

• 论 著 •

新疆地区 230 例苯丙氨酸羟化酶缺乏症患儿基因突变分析*

刘昱彤¹, 冯子奕², 薛淑媛^{2,3△}

1. 新疆医科大学公共卫生学院, 新疆乌鲁木齐 830011; 2. 乌鲁木齐市妇幼保健院产前诊断中心, 新疆乌鲁木齐 830000; 3. 西北大学生命科学学院, 陕西西安 710069

摘要:目的 探讨新疆地区苯丙氨酸羟化酶(PAH)缺乏症患儿基因变异频率和分布特征。方法 将 2015 年 1 月 1 日至 2023 年 2 月 28 日在乌鲁木齐市妇幼保健院确诊的 230 例 PAH 缺乏症患儿纳入研究, 分析 PAH 基因变异情况以及比较不同表型患儿的 PAH 基因变异位点。结果 新疆地区 230 例 PAH 缺乏症患儿共检出 441 个 PAH 基因变异位点, 总检出率为 95.87%。其中, 227 例患儿检测到 2 个变异位点, 2 例患儿仅检测到 1 个变异位点, 1 例患儿检测到 3 个变异位点; 复合杂合变异 217 例, 纯合变异 10 例。高频变异位点为 c.158G>A[23.39%(102/441)], c.728G>A[11.70%(51/441)], c.688G>A[5.05%(22/441)], c.721C>T[3.90%(17/441)], c.611A>G[3.67%(16/441)], c.1238G>C[3.21%(14/441)]。经典型 PKU 的高频变异位点为 c.728G>A、c.331C>T 和 c.782G>A; 轻度 PKU 的高频变异位点为 c.721C>T、c.1068C>A 和 c.1301C>A; 轻度 HPA 患儿的高频变异位点为 c.158G>A 和 c.688G>A。以上三种表型之间, 高频突变的频率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 新疆 PAH 缺乏症患儿以轻度 HPA 为主, 明确了新疆地区 PAH 基因高频变异位点, 在三种不同表型中均观察到特异性 PAH 基因变异位点, 可为产前诊断及临床遗传咨询提供理论依据。

关键词: 高苯丙氨酸血症; 苯丙酮尿症; 基因型; 表型; 遗传代谢病
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.06.012 **中图法分类号:**R722.11
文章编号:1673-4130(2024)06-0698-09 **文献标志码:**A

Gene mutation analysis of 230 children with phenylalanine hydroxylase deficiency in Xinjiang*

LIU Yutong¹, FENG Ziyi², XUE Shuyuan^{2,3△}

1. School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China; 2. Prenatal Diagnosis Center, Urumqi Maternal and Child Health Care Hospital, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 3. the College of Life Sciences, Northwestern University, Xi'an, Shaanxi 710069, China

Abstract: **Objective** To investigate the frequency and distribution characteristics of gene mutations in children with phenylalanine hydroxylase (PAH) deficiency in Xinjiang. **Methods** A total of 230 children diagnosed with PAH deficiency in Urumqi Maternal and Child Health Care Hospital from January 1st, 2015 to February 28th, 2023 were enrolled in the study. The variation of PAH gene was analyzed and the variation sites of PAH gene in children with different phenotypes were compared. **Results** A total of 441 PAH gene variants were detected in 230 children with PAH deficiency in Xinjiang, with a total detection rate of 95.87%. Among them, 2 variants were detected in 227 cases, only 1 variant was detected in 2 cases, and 3 variants were detected in 1 case. 217 cases were complex heterozygous variants, and 10 cases were homozygous variants. The high-frequency variant loci were c.158G>A[23.39%(102/441)], c.728G>A[11.70%(51/441)], c.688G>A[5.05%(22/441)], c.721C>T[3.90%(17/441)], c.611A>G[3.67%(16/441)], c.1238G>C[3.21%(14/441)]. The high-frequency variant loci for classic PKU were c.728G>A, c.331C>T, and c.782G>A; the high-frequency variant loci for mild PKU were c.721C>T, c.1068C>A, and c.1301C>A; the high-frequency variant loci for children with mild HPA were c.158G>A and c.688G>A. There were significant differences in the frequency of high frequency mutations among the above three phenotypes($P<0.05$). **Conclusion** Mild HPA predominates in children with PAH deficiency in Xinjiang. The hotspot loci of the PAH gene in Xinjiang

* 基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2020D01A26)。
作者简介: 刘昱彤, 女, 在读硕士研究生, 主要从事疾病预防与控制的相关研究。 △ 通信作者, E-mail: xueshuyuan327@gmail.com。

have been clarified, and specific PAH gene loci have been observed in the three different phenotypes, which can provide theoretical basis for prenatal diagnosis and clinical genetic counselling.

Key words: hyperphenylalaninemia; phenylketonuria; genotype; phenotype; inherited metabolic diseases

高苯丙氨酸血症 (HPA) 属于新生儿出生缺陷的一种, 其病因是编码苯丙氨酸羟化酶 (PAH) 或其辅酶四氢生物蝶呤 (BH4) 缺陷, 导致血苯丙氨酸 (Phe) 在患儿肝脏中无法正常代谢。血液中堆积过量的 Phe 和旁路代谢产物产生的神经毒性作用会导致患儿逐渐发生不可逆的发育迟缓、智力障碍、癫痫和异常行为^[1]。根据血 Phe 水平, 将 PAH 缺乏症分为经典型苯丙酮尿症 (PKU)、轻度 PKU 及轻度 HPA^[2]。PAH 缺乏症目前已成为我国新生儿遗传代谢病中患病率最高的疾病^[3]。对于此类疾病, 临床上已可防可治可控, 治疗方案因表型的不同而有所不同, 经典型 PKU 与轻度 PKU 患儿需要使用特殊食品进行治疗, 而轻度 HPA 只需定期随访监测血 Phe 水平^[1], 因此明确 HPA 的分类不仅对精准治疗至关重要, 而且可以预测出生后的饮食方案并缓解患儿家长的心理压力。本研究通过分析新疆地区 230 例 PAH 缺乏症患儿的 PAH 基因变异情况, 构建新疆地区 PAH 基因变异谱。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2015 年 1 月 1 日至 2023 年 2 月 28 日于新疆乌鲁木齐市妇幼保健院确诊的 230 例 PAH 缺乏症患儿纳入研究, 患儿均为出生满 72 h 的新生儿, 男 121 例、女 109 例, 排除 BH4 缺乏症、早产患儿、静脉输入营养液所致的暂时性 HPA 及肝功能异常和其他遗传代谢性疾病等导致的继发性 HPA。患儿监护人对本研究知情同意并签署知情同意书。本研究经乌鲁木齐市妇幼保健院医学伦理委员会批准 (XJFYLL2019035)。

1.2 方法

1.2.1 筛查方法 对出生满 72 h 并充分哺乳 6~8 次的新生儿, 用 75% 乙醇消毒后使用一次性采血针刺于足跟内或外侧, 深度 < 3 mm, 弃去第 1 滴血, 采集 4 个直径 > 8 mm 的血斑, 自然晾干, 置 4~8 ℃ 保存。采用荧光法及串联质谱法进行血 Phe 水平及 Phe 与酪氨酸 (Tyr) 比值 (Phe/Tyr) 测定, 初筛及复查血 Phe 水平 > 120 μmol/L (2.0 mg/dL) 为阳性。将筛查阳性者召回并采血, 若血 Phe 水平仍 > 120 μmol/L 则进行尿蝶呤谱分析以区分 PAH 缺乏症和 BH4 缺乏症。

1.2.2 诊断标准 参考《高苯丙氨酸血症的诊治共识》^[2], 根据血 Phe 水平对 BH4 的治疗反应分为 BH4 反应性和 BH4 无反应性 PAH 缺乏症。经 BH4 负荷

后, 任意时间点血 Phe 水平较负荷前基础值下降 ≥ 30% 者为 BH4 反应性 PAH 缺乏症, < 30% 者为 BH4 无反应性 PAH 缺乏症。通常根据治疗前的血 Phe 最高水平或摄入足够天然蛋白质情况下的血 Phe 水平, 将 PAH 缺乏症分为经典型 PKU: 血 Phe 水平 ≥ 1 200 μmol/L; 轻度 PKU: 血 Phe 水平为 360~1 200 μmol/L; 轻度 HPA: 血 Phe 水平为 120~< 360 μmol/L。

1.2.3 PAH 基因分析 用 EDTA 抗凝管抽取患儿及父母的外周静脉血 2~3 mL, 磁珠法提取 DNA, 提取物质控达标后, 进行文库构建, 应用高通量测序技术对 PAH 的相关基因进行直接测序。在 BIOPKU 数据库和 HGMD 数据库将变异位点输入进行查阅。检测到的全部变异位点按照 ACMG 指南进行致病性分析。使用生物信息学软件 MutationTaster、SIFT、PolyPhen_2 对变异基因蛋白功能的致病性进行预测。对发现的致病突变进行 PCR 扩增及 Sanger 测序, 验证高通量测序的结果, 并对患儿父母采用 Sanger 法进行目标基因突变验证。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同表型 PAH 缺乏症患儿的一般资料 纳入研究的 230 例 PAH 缺乏症患儿中, 经典型 PKU 42 例 (18.26%), 其中男 25 例、女 17 例, 治疗前血 Phe 平均水平为 2 048.19 μmol/L; 轻度 PKU 22 例 (9.65%), 其中男 15 例、女 7 例, 治疗前血 Phe 平均水平为 660.49 μmol/L; 轻度 HPA 166 例 (72.17%), 其中男 81 例、女 85 例, 治疗前血 Phe 平均水平为 180.12 μmol/L。见表 1。

表 1 不同表型 PAH 缺乏症患儿的一般资料				
PAH 缺乏症 不同表型	n (%)	性别		治疗前血 Phe 平均水平 (μmol/L)
		男	女	
经典型 PKU	42 (18.26)	25	17	2 048.19
轻度 PKU	22 (9.65)	15	7	660.49
轻度 HPA	166 (72.17)	81	85	180.12
合计	230 (100.00)	121	109	567.19

2.2 PAH 基因变异情况 230 例 PAH 缺乏症患儿的 460 个等位基因位点中, 共检出 441 个 PAH 基因

变异位点,总检出率为 95.87%,其中,227 例患儿检测到 2 个变异位点;2 例患儿仅检测到 1 个变异位点,1 例患儿检测到 3 个变异位点;复合杂合变异 217 例,纯合变异 10 例。涉及 91 种 PAH 基因变异,包含错义突变[84.81%(374/441)]、无义突变[7.26%(32/441)]、剪接突变[4.99%(22/441)]和移码突变[2.95%(13/441)]。变异位点分布在外显子 2 至外显子 12,内含子 2、内含子 4、内含子 7、内含子 8,内含子 10 至内含子 13;高频分布在外显子 2[24.04%

(106/441)]和外显子 7[23.13%(102/441)],高频分布合计占比 47.17%,见图 1。
PAH 基因变异频率由高到低依次为 c.158G>A [23.39%(102/441)]、c.728G>A [11.70%(51/441)]、c.688G>A [5.05%(22/441)]、c.721C>T [3.90%(17/441)]、c.611A>G [3.67%(16/441)]、c.1238G>C [3.21%(14/441)],以上 PAH 变异总占比为 50.92%。见表 2。

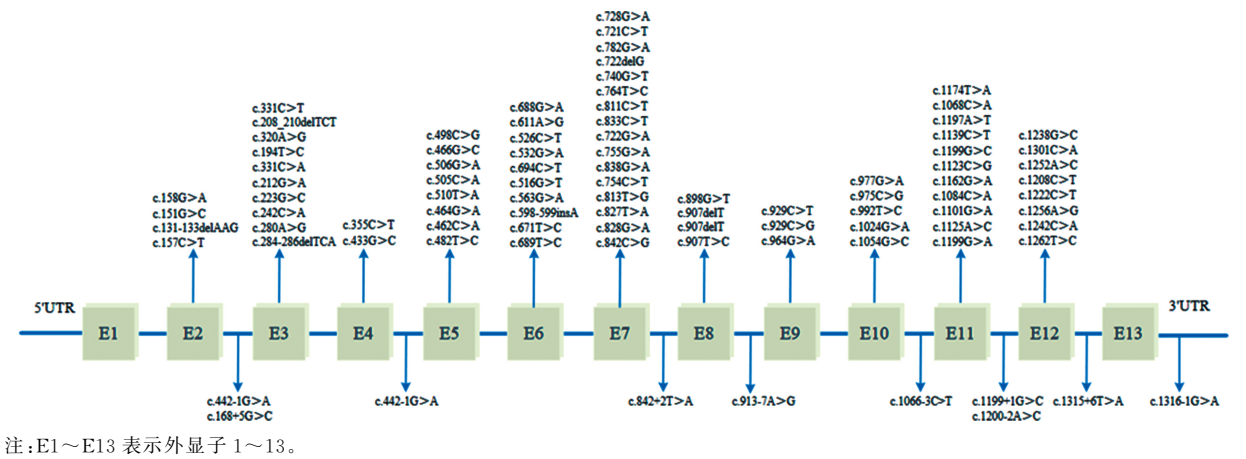


图 1 新疆地区 PAH 基因变异位点分布情况

表 2 新疆地区 PKU 患者 PAH 基因变异情况

序号	核苷酸改变	氨基酸改变	变异位点	变异类型	等位基因(n)	变异频率(%)
1	c.158G>A	R53H	Exon2	错义突变	102	23.39
2	c.728G>A	R243Q	Exon7	错义变异	51	11.70
3	c.688G>A	V230I	Exon6	错义变异	22	5.05
4	c.721C>T	R241C	Exon7	错义变异	17	3.90
5	c.611A>G	Y204C	Exon6	错义变异	16	3.67
6	c.1238G>C	R413P	Exon12	错义变异	14	3.21
7	c.1174T>A	F392I	Exon11	错义变异	11	2.52
8	c.442-1G>A	IVS4-1G>A	Intron4	剪接变异	10	2.29
9	c.1068C>A	Y356X	Exon11	无义变异	9	2.06
10	c.1301C>A	A434D	Exon12	错义变异	8	1.83
11	c.331C>T	R111X	Exon3	无义变异	7	1.61
12	c.782G>A	R261Q	Exon7	错义变异	7	1.61
13	c.898G>T	A300S	Exon8	错义变异	7	1.61
14	c.1252A>C	T418P	Exon12	错义变异	7	1.61
15	c.208_210delTCT	S70del	Exon3	移码变异	6	1.38
16	c.320A>G	H107R	Exon3	错义变异	6	1.38
17	c.1197A>T	V399V	Exon11	错义变异	6	1.38
18	c.1139C>T	T380M	Exon11	错义变异	5	1.15
19	c.194T>C	I65T	Exon3	错义变异	4	0.92

续表 2新疆地区 PKU 患者 PAH 基因变异情况

序号	核苷酸改变	氨基酸改变	变异位点	变异类型	等位基因(<i>n</i>)	变异频率(%)
20	c. 355C>T	P119S	Exon4	错义变异	4	0. 92
21	c. 498C>G	Y166X	Exon5	无义变异	4	0. 92
22	c. 722delG	R241Pfs * 100	Exon7	移码变异	4	0. 92
23	c. 1199G>C	R400T	Exon11	错义变异	4	0. 92
24	c. 1208C>T	A403V	Exon12	错义变异	4	0. 92
25	c. 1222C>T	R408W	Exon12	错义变异	4	0. 92
26	c. 1256A>G	Q419R	Exon12	错义变异	4	0. 92
27	c. 466G>C	A156P	Exon5	错义变异	3	0. 69
28	c. 506G>A	R169H	Exon5	错义变异	3	0. 69
29	c. 526C>T	R176X	Exon6	无义变异	3	0. 69
30	c. 532G>A	E178K	Exon6	错义变异	3	0. 69
31	c. 694C>T	Q232X	Exon6	无义变异	3	0. 69
32	c. 740G>T	G247V	Exon7	错义变异	3	0. 69
33	c. 764T>C	L255S	Exon7	错义变异	3	0. 69
34	c. 811C>T	H271Y	Exon7	错义变异	3	0. 69
35	c. 833C>T	T278I	Exon7	错义变异	3	0. 69
36	c. 1123C>G	Q375E	Exon11	错义变异	3	0. 69
37	c. 1315+6T>A	IVS12+6T>A	Intron12	剪接变异	3	0. 69
38	c. 151G>C	V51L	Exon2	错义变异	2	0. 46
39	c. 331C>A	A104D	Exon3	错义变异	2	0. 46
40	c. 505C>A	R169S	Exon5	错义变异	2	0. 46
41	c. 510T>A	H170Q	Exon5	错义变异	2	0. 46
42	c. 722G>A	R241H	Exon7	错义变异	2	0. 46
43	c. 755G>A	R252Q	Exon7	错义变异	2	0. 46
44	c. 838G>A	E280K	Exon7	错义变异	2	0. 46
45	c. 977G>A	W326X	Exon10	无义变异	2	0. 46
46	c. 1162G>A	V388M	Exon11	错义变异	2	0. 46
47	c. 464G>A	R155H	Exon5	错义变异	2	0. 46
48	c. 1199+1G>C	IVS11+1G>C	Intron11	剪接变异	2	0. 46
49	c. 907delT	S303fs * 38	Exon8	移码变异	1	0. 23
50	c. 131-133delAAG	Q44del	Exon2	移码变异	1	0. 23
51	c. 157C>T	R53C	Exon2	错义变异	1	0. 23
52	c. 168+5G>C	IVS2+5G>C	Intron2	剪接变异	1	0. 23
53	c. 212G>A	R71H	Exon3	错义变异	1	0. 23
54	c. 223G>C	D75H *	Exon3	错义变异	1	0. 23
55	c. 242C>A	T81N	Exon3	错义变异	1	0. 23
56	c. 280A>G	I94V	Exon3	错义变异	1	0. 23
57	c. 284-286delTCA	I95del	Exon3	移码变异	1	0. 23
58	c. 422-1G>A	IVS4-1G>A	Intron4	剪接变异	1	0. 23
59	c. 433G>C	D145H	Exon4	错义变异	1	0. 23

续表 2 新疆地区 PKU 患者 PAH 基因变异情况

序号	核苷酸改变	氨基酸改变	变异位点	变异类型	等位基因(<i>n</i>)	变异频率(%)
60	c. 462C>A	Y154X	Exon5	无义变异	1	0.23
61	c. 482T>C	F161S	Exon5	错义变异	1	0.23
62	c. 516G>T	Q172H	Exon6	错义变异	1	0.23
63	c. 563G>A	G188D	Exon6	错义变异	1	0.23
64	c. 598-599insA	Thr200Asnfs * 6	Exon6	无义变异	1	0.23
65	c. 671T>C	I224T	Exon6	错义变异	1	0.23
66	c. 689T>C	V230A	Exon6	错义变异	1	0.23
67	c. 754C>T	R252W	Exon7	错义变异	1	0.23
68	c. 813T>G	H271Q	Exon7	错义变异	1	0.23
69	c. 827T>A	M276K	Exon7	错义变异	1	0.23
70	c. 828G>A	M276I	Exon7	错义变异	1	0.23
71	c. 842C>G	P281R	Exon7	错义变异	1	0.23
72	c. 842+2T>A	IVS7+2T>A	Intron7	剪接变异	1	0.23
73	c. 907delT	Pro303Profs * 12	Exon8	移码变异	1	0.23
74	c. 907T>C	S303P	Exon8	错义变异	1	0.23
75	c. 913-7A>G	IVS8-7A>G	Intron8	剪接变异	1	0.23
76	c. 929C>T	S310F	Exon9	错义变异	1	0.23
77	c. 929C>G	S310C	Exon9	错义变异	1	0.23
78	c. 964G>A	A322T	Exon9	错义变异	1	0.23
79	c. 975C>G	Y325X	Exon10	无义变异	1	0.23
80	c. 992T>C	F331S	Exon10	错义变异	1	0.23
81	c. 1024G>A	A342T	Exon10	错义变异	1	0.23
82	c. 1054G>C	G352R	Exon10	错义变异	1	0.23
83	c. 1066-3C>T	IVS10-3C>T	Intron10	剪接变异	1	0.23
84	c. 1084C>A	P362T	Exon11	错义变异	1	0.23
85	c. 1101G>A	L367L	Exon11	剪接变异	1	0.23
86	c. 1125A>C	Q375H	Exon11	错义变异	1	0.23
87	c. 1199G>A	R400K	Exon11	错义变异	1	0.23
88	c. 1200-2A>C	IVS11-2A>C	Intron11	剪接变异	1	0.23
89	c. 1242C>A	Y414X	Exon12	无义变异	1	0.23
90	c. 1262T>C	I421T	Exon12	错义变异	1	0.23
91	c. 1316-1G>A	IVS13-2G>A	Intron13	剪接变异	1	0.23

注:Exon 表示外显子;Intron 表示内含子。

2.3 三种不同表型患儿的 PAH 基因变异位点分析

PAH 缺乏症的基因型在人群中的分布有所不同,代谢表型也有很大差别。本研究将新疆地区 PAH 基因变异频率较高的 18 种类型进行统计分析后得出,c. 158G>A、c. 728G>A、c. 688G>A、c. 721C>T、c. 1068C>A、c. 1301C>A、c. 331C>T 和 c. 782G>A 共 8 种突变的频率在 PAH 缺乏症不同表型之间比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

经典型 PKU 患儿的主要变异位点为 c. 728G>A、c. 331C>T 和 c. 782G>A;轻度 PKU 患儿的主要变异位点为 c. 721C>T、c. 1068C>A 和 c. 1301C>A;轻度 HPA 患儿的主要变异位点为 c. 158G>A 和 c. 688G>A。5 种变异位点仅在轻度 HPA 中被检出,分别为 c. 158G>A、c. 688G>A、c. 1174T>A、c. 320A>G 和 c. 1139C>T。见表 3。

2.4 特殊案例分析 本研究中发现 1 例特殊案例,

先证者为 1 名回族男性, 出生体重 3 310 g, 初筛血 Phe 水平为 559. 2 $\mu\text{mol/L}$, 复筛血 Phe 水平为 1 858. 0 $\mu\text{mol/L}$, 临床诊断为经典型 PKU。检出 c. 1222C>T 和 c. 838G>A 的杂合突变, Sanger 家系验

证报告显示, 先证者 c. 1222C>T 位点变异遗传自母亲, 但先证者的父、母 c. 838G>A 位点均为野生纯合子, c. 838G>A 可能为先证者新发突变。见图 2~4。

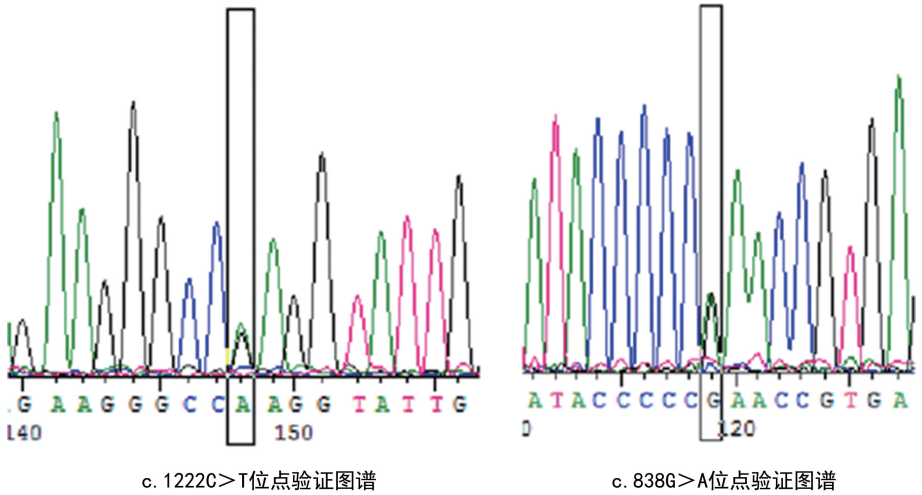


图 2 患儿 Sanger 测序验证图谱

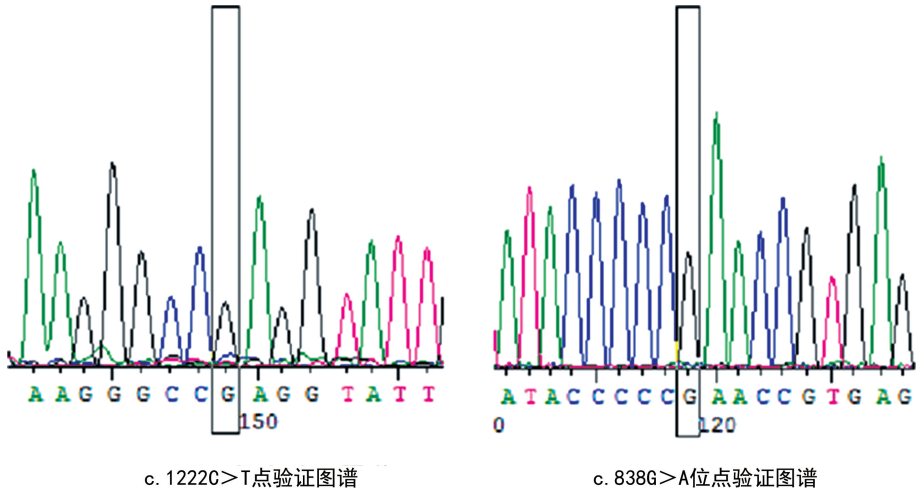


图 3 患儿父亲 Sanger 测序验证图谱

表 3 新疆地区常见 PAH 基因变异位点在不同表型中的分布[n(%)]

核苷酸改变	氨基酸改变	变异频数及频率			P	χ^2
		经典型 PKU(n=42)	轻度 PKU(n=22)	轻度 HPA(n=166)		
c. 158G>A	R53H	0(0.00)	0(0.00)	102(61.45)	<0.05	70.663
c. 728G>A	R243Q	17(40.48)	3(13.64)	31(18.67)	<0.05	9.216
c. 688G>A	V230I	0(0.00)	0(0.00)	22(13.25)	<0.05	9.902
c. 721C>T	R241C	2(4.76)	9(40.91)	6(3.61)	<0.05	24.104
c. 611A>G	Y204C	4(9.52)	0(0.00)	12(7.23)	0.439	1.754
c. 1238G>C	R413P	3(7.14)	1(4.55)	10(6.02)	0.900	0.265
c. 1174T>A	F392I	0(0.00)	0(0.00)	11(6.63)	0.146	3.365
c. 442-1G>A	IVS4-1G>A	4(9.52)	0(0.00)	6(3.61)	0.202	3.084
c. 1068C>A	Y356X	2(4.76)	3(13.64)	4(2.41)	<0.05	5.686
c. 1301C>A	A434D	2(4.76)	4(18.18)	2(1.20)	<0.05	11.802

续表 3 新疆地区常见 PAH 基因变异位点在不同表型中的分布[n(%)]

核苷酸改变	氨基酸改变	变异频数及频率			P	χ ²
		经典型 PKU(n=42)	轻度 PKU(n=22)	轻度 HPA(n=166)		
c. 331C>T	R111X	6(14.29)	1(4.55)	1(0.60)	<0.05	14.812
c. 782G>A	R261Q	4(9.52)	1(4.55)	2(1.20)	<0.05	7.283
c. 898G>T	A300S	1(2.38)	2(9.09)	4(2.41)	0.189	2.939
c. 1252A>C	T418P	1(2.38)	2(9.09)	4(2.41)	0.189	2.939
c. 208_210delTCT	S70del	0(0.00)	1(4.55)	5(3.01)	0.364	1.529
c. 320A>G	H107R	0(0.00)	0(0.00)	6(3.61)	0.638	1.313
c. 1197A>T	V399V	3(7.14)	0(0.00)	3(1.81)	0.177	3.385
c. 1139C>T	T380M	0(0.00)	0(0.00)	5(3.01)	0.750	0.818

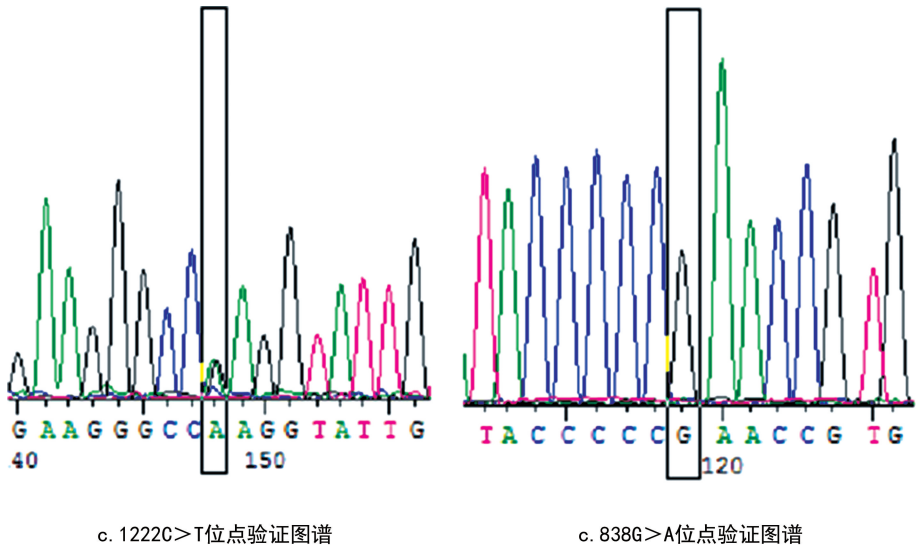


图 4 患儿母亲 Sanger 测序验证图谱

3 讨 论

HPA 是由于 PAH 或 BH4 缺乏所引起的单基因隐性遗传病^[4],目前已明确相关致病基因有 6 种,分别为 PAH、GCH1、PTS、SPR、PCBD、QDPR 和 DNAJC12^[5-6]。不同民族或地域间 PAH 基因高频变异位点的差异性使 PAH 缺乏症成为一种具有极强遗传异质性的谱系疾病。本研究通过分析新疆地区 PAH 缺乏症基因变异类型,初步评估基因型与表型的相关性,为表型预测提供一定依据,有助于新生儿 HPA 的管理及预后评估。

本研究回顾性分析了 230 例 PAH 缺乏症 PAH 基因的变异类型,点突变以错义突变(84.81%)为主,与既往研究基本一致^[7],其次为无义突变(7.26%)、剪接突变(4.99%)和移码突变(2.95%)。突变位点集中分布在外显子 2 和外显子 7 上,分别占 24.04%和 23.13%,欧洲 PAH 基因高频变异区域集中在外显子 12 和内含子 11 上,中国 PAH 基因高频变异区域集中在外显子 3 至外显子 7 和外显子 10 至外显子 12^[7],说明 PAH 基因变异位点的分布既存在种族、地

域的差异性又具有相似性。

本研究的新疆地区 230 例 PAH 缺乏症患者中,最常见的 PAH 基因变异位点为 c. 158G>A(23.39%)、c. 728G>A(11.70%)、c. 688G>A(5.05%)、c. 721C>T(3.90%)、c. 611A>G(3.67%)、c. 1238G>C(3.21%)。西北地区 PAH 基因变异高频位点为 c. 728G>A(14.00%)、c. 611A>G(5.58%)、c. 1068C>A(4.95%)、c. 1238G>C(4.74%)、c. 442-1G>A(4.32%)、c. 1197A>T(4.11%)和 c. 721C>T(4.11%)^[8],与本研究常见变异位点相似,但排序不同,本研究 PAH 基因变异频率最高的为 c. 158G>A(23.39%),与青岛^[9]和石家庄^[10]的研究报道一致。新疆地区幅员辽阔、民族众多,不同民族有其独特的 PAH 基因变异谱,而且地区之间存在差异。SU 等^[11]的研究显示,新疆南部地区少数民族患儿常见的 PAH 基因变异位点为 c. 311C>A(8.41%)和 c. 1238G>C(7.96%),但本研究中 c. 311C>A(0.46%)和 c. 1238G>C(3.21%)检出率较低,可能与新疆南北部少数民族构成比不同有关。

与何江等^[12]的 71 例新疆地区 PAH 基因检测结果比较后发现, c. 728G>A、c. 158G>A 与 c. 611A>G 是新疆地区普遍存在的 PAH 基因高频变异位点, 但本研究中 c. 688G>A 与 c. 1174T>A 检出率较高, 原因可能为本研究中包含民族较全面, 样本量较大。在既往新疆地区研究中 c. 688G>A 作为 PAH 基因高频位点未被报道过, 有此变异位点者在本研究的少数民族患儿中占比较多, 其中 1 例患儿父母为近亲结婚。以上研究结果表明, 新疆地区 PAH 基因变异谱存在地区分布和民族差异, 提示 c. 688G>A 和 c. 1174T>A 可能是新疆地区特有变异位点。

研究显示, 全球表型分布情况为经典型 PKU 占 62%, 轻度 PKU 占 22%, 轻度 HPA 占 16%; 中国的分布情况为经典型 PKU 占 62.1%, 轻度 PKU 占 27.6%, 轻度 HPA 占 10.3%^[7]。我国各地 PAH 缺乏症的表型分布不一, 福建省经典型 PKU 占 15.05%, 轻度 PKU 占 21.51%, 轻度 HPA 占 63.44%^[13]; 浙江省经典型 PKU 占 43.57%, 轻度 PKU 占 33.10%, 轻度 HPA 占 23.33%^[14]。本研究结果中, 新疆地区经典型 PKU 占 18.26%, 轻度 PKU 占 9.65%, 轻度 HPA 占 72.17%, 新疆地区轻度 HPA 占比明显高于其他地区。

PAH 缺乏症的基因型与表型存在密切联系, 在世界各地的分布具有异质性^[15-17]。不同表型 PAH 缺乏症患儿的 PAH 基因变异的高频位点不同, 本研究首次分析了新疆地区基因型与表型的相关性, 研究结果显示, 经典型 PKU 主要高频变异为 c. 728G>A、c. 331C>T 和 c. 782G>A。c. 158G>A、c. 688G>A; 轻度 PKU 高频变异为 c. 721C>T、c. 1068C>A 和 c. 1301C>A; 轻度 HPA 高频变异为 c. 158G>A 和 c. 688G>A; 3 种表型的高频变异有明显差异。此外, c. 1174T>A、c. 320A>G 和 c. 1139C>T 均只在轻度 HPA 患儿中检出, 证明以上变异与轻度 HPA 存在一定关联。甘肃^[18]和重庆部分地区^[19]的研究均显示 c. 728G>A 与轻度 PKU 及经典型 PKU 相关, 而本研究中 c. 728G>A 在经典型 PKU 患儿中检出频率最高, 在轻度 PKU 患儿中检出 c. 728G>A 的频率低于轻度 HPA 患儿。

本研究中 c. 158G>A 变异频率为 23.39%, 是新疆地区最常见的变异位点, 而且仅在轻度 HPA 患儿中被检出, 可作为新疆地区轻度 HPA 患儿的标志性变异位点。有研究表明, HPA 的致病性与患儿体内酶活性高低有关^[20], c. 158G>A 变异导致患儿体内酶活性降低, 残余酶活性降低为正常酶活性的 79%, 患儿仍有一定 Phe 代谢能力^[21], 因此临床上症状较轻, 多为轻度 HPA, 但当 c. 158G>A 与不同 PAH 基

因变异位点组合为复合杂合状态时, 可引起临床表型发生改变。新疆地区的经典型 PKU、轻度 PKU 及轻度 HPA 患儿具有独特基因型, 分析基因型与表型之间的关联性, 对不同的 PAH 基因变异对酶活性的影响进行更为深入的功能研究与随访, 可以提供更全面的遗传学信息。

综上所述, 本研究通过分析新疆地区 230 例 PAH 缺乏症患儿的 PAH 基因, 构建新疆地区的 PAH 基因变异谱发现新疆地区以轻度 HPA 患儿为主, 多为复合杂合突变, 高频变异位点为 c. 158G>A、c. 728G>A、c. 688G>A、c. 721C>T、c. 611A>G 和 c. 1238G>C。明确了 3 种不同表型的高频变异位点, 在经典型 PKU、轻度 PKU 和轻度 HPA 患儿中均观察到具有特异性的 PAH 基因型, 基因型与表型数据的结合将有助于临床医生快速明确疾病类型, 更好地改善患儿预后, 为精准产前诊断提供理论依据。

参考文献

- [1] 中华医学会医学遗传学分会遗传病临床实践指南撰写组. 苯丙酮尿症的临床实践指南[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(3): 226-234.
- [2] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组, 中华预防医学会中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业组. 高苯丙氨酸血症的诊治共识[J]. 中华儿科杂志, 2014, 52(6): 420-425.
- [3] 顾学范, 韩连书, 余永国. 中国新生儿遗传代谢病筛查现状及展望[J]. 罕见病研究, 2022, 1(1): 13-19.
- [4] VAN SPRONSEN F J, BLAU N, HARDING C, et al. Phenylketonuria[J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7(1): 36.
- [5] 梁黎黎. 高苯丙氨酸血症遗传分型与诊治[J]. 临床儿科杂志, 2023, 41(2): 92-97.
- [6] VAN WEGBERG A M J, MACDONALD A, AHRING K, et al. The complete european guidelines on phenylketonuria: Diagnosis and treatment[J]. Orphanet J Rare Dis, 2017, 12(1): 162.
- [7] HILLERT A, ANIKSTER Y, BELANGER-QUINTANA A, et al. The genetic landscape and epidemiology of phenylketonuria[J]. Am J Hum Genet, 2020, 107(2): 234-250.
- [8] 闫有圣. 西北地区苯丙酮尿症患儿 pah 基因突变谱分析及无创产前诊断的初步研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2017.
- [9] 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.
- [10] 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): 161-166.

proBNP 测定评价新生儿脓毒症心功能及预后的早期价值[J]. 中国临床新医学, 2020, 13(10): 1035-1039.

[5] 陈春燕, 程伟, 钟仕利, 等. 超声心动图参数联合血清学指标预测脓毒症患者心肌损伤的临床价值[J]. 临床超声医学杂志, 2022, 24(9): 672-676.

[6] CHU X, DI C, CHANG P, et al. Lactylated histone H3K18 as a potential biomarker for the diagnosis and predicting the severity of septic shock[J]. Front Immunol, 2022, 12: 786666.

[7] 陈明娟, 冯琳. 血清 AT-Ⅲ、G6PD 检测对新生儿败血症早期诊断及预后评估的价值分析[J]. 蚌埠医学院学报, 2023, 48(2): 174-177.

[8] 付春丽, 王俊海. 急性缺血性脑卒中病人血清 ARG1、IT-GAM 表达水平与病情及预后的关系[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(7): 1319-1322.

[9] LI J, CHEN Y, OU Z, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and intracranial atherosclerotic stenosis in stroke patients[J]. Eur J Neurol, 2022, 29(9): 2683-2689.

[10] 郑印, 郭小丹, 张正阳. 血小板参数与老年脓毒症病情严重程度及对短期预后的预测作用[J]. 临床急诊杂志, 2020, 21(4): 271-276.

[11] 曹钰, 柴艳芬, 邓颖, 等. 中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J]. 感染、炎症、修复, 2018, 34(9): 741-756.

[12] XIE J, WANG H, KANG Y, et al. The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: a national cross-sectional survey[J]. Crit Care Med, 2020, 48(3): e209-e218.

[13] WEISS S L, PETERS M J, ALHAZZANI W, et al. Surviving sepsis campaign international guidelines for the management of septic shock and sepsis-associated organ dysfunction in children[J]. Pediatr Crit Care Med, 2020, 21(2): e52-e106.

[14] 黄文辉, 何轶群, 李娟, 等. sTREM-1、Presepsin 对儿童脓毒症诊断和预后评估的价值[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(19): 7-13.

[15] 刘晖, 赵培然, 官丽梅, 等. 脓毒症患者血清 Presepsin 和炎症因子与预后的相关性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(3): 438-442.

[16] 徐涛, 李瑶, 梁君峰, 等. 超声心动图及血清肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 对脓毒症患儿的诊断及预后评估[J]. 临床超声医学杂志, 2022, 24(6): 440-444.

[17] 冶秀花. TNF- α 、IL-1 β 和 IL-18 在心肌梗死合并急性呼吸衰竭患者血清中的表达及意义[J]. 河北医药, 2019, 41(21): 3305-3308.

[18] BIN S A, JACKIMIEC J, BECHTER M, et al. Epidemiology, methods of diagnosis, and clinical management of patients with arginase 1 deficiency (ARG1-D): a systematic review[J]. Mol Genet Metab, 2022, 137(1/2): 153-163.

[19] ZHANG J X, XU W H, XING X H, et al. ARG1 as a promising biomarker for sepsis diagnosis and prognosis: evidence from WGCNA and PPI network[J]. Hereditas, 2022, 159(1): 27-39.

[20] 金英, 罗晓鑫, 梁丹丹, 等. 伴 G6PD 基因变异狼疮性肾炎患者的临床特点及基因变异分析[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2023, 32(3): 207-213.

(收稿日期: 2023-09-23 修回日期: 2023-12-30)

(上接第 705 页)

[11] SU Y, WANG H, REJIAFU N, et al. The molecular epidemiology of hyperphenylalaninemia in uygur population: incidence from newborn screening and mutational spectra[J]. Ann Transl Med, 2019, 7(12): 258.

[12] 何江, 高晓康, 邹红云. 新疆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]. 临床检验杂志, 2018, 36(2): 94-98.

[13] ZHOU J, ZENG Y, QIU X, et al. Characterization of phenylalanine hydroxylase gene variants and analysis of genotype-phenotype correlation in patients with phenylalanine hydroxylase deficiency from Fujian province, southeastern china[J]. Mol Biol Rep, 2022, 49(11): 10409-10419.

[14] 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.

[15] WANG X, WANG Y, MA D, et al. Neonatal screening and genotype-phenotype correlation of hyperphenylalaninemia in the Chinese population[J]. Orphanet J Rare Dis, 2021, 16(1): 214.

[16] TAO Y, HAN D, SHEN H, et al. Spectrum of PAH gene mutations and genotype-phenotype correlation in patients with phenylalanine hydroxylase deficiency from Shanxi province[J]. Brain Dev, 2021, 43(2): 220-229.

[17] 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.

[18] 张钊. 甘肃地区遗传代谢病的遗传图谱及 pah 基因深部内含子变异致病性研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2022.

[19] 王冬娟, 张娟, 刘浩, 等. 重庆部分地区苯丙氨酸羟化酶缺乏症患者基因突变分析[J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(9): 876-882.

[20] CHOI R, LEE J, PARK H D, et al. Reassessing the significance of the pah c. 158g>a (p. Arg53his) variant in patients with hyperphenylalaninemia[J]. J Pediatr Endocrinol Metab, 2017, 30(11): 1211-1218.

[21] 王杰, 朱博, 张丽春, 等. 苯丙氨酸羟化酶基因 c. 158g>a (p. Arg53his) 突变患儿随访及突变位点功能评估[J]. 浙江大学学报(医学版), 2021, 50(4): 444-453.

(收稿日期: 2023-08-12 修回日期: 2023-12-22)