

## • 短篇论著 •

## 新生儿原发性肉碱缺乏症基因携带者生化和遗传特征研究\*

杨金玲, 陈大宇<sup>△</sup>, 谭建强, 黄丽华, 韦江艳, 宁海萍广西科技大学附属妇产医院/广西科技大学附属儿童医院/广西壮族自治区柳州市妇幼保健院  
新生儿疾病筛查中心, 广西柳州 545000

**摘要:**目的 探讨新生儿原发性肉碱缺乏症(PCD)携带者的生化和遗传特征。方法 回顾性分析 2017 年在该院进行生化检测和高通量测序(NGS)的 2 093 例新生儿的数据。根据是否检出 SLC22A5 基因变异分为基因正常组及携带变异基因组。根据携带变异基因的类型又分为一类变异(致病基因变异)组、三类变异(非致病基因变异)组和临床意义未明(UVS)变异组 3 个亚组。分析各组新生儿干血斑中游离肉碱(C0)水平和变异类型的关系。结果 携带变异基因组新生儿 C0 水平低于基因正常组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。一类变异组 C0 水平低于三类变异组、UVS 变异组和基因正常组, 差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。基因正常组与三类变异组、UVS 变异组之间 C0 水平比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 携带不同 PCD 变异基因的新生儿 C0 水平不同, 可建立筛查 PCD 致病基因携带者的 C0 水平参考标准, 为临床判读提供依据。

**关键词:**原发性肉碱缺乏症; SLC22A5; 基因突变; 高通量测序**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2023.03.023**文章编号:**1673-4130(2023)03-0369-04**中图法分类号:**R722.11**文献标志码:**A

原发性肉碱缺乏症(PCD)是由 SLC22A5 基因突变引起的脂肪酸氧化障碍, 属于一种常染色体隐性遗传病<sup>[1]</sup>。不同国家或不同种族人群的 PCD 发病率大多为 1/40 000~1/120 000<sup>[2]</sup>; 而在法罗群岛, PCD 是一种常见疾病, 发病率为 1/300<sup>[3]</sup>。PCD 患者可患有骨骼肌或心肌病、肌无力和肝性脑病, 如果不规范治疗, 患者终身有猝死风险<sup>[4]</sup>。若进行科学及时的规范治疗, 患者的大多数症状可逆, 长期预后良好<sup>[5]</sup>。在新生儿期, 通过串联质谱技术测定干血斑(DBS)中游离肉碱(C0)的水平筛查 PCD 的报道较多, 但关于 PCD 的遗传特征和 C0 水平间关系的报道有限。新生儿 DBS 中 C0 的水平是否能提供新生儿 PCD 的相关信息尚不清楚。本研探讨了不同 SLC22A5 基因突变携带者 C0 水平, 为通过 C0 筛查 PCD 提供依据。

**1 资料与方法**

**1.1 一般资料** 本研究为回顾性研究, 研究对象为 2017 年在本院出生的新生儿。排除以下新生儿: 父母拒绝进行高通量测序者; 有重大先天性异常以及妊娠期间母体有并发症, 如子痫前期、糖尿病、胆汁淤积、羊水过少和羊水过多等。共 2 093 例新生儿纳入本研究, 新生儿监护人均签署知情同意书, 并通过本院伦理委员会批准。根据是否检出 SLC22A5 基因变异分为无变异基因组和携带变异基因组。根据美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)遗传变异分类标准

与指南, 将携带的基因变异分为一类(致病基因变异)、三类(非致病基因变异)和临床意义未明(UVS)变异。

**1.2 方法**

**1.2.1 标本采集** 采集出生 72 h 并充分哺乳的新生儿足跟血滴于 S&S903TM 专用滤纸片, 室温干燥后 5 个工作日内递送到实验室进行相关检测。

**1.2.2 质谱检测** 使用非衍生化串联质谱试剂盒(广州丰华公司)进行游离肉碱检测。根据试剂盒要求对 DBS 进行预处理, 使用串联质谱系统(美国 ABI 3200 型)进行分析。

**1.2.3 基因检测及分析** 基因检测在北京市儿科研究所出生缺陷遗传学研究室进行。使用 TIANamp Blood DNA 试剂盒(Tiangen 公司)提取 DBS 基因组 DNA。采用二代测序技术检测与遗传性代谢紊乱相关的 166 个已知基因的外显子组。北京市儿科研究所出生缺陷遗传学研究室提供二代靶向测序对 SLC22A5 基因变异的解读报告。经检索 PubMed 上相关文献、人类基因变异数据库及 ClinVar, 明确致病性变异位点, 计算人群 SLC22A5 基因已知致病变异携带率。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS24.0 统计软件进行数据处理。计量资料采用  $M(P_{25}, P_{75})$  表示, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验, 多组间比较用

\* 基金项目: 柳州市科技计划项目(2020NBAB0803); 广西壮族自治区卫生健康委员会科研课题(Z2019290、Z20211145)。

△ 通信作者, E-mail: cdsoft@163.com。

Kruskal-Wallis  $H$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 新生儿总体情况** 2 093 例新生儿中, 男性 1 091 例, 女性 1 002 例。基因正常组 1 988 例 (94.60%), C0 水平为  $25.83(21.22, 31.33) \mu\text{mol/L}$ ; 携带变异基因组 105 例 (5.40%), C0 水平为  $24.35(19.77, 29.75) \mu\text{mol/L}$ 。两组新生儿 C0 水平比较差异有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。

**2.2 基因分析** 在 2 093 例新生儿中, 共检测 105 例新生儿携带 35 种 SLC22A5 基因变异。其中携带一类变异者 20 例, 发现 4 种基因变异; 根据出现频次, 依次为 c. 51C>G (13 例)、c. 1400C>G (5 例)、c. 338G>A (1 例)、c. 517delC (1 例); 携带 c. 51C>G 和 c. 1400C>G 变异者占致一类变异的 90% (18/20), 人群的致病变异携带率为  $1/105(20/2093)$ 。携带三类变异者 18 例, 发现 8 种基因变异。携带 UVS 变异者 75 例, 发现 23 种基因变异。见表 1。

表 1 新生儿携带 SLC22A5 基因的变异类型

ACMG 分级	基因型	变异类型	n
一类	—	—	20
	c. 51C>G	非同义突变	13
	c. 1400C>G	非同义突变	5
	c. 338G>A	非同义突变	1
	c. 517delC	移码缺失	1
三类	—	—	18
	c. 1229G>A	非同义突变	8
	c. 1195C>T	非同义突变	2
	c. 1462C>T	非同义突变	2
	c. 694A>G	非同义突变	2
	c. 1298T>C	非同义突变	1
	c. 1363C>G	非同义突变	1
	c. 191A>T	非同义突变	1
	c. 839C>T	非同义突变	1
VUS	—	—	75
	c. 1440C>T	同义突变	15

续表 1 新生儿携带 SLC22A5 基因的变异类型

ACMG 分级	基因型	变异类型	n
	c. 415G>A	非同义突变	11
	c. 572A>G	非同义突变	8
	c. 792G>A	同义突变	7
	c. 1547C>G	非同义突变	6
	c. 217G>C	非同义突变	5
	c. 1588A>G	非同义突变	4
	c. 1451-3T>C	未知	2
	c. 465+4A>C	未知	2
	c. 883G>A	非同义突变	2
	c. 1000C>T	同义突变	1
	c. 1064C>T	非同义突变	1
	c. 1165T>C	同义突变	1
	c. 1243C>T	非同义突变	1
	c. 1269C>G	非同义突变	1
	c. 289C>G	非同义突变	1
	c. 30C>T	同义突变	1
	c. 313C>T	同义突变	1
	c. 451G>A	非同义突变	1
	c. 497+6G>T	未知	1
	c. 523G>A	非同义突变	1
	c. 573G>T	非同义突变	1
	c. 944C>T	非同义突变	1

注:—表示该项无数据。

**2.3 各组新生儿 C0 水平比较** 各组新生儿出生胎龄和体质量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 而 C0 水平比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。基因正常组 C0 水平与一类变异组水平比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 而与三类基因变异组及 VUS 变异组水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。一类基因变异组 C0 水平最低, 与三类变异组和 VUS 组 C0 水平比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。三类变异组和 VUS 变异组 C0 水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组新生儿 C0 水平比较 [ $M(P_{25}, P_{75})$ ]

分组	n	胎龄(周)	出生体质量(g)	C0( $\mu\text{mol/L}$ )
基因正常组	1 988	39(38, 40)	3 150(2 900, 3 450)	25.83(21.22, 31.33)
一类变异组	20	38.5(38, 39)	3 122(2 748.72, 3 495.28)	17.75(11.46, 24.04)*
三类变异组	18	38(38, 39)	3 202(2 875.94, 3 528.06)	24.58(19.39, 29.77)△
VUS 变异组	75	39(38, 40)	3 129.33(2 698.34, 3 560.32)	27.75(22.07, 31.61)△
$H$		2.049	0.565	25.621
$P$		0.562	0.906	<0.001

注:与基因正常组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与一类变异组比较, △  $P < 0.05$ 。

### 3 讨 论

PCD 是由编码新型有机阳离子转运体(OCTN2)的 SLC22A5 基因突变引起的遗传性疾病, 可导致肉碱转运障碍, 脂肪酸氧化受损。中国各地 PCD 的发病率差异较大, 宁波 PCD 的发病率为 1/16 595<sup>[6]</sup>, 徐州为 1/23 637<sup>[7]</sup>, 广州约为 1/13 345<sup>[8]</sup>。柳州市新生儿 PCD 发病率为 1/9 332, 在脂肪酸代谢疾病中发病率最高<sup>[9]</sup>。

已报道的 SLC22A5 基因突变有 180 多种, 大部分为错义突变, 其次是无义突变和移码突变, 而剪接位点突变比较少见; 最常见的突变是外显子 1<sup>[10]</sup>。本研究的 2 093 例新生儿中, 检出一类变异 20 例, 其中 c. 51C>G 突变发生次数为 13 次, 占一类变异的 65.0% (13/20)。c. 51C>G 突变在柳州人群中具有较高的携带率, 是本研究中 SLC22A5 基因最常见的突变。本地区其他 SLC22A5 致病突变依次为 c. 1400C>G、c. 338G>A 和 c. 517delC。SLC22A5 基因的突变热点在全球不同种族和地区之间存在差异。据报道, c. 760C>T 变异是中国人群主要的变异, 但是该变异在本研究中未被检出, 也许是研究样本不够大所致<sup>[11]</sup>。本研究第一热点变异 c. 51C>G 与湖南地区的相同, 变异频率高于湖南地区(27%)<sup>[12]</sup>。据报道, PCD 致病性变异携带者 3-甲基谷胱甘肽尿(3-MGA)升高, 在没有其他代谢物的情况下, 3-MGA 升高被认为是线粒体疾病的标志<sup>[13]</sup>。在新生儿期筛查 PCD 携带者可提示后代可能的发病风险, 亦可以提示其他线粒体疾病; 同时, 新生儿的携带者状况提示对父母和家庭成员进行风险评估具有重要意义。

各地广泛采用串联质谱法检测 DSB 中 C0 水平来筛查 PCD, 诊断阈值为  $\leq 10 \mu\text{mol}$ 。本研究结果显示, 检出 SLC22A5 基因变异的新生儿 C0 水平低于基因正常的新生儿, 高于该 PCD 筛查的诊断阈值; 一类变异组 C0 水平显著低于三类变异组和 UVS 变异组。由此可见, 通过 C0 水平可初步筛查 PCD 致病基因携带者。根据 ACMG 变异分类, 常染色体隐性遗传病的疾病, 一类基因变异的纯合变异或复合/杂合变异可导致疾病的发生; 三类变异和 UVS 的临床意义未明, 其纯合变异或复合/杂合变弟能致病可能性小<sup>[14]</sup>。临幊上 PCD 致病基因携带者通常是偶然被发现的, 通过生化检测筛查一类变异基因的携带者, 可以实现群体筛查, 筛查潜在的患者, 早诊断早治疗, 降低新生儿群体中残疾和疾病的患病率。测序技术飞速发展提高了其在新生儿疾病筛查中应用的可能性。NGS 具有筛查范围广、灵敏度和特异度较高及高通量的优势<sup>[15]</sup>。但 NGS 在新生儿疾病筛查中应用的费用、检测周期和伦理道德等方面仍然存在争议。本研究提

示, 通过检测新生儿 DBS 中 C0 的浓度, 初步筛查可疑新生儿 PCD 一类变异基因的携带者; NGS 可作为生化筛查阳性实验室筛查结果的确认测试。二者联合使用能够快速准确确定基因型, 降低经济负担及监护人的焦虑情绪, 同时为遗传咨询提供依据<sup>[16]</sup>。如果新生儿 DBS 中 C0 的水平低于筛查切值, 靶向测序未能检测出变异基因, 提示此变异可能未在检测范围内, 应根据 C0 的水平和临床症状选择进一步检测的方式。这项研究的一个主要局限性是仅对于靶基因编码区的外显子组进行测序, 无法检测到调控区域或内含子中的致病变异, 以及无法检测致病基因的大片段缺失/重复或拷贝数变异。最近发现 SLC22A5 基因的 5' 非翻译区 c. -149G>A 变异被认为是 PCD 的常见原因, 但本研究的 NGS 并未涵盖该变异<sup>[17]</sup>。

综上所述, 本研究探讨了柳州地区新生儿 PCD 携带者基因型和生化表型之间的关系, 为通过 C0 水平筛查 PCD 致病变异携带者提供依据; SLC22A5 基因 c. 51C>G 突变在本地区人群中检出率最高, 属本地区热点突变。通过检测 C0 水平可筛查 PCD 致病变异携带者, 为筛查关口前移至一、二级预防提供依据。

### 参考文献

- [1] NEZU J, TAMAI I, OKU A, et al. Primary systemic carnitine deficiency is caused by mutations in a gene encoding sodium ion-dependent carnitine transporter [J]. Nat Genet, 1999, 21(1): 91-94.
- [2] THERRELL B L, LLOYD-PURYEAR M A, CAMP K M, et al. Inborn errors of metabolism identified via newborn screening: ten-year incidence data and costs of nutritional interventions for research agenda planning [J]. Mol Genet Metab, 2014, 113(1/2): 14-26.
- [3] RASMUSSEN J, NIELSEN O W, JANZEN N, et al. Carnitine levels in 26 462 individuals from the nationwide screening program for primary carnitine deficiency in the Faroe Islands [J]. J Inher Metab Dis, 2014, 37(2): 215-222.
- [4] RASMUSSEN J, DUNO M, LUND A M, et al. Increased risk of sudden death in untreated primary carnitine deficiency [J]. J Inher Metab Dis, 2020, 43(2): 290-296.
- [5] LIN Y, XU H, ZHOU D, et al. Screening 3.4 million newborns for primary carnitine deficiency in Zhejiang province, China [J]. Clin Chim Acta, 2020, 507 (2020): 199-204.
- [6] YANG X, LI Q, WANG F, et al. Newborn screening and genetic analysis identify six novel genetic variants for primary carnitine deficiency in Ningbo area, China [J]. Front Genet, 2021, 12: 686137.
- [7] ZHOU W, H LI, HUANG T, et al. Biochemical, molecu-

- lar, and clinical characterization of patients with primary carnitine deficiency via large-scale newborn screening in Xuzhou area[J]. Front Pediatr, 2019, 7:30863740.
- [8] 黄永兰,唐诚芳,刘思迟,等.广州市原发性肉碱缺乏症新生儿筛查评估及 SLC22A5 基因变异谱特征[J].中华儿科杂志,2020,58(6):476-481.
- [9] TAN J, CHEN D, CHANG R, et al. Tandem mass spectrometry screening for inborn errors of metabolism in newborns and high-risk infants in southern China: disease spectrum and genetic characteristics in a Chinese population[J]. Front Genet, 2021, 12:631688.
- [10] LONGO N, FRIGENI M, PASQUALI M. Carnitine transport and fatty acid oxidation[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1863(10):2422-2435.
- [11] LH A, FEI W B, YU W A, et al. Analysis of genetic mutations in Chinese patients with systemic primary carnitine deficiency[J]. Eur J Med Genet, 2014, 57(10):571-575.
- [12] ZHANG Y, LI H, LIU J, et al. Molecular investigation in Chinese patients with primary carnitine deficiency[J]. Mol Genet Genomic Med, 2019, 7(9):e901-e908.
- [13] ZIATS C A, BURNS W B, TEDDER M L, et al. 3-Methylglutaconic aciduria in carriers of primary carnitine deficiency[J].

• 短篇论著 •

## 外周血血管内皮生长因子和硫氧还原蛋白还原酶水平对卵巢癌的诊断价值<sup>\*</sup>

史跃燕, 刘红利<sup>△</sup>, 林 兰, 顾益凤, 张小霞

江苏省南通市肿瘤医院检验科, 江苏南通 226000

**摘要:**目的 探讨外周血血管内皮生长因子(VEGF)和硫氧还原蛋白还原酶(TrxR)水平对卵巢癌的诊断价值。方法 收集 54 例卵巢癌患者(卵巢癌组),40 例卵巢良性病变患者(良性病变组),80 例体检健康者(健康组)外周血标本,分别测定人附睾蛋白 4(HE4)、VEGF 和 TrxR 水平。分析外周血 VEGF 和 TrxR 表达水平对卵巢癌的诊断价值及其在卵巢癌手术前后与临床病理特征之间的关系。用受试者工作特征(ROC)曲线评价各指标对卵巢癌辅助诊断的价值。结果 3 组间 HE4、VEGF 和 TrxR 水平比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。外周血 VEGF、TrxR 水平与卵巢癌 FIGO 分期、病理分型及是否转移无相关性( $P > 0.05$ )。Spearman 相关性分析结果表明 HE4 和 VEGF( $r = 0.530, P < 0.001$ )、HE4 和 TrxR( $r = 0.581, P < 0.001$ )、VEGF 和 TrxR( $r = 0.566, P < 0.001$ )水平均呈正相关。VEGF、TrxR 水平用于区分卵巢癌和良性病变时的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.715、0.770;用于区分卵巢癌和健康者时,AUC 分别为 0.950、0.957。VEGF 和 TrxR 在卵巢癌手术前后差异均有统计学意义(均  $P < 0.001$ )。结论 VEGF 和 TrxR 在卵巢癌早期诊断中具有一定意义,可用于大规模筛查及手术前后疗效监测。

**关键词:**卵巢癌; 血管内皮生长因子; 硫氧还原蛋白还原酶; 联合诊断

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2023.03.024

**文章编号:**1673-4130(2023)03-0372-05

ciency[J]. Eur J Med Genet, 2022, 64(12):34637945.

- [14] 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.
- [15] HAO C, GUO R, HU X, et al. Newborn screening with targeted sequencing: a multicenter investigation and a pilot clinical study in China[J]. J Genet Genomics, 2021, 49(1):13-19.
- [16] YANG Y, WANG L, WANG B, et al. Application of next-generation sequencing following tandem mass spectrometry to expand newborn screening for inborn errors of metabolism: a multicenter study[J]. Front Genet, 2019, 10:30838026.
- [17] KCV A, AMLBC D, DBAE F, et al. Carnitine uptake defect due to a 5' UTR mutation in a pedigree with false positives and false negatives on Newborn screening[J]. Mol Genet Metab, 2020, 129(3):213-218.

(收稿日期:2022-04-25 修回日期:2022-11-20)

卵巢癌、宫颈癌和乳腺癌是女性三大肿瘤,严重

危害女性健康,卵巢癌的发病率在女性常见肿瘤中并

\* 基金项目:南通市科技计划项目(MSZ18246)。

△ 通信作者,E-mail:1275930371@qq.com。