

al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy[J]. JAMA, 2009, 302(8): 849-857.

[14] 李苗苗, 王玉红, 刘静. 中国沈阳地区汉族冠心病患者 CYP2C19 基因多态性分布特征[J]. 现代检验医学, 2019, 34(2): 5-8.

[15] ZHONG Z, HOU J, ZHANG Q, et al. Effect of cytochrome P450 2C19 polymorphism on adverse cardiovascular events after drug-eluting stent implantation in a large hakka population with acute coronary syndrome receiving clopidogrel in southern China [J]. Eur J Clin Pharmacol, 2018, 74(4): 423-431.

[16] ANSEMI C V, BRIGUORI C, RONCARATI R, et al. Rou-  
• 短篇论著 •

tine assessment of on-clopidogrel platelet reactivity and gene polymorphisms in predicting clinical outcome following drug-eluting stent implantation in patients with stable coronary artery disease[J]. JACC Cardiovasc Interv, 2013, 6(11): 1166-1175.

[17] XI Z, FANG F, WANG J, et al. CYP2C19 genotype and adverse cardiovascular outcomes after stent implantation in clopidogrel-treated asian populations: a systematic review and meta-analysis[J]. Platelets, 2019, 30(2): 229-240.

(收稿日期: 2019-12-20 修回日期: 2020-03-03)

## 广西地区葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的分子流行病学分析\*

俸诗瀚<sup>1,2</sup>, 耿国兴<sup>1</sup>, 阳奇<sup>1</sup>, 黄丽梅<sup>1</sup>, 李孟婷<sup>1</sup>, 易升<sup>1</sup>, 韦媛<sup>1</sup>, 蓝月云<sup>1</sup>, 欧阳鲁平<sup>1△</sup>

(1. 广西壮族自治区妇幼保健院遗传代谢中心实验室, 广西南宁 530003;

2. 广西医科大学第二附属医院遗传与基因组医学中心, 广西南宁 530007)

**摘要:**目的 对新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)筛查阳性患儿采用 G6PD/6PGD 比值法进行酶活性检测和采用 Sanger 法进行 G6PD 基因突变检测, 了解广西地区 G6PD 缺乏症患儿的患病情况。**方法** 收集 2016—2017 年于广西壮族自治区妇幼保健院进行新生儿疾病筛查 G6PD 活性阳性的新生儿及儿科门诊就诊的疑似 G6PD 缺乏患儿共 457 例作为研究对象, 行 G6PD/6PGD 比值法酶活性检测和基因突变检测, 对相关数据进行回顾性分析。**结果** 在 457 例疑似患儿中, G6PD/6PGD 酶活性异常 391 例, 酶活性正常 66 例; 同时行 G6PD 基因检测分析, 391 例酶活性异常的疑似患儿均为 G6PD 基因致病性突变携带者; 酶活性正常的 66 例疑似患儿中, 致病性杂合突变携带者 40 例, 均为女性。另外, 基因检测显示 G6PD 基因突变: 95 A>G 74 例 (17.17%), 871 G>A 32 例 (7.42%), 1 024 C>T 28 例 (6.50%), 1 376 G>T 123 例 (28.54%), 1 388 G>A 156 例 (36.19%), 为广西地区的热点突变; 其余位点突变 18 例 (4.18%)。**结论** 广西地区 G6PD 基因突变类型既有中国人群常见的基因突变类型, 又有该地区特有的基因突变类型。

**关键词:** 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症; G6PD/6PGD 比值法; Sanger 法; 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因; 分子流行病学

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.15.022

中图法分类号: R596

文章编号: 1673-4130(2020)15-1886-03

文献标识码: B

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏症在我国分布的特点主要呈“南高北低”, 以广西、广东、海南、贵州、云南、四川等地区最为普遍, 当前调查研究称广西地区的携带率大约为 7.4%, 而有个别省份的人群基因携带率接近 16.0%<sup>[1-3]</sup>。当前用于检测 G6PD 缺乏症的方法较多, 而 WHO 推荐的 G6PD/6PGD 比值法因其具有操作简单、结果可靠性高及可检出杂合子的优

点, 目前为国际公认的检测方法<sup>[4-6]</sup>。G6PD 缺乏的致病基因主要位于 X 染色体长臂 2 区 8 带, 依照 X 连锁不完全显性的遗传方式, 基因全长 20 114 bp, 主要由 13 个外显子和 12 个内含子共同组成, 可编码 515 个氨基酸<sup>[7]</sup>。本研究对广西地区 457 例疑似 G6PD 缺乏症患儿同时进行 G6PD/6PGD 比值法酶活性检测和基因突变检测, 以此判断结果的吻合情况和广西地

\* 基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1001703)。

△ 通信作者, E-mail: 501284328@qq.com。

本文引用格式: 俸诗瀚, 耿国兴, 阳奇, 等. 广西地区葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的分子流行病学分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41

区基因携带情况。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2016—2017 年来广西壮族自治区妇幼保健院门诊就诊的疑似 G6PD 缺乏患儿及新生儿疾病筛查 G6PD 酶活性初筛阳性的新生儿共 457 例作为研究对象,其中 G6PD 缺乏症患儿 431 例。

### 1.2 仪器与试剂

**1.2.1 仪器** LWC200i 全自动生化分析仪;Lab-Aid 核酸自动提取仪;BIO-RADC1000 PCR 基因扩增仪;ABI3500 基因测序仪。

**1.2.2 试剂盒** 广州米基医疗器械有限公司改良版 G6PD 测定试剂盒(定量比值法);致善生物科技有限公司 Lab-Aid 基因组 DNA 分离试剂盒;康为试剂公司 2 \* ES Tap Master Mix 试剂盒;DNA 测序;引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,通过一代基因测序技术 Sanger 法对 DNA 片段进行测序分析。

### 1.3 研究方法

**1.3.1 方法** 采集静脉抗凝血,按照试剂说明书操作。结果判断:G6PD/6PGD 比值法 G6PD 酶活性缺乏 < 1.0(正常值 1.0~2.5)。

**1.3.2 DNA 提取** DNA 提取参照致善生物科技有限公司 Lab-Aid 基因组 DNA 分离试剂盒的提取方法。

**1.3.3 基因突变检测** 设计 G6PD 引物,根据 NCBI 序列,利用 Oligo7 设计引物,扩增产物 200~650 bp,其中 E3-4、E5-6、E9-10、E11-12 合并扩增。PCR 扩增体系为 25  $\mu$ L,2 \* Master Mix 12.5  $\mu$ L,上、下游引物 0.5  $\mu$ L,DNA 溶液 2  $\mu$ L,水 9.5  $\mu$ L。扩增结束后,取 3  $\mu$ L PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶上电泳,100 V,40 min;电泳结束后取下用凝胶成像仪成像检测,鉴定为本研究所需 DNA 片段后送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析处理。

## 2 结果

在门诊随访的 457 例疑似患儿均采用 G6PD/6PGD 比值法进行酶活性检测,其中 G6PD/6PGD < 1.0,即酶活性降低 391 例,G6PD/6PGD  $\geq$  1.0~2.5,即酶活性正常 66 例。G6PD 基因检测,酶活性降低的 391 例疑似患儿均为 G6PD 基因致病突变携带者;而在酶活性正常的 66 例疑似患儿中,也检测到 40 例携带有杂合致病性突变的患儿,均为女性。本研究中 G6PD 基因突变分布情况:95 A>G 74 例(17.17%),871 G>A 32 例(7.42%),1 024 C>T 28 例(6.50%),1 376 G>T 123 例(28.54%),1 388 G>A 156 例(36.19%),其余位点突变 18 例(4.18%),见表 1。两种方法检测 457 例 G6PD 疑似

患儿检出率见表 2。

表 1 431 例 G6PD 缺乏症患儿基因位点统计

基因位点	n	杂合(女)	半合(男)	占比(%)
1 004 C>A	2	1	1	0.46
1 024 C>T	28	7	21	6.50
1 360 C>T	1	1	0	0.23
1 376 G>T	123	40	83	28.54
1 388 G>A	156	41	115	36.19
196 T>A	4	0	4	0.93
392 G>T	8	2	6	1.86
406 C>T	2	1	1	0.46
835 A>T	1	0	1	0.23
871 G>A	32	9	23	7.42
95 A>G	74	19	55	17.17
合计	431	121	310	100.00

表 2 两种方法检测 457 例 G6PD 疑似患儿检出率比较

方法	男(n=305)	女(n=152)
G6PD/6PGD 比值法	292(95.74)	99(65.13)
Sanger 法	292(95.74)	139(91.45)

## 3 讨论

G6PD 缺乏症是依据伴性不完全显性遗传,一般男性发病率较高,这是因为男性(核型 46,XY)只有 1 条 X 染色体,当这条 X 染色体携带上 G6PD 缺乏症的致病基因时,其酶活性明显缺乏,称为半合子;而女性(核型 46,XX)不同,因其具有 2 条 X 染色体,其中某 1 条 X 染色体携带有 G6PD 缺乏症的致病基因,但是剩下的另 1 条 X 染色体正常,可造成体内形成两类红细胞的“嵌合体”,称为杂合子,这类女性携带者则称为 G6PD 缺乏症基因携带者,携带者的酶活性变化范围较大,有些人可表现为正常,有些人则表现为半合子水平状态;当女性 2 条 X 染色体都携带上 G6PD 缺乏症致病基因时,就可称其为纯合子,其酶活性一般表现为中度或重度缺乏。纯合子虽然不常见,但是依然可以发病<sup>[8]</sup>。

本研究发现,在 457 例(男 305 例,女 152 例)疑似患儿中,G6PD/6PGD 比值法检测出阳性 391 例,男 292 例(95.74%),女 99 例(65.13%),Sanger 法检测出阳性 431 例,男 292 例(95.74%),女 139 例(91.45%)。G6PD/6PGD 比值法检出的 391 例酶活性异常疑似患儿结果与基因突变检测结果相符,见表 2,均可找到基因突变位点;而在酶活性正常的 66 例疑似患儿中,也发现致病性杂合突变携带者 40 例,均为女性,这部分患儿均数士标准差为 1.19 $\pm$ 0.16,可

见 G6PD/6PGD 比值法测定只是一种表型诊断,会因为各种因素漏诊一部分杂合子女性<sup>[9-10]</sup>。因此,当女性 G6PD 常规筛查检测结果正常,但仍出现 G6PD 缺乏的临床症状时,建议做基因突变检测,以进一步确诊是否携带 G6PD 致病基因。

G6PD 变异有明显的群体或地域方面的特异性,一般表现为某个群体或部族主要以某一种或几种突变类型为主,如地中海沿岸国家多以 563 C>T 为主,非洲国家则多为 202 G>A/c. 376 A>G,而老挝、柬埔寨等东南亚国家基本上是以 871 G>A/c. 1 311 C>T 为主,印度尼西亚的安汶人群多数为 383 T>C,以上这些突变可能是较古老的突变。1 388 G>A、1 376 G>T 和 95 A>G 是我国排前 3 的 G6PD 基因突变类型,目前这 3 类突变频率之和占有所有类型的 70%以上,且仅在华人中存在<sup>[11-12]</sup>。在本次基因检测发现,广西地区热点突变为:95 A>G 74 例(17.17%),871 G>A 32 例(7.42%),1 024 C>T 28 例(6.50%),1 376 G>T 123 例(28.54%),1 388 G>A 156 例(36.19%),其余位点突变 18 例(4.18%)。1 388 G>A、1 376 G>T 和 95 A>G 最为常见,其次是 871 G>A,约占 7.42%,该突变位点是泰国、越南、老挝、柬埔寨等东南亚国家的主要突变类型,有很高的发生率,我国其他地方也少有 871 G>A 的报道<sup>[13-15]</sup>。

通过 G6PD/6PGD 比值法与 Sanger 法基因突变检测结果对比分析显示,G6PD/6PGD 比值法酶活性降低的疑似患儿与 Sanger 法基因突变检测结果吻合率为 100%,而酶活性正常的疑似患儿与基因突变检测结果吻合率只有 40%,这些未检测出的患儿均为女性携带者,归因于 G6PD 为伴 X 遗传,存在随机失活现象,出现部分杂合子突变患儿比值法酶活性高于切值,但仍携带有致病性突变。因此,采用分子诊断方法可有效检测出女性杂合子。

综上所述,广西地区 G6PD 基因突变类型既有中国人群普遍代表性,又有广西本地区人群 G6PD 基因突变的特征。基因分子水平检测明显提高了女性杂合子 G6PD 缺乏症的检出率,解决了女性杂合子 G6PD 缺乏症漏检情况发生。

## 参考文献

[1] 林芬,吴教仁,杨辉,等.粤东潮州地区葡萄糖-6-磷酸脱氢

酶缺乏症患者 G6PD 基因的突变类型[J].中华医学遗传学杂志,2016,33(1):26-29.

- [2] 李曼,温冬梅,张秀明,等.中山地区 G6PD 缺乏症筛查结果分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(20):2940-2941.
- [3] 俸诗瀚,耿国兴,陈少科,等.广西地区 G6PD 新生儿筛查情况分析[J].中国优生与遗传杂志,2016,24(8):79-80.
- [4] 郭锐,朱丽东,冯健明,等.基于 G6PD/6PGD 比值法的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶测定试剂盒的性能分析[J].黑龙江医药,2016,29(2):199-202.
- [5] 葛艳芬.G6PD/6PGD 酶活性直接比值法实验优化探讨[D].广州:广州医学院,2009.
- [6] 唐娟,谭毅.葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症检测方法的研究进展[J].中国临床新医学,2015,8(1):92-96.
- [7] 张格,于洁,李蕙,等.31 例 G6PD 缺乏症患儿基因突变与临床表现分析[J].中国小儿血液与肿瘤杂志,2015,20(6):299-304.
- [8] 叶任高,陆再英.内科学[M].6 版.北京:人民卫生出版社,2004:39-56.
- [9] 陈奕微,迟绍琴,孙宇飞.龙岗区孕前人群 G6PD 缺乏症的分子流行病学研究[J].中国实验诊断学,2018,22(6):995-998.
- [10] 侯家兴,黄志浩,谢意文.G6PD 缺乏症基因型检测诊断与酶学诊断在应用中的比较分析[J].临床和实验医学杂志,2017,16(14):1410-1413.
- [11] 林芬,杨辉,杨立业.我国葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的分布特征和基因突变[J].分子诊断与治疗杂志,2016,8(2):73-77.
- [12] 刘秀莲,王洁,黄慈丹,等.海口地区新生儿 G6PD 基因突变分析[J].分子诊断与治疗杂志,2017,9(3):165-167.
- [13] 许洪平,王燕敏,田国力.137 例上海地区出生新生儿家系 G6PD 基因突变分析[J].临床儿科杂志,2011,29(9):833-836.
- [14] 李岷,卓召振,王怡萌,等.贵阳地区 5 486 例孕妇 G6PD 缺乏症基因突变筛查[J].贵州医科大学学报,2019,44(7):777-780.
- [15] 刘文煌,林丽琴,陈田田,等.漳州市 233 例新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症基因突变分析[J].中国妇幼卫生杂志,2017,8(2):64-68.

(收稿日期:2020-01-05 修回日期:2020-03-29)