

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.17.009

广州地区育龄人群地中海贫血基因分型及筛查漏检误诊的原因分析*

林琪茵^{1,2} 孔舒² 王鼎² 黎青² 孙筱放² 蔡贞^{1Δ}

(1 南方医科大学南方医院检验科 广东 广州 510515;

2 广州医科大学附属第三医院 广东省产科重大疾病研究重点实验室 妇产科研究所实验部 广东 广州 510150)

摘要 目的:了解广州地区育龄人群的地中海贫血(简称:地贫)基因携带率及基因型分布特征,分析地贫筛查的漏检和误诊原因,为育龄地贫基因携带者进行人工辅助受孕提供依据。**方法:**收集2019年1月到2021年12月在我院生殖医学科就诊并同时在地贫筛查及地贫基因检测的育龄患者31455例,分析其地贫相关实验室检查结果,包括红细胞参数、红细胞渗透脆性、血红蛋白电泳及地贫基因检测,计算地贫基因携带率,并通过比较筛查和基因检测结果找出漏筛和误诊病例。**结果:**共检出育龄地贫基因携带者4455例,地贫基因携带率为14.16%。其中, α -地中海贫血3365例,常见的基因型有 $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 、 $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 和 $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$; β -地中海贫血914例,常见的基因型有 $\beta^{CD41-42(-TCCT)}/\beta^N$ 、 $\beta^{IVS-2-654(C-T)}/\beta^N$ 和 $\beta^{28(A-G)}/\beta^N$; α -合并 β -地中海贫血176例,最常见的基因型是 $\beta^{CD41-42(-TCCT)}/\beta^N/--^{SEA}/\alpha\alpha$ 。漏筛病例有731例,多为静止型 α -地贫。误诊病例有4784例,其中有2701例误诊病例其红细胞渗透脆性和红细胞参数均正常,仅因 $HbA_2 < 2.5\%$ 且 $HbA > 97.5\%$ 被误诊为携带地贫基因。**结论:**广州地区的育龄人群具有较高的地贫基因携带率,静止型 α -地贫容易在筛查中被漏检。

关键词:地中海贫血;基因型;筛查;血红蛋白电泳;静止型 α -地贫

中图分类号:R715.5;R556.7 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2023)17-3247-06

A Study on Genotyping and Screening Misses of Thalassemia in the Population of Childbearing Age in Guangzhou*

LIN Qi-yin^{1,2}, KONG Shu², WANG Ding², LI Qing², SUN Xiao-fang², CAI Zhen^{1Δ}

(1 Department of Clinical Laboratory, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510515, China;

2 Experimental Department of Institute of Obstetrics and Gynecology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Major Obstetric Diseases, The Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510150, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the genotype and gene frequency of thalassemia in people of childbearing age in Guangzhou and analyze the causes of screening misses. This study can provide genetic guidance to the thalassemia gene carriers of childbearing age. **Methods:** 31455 reproductive patients who underwent screening and genetic diagnosis of thalassemia from January 2019 to December 2021 were enrolled in this study. The results of laboratory tests related to thalassemia were analyzed, including routine blood examination, erythrocyte fragility test, hemoglobin electrophoresis, and genetic diagnosis of thalassemia. Calculated the thalassemia carrying rate and found the screening missed and misdiagnosed cases by comparing the results of screening and genetic testing. **Results:** A total of 4455 patients were found to have thalassemia gene mutations, including 3365 of α -thalassemia, 914 of β -thalassemia and 176 of concurrent α - and β -thalassemia. The three most common mutations of α -thalassemia were $--^{SEA}/\alpha\alpha$, $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$, and $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$, while the three most common mutations of β -thalassemia were $\beta^{CD41-42(-TCCT)}/\beta^N$, $\beta^{IVS-2-654(C-T)}/\beta^N$ and $\beta^{28(A-G)}/\beta^N$. The most common mutation of $\alpha\beta$ complex thalassemia was $\beta^{CD41-42(-TCCT)}/\beta^N/--^{SEA}/\alpha\alpha$. There were 731 missed cases, most of them were resting α -thalassemia. There were 4784 misdiagnosed cases, 2701 of them had normal erythrocyte osmotic brittleness and erythrocyte parameters were being misdiagnosed as carrying the thalassemia gene due to $HbA_2 < 2.5\%$ and $HbA > 97.5\%$. **Conclusions:** The population of childbearing age in Guangzhou has a relatively high carrier ratio of thalassemia. Resting α -thalassemia was easy to be missed.

Key words: Thalassemia; Genotype; Screening; Hemoglobin electrophoresis; Resting α -thalassemia

Chinese Library Classification(CLC): R715.5; R556.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)17-3247-06

前言

地中海贫血(Thalassemia,简称地贫)是一种常见的常染色体隐性遗传病^[1]。由于遗传性珠蛋白基因缺陷,导致地贫基因携

* 基金项目:国家自然科学基金项目(32070582);广州市教育局高校科研项目基金(202032868)

作者简介:林琪茵(1992-),女,硕士研究生,主要研究方向:地中海贫血,E-mail: Lamki@qq.com

Δ 通讯作者:蔡贞(1972-),女,硕士生导师,副教授,主要研究方向:分子诊断,E-mail: jean_cz@yeah.net

(收稿日期:2023-03-25 接受日期:2023-04-17)

带者一种或一种以上的珠蛋白链合成不足或缺如^[2],造成 α - 和类 β - 珠蛋白链的比例不平衡,血红蛋白合成异常,出现无效造血且红细胞容易被破坏从而引发溶血性贫血^[3]。地贫患者的临床表现各不相同,静止型或轻型的地贫患者虽常伴有部分血液学指标的改变,但一般不会造成贫血,而重型 β - 地贫患者则需定期输血,并引发黄疸、肝脾肿大等疾病^[4],重型 α - 地贫,如 Hb Bart's 胎儿水肿综合征,则会导致胎儿严重发育不良,甚至会导致孕妇并发妊娠高血压综合征、产后大出血等产科并发症^[5]。临床上这两种情况均建议终止妊娠^[6]。广西、广东、海南是地贫高发地区,其中,广东的 α - 和 β - 地贫的人群基因携带率分别达 8.53% 和 2.54%^[7]。对育龄夫妇进行地贫筛查和基因检测,可从生育上阻断重症地贫患儿的出生。

地贫筛查^[8]是通过红细胞渗透脆性试验、血红蛋白电泳和外周血红细胞参数分析等血液学检查筛查出珠蛋白基因异常的潜在人群,而地贫基因诊断可明确该潜在人群的地贫基因型,评估生育风险。对本地区的地贫基因携带者进行流行病学调查,分析筛查和基因诊断之间的相关性,有利于地贫的防治,以及地贫携带者的优生优育。

1 对象和方法

1.1 研究对象

本研究已得到广州医科大学附属第三医院伦理委员会的批准(医伦快审[2022]第 005 号)。为了消除血液病、骨髓移植等混杂因素,我们将 2019 年 1 月到 2021 年 12 月在我院生殖医学科同时进行地贫筛查及地贫基因检测的育龄患者纳入本研究,共 31455 例,平均年龄为 33.32 \pm 5.75 岁。其中男性 15680 例、女性 15775 例,男女比例接近 1:1。本研究项目包括性别、年龄、红细胞参数、红细胞渗透脆性、血红蛋白电泳及地贫基因检测。

1.2 仪器与试剂

Capillary 2 Flex Piercing 全自动毛细管电泳仪及配套试剂购自法国 Sebia 公司;NX-9000 血细胞分析仪及配套试剂购自日本 Sysmex 公司;红细胞渗透脆性检测试剂盒(一管法)购自广州市米基医疗器械公司;全血基因组 DNA 提取试剂盒购自德国 QIAGEN 公司;地贫基因检测试剂盒购自中国亚能生物技术(深圳)有限公司;9700 型 PCR 扩增仪购自美国 ABI 公司;电泳槽、Mini-Sub cell GT 水平电泳仪及 Gel Doc XR+ 凝胶

成像分析系统均购自美国 Bio-rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 样本采集 采取研究对象外周静脉血 2 管,每管 2 mL, EDTA-K2 抗凝,4℃ 度保存。

1.3.2 红细胞参数分析 使用血细胞分析仪对静脉血样本进行分析,样本须在采集后 4 小时内完成检测。主要观察的指标为红细胞参数:红细胞(RBC)、血红蛋白(Hb)、红细胞平均体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白(MCH)、红细胞平均宽度(RDW)、红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)。

1.3.3 血红蛋白电泳 按照操作说明书,使用 Capillary 2 Flex-Piercing 全自动毛细管电泳仪对静脉血样本进行血红蛋白电泳,分析样本的血红蛋白组分。

1.3.4 红细胞渗透脆性试验 按照试剂盒说明书进行严格操作,观察样本的红细胞渗透脆性是否降低,若降低,断定结果为阳性(+).

1.3.5 常规地贫基因检测 按照试剂盒说明书进行严格操作,使用 DNA 提取试剂盒(QIAamp DNA Blood Mini kit)进行研究对象基因组 DNA 的提取。使用跨越断裂点 PCR (gap polymerase chain reaction, Gap-PCR)技术对中国人群常见的三种缺失型 α - 地贫基因(--SEA、- α 3.7 和 - α 4.2)进行检测;使用 PCR-反向点杂交(PCR-reverse dot blot, PCR-RBD)技术对常见的 3 种非缺失型 α - 地贫基因类型和 17 种 β - 地贫基因突变类型进行检测,其中 3 种非缺失型 α - 地贫基因类型包括: $\alpha\alpha$ WS, $\alpha\alpha$ CS 和 $\alpha\alpha$ QS, 而 17 种 β - 地贫基因突变类型分别为:CD41-42(-TCTT)、IVS-2-654(C \rightarrow T)、CD17(A \rightarrow T)、-28(A \rightarrow G)、 β E(G \rightarrow A)、CD71-72(+A)、CD43(G \rightarrow T)、-29(A \rightarrow G)、Int(ATG \rightarrow AGG)、CD14-15 (+G)、CD27-28 (+C)、-32 (C \rightarrow A)、-30 (T \rightarrow C)、IVS-1-1 (G \rightarrow T)、IVS-1-5 (G \rightarrow C)、CD31 (-C)、CAP+40-+43 (-AAAC)。本检测仪涵盖中国人群 95% 以上的 α - 和 β - 地贫致病基因缺陷,因存在罕见或未知突变,会出现 5% 的漏诊。

1.3.6 α - 和 β - 地贫基因测序 根据 GenBank 中的 α 1, α 2 及 β - 珠蛋白基因序列进行引物设计,对珠蛋白基因进行 PCR 扩增,产物纯化后行双向 DNA 测序(Sanger 双脱氧末端终止法)。使用 SnapGene 基因分析软件进行 DNA 序列分析,同时与异常血红蛋白(HbVar)数据库(<http://globin.bx.psu.edu/hbvar>) 进行比对分析。 α 1、 α 2 及 β - 珠蛋白基因引物序列见表 1。

表 1 DNA 测序地贫基因引物序列

Table 1 Primer sequences of thalassemia gene with DNA sequencing

Primer names	Primer sequences	Length(bp)
HBA1-F	TGG AGG GTG GAG ACG TCC TG	1181 bp
HBA1-R	TCC ATC CCC TCC TCC CGC CCC TGC CTT TTC	
HBA2-F	TGG AGG GTG GAG ACG TCC TG	1085 bp
HBA2-R	CCA TTG TTG GCA CAT TCC GG	
HBB-F	AAC TCC TAA GCC AGT GCC AGA AGA GC	1833 bp
HBB-R	ATG CAC TGA CCT CCC ACA TTC CC	

2 结果

2.1 育龄生殖科患者地贫基因总检测情况

31455 例育龄生殖科患者中共检出地贫基因携带者 4455 例,其中男性 2182 例、女性 2273 例,男女比例接近 1:1,总体流行率为 14.16%(4455/31455,约 1/7)。见表 2。

表 2 4455 例育龄生殖科患者地中海贫血类型及流行率

Table 2 Genotypes and prevalence of thalassemia in 4455 reproductive patients of childbearing age

Disorder	No.patients detected	Constituent ratio (%)	Prevalence(%)	HbA2(%)	MCV(fl)	MCH(pg)
α -thalassemia	3365	75.53 %	10.70 %	2.41± 0.33	76.17± 8.62	24.45± 3.45
β -thalassemia	914	20.52 %	2.91 %	5.32± 0.63	65.31± 5.53	20.71± 2.15
Concurrent α - and β -thalassemias	176	3.95%	0.56 %	5.26± 0.70	69.14± 5.11	21.95± 1.96
Total	4455	100 %	14.16 %	3.12± 1.32	73.19± 6.12	23.60± 3.53

2.2 育龄生殖科患者 α - 地贫基因检测情况

从 3365 例 α - 地贫基因携带者中检出 23 种 α - 地贫基因型, 检出率较高的基因型分别为 --^{SEA}/ $\alpha\alpha$ (46.06 %)、 $\alpha^{37}/\alpha\alpha$ (27.58 %)、 $\alpha^{42}/\alpha\alpha$ (11.17 %)、 $\alpha^{ws}/\alpha\alpha$ (7.70 %)及 $\alpha^{cs}/\alpha\alpha$ (2.38 %),这 5 种基因型占 α - 地贫基因检出量的比例约为 95 %。另外的 18 种基因型中还发现少量的罕见型 α - 地贫: 25 例 $HK\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 、3 例 $HK\alpha\alpha/\alpha^{37}$ 和 1 例 $HK\alpha\alpha/\alpha^{ws}\alpha$ 。见表 3。

从 3365 例 α - 地贫基因携带者中检出 23 种 α - 地贫基因型, 检出率较高的基因型分别为 --^{SEA}/ $\alpha\alpha$ (46.06 %)、 $\alpha^{37}/\alpha\alpha$ (27.58 %)、 $\alpha^{42}/\alpha\alpha$ (11.17 %)、 $\alpha^{ws}/\alpha\alpha$ (7.70 %)及 $\alpha^{cs}/\alpha\alpha$ (2.38 %),这 5 种基因型占 α - 地贫基因检出量的比例约为 95 %。另外的 18 种基因型中还发现少量的罕见型 α - 地贫: 25 例 $HK\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 、3 例 $HK\alpha\alpha/\alpha^{37}$ 和 1 例 $HK\alpha\alpha/\alpha^{ws}\alpha$ 。见表 3。

表 3 育龄生殖科患者 α - 地贫基因型分布

Table 3 Genotypes of α -thalassemia in reproductive patients of childbearing age

Genotype	No.patients detected	Constituent ratio(%)	Genotype	No.patients detected	Constituent ratio(%)
-- ^{SEA} / $\alpha\alpha$	1550	46.06 %	$\alpha^{37}/\alpha^{ws}\alpha$	5	0.15 %
$\alpha^{37}/\alpha\alpha$	928	27.58 %	$\alpha^{cs}\alpha/\alpha^{37}$	3	0.09 %
$\alpha^{42}/\alpha\alpha$	376	11.17 %	$HK\alpha\alpha/\alpha^{37}$	3	0.09 %
$\alpha^{ws}\alpha/\alpha\alpha$	259	7.70 %	$\alpha^{37}/\alpha^{cs}\alpha$	2	0.06 %
$\alpha^{cs}\alpha/\alpha\alpha$	80	2.38 %	$\alpha^{ws}\alpha/\alpha^{cs}\alpha$	2	0.06 %
$\alpha^{cs}\alpha/\alpha\alpha$	60	1.78 %	α^{42}/α^{42}	2	0.06 %
-- ^{SEA} / α 3.7	26	0.77 %	$\alpha^{ws}\alpha/\alpha^{ws}\alpha$	1	0.03 %
$HK\alpha\alpha/\alpha\alpha$	25	0.74 %	$\alpha^{cs}\alpha/\alpha^{42}$	1	0.03 %
-- ^{SEA} / α^{42}	13	0.39 %	$\alpha^{cs}\alpha/\alpha^{cs}\alpha$	1	0.03 %
α^{37}/α^{37}	10	0.30 %	-- ^{SEA} / $\alpha^{cs}\alpha$	1	0.03 %
-- ^{SEA} / $\alpha^{ws}\alpha$	8	0.24 %	$HK\alpha\alpha/\alpha^{ws}\alpha$	1	0.03 %
α^{42}/α^{37}	8	0.24 %	Total	3365	100 %

2.3 育龄生殖科患者 β - 地贫基因检测情况

从 914 例 β - 地贫基因携带者中检出 13 种 β - 地贫基因型, 检出率较高的基因型分别为 $\beta^{CD41-42(TCCT)}/\beta^N$ (41.47 %)、 $\beta^{IVS-2-654(C-T)}/\beta^N$ (23.19 %)、 $\beta^{-28(A-G)}/\beta^N$ (15.65 %)、 $\beta^{CD17(A-T)}/\beta^N$ (9.19 %)及 $\beta^{CD26(G-A)}/\beta^N$ (3.17 %),这 5 种基因型占 β - 地贫基因检出量的比例为 92.67 %。见表 4。

2.4 育龄生殖科患者 α - 合并 β - 地贫基因检测情况

从 176 例 α - 合并 β - 地贫基因携带者中检出 36 种 α - 合并 β - 地贫基因型。检出率较高的基因型分别为 $\beta^{CD41-42(TCCT)}/\beta^N/\alpha^{37}/\alpha\alpha$ (21.02 %)、 $\beta^{IVS-2-654(C-T)}/\beta^N/\alpha^{37}/\alpha\alpha$ (13.07 %)、 $\beta^{CD41-42(TCCT)}/\beta^N/\alpha^{37}/\alpha\alpha$ (10.23 %)、 $\beta^{-28(A-G)}/\beta^N/\alpha^{37}/\alpha\alpha$ (8.52 %)及 $\beta^{IVS-2-654(C-T)}/\beta^N/\alpha^{37}/\alpha\alpha$ (6.25 %),这 5 种基因型占 α - 合并 β - 地贫基因检出量的比例为 59.09 %。

2.5 育龄生殖科患者地贫筛查漏检分析

通过对 31455 例育龄生殖科患者的地贫筛查和地贫基因检测结果进行相关性分析,绘制出四格表。其中真阳性病例为 3724 例,假阴性(漏筛)病例为 731 例,假阳性(误诊)病例为 4784 例,真阴性病例为 22216 例。见表 5。

对 731 例漏筛病例进行统计分析,漏筛较多的基因型分别是 $\alpha^{37}/\alpha\alpha$ (50.48 %)、 $\alpha^{ws}\alpha/\alpha\alpha$ (23.26 %)、 $\alpha^{42}/\alpha\alpha$ (19.97 %),均为静止型 α - 地贫,三者占总漏筛病例的 93.71 %。漏筛病例中还出现罕见型 α - 地贫: 23 例 $HK\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 、2 例 $HK\alpha\alpha/\alpha^{37}$ 和 1 例 $HK\alpha\alpha/\alpha^{ws}\alpha$ 。

2.6 育龄生殖科患者地贫筛查误诊分析

在 31455 例育龄生殖科患者中, 假阳性(误诊)病例有 4784 例。对误诊病例的地贫筛查结果进行分析,发现误诊原因

表 4 育龄生殖科患者 β-地贫基因型分布

Table 4 Genotypes of β-thalassemia in reproductive patients of childbearing age

Genotype	No.patients detected	Constituent ratio(%)	Genotype	No.patients detected	Constituent ratio(%)
$\beta^{CD41-42(-TCCT)}/\beta^N$	379	41.47 %	$\beta^{CD43(G\rightarrow T)}/\beta^N$	9	0.98 %
$\beta^{IVS-2-654(C\rightarrow T)}/\beta^N$	212	23.19 %	$\beta^{CD27-28(+C)}/\beta^N$	8	0.88 %
$\beta^{-28(A\rightarrow G)}/\beta^N$	143	15.65 %	$\beta^{-29(A\rightarrow G)}/\beta^N$	5	0.55 %
$\beta^{CD17(A\rightarrow T)}/\beta^N$	84	9.19 %	$\beta^{IVS-1-1(G\rightarrow T)}/\beta^N$	4	0.44 %
$\beta^{CD26(G\rightarrow A)}/\beta^N$	29	3.17 %	$\beta^{CD14-15(+G)}/\beta^N$	3	0.33 %
$\beta^{CD71-72(+A)}/\beta^N$	26	2.84 %	$\beta^{Int(ATG\rightarrow AGG)}/\beta^N$	1	0.11 %
$\beta^{CAP+40+43(N\rightarrow AAAC)}/\beta^N$	11	1.20 %	Total	914	100 %

表 5 31455 例育龄生殖科患者地贫筛查四格表

Table 5 Four-grid table analysis of thalassemia screening in 31455 reproductive patients of childbearing age

	Thalassemia gene(+)	Thalassemia gene(-)	Total
Thalassemia screening(+)	3724	4784	8508
Thalassemia screening(-)	731	22216	22947
Total	4455	27000	31455

主要有:(1)有 2701 例误诊病例其红细胞渗透脆性和红细胞参数均正常,仅因 HbA2<2.5 %且 HbA>97.5 %被判定为地贫筛查阳性,占误诊总病例数的 56.46 %;(2)有 98 例误诊病例出现胎儿血红蛋白(HbF)升高,其中个别病例在 Z1 区还存在占比极小的血红蛋白变异体。对 HbF 升高且 Z1 区存在血红蛋白变异体的部分患者样本进行 α- 和 β- 珠蛋白基因测序, 检测出 Hb Q-Thailand(GAC→CAC at codon74, α1- 珠蛋白基因突变)。见图 1(a);(3)有 77 例病例在血红蛋白电泳中发现占比较大的血红蛋白变异体,分别分布在 Z11 区、Z12 区及 Z6 区。对部分样本进行 α- 和 β- 珠蛋白基因测序,发现在 Z11 区的血红蛋白变

异体主要是 Hb NewYork (GTG→GAG at codon113, β- 珠蛋白基因突变), 在 Z12 区的血红蛋白变异体主要是 Hb J-Bangkok (GGC→GAC at codon56, β- 珠蛋白基因突变)以及在 Z6 区的血红蛋白变异体主要是 Hb G-Honolulu (GAG→CAG at codon30, α2- 珠蛋白基因突变)、Hb G-Taipei (GAA→GGA at codon22, β- 珠蛋白基因突变)。见图 1(b)-(f);(4)有 4 例病例仅出现红细胞渗透脆性降低,考虑为除地贫和缺铁性贫血外的其他疾病所导致;(5)有 1904 例病例仅因 MCV 和 / 或 MCH 异常,被误诊为携带地贫基因。

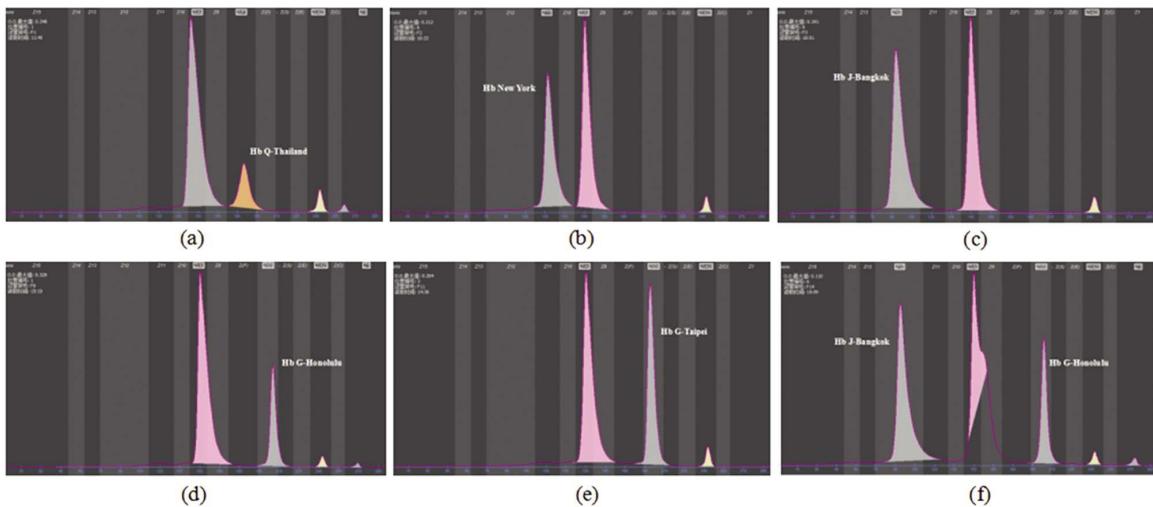


图 1 误诊病例中常见的 5 种血红蛋白变异体电泳图

Fig.1 Electrophoretograms of 5 common hemoglobin variants in the misdetected cases

*(a)CD74(GAC→CAC), Hb Q-Thailand; (b)CD113(GTG→GAG), Hb New York; (c)CD56(GGC→GAC), Hb J-Bangkok; (d)CD30(GAG→CAG), Hb G-Honolulu; (e)CD22(GAA→GGA), Hb G-Taipei; (f)Hb J-Bangkok and Hb G-Honolulu.

3 讨论

地中海贫血是世界范围内最常见的常染色体单基因缺陷所导致的隐性遗传病,对患病个体的治疗成了一个巨大的全球

疾病负担。据估计,全球约有 3.5 亿地贫基因携带者^[9]。在地贫高发的广东省,地贫基因的携带率达 11.07%左右^[10], α -和 β -地贫的人群基因携带率分别高达 8.53%和 2.54%^[7]。

本研究结果显示:本院育龄生殖科患者的地贫基因携带率为 14.16%,约为 1/7,其中 α -地贫携带率为 10.70%, β -地贫携带率为 2.91%,均比报道中广东人群的携带率要高^[11]。由于地中海贫血的遗传符合孟德尔的等位基因分离和自由组合定律,若夫妻双方均为 $--^{SEA}/\alpha\alpha$,则有 25%的几率怀上巴氏水肿胎。若夫妻双方均为 $\beta^{CD41-42(-TCTT)}/\beta^N$ 这类型的轻型地贫,则同样有 25%的几率生出重型 β -地贫儿。重型 β -地贫患儿出生后 3-12 个月会开始发病,需终身依赖输血和祛铁治疗来改善严重贫血的问题,且暂无根治手段,这对家庭造成沉重的经济负担^[9]。

本研究通过对比地贫筛查和地贫基因检测结果发现了 731 例地贫漏筛病例。所有的漏筛病例其红细胞渗透脆性、血红蛋白电泳、红细胞参数均无异常,绝大多数为静止型 α -地贫^[12,13],少量轻型 α -地贫被漏筛。一般情况下,夫妻一方或双方均患有静止型 α -地贫,其后代患有中间型或重型 α -地贫的几率较低。但如果夫妻其中一方确诊了轻型 α -地贫,那另一方即使是地贫筛查阴性仍建议进行地贫基因诊断。

漏筛病例中还出现罕见型 α -地贫:HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 、HK $\alpha\alpha/\alpha$ - α ³⁷和 HK $\alpha\alpha/\alpha^{WS}\alpha$ 。HK $\alpha\alpha$ 等位基因是由 $-\alpha$ ³⁷片段(右缺失)和 $\alpha\alpha^{m42}$ 片段之间不平等交换和基因簇同源重组所形成的特殊结构^[14]。有研究显示,广东地区的 HK $\alpha\alpha$ 基因型的携带率为 0.03%^[15]。本研究中,共检出 29 例携带 HK $\alpha\alpha$ 基因型的育龄患者,携带率为 0.092%(29/31455)。由于 HK $\alpha\alpha$ 基因包含了正常的 α_2 基因和 1 个由 α_2/α_1 部分组成的基因片段,因此基因数量并未减少,所以一般不出现临床表型的改变。在杜丽^[16]等人的研究中发现 $--^{SEA}/HK\alpha\alpha$ 携带者的临床表型与 $--^{SEA}/\alpha\alpha$ 类似,未出现中间型 α -地贫(血红蛋白 H 病)的临床表型,因此当夫妻双方的基因型分别为 HK $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ 和 $--^{SEA}/\alpha\alpha$,可以选择不进行产前诊断,并继续妊娠。

在 4784 例地贫筛查阳性,但地贫基因检测无异常的病例中,我们发现 2701 例仅因 HbA2<2.5%且 HbA<97.5%被判定为筛查阳性的病例,占总假阳性病例数的 56.46%。对于 HbA2 下降的非地贫基因携带者,我们前期的研究发现 β -珠蛋白基因调控区 3' 增强子区域 RS12574989 单核苷酸多态性可能与 HbA2 的下降相关^[17]。

通过对部分 HbF 异常升高或携带占比较大的血红蛋白变异体^[18]的误诊病例样本进行 α -和 β -珠蛋白基因测序,我们发现主要有以下血红蛋白变异体:Hb Q-Thailand^[19]、Hb New York^[20]、Hb J-Bangkok^[21]、Hb G-honolulu^[22]和 Hb G-Taipei^[23]。至今,由宾夕法尼亚州立大学(Penn State University)管理的 HbVar 数据库(<http://globin.bx.psu.edu/hbvar>)中列出了 1421 种血红蛋白变异体。血红蛋白变异体通常能通过血红蛋白电泳被区分,但如果复合异常血红蛋白和地贫基因突变,不同的、有缺陷的珠蛋白链会组成新型的血红蛋白分子,这使临床和实验室诊断复杂化,因此需要进行珠蛋白基因测序^[24]。大多数血红蛋白变异体不引起临床症状^[25],少数血红蛋白变异体如 HbS 可单独存在或复合地中海贫血,从而引起明显的临床症状,例如镰状细胞贫血(HbS),患者常需输血和药物治疗^[26]。由于常规的地贫基因

检测无法检测出罕见地贫、一些已知或未知的血红蛋白变异体,因此会有 5%的漏检^[27]。这种情况下,导致许多在地贫筛查中被发现的血红蛋白变异体被忽略^[28]。

综上所述,本研究通过对 31455 例育龄生殖科患者的地贫筛查及基因诊断结果进行比对和分析,发现广州地区有大量的育龄地贫基因携带者,其中携带的地贫基因型多为静止型或轻型的 α -或 β -地贫。静止型或轻型地贫一般不会引发贫血、黄疸、肝脾肿大等严重的疾病,但由于广州地区地贫基因携带率较高,夫妻双方患同种地贫的几率较大,这可能会导致中间型或重型地贫儿的出生。因此,开展人群普查、做好孕前遗传咨询对预防地贫有重要意义^[29]。虽然通过有创性的产前诊断技术能在分娩前确认胎儿是否患有地贫,但可能会对孕妇和胎儿造成一定的风险,因此在孕前进行地贫筛查和地贫基因诊断确认夫妻双方是否携带地贫基因,并进行遗传咨询,能有更多的机会去避免重型地贫患儿的出生^[30]。本研究对广州地区育龄人群的地贫基因携带率及基因型分布特征进行分析,大量的临床研究数据能为育龄人群在进行人工辅助受孕咨询时,为临床提供可靠的依据;同时通过分析漏筛病例也让筛查实验室了解到定期进行数据分析的重要性,及时调整各筛查指标的诊断截断值,提高检出率,减少漏检误诊的发生。

参考文献(References)

- [1] David J, Weatherall. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden[J]. *Blood*, 2010, 115(22): 4331-4336
- [2] Liang Hong-Feng, Liang Wei-Min, Xie Wen-Guang, et al. The gene spectrum of thalassemia in Yangjiang of western Guangdong Province[J]. *Front Genet*, 2023, 14: 1126099
- [3] Mettananda S, Higgs D R. Molecular Basis and Genetic Modifiers of Thalassemia [J]. *Hematology/oncology Clinics of North America*, 2018, 32(2): 177-191
- [4] King A J, Higgs D R. Potential new approaches to the management of the Hb Bart's hydrops fetalis syndrome: the most severe form of α -thalassaemia[J]. *Hematology*, 2018, 2018 (1): 353-360
- [5] Kattamis Antonis, Forni Gian Luca, Aydinok Yesim, et al. Changing patterns in the epidemiology of β -thalassaemia [J]. *Eur J Haematol*, 2020, 105: 692-703
- [6] Ali T Taher, David J Weatherall, Maria Domenica Cappellini. Thalassaemia [J]. *Lancet* (London, England), 2018, 391 (10116): 155-167
- [7] 刘雨, 颜丽香, 刘志祥, 等. 河源市地中海贫血预防控制项目实施效果分析[J]. *临床医学*, 2018, 38(5): 1-4
- [8] 张卫云, 杨雄攀, 李林海, 等. MCH、MCV、RDW-CV、HbA2 和红细胞脆性试验在地中海贫血和缺铁性贫血鉴别诊断中的应用[J]. *生物技术通讯*, 2016, 27(2): 244-248
- [9] 徐湘民, 余艳红. 地中海贫血的产前诊断[J]. *中华妇产科杂志*, 2012, 47(2): 81-84
- [10] 杜丽, 尹爱华, 张彦, 等. 2171 例地中海贫血产前基因诊断回顾性分析[J]. *国际妇产科学杂志*, 2012, 39(2): 208-210
- [11] He Sheng, Qin Qian, Yi Shang, et al. Prevalence and genetic analysis of α - and β -thalassaemia in Baise region, a multi-ethnic region in southern China[J]. *Gene*, 2017, 619: 71-75
- [12] 周冰颖, 赵文忠, 李铭臻, 等. 广东地区 16336 例地中海贫血初筛阳性样本基因型分析[J]. *中国医药导报*, 2016, 13(32): 73-77

- [13] Xian Jijia, Wang Yanchao, He Jianchun, et al. Molecular Epidemiology and Hematologic Characterization of Thalassemia in Guangdong Province, Southern China[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2022, 28: 10760296221119807
- [14] Li Jun, Ye Guimei, Zeng Dan, et al. Accurate genotype diagnosis of Hong Kong $\alpha\alpha$ thalassemia based on third-generation sequencing[J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10: 1113
- [15] Wu M Y, Li J, Li S C, et al. Frequencies of HK $\alpha\alpha$ and anti-HK $\alpha\alpha$ Alleles in Chinese Carriers of Silent Deletional α -Thalassemia [J]. *Hemoglobin*, 2015, 39(6): 407-411
- [16] 杜丽, 王继成, 秦丹卿, 等. HK $\alpha\alpha$ 地中海贫血的基因诊断及临床表型分析[J]. *中国产前诊断杂志(电子版)*, 2017, 9(3): 20-22
- [17] Lin Q, Xie Y, Zhong X, et al. RS12574989 and haplotype associated with α/β -chain imbalance and population HbA2 reduction [J]. *BMC Medical Genomics*, 2022, 15(1): 1-8
- [18] Yang Xiaoling, Zeng Xianwei, Zhang Yonggang, et al. Evaluation of interference from 16 hemoglobin variants on hemoglobin A measurement by five methods [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2023, 83: 18-22
- [19] Yang Hui, Lin Min, Lin Fen, et al. Molecular epidemiological investigation of abnormal hemoglobin in Shaokwan region, southern China[J]. *Hematology*, 2022, 27: 150-156
- [20] Li Youqiong, Tang Jianling, Zheng Lihong, et al. False hemoglobin A value as a result of compound heterozygotes of hemoglobin E and hemoglobin New York[J]. *J Diabetes Investig*, 2023, 14: 494-497
- [21] Gao Wei, Jin Yanwen, Wang Minjin, et al. Case Report: Abnormally Low Glycosylated Hemoglobin A1c Caused by Clinically Silent Rare β -Thalassemia in a Tujia Chinese Woman [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 878680
- [22] 钟永红, 张浔, 江帆, 等. 粤北地区育龄期夫妇异常血红蛋白病和 β -地中海贫血的筛查情况 [J]. *中国计划生育和妇产科*, 2020, 12(10): 64-66, 71
- [23] 李育敏, 金潇, 张宇英, 等. 深圳地区血红蛋白 G 的分子特征与血液学表型[J]. *临床检验杂志*, 2020, 38(3): 180-183
- [24] Giardine Belinda M, Joly Philippe, Pissard Serge, et al. Clinically relevant updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49: D1192-D1196
- [25] Ghosh Kanjaksha, Ghosh Kinjalika, Agrawal Reepa, et al. Recent advances in screening and diagnosis of hemoglobinopathy [J]. *Expert Rev Hematol*, 2020, 13: 13-21
- [26] Nader Elie, Romana Marc, Connes Philippe, et al. The Red Blood Cell-Inflammation Vicious Circle in Sickle Cell Disease [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 454
- [27] Xu Anping, Chen Weidong, Xie Weijie, et al. Hemoglobin variants in southern China: results obtained during the measurement of glycated hemoglobin in a large population [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2020, 59: 227-232
- [28] Zeng Xiangxing, Liu Zhifang, He Caihua, et al. Prevalence and molecular characterization of alpha and beta-Thalassemia mutations among Hakka people in southern China[J]. *Genet Mol Biol*, 2022, 45: e20220043
- [29] 徐珊珊, 李铭臻, 周冰, 等. 广东省育龄夫妇地中海贫血的基因型分析[J]. *山西医药杂志*, 2020, 49(23): 3195-3197
- [30] 周艳洁, 黄永全, 黄水芬. 地中海贫血大人群干预方法探讨 [J]. *实用医学杂志*, 2021, 37(4): 482-485, 492