传病,在家系中的遗传规律符合孟德尔遗传,若父母一方为 α-地贫静止型,另一方为 α-地贫东南亚缺失型,则有 1/4 的概率生育中间型地贫患儿(HbH 病),双方都为东南亚缺失型,则有 1/4 的概率生育重型 α-地贫患儿(Bart's 水肿胎);若父母双方都为 β-地贫突变携带者,则有 1/4 的概率生育中间型或重型 β-地贫患儿<sup>[14]</sup>。本研究在 49 例孕妇产前诊断中共检测到 4 例 α-地贫中间型患儿,两例 Bart's 水肿胎患儿和 10 例重型 β-地贫患儿。部分中间型地贫患儿在出生后贫血程度呈进行性加重,严重者需要以输血维持生命<sup>[15]</sup>;在本研究中检测到的 4 例怀中间型地贫患儿孕妇均知情选择终止妊娠。已在中国人群中发现的 20 多种 β-地贫突变类型中,除了-28(A→G)和-29(A→G)为 β<sup>+</sup> 突变外,其余均为 β<sup>0</sup> 突变,β<sup>0</sup> 突变纯合子或双重杂合子无 β 链生成,引起重型 β-地贫<sup>[16]</sup>;本研究中检测到的 4 例纯合子和 6 例双重杂合子 β-突变患儿全部为重型地贫患儿。

严重类型地中海贫血尚无有效的治疗方法,产前诊断和选择性终止妊娠减少重症患儿出生,是最为有效的预防措施。通过血常规结合血红蛋白电泳对孕前检查和产前检查的人群进行地贫筛查,筛查阳性则进一步做基因诊断,诊断为同型地贫携带者的夫妇需在临床医生指导下做产前诊断及遗传咨询;该模式应用于临床能有效避免重症地贫儿出生。在本研究中的 49 例孕妇,14 例曾有重症地贫胎儿孕产史,其中包括引产 Bart's 水肿胎 1 例,产 Bart's 水肿胎 2 例,引产重症 β-地贫患儿 3 例,产重症 β-地贫患儿 8 例(其中 5 例已经夭折);可见在本地区开展地贫产前筛查和诊断对提高人口素质、减少家庭和社会负担具有重要意义,特别是对 β-重症地贫的产前诊断显得尤为突出。另外,各基层医院在发现重症地贫患儿时,应对该患儿家庭进行相关遗传指导,以帮助其在以后孕育过程中做好产前诊断和遗传咨询,防止再次生育重症地贫患儿。目前,重庆已作为地贫高发地区纳入国家地贫防控项目;本文的回顾性研究分析,为下一步对本地区国家地贫防控项目的开展和实施具有重要临床意义。

## 参考文献

- [1] Shen XT, Xu YW, Zhong YP, et al. Preimplantation genetic diagnosis for  $\alpha$ - and  $\beta$ -double thalassemia[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2011, 28(10): 957-964.
- [2] Yuan Y, Yuan X, Zhou CQ. Does thalassemia influence ovarian response? An analysis of 127 cycles involving preimplantation genetic diagnosis of thalassemia in southern China[J]. *J Obstet Gynecol*, 2016, 36(6): 1-5.
- [3] 中华医学会儿科学分会血液学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 重型  $\beta$  地贫的诊断和治疗指南[J]. *中华儿科杂志*, 2010, 48(3): 186-189.
- [4] Li DZ, Pan M, Han J, et al. Prenatal diagnosis of thalassemia in twin pregnancies in mainland China[J]. *J Obstet Gynecol*, 2016, 36(3): 1-4.
- [5] 于洁, 宪莹, 姚秀云, 等. 重庆市学龄前儿童  $\alpha$  地中海贫血的分子流行病学研究[J]. *中华血液学杂志*, 2014, 35(5): 419-423.
- [6] 姚秀云, 张渝美, 秦藜子, 等. 重庆市汉族儿童  $\beta$ -地中海贫血的分子流行病学研究[J]. *中华儿科杂志*, 2013, 51(7): 518-522.
- [7] 李东明, 杜娟, 张海燕, 等. 细胞培养在地中海贫血产前诊断中的应用[J]. *中国误诊学杂志*, 2008, 8(28): 6834-6835.
- [8] 李军, 殷和. 地中海贫血的诊断技术及进展[J]. *重庆医学*, 2009, 38(7): 864-865.
- [9] 莫宗平, 喻长顺, 胡朝晖, 等.  $\alpha$  地中海贫血的基因诊断方法[J]. *中华临床医师杂志*, 2012, 6(3): 682-684.
- [10] Durmaz B, Ozkinay F, Onay H, et al. Genotyping of  $\beta$ -globin gene mutations in single lymphocytes: a preliminary study for preimplantation genetic diagnosis of monogenic disorders[J]. *Hemoglobin*, 2012, 36(3): 230-243.
- [11] 何建维, 黄恒柳, 张燕, 等. 重庆地区地中海贫血基因突变类型分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(18): 2488-2489.
- [12] Li J, Xie XM, Liao C, et al. Co-inheritance of  $\alpha$ -thalassaemia and  $\beta$ -thalassaemia in a prenatal screening population in mainland China[J]. *J Med Screen*, 2014, 21(4): 167-171.
- [13] Zhang J, Zhu BS, He J, et al. The spectrum of alpha- and beta-thalassemia mutations in yunnan province of southwestern China[J]. *Hemoglobin*, 2012, 36(5): 464-473.
- [14] Najmabadi H, Ghamari A, Sahebjam F, et al. Fourteen-year experience of prenatal diagnosis of thalassemia in Iran[J]. *Community Genet*, 2006, 9(2): 93-97.
- [15] 赵馨, 王逾男, 何天文, 等. 广东省地贫基线调查中影响地贫高风险夫妇进一步干预的因素分析[J]. *中国妇幼卫生杂志*, 2015, 6(2): 20-22.
- [16] 周永娥, 朱卫健. 地中海贫血的产前诊断及治疗进展[J]. *医学综述*, 2011, 17(21): 3306-3308.
- (收稿日期: 2016-10-18 修回日期: 2017-01-24)
- 
- (上接第 1359 页)
- 统评价[J]. *重庆医学*, 2015, 44(5): 673-675.
- [2] Johnson HM, Thorpe CT, Bartels CM, et al. Undiagnosed hypertension among young adults with regular primary care use[J]. *J Hypertens*, 2014, 32(1): 65-74.
- [3] 林瑶, 石琳, 米杰, 等. 儿童原发性高血压 86 例靶器官损害的临床特点[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2014, 29(17): 1314-1316.
- [4] Sobry A, Kizito W, VandenBergh R, et al. Caseload, management and treatment outcomes of patients with hypertension and/or diabetes mellitus in a primary health care programme in an informal setting [J]. *Trop Med Int Health*, 2014, 19(1): 47-57.
- [5] Ruzicka M, Hiremath S, Steiner S, et al. What is the feasibility of implementing effective sodium reduction strategies to treat hypertension in primary care settings? A systematic review[J]. *J Hypertens*, 2014, 32(7): 1388-1394.
- [6] Sebo P, Pechère-Bertschi A, Herrmann FR, et al. Blood pressure measurements are unreliable to diagnose hypertension in primary care[J]. *J Hypertens*, 2014, 32(3): 509-517.
- [7] 晏丽苹, 张微微, 李莹, 等. 脑白质疏松与眼底血管病变的相关性分析[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2013, 15(7): 726-729.
- [8] 黄敏慧, 郜忠海, 林列兴, 等. 高血压患者眼底血管改变与高血压病情和左心室肥厚的相关性分析[J]. *中华眼底病杂志*, 2015, 31(6): 594-596.
- [9] 陈璇, 范传峰, 王玉, 等. 高血压性视网膜病变与高血压靶器官损害的相关关系[J]. *中华眼底病杂志*, 2013, 29(1): 86-88.
- [10] 刘莉, 刘丽丽, 赵大鹏, 等. 高血压合并代谢综合征中医辨证分型与眼底改变及尿微量清蛋白的关系[J]. *中国中医药信息杂志*, 2014, 21(2): 35-38.
- [11] 赵薇, 李利华. 动态动脉硬化指数、动态血压参数与高血压眼底改变的关系[J]. *中华眼底病杂志*, 2013, 29(1): 84-86.
- [12] 刘源, 庄雪芬. 高血压视网膜病变与高血压心脏改变及肾病的关系[J]. *心血管康复医学杂志*, 2015, 24(4): 388-390.
- [13] Yu DS, Cho JH, Park CS, et al. A study of the dependence of protocol optimization on the left ventricular ejection fraction (LVEF) in coronary CT angiography (CCTA) examination[J]. *JKPS*, 2013, 63(8): 1644-1650.
- (收稿日期: 2016-12-08 修回日期: 2017-01-19)