

• 个案分析 •

# 罕见 IVS II-705(T>G) $\beta$ -地中海贫血基因携带者 2 例报道并文献复习\*

黄心怡<sup>1</sup>, 林 靖<sup>2△</sup>

1. 成都中医药大学医学与生命科学学院, 四川成都 611137; 2. 贵州省人民医院输血科, 贵州贵阳 550002

**关键词:**地中海贫血; 罕见突变; 基因检测

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2022.22.027

**文章编号:**1673-4130(2022)22-2814-03

**中图法分类号:**A556.3+1

**文献标志码:**C

$\beta$ -地中海贫血(简称  $\beta$ -地贫)是我国南方地区常见的一种遗传性溶血性贫血病,临床表现为小细胞低色素性贫血。 $\beta$ -地贫是由于  $\beta$ -珠蛋白(HBB)基因突变导致  $\beta$ -珠蛋白肽链缺如( $\beta^0$ )或合成不足( $\beta^+$ )引起的常染色体隐性遗传病<sup>[1-2]</sup>。到目前为止,在人类血红蛋白(Hb)变异和地中海贫血数据库(HbVar: <https://globin.bx.psu.edu/>)中收录的  $\beta$ -地贫突变类型有 300 多种。不同地域和人群之间的  $\beta$ -地贫基因突变谱存在较大差异。目前在中国人群中已发现 129 种 HBB 基因点突变(含异常 Hb)和 16 种  $\beta$ -地贫缺失突变。其中 8 种突变(c.124\_127delTTCT、c.52A>T、c.316-197C>T、c.-78A>G、c.216\_217insA、c.79G>A、c.92+1G>T、c.-79A>G)占中国人  $\beta$ -地贫突变总体的 95% 以上<sup>[3]</sup>。随着测序技术在临床上的广泛运用,一些罕见突变类型也不断被发现,为临床遗传咨询和产前诊断提供了更多的依据<sup>[4-5]</sup>。本研究发现了 2 例罕见 IVS II-705(T>G)  $\beta$ -地贫携带者,现对其临床表型及基因型进行分析。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2 例患儿之间无血缘关系,患儿 1 为女性,年龄 10 个月;患儿 2 为男性,2 岁。患儿在贵州省人民医院血常规检测时发现有小细胞低色素贫血表现,Hb 电泳发现 HbA<sub>2</sub> 升高,需进一步做  $\beta$ -地贫基因检测。经家属知情同意后抽取乙二胺四乙酸二钾抗凝外周静脉血 2 mL。

**1.2 主要仪器与试剂** Sysmex XN-9000 全自动血细胞分析仪及配套试剂;法国 Sebia 毛细管电泳仪及配套试剂;天隆 NP968 核酸自动提取仪,E-Cycler TM 96 PCR 扩增仪; $\beta$ -地贫基因突变检测试剂盒由凯普生物科技有限公司提供。

## 1.3 方法

**1.3.1 血液学检测** 在仪器最佳状态下检测标本,

严格按照操作程序检测红细胞计数(RBC)、Hb 水平、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞体积分布宽度的标准差(RDW-SD)等红细胞参数。采用 Sebia 毛细管电泳仪检测 HbA、HbA<sub>2</sub>、HbF 等 Hb 成分的相对水平。

**1.3.2  $\beta$ -地贫基因检测** 采用 PCR 结合反向点杂交(RBD-PCR)技术<sup>[6]</sup>,检测 17 种 HBB 基因点突变,依次为 CD41-42(-TCTT)、IVS-II-654(C>T)、CD17(A>T)、-28(A>G)、CD26(G>A)、CD71-72(+A)、CD43(G>T)、-29(A>G)、Int(T>G)、CD14-15(+G)、CD27-28(+C)、-32(C>A)、-30(T>C)、IVS-I-1(G>T)、IVS-I-5(G>C)、CD31(-C)、CAP+40-+43(-AAAC)。对罕见  $\beta$ -地贫基因突变类型,应用 PCR 技术扩增 HBB 基因全长,引物序列为 F:5'-ACGGCTGTCATCACTTAGAC-3',R:5'-CTCCCA-CATTCCCTTTTATAG-3'。扩增产物送至上海生物工程有限公司进行双向测序,测序结果与 GeneBank 上的 HBB 基因参考序列进行比对分析,查找是否存在其他罕见突变类型。

## 2 结果

**2.1 血液学检测结果** 2 例患儿的血液学检测结果均为轻度小细胞低色素贫血,MCV、MCH 降低,血红蛋白电泳 HbA<sub>2</sub> 水平升高,HbF 水平轻度升高,提示为轻型  $\beta$ -地贫(携带者)。见表 1。

**2.2 基因检测结果** 2 例患儿均未检出 17 种中国人群常见的  $\beta$ -地贫基因突变类型。经 HBB 基因序列分析,发现 2 例患儿均为 HBB 基因 IVS II-705(T>G)杂合突变,国际命名法(HGVS name)为 HBB:c.316-146T>G。该突变为 HBB 基因第二个内含子的 705 号碱基 T 突变为 G,为致病性突变,临床表型为  $\beta^+$ 。见图 1。

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(81960040)。

△ 通信作者,E-mail:359149882@qq.com。

表 1 2 例患儿的血液学表型结果

| 编号   | RBC<br>( $\times 10^{12}/L$ ) | Hb<br>(g/L) | MCV<br>(fL) | MCH<br>(pg) | MCHC<br>(g/L) | RDW-SD<br>(fL) | HbA<br>(%) | HbA <sub>2</sub><br>(%) | HbF<br>(%) |
|------|-------------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|----------------|------------|-------------------------|------------|
| 患儿 1 | 5.13                          | 90.0        | 54.79       | 17.5        | 319.0         | 33.4           | 89.7       | 5.0                     | 5.3        |
| 患儿 2 | 6.42                          | 96.0        | 57.90       | 18.2        | 314.0         | 35.8           | 87.9       | 5.3                     | 6.8        |

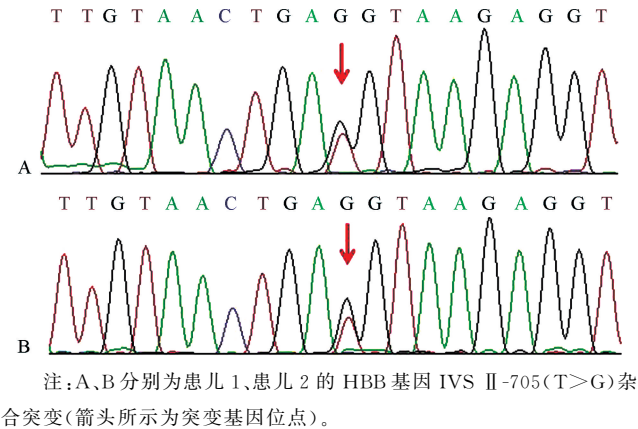


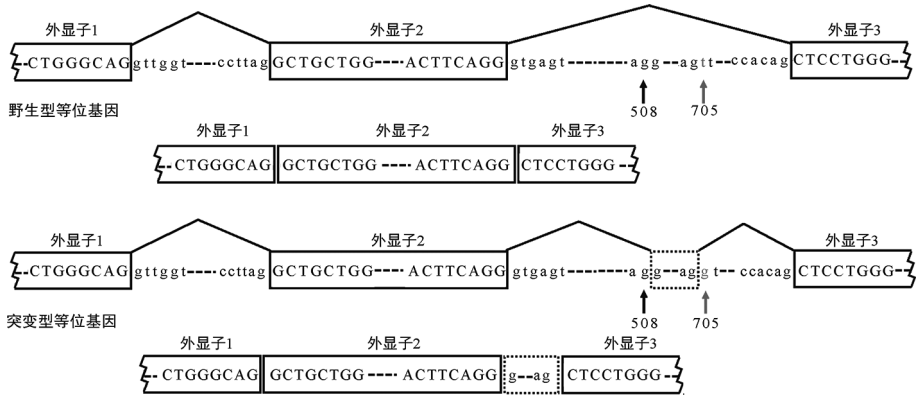
图 1 2 例患儿 HBB 基因测序结果

3 讨 论

$\beta$ -地贫是一种遗传异质性较大的溶血性贫血病，已发现的 HBB 基因突变类型有 800 多种，其中致病性突变有 300 多种。不同地域和人群的  $\beta$ -地贫基因突变谱存在较大差异。尽管我国南方地区常见  $\beta$ -地贫基因突变类型基本一致，但不同地区最常见的突变类型有所不同，如广东、广西以 CD41-42(-TCTT)最为常见，福建、江西以 IVS-II-654(C>T)最为常见，贵州、重庆以 CD17(A>T)最为常见，云南以 CD26(G>A)最为常见<sup>[7]</sup>。目前国内临床实验室常用  $\beta$ -地贫基因检测方法可检出中国人群常见的 17 种突变类型，但不能检测到罕见的突变类型，在临床应用上具

有一定的局限性。  
本研究中的 2 例患儿均表现为轻度小细胞低色素性贫血，且 Hb 电泳 HbA<sub>2</sub> 升高，为典型的轻型  $\beta$ -地贫表型。采用常用的  $\beta$ -地贫基因检测方法未检测出中国人群常见的 17 种突变类型，考虑可能存在罕见  $\beta$ -地贫基因类型。采用 Sanger 测序发现 2 例患儿均为 HBB 基因 IVS II-705(T>G)杂合携带者。在 HbVar 数据库的收录信息显示为致病性突变，临床表型为  $\beta^+$ 。2 例患儿的基因型与表型一致，诊断轻型  $\beta$ -地贫明确。

IVS II-705(T>G)是一种非常罕见的  $\beta$ -地贫基因突变类型，最早是由美国学者 MAQUAT 等<sup>[8]</sup>于 1980 年报道。随后，DOBKIN 等<sup>[9]</sup>研究发现，IVS II-705(T>G)突变导致了在 HBB 基因 IVS II 内产生了一个新的功能性的 5'剪接位点 GAG GTA AGA，与 IVS II 正常的 3'剪接受体之间产一个潜在的剪接体。同时，IVS II-705(T>G)突变还激活了 IVSII 第 508 位潜在的 3'剪接受体，与 IVS II 正常的 5'剪接供体之间产异常剪接。因此，IVS II-705(T>G)突变阻止了 IVS II 正常的 5'剪接位点与 3'剪接受体之间的剪接，从而形成异常的 HBB 基因 mRNA 剪接体（见图 2）。



注：标识 508 的箭头为 IVS II-508 位点，潜在的 3'剪接受体；标识 705 的箭头为 IVS II-705(T>G)突变位点，产生 5'剪接位点。

图 2 IVS II-705(T>G)突变引起异常剪接示意图

国内外对 IVS II-705(T>G)突变位点的报道很少。国内仅 JIANG 等<sup>[10]</sup>在广东的一个家系中发现 2

例 IVS II-705(T>G)杂合携带者，红细胞参数均表现为 MCV、MCH 降低，HbA<sub>2</sub> 升高，其中 1 例有轻度

贫血。MURAD 等<sup>[11]</sup>在一个叙利亚家系中发现 2 例 IVS-Ⅰ-1(G>A)/IVS-Ⅱ-705(T>G)复合杂合患者,临床表现为重型 β-地贫,Hb 分别为 46 g/L 和 52 g/L。本研究发现的 2 例 IVS Ⅱ-705(T>G)杂合携带者均表现为轻度小细胞低色素贫血。因此,IVS Ⅱ-705(T>G)突变携带者临床上表现为轻型 β-地贫,多数有轻度贫血。当 IVS Ⅱ-705(T>G)突变合并有其他 β-地贫基因突变位点时,可表现为重型或中间型 β-地贫。其他人群中尚未见该突变位点报道。本研究在贵州地区发现较罕见的 IVS Ⅱ-705(T>G)突变。

IVS Ⅱ-705(T>G)突变位点不在常规实验室 β-地贫基因突变检测的位点范围内,容易造成漏诊。为提高 β-地贫基因突变检测的灵敏度,需要结合患者的血液学表型和基因型进行综合分析。经血液学表型检查提示为 β-地贫,但常规方法检测为阴性的样本,需要进一步采用 Sange 测序和 MLPA 技术等二线技术检测罕见的 HBB 基因点突变和大片段缺失突变。此外,有条件的实验室也可采用二代测序(NGS)技术直接检测 β-地贫基因突变。有研究报道 NGS 可将地中海贫血高风险夫妇基因突变的检出率提高到 23.2%<sup>[12-13]</sup>。尽管 NGS 检测 β-地贫基因的灵敏度很高,尤其是提高了罕见突变类型的检测率,但仍存在一些不能检出的位点。由于检测过程中还存在其他影响因素,任何一种检测方法均存在假阴性的可能。因此,临床上仍然要重视 β-地贫表型分析,当表型与基因型不一致时,需要重新检测或采用多种方法联合检测以避免假阴性的发生。

参考文献

[1] SHANG X,XU X. Update in the genetics of thalassemia: what clinicians need to know[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol,2017,39(2):3-15.

[2] METTANANDA S,HIGGS D R. Molecular basis and genetic modifiers of thalassemia[J]. Hematol Oncol Clin North Am,2018,32(2):177-191.

[3] 商璇,吴学东,张新华,等. β-地中海贫血的临床实践指南[J]. 中华医学遗传学杂志,2020,(3):243-251.

[4] ZHONG L,WANG Y,LIN W, et al. Prenatal genetic

counseling in a Chinese pregnant woman with rare thalassemia:a case report[J]. Front Genet,2021,12:670168.

[5] MUNKONGDEE T,CHEN P,WINICHAGOON P, et al. Update in laboratory diagnosis of thalassemia[J]. Front Mol Biosci,2020,7(1):74.

[6] HAN W,HUANG L,LI Y, et al. Reference intervals for HbA<sub>2</sub> and HbF and cut-off value of HbA<sub>2</sub> for β-thalassemia carrier screening in a Guizhou population of reproductive age[J]. Clin Biochem,2019,65(1):24-28.

[7] HUANG S W,LIU X M,LI G F, et al. Spectrum of β-thalassemia mutations in Guizhou Province,PR China,including first observation of codon 121 (GAA>TAA) in Chinese population[J]. Clin Biochem,2013,46(18):1865-1868.

[8] MAQUAT L E,KINNIBURGH A J,Beach L R, et al. Processing of human beta-globin mRNA precursor to mRNA is defective in three patients with beta+-thalassemia[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,1980,77(7):4287-4291.

[9] DOBKIN C,PERGOLIZZI R G,BAHRE P, et al. Abnormal splice in a mutant human beta-globin gene not at the site of a mutation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,1983,80(5):1184-1188.

[10] JIANG F,CHEN G,ZHOU J, et al. First report of the rare IVS-Ⅱ-705 ( T > G ) β-thalassemia mutation in a Chinese family[J]. Hemoglobin,2017,41(4/6):286-287.

[11] MURAD H,MOASSAS F. First report on the coinheritance of α-thalassemia and a rare β-thalassemia compound heterozygosity for the IVS-Ⅰ-1 ( G > A )/IVS-Ⅱ-705 ( T > G ) mutations in a Syrian family[J]. Hemoglobin,2019,43(1):66-68.

[12] SHANG X,PENG Z,YE Y, et al. Rapid targeted next-generation sequencing platform for molecular screening and clinical genotyping in subjects with hemoglobinopathies[J]. EBioMedicine,2017,23:150-159.

[13] HE J,SONG W,YANG J, et al. Next-generation sequencing improves thalassemia carrier screening among premarital adults in a high prevalence population; the Dai nationality, China[J]. Genet Med,2017,19(9):1022-1031.

(收稿日期:2021-12-26 修回日期:2022-08-11)