

罕见β-地中海贫血CD5(-CT)21例分析

刘莉莉¹, 葛毅媛², 赖柏如¹, 杨立业¹

(1. 广东省阳江市人民医院精准医学检测中心, 阳江 529500; 2. 广州凯普医药科技有限公司, 广州 510700)

摘要 **目的:**分析罕见β-地中海贫血(简称β-地贫)CD5(-CT)(*HBB*: c.17_18delCT)携带者的基因型和血液学特征。**方法:**采用基因测序方法检测罕见β-地贫基因型,并对其血液学数据进行回顾性分析。**结果:**DNA测序检出21例罕见β-地贫基因CD5(-CT)携带者,其中女10例,男11例,36 d~38岁,主要居住在中国西南地区(云南和贵州);14例有血常规结果,平均红细胞体积(MCV)为(66.16±6.57)fL, MCH为(20.30±1.67)pg;11例有血红蛋白(Hb)电泳结果,平均HbA₂为(5.30±0.40)%。单纯β-地贫基因CD5(-CT)携带者有19例,另外两例CD5(-CT)携带者分别合并α2珠蛋白基因IVS II-55 T>G (*HBA2*: c.300+55T>G)变异和新发α1珠蛋白基因CD83 CTG>GTG (*HBA1*: c.250C>G)突变。**结论:**罕见β-地贫基因CD5(-CT)的分布具有区域性,且血液学特征符合β⁰地贫表型。

关键词 罕见突变;β-地中海贫血;CD5(-CT);基因测序;新发突变

中图分类号:R556.61 文献标志码:A 文章编号:1005-930X(2024)12-1653-05

DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.12.010

Analysis of 21 cases of rare β-thalassemia CD5(-CT)

LIU Lili¹, GE Yiyuan², LAI Bairu¹, YANG Liye¹. (1. Precision Medicine Lab Center, People's Hospital of Yangjiang, Yangjiang 529500, China; 2. Guangzhou HybriBio Medical Technology Company, Guangzhou 510700, China)

Abstract **Objective:** To analyze the genotypes and hematological characteristics of individuals carrying the rare β-thalassemia CD5(-CT) (*HBB*: c.17_18delCT). **Methods:** Gene sequencing was employed to detect the rare β-thalassemia genotypes, followed by a retrospective analysis of their hematological data. **Results:** A total of 21 individuals were identified as carriers of the rare β-thalassemia gene CD5(-CT) through DNA sequencing. Among them, there were 10 females and 11 males, ranging in age from 36 days to 38 years, primarily residing in the southwestern region of China (Yunnan and Guizhou). Among these 21 cases, 14 cases had blood routine results. The average mean corpuscular volume (MCV) was (66.16±6.57) fL and the average mean corpuscular hemoglobin (MCH) was (20.30±1.67) pg. For 11 cases with hemoglobin (Hb) electrophoresis results, the average HbA₂ was (5.30±0.40)%. Furthermore, there were 19 simple carriers of β-thalassemia gene CD5(-CT), and two other CD5(-CT) carriers were combined with α2 globin gene IVS II-55 T>G (*HBA2*: c.300+55T>G) variation and a new α1 globin gene CD83 CTG>GTG (*HBA1*: c.250C>G) variation, respectively. **Conclusion:** The distribution of rare β-thalassemia gene CD5(-CT) exhibits regional specificity and hematological characteristics consistent with a β⁰-thalassemia phenotype.

Keywords rare mutation; β-thalassemia; CD5(-CT); gene sequencing; novel mutation

地中海贫血(简称地贫)是世界上最常见的遗传血液疾病之一,β-地中海贫血(β-地贫)是地贫的主要类型,主要是由于β珠蛋白基因突变引起的^[1]。据报道,全球β基因突变已发现889种([http:// glob-](http://globin.cse.psu.edu/)

[bin.cse.psu.edu/](http://globin.cse.psu.edu/)),在我国已发现突变超过60种^[2]。全球约1.5%的人口携带杂合状态β珠蛋白基因(*HBB*)突变^[3],β-地贫在全球范围内广泛分布,地中海沿岸国家及东南亚地区为高发区^[4]。在中国主要

[基金项目] 阳江市高水平重点医疗卫生科研项目(No.2023001)

[通信作者] 杨立业, E-mail: yangleeyee@sina.com

[收稿日期] 2024-07-19

分布在南方沿海地区和西南部地区,如广东、广西、海南、云南等省份^[5]。我国人群的 β -地贫突变谱是由占绝大多数的常见突变和少量的罕见突变组成,其中罕见 β -地贫基因类型有 CD 27/28(+C)、IVS- I -1(G>T)、Hb New York [β 113(G15)Val \rightarrow Glu, GTG>GAG]、Hb D-Los Angeles [β 121(GH4)Glu \rightarrow Gln, GAA>CAA]、CD5(-CT)等^[6]。这些罕见突变虽然携带率低,但是由于我国庞大的人口规模,仍然有相当数量的携带者及患者。本研究旨在分析罕见 β -地贫基因型,进一步了解地贫的多样性和复杂性,对于高发地区地贫的诊断和防控具有重要意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象 21例患者中,女10例,男11例,36 d~38岁,其中19例来自云南地区,1例来自湖北,1例来自贵州;血液学检查均符合小细胞低色素性 β -地贫特征,即平均红细胞体积(mean corpuscular volume, MCV)<80 fL、平均红细胞血红蛋白含量(mean corpuscular hemoglobin, MCH)<27 pg,和(或)血红蛋白A₂(HbA₂)>3.5%,而常规地贫基因检测为阴性,疑为罕见 β -地贫,行进一步基因检测。本研究已取得阳江市人民医院医学伦理委员会审核批准。

1.2 方法 地贫基因常规检测采用反向斑点杂交PCR技术(reverse-dot blot, RDB)检测 α 珠蛋白基因常见的3种缺失型突变($-\text{SEA}$ 、 $-\alpha^{3.7}$ 、 $-\alpha^{4.2}$)和3种点突变(WS、QS、CS)以及17种常见的 β 珠蛋白基因突变^[7]。可疑罕见地贫样本采用 Gap-PCR 技术检测 α 、 β 珠蛋白基因的罕见大片段缺失与重复,包括 THAI 缺失、FIL 缺失、45kb del、619 bp del、 $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}$ 、 $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}4.2}$ 、 $\gamma^+(\text{A}\gamma\delta\beta)0$ 、SEA-HPFH 等。采用 Sanger 测序技术和牛津纳米孔技术(Oxford Nanopore technology, ONT)第3代测序(third-generation sequencing, TGS)检测 α 、 β 珠蛋白基因的罕见点突变。引物、探针、测序方法见报道^[8-11]。测序结果经血红蛋白变异数据库(hemoglobin variation database, Hb-Var)和临床变异数据库(clinical variation database, ClinVar)等数据库进行查询,明确是否为罕见突变及其致病性。

2 结果

2.1 人口学数据与实验室数据 共检测出21例罕见 β -地贫基因 CD5(-CT)(*HBB*:c.17_18delCT)位点杂合突变,其中1例 CD5(-CT)携带者复合 $\alpha 1$ 基因 CD83 CTG>GTG(*HBA1*:c.250C>G)位点突变,另外1例复合 $\alpha 2$ 基因 IVS- II -55 T>G(*HBA2*:c.300+55T>G)位点突变,其余19例为单纯 β -地贫基因 CD5(-CT)携带者,具体见表1、表2。14例携带者 MCV 为(66.16 \pm 6.57)fL, MCH 为(20.30 \pm 1.67)pg; 11例接受血红蛋白(Hb)电泳检测, HbA 为(93.64 \pm 1.11)%, HbA₂ 为(5.30 \pm 0.40)%。与正常血液学参考值(MCH:27~34 pg, MCV:80~100 fL, HbA₂:2.5%~3.5%)相比, MCV 和 MCH 降低, HbA₂ 升高, 表现为明显的小细胞低色素 β -地贫特征。

由于临床数据的缺失,仅有3例样本有 Hb 结果,具体数值为86 g/L、100 g/L、144 g/L。但对患者的临床状态缺乏详细了解,因此不能完全排除地贫以外的贫血原因。两例 β -地贫基因 CD5(-CT)复合 α 基因突变病例中,1例合并 $\alpha 2$ 基因 IVS- II -55 T>G 位点突变, Hb 电泳显示 HbA₁ 为91.8%, HbA₂ 为5.2%, HbF 为3%。另一例合并 $\alpha 1$ 基因 CD 83 CTG>GTG 位点突变, MCV 为64.4 fL, MCH 为20.3 pg, 也表现为轻微 β -地贫特征。

2.2 特殊复合突变测序结果 21例样本均检出 β -地中海贫血 CD5(-CT)(*HBB*:c.17_18delCT)基因突变,其中有2例样本分别合并其他突变。数据库检索发现 CD5(-CT)为已知致病突变,临床表型为 β^0 。IVS- II -55 T>G(*HBA2*:c.300+55T>G)是 *HBA2* 基因位于第二内含子中的第55号核苷酸位置上的T碱基被G碱基替代, ClinVar 检索发现为良性改变。CD83 CTG>GTG(*HBA1*:c.250C>G)为新发突变, 血红蛋白亚基 alpha 1 基因编码序列的250号碱基C突变为G, 导致对应的编码氨基酸由亮氨酸L变为缬氨酸V, 数据库查询未见报道。2例特殊复合突变 Sanger 测序图见下图1。样本(病例18)第3代测序结果, 见图2。

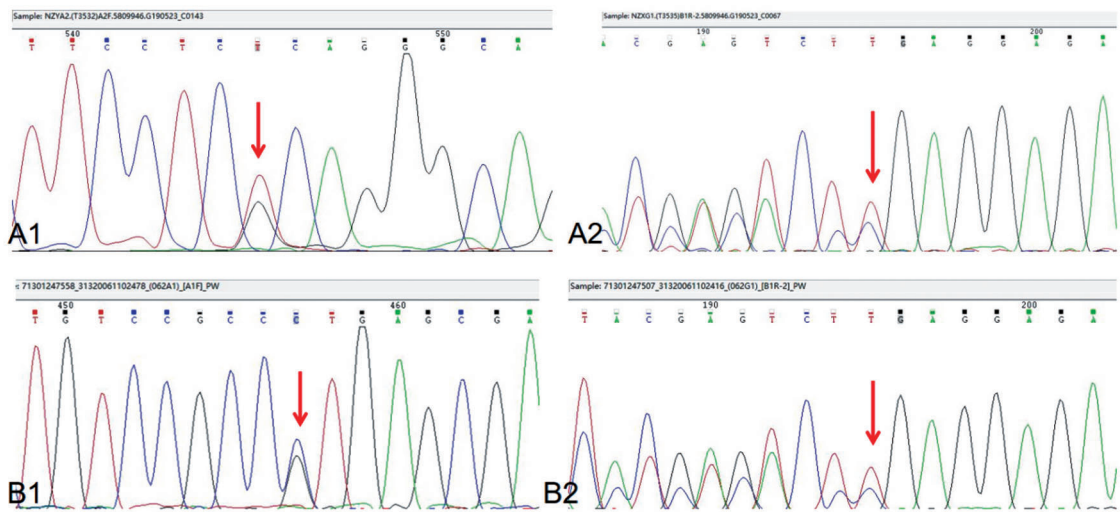
表1 14例携带者红细胞参数和基因型

病例序号	性别	年龄	Hb/(g/L)	MCV/fL	MCH/pg	α 基因型	β 基因型
1	男	7个月	-	54.9	17.5	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
2	男	6岁	100	58.9	18.8	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
3	男	31岁	144	60.2	19.6	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
4	女	6岁	-	61.1	17.9	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
5	女	33岁	-	61.4	19.4	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
6	男	38岁	-	62.0	21.1	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
7	女	27岁	-	64.6	20.3	αα/αα ^{CD83CTG>GTG}	β/β ^{CD5(-CT)}
8	女	29岁	-	65.3	20.0	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
9	女	37岁	-	65.8	20.9	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
10	女	36 d	-	65.9	20.0	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
11	女	30岁	-	67.5	21.2	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
12	女	22岁	-	72.3	22.5	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
13	女	35岁	86	81.1	23.6	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
14	男	28岁	-	85.2	21.4	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}

“-”表示没有数据。

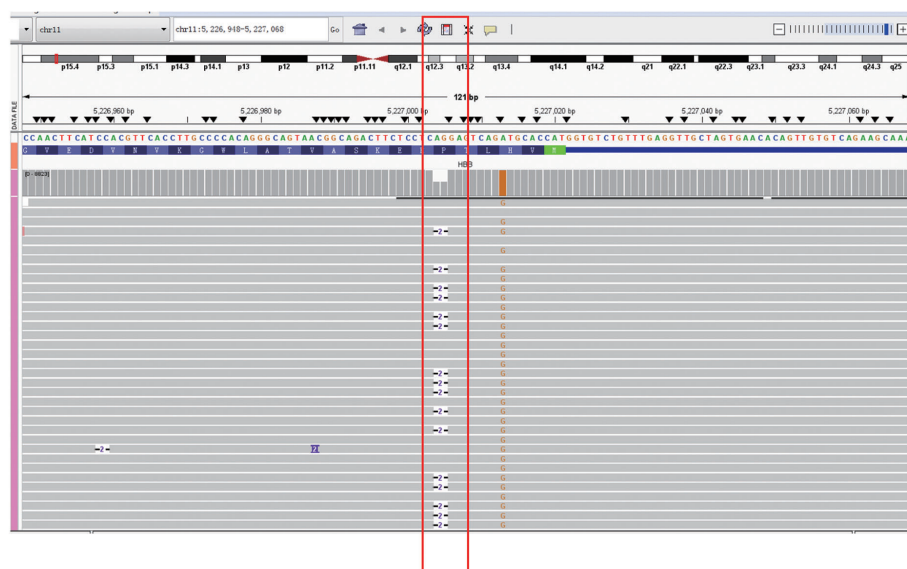
表2 11例携带者Hb电泳和基因型

病例序号	性别	年龄	HbA/%	HbA ₂ /%	HbF/%	α 基因型	β 基因型
10	女	36 d	91.9	4.6	3.5	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
15	男	31岁	94.6	4.9	0.5	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
14	男	28岁	94.9	5.1	0	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
3	男	31岁	94.4	5.2	0.4	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
16	男	29岁	91.8	5.2	3.0	αα/αα ^{IVS II-55 T>G}	β/β ^{CD5(-CT)}
17	男	25岁	94.4	5.2	0.4	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
18	男	26岁	94.5	5.2	0.3	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
19	男	38岁	94.3	5.4	0.3	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
20	男	27岁	93.1	5.7	1.2	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
2	男	6岁	92.8	5.8	1.4	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}
21	女	27岁	93.3	6.0	0.7	αα/αα	β/β ^{CD5(-CT)}



A1: *HBA2* 基因 IVS II-55 T>G; B1: *HBA1* 基因 CD83 CTG>GTG 杂合突变; A2、B2: *HBB* 基因 CD5(-CT)位点杂合突变 (箭头所示为突变基因位点)。

图1 罕见地中海贫血基因 Sanger 测序结果



红色框所示为CD5(-CT)杂合突变基因位点。

图2 罕见地中海贫血基因第3代测序结果

3 讨论

β -地贫是由Hb四聚体的 β 珠蛋白链合成减少(β^+)或缺失(β^0)引起的^[1]。临床上根据病情严重程度分为 β -地贫携带者、中间型和重型3种类型。 β -地贫携带者通常临床上是无症状的,其血液学特征是小细胞(红细胞体积减小)、HbA₂增加,略微不平衡的 $\alpha\beta+\gamma$ 珠蛋白链合成比率。 β -地贫的临床严重程度与 α 和非 α 珠蛋白链之间的不平衡程度有关^[12]。

CD5(-CT)(*HBB*:c.17_18delCT)是一种罕见的 β -地贫基因突变,1989年首次在1例患有输血依赖性地中海贫血的希腊患者中被报道,在密码子5处缺失CT双核苷酸导致在新的密码子21处形成异常终止密码子(TGA),从而完全抑制 β 珠蛋白链的合成^[13]。这种突变在地中海地区较常见,在西班牙、埃及、叙利亚和巴基斯坦等地有报道^[14-18]。然而,在亚洲人群中这种突变罕见^[8]。国内学者首次于云南地区观察到该突变^[6],近年在贵州人群中也发现^[19]。有学者认为这种罕见突变的存在可能是由于偶然的通婚或外来人口迁移引入的。CD5(-CT)已被报道为致病突变,临床表型为 β^0 地中海贫血。CD5(-CT)携带者的症状表现较轻,当与其他基因型合并时,临床表现可能会有所不同,患者可能会表现出更严重的贫血症状^[16,20]。

本研究共有21例 β -地贫CD5(-CT)携带者,年龄36 d~8岁,血液学结果显示19例携带者MCV和MCH均降低,以及HbA₂水平明显升高。值得注意

的是有2例CD5(-CT)携带者MCV值虽高于80 fL,但MCH仍保持在低水平,这与典型的 β -地贫表现型不完全一致,提示基因型与表现型之间可能存在的差异性,基因检测在临床应用中的复杂性和潜在风险。传统地贫基因检测(如Gap-PCR和PCR-RDB)可以检测临床绝大部分基因型,但是对于人群中偶发的或者罕见的地贫则无法检测。与传统的地贫检测方法相比,新一代测序技术具有更高的灵敏度和准确性,能够覆盖更多类型的基因突变,尤其是稀有且复杂的变异,从而显著提高了临床地贫的检出率^[21]。

本研究观察到有两例CD5(-CT)携带者复合 α 珠蛋白基因突变,但血液学特征也符合轻微 β -地贫特征。1例携带 $\alpha 2$ 珠蛋白基因IVS-II-55(T→G)突变,突变位于内含子区域。该突变位点在中国近年也有报道^[22],研究显示,单纯 $\alpha 2$ 珠蛋白基因IVS-II-55(T→G)携带者血液学表型正常,推测该突变不会对个体的临床表型产生影响,为非致病性突变位点,与数据库查询结果一致^[23]。同时,当患者同时携带该突变和 β -地贫时,其表型与单纯 β -地贫相似。还发现1例新发位点杂合突变CD83 CTG>GTG(*HBA1*:c.250C>G),该变异为错义突变,这个位置的编码的氨基酸由亮氨酸变成了缬氨酸,具体影响未查到相关文献报道。

此外,在临床实践中,初筛阳性、地贫基因检测结果阴性的人群中仍有一定比例罕见基因突变漏检现象^[24],因此为了提高地中海贫血的检出率,需

要结合其他血液学指标,如MCV、MCH以及HbA₂等综合分析。以往报道的CD5(-CT)病例数量较少,多为个案报道或小样本研究。本研究扩展了对CD5(-CT)罕见突变地贫的认识,丰富了中国人群该罕见突变地贫的基因谱及临床表型信息。

参考文献:

- [1] ALI S, MUMTAZ S, SHAKIR H A, et al. Current status of beta-thalassemia and its treatment strategies[J]. *Molecular genetics & genomic medicine*, 2021,9(12): e1788.
- [2] 杨 阳,张 杰.中国南方地区地中海贫血研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*,2017,25(1): 276-280.
- [3] CHASSANIDIS C, BOUTOU E, VOSKARIDOU E, et al. Development of a high-resolution melting approach for scanning beta globin gene point mutations in the greek and other mediterranean populations[J]. *PLoS one*, 2016, 11(6):e0157393.
- [4] 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: 25-26.
- [5] WANG W D, HU F, ZHOU D H, et al. Thalassaemia in China[J]. *Blood reviews*,2023,60:101074.
- [6] ZHANG J, ZHU B S, HE J, et al. The spectrum of α - and β -thalassemia mutations in Yunnan province of Southwestern China[J]. *Hemoglobin*, 2012, 36(5):464-473.
- [7] 林 芬,杨立业,林 敏,等.华南人群地中海贫血的罕见基因突变[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2017, 34(6):792-796.
- [8] SO C C, SO A C, CHAN A Y, et al. Detection and characterisation of beta-globin gene cluster deletions in Chinese using multiplex ligation-dependent probe amplification [J]. *Journal of clinical pathology*, 2009, 62(12):1107-1111.
- [9] SHANG X, LI Q, CAI R, et al. Molecular characterization and clinical presentation of HK $\alpha\alpha$ and anti-HK $\alpha\alpha$ alleles in southern Chinese subjects[J]. *Clinical genetics*, 2013, 83(5):472-476.
- [10] HUANG W, QU S, QIN Q, et al. Nanopore third-generation sequencing for comprehensive analysis of hemoglobinopathy variants[J]. *Clinical chemistry*, 2023, 69(9):1062-1071.
- [11] 曾广款,葛毅媛,马晓敏,等.中国罕见型地中海贫血HBB:c.93-21G>A突变5例[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2024, 41(10): 1171-1175.
- [12] CAO A, GALANELLO R. Beta-thalassemia[J]. *Genetics in medicine*, 2010, 12(2): 61-76.
- [13] KOLLIA P, GONZALEZ-REDONDO J M, STOMING T A, et al. Frameshift codon 5 [FSC-5 (-CT)] thalassemia: A novel mutation detected in a Greek patient[J]. *Hemoglobin*, 1989, 13(6): 597-604.
- [14] ROPERO P, VILLEGAS A, MARTI E, et al. The first case of beta-thalassemia by frameshift CD5 (-CT) mutation in Spain[J]. *Medicina clinica*, 1999, 112(14):556-557.
- [15] EL-SHABSHORY M, HAGAG A, SHEBL S, et al. Spectrum of beta globin gene mutations in egyptian children with β -thalassemia[J]. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, 2014, 6(1): e2014071.
- [16] MOASSAS F, NWEDER M S, MURAD H. Hb Knossos (HBB: c. 82G>T), β -globin CD 5 (-CT) (HBB: c. 17_18delCT) and δ -globin CD 59 (-a) (HBD: c. 179delA) mutations in a Syrian patient with β -thalassemia intermedia [J]. *BMC pediatrics*, 2019, 19(1):61.
- [17] REHMAN S U, SHAKEEL M, AZAM M, et al. Frequencies of beta thalassemia mutations show different pattern in Bannu region than other parts of Pashtun population in Khyber Pakhtunkhwa province Pakistan[J]. *Indian journal of hematology & blood transfusion*, 2021,37(3): 479-483.
- [18] JALIL T, YOUSAFZAI YM, RASHID I, et al. Mutational analysis of beta thalassaemia by multiplex ARMS-PCR in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan[J]. *Journal of Ayub medical college*, 2019,31(1): 98-103.
- [19] 吴 鹏,谢 丹,吴江芬,等.贵州地区15例罕见 β -地中海贫血携带者基因型及表型分析[J]. *中国医药导报*, 2023, 20(20): 97-100, 133.
- [20] GIORDANO P C, HARTEVELD C L, BOK L A, et al. A complex haemoglobinopathy diagnosis in a family with both beta zero- and alpha (zero/+)-thalassaemia homozygosity[J]. *European journal of human genetics*, 1999, 7(2): 163-168.
- [21] WU J, XIE D, WANG L, et al. Application of third-generation sequencing for genetic testing of thalassemia in Guizhou Province, Southwest China[J]. *Hematology*, 2022, 27(1): 1305-1311.
- [22] 曹鹏翔,陈良远,蒋丽莉,等.中国福州地区地中海贫血基因突变类型分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(3): 893-898.
- [23] 李育敏,陈亚琼,张水兰,等. $\alpha 2$ 珠蛋白基因突变IVS-II-55(T→G)的临床表型分析[J]. *临床检验杂志*, 2019, 37(2):105-108, 120.
- [24] 吕荣钰,文飞球,陈小文,等.常规基因检测阴性的地中海贫血疑似病例再行进一步基因检测仍有7%的阳性发现[J]. *中国循证儿科杂志*, 2014, 9(4): 274-277.

本文引用格式:

刘莉莉,葛毅媛,赖柏如,等.罕见 β -地中海贫血CD5(-CT)21例分析[J]. *广西医科大学学报*, 2024, 41(12): 1653-1657. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.12.010

LIU L L, GE Y Y, LAI B R, et al. Analysis of 21 cases of rare β -thalassemia CD5(-CT)[J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024, 41(12): 1653-1657. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.12.010