

$\alpha 2$ 珠蛋白基因 $CD30$ ($delGAG$) 突变的临床表型分析及产前基因诊断

梁杰 王继成 秦丹卿 姚翠泽 袁腾龙 梁凯玲 杜丽*

(广东省妇幼保健院 医学遗传中心, 广东 广州 511400)

【摘要】 目的 分析少见突变 $\alpha 2$ 珠蛋白基因 $CD30$ ($delGAG$) 病例的表型特征, 并对携带此突变的家系进行产前基因诊断。方法 采集所有病例外周血进行红细胞参数和血红蛋白电泳分析, 收集羊水用于产前诊断。PCR-流式荧光杂交法和 Sanger 测序的方法被应用于珠蛋白基因突变检测。结果 在 5 例 $CD30$ ($delGAG$) 突变病例中, 4 例是此突变的杂合子, 1 例复合东南亚缺失型 α 地贫突变 ($-^{SEA}/\alpha^{CD30}$)。所有杂合子均有小细胞低色素的血液学表现, 但血红蛋白值均正常。 $-^{SEA}/\alpha^{CD30}$ 病例除表现小细胞低色素特征以外, 还有轻度贫血且血红蛋白电泳分析显示 Hb H(35.8%) 和 Hb Bart's(0.6%) 明显升高。进行产前诊断的 4 个家系中, 检测到 1 例胎儿为 $\alpha^{CD30}/\alpha\alpha$, 2 例胎儿为 $-^{SEA}/\alpha^{CD30}$ 和 1 例胎儿为 $-^{SEA}/-\alpha^{4,2}$ 。结论 $\alpha 2$ 珠蛋白基因 $CD30$ ($delGAG$) 变杂合子携带者无贫血症状, 复合其他 α 地中海贫血突变时会加重相关血液学表现。由于该突变不在临床地中海贫血常见基因突变类型检测范围内, 因此应用其他分子方法精确诊断此突变对产前诊断具有重要价值。

【关键词】 α -地中海贫血; $CD30$ 突变; 临床特征; 产前诊断

【中图分类号】 R714.56 **【文献标识码】** A

Clinical phenotypic analysis and prenatal diagnosis of $CD30$ ($delGAG$) on $\alpha 2$ hemoglobin gene

Liang Jie, Wang Jicheng, Qin Danqing, Yao Cuize, Yuan Tenglong, Liang Kailing, Du Li*

Medical Genetics Center, Guangdong Women and Children Health Care Hospital, Guangzhou, Guangdong 510010, China

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

【Abstract】 **Objective** To analyze the clinical phenotypic characteristics of a rare mutation of $CD30$ ($delGAG$) of $HBA2$ gene and performing prenatal diagnosis in these families. **Methods** Peripheral blood was collected for analysis of erythrocyte parameters and hemoglobin electrophoresis. Amniotic fluid was collected for prenatal diagnosis. PCR- flow fluorescence hybridization and Sanger sequencing were used to detect globin gene mutations. **Results** A total of five $CD30$ ($delGAG$) mutations were found, including four heterozygotes and one compound heterozygote with common SEA deletion α -thalassemia ($-^{SEA}/\alpha^{CD30}$). All heterozygotes had hematologic manifestations of small cell hypochromia, while hemoglobin values were normal. Patients with $-^{SEA}/\alpha^{CD30}$ had mild anemia and a significant reduction in erythrocyte parameters, as well as significant increase in Hb H (35.8%) and Hb Barts (0.6%) detected by hemoglobin electrophoresis. Among the four families in prenatal diagnosis, 1 fetus with $\alpha^{CD30}/\alpha\alpha$, 2 fetuses with $-^{SEA}/\alpha^{CD30}$, and 1 fetus with $-^{SEA}/-\alpha^{4,2}$ were detected. **Conclusion** Carriers of the $CD30$ ($delGAG$) mutation of $HBA2$ gene have no anemia. However, the hematologic manifestations will be aggravated when associated with the same type α -thalassemia. Since this mutation is not within the scope

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2020.04.015

* 通信作者: 杜丽, E-mail: lier28@163.com

of routine clinical genetic testing for thalassemia, accurate diagnosis of this mutation by other molecular methods is of great value for prenatal diagnosis.

【Key words】 Alpha thalassaemia; CD30 mutation; Clinical features; Prenatal diagnosis

α 地中海贫血(简称 α 地贫)是由于编码 α 珠蛋白肽链的 α 珠蛋白基因突变导致 α 珠蛋白链合成减少或缺如,最终导致溶血性贫血的一种遗传性血红蛋白病; α 珠蛋白基因突变主要是大片段缺失,以及少部分点突变。我国南方人群常见的缺失型突变类型主要是 $-\text{SEA}/$ 、 $-\alpha^{3.7}/$ 和 $-\alpha^{4.2}/$,非缺失型突变主要是位于 $\alpha 2$ 珠蛋白基因的 $\alpha^{\text{CS}}\alpha/$ 、 $\alpha^{\text{QS}}\alpha/$ 和 $\alpha^{\text{WS}}\alpha/[1-3]$ 。目前 HbVar 数据库已报道 400 余种发生在 $\alpha 2$ 珠蛋白基因的突变类型,但关于 CD30 (*delGAG*)突变的报道较少,鉴于此,我们收集了 5 例 CD30 (*delGAG*)突变患者及家系对其血液学指标和表型特征进行分析,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 2015~2020 年就诊于广东省妇幼保健院且经地贫基因诊断确诊为 CD30 (*delGAG*)突变的 5 例患者。所有病例均为广东籍,年龄为 25~39 岁,包括成年的 4 名男性和 1 名女性。对其中需进行产前诊断的 4 个家系孕妇,于孕 16~22 周行羊膜腔穿刺术,抽取羊水行地贫产前基因诊断。

1.2 方法

1.2.1 血常规及血红蛋白分析 采集所有研究对象外周静脉血各 2ml,EDTA-K2 抗凝,应用迈瑞 2000 血液分析仪和法国 Sebia capillary2 毛细管电泳仪分别进行血常规检测和血红蛋白电泳分析。

1.2.2 DNA 制备及地中海贫血基因分析 采用 Magpure tissue&Blood DNA KF Kit 试剂盒进行

外周血 DNA 提取,采用 QIAamp DNA Blood Mini Kit 试剂盒从羊水脱落细胞进行胎儿 DNA 提取,所有操作均按试剂盒说明书进行。应用 gap-PCR 和聚合酶链反应-反向点杂交 (polymerase chain reaction-reverse dot blotting,PCR-RDB)方法检测 3 种常见的缺失型 α 地贫,3 种非缺失型 α 地贫以及常见的 17 种 β 地贫基因点突变,试剂盒由亚能生物技术有限公司提供。

1.2.3 α 珠蛋白基因测序 设计引物分别扩增 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 珠蛋白基因,引物序列: $\alpha 1$ 上游引物:5'-TGGAGGGTGGAGACGTCCTG-3',下游引物:5'-TCCATCCCCTCCTCCCGCCCCTGCCTTTTC-3'; $\alpha 2$ 上游引物:5'-GATGGGCGGGAGTGGAGT-3',下游引物:5'-GGACAGGGGATGGTTCAGC-3',产物大小分别为 1181 bp 和 1241 bp。PCR 扩增产物交由上海英潍捷基生物有限公司进行测序。

2 结果

2.1 血液学分析结果 在 5 例 CD30 (*delGAG*)突变病例中,4 例 CD30 杂合子的平均红细胞体积 (mean corpuscular volume,MCV)值及平均红细胞血红蛋白量 (mean corpuscular hemoglobin,MCH)值均降低,呈小细胞低色素性表现,血红蛋白组分分析正常。另 1 例 $-\text{SEA}/\alpha^{\text{CD30}}$ α 病例则表现有轻度贫血,除小细胞低色素特征以外,可见 35.8% 的 HbH 带及 0.6% Hb Bart's 带,表现为中间型 α 地贫。详细的血液学分析结果见表 1。

表 1 5 例患者血液学指标和基因诊断结果

病例	性别	年龄 (岁)	MCV (fL)	MCH (pg)	Hb (g/L)	Hb A ₂ (%)	Hb A (%)	异常 Hb (%)	基因型
1	男	25	77.9	25.0	148.0	2.4	97.6	/	$\alpha^{\text{CD30}}\alpha/\alpha\alpha$
2	男	39	77.2	25.3	146.0	2.6	97.4	/	$\alpha^{\text{CD30}}\alpha/\alpha\alpha$
3	女	30	74.3	25.1	128.0	2.4	97.6	/	$\alpha^{\text{CD30}}\alpha/\alpha\alpha$
4	男	26	63.3	19.0	106.0	0.5	63.1	Hb H 35.8 Hb Bart's 0.6	$-\text{SEA}/\alpha^{\text{CD30}}\alpha$
5	男	28	80.4	25.9	151.0	2.6	97.4	/	$\alpha^{\text{CD30}}\alpha/\alpha\alpha$

2.2 基因诊断结果 5 例患者中仅 1 例检出复合

东南亚型 α 地贫 ($-\text{SEA}/$) (病例 4),另外 4 例均排除

常见地贫基因突变类型,详见表1。如图1所示, α 珠蛋白基因测序结果提示病例4为CD30(*delGAG*)纯合突变,其余均为CD30(*delGAG*)杂合突变。病例5未追踪到其配偶及胎儿妊娠情况,其余进行产前诊断的4个家系中检测到2例胎儿为 $--SEA/\alpha^{CD30}$,1例胎儿为 $\alpha^{CD30}/\alpha/\alpha$,另1例胎儿为 $--SEA/-\alpha^{4.2}$ 。

家系各成员的基因诊断结果详见表2。

表2 家系各成员的基因诊断结果

	家系1	家系2	家系3	家系4
父亲	$\alpha^{CD30}/\alpha/\alpha$	$\alpha^{CD30}/\alpha/\alpha$	$--SEA/\alpha/\alpha$	$--SEA/\alpha^{CD30}/\alpha$
母亲	$--SEA/\alpha/\alpha$	$--SEA/\alpha/\alpha$	$\alpha^{CD30}/\alpha/\alpha$	$-\alpha^{4.2}/\alpha/\alpha$
胎儿	$--SEA/\alpha^{CD30}/\alpha$	$\alpha^{CD30}/\alpha/\alpha$	$--SEA/\alpha^{CD30}/\alpha$	$--SEA/-\alpha^{4.2}$

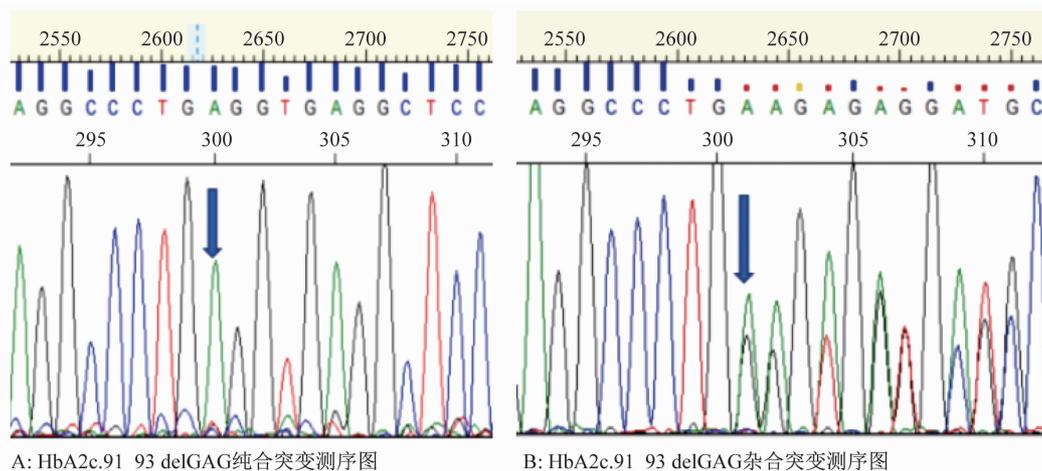


图1 $\alpha 2$ 珠蛋白突变的测序图

a. HbA2c. 91_93 *delGAG* 纯合突变测序图; b. HbA2c. 91_93 *delGAG* 杂合突变测序图

3 讨论

我国的广东、广西等南方地区为地中海贫血的高发区,广东省育龄人群的 α 地贫携带率达13%以上^[4], $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 珠蛋白基因或者调控序列上的点突变均可导致非缺失型 α 地贫。CD30突变位于 $\alpha 2$ 珠蛋白基因,该突变引起第30号密码子框内缺失(*delGAG*)形成一个略短的由140个氨基酸组成的 α -珠蛋白链,根据研究报道^[5],这种蛋白质较不稳定,易受到水解破坏,其水解可能耗尽红细胞前体的蛋白水解活性,导致胎儿期过量的 γ -链无法清除。

本研究纳入5例CD30(*delGAG*)突变病例,其中4例是CD30杂合子,血液学表现为轻度小细胞低色素,血红蛋白值正常。此前关于CD30(*delGAG*)突变已有文献报道,Yu等^[6]分析了3例CD30杂合子和2例 $--SEA/\alpha^{CD30}$ 患者的血液学及临床表现,本研究的杂合子表型与其基本一致。

本研究检出1例为复合东南亚型 α 地贫($--SEA/\alpha^{CD30}$)的中间型表型患者,既往体健,因配合其妻子

行产前筛查方被查出。Yu等^[6]报道的2例 $--SEA/\alpha^{CD30}$ 患者与本研究不同,Hb H带仅有0.5%和1.6%,Hb Bart's带为1.1%和2.3%。其中1例女性患者有贫血和肝脾肿大史,在童年期发生感染引发溶血危机而需输血,并在7岁进行脾脏切除后无需输血。陈萍等^[7]也报道了1例 $--SEA/\alpha^{CD30}$ 男性Hb H病患者,自幼黄疸伴肝脾肿大,血液学分析示小细胞低色素性轻度贫血,该病例也显示高水平的Hb H带及Hb Bart's带。有证据表明,非缺失型Hb H病较缺失型Hb H病表型更为严重,通常表现为严重的贫血、溶血和脾肿大,输血治疗更为迫切^[8]。与其他非缺失型Hb H病相比(如Hb H-CS和Hb H-QS),本研究的中间型病例虽然Hb H水平较高,但贫血严重程度较轻^[9]。通常高水平的Hb H与临床症状严重程度相关,因为Hb H不稳定易在红细胞中沉淀,形成特征性的Hb H包涵体可造成红细胞膜损伤。本例患者Hb H含量高可能是由于CD30(*delGAG*)形成的 α -珠蛋白链极不稳定迅速降解,不与 β 链形成四聚体,导致过剩的 β 链

自行形成四聚体,但该病例没有明显贫血的原因还有待进一步研究。产前诊断的4个家系中,也检测到1例基因型为 $-^{SEA}/\alpha^{CD30}$ 的胎儿,虽然本研究同基因型患者仅表现为轻度贫血无需输血,但Yu等^[6]报道的1例相同基因型的女性患者却需要进行输血治疗,也曾有报道CD30突变复合 ζ - α 地贫出现胎儿水肿^[10],所以此类Hb H病的临床表现严重程度个体差异较大。在临床遗传咨询中,对于这类基因型需要加以解释说明其表型的多样性,我们建议谨慎考虑和选择胎儿去留。

综上所述, $\alpha 2$ 珠蛋白基因CD30(*del GAG*)突变携带者无贫血症状,复合其他 α 地贫突变时,会加重相关血液学表现。由于此突变不在临床地贫常见基因突变类型检测范围内,因而容易造成误诊和漏诊,因此应用其他分子方法精确诊断此突变对遗传咨询和产前诊断具有重要价值。

参 考 文 献

- [1] 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, 2011:16-19.
- [2] KAMAL M, ABU-SIRRIYA S, ABU-DAYYA A, et al. The molecular basis of α -thalassemia in the qatari pediatric population[J]. Hemoglobin, 2015, 39(5):350-354.
- [3] ZHENG C G, LIU M, DU J, et al. Molecular spectrum of α - and β -globin gene mutations detected in the population of Guangxi Zhuang Autonomous Region, People's Republic of China[J]. Hemoglobin, 2011, 35(1):28-39.
- [4] 李兵. 广东省地中海贫血流行及防控现状评价[D]. 广州:南方医科大学, 2015:1-193.
- [5] MA S K, CHAN A Y, CHIU E K, et al. Haemoglobin H disease due to ($-^{SEA}$) α -globin gene deletion and $\alpha 2$ -codon 30 (Δ GAG) mutation: a family study[J]. Clin Lab Haematol, 2001, 23(5):325-327.
- [6] YU Y, LI D Z. CODON 30 ($-GAG$) ($\alpha 2$): hematological parameters in heterozygotes and also patients with Hb H disease[J]. Hemoglobin, 2013, 37(6):599-603.
- [7] 陈萍, 李树全, 吴华. 广西地区 $\alpha 2$ 珠蛋白基因密码子30缺失导致非缺失型血红蛋白H病[J]. 中华医学遗传学杂志, 2004, 21(5):435-439.
- [8] CHEN F E, OOI C, HA S Y, et al. Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in Chinese patients[J]. N Engl J Med, 2000, 343(8):544-550.
- [9] 陈素琴, 蒋玮莹, 陈路明, 等. 中国南方地区血红蛋白H病的基因型与表型的相关性研究[J]. 新医学, 2015, (5):294-298.
- [10] CHAN V, CHAN V W, TANG M, et al. Molecular defects in Hb H hydrops fetalis[J]. Br J Haematol, 1997, 96(2):224-228.

(收稿日期:2020-09-25)

编辑:宋文颖