

Analysis of G6PD gene screening results in 853 newborns—a case study of Ningxia region

Chuntao Sun¹ Youjing Sheng¹ Bin Yue² Yanna Zhang² Cui Guo²

1. Department of Pediatric Care and Neonatology, Yinchuan Maternal and Child Health Hospital, Yinchuan, Ningxia, 750001, China

2. Beijing Ganjiang Biotechnology Co., Ltd., Beijing, 100176, China

Abstract

Objective: The characteristics of neonatal glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) gene mutations in Ningxia were analyzed, which provided data support for the subsequent establishment of G6PD gene mutation map in Ningxia. **Methods:** A total of 853 neonates in Ningxia from February~April 2022 were used as the research objects, and 11 common loci of stem G6PD gene were detected by fluorescence PCR melting curve method. **Results:** Among the 853 neonates, a total of 149 cases were detected to carry G6PD gene mutations, with a total detection rate of 17.5%; 147 cases of c.1311C>T mutations, and an allele carrying rate of 17.2%. One case of c.487G>A mutation and one case of c.1311C>T/c.487G>A compound heterozygous mutation were detected, and the allele carrying rate was 0.10%. The total allele carrying rate of G6PD gene and c.1311C>T allele carrying rate were 22.3% (94/422) and 22.0% (93/422) in female subjects, respectively, which were significantly higher than those in male subjects 12.8% (55/431) and 12.5% (54/431) (both $P<0.05$). **Conclusion:** The detection rate of G6PD mutation gene in neonates in Ningxia was high, and the main mutation type was c.1311C>T mutation, and women were more likely to develop G6PD gene mutations than men. Genetic screening can significantly reduce the missed screening rate of female heterozygotes, provide scientific guidance for this population, and comprehensively improve the quality of the population in the region.

Keywords

G6PD Gene Mutation; Ningxia; Newborn

853 例新生儿 G6PD 基因筛查结果分析——以宁夏地区为例

孙春涛¹ 盛优静¹ 岳斌² 张燕娜² 郭翠²

1. 银川市妇幼保健院儿保科、新生儿科, 中国·宁夏 银川 750001

2. 北京淦江生物技术有限公司, 中国·北京 100176

摘要

目的: 分析宁夏地区新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (Glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD) 基因突变特点, 为后续建立宁夏地区G6PD基因突变图谱提供数据支撑。**方法:** 以宁夏地区2022年2~4月间853例新生儿为研究对象, 采用荧光PCR熔解曲线法对干G6PD基因11个常见位点进行检测。**结果:** 853例新生儿中, 共检出149例携带G6PD基因突变, 总检出率为17.5%; 其中c.1311C>T突变147例, 等位基因携带率为17.2%; c.487G>A 突变1例, 等位基因携带率为0.10%; c.1311C>T/c.487G>A复合杂合突变1例, 等位基因携带率为0.10%。女性受试者G6PD基因等位基因总携带率和c.1311C>T等位基因携带率分别为22.3% (94/422) 和22.0% (93/422), 均显著高于男性受试者的12.8% (55/431) 和12.5% (54/431) (均 $P<0.05$)。**结论:** 宁夏地区新生儿中G6PD突变基因检出率高, 主要突变类型为c.1311C>T突变, 且女性较男性更易发生G6PD基因突变。基因筛查可显著降低女性杂合子的漏筛率, 并为该人群提供科学指导, 综合提高本地区人口素质。

关键词

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因突变; 宁夏地区; 新生儿

1 引言

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (Glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD) 缺乏症是一种 X 染色体连锁不完全显性遗传病, 实质是 G6PD 基因突变导致 G6PD 酶缺乏^[1], 进而表现为红细

胞酶缺乏。此病在中国高发, 发病率为 0.6/1000, 临床可引起新生儿核黄疸, 溶血性贫血、高胆红素血症等, 严重者出现智力低下甚至死亡^[2-4]。目前针对该病尚无有效根治方法, 早筛查、早干预是改善该病预后的最有效的防治措施^[5]。目前国内一般采用 G6PD 酶活性检测和 G6PD/6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶 (6PGD) 比值法进行临床检测, 但该方法对女性杂合子检测的灵敏度不高^[6], 方法的局限性加之女性杂合子的酶活性具有较大的异质性, 使得女性杂合子误诊、漏诊率

【作者简介】孙春涛 (1974-), 女, 中国宁夏银川人, 本科, 副主任检验技师, 从事微生物学和免疫学检验研究。

大大提高^[7, 8]。而研究现已证实女性杂合子在食用蚕豆、服用某些药物或感染等情况下极易诱发急性溶血性贫血，甚至造成孕期流产或死胎，说明提高女性杂合子的筛查率是非常重要的以及必要的。与之相对，基因检测结果不受表型影响，准确率高的同时，还可显著降低假阳性率和女性杂合子漏筛率，是荧光筛查技术的有效补充^[9]。

基于宁夏回族自治区新生儿 G6PD 缺乏症的基因突变数据尚处空白的研究现状，本课题组对宁夏地区 853 例新生儿 G6PD 基因突变特点进行分析，初步建立了本地区 G6PD 基因突变谱，旨在为该病的诊断、防治提供数据支持，提高综合人口素质。

2 对象与方法

2.1 研究对象

以 2022 年 2~4 月期间在宁夏回族自治区妇幼保健院、吴忠市妇幼保健院、石嘴山市妇幼保健院、青铜峡市人民医院等 22 家助产机构出生的共计 853 例新生儿为研究对象，且新生儿的父母双方或一方需为宁夏户籍。所有受试者父母或监护人均接受充分的知情告知，并自愿签署知情同意书。

2.2 研究方法

2.2.1 血液样本及新生儿信息采集

由医护人员采集足跟血，制成滤纸干血斑样本，自然干燥后，密封，4℃保存备用。准确填写新生儿母亲姓名、联系方式、出生日期、性别、民族等相关信息。

2.2.2 G6PD 酶活性检测

根据《新生儿疾病筛查技术规范》，进行 G6PD 酶活性检测。结果判读：G6PD 酶活性小于 2.6U/gHb 判定为筛查阳性。

2.2.3 G6PD 基因检测

打取 1 个 3mm 血斑于 8 联管中，加入 100μl H₂O 浸泡 10min，振荡 20~30s，瞬时离心，弃液；然后加入 100μl 核酸处理液，金属浴 95℃孵育 10min，振荡 5~10s，4000rpm

离心 3min；转移 80μl 上清液到新的 8 联管中，置于 4℃冰箱暂存。

将 6.5μl E-Mix、6μl mixA/B、2μl DBS 核酸提取液和 10.5μl H₂O 加入体系中进行核酸检测。然后采用宏石 SLAN-96S 荧光 PCR 仪，同时进行基因扩增和溶解曲线分析。通过比较待检样本与野生型对照的溶解峰之间熔点（T_m 值）的差异判断样本是否发生突变及突变的类型。共检测 11 个中国人常见的 G6PD 基因突变类型：c.95A>G、c.392G>T、c.1024C>T、c.1376G>T、c.1388G>A、c.487G>A、c.517T>C、c.592C>T、c.871G> A、c.1004C>A、c.1311C>T。

2.3 统计学方法

采用 EXCEL 和 SPSS 23.0 软件处理本研究数据，计数资料用 n（%）表示，组间比较采用 χ^2 检验，P < 0.05 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 G6PD 酶活性检测结果

853 例新生儿中，共检出阳性标本 1 例：其中男性 1 例，女性 0 例，筛查阳性率为 0.1%(1/853)。

3.2 G6PD 基因筛查检测结果

853 例新生儿中，共检出 149 例（17.5%，149/853）G6PD 缺乏症基因突变：其中 c.1311C>T 突变检出 147 例（17.2%，147/853）；c.487G>A 突变检出 1 例（0.1%，1/853）；c.1311C>T/c.487G>A 复合突变检出 1 例（0.1%，1/853）。

3.3 G6PD 基因突变与性别的关系

853 例新生儿中，共有男性 431 例，女性 422 例。女性受试者 G6PD 基因等位基因总携带率和 c.1311C>T 等位基因携带率分别为 22.3%（94/422）和 22.0%（93/422），均显著高于男性受试者的 12.8%（55/431）和 12.5%（54/431），差异具有统计学意义（见表 1）。

表 1 受试者中 G6PD 基因突变检测结果

基因突变类型	性别		χ^2 值	P 值	民族		χ^2 值	P 值
	男性（n）	女性（n）			汉族（n）	回族（n）		
c.1311C>T	54	93	13.5	P<0.01	59	88	0.92	0.337
c.487G>A	1	0	/	/	0	1	/	/
c.1311C>T/c.487G>A	0	1	/	/	1	0	/	/
Total	55	94	13.4	P<0.01	60	89	0.99	0.319

3.4 G6PD 基因突变与民族的关系

853 例新生儿中，共有汉族 313 例，回族 540 例。其中汉族受试者中 c.1311C>T 等位基因携带率 18.8%（59/313），回族受试者中 c.1311C>T 等位基因携带率为 16.3%（88/540），汉族与回族在 G6PD 基因突变等位基因总携带率及 c.1311C>T 等位基因携带率上的差异均无统计学意义（见表 1）。

3.5 G6PD 基因突变与酶活性下降的关系

仅一例基因型为 c.487G > A 纯合突变的受试者检测结果为 G6PD 酶活性下降（2.5U/gHb），其余受试者酶活性水平均处于检测阈值之上。

4 讨论

G6PD 缺乏症是人类最常见的酶缺陷病之一，其发病机制是 G6PD 基因变异导致 G6PD 酶结构改变引起的 G6PD 酶

活性降低,从而影响磷酸戊糖代谢途径,导致 NADPH 生成障碍,引起溶血性贫血。迄今为止全球已发现近 200 种 G6PD 突变基因型,绝大多数为点突变,以及少数的基因片段缺失。据统计我国人群中已发现 33 种 G6PD 突变基因型^[5],其中最常见的是 c.1388G>A、c.1376G>T 和 c.95A>G^[10],与本研究结果存在一定差异。导致该差异的原因应该是由 G6PD 突变谱具有明显的地域异质性和民族异质性:如我国四川、重庆、贵州、湖南、广西、广东、海南等低纬度地区的热点突变主要为 c.95A>G、c.871G>A、c.1024C>T、c.1376G>T 和 c.1388G>A;而山东、陕西等中纬度的热点突变则主要为: c.95A>G、c.487G>A、c.1024C>T、c.1376G>T 和 c.1388G>A^[11]。宁夏位于中国西北部的黄河中上游地区,纬度相对较高,地理位置独特,加之本身为我国最大的回民聚集地,故导致宁夏 G6PD 基因主要突变与既往研究存在一定差异。

研究指出, c.1311C>T 突变是一个同义突变,不会造成氨基酸的替换,因此单独的 c.1311C>T 突变不会造成 G6PD 酶活性的变化,但其常常联合其他突变共存,这种现象与酶活性降低有关^[12-13];另有报道曾指出国内人群中 c.1311C>T 突变率介于 5.1%~24%^[14]。以上两点均与本研究结果基本一致。与之不同的是,既往研究表明 c.487G>A 突变是一个错义突变,单独出现即可导致 G6PD 酶活性的降低,本研究中一例基因型为 c.487G>A 的男性受试者 G6PD 酶活性也是低于阈值。然而值得注意的是,研究中一例基因型为 c.1311C>T/c.487G>A 的女性受试者酶活性未出现明显降低,推测原因是突变同时发生于该女性受试者的一条 X 染色体上,另外一条同源染色体未发生突变,因此该女性受试者可以正常表达一部分 G6PD 酶,故酶活性未出现明显下降。

宁夏地区 853 例新生儿中,共检出 149 例 G6PD 基因突变患儿,总检出率为 17.5%。其中 431 例男性新生儿共检出 55 例 c.1311C>T 突变,1 例 c.487G>A 突变。422 例女性新生儿中,共检出 93 例 c.1311C>T 突变,1 例 c.1311C>T、c.487G>A 复合突变。分析发现男性新生儿的 c.1311C>T 突变率显著低于女性,这与既往研究中男性新生儿 G6PD 基因突变检出率显著低于女性的结论相一致^[15-17],究其原因在于 G6PD 缺乏症是一种 X 染色体连锁不完全显性遗传病,而男性只有 1 条 X 染色体,女性则有 2 条 X 染色体^[9,18],女性携带突变基因的概率较男性更大。本研究中,汉族与回族新生儿的 G6PD 基因突变总检出率及 c.1311C>T 突变检出率均无显著差异,分析原因可能是回族人口迁入我国已久,他们长期和汉族杂居,且回汉通婚比例日益增加,这就使得回族中的阿拉伯血统逐渐稀释、本土化,这就使得当地汉族回族新生儿 G6PD 基因突变总检出率及 c.1311C>T 突变检出率均无显著差异,但是与其他地区相较又差异明显这一现象^[16]。

综上所述,宁夏地区 G6PD 基因主要突变类型为 c.1311C>T,女性新生儿无论是 G6PD 基因突变总检出率还是 c.1311C>T 突变检出率均显著高于男性。对于 G6PD 缺乏症的筛查与诊断,应采取 G6PD 酶活性检测与 G6PD 基因检测相结合的方法。本研究初步建立了宁夏地区 G6PD 基因突变谱,为本地区 G6PD 缺乏症的防治工作提供数据支持,有

助于提高综合人口素质

参考文献

- [1] Dong T, Kang X, Liu Z, et al. Altered glucometabolic affects both clinical features and prognosis of triple-negative and neoadjuvant chemotherapy-treated breast cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(6): 8159-8168.
- [2] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 第7版, 北京: 人民卫生出版社, 2010. 585-586;
- [3] Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency[J]. *Lancet*, 2008 Jan 5, 371(9606): 64-74.
- [4] Howes RE, Piel FB, Patil AP, et al. G6PD deficiency prevalence and estimates of affected populations in malaria endemic countries: a geostatistical model-based map[J]. *PLoS Med*, 2012, 9(11): e1001339.
- [5] 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): 165-177.
- [6] 杨应松, 杨梅, 钟志来, 等. 江门市新生儿 G6PD 筛查结果回顾性分析[J]. *中国当代医药*, 2019, 26(16): 138-141.
- [7] 潘捷文, 鲍幼维, 潘小莉, 等. 宁波地区新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺陷基因型分析与生化比值的方法学比较[J]. *中国卫生检验杂志*, 2020, 30(4): 442-444.
- [8] 刘晓丽, 王秋华, 黄钧, 等. 柳州地区新生儿 G6PD 缺乏症筛查结果及基因型分布. *中国妇幼保健*, 2021, 36(24): 5790-5791.
- [9] 刘珊, 李晨辉, 王淑媛, 等. 湖南湘潭地区新生儿 G6PD 基因型分布及临床研究[J]. *中国预防医学杂志*, 2020, 21(10): 1087-1090.
- [10] Zheng Y, Wang J, Liang X, et al. Epidemiology, evolutionary origin, and malaria-induced positive selection effects of G6PD-deficient alleles in Chinese populations[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2020, 8(12): e1540.
- [11] Fen L, Zhao YL, Shao YX, et al. Gene spectrum of glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD) deficiency in Guangdong province, China[J]. *Gene*, 2018, 6(78): 312-317.
- [12] 于国龙, 蒋玮莹, 杜传书, 等. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 cDNA 1311C>T 复合 11 内含子 93T>C 突变[J]. *中华血液学杂志*, 2004 (25): 610-612.
- [13] Mahmoud M, Sirdah, Mohammad E, et al. Scott Reading (2017) Possible association of 3' UTR +357 A>G, IVS11-nt 93 T>C, c.1311 C>T polymorphism with G6PD deficiency[J]. *Hematology*, 22(6): 370-374.
- [14] 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.
- [15] 陈新瑶, 梁雪雁, 黄慧莹, 等. 潮州市新生儿 G6PD 筛查和基因型鉴定分析[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(6): 881-884.
- [16] 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.
- [17] 许佳, 胡书新, 朱峰, 等. 淄博市新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏筛查及基因突变研究[J]. *华南预防医学*, 2019, 45(6): 548-550.
- [18] 蒋明, 侯家兴, 陈丕绩, 等. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的分子机制及诊断方法研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2012(23): 84-86.