

广西南宁地区 G6PD 基因突变与新生儿黄疸的关系

钟丹妮¹,高宗燕¹,刘悠南²,刘义¹,韦露明¹

(1. 广西医科大学第一附属医院儿科,广西 南宁 530021; 2. 加拿大 McGill 大学医学院,加拿大魁北克蒙特利尔 H7N 6J1)

〔摘要〕 目的 分析本地区最常见的三种基因突变型 G1388A、G1376T 和 A95G 与葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G-6-PD) 活性之间的相关性,并探讨 G-6-PD 基因突变对新生儿黄疸的影响。方法 124 例广西南宁的高胆红素血症新生儿为研究对象。应用突变特异性扩增系统法检测 G-6-PD 基因突变,应用硝基四氮唑蓝 (NBT) 定量法检测 G-6-PD 活性。比较 G-6-PD 不同基因突变型之间以及与正常组之间胆红素脑病发生率、出生 72 h 后血清胆红素峰值组间的差异。采用非条件 logistic 回归分析血清胆红素值 > 340 μmol/L 的危险度。结果 124 例中有 37 例 G-6-PD 基因突变 (G1388A 20 例, G1376T 14 例, A95G 4 例, 1 例同时存在 G1388A 与 A95G 突变)。20 例 G1388A 突变者中 5 例 (25%) G-6-PD 酶活性正常, 14 例 G1376T 突变者中 4 例 (29%) G-6-PD 酶活性正常, 4 例 A95G 突变者 G-6-PD 酶活性均缺乏。G1388A 与 G1376T 组胆红素脑病发生率及出生 72 h 后血清胆红素峰值差异无显著性。G-6-PD 突变组出生 72 h 后血清胆红素峰值、胆红素脑病发生率及血清胆红素 > 340 μmol/L 的危险度与 G-6-PD 正常组相比, 差异无显著性。结论 广西南宁地区 G-6-PD 突变仍常见 G1388A、G1376T 和 A95G 基因型。NBT 法诊断 G-6-PD 缺乏存在假阴性。不同基因型对出生 72 h 后血清胆红素峰值、胆红素脑病发生率的影响无差异。单独的 G-6-PD 基因突变对生后 72 h 血清胆红素峰值、急性胆红素脑病发生率及血清胆红素大于 340 μmol/L 危险性均无影响。

〔中国当代儿科杂志,2009,11(12):970-972〕

〔关键词〕 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症;基因型;高胆红素血症;新生儿

〔中图分类号〕 R722.17 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1008-8830(2009)12-0970-03

Relationship between glucose-6-phosphate dehydrogenase gene mutations and neonatal jaundice in Nanning, Guangxi

ZHONG Dan-Ni, GAO Zong-Yan, LIU You-Nan, LIU Yi, WEI Lu-Ming. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China (Email: danny5911@163.com)

Abstract: Objective To study the correlation between glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) activities and three common mutations of G-6-PD gene G1388A, G1376T and A95G and investigate the effects of G-6-PD gene mutations on neonatal jaundice in Nanning, Guangxi. **Methods** One hundred and twenty-four neonates from Nanning, Guangxi, with hyperbilirubinemia were enrolled. The ARMS-PCR and PCR/REA methods were used to determine G-6-PD gene mutations. G-6-PD activities were measured using the NBT method. The incidence of acute bilirubin encephalopathy and the peak bilirubin concentration 72 hrs after birth were compared between the neonates with different genotypes and between the G-6-PD mutation and normal groups. The risk of blood serum bilirubin > 340 μmol/L was evaluated by logistic regression analysis. **Results** Of the 124 cases, gene mutations were found in 37 cases, including G1388A (n = 20), G1376T (n = 14), A95G (n = 4) and G1388A + A95G (n = 1). Five cases (25%) showed normal G-6-PD activities in the G1388A gene mutation group and 4 (29%) had normal G-6-PD activities in the G1376T G1388A gene mutation group. All of 4 cases of A95G G1388A gene mutation showed a deficiency of G-6-PD activities. There were no significant differences in the incidence of acute bilirubin encephalopathy and the peak bilirubin concentration 72 hrs after birth between the G1388A and G1376T G1388A gene mutation groups. The incidence of acute bilirubin encephalopathy, the peak bilirubin concentration 72 hrs after birth and the risk of serum bilirubin > 340 μmol/L in the G-6-PD mutation group were not different from the normal group. **Conclusions** G1388A, G1376T and A95G are common G-6-PD gene mutations in Nanning, Guangxi. The false negative results may be received when the NBT method is used for diagnosis of G-6-PD deficiency. There are similar effects on the incidence of acute bilirubin encephalopathy and the peak bilirubin concentration 72 hrs after birth between different gene mutation groups. G-6-PD gene mutations alone may not contribute to the development of acute bilirubin encephalopathy and the changes of peak bilirubin concentration 72 hrs after birth and the risk of serum bilirubin > 340 μmol/L.

〔Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (12):970-972〕

Key words: Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency; Genotype; Hyperbilirubinemia; Neonate

〔收稿日期〕2009-07-03;〔修回日期〕2009-08-27
〔基金项目〕广西自然科学基金资助项目(0728117)。
〔作者简介〕钟丹妮,女,博士,副教授。主攻方向:新生儿疾病。

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PD)缺乏症是人类最常见遗传性疾病,据报道全球有4 亿人口患有G-6-PD缺乏症,而且G-6-PD 基因突变型有140 种^[1]。G-6-PD 缺乏症可无症状也可表现为新生儿黄疸^[2]及急性溶血性贫血。我院曾报告广西南宁地区新生儿高胆红素血症最常见病因为G-6-PD 缺乏症^[3]。马来西亚 Ainoon 等^[4]报告128 例G-6-PD 缺乏症的华裔新生儿中G1376T、G1388A 和A95G 3 种突变最多见。但这3 种基因突变造成的新生儿黄疸发生率、平均血清总胆红素值、需要光疗的比例以及光疗所需天数等差异均无显著性。本研究检测了南宁地区常见的3 种G-6-PD 基因突变类型,了解G-6-PD 基因突变与酶活性(NBT 法)之间的相关性,探讨不同G-6-PD 基因突变类型对新生儿黄疸的影响。

1 对象和方法

1.1 研究对象及分组

2006 年10 月至2007 年11 月入住我院新生儿科、产科的广西南宁籍足月新生儿124 例。胎龄273.8 ± 9.3 d,出生体重3 200 ± 430 g。男女比例为73:51,90%为母乳喂养。日龄总胆红素值达到或超过“考虑光疗”或“光疗”值^[5]者诊断为新生儿病理性黄疸^[6]。入选病例除外血型不合所致溶血病、头颅血肿、败血症、红细胞增多症、母乳性黄疸;并除外先天畸形、高危儿及母亲患病的新生儿。按照四氮唑蓝定量法^[7](NBT 法)及G-6-PD 基因突变检测结果,将G-6-PD 基因含G1388A、G1376T 和A95G 突变的称为突变组($n = 37$),突变组又分为G1388A、G1376T 和A95G 3 组;不含G1388A、G1376T 和A95G 突变且酶活性正常称为正常组($n = 73$)。各组间出生体重、开奶时间、排胎粪开始时间、红细胞数、血红蛋白含量、红细胞压积、网织红细胞计数等差异均无显著性。

1.2 方法

1.2.1 G-6-PD 活性测定 应用硝基四氮唑蓝(NBT)定量法。G-6-PD 活性正常值为:11.8 ~ 30 NBT 单位,G-6-PD 活性 < 6.6 NBT 单位为G-6-PD 活性显著缺乏^[7]。

1.2.2 G-6-PD 基因 G1388A、G1376T 和A95G 突变检测 经典酚/氯仿抽提法提取外周血白细胞中DNA。应用突变特异性扩增系统(ARMS)法检测G-6-PD 基因的G1388A(kaiping)和G1376T(Canton)点突变^[8]。应用聚合酶链式反应结合限制性酶

切法(PCR/REA)检测A95G 突变,引物及内切酶设计参照本院罗建明等^[9]的报道。

1.3 统计学方法

用SPSS 13.0 统计软件进行数据分析。血清总胆红素均值的比较采用方差分析及 t 检验;胆红素脑病发病率的比较采用行× 列表直接计算概率;血清胆红素值 > 340 $\mu\text{mol/L}$ 的危险度采用非条件logistic 回归分析。 $P < 0.05$,危险度 $OR > 3$,总体危险度的95% 可信区间(95% CI)不包括1 为差异有显著性。

2 结果

2.1 本地区常见 G-6-PD 基因突变类型

124 例病理性黄疸患儿中,共检出37 例G-6-PD 基因突变者,G1388A 20 例,G1376T 14 例,A95G 4 例,1 例同时存在G1388A 与A95G 突变。

2.2 NBT 法与基因突变关系

124 例黄疸患儿中,酶活性缺乏者42 例(33.9%),两组均检出G-6-PD 基因突变的病例。G-6-PD 酶活性缺乏的病例中,G1388A、G1376T 和A95G 3 种基因型者共28 例,占66.7% (28/42)。若以基因突变为金标准,NBT 法检测G-6-PD 活性结果会出现假阴性。见表1。

表1 G-6-PD 基因型及酶活性分布

基因型	例数	酶活性缺乏(例)	酶活性正常(例)	假阴性发生率(%)
G1388A	20	15	5	25
G1376T	14	10	4	29
A95G	4	4	0	0

2.3 G-6-PD 基因突变与新生儿黄疸的关系

2.3.1 出生72 h 后各组血清总胆红素峰值及胆红素脑病发生率比较 足月出生儿血清胆红素峰值多出现在出生72 h 后。突变组患儿血清总胆红素峰值与正常组比较,差异无显著性($326.7 \pm 117.6 \mu\text{mol/L}$ vs $315.1 \pm 56.7 \mu\text{mol/L}$, $t' = 0.448$, $P = 0.658$);各基因组中,由于A95G 例数较少,不参加统计学分析。经分析显示,G1388A、G1376T 和正常组血清总胆红素峰值差异也无显著性($F = 0.098$, $P > 0.05$)。

同时,本研究也发现,G6PD 突变组与正常组胆红素脑病发病率分别为16% (6/37)和4% (3/73),两组比较差异无显著性($\chi^2 = 3.315$, $P = 0.069$);G1388A、G1376T 和正常组3 组间胆红素脑病的发生率差异也无显著性($\chi^2 = 1.675$, $P = 0.196$)。见表2。

表 2 各组急性胆红素脑病发病率的比较			
组别	例数	胆红素脑病例数	发生率(%)
G-6-PD 正常	73	3	4
G1388A	20	2	10
G1376T	14	2	14
A95G	4	2	50

注：* 不参与统计学分析

2.3.2 基因突变组血清胆红素值 >340 μmol/L 的危险度 G-6-PD 基因突变组(*n* = 37,血清胆红素值 >340 μmol/L 9 例)与正常组(*n* = 73,血清胆红素值 >340 μmol/L 20 例)比较,其发生血清胆红素值 >340 μmol/L 的危险性为 0.730,总体危险比 95% *CI* 为(0.343,2.117),该区间包含 1。

3 讨论

新生儿黄疸的发生与多因素相关,不论是何种原因,黄疸严重时均可引起胆红素脑病,除了造成神经系统损害外,严重的还可能引起死亡。因此对于所有的新生儿黄疸都应积极寻找病因并积极干预。红细胞 G-6-PD 缺乏症为 X 连锁不完全显性遗传性疾病,呈世界性分布,其发病率存在地域和人种差异性。非洲、亚洲、地中海和中东的发病率较高。我国主要分布在长江以南各省,北方较少见。新生儿黄疸是 G-6-PD 缺乏症最常见的临床症状,有报道 G-6-PD 缺乏的新生儿中,1/3 呈现黄疸。2004 年美国儿科学会制订的 ≥35 周新生儿高胆红素血症诊疗方案中提出 G-6-PD 缺乏为 ≥35 周新生儿高胆红素血症的高危因素^[10]。广西人群最常见的 3 种突变型为 G1388A、G1376T、A95G。本资料 G-6-PD 酶活性缺乏的病例中,3 种基因型占 66.7%,与广西过去报道类似^[11]。对于 G-6-PD 基因型与新生儿黄疸程度之间关系报告不多。Ainoon 等^[4]报道 G1376T、G1388A 和 A95G 3 种突变在当地华裔新生儿中最多见。Kaplan 等^[12]报道指出:非洲裔美国 G-6-PD 缺乏新生儿和非洲裔美国 G-6-PD 正常组新生儿比较,胆红素峰值和胆红素脑病发生率差异无显著性,但前者总胆红素大于第 75 百分位比率,大于第 95 百分位比率及执行光疗比率均大于后者;本研究发现,不考虑 UGT1A1 基因型,G-6-PD 基因突变组与正常组的胆红素脑病发病、总胆红素峰值差异均无显著性。G-6-PD 基因突变组与正常组的新生儿血清总胆红素 >340 μmol/L 发病的总体机会比为 0.731,二者之间差异无显著性。与 Kaplan

等^[12]的研究相似。目前资料不能证明本地区常见的不同 G-6-PD 基因突变组间新生儿黄疸程度存在差异。傅雯萍等^[13]报道,在 G71R 野生型中,G-6-PD 缺乏组与正常组相比,生后前 3 d 胆红素值间差异无显著性;G-6-PD 缺陷新生儿中,同时合并有 G71R 突变纯合子或杂合子的新生儿生后第 2 天、第 3 天胆红素浓度高于 G71R 正常组,提出 G6PD 缺乏与 G71R 基因突变并存可加重新生儿黄疸程度。本研究发现 G-6-PD 基因突变对新生儿生后 72 h 胆红素峰值及胆红素脑病无影响。但是否在 UGT1A1 基因突变共存时两者相互发挥协同的致黄疸作用还有待进一步探讨。

[参 考 文 献]

[1] Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency[J]. Lancet, 2008, 371(9606):1886-1888.

[2] Watchko JF. Hyperbilirubinemia and bilirubin toxicity in the late preterm infant[J]. Clin Perinatol, 2006, 33(4):839-852.

[3] 何秋英,刘悠南. 广西 G-6PD 缺陷致新生儿黄疸[J]. 广西医科大学学报, 2000, 17(3):504.

[4] Ainoon O, Boo NY, Yu YH, Cheong SK, Hamidah HN, Lim JH. Complete molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency in a group of Malaysian Chinese neonates[J]. Malays J Pathol, 2004, 26(2):89-98.

[5] 中华医学会儿科学分会新生儿组. 新生儿黄疸干预推荐方案[J]. 中华儿科杂志, 2001, 39(3):185-187.

[6] 薛辛东. 新生儿黄疸[M]. //杨锡强,易著文. 儿科学. 第 6 版. 北京:人民卫生出版社, 2004, 133-136.

[7] 杜传书,芮琳. 红细胞葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性的四氮唑蓝定量法[J]. 中国血液学杂志, 1981, 2(3):188.

[8] 杜传书,任晓琴,江悦华,陈路明,蒋玮莹. 应用 ARMS 法检测广东省常见的三种葡萄糖-6-磷酸脱氢酶基因点突变[J]. 中华血液学杂志, 1999, 20(4):191-193.

[9] 罗建明,李幕军,唐霞,梁徐. 变性高效液相联合测序及酶切检测广西葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的基因型[J]. 中华血液学杂志, 2005, 26(10):607-611.

[10] American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation[J]. Pediatrics, 2004, 114(1):297-316.

[11] 郑敏,罗建明. 广西地区 G-6-PD 缺乏症患儿的基因突变型与临床表现[J]. 中国妇幼保健, 2007, 22(10):1329-1330.

[12] Kaplan M, Herschel M, Hammerman C, Hoyer JD, Stevenson DK. Hyperbilirubinemia among African American, glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient neonates [J]. Pediatrics, 2004, 114(2):213-219.

[13] 傅雯萍,王维亚,王恒. 葡萄糖醛酸转移酶 1A1G71R 突变和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺陷对新生儿胆红素浓度的影响[J]. 中国实用儿科, 2006, 21(6):453-454.

(本文编辑:王庆红)