

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.19.018

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210526.1647.051.html\(2021-05-27\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210526.1647.051.html(2021-05-27))

1 例由脐血血红蛋白电泳追溯到的罕见型新生儿 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因家系分析*

王柏莲, 黄珍艳, 李琼, 唐勇[△]

(广西医科大附属武鸣医院医学检验科, 南宁 530199)

[摘要] **目的** 对 1 例新生儿脐血血红蛋白电泳 HbA 为 0, 表型与基因型不符的患儿及其家系成员进行基因分析, 以研究先证者及家系成员是否携带有未知突变基因, 为其以后的优生遗传咨询提供依据。**方法** 通过采集先证者家系成员外周血进行血细胞分析及血红蛋白毛细管电泳分析, 采用 PCR+ 导流杂交法检测常见型珠蛋白生成障碍性贫血基因, 对表型和常见珠蛋白生成障碍性贫血基因型不相符者行基因测序。**结果** 该家系中先证者及其母亲和姐姐检出罕见型 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因 CD52(GAT>GTT) 位点杂合突变, 先证者及其姐姐的基因型为 β 41-42/ β 52, 母亲的基因型为 β 17/ β 52, 父亲的基因型为 β 41-42/ β N。**结论** 血液学表型与基因型不符时, 应进一步做罕见型基因检测, 避免漏诊或误诊。该基因突变的发现, 丰富了 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因数据库。

[关键词] 血红蛋白电泳; 新生儿; 脐血; 罕见型 β 珠蛋白生成障碍性贫血; 家系分析

[中图分类号] R394.8

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2021)19-3322-04

Gene family analysis of a rare type of neonatal β -globinogenesis anemia traced back by cord blood hemoglobin electrophoresis*

WANG Bailian, HUANG Zhenyan, LI Qiong, TANG Yong[△]

(Department of Medical Laboratory, Wuming Hospital Affiliated to Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530199, China)

[Abstract] **Objective** Gene analysis was performed on a case of neonatal with the umbilical cord blood hemoglobin electrophoresis HbA of 0, whose phenotypes were inconsistent with the genotype and the family members, in order to investigate whether the proband and family members carried the unknown mutant genes and provide basis for the eugenic genetic counseling in the future. **Methods** The peripheral blood of the proband family members were collected for blood cell analysis and hemoglobin capillary electrophoresis analysis. The genes of the common thalassemia were detected by the PCR + flow-through hybridization. The genome sequencing was performed for those whose phenotypes was inconsistent with the genotype of the common thalassemia. **Results** A rare β -hemoglobin heterozygous mutation at CD52 (GAT>GTT) was detected in the proband and the mother and sister. The genotype of the proband and the older sister was β 41-42/ β 52. The maternal genotype was β 17/ β 52, and the paternal genotype was β 41-42/ β N. **Conclusion** When the hematological phenotype does not match the genotype, the rare genotype should be further tested to avoid missed diagnosis or misdiagnosis. The discovery of this gene mutation enriches the gene database of β -globinogenesis anemia

[Key words] hemoglobin electrophoresis; newborn; umbilical bleeding; rare beta thalassemia; pedigree analysis

珠蛋白生成障碍性贫血是我国南方地区高发的遗传性溶血性疾病, 也是南方地区重点防治的单基因遗传性疾病。常见有 α 和 β 两大类。 β 珠蛋白生成障碍性贫血是由于 β 珠蛋白基因异常导致 β 珠蛋白链合

成减少或缺乏所引起的溶血性疾病。目前临床上 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因的检测主要检测中国常见的 17 种位点突变: CD41-42、CD43、IVS-II-654、CD-28、CD-29、CD-30、CD-32、CD71-72、CD26 (β E)、

* 基金项目: 广西壮族自治区南宁市武鸣区科学研究与技术开发计划项目(20190408)。 作者简介: 王柏莲(1968—), 副主任技师, 本科, 主要从事临床子诊断学和临床微生物学研究。 [△] 通信作者, E-mail: xhero521@163.com。

CD17、CD31、CD14-15、CD27-28、IVS- I -1、IVS- I -5、Cap+40-43 和 IntM^[1]。β 珠蛋白生成障碍性贫血具有较大的遗传异质性和临床表型异质性,存在地域性和民族分布差异^[2],如果只对常见基因突变类型进行检测则会造成罕见和稀有突变类型漏检。尤其在孕前和孕期的临床诊疗中,应考虑更全面的珠蛋白生成障碍性贫血检测方法如一代测序(Sanger 测序)、二代测序(NGS)和多重探针扩增技术(MLPA)。若能将各种常见或罕见突变基因型分别纳入常规检测,则能有效避免珠蛋白生成障碍性贫血在临床上的漏诊和误诊,对临床诊治和遗传咨询具有重要意义^[3]。本研究从 1 例新生儿脐血血红蛋白电泳结果中,通过常见基因型检测和基因测序发现患儿不仅携带常见型 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因 CD41-42,还携带有目前国内未曾报道的罕见型 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因 CD52(GAT>GTT)位点,对其进行家系调查、遗传学特征分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

先证者男,年龄 7 h,广西马山县人,2018 年 2 月 13 日在广西医科大学附属武鸣医院产科足月顺产出生,娩出后收集脐带血 2 mL,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,立即送达医学检验科置 2~8 °C 冰箱保存备用。采用法国 Sebia CapillaryS2 全自动电泳仪及其配套试剂,按照仪器操作说明书进行检测。结果发现先证者 HbA 水平为 0,通过查询住院病历资料,先证者在胎儿期到外院抽取羊水做产前诊断的基因型为 β41-42/βN,与目前的表型 HbA 水平为 0、HbF 水平为 93.7% 不相符,进一步做珠蛋白生成障碍性贫血基因 DNA 测序,结果基因型为 β41-42/β52 双重杂合子。联系患儿父母在获得知情同意下获取了患儿父母及其姐姐的血液样本进行常见珠蛋白生成障碍性贫血基因检测和基因测序。

1.2 方法

1.2.1 常规血液检测

收集先证者脐血和其父母、姐姐外周静脉血 3.0 mL,EDTA-K₂ 抗凝,用迈瑞 BC-6800 全自动五分类

血细胞分析仪,按照仪器操作说明书检测红细胞参数[红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)、红细胞平均压积体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白水平(MCH)等]。

1.2.2 血红蛋白毛细管电泳分析

采用法国 Sebia CapillaryS2 全自动电泳仪按照仪器操作说明书进行血红蛋白分析。

1.2.3 常见珠蛋白生成障碍性贫血基因型检测

试剂由潮州凯普公司提供,采用导流杂交技术进行常见型 α 和 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测,包括常见的 3 种缺失和 3 种非缺失型 α 珠蛋白生成障碍性贫血,17 种常见 β 珠蛋白生成障碍性贫血点突变。实验步骤严格按试剂说明书进行。

1.2.4 罕见珠蛋白生成障碍性贫血基因诊断

采用多重链接探针技术(MLPA)、DNA 测序、缺口 PCR(Cap-PCR)、三联体电泳及血红蛋白持续性增多症缺失型电泳等技术进行检测。标本送到广州潮州凯普公司进行检测。

2 结果

2.1 家系成员血液学表型分析

先证者、父母、姐姐的血常规检测表现为小细胞、低色素,先证者血红蛋白毛细管电泳分析结果:HbA 水平为 0、HbF 水平为 93.7%(正常新生儿脐血 HbA 水平为 12%~14%、HbF 水平为 60%~88%),同时发现一条异常血红蛋白性慢速带,水平为 6.1%;母亲血红蛋白毛细管电泳结果为:HbA 水平为 0、HbF 水平为 8.4%、HbA2 水平为 6.9%,发现一条异常血红蛋白性慢速带,水平为 84.7%,母亲在外院做产前筛查时用美国 Bio-Rad VARIANTTTM II 血红蛋白分析系统检测的结果 HbA 水平为 13.4%、HbF 水平为 10.3%、HbA2 水平为 76.3%;父亲的结果为 HbA2 水平为 5.4%、HbF 水平为 1.1%;姐姐的结果为 HbA 水平为 0、HbF 水平为 5.5%、HbA2 水平为 6.4%发现一条异常血红蛋白慢速带水平为 88.1%。根据患者基因型和表型的资料,考虑到先证者、母亲及姐姐应该还携带有常见型 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因以外的其他突变点。该家系表型结果见表 1。

表 1 先证者及家人表型分析结果

家系成员	年龄	RBC($\times 10^{12}/L$)	Hb(g/L)	MCV(pg)	MCH(%)	HbA(%)	HbA2(%)	HbF(%)	异常 Hb(%)
先证者	7 h	4.92	157	93.7	32.0	0	0.2	93.7	6.1
父亲	29 岁	6.65	136	64.2	20.4	93.5	5.4	1.1	0
母亲	28 岁	6.2	106	52.5	17.1	0	6.9	8.4	84.7
姐姐	3 岁	5.24	100	56.5	19.1	0	6.4	5.5	88.1

2.2 常见珠蛋白生成障碍性贫血基因型诊断

多重 PCR 反向斑点杂交法(PCR-RDB)检测结果显示先证者基因型为 β41-42/βN,其父亲基因型为

β41-42/βN,其母亲基因型为 β17/βN,姐姐基因型为 β141-42/βN。

2.3 基因测序结果

由于该突变文献报道有限,其致病性有待更多的案例纳入研究才能够明确。本研究家系成员中,先证者及母亲、姐姐血液学表型表现为典型的 β^0/β^+ 中间型珠蛋白生成障碍性贫血。

β 珠蛋白生成障碍性贫血分子基础复杂,既有很大的遗传异质性和临床表型异质性,又有民族和地域性差异,广西南宁主要以 CD41-42 为主^[15],海南报道较多的是 CD41-42、IVS-II-654、CD71-72^[16]。常规珠蛋白生成障碍性贫血基因检测试剂盒只能检测覆盖中国人常见突变类型的 95%~98%。在临床实践工作中,必须遵循“基因与表型相结合”这一基本原则,当表型和基因型不相符时,应进行罕见型珠蛋白生成障碍性贫血基因检测以明确其基因型,防止漏诊和误诊。目前对罕见型珠蛋白生成障碍性贫血基因缺失检测可采用 Cap-PCR 和 MLPA 等方法,而位点突变可通过 DNA 测序技术进行鉴定,随着检测技术的进步,可检测到的更多突变类型,尤其是一些稀有类型突变^[17],对丰富珠蛋白生成障碍性贫血基因突变数据库,更好地指导临床诊治和遗传咨询具有重要意义。

参考文献

[1] 李朋,张杰. 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测方法的研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(4): 891-894.

[2] LAI K T, HUANG G T, SU L, et al. The prevalence of thalassemia in mainland China: evidence from Epidemiological surveys [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 920.

[3] 陈扬,王婵,冯女,等. 1 例 β -珠蛋白生成障碍性贫血病例中罕见基因突变的鉴定[J]. 中国热带医学, 2020, 20(6): 60-63.

[4] 徐湘民,张新华,陈荔丽. 珠蛋白生成障碍性贫血防控操作指南[M]. 北京:人民军医出版社, 2011:107

[5] MANTIKOU E, HARTEVEID C L, GIORDANO P C. Newborn screening for hemoglobinopathies using capillary electrophoresis technology: testing the capillary neonat fast Hb device[J]. Clin Biochem, 2010, 43(16/17): 1345.

[6] MURRAY C, HALL S K, GRIFFITHS P. An evaluation of the Sibia capillarys Neonat Haemoglobin FASTTM system for routine newborn screening for sickle cell disease[J]. Int J

Lab Hematol, 2011, 33(5): 533.

- [7] JAISSON S I, LEROY N, MEURICE J, et al. First evaluation of Cpillarys2 Flex Piercing® (Sibia) as a new analyzer for HbA1c assay by capillary electrophoresis[J]. Int J Lab Hematol, 2011, 33(5): 533.
- [8] GIORDANO P C. Newbor screening for hemoglobinopathies using capillary electrophoresis [J]. Clin Chem Lab Med, 2013, 919: 131.
- [9] BRANTS A. Detection of hemoglobinopathies and thalassemias using automated separation Systems[J]. Mlo Med Lab Obs, 2014, 46(1): 24-26.
- [10] 陈和平,陈冬,周沫,等. 脐血常规血液检查和血红蛋白 A 定量在诊断新生儿珠蛋白生成障碍性贫血的实验研究和应用[J]. 中国实验诊断学, 2004, 8(4): 366.
- [11] 甘冰,毛锦江. 新生儿脐血血红蛋白电泳 HbA 在筛查 β 珠蛋白生成障碍性贫血血中的意义 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(1): 75.
- [12] MANTIKOU E, ARKESTEIJN S G, BECKHOVENVAN J M. et al. A brief review on newborn screening methods for hemoglobinopathies and preliminary results selecting beta thalassemia Carriers at birth by quantitative estimation of the HbA fraction[J]. Clin Biochem, 2009, 42(18): 1780.
- [13] 王继成,杜丽,秦丹卿. α 珠蛋白基因新突变复合 α 珠蛋白生成障碍性贫血家系的基因分析及产前诊断[J]. 新医学, 2016, 47(47): 490-492.
- [14] 张倩倩,商璇,林宛颖,等. 影响 β -珠蛋白生成障碍性贫血表型的遗传修饰作用[J]. 遗传, 2019, 41(8): 699-676.
- [15] 石明芳. 南宁某城区 6 551 例 β 珠蛋白生成障碍性贫血基因检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(19): 2929-2931.
- [16] 胡俊杰,陈鑫苹,王洁,等. 海南黎族中学珠蛋白生成障碍性贫血流行现状及罕见基因型别研究 [J]. 广东医学, 2018, 39(10): 1471-1477.
- [17] 任振敏,蔡德丰,肖伟伟,等. 深圳地区小儿 α 和 β 珠蛋白生成障碍性贫血血基因型分析[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(8): 605-608, 636.