

• 论 著 •

石家庄市苯丙氨酸羟化酶缺乏症的基因突变研究*

马翠霞¹, 封露露¹, 李丽欣¹, 白雪¹, 马倩倩², 封纪珍^{1△}

1. 石家庄市妇幼保健院遗传科, 河北石家庄 050000; 2. 石家庄市妇产医院体检中心, 河北石家庄 050000

摘要:目的 分析石家庄市新生儿疾病筛查诊治中心确诊的苯丙氨酸羟化酶缺乏症(PAHD)患儿中 PAH 基因的突变规律及特点, 为石家庄市 PAHD 的产前诊断、治疗提供有力的科学依据。方法 收集在石家庄市新生儿疾病筛查诊治中心确诊的 PAHD 患儿 67 例作为研究对象, 提取患儿及其父母外周血 DNA 标本进行二代测序, 测序范围包括 13 个外显子和外显子上、下游 200 个碱基对的内含子, 对可疑突变位点进行一代测序验证, 可疑大片段缺失重复进行多重连接探针扩增验证。结果 67 例 PAHD 患儿中 61 例患儿 PAH 基因检测到 2 个突变位点, 3 例患儿 PAH 基因检测到 3 个突变位点, 3 例患儿 PAH 基因只检测到 1 个突变位点。67 例 PAHD 患儿中共检测到 44 种突变, 134 个 PAH 基因突变位点。高频突变位点主要是 c. 158G>A、c. 728G>A、c. 331C>T。16 例经典型苯丙酮尿症患儿中 c. 1068C>A 和 c. 331C>T 突变频率最高(15. 63%, 5/32); 11 例轻度苯丙酮尿症患儿中 c. 721C>T 突变频率最高(18. 18%, 4/22); 40 例轻度高苯丙氨酸血症患儿中 c. 158G>A 突变频率最高(35. 00%, 28/80)。检测出的 134 个突变位点中有 3 个尚未见报道, 分别为 c. 912+5G>T、c. 61-1G>A 和 c. 630T>G。结论 石家庄市 PAHD 患儿 PAH 基因突变以复合杂合突变为主, 该研究明确了石家庄市 PAHD 患儿基因的突变类型与特点, 为深入开展 PAHD 的诊断及产前诊断、治疗和遗传咨询提供了有力的依据和帮助。

关键词: 苯丙氨酸羟化酶; 苯丙酮尿症; 基因突变; 新生儿疾病筛查

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2022. 02. 007 **中图法分类号:** R272. 1

文章编号: 1673-4130(2022)02-0161-07 **文献标志码:** A

Study on gene mutation of phenylalanine hydroxylase deficiency in Shijiazhuang*

MA Cuixia¹, FENG Lulu¹, LI Lixin¹, BAI Xue¹, MA Qianqian², FENG Jizhen^{1△}

1. Department of Heredity, Shijiazhuang Maternal and Child Health Care Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China; 2. Department of Medical Examination Center, Shijiazhuang Maternity Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China

Abstract: **Objective** To analyze the mutation rule and characteristics of PAH gene in children with phenylalanine hydroxylase deficiency (PAHD) diagnosed by Shijiazhuang Neonatal Disease Screening and Diagnosis Center, so as to provide a strong scientific basis for prenatal diagnosis and treatment of PAHD. **Methods** A total of 67 children with PAHD diagnosed in Shijiazhuang Neonatal Disease Screening and Diagnosis Center were collected. Peripheral blood DNA samples of the children and their parents were extracted for second-generation sequencing. The sequencing range included 13 exons and introns of 200 base pairs upstream and downstream of exons. The suspected mutation sites were verified by first-generation sequencing, and the suspected large deletion repeats were verified by multiplex ligation probe amplification. **Results** In 67 cases of PAHD, 2 mutation sites were detected in 61 cases, 3 mutation sites were detected in 3 cases, only one mutation site was detected in 3 cases. A total of 44 mutations and 134 PAH gene mutation sites were detected in 67 cases of PAHD. The high frequency mutation sites were c. 158G>A, c. 728G>A, c. 331C>T. The mutation frequency of c. 1068C>A and c. 331C>T was the highest in 16 children with classic phenylketonuria (15. 63%, 5/32). The mutation frequency of c. 721C>T was the highest in 11 children with mild phenylketonuria (18. 18%, 4/22). The mutation frequency of c. 158G>A was the highest in 40 children with mild phenylalaninemia

* 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划(20210689)。

作者简介: 马翠霞, 女, 主管技师, 主要从事新生儿遗传代谢病方向的研究。△ 通信作者, E-mail: 214674179@qq. com。

本文引用格式: 马翠霞, 封露露, 李丽欣, 等. 石家庄市苯丙氨酸羟化酶缺乏症的基因突变研究[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(2): 161-

(35.00%, 28/80). 3 of the 134 mutation sites have been rarely reported, namely c. 912+5G>T, c. 61-1G>A and c. 630T>G, respectively. **Conclusion** The PAH gene mutations in children with PAHD in Shijiazhuang are mainly compound heterozygous mutations. This study clarifies the types and characteristics of gene mutations in children with PAHD in Shijiazhuang, and provides a strong basis and help for further diagnosis, prenatal diagnosis, treatment and genetic counseling of PAHD.

Key words: phenylalanine hydroxylase; phenylketonuria; gene mutation; neonatal screening

正常情况下,天然食物中的蛋白质分解产生的苯丙氨酸(Phe)在肝脏苯丙氨酸羟化酶(PAH)的作用下转化成酪氨酸,PAH 缺乏的患儿可导致高苯丙氨酸血症(HPA),Phe 旁路代谢增强,使得大量苯丙酮酸、苯乙酸和苯乳酸从尿中排出,血中增多的 Phe 可以通过血脑屏障,导致脑内 Phe 水平增高,引起脑髓鞘发育不良或脱髓鞘等脑白质异常,进而导致神经系统损伤^[1]。近些年,虽然随着测序技术的发展,研究者很容易在苯丙酮尿症(PKU)早期患儿中获得准确的分子遗传学诊断结果,但 PAH 基因变异在不同地区人群中分布不同,代谢表型也存在较大差异,而患儿的基因型又是临床表型的主要决定因素。因此,本研究旨在探讨石家庄新生儿疾病筛查诊治中心确诊的苯丙氨酸羟化酶缺乏症(PAHD)患儿 PAH 基因突变的规律及特点,为深入开展 PAHD 的诊断及产前诊断、治疗和遗传咨询提供科学的参考依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 5 月至 2020 年 7 月在石家庄市新生儿疾病筛查诊治中心确诊的 67 例 PAHD 患儿作为研究对象,排除 BH₄ 缺乏症及暂时性 HPA 患儿。其中男 37 例,女 30 例;经典型 PKU (cPKU)16 例,轻度 PKU (mPKU)11 例,轻度 HPA (MHP)40 例。本研究经医院医学伦理学委员会批准,所有检查均获得患儿家长或监护人的知情同意,并与监护人签署知情同意书。

1.2 诊断标准 根据 2014 年发表的《高苯丙氨酸血症的诊治共识》^[2],Phe>120 $\mu\text{mol/L}$ (2 mg/dL)及血 Phe 与酪氨酸 (Tyr) 比值 (Phe/Tyr)>2.0 统称为 HPA。其中血 Phe $\geq$ 1 200 $\mu\text{mol/L}$ 为 cPKU; 360 $\mu\text{mol/L}$ $\leq$ 血 Phe<1 200 $\mu\text{mol/L}$ 为 mPKU; 120 $\mu\text{mol/L}$ <血 Phe<360 $\mu\text{mol/L}$ 为 MHP。

1.3 研究方法 抽取 PAHD 患儿及父母外周静脉血各 4 mL,采血管为 2% 乙二胺四乙酸二钠抗凝,按照基因组 DNA 提取试剂盒说明书对所取标本进行核酸提取,使用 Nanodrop2000 超微量分光光度计对 DNA 进行质检,检测合格后进行基因组文库构建。用生物素标记的探针与文库 DNA 进行杂交,用链霉亲和素修饰的磁珠共价结合生物素标记的探针抓取目的基因,磁力架吸附携带目的基因的磁珠,洗脱纯化,富集目的基因。采用 NextSeq500 高通量测序仪

测序。所有数据应用 SOAP SNP 程序进行单核苷酸序列多态分析,对于检测到的突变位点严格按照 ACMG 指南^[3]进行致病性分析。对于未报道突变位点,使用生物信息学蛋白功能综合性预测软件 REVEL、SIFT、PolyPhen_2、Mutation Taster、GERP+ 对致病性进行预测。对发现的致病突变在其所在片段上、下游设计引物进行 PCR 扩增及 Sanger 测序,从而验证高通量测序的结果,对患儿父母采用 Sanger 法进行目标基因突变验证。以上基因检测由北京迈基诺医学检验所完成。

2 结果

2.1 PAH 基因突变在 PAHD 患儿中的分布 在 67 例 PAHD 患儿的 134 个 PAH 等位基因中共检测到 134 个突变基因位点,61 例患儿的 PAH 基因检测到 2 个突变位点,其中 2 例患儿 PAH 基因为纯合突变,所携带的突变基因分别为 c. 331C>T/c. 331C>T 和 c. 721C>T/c. 721C>T,纯合突变率为 2.99% (2/67),59 例患儿 PAH 基因突变为复合杂合突变。3 例患儿 PAH 基因检测到 3 个突变位点,所携带的突变基因分别为 c. 158G>A/c. 842+2T>A/c. 898G>T、c. 158G>A/c. 842+2T>A/c. 1123C>G 和 c. 158G>A/c. 158G>A/c. 842+2T>A。3 例患儿 PAH 基因检测到 1 个突变位点。

2.2 PAHD 患儿 PAH 基因突变类型及特点 67 例 PAHD 患儿 PAH 基因序列测定分析结果显示,在 134 条染色体中总计发现 44 种突变,134 个突变位点,突变位点均经一代测序验证。主要包括错义突变 27 种 (61.36%),剪接突变 8 种 (18.18%),无义突变 6 种 (13.64%),移码突变两种 (4.55%),同义突变 1 种 (2.27%)。134 个突变位点分布在第 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 和 12 外显子及第 1、4、5、7、8、10、12 内含子,其中第 2 外显子检测到的突变最多,占 21.64% (29/134);其他位置的突变频率由高到低依次为第 7 外显子 (15.67%, 21/134),第 3 外显子 (11.19%, 15/134),第 11 外显子 (10.45%, 14/134),第 6 外显子 (9.70%, 13/134),第 12 外显子 (9.70%, 13/134)。PAH 基因突变位点主要有 p. R53H (突变频率为 20.90%, 28/134), p. R243Q (突变频率为 7.46%, 10/134), p. R111X (突变频率为 6.72%, 9/134), p. Y204C (突变频率为 6.72%, 9/134), c. 442-

1G>A(突变频率为 5.22%,7/134),p. Y356X(突变频率为 3.73%、5/134), p. R413P (突变频率为 3.73%、5/134),具体突变位点情况见图 1。

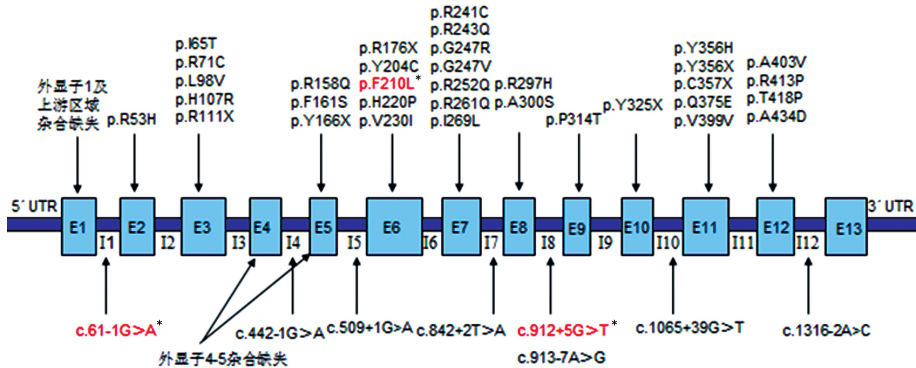
2.3 cPKU、mPKU 及 MHP 患儿 PAH 基因突变位点 石家庄市 PAHD 患儿基因突变以复合杂合突变为 主,在各型患儿中 PAH 基因高频突变位点有所不同。16 例 cPKU 患儿中共检测到突变 12 种,其中 c.1068C>A 和 c.331C>T 突变频率最高,均为 15.63%(5/32),其次为 c. 728G>A,突变频率为 12.50%(4/32);纯合突变频率为 6.25%(1/16),其余均为复合杂合突变。

11 例 mPKU 患儿中共检测到突变 12 种,其中 c.721C>T 突变频率最高,为 18.18%(4/22),其次为

c.1252A>C,突变频率为 13.64%(3/22);纯合突变频率为 9.09%(1/11),其余均为复合杂合突变。

40 例 MHP 患儿中共检测到突变 33 种,其中 c.158G>A 突变频率最高,为 35.00%(28/80),其次为 c.611A>G 和 c.728G>A,突变频率均为 6.26%(5/80),均为复合杂合突变,具体情况见表 1。

2.4 未报道的 PAH 基因 在石家庄市新生儿疾病筛查诊治中心确诊的 67 例 PAHD 患儿中发现 134 个 PAH 基因突变位点,其中有 3 个突变位点未见报道,分别为 c.912+5G>T、c.61-1G>A 和 c.630T>G,对患儿及其父母进行 Sanger 测序验证,排除多态性位点可能性,测序结果见图 2、3、4。



注：* 标注的基因突变位点为本研究中发现的未见报道基因突变位点。

图 1 67 例 PAHD 患儿 PAH 基因突变谱

表 1 67 例 PAHD 患儿 PAH 基因突变检测结果

序号	核苷酸改变	氨基酸改变	突变位置	突变性质	cPKU 等位 基因(n)	mPKU 等位 基因(n)	MHP 等位 基因(n)	PAHD 中等位 基因相对频率(%)
1	c.158G>A	p. R53H	Exon2	错义突变	0	0	28	20.90
2	c.61-1G>A	—	Intron1	剪接突变	0	0	1	0.75
3	c.194T>C	p. I65T	Exon3	错义突变	0	0	1	0.75
4	c.211C>T	p. R71C	Exon3	错义突变	0	0	1	0.75
5	c.292T>G	p. L98V	Exon3	错义突变	0	0	1	0.75
6	c.320A>G	p. H107R	Exon3	错义突变	0	0	3	2.24
7	c.331C>T	p. R111X	Exon3	无义突变	4	1	3	5.97
8	c.442-1G>A	—	Intron4	剪接突变	3	1	3	5.22
9	c.473G>A	p. R158Q	Exon5	错义突变	0	0	1	0.75
10	c.482T>C	p. F161S	Exon5	错义突变	1	0	2	2.24
11	c.498C>G	p. Y166X	Exon5	无义突变	0	0	2	1.49
12	c.509+1G>A	—	Intron5	剪接突变	0	0	1	0.75
13	c.526C>T	p. R176X	Exon6	无义突变	0	0	1	0.75
14	c.611A>G	p. Y204C	Exon6	错义突变	2	2	5	6.72
15	c.630T>G	p. F210L	Exon6	错义突变	0	0	1	0.75
16	c.659A>C	p. H220P	Exon6	错义突变	0	1	0	0.75
17	c.688G>A	p. V230I	Exon6	错义突变	0	0	1	0.75
18	c.721C>T	p. R241C	Exon7	错义突变	0	3	0	2.24

续表 167 例 PAHD 患儿 PAH 基因突变检测结果

序号	核苷酸改变	氨基酸改变	突变位置	突变性质	cPKU 等位 基因(n)	mPKU 等位 基因(n)	MHP 等位 基因(n)	PAHD 中等位 基因相对频率(%)
19	c. 728G>A	p. R243Q	Exon7	错义突变	4	1	5	7.46
20	c. 739G>C	p. G247R	Exon7	错义突变	1	1	0	1.49
21	c. 740G>T	p. G247V	Exon7	错义突变	1	0	0	0.75
22	c. 755G>A	p. R252Q	Exon7	错义突变	1	1	0	1.49
23	c. 782G>A	p. R261Q	Exon7	错义突变	0	0	1	0.75
24	c. 805A>C	p. I269L	Exon7	错义突变	0	0	1	0.75
25	c. 842+2T>A	—	Intron7	剪接突变	0	0	4	2.99
26	c. 890G>A	p. R297H	Exon8	错义突变	0	0	1	0.75
27	c. 898G>T	p. A300S	Exon8	错义突变	0	0	1	0.75
28	c. 912+5G>T	—	Intron8	剪接突变	0	1	0	0.75
29	c. 913-7A>G	—	Intron8	剪接突变	0	0	1	0.75
30	c. 940C>A	p. P314T	Exon9	错义突变	0	0	1	0.75
31	c. 975C>G	p. Y325X	Exon10	无义突变	1	0	0	0.75
32	c. 1065+39G>T	—	Intron10	剪接突变	0	0	1	0.75
33	c. 1066T>C	p. Y356H	Exon11	错义突变	0	0	1	0.75
34	c. 1068C>A	p. Y356X	Exon11	无义突变	5	0	0	3.73
35	c. 1071C>A	p. C357X	Exon11	无义突变	1	0	0	0.75
36	c. 1123C>G	p. Q375E	Exon11	错义突变	0	0	3	2.24
37	c. 1197A>T	p. V399V	Exon11	同义突变	2	1	1	2.99
38	c. 1208C>T	p. A403V	Exon12	错义突变	0	0	1	0.75
39	c. 1238G>C	p. R413P	Exon12	错义突变	3	0	2	3.73
40	c. 1252A>C	p. T418P	Exon12	错义突变	0	3	1	2.99
41	c. 1301C>A	p. A434D	Exon12	错义突变	0	2	2	2.99
42	c. 1316-2A>C	—	Intron12	剪接突变	0	0	1	0.75
43	外显子 1 及上游区域	—	Exon1	杂合缺失	1	2	0	2.24
44	外显子 4-5	—	Exon4-5	杂合缺失	0	1	0	0.75
总计	突变等位基因数量	—	134	—	30	21	83	100.00

注：—表示无数据。

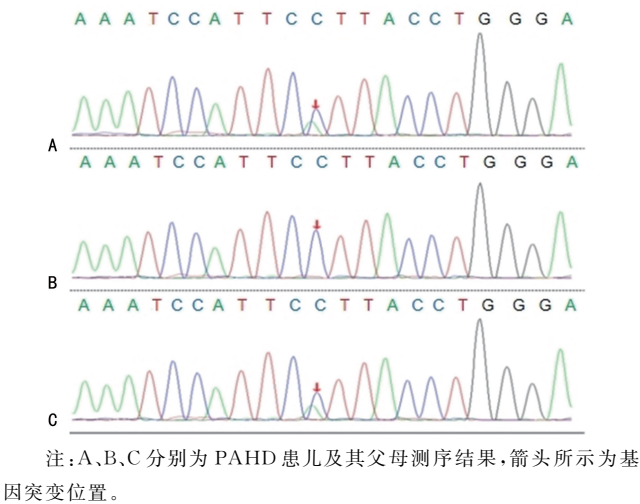


图 2PAHD 患儿及父母 PAH 基因外显子 8 中 c. 912+5G>T 杂合子剪接突变

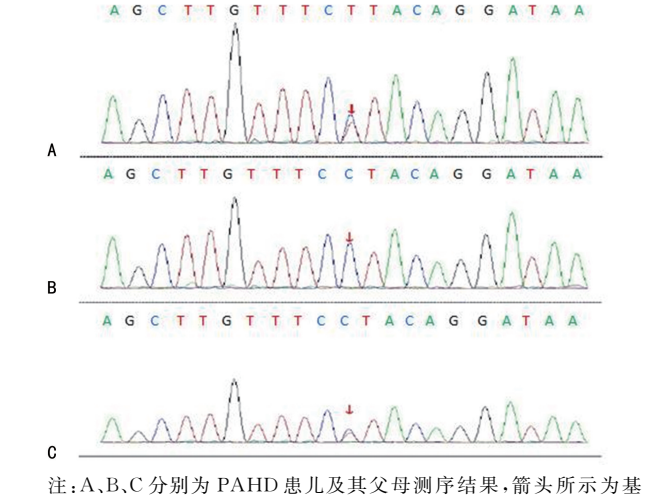
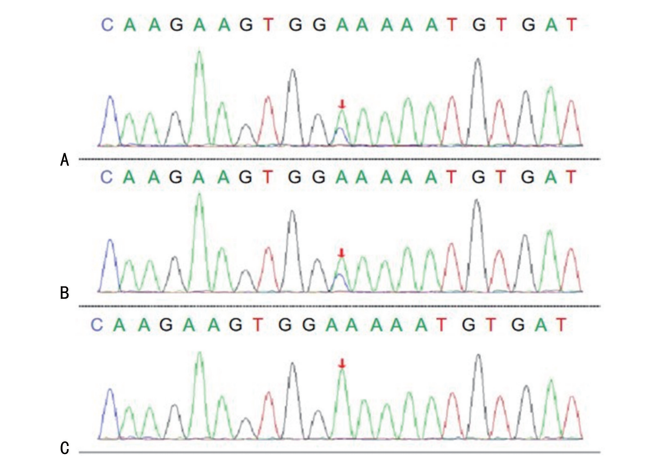


图 3PAHD 患儿及父母 PAH 基因外显子 2 中 c. 61-1G>A 杂合子剪接突变



注: A、B、C 分别为 PAHD 患儿及其父母测序结果, 箭头所示为基因突变位置。

图 4 PAHD 患儿及父母 PAH 基因外显子 6 中 c. 630T>G 杂合子错义突变

3 讨 论

PAH 基因突变是导致 PKU 发病的重要原因之一, PAH 活性受损或丧失, 使得血液中的 Phe 无法完全代谢, 在体内大量蓄积, 进一步导致 HPA, 影响患儿机体和大脑的发育。HPA 为常染色体隐性遗传病, 是少数可以治疗的遗传代谢病之一。如果通过筛查能够在早期对 HPA 进行及时确诊和治疗, 多数是可以避免其对患儿神经系统造成不可逆损伤的情况。本研究通过对 PAHD 患儿基因检测结果进行分析总结, 不仅补充、完善了石家庄市 PAHD 患儿的基因突变图谱, 并且为 PAHD 患儿家庭的遗传咨询提供了有价值的信息。

任何一种突变都有可能导致 PAH 基因结构的改变, 从而导致 PAH 活性的改变, 影响 Phe 的代谢过程。有学者报道, 在中国人群中已鉴定出的 PAH 基因突变有 100 余种^[4], PAH 基因突变在不同地区及人群中分布有所不同, 代谢表型也存在较大差异, 有研究表明, 我国华南地区 PAHD 的发生率明显低于华北地区, 中部和西部地区高于东部地区^[5-6]。构建每个地区的 PAH 基因突变谱有助于研究基因变异与表型的关系, 更好地服务于临床, 因此, 完善中国不同地区 PAH 基因突变谱的构成具有重要意义。本研究中 61 例患儿 PAH 基因突变为 2 个突变位点, 其中 2 例 PAH 基因为纯合突变基因, 所携带的突变基因分别为 c. 331C>T/c. 331C>T 和 c. 721C>T/c. 721C>T; 59 例患儿 PAH 基因突变为复合杂合突变。3 例患儿 PAH 基因突变为 3 个突变位点, 所携带的突变基因分别为 c. 158G>A/c. 842+2T>A/c. 898G>T、c. 158G>A/c. 842+2T>A/c. 1123C>G 和 c. 158G>A/c. 158G>A/c. 842+2T>A。3 例患儿 PAH 基因检测到 1 个突变位点。

PAH 基因突变的形式涵盖错义突变、剪接突变、无义突变、移码突变、同义突变等, 石家庄市 PAH 基因突变类型与之前报道的基本一致^[7], 主要有错义突变 (61.36%)、剪接突变 (18.18%)、无义突变 (13.64%) 等, PAH 基因在所有位置都有可能发生基因突变, 大多数突变集中在外显子上^[8]。PAH 基因突变具有高度遗传异质性, 突变种类繁多且分布不均, 每种突变在不同地区和人群中的发生率存在很大差异, 但某些突变位点在某些地区又存在一致性。

石家庄市 PAHD 患儿基因突变位点主要分布在第 2、3、6、7、11 和 12 外显子, 这与之前报道的中国和亚洲人群突变情况是一致的^[9-11]。然而在不同区域及人群中又存在一定的差异, 第 2 外显子检测到的突变最多, 这与文献^[9-11]报道的情况又有所不同。

本研究 67 例 PAHD 患儿中, 54.48% 的突变是由 7 个突变位点引起。最常见的基因突变位点有 p. R53H (突变频率为 20.90%)、p. R243Q (突变频率为 7.46%)、p. R111X (突变频率为 6.72%)、p. Y204C (突变频率为 6.72%)、c. 442-1G>A (突变频率为 5.22%)、p. Y356X (突变频率为 3.73%)、p. R413P (突变频率为 3.73%)。本研究结果发现, 石家庄市 PAH 基因常见突变位点排除了中国南方地区常见的 p. R241C 和 p. R408Q 突变^[12]。

基因型与临床表型之间具有一定的相关性, PAH 基因突变位点的相关研究对指导临床治疗具有重要意义, 然而带有相同 PAH 基因突变的不同 PAHD 患儿间也存在一定的表型差异, 因此, 笔者通过分析 PAHD 患儿的基因突变类型与临床表型之间的关系, 可为患儿提供个体化的治疗方案, 并且能够更好地为患儿的家庭提供遗传咨询和产前诊断的帮助。

石家庄市 PAHD 患儿基因突变以复合杂合突变为主, 其中突变频率较高的突变位点有: c. 158G>A、c. 728G>A、c. 331C>T 和 c. 611A>G、c. 442-1G>A, 提示石家庄市在开展 PAHD 产前基因诊断或进行相关基因突变研究时, 需要重点关注上述突变位点, 这与国内其他报道既有相似性也有差异性。石家庄市 c. 158G>A 突变频率最高, 与青岛市^[13]、海南省^[14]、安徽地区^[15] PAHD 患儿的 PAH 基因突变的特征一致, 而该突变位点在云南地区^[16]、青海地区^[17]、宁夏地区^[18]、陕西省^[19]、浙江省^[12]、内蒙古地区^[20]等却不是高频突变位点。c. 1068C>A 在青岛市^[21]突变频率较高, 而在石家庄市较低。

PAH 基因突变位点 c. 728G>A、c. 331C>T 和 c. 442-1G>A 与报道中我国北方群体^[22]中 PAH 基因突变情况一致, 但 c. 611A>G 不是该报道中北方群体 PAH 基因突变频率较高的突变位点, 但此突变

位点在石家庄市突变频率较高。报道中南方群体^[22]中 PAH 基因的突变位点 c. 1223G>A(p. R408Q)和 c. 498C>G(p. Y166X)在石家庄市也不是突变频率较高的突变位点。本研究探讨了石家庄市 PAHD 患儿的基因突变特点,然而在 PAHD 各型患儿中突变位点却有所不同,cPKU 患儿以 c. 1068C>A、c. 331C>T 为主,mPKU 患儿以 c. 721C>T、c. 1252A>C 为主,MHP 患儿以 c. 158G>A 为主。在突变位点中 c. 1068C>A 仅在 5 例 cPKU 患儿中检出,推测 c. 1068C>A 可能是石家庄市 cPKU 中 PAH 基因的高频突变位点;c. 331C>T、c. 442-1G>A、c. 611A>G、c. 728G>A、c. 1197A>T 在各型患儿中均有检出;c. 721C>T 仅在 3 例 mPKU 患儿(1 例为纯合突变)中检出,推测 c. 721C>T 可能是石家庄市 mPKU 中 PAH 基因的高频突变位点;c. 158G>A 仅在 27 例 MHP 患儿(1 例为纯合突变)中检出,推测 c. 158G>A 可能是石家庄市 MHP 中 PAH 基因的高频突变位点。值得注意的是,c. 158G>A 在中国北方的 mPKU 和 MHP 患者中的突变频率似乎高于其他地区,这可能代表着某些人群的扩张或迁移^[22-23]。

PAH 基因突变对酶活性的影响主要依赖于突变的位置和形式,本研究发现未报道的 3 种 PAH 基因突变位点 c. 912+5G>T、c. 61-1G>A 和 c. 630T>G,分别位于外显子 8、外显子 2 和外显子 6。c. 912+5G>T 在健康人群数据库中为低频变异,根据 ACMG 指南^[3]该变异初步判定为临床意义未明。c. 630T>G 位于基因的非保守区,在健康人群数据库中为低频变异,根据 ACMG 指南^[3]该变异初步判定为临床意义未明,使用生物信息学蛋白功能综合性预测软件 REVEL、SIFT、PolyPhen_2、Mutation Taster、GERP+预测结果分别为有害、良性、有害、有害、良性。c. 61-1G>A 位于基因的保守区,在健康人群数据库中为低频变异,根据 ACMG 指南^[3]该变异初步判定为疑似致病性变异。这 3 个位点突变形式为剪接突变和错义突变,这可能会导致酶蛋白表达异常,进而影响蛋白质的折叠及稳定性,从而影响酶蛋白的催化活性。这些变化与 PAHD 的关系亟待进一步证实。其中发生 c. 912+5G>T 突变的患儿为 mPKU,发生 c. 61-1G>A 和 c. 630T>G 突变的患儿为 MHP,这 3 个 PAH 基因突变位点在石家庄市 mPKU 和 MHP 患儿中检出,提示在进行 mPKU 和 MHP 患儿的确诊工作时应尤其注意这些突变位点的总结和分析,为以后石家庄市 mPKU 和 MHP 患儿 PAH 基因的突变类型、特点积累数据。

目前,中国已报道的 PAH 基因突变类型约有

190 余种,且大多为杂合变异类型。本研究通过分析石家庄市 PAHD 患儿 PAH 基因的突变类型、特点及与临床表型间的联系,不仅为产前诊断、遗传咨询提供了理论依据,而且对降低 PAHD 的发病率,提高人口素质具有重要意义。但本研究目前的数据量尚比较少,需要进一步增加标本数据进行综合分析。

参考文献

[1] SCRIVER C R,KANFMAN S. The metabolic and molecular basis of inherited diseases[M]. 8th ed. New York: McGraw Hill,2002:1667-1724.

[2] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组,中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会新生儿筛查学组. 高苯丙氨酸血症的诊治共识[J]. 中华儿科杂志, 2014,52(6):420-423.

[3] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. Genet Med, 2015, 17(5): 405-424.

[4] 王春艳,张雯艳,皮子凤,等. 多态性及基因测序分析方法研究苯丙酮尿症患者的基因突变[J]. 分析化学,2011,39(12):1787-1792.

[5] GU X F,WANG Z G. Screening for phenylketonuria and congenital hypothyroidism in 5.8 million neonates in China[J]. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi,2004,38(2):99-102.

[6] YANG X Y,LI R C,ZHANG M, et al. Analysis of neonatal congenital hypothyroidism and phenylketonuria screening and therapy in Xi'an from 2008 to 2013[J]. Chinese J Child Health Care,2015,23(4):427-430.

[7] BAYAT A, YASMEEN S, LUND A, et al. Mutational and phenotypical spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in Denmark[J]. Clin Genet, 2016, 90(3): 247-251.

[8] 李华锋,张力,李永丽. 苯丙氨酸羟化酶基因突变的研究进展[J]. 山东医学高等专科学校学报,2016,38(1):75-78.

[9] 何江,高晓康,邹红云. 新疆地区汉族苯丙酮尿症患儿苯丙氨酸羟化酶基因突变分析[J]. 临床检验杂志,2018,36(2):94-98.

[10] LIU N, HUANG Q, LI Q, et al. Spectrum of PAH gene variants among a population of Han Chinese patients with phenylketonuria from northern China[J]. BMC Med Genet, 2017, 18(1): 108-111.

[11] LEE D H, KOO S K, LEE K S, et al. The molecular basis of phenylketonuria in Koreans[J]. J Hum Genet, 2004, 49(11):617-621.

(下转第 171 页)

- bonomics[J]. *Nature*, 2008, 455: 1054-1056.
- [5] ZAMPIERI M, SEKAR K, ZAMBONI N, et al. Frontiers of high-throughput metabolomics[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2017, 36: 15-23.
- [6] CHEN X, YU D. Metabolomics study of oral cancers[J]. *Metabolomics*, 2019, 15(2): 22-27.
- [7] LIU R, HONG J, XU X, et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention[J]. *Nat Med*, 2017, 23(7): 859-868.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 职业性森林脑炎诊断标准: GBZ 88-2002[S/OL]. [2021-01-05]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/pyl/201212/34564.shtml>.
- [9] STEWART S, IVY M A, ANSLYN E V. The use of principal component analysis and discriminant analysis in differential sensing routines[J]. *Chem Soc Rev*, 2014, 43(1): 70-84.
- [10] WORLEY B, POWERS R. Multivariate analysis in metabolomics[J]. *Curr Metabol*, 2013, 1(1): 92-107.
- [11] KESHAVARZ M, SOLAYMANI-MOHAMMADI F, NAMDARI H, et al. Metabolic host response and therapeutic approaches to influenza infection[J]. *Cell Molecul Biol Lett*, 2020, 25(4): 15-23.
- [12] SANCHEZ E L, LAGUNOFF M. Viral activation of cellular metabolism[J]. *Virology*, 2015, 479/480: 609-618.
- [13] CHEN W, LI X M, LI A L, et al. Hepatitis C virus increases free fatty acids absorption and promotes its replication via down-regulating GADD45alpha expression[J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 2347-2356.
- [14] DENNIS E A, CAO J, HSU Y H, et al. Phospholipase A2 enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention[J]. *Chem Rev*, 2011, 111(10): 6130-6185.
- [15] BRASH A R. Arachidonic acid as a bioactive molecule[J]. *J Clin Invest*, 2001, 107(11): 1339-1345.
- [16] TALLIMA H, EL RIDI R. Arachidonic acid: physiological roles and potential health benefits-a review[J]. *J Adv Res*, 2018, 11: 33-41.
- [17] 许丹丹, 何艮. 氨基酸感知与代谢调控的研究进展[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(2): 342-351.
- [18] REEDS P J. Dispensable and indispensable amino acids for humans[J]. *J Nutr*, 2000, 130(7): 1835-1840.
- [19] GAGGINI M, CARLI F, ROSSO C, et al. Altered metabolic profile and adipocyte insulin resistance mark severe liver fibrosis in patients with chronic liver disease[J]. *Intern J Molecul Sci*, 2019, 20(24): 6333-6342.
- [20] SPITE M, CLARIA J, SERHAN C N. Resolvins, specialized proresolving lipid mediators, and their potential roles in metabolic diseases[J]. *Cell Metabol*, 2014, 19(1): 21-36.

(收稿日期: 2021-03-24 修回日期: 2021-08-13)

(上接第 166 页)

- [12] CHEN T, XU W, WU D, et al. Mutational and phenotypic spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in Zhejiang Province, China[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 17137.
- [13] 吕金峰, 候方, 王伟青, 等. 2013—2019 年青岛市新生儿高苯丙氨酸血症筛查情况及基因突变分析[J]. *山东医药*, 2020, 60(23): 76-78.
- [14] 赵振东, 黄慈丹, 许海珠, 等. 海南省 380 996 名新生儿苯丙酮尿症筛查及苯丙氨酸羟化酶基因分析[J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(26): 2054-2058.
- [15] 胡海利, 李卫东, 邵子瑜, 等. 72 例安徽地区高苯丙氨酸血症患儿苯丙氨酸羟化酶基因变异观察[J]. *山东医药*, 2018, 58(3): 70-72.
- [16] 唐新华, 陈红, 章印红, 等. 云南地区汉族苯丙酮尿症患者苯丙氨酸羟化酶基因突变的研究[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2015, 32(2): 153-157.
- [17] 何江, 徐发亮, 王惠珍, 等. 青海地区汉族苯丙酮尿症患者苯丙氨酸羟化酶基因突变分析[J]. *中国生育健康杂志*, 2015, 26(6): 512-517.
- [18] 张学红, 杨莉, 陆彪, 等. 苯丙酮尿症患者苯丙氨酸羟化酶基因突变的研究[J]. *临床儿科杂志*, 2016, 34(8): 596-601.
- [19] WANG L, WANG X, HE B, et al. Mutation analysis of the phenylalanine hydroxylase gene and prenatal diagnosis of phenylketonuria in Shaanxi, China[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2017, 30(12): 1305-1310.
- [20] 侯丽青, 冀云鹏, 朱博, 等. 内蒙古地区汉族 PKU 患儿苯丙氨酸羟化酶基因突变分析[J]. *中国妇幼健康研究*, 2020, 31(4): 464-469.
- [21] 张璋, 张立琴, 杜玮, 等. 苯丙氨酸羟化酶缺乏症患者基因型和表型关系及其临床应用的研究[J]. *临床儿科杂志*, 2020, 38(9): 671-678.
- [22] LI N, JIA H, LIU Z, et al. Molecular characterisation of phenylketonuria in a Chinese mainland population using next-generation sequencing[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(2): 15769.
- [23] ZHU T, QIN S, YE J, et al. Mutational spectrum of phenylketonuria in the chinese han population: a novel insight into the geographic distribution of the common mutations[J]. *Pediatr Res*, 2010, 67(3): 280-285.

(收稿日期: 2021-03-12 修回日期: 2021-08-18)