

## 罕见 $\alpha$ 地中海贫血 IVS1-116(A>G)突变一例报告及文献复习

秦丹卿 王继成 余丽华 袁腾龙 张艳霞 王奕霞 骆明勇 梁驹卿 杜丽

**Molecular and prenatal diagnosis of a rare mutation IVS1-116 (A→G) of  $\alpha_2$ -globin gene** Qin Danqing, Wang Jicheng, Yu Lihua, Yuan Tenglong, Zhang Yanxia, Wang Yixia, Luo Mingyong, Liang Juqing, Du Li

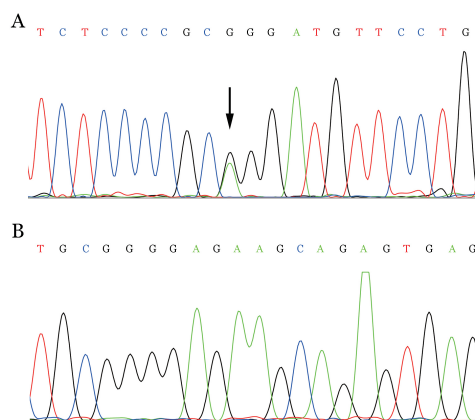
Corresponding author: Du Li, Medical Genetics Center, Key Laboratory of Metabolic and Genetic Disease in Women and Children, Guangdong Women and Children Hospital, Guangzhou 511442, China. Email: lier28@163.com

地中海贫血(地贫)是全球广为流行的遗传性溶血性疾病,是最常见的单基因遗传病之一。其中, $\alpha$ 地贫主要由 $\alpha$ 珠蛋白基因发生缺陷导致 $\alpha$ 珠蛋白肽链合成减少或缺如,从而造成 $\alpha$ 和 $\beta$ 珠蛋白肽链比例失衡而引起<sup>[1-2]</sup>。 $\alpha$ 地贫的基因缺陷除了主要是 $\alpha$ 珠蛋白基因发生片段缺失以外,也有少部分是基因的点突变而引起。目前全世界已发现三百多种 $\alpha$ 珠蛋白基因变异,在中国人群中已报道的有 22 种<sup>[3-7]</sup>。中国南方人群中最常见的 $\alpha$ 地贫突变类型包括缺失型突变(--<sup>SEA</sup>/)、(- $\alpha^{37}$ )和(- $\alpha^{42}$ )以及非缺失型突变( $\alpha^{CS}\alpha$ )、( $\alpha^{OS}\alpha$ )和( $\alpha^{WS}\alpha$ )<sup>[6-8]</sup>。最近,我们发现 $\alpha_2$ 珠蛋白基因第 1 个内含子剪接受体位点 116 位 A>G 突变 1 例,现报告如下并进行文献复习。

### 病例资料

孕妇 27 岁,于孕 15 周来我院进行地贫基因筛查,其丈夫 29 岁,夫妇双方祖籍均为广东省。孕妇血常规:RBC  $4.75 \times 10^{12}/L$ 、HGB 105 g/L、红细胞平均体积(MCV)70.3 fl、红细胞平均血红蛋白含量(MCH)22.0 pg、红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)313 g/L、红细胞分布宽度(RDW)17.5%;孕妇丈夫血常规:RBC  $5.97 \times 10^{12}/L$ 、HGB 162 g/L、MCV 79.6 fl、MCH 27.1 pg、MCHC 341 g/L、RDW 12.8%。血红蛋白电泳:孕妇 Hb A 及 Hb A<sub>2</sub> 分别为 97.6%及 2.4%,其丈夫 Hb A 及 Hb A<sub>2</sub> 分别为 97.6%及 2.4%。夫妇双方 MCV 及 Hb A<sub>2</sub> 水平均降低,提示为小细胞低色素性贫血。采用跨越断裂点 PCR(gap-PCR)及 PCR-反向斑点杂交技术(PCR-RDB)分别检测中国南方人群常见的 3 种缺失型 $\alpha$ 突变类型(--<sup>SEA</sup>/、- $\alpha^{37}$ /和- $\alpha^{42}$ /)及 3 种非缺失型 $\alpha$ 突变类型( $\alpha^{CS}\alpha$ /、 $\alpha^{OS}\alpha$ /和 $\alpha^{WS}\alpha$ /)。基因

分析结果:孕妇基因型为--<sup>SEA</sup>/ $\alpha\alpha$ ,其丈夫未检测到上述几种常见突变类型。由于孕妇丈夫基因分析与其血液学表现不符,考虑其可能携带非常见的突变类型。遂设计引物扩增 $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ 珠蛋白基因序列全长进行 DNA 测序,引物序列: $\alpha_1$ 上游引物:5'-TGGAGGGTGGAGACGTCCTG-3',下游引物:5'-TCCATCCCCCTCTCCCGCCCCCTGCCTTTTC-3',产物长度 1 181 bp; $\alpha_2$ 上游引物:5'-GATGGGCGGGAGTGGAGT-3',下游引物:5'-GGACAGGGGATGGTTCAGC-3',产物长度 1 241 bp。PCR 体系:PrimeSTAR HS DNA 聚合酶[宝生物工程(大连)有限公司产品]12.5  $\mu$ l,10 pmol/ $\mu$ l 上下游引物各 1.5  $\mu$ l,5 mol/L 甜菜碱 5  $\mu$ l 以及基因组 DNA 100 ng,补灭菌双蒸水至 25  $\mu$ l。PCR 条件:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95  $^{\circ}$ C 40 s,66  $^{\circ}$ C 30 s,72  $^{\circ}$ C 70 s,共 33 个循环;72  $^{\circ}$ C 延伸 7 min。采用 QIAquick PCR Purification 试剂盒(德国 QIAGEN 公司产品)纯化 PCR 产物,使用 ABI 3130 型测序仪进行 DNA 序列分析。DNA 测序结果显示,孕妇丈夫 $\alpha_2$ 珠蛋白基因第 1 个内含子 116 位点处 A>G 杂合突变(图 1),其基因型为 $\alpha^{IVS1-116}\alpha$ / $\alpha\alpha$ 。因基因诊断结果确认夫妇双方均为 $\alpha$ 地贫携带者,孕妇于孕 22 周行羊膜腔穿刺术,抽取羊水分离胎儿脱落细胞进行常规基因分析及测序。产前基因诊断结果提示胎儿基因型为 $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ (图 1),未遗传到来自父母的异常 $\alpha$ 突变基因。



A: 孕妇丈夫正向测序结果 IVS1-116 位点处 AG 杂合峰(箭头所示为突变位点);B: 胎儿反向测序结果正常

图 1  $\alpha_2$ 珠蛋白基因测序结果

### 讨 论

地贫基因突变具有高度的异质性,不同种族人群具有独特的基因突变谱。目前,检测地贫基因的常用方法均只能检

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.09.016

作者单位:511442 广州,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

通信作者:杜丽,Email: lier28@163.com

测已知突变,所以为防止漏诊、误诊,需将基因检测结果与筛查结果结合临床表现综合分析。对高度怀疑为地贫携带者却未检测出常见突变的病例,应考虑是否存在罕见的未知突变。

本例患者 IVS1-116(A>G)突变是亚洲人群中首次报道,该突变类型此前仅在荷兰人群中有少量报道<sup>[9-11]</sup>,1998年 Giordano 等<sup>[9]</sup>报道的病例血液学指标与本病例相似,通过检测 $\alpha$ 链与非 $\alpha$ 链体外合成比,证实了所有携带者符合 $\alpha$ 地贫的表型。该剪切位点突变导致第1个外显子后过早形成了终止密码子 UGA<sup>[10]</sup>。Mazzoni 及 Falcone<sup>[12]</sup>认为提前终止编码的 mRNA 是不稳定的,所翻译的蛋白质也是异常的。Harteveld 等<sup>[11]</sup>报道的1例患者为 IVS1-116(A>G)突变复合(- $\alpha^{3.7}$ )缺失突变,该例患者血液学指标及 $\alpha$ 链与非 $\alpha$ 链比例的失衡较之前报道的轻型病例更加明显,同时存在 Hb H 包涵体。鉴于( $\alpha^{CS}\alpha$ )和( $\alpha^{OS}\alpha$ )这些同样位于 $\alpha$ 珠蛋白基因的位点突变复合(-- $^{SEA}$ )缺失突变即(-- $\alpha^T\alpha$ )型 Hb H 病,会引起比(-- $\alpha$ )型 Hb H 病更严重的临床后果<sup>[13-15]</sup>,我们有理由推测 IVS1-116 A>G 突变复合(-- $^{SEA}$ )突变可能会产生中间型到重型的表型。本文报道的病例中,我们考虑胎儿可能存在这种遗传风险,进行了产前基因诊断。

通过家系调查我们了解到该家庭为纯正的中国南方血统,与荷兰或欧洲人群无已知血缘关系。遗憾的是,我们无法获得该 IVS1-116(A>G)突变携带者父母亲样本,无法分辨此例突变是遗传性还是获得性突变。尽管此种突变在中国人群中的起源有待进一步研究,但此例散发病例的发现提示此种罕见突变不仅仅存在于荷兰人种。本病例报道丰富了中国人群的 $\alpha$ 地贫突变谱。考虑遗传风险,对一些罕见突变类型进行检测对于人群筛查,产前诊断和遗传咨询具有重要的指导意义。

### 参考文献

- [1] Sankaran VG, Nathan DG. Thalassemia: an overview of 50 years of clinical research [J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2010, 24(6): 1005-1020.
- [2] Higgs DR, Gibbons RJ. The molecular basis of  $\alpha$ -thalassemia: a model for understanding human molecular genetics [J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2010, 24(6): 1033-1054.
- [3] Lin M, Zhong TY, Chen YG, et al. Molecular epidemiological characterization and health burden of thalassemia in Jiangxi Province, P. R. China [J]. Plos One, 2014, 9(7): e101505.
- [4] Yao H, Chen X, Lin L, et al. The spectrum of  $\alpha$ - and  $\beta$ -thalassemia mutations of the Li people in Hainan Province of China [J]. Blood Cells Mol Dis, 2014, 53(1-2): 16-20.
- [5] Yao XY, Yu J, Chen SP, et al. Prevalence and genetic analysis of  $\alpha$ -thalassemia and  $\beta$ -thalassemia in Chongqing area of China [J]. Gene, 2013, 532(1): 120-124.
- [6] Yin AH, Li B, Luo MY, 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.
- [7] Zheng CG, Liu M, Du J, et al. Molecular spectrum of  $\alpha$ - and  $\beta$ -globin gene mutations detected in the population of Guangxi Zhuang Autonomous Region, People's Republic of China [J]. Hemoglobin, 2011, 35(1): 28-39.
- [8] Li R, Liao C, Li D, et al. High-resolution melting analysis of the three common nondeletional  $\alpha$ -thalassemia mutations in the Chinese population: Hbs Constant Spring, Quong Sze and Westmead [J]. Hemoglobin, 2010, 34(6): 587-593.
- [9] Giordano PC, Harteveld CL, Haak HL, et al. A case of non-beta-globin gene linked beta thalassaemia in a Dutch family with two additional alpha-gene defects: the common -alpha3.7 deletion and the rare IVS1-116 (A-->G) acceptor splice site mutation [J]. Br J Haematol, 1998, 103(2): 370-376.
- [10] Harteveld CL, Heister JG, Giordano PC, et al. An IVS1-116 (A-->G) acceptor splice site mutation in the alpha 2 globin gene causing alpha + thalassaemia in two Dutch families [J]. Br J Haematol, 1996, 95(3): 461-466.
- [11] Harteveld CL, Van Lom K, Gomez Garcia EB, et al. The Dutch IVS-I-116 (A --> G) (alpha2) thalassaemia mutation induces Hb H inclusion bodies when found in combination with the -alpha3.7 deletion defect [J]. Hemoglobin, 2003, 27(1): 49-51.
- [12] Mazzoni C, Falcone C. mRNA stability and control of cell proliferation [J]. Biochem Soc Trans, 2011, 39(5): 1461-1465.
- [13] Li DZ, Liao C, Li J, et al. Hemoglobin H hydrops fetalis syndrome resulting from the association of the --SEA deletion and the alphaQuong Szealpha mutation in a Chinese woman [J]. Eur J Haematol, 2005, 75(3): 259-261.
- [14] Viprasit V, Tanphaichitr VS. Compound heterozygosity for alpha0-thalassemia (--THAI) and Hb constant spring causes severe Hb H disease [J]. Hemoglobin, 2002, 26(2): 155-162.
- [15] Liu TC, Chiou SS, Lin SF, et al. Molecular basis and hematological characterization of Hb H disease in southeast Asia [J]. Am J Hematol, 1994, 45(4): 293-297.

(收稿日期:2015-03-01)

(本文编辑:刘爽)