

財團法人彰化基督教醫院 基因醫學部

『A 型血友病基因檢驗送檢須知』

一、疾病介紹：

- ◆ 血友病為最常見的先天性血液凝固異常的遺傳疾病，在 19 世紀開始在歐洲被發現，發生的原因是由於血液中缺乏某些凝血因子，造成患者受傷時會有血液不容易凝固的問題，依血液中缺乏的凝血因子種類不同，主要分為 A 及 B 兩型，A 型血友病的致病原因是位於染色體 Xq28 上的第八凝血因子(F8)基因異常，約佔血友病 80~85%，B 型血友病的致病原因是位於染色體 Xq27 上的第九凝血因子(F9)基因異常，約佔 15~20%。兩型血友病的致病基因皆位在 X 染色體上，屬於性聯隱性遺傳。
- ◆ 重度 A 型血友病的臨床特徵包括關節或深層組織的自發性出血。中度到輕度的 A 型血友病可能導致手術、拔牙或受傷後的出血時間延長或反覆性出血症狀。
- ◆ 重度 A 型血友病(凝血活性<1%)，由於每月會發生 2~5 次的自發性關節或肌肉深層組織出血，通常於出生後的第一年即可被診斷。治療上包括每隔一天便給予預防性輸注第八凝血因子的濃縮液，以維持第八凝血因子的凝血活性高於 1%，避免自發性出血症狀發生。如果發生出血，必須於事件發生一小時內給予靜脈注射輸入血源性或重組的第八凝血因子。
- ◆ 中度 A 型血友病(凝血活性 1~5%)通常會於六歲前被診斷出來，主要發現原因是輕微外傷後，造成出血延長或延遲滲出，發作頻率約每月到每年一次不等。
- ◆ 輕度 A 型血友病(凝血活性 5~30%)，患者只有在嚴重創傷或手術時才会有出血的問題，所以不容易被發覺。出血頻率從一年一次到 10 年一次皆有可能。建議發生出血時須立即給予止血處置，否則患者可能要接受後續的第八凝血因子的輸注治療。
- ◆ 10%的女性帶因者會對其凝血功能產生影響，通常是溫和的症狀。除非帶因者的第八凝血因子活性是正常的，否則應特別觀察產後是否發生遲發性出血現象。
- ◆ A 型血友病的確診必須符合兩個要件：第八凝血因子的活性偏低且 von Willebrand factor 的活性正常。
- ◆ 帶因者測試不能憑藉第八凝血因子的活性測試作為判斷，必須進行分子生物學診斷。
- ◆ 因出血而死亡的首要原因是顱內出血。未接受治療的重度患者的預期壽命是 11 歲，然而給予適當治療，平均壽命會提高到 63 歲。
- ◆ 關節病變是主要造成行動不便的原因。

二、疾病發生率：全世界的出生男嬰約每 4000~5000 人就有一位罹患此先天性遺傳疾病。

三、遺傳學：

- ◆ 第八凝血因子(F8)基因突變是唯一導致 A 型血友病的原因。
- ◆ 屬於性聯隱性遺傳模式。
- ◆ 重度的 A 型血友病患者中，約有 45~55% 的患者其致病原因為 F8 基因之第 22 插入子反轉突變(Intron 22 inversion)，5~10% 為第一插入子反轉突變(Intron 1 inversion)，大片段基因缺失約佔 6%，其他的致病原因屬於較小的點突變(約 40~50%)。
- ◆ 輕度到中度患者多屬基因單點突變或小片段缺失，利用全基因定序方式可偵測出 98% 的致病原因，大片段缺失的患者低於 1%。
- ◆ 就 F8 基因變異，依據 HGMD 基因突變資料庫(<http://www.hgmd.cf.ac.uk/>)所提供的訊息指出，統計直到 2009 年為止文獻所發表的 F8 基因突變共有 1299 種，其中 missense/nonsense 的突變約佔 61.6% (800/1299)、splicing 位置的突變約佔 5.9% (77/1299) 及小片段 (<50bp) 的缺失或複製約佔 20.9% (272/1299)，以上所指出的突變種類 (佔 88%) 可以藉由全基因定序來給予診斷出來，剩餘的 12% 的

突變就必須藉助其他的診斷方式（例如：inverse PCR, MLPA 或是染色體分析的方式）來給予確診。

- ◆ 臨床上觀察，約有 30% 的患者看起來像是自發性(de novo)突變，但八成以上都是因為其母親為帶因者所致。

四、適合送檢對象與檢體類別：

- ◆ 一般成人：患者、帶因者或具有特定家族史的待測者。

種類	檢體量	容器	注意事項
全血	3~5 mL	含 EDTA 抗凝劑之採血管	避免凝固

- ◆ 產前診斷：除胎兒檢體外，建議需同時檢附胎兒雙親或家族中的男性患者之檢體，以利家族致病因的偵測。

種類	檢體量	容器	注意事項
臍帶血	3~5 mL	含 EDTA 抗凝劑之採血管	避免凝固，避免母血污染
絨毛	10mg 以上	乾淨之瓶子或管子，浸泡於生理食鹽水或培養液	需確認採樣檢體為胎兒絨毛組織
羊水	10 mL	針頭的地方用 3M 膠布貼緊以防運送過程中脫落	避免母血污染

五、檢體品質

- ◆ 檢體如有污染之情事，請勿送件，以避免影響報告之準確性。

六、聯絡方式：

- ① 代檢收件洽詢電話：04-7238595 ext 2321~2323 郭小姐
- ② 技術或報告諮詢電話：04-7238595 ext 2331 張先生
- ③ 臨床個案遺傳諮詢電話：04-7238595 ext 7244 李小姐、楊小姐

七、檢體寄送及收件時間

- ① 送檢前，請您先詳讀本送檢須知內容，並以電話連絡本單位，明確告知預計何時送件，並確認送檢流程及安排檢驗程序。
- ② 請列印並填寫「附件一、彰化基督教醫院 A 型血友病基因檢驗同意書」文件，填妥相關送檢資料連同檢體一併於 24 小時內以室溫傳送至 **500 彰化市中華路 176 號三樓 基因醫學部** 收。
- ③ 收件時間：星期一~星期五 08：30—17：30 (**星期六及星期日，無收件服務，請勿送檢**)。

八、基因檢測方式、內容與完成報告時間：

檢驗方法	內容	完成報告時間
F8 基因第 22 插入子反轉突變檢測及第一插入子反轉突變檢測	1. 第 22 插入子反轉突變檢測：先利用 BclI 酵素處理後，以接合酶完成接合後，施以 PCR，以 2% 膠體電泳確認產物片段大小並判讀。 2. 第 1 插入子反轉突變檢測：直接施以兩組 PCR，以 1% 膠體電泳確認產物片段大小並判讀。	兩週
F8 基因全基因定序	直接針對 F8 基因之轉錄區域(表現子 1~26)，以及表現子與插入子交接處進行 PCR 及定序，檢測可能突變。	四週
F8 基因大片段缺失檢測	使用 Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 方式，來進行 F8 基因大片段缺失/複製的分析。	兩週

- ◆ 本檢測方式的**臨床靈敏度**在所有種族高達 98%。(Clinical sensitivity is as high as 98 percent for all ethnicities.)
- ◆ 本檢測方式(包含的全基因定序、MLPA 及插入子反轉突變檢測)的**分析靈敏度和特異性**是 99%。(Analytical sensitivity and specificity are 99 percent for sequencing, MLPA, and inversion analysis.)

九、基因診斷之侷限性：

- ◆ 嚴重型的 A 型血友病患者約有 45~55%屬於第 22 插入子反轉突變，5~10%屬於第一插入子反轉突變，若患者或帶因者非屬上述之反轉突變，則無法以本方法確知。
- ◆ 全基因定序雖可偵測 F8 基因表現子區域有否發生單點突變、小片段缺失或小片段插入，但無法檢出大片段之基因缺失突變。
- ◆ F8 基因大片段缺失/複製的確實斷裂點無法藉由本分析得知。
- ◆ F8 序列分佈範圍廣泛，深層的插入子(Intron)或起始子(Promoter)區域，無法全部涵蓋，可能造成遺漏。
- ◆ 引子(Primers)或探針區域的突變，可能造成診斷上的錯誤，但這種情況相當罕見。

十、報告完成通知：

報告完成時，會先以電話口頭告知或傳真方式通知檢驗結果，並隨後郵寄一份書面正式報告給送檢醫師。

十一、收費注意事項：

- ① 收費金額請洽中心人員。
- ② 本中心為提供送檢醫師及病患遺傳檢驗服務，為能順利完成代檢服務，代檢費用收取之單一窗口設定為『送檢醫師』，請送檢醫師協助負責費用確認收取，敬請協助。
- ③ 帳單郵寄：次月 5 日左右，由本院轉檢中心掛號郵寄收據及帳單繳款通知至貴院『送檢醫師』；請於收到帳單後 15 日內，儘速繳交為荷，謝謝配合！

十二、繳款方式：以下請擇一方式繳款。

- ① ATM 轉帳：請將款項轉入銀行代號：822 中國信託商業銀行 帳號：0785-3003-8927，轉入後請填寫匯款單傳真至 04-7249847，以利核帳。
- ② 銀行匯款：敬請將款項匯入 822 中國信託商業銀行 員林分行 戶名：財團法人彰化基督教醫院 匯入帳號：0785-3003-8927 請將匯款單傳真至 04-7249847，以利核帳。
- ③ 郵政劃撥：請至郵局劃撥 戶名：財團法人彰化基督教醫院 帳號：00131080 請於備註欄註明【患者姓名】及【遺傳代檢費】。請傳真郵政劃撥單至 04-7249847，以利核帳。
- ④ 開立支票：請附資料註明【患者姓名】及【遺傳代檢費】。掛號郵寄 500 彰化市南校街 135 號兒童醫院 12 樓 彰化基督教醫院 出納室 收。
- ⑤ 連同檢體寄送：請確認金額後，連同檢體寄送 500 彰化市中華路 176 號 3 樓；本中心無法負費用遺失之責，建議請其它方式繳款。

十三、參考文獻：

- Bogdanova, et al. *Human Mutation* 2007;29:54-60.
- Online GeneTests: Hemophilia A. (<http://www.genetests.org>)
- Hemophilia A (F8) Inversion, Sequencing, and Deletion/Duplication. (<http://www.aruplab.com>)
- HGMD 基因突變資料庫 (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/>)

A 型血友病(F8)基因檢驗同意書

基本資料(由本人填寫)

姓名		性別	<input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	<input type="checkbox"/> 已婚 <input type="checkbox"/> 未婚
身份證字號	(外籍人士請填寫 國籍/護照號碼)	出生日期	西元	年 月 日
聯絡電話	(請留白天可聯繫之電話號碼)			
聯絡地址				

送檢資訊(以下由採檢單位填寫)

送檢日期	年 月 日	送檢單位	
病歷號碼	(請確認是否與送檢樣本一致)	送檢醫師	
報告聯絡窗口 (部門/姓名)		報告聯絡電話	
		報告傳真號碼	
報告聯絡地址			
檢體種類	<input type="checkbox"/> 血液(3-5 ml) <input type="checkbox"/> 絨毛 (10 mg) <input type="checkbox"/> 羊水(10-15 ml) <input type="checkbox"/> 臍血(3-5 ml) <input type="checkbox"/> 其他_____		
產前檢體 備註欄	● 懷孕週數為_____週；是否為多胞胎： <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/> 是 備註：_____		
	● 家族是否有A型血友病病史？ <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/> 是(有家族病史者，請畫遺傳圖譜於空白處)		

【說明】

- ◆ 第八凝血因子(F8)基因突變是唯一導致 A 型血友病的原因，屬於性聯隱性遺傳模式。
- ◆ 重度的 A 型血友病患者中，約有 45~55% 的患者其致病原因為 F8 基因之第 22 插入子反轉突變，5~10% 為第一插入子反轉突變，大片段基因缺失約佔 6%，其他的致病原因屬於較小的點突變(約 40~50%)。
- ◆ 輕度到中度患者多屬點突變或小片段缺失，利用全基因定序方式可偵測出 98% 的致病原因，大片段缺失的患者低於 1%。
- ◆ 本檢測具有高靈敏度，準確率約為 95-98%，臨床靈敏度約為 98%，特異性約為 99%。

【報告天數】

- ◆ 本項基因檢驗區分為 3 個階段，依不同的檢驗方式，實驗室收件後 2~4 週內完成。

【侷限性與風險性】

- ◆ 若患者或帶因者非屬上述之第 22 插入子反轉突變或第一插入子反轉突變，則無法以本方法確知。
- ◆ 全基因定序雖可偵測 F8 基因有否發生點突變、小片段缺失或小片段插入，但無法檢出大片段之基因缺失突變。
- ◆ F8 基因大片段缺失/複製的確實斷裂點無法藉由本分析得知。
- ◆ F8 序列分佈範圍廣泛，深層的插入子(Intron)或起始子(Promoter)區域，無法全部涵蓋，可能造成遺漏。
- ◆ 引子(Primers)或探針區域的突變，可能造成診斷上的錯誤，但這種情況相當罕見。

【注意事項】

- ◆ 依衛生署規定，目前所有分子遺傳診斷皆屬研究性質，結果僅供臨床參考。其臨床意義與建議需由臨床醫師進行綜合判斷。
- ◆ 雖然 DNA 檢測技術準確率極高，但少數檢測錯誤仍可能發生。
- ◆ 本人已充分了解且接受本檢驗之內容、準確度及侷限性，並同意由彰化基督教醫院基因醫學部實驗室進行檢測。
- ◆ 本人 同意 不同意 於檢驗完成後，將剩餘檢體提供檢驗單位研究使用(若未勾選，則視為同意)。

立同意書人姓名：_____ (簽章) 西元 20____年____月____日