

程海灵,刘容容. 血红蛋白 H 病的治疗进展[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(12): 110–115.
Cheng HL, Liu RR. Progress in the treatment of hemoglobin H disease [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(12): 110–115.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019. 12. 017

血红蛋白 H 病的治疗进展

程海灵,刘容容*

(广西医科大学第一附属医院血液内科,南宁 530021)

【摘要】 α -地中海贫血是人类最常见的遗传性血红蛋白病,根据 α -基因缺陷的数目(1~4 个),可引起从无症状到致命性的疾病。当有 3 个 α -基因缺失或突变时,导致血红蛋白 H 病(HbH 病), α -珠蛋白与 β -珠蛋白比例失衡,引起红细胞无效生成和外周循环溶血,导致贫血、铁过载与脾肿大等,最终可导致一系列严重的并发症。HbH 病可分为缺失型与非缺失型,在我国最常见非缺失型是 Hb CS (Hemoglobin Constant Spring),非缺失型患者的症状往往更重。可以通过检测血红蛋白(Hb)、红细胞计数(RBC)、红细胞的平均体积(MCV)、平均血红蛋白浓度(MCH)及红细胞分布宽度(RDW)对 HbH 病患者进行筛查,通过基因分析可以确诊,早期的诊断,对于疾病的管理和预后有着重要的意义。HbH 病的治疗以预防和支持治疗为主,必要时进行输血、铁螯合治疗及脾切除治疗,实验证明中医治疗对 HbH 病有一定效果。

【关键词】 地中海贫血;血红蛋白 H 病;Hb CS

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 12-0110-06

Progress in the treatment of hemoglobin H disease

CHENG Hailing, LIU Rongrong*

(Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

【Abstract】 α -thalassemia is the most common human hereditary hemochromatosis, caused by mutations of one to all four of the α -globin genes. The severity of symptoms ranges from asymptomatic to fatal disease. Hemoglobin H disease (HbH disease) is caused by mutations affecting three α -globin genes, causing an imbalance of α -globin and β -globin, and result ing in ineffective erythropoiesis and peripheral hemolysis. This in turn causes anemia, iron overload and splenomegaly, ultimately leading to a variety of serious complications. HbH disease can be divided into deletional HbH disease and non-deletional HbH disease. Hemoglobin Constant Spring (Hb CS) is the primary type of non-deletional HbH disease in China, and clinical manifestations of non-deletional HbH disease are usually more severe. They can be diagnosed by DNA analysis, and early diagnosis is particularly important for optimal management and prognosis of HbH disease. At present, the treatment for HbH disease is primarily preventative and supportive. Blood transfusion, iron chelation and splenectomy can be used when necessary, and there are experimental data showing that treatment with Chinese medicine has a beneficial effect on HbH disease.

【Keywords】 α -thalassemia; hemoglobin H disease; Hb CS

α -地中海贫血(α -thalassemia, α -地贫)是所有遗传性血红蛋白病中最主要的类型,全球约有 5%的

【基金项目】 国家自然科学基金(81460025);国家自然科学基金(81700712);广西自然科学基金(2016GXNSFBA380059)。
【作者简介】 程海灵(1991—),女,硕士,主要从事地中海贫血治疗研究。E-mail: cheng_hai0@163.com
【通信作者】 刘容容(1979—),女,副教授,主要从事地中海贫血的机制及治疗研究。E-mail: rong2liu@hotmail.com

人口是 α -地贫的携带者,其中以非输血依赖型地中海贫血 (non-transfusion-dependent thalassemias, NTDT) 形式出生的 α -地贫患儿每年约有 10 000 例^[1],主要分布在从撒哈拉以南的非洲、地中海地区、印度次大陆、东亚和东南亚等地区^[2]。在我国则以南方地区多见,如广西、广东、四川、云南等,广西是地中海贫血的高发地区之一, α -地贫基因携带率高达 17.5%,居全国之首^[3]。由于人群中 α -地贫基因的高携带率,血红蛋白 H 病 (hemoglobin H disease, HbH 病) 在中国南方和东南亚非常普遍^[4-5]。在香港,每出生的 10 000 个婴儿中约有 6 个患 HbH 病,每年约有 48 个 HbH 病患儿出生^[6]。以上的一些数字仍有可能被低估,因为在一些地中海贫血流行的地区,关于地贫的流行病学研究尚有限^[7]。此外,由于全球人口的迁移及增长,HbH 病的受累人群也不断增多,随之所带来的健康和经济的负担也是日益加重,故现将 HbH 病的相关诊治进展进行如下综述。

1 血红蛋白 H 病的病理生理与临床表现

在 α -地贫中,位于 16 号染色体上的 α -基因缺失或突变引起 α -珠蛋白链合成减少从而导致血红蛋白 (Hemoglobin, Hb) 合成障碍,当仅有 1 个 α -基因缺失或突变时,这类患者通常无明显的症状;当有 2 个 α -基因缺失或突变时,患者可有轻度的小细胞低色素贫血,当有 3 个 α -基因缺失或突变,即 α -地贫的中间型,又称 HbH 病,此类型的患者可有轻度至中度的贫血。当 4 个 α -基因完全缺失则导致重型 α -地贫,又称 Hb Bart's 胎儿水肿综合征,胎儿多死于宫内或出生后短期内死亡^[8]。

HbH 病可分为缺失型 HbH 病与非缺失型 HbH 病。缺失型 HbH 病是由于缺失 3 个 α -基因 ($-\alpha$ -) 或 ($-\alpha$ - α), α -珠蛋白链合成不足所致。 α -珠蛋白含量通常低于正常水平的 30%^[9]。 α -与 β -珠蛋白链比例失衡,导致 β -珠蛋白链相对过剩,过剩的 β 链形成 β^4 四聚体,又称血红蛋白 H (HbH),HbH 有极高的氧亲和力,运输氧气能力却极弱^[8, 10]。因此,HbH 含量高的患者缺氧情况更严重。HbH 不稳定,被氧化后形成包涵体沉淀聚集于红细胞内,这是导致髓内红细胞生成无效的主要原因。此外,在外周循环的红细胞中,包涵体聚集附着在红细胞膜上并引起局部氧化损伤,导致细胞膜功能障碍、红细胞存活缩短和外周循环溶血^[8-9]。非缺失型 HbH 病

是两个 α -基因缺失与一个 α -基因突变相互作用的结果 ($-\alpha^T\alpha$ 或 $-\alpha\alpha^T$)。其往往有更严重的临床表现^[11]。这可能是由于大多数非缺失型 HbH 病的突变发生在 α_2 基因,而 α_2 基因所控制的 α -珠蛋白链的合成是其下游的 α_1 基因的 2~3 倍^[12-13]。突变后的 α_2 基因仍保持着正常的转录活性,但不能合成蛋白质产物,并且干扰了正常 α_1 基因的转录,导致正常 α -珠蛋白链合成更少^[14]。目前世界上已经发现的非缺失型 HbH 病的类型至少有 40 多种^[1],在我国最常见的是 Hb CS (Hemoglobin Constant Spring)。

缺失型 HbH 病患者通常不需要输血,然而,当出现感染、发热性疾病、摄入氧化性食物或药物、感染 B19 病毒、脾功能亢进和怀孕时,可引起急性溶血使 Hb 水平明显下降。缺失型 HbH 病患者的黄疸症状较轻,但在大量溶血期间会加重,约 38% 的患者有无症状的胆结石,大部分缺失型 HbH 病患者生长发育正常,生长迟缓的报道较少见^[13]。由于慢性贫血与组织缺氧使胃肠道对铁的吸收增加,随着时间的推移,部分患者会出现继发性铁过载,其它的并发症还包括:脾肿大、骨质疏松、肝部病变、血栓栓塞事件、腿部溃疡和肺动脉高压等等^[8, 15]。非缺失型 HbH 病的临床表现在个体间差异很大,甚至在基因型相同的患者间也如此^[13],与缺失型患者相比,非缺失型患者在早期就有更多的症状,他们的贫血和溶血表现更严重,生长迟缓、骨骼畸形,脾肿大、铁过载也更明显^[1, 10, 16-17]。一项关于 HbH 病的研究^[16]显示, Hb H-CS 病患者平均 Hb 水平较缺失型患者低,两都之间的差距随着年龄增长而变大, Hb H-CS 病患者有更高的网织红细胞数 (292200 vs 88200)、胆红素水平 (43.3 $\mu\text{mol/L}$ vs 9.6 $\mu\text{mol/L}$)、平均血红蛋白浓度 (MCH) (18.6 pg vs 16.6 pg) 及平均红细胞体积 (MCV) (65.2 fL vs 54.0 fL)。一项发布地中海贫血临床研究网站 (TCRN) 上的研究比较了 46 例 Hb H-CS 病与 106 例缺失 HbH 病患者的临床特征,结果显示:与缺失型患者相比,更多的 Hb H-CS 病患者需要输血治疗 (24% vs 2%),出现脾肿大 (13% vs 1%) 和需要进行脾切除治疗 (13% vs 2%)^[9]。

2 血红蛋白 H 病的筛查与诊断

为了避免出现重型 α -地贫患儿,减轻地贫对一个家庭的经济和健康的负担,建议对所有患有 HbH 病的新生儿进行地贫的家庭检查^[9]。对于接近或

处于生育年龄的 HbH 患者,其伴侣也应该进行筛查^[8]。Hb、红细胞计数 (red blood cell counts, RBC)、红细胞的平均体积 (mean corpuscular volume, MCV)、平均血红蛋白浓度 (mean corpuscular haemoglobin, MCH) 及红细胞分布宽度 (red cell distribution width, RDW) 是筛查的重要指标,地中海贫血患者通常有 Hb、MCV、MCH 值降低, RDW 值升高^[18]。当患者有贫血, MCV < 80 fl 和 MCH < 27 pg 时,且血清铁蛋白 > 12 ng/mL,应该考虑地中海贫血的可能^[18]。对于来自于地贫高发地区且家族有地贫遗传病史的患者,应高度怀疑并行进一步检查^[19]。HbH 病患者,利用电泳法、等电聚焦 (isoelectric focusing, IEF) 或高效液相色谱法 (high-performance liquid chromatography, HPLC) 对 HbH、HbA₂、HbBart (γ_4) 进行定量分析,可检测出 HbH 升高达 5%~30%,但其 HbA₂ 下降至 1.0%到 2.0%之间, HbBart 在新生儿出生时可高达 20%~40%^[8]。由于 HbH 不稳定,因此检测最好在新鲜标本上进行。此外,还应注意的是:当 HbH 病合并其他血红蛋白病时,比如: β -地中海贫血 (β -thalassemia, β -地贫)、Hb S、Hb C 或 Hb E 等, HbH 含量将会减少,这可能会干扰 HbH 病的诊断^[8]。利用亚甲基蓝或亮甲酚蓝对 HbH 病的患者的红细胞进行染色,可以显微镜下观察到 HbH 包涵体^[13]。Hb H-CS 病患者通过血红蛋白电泳分析通常可以发现 Hb CS。最后可通过地贫基因分析确诊。

对于夫妇双方都是 HbH 病的患者,则在每次妊娠中,胎儿可能患 HbH 病的风险为 50%,患 Hb Bart's 胎儿水肿综合征的风险为 25%,因此必要时应行产前诊断,目前通常采用绒毛取样法 (CVS) 在妊娠 9~12 周对胎儿进行 DNA 分析,或在妊娠 16~18 周进行羊膜穿刺术。一般来说,产前诊断具有很高的准确性和特异性。然而这些侵入性检查,也带来相关风险, CVS 和羊膜穿刺术流产的风险分别为 1%~2% 和 0.5%~1.0%^[20-21]。最近,利用孕妇血浆中的胎儿 DNA 做产前诊断的研究也取得了一定的进展,这为今后的无创产前诊断提供了一种新的途径^[22-23]。早期的诊断,对于疾病的管理和预后有着重要的意义^[24]。

3 血红蛋白 H 病的治疗

目前 HbH 病的治疗以预防和支持治疗为主,必要时进行输血、铁螯合治疗及脾切除治疗,有临床

研究证明中医治疗对 HbH 病有一定效果^[25-26]。

3.1 预防和支持治疗

为了预防急性溶血和减少其它相关并发症的发生, HbH 病患者应避免使用氧化性药物,避免过度劳累与感染,出现感染应及时治疗,避免高铁饮食及不必要的补铁治疗,同时还应该监测体内铁的水平,肝、脾大小,骨密度与是否存在严重的胆囊结石等,对于儿童患者,还应监测其生长发育的情况^[8-9,13]。由于 HbH 病患者溶血及造血活跃,一般建议补充造血原料 (叶酸及维生素 B12),尤其是儿童与孕妇。

急性感染或发热可能会导致 HbH 病患者出现溶血危象, Hb 水平可能会在短时间内迅速下降,这是一个需要紧急处理的并发症,当并发溶血性危象时:(1)应尽快予输血使患者血红蛋白恢复至 8~9 g/dL,输血期间应该密切监测体液总量和心血管状况;(2)通过静脉输液予充分水化,但应避免过量补液导致的容量超负荷性心衰;(3)纠正电解质紊乱;(4)各种方法控制体温;(5)积极寻找溶血的病因^[13,27]。

3.2 输血治疗

缺失型 HbH 病患者通常有贫血,但一般情况下不需要输血。然而,当出现以下情况时,应予输血治疗:(1)感染、发热等引起严重的急性溶血;(2)儿童和青少年生长发育不良;(3)严重的骨骼改变或畸形;(4)由于贫血出现明显的疲乏和运动耐量减低时^[28]。值得注意的是, HbH 病患者妊娠期贫血的严重程度通常会增加,可能与血容量扩大有关^[8]。非缺失型 HbH 病患者的贫血较重,一部分甚至需要定期输血以维持生存。输血治疗可以为患者提供正常的红细胞,平衡体内的溶血性贫血,抑制无效的红细胞生成^[7,29-31]。有研究认为,间歇性或定期接受输血治疗的患者出现的临床并发症较少,因为很多并发症通常与慢性贫血相关,但相对的,他们更容易出现铁过载与内分泌疾病^[32-33]。Taher 等^[34]建议将 NTDT 患者的 Hb 水平应维持在 90 g/L 以上,以减少并发症的发生。应该注意的是,对于微量输血、首次接受输血、脾切后和妊娠期间的患者,输血免疫反应的风险较高^[35]。

3.3 铁螯合治疗

HbH 患者的铁过载主要是由于胃肠道对铁的吸收增加所致,由于机体的排铁功能有限,过量的铁可沉积在脏器中,尤其是肝脏。血清铁蛋白水平

主要与年龄相关,随着年龄增加而明显升高,肝铁含量也随血清铁蛋白的升高而增加。过量饮酒也是铁过载的一个危险因素^[36]。有报道认为,血清铁蛋白 (serum ferritin, SF) 可能会低估 NTDT 患者铁过载的严重程度,部分患者虽然血清铁蛋白水平较低,但仍出现了广泛的肝铁沉积^[16,37-38]。通过磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 测定肝铁浓度 (liver iron concentration, LIC) 评估肝铁沉积情况,可靠且无创,在临床上已被广泛应用。有文献建议 NTDT 患者 6 岁以后应进行铁过载指标监测,每 3 个月检测 SF,每 1~2 年应用 MRI 评估 LIC,对重度铁过载的成年患者还应进行 MRI 心铁浓度监测^[28]。当 NTDT 患者 $SF \geq 800 \mu\text{g/L}$ 或 $LIC > 5 \text{ mg Fe/g}$ 干重时,铁过载相关并发症的风险升高,而当 $SF < 300 \mu\text{g/L}$ 或 $LIC < 3 \text{ mg Fe/g}$ 干重时风险显著下降^[39-40],因此,建议 10 岁以上的 NTDT 患者 (15 岁以上的缺失型 HbH 病患者) 有 $SF \geq 800 \mu\text{g/L}$ 或 $LIC > 5 \text{ mg Fe/g}$ 干重时,开始进行铁螯合治疗^[41]。当 $SF < 300 \mu\text{g/L}$ 或 $LIC < 3 \text{ mg Fe/g}$ 干重时,可停止铁螯合治疗。有效的铁螯合治疗可以使血清铁蛋白维持在相对安全的水平,从而减少因铁过载而引起的临床并发症^[32]。目前临床上应用的去铁剂有:去铁胺 (desferrioxamine, DFO)、去铁酮 (deferiprone, DFP) 和地拉罗司 (deferasirox, DFX)。

3.4 切脾治疗

无论是否接受输血治疗,随着时间的推移,HbH 病患者通常会出现脾大,这反过来又导致贫血加重。重度脾肿大的患者,有左上腹痛和腹胀等症状,发生脾破裂的风险较高。脾切除可以通过减少红细胞在外周循环的清除来延长红细胞的寿命,从而减少输血需求,在巨脾和脾功能亢进的患者中,脾切除可明显改善 HbH 患者的血液学指标和贫血的症状 (可将 Hb 水平提高约 $1 \sim 2 \text{ g/dL}$)^[9,41],但术后并发症包括败血症、深静脉血栓形成和肺栓塞等^[9,42-43]。OPTIMAL CARE 研究结果显示,在 NTDT 患者中,脾切除与血栓栓塞,肺动脉高压 (pulmonary hypertension, PHT),心力衰竭和腿部溃疡的发生率之间存在独立关联^[32]。同时脾切除也会增加感染的风险,特别是在年轻的患者中^[24,44]。脾切除患者铁过载相关并发症的发生率也更高^[32]。这可能与清除非转铁蛋白结合铁的能力降低有关^[45]。因此,脾切除应作为一个非常谨慎的选择,当有以下情形时才考虑行脾切除术:1.持续加重的

贫血导致生长发育不良,且无法进行输血或铁螯合治疗时;2.脾大导致贫血,白细胞减少或血小板减少,并因此出现反复的感染或出血;3.脾肿大伴有左上腹痛或腹胀等症状,或巨脾并有脾破裂的风险时^[13,46-47]。有胆石症的患者,一般在行脾切术的同时切除胆囊。对于脾切除术后血小板增多症的患者,建议使用阿司匹林预防血栓事件^[13]。阿司匹林可以降低有过血栓事件病史的患者的复发风险^[48]。

3.5 中医药治疗

益髓生血颗粒是具有自主知识产权的第一个治疗地贫有效中药制剂,由山茱萸、制首乌、熟地黄、炙黄芪、补骨脂、党参、鳖甲等 11 味中药组成。吴志奎课题组^[25-26]通过用中药益髓生血颗粒治疗 HbH 病的临床研究发现,益髓生血颗粒可提高 HbH 病患者 Hb、RBC 水平,同时能改善患者面色萎黄、头晕目眩、心慌心悸、动则气喘、潮热盗汗、口咽干燥、腰膝酸软的中医症候,其疗效生物学机制可能与改善患者抗氧化损伤能力,提高机体造血细胞因子的活性水平有关。

3.6 其它治疗方法

α -血红蛋白稳定蛋白 (α -hemoglobin-stabilizing protein, AHSP) 是一种可以稳定游离的 α -珠蛋白的分子伴侣。AHSP 通过减少过剩的游离 α -珠蛋白链的对红细胞的毒性作用,从而改善 β -地贫的临床表现^[49]。一项对 HbH 病患者的研究发现, AHSP 基因的表达与 α -珠蛋白基因的表达及疾病的严重程度呈正相关。因此,增强 AHSP 表达可能成为治疗 HbH 病的新方法^[50]。Hepcidin 是铁过载的关键环节,多项动物实验通过刺激其表达增加或抑制其信号传导的负调节因子及使用与其具有相似生物效应的分子替代来治疗铁过载,最终均减轻了小鼠铁过载情况^[51-54]。一项以 β -地贫小鼠 ($Hbb^{th1/th1}$) 为研究对象的实验证明,体内注射转铁蛋白可明显改善地贫小鼠的铁过载、贫血和脾肿大的症状,表现为 hepcidin 表达增加, Hb 水平上升,网织红细胞数量减少等,且未见不良反应^[55]。这些都为铁过载的治疗带来了新的希望。Casu 等^[56]证明短效果 JAK2 抑制剂可减轻地贫小鼠的无效红细胞生成和脾肿大,这有望成为能替代脾切除的治疗方法。在基因治疗方面,通过基因编辑、RNA 干扰、表观遗传靶向药物下调 β -地贫的 α -珠蛋白均已得到了可喜的进展^[57],然而,在 α -地贫,尤其是 HbH 病的研究仍非常有限。

4 总结

我国南方是 HbH 病的高发区之一,随着人们对 HbH 病关注度的增加,我们发现 HbH 病的临床表现并不仅仅局限于贫血与铁过载,它还可能导 致生长发育不良、溶血危象、脾肿大、肝及心功能障碍、内分泌疾病等,这些在非缺失型 HbH 病患者中更常见^[8,13]。目前对 HbH 病的治疗方法十分有限,我们对 HbH 病及其相关并发症的致病机制的研究和理 解,有利于帮助患者及早预防或减少相关并发症的 发生,提高他们的生存质量及在未来开辟新治疗的 途径。

参考文献:

- [1] Vichinsky E. Complexity of alpha thalassemia: growing health problem with new approaches to screening, diagnosis, and therapy [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1202: 180-187.
- [2] Weatherall D, Clegg J. The thalassemia syndromes [M]. 4th ed. Oxford: Blackwell Science, 2001.
- [3] Xiong F, Sun M, Zhang X, et al. Molecular epidemiological survey of haemoglobinopathies in the Guangxi Zhuang Autonomous Region of southern China [J]. *Clin Genet*, 2010, 78(2): 139-148.
- [4] Chui DH, Waye JS. Hydrops fetalis caused by alpha-thalassemia: an emerging health care problem [J]. *Blood*, 1998, 91(7): 2213-2222.
- [5] Lau YL, Chan LC, Chan YY, et al. Prevalence and genotypes of alpha- and beta-thalassemia carriers in Hong Kong — implications for population screening [J]. *N Engl J Med*, 1997, 336(18): 1298-1301.
- [6] Chen FE, Ooi C, Ha SY, et al. Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in Chinese patients [J]. *N Engl J Med*, 2000, 343(8): 544-550.
- [7] Taher AT, Cappellini MD. Management of non-transfusion-dependent thalassemia: a practical guide [J]. *Drugs*, 2014, 74(15): 1719-1729.
- [8] Chui DH, Fucharoen S, and Chan V. Hemoglobin H disease: not necessarily a benign disorder [J]. *Blood*, 2003, 101(3): 791-800.
- [9] Vichinsky E. Advances in the treatment of alpha-thalassemia [J]. *Blood Rev*, 2012, 26(1): 31-34.
- [10] Piel FB, Weatherall DJ. The α -thalassemias [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(20): 1908-1916.
- [11] Kattamis C, Tzotzos S, Kanavakis E, et al. Correlation of clinical phenotype to genotype in haemoglobin H disease [J]. *Lancet*, 1988, 1(8583): 442-444.
- [12] Liebhaber SA, Cash FE, and Ballas SK. Human alpha-globin gene expression. The dominant role of the alpha 2-locus in mRNA and protein synthesis [J]. *J Biol Chem*, 1986, 261(32): 15327

-15333.

- [13] Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2009, 1: 26-34.
- [14] Weatherall D. The molecular basis for phenotypic variability of the common thalassaemias [J]. *Mol Med Today*, 1995, 1(1): 15-20.
- [15] Sheeran C, Weekes K, Shaw J, et al. Complications of HbH disease in adulthood [J]. *Br J Haematol*, 2014, 167(1): 136-139.
- [16] Lal A, Goldrich ML, Haines DA, et al. Heterogeneity of hemoglobin H disease in childhood [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(8): 710-718.
- [17] Laosombat V, Viprakasit V, Chotsampancharoen T, et al. Clinical features and molecular analysis in Thai patients with HbH disease [J]. *Ann Hematol*, 2009, 88(12): 1185-1192.
- [18] Risoluti R, Materazzi S, Sorrentino F, et al. Update on thalassemia diagnosis: New insights and methods [J]. *Talanta*, 2018, 183: 216-222.
- [19] Rachmilewitz EA, Giardina PJ. How I treat thalassemia [J]. *Blood*, 2011, 118(13): 3479-3488.
- [20] Leschot NJ, Verjaal M, and Treffers PE. Risks of midtrimester amniocentesis; assessment in 3000 pregnancies [J]. *Br J Obstet Gynaecol*, 1985, 92(8): 804-807.
- [21] Dosoretz AP, Lester-Coll NH, Yu JB. Multicentre randomised clinical trial of chorion villus sampling and amniocentesis. First report. Canadian Collaborative CVS-Amniocentesis Clinical Trial Group [J]. *Lancet*, 1989, 1(8628): 1-6.
- [22] Byrou S, Makrigiorgos GM, Christofides A, et al. Fast Temperature-Gradient COLD PCR for the enrichment of the paternally inherited SNPs in cell free fetal DNA; an application to non-invasive prenatal diagnosis of β -thalassaemia [J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e0200348.
- [23] Chiu RW, Lau TK, Leung TN, et al. Prenatal exclusion of beta thalassaemia major by examination of maternal plasma [J]. *Lancet*, 2002, 360(9338): 998-1000.
- [24] Viprakasit V, Tyan P, Rodmai S, et al. Identification and key management of non-transfusion-dependent thalassaemia patients: not a rare but potentially under-recognised condition [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2014, 9: 131.
- [25] 褚娜利, 张新华, 吴志奎, 等. 补肾益髓法治疗血红蛋白 H 病 237 例临床研究 [J]. *医学研究杂志*, 2015, 44(5): 48-51.
- [26] 褚娜利, 吴志奎, 张新华, 等. 益髓生血颗粒对血红蛋白 H 病患者抗氧化损伤和细胞因子水平的影响 [J]. *医学研究杂志*, 2015, 44(6): 35-38.
- [27] Taher AT, Vichinsky E, Musallam K, et al. Guidelines for the management of non transfusion dependent thalassaemia [M]. Nicosia, Cyprus: thalassaemia international federation, 2013: 12-50.
- [28] 赖永榕. 我如何治疗地中海贫血 [J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(11): 892-894.

- [29] Cazzola M, Finch CA. Evaluation of erythroid marrow function in anemic patients [J]. *Haematologica*, 1987, 72(3): 195–200.
- [30] Cazzola M, De Stefano P, Ponchio L, et al. Relationship between transfusion regimen and suppression of erythropoiesis in beta-thalassaemia major [J]. *Br J Haematol*, 1995, 89(3): 473–478.
- [31] Cazzola M, Pootrakul P, Huebers HA, et al. Erythroid marrow function in anemic patients [J]. *Blood*, 1987, 69(1): 296–301.
- [32] Taher AT, Musallam KM, Karimi M, et al. Overview on practices in thalassemia intermedia management aiming for lowering complication rates across a region of endemicity: the Optimal care study [J]. *Blood*, 2010, 115(10): 1886–1892.
- [33] Taher AT, Musallam KM, Nasreddine W, et al. Asymptomatic brain magnetic resonance imaging abnormalities in splenectomized adults with thalassemia intermedia [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(1): 54–59.
- [34] Taher A, Hershko C, Cappellini MD. Iron overload in thalassaemia intermedia: reassessment of iron chelation strategies [J]. *Br J Haematol*, 2009, 147(5): 634–640.
- [35] Chou ST, Liem RI, Thompson AA. Challenges of alloimmunization in patients with haemoglobinopathies [J]. *Br J Haematol*, 2012, 159(4): 394–404.
- [36] Hsu HC, Lin CK, Tsay SH, et al. Iron overload in Chinese patients with hemoglobin H disease [J]. *Am J Hematol*, 1990, 34(4): 287–290.
- [37] Taher AT, Musallam KM, Wood JC, et al. Magnetic resonance evaluation of hepatic and myocardial iron deposition in transfusion-independent thalassemia intermedia compared to regularly transfused thalassemia major patients [J]. *Am J Hematol*, 2010, 85(4): 288–290.
- [38] Taher A, El Rassi F, Isma'eel H, et al. Correlation of liver iron concentration determined by R2 magnetic resonance imaging with serum ferritin in patients with thalassemia intermedia [J]. *Haematologica*, 2008, 93(10): 1584–1586.
- [39] Musallam KM, Cappellini MD, Daar S, et al. Serum ferritin level and morbidity risk in transfusion-independent patients with beta-thalassemia intermedia: the ORIENT study [J]. *Haematologica*, 2014, 99(11): e218–e221.
- [40] Musallam KM, Cappellini MD, Taher AT. Evaluation of the 5 mg/g liver iron concentration threshold and its association with morbidity in patients with beta-thalassemia intermedia [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2013, 51(1): 35–38.
- [41] Musallam KM, Rivella S, Vichinsky E, et al. Non-transfusion-dependent thalassemias [J]. *Haematologica*, 2013, 98(6): 833–844.
- [42] Hirsh J, Dacie JV. Persistent post-splenectomy thrombocytosis and thrombo-embolism; a consequence of continuing anaemia [J]. *Br J Haematol*, 1966, 12(1): 44–53.
- [43] Tso SC, Chan TK, Todd D. Venous thrombosis in haemoglobin H disease after splenectomy [J]. *Aust N Z J Med*, 1982, 12(6): 635–638.
- [44] Bisharat N, Omari H, Lavi I, et al. Risk of infection and death among post-splenectomy patients [J]. *J Infect*, 2001, 43(3): 182–186.
- [45] Taher A, Musallam KM, El Rassi F, et al. Levels of non-transferrin-bound iron as an index of iron overload in patients with thalassaemia intermedia [J]. *Br J Haematol*, 2009, 146(5): 569–572.
- [46] Musallam KM, Taher AT, Rachmilewitz EA. beta-thalassemia intermedia: a clinical perspective [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(7): a013482.
- [47] Taher AT, Musallam KM, Cappellini MD, et al. Optimal management of beta thalassaemia intermedia [J]. *Br J Haematol*, 2011, 152(5): 512–523.
- [48] Cappellini MD, Musallam KM, Poggiali E, et al. Hypercoagulability in non-transfusion-dependent thalassemia [J]. *Blood Rev*, 2012, 26(14): 20–23.
- [49] Lai MI, Jiang J, Silver N, et al. Alpha-haemoglobin stabilising protein is a quantitative trait gene that modifies the phenotype of beta-thalassaemia [J]. *Br J Haematol*, 2006, 133(6): 675–682.
- [50] Surapolchai P, Chuansumrit A, Sirachainan N, et al. A molecular study on the role of alpha-hemoglobin-stabilizing protein in hemoglobin H disease [J]. *Ann Hematol*, 2017, 96(6): 1005–1014.
- [51] Vyoral D, Jiri P. Therapeutic potential of hepcidin - the master regulator of iron metabolism [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 115: 242–254.
- [52] Corradini E, Schmidt PJ, Meynard D, et al. BMP6 treatment compensates for the molecular defect and ameliorates hemochromatosis in Hfe knockout mice [J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(5): 1721–1729.
- [53] Matte A, De Falco L, Federti E, et al. Peroxiredoxin-2: A novel regulator of iron homeostasis in ineffective erythropoiesis [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28(1): 1–14.
- [54] Ramos E, Ruchala P, Goodnough JB, et al. Minihepcidins prevent iron overload in a hepcidin-deficient mouse model of severe hemochromatosis [J]. *Blood*, 2012, 120(18): 3829–3836.
- [55] Li H, Rybicki AC, Suzuka SM, et al. Transferrin therapy ameliorates disease in beta-thalassemic mice [J]. *Nat Med*, 2010, 16(2): 177–182.
- [56] Casu C, Presti VL, Oikonomidou PR, et al. Short-term administration of JAK2 inhibitors reduces splenomegaly in mouse models of beta-thalassemia intermedia and major [J]. *Haematologica*, 2018, 103(2): e46–e49.
- [57] Mettananda S, Gibbons RJ, Higgs DR. α -Globin as a molecular target in the treatment of beta-thalassemia [J]. *Blood*, 2015, 125(24): 3694–3701.