

湖南地区 21-羟化酶缺乏症临床表型与基因型研究



扫码阅读电子版

陶慧慧^{1,2} 陈曦¹ 谭新睿¹ 李师君¹ 张星星¹

¹中南大学湘雅二医院儿科,长沙 410011;²南华大学附属第一医院儿科,湖南 衡阳 421001

通信作者:张星星,Email:zhangxingxing@csu.edu.cn

【摘要】 目的 探究湖南地区 21-羟化酶缺乏症基因突变特点及基因型与临床表型的关系。**方法** 收集 2016 年 3 月至 2017 年 3 月就诊于中南大学湘雅二医院儿科并确诊为 21-羟化酶缺乏症的 48 例患儿,根据患儿的临床表现及生化特点,分为失盐型(SW)和单纯男性化型(SV)。采用 Sanger 测序和多重连接探针扩增技术 (MLPA) 检测 *CYP21A2* 基因突变,将基因诊断阳性者按突变严重程度分为重度突变组、中度突变组、未知突变组,探讨基因型与临床表型的关系。**结果** 1. 在 48 例 21-羟化酶缺乏症患儿中 SW 型 28 例,SV 型 20 例。SW 型初诊年龄明显小于 SV 型,差异有统计学意义 ($U=44.5, P<0.05$),SW 型患者肾上腺危象发生率高,SV 型患者骨龄提前及性早熟发生率较高。2. *CYP21A2* 基因异常阳性者 44 例,阳性率达 91.7%,88 个等位基因共检测到 14 种变异,分别为 I2G、Del、I173N、R357W、R484fs (c. 1451_1452delGGinsC、c. 1450dupC)、R483fs、G111Vfs * 21、Q319X、c. 292 + 1G > A、c. 377C > G、E6Cluster、p. H393Q、m. 1647C > T,最常见的 3 种变异分别为 I2G (36.4%)、I173N (20.4%) 和 Del (22.7%),其中 p. H393Q、m. 1647C > T 为 2 种新发变异。SW 型中最常见的变异为 I2G (47.3%) 和 Del (27.3%);SV 型中最常见的变异为 I173N (48.5%)。3. 重度突变组 29 例,其中 SW 型 26 例;中度突变组 13 例,其中 SV 型 12 例。重度突变组对 SW 型的预测值为 89.7%,中度突变组对 SV 型的预测值为 92.3%。**结论** 湖南地区 21-羟化酶缺乏症的热点突变基因为 I2G、I173N、Del,三者共占 79.5%,重度突变组对 SW 型、中度突变组对 SV 型的预测值高,基因型与临床表型密切相关。

【关键词】 21-羟化酶缺乏症;基因型;临床表型;*CYP21A2* 基因

DOI:10.3760/cma.j.cn101070-20190121-00043

Analysis of clinical phenotype and genotype in patients with 21-hydroxylase deficiency in Hunan

Tao Huihui^{1,2}, Chen Xi¹, Tan Xinrui¹, Li Shijun¹, Zhang Xingxing¹

¹Department of Pediatrics, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China;²Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Corresponding author: Zhang Xingxing, Email: zhangxingxing@csu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the clinical characteristic, gene mutations and genotype-phenotype correlation of 21-hydroxylase deficiency (21-OHD) in Hunan. **Methods** A total of 48 patients with 21-OHD who were admitted to the Department of Pediatrics, the Second Xiangya Hospital, Central South University from March 2016 to March 2017 were collected. According to the clinical manifestations and biochemical characteristics of the patients, they were divided into salt wasting (SW) and simple virilizing (SV). Sanger sequencing combined with multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) were used to detect the mutations of *CYP21A2* gene. The patients were divided into 3 groups according to their mutations severity: severe mutation group, moderate mutation group and unknown mutation group. Then, the correlation between genotype and phenotype was analyzed. **Results** (1) Forty-eight 21-OHD patients included 28 SW cases and 20 SV cases, and the first visiting age of SW was younger than that of SV, and the difference was statistically significant ($U=44.5, P<0.05$). The SW cases had high incidence rate of adrenal crisis and the SV patients were liable to advanced bone age and precocious puberty. (2) Forty-four patients were detected abnormal gene mutation and the positive rate of genetic diagnosis was 91.7%. Fourteen mutation types including I2G, Del, I173N, R357W, R484fs (c. 1451_1452delGGinsC, c. 1450dupC), R483fs, G111Vfs * 21, Q319X, c. 292 + 1G > A, c. 377C > G, E6Cluster, p. H393Q and m. 1647C > T, were found in 88 alleles. The most frequent mutations were I2G (36.4%), I173N (20.4%), and Del (22.7%). p. H393Q and m. 1647C > T were 2 novel mutations. I2G (47.3%) and Del (27.3%) were the most frequent mutations in SW cases, and I173N (48.5%) was the most frequent mutation in SV cases. (3) Severe mutation was in 29 patients, including 26 SW, and moderate mutation was in 13 patients, including 12 SW. The percentage of SW in severe mutation group was 89.7% and SV in moderate mutation was 92.3%. **Conclusions** I2G, I173N and Del were the frequent mutations of 21-OHD in Hunan, and the total percentage was 79.5%. Genotype of 21-OHD has strong correlation with clinical phenotype, which can effectively predict SW by severe mutation and predict SV by moderate mutation.

【Key words】 21-hydroxylase deficiency; Genotype; Clinical phenotype; *CYP21A2* gene

DOI:10.3760/cma.j.cn101070-20190121-00043

先天性肾上腺皮质增生症(CAH)是一组由于肾上腺皮质激素合成途径中酶缺陷引起的疾病,发病率为 $1/20\,000 \sim 1/10\,000$ ^[1-2],其中以21-羟化酶缺乏症(21-OHD)最常见,占本病的90%~95%^[3]。根据21-羟化酶(CYP21)缺陷的严重程度,临床分为失盐型(SW)、单纯男性化型(SV)^[4-5]和非经典型(NC),其作为一种常染色体隐性遗传疾病,诊断主要是根据临床表现及生化结果,基因检测是确诊的金标准。*CYP21A2*基因的不同突变可使CYP21活性不同程度丧失,突变程度越重,临床表现越严重。21-OHD发病情况及基因突变频率有明显的地区与种族差异,国内外均有相关文献报道^[6-12],本研究通过探讨湖南地区21-OHD的临床表现及基因特点,了解21-OHD热点突变,扩大了*CYP21*基因突变数据库,进一步研究基因型与临床表型的关系,为临床工作提供参考价值及指导意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择2016年3月至2017年3月因肾上腺危象、外生殖器畸形或CAH新生儿筛查阳性等就诊于中南大学湘雅二医院儿科门诊及住院部的患儿50例(均行*CYP21A2*基因检测),所有患者全部来自湖南地区,均为汉族,其中48例最终确诊为21-OHD,另2例于外院误诊为CAH,但*CYP21A2*基因检测阴性,最后确诊为先天性肾上腺发育不良。

21-OHD的临床诊断标准参考2018国际CAH 21-OHD指南^[5]及2016国内CAH 21-OHD诊治共识。本研究通过中南大学湘雅二医院伦理委员会批准[批准文号:2019(053)号],患儿监护人均签署知情同意书,并签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 临床资料收集 根据48例21-OHD患儿的临床表现及生化特点,本组患儿可分为SW组和SV组。SW诊断依据:起病早,皮肤黏膜色素沉着,女童外阴男性化,伴呕吐、腹泻、体质量不增、脱水、代谢性酸中毒、低钠血症、高钾血症或肾上腺危象,17-羟孕酮(17-OHP)明显升高;SV诊断依据:女童外阴男性化,男童性早熟,17-OHP明显升高,但电解质正常,或新生儿筛查17-OHP高于正常切值且后续随访中17-OHP持续增高达指南诊断标准但尚无其他临床症状者。

收集不同组别患儿初诊时年龄、皮肤黏膜色素沉着、两性畸形、阴茎增大、呕吐或腹泻、脱水、电解质紊乱、肾上腺危象、中枢性性早熟、骨龄提前等临床资料及2组患儿接受糖皮质激素治疗前血17-OHP、促皮质素(CTH)、皮质醇、血钠、血钾等情况,其中血17-OHP、CTH、皮质醇均于早上8:00空腹采血,血清电解质采血时间无特殊要求。

1.2.2 基因检测 采用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管

抽取患儿及其父母外周血各2 mL,提取DNA,采用Sanger测序联合多重连接探针扩增技术(MLPA)行*CYP21A2*基因检测,Sanger测序检测基因点突变,MLPA检测基因重复与缺失。其中11例单用Sanger测序方法,39例采用Sanger测序+MLPA方法检测*CYP21A2*基因。*CYP21A2*基因变异数据库来源比对人类基因突变数据库(HGMD)、美国国家生物技术信息中心(NCBI)、千人基因组计划。

1.2.3 基因型分组 将*CYP21A2*基因诊断阳性者44例根据不同基因变异类型所致残余CYP21活性程度,将检测到的基因变异进行分组^[6],携带I2G、Del、R357W、R484fs(c. 1451_1452delGGinsC、c. 1450dupC)、R483fs、G111Vfs*21、Q319X、c. 292+1G>A、c. 377C>G、E6Cluster纯合突变及其之间的复合杂合突变定为重度突变组;携带I173N纯合突变、I173N与重度突变的复合杂合突变定为中度突变组;携带新突变p. H393Q、m. 1647C>T的患儿定为未知突变组。统计*CYP21A2*基因各突变类型出现的频率,探讨21-OHD基因型与临床表型不同组别之间的关系,分析不同基因突变组对临床表型的预测值。

1.3 统计学处理 采用SPSS 19.0统计软件处理数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差齐性检验采用Levene检验,方差齐性资料组间比较采用 t 检验,方差不齐资料组间比较采用Mann-Whitney U 检验,计数资料采用百分比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,双变量相关性分析采用Pearson相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料 48例21-OHD中SW型28例(男21例,女7例),SV型20例(男8例,女12例),SW型与SV型有性别分布差异($\chi^2 = 6.03, P = 0.014$)。在SW型中,初诊年龄中位数28 d(1 d~3个月),其中1月龄内就诊19例,1~2月龄就诊8例,3月龄就诊1例。SV型中,初诊年龄中位数0.4岁(44 d~5岁6个月),1岁以内就诊9例,1岁以上就诊11例,SW型初诊年龄明显小于SV型,差异有统计学意义($U = 44.5, P = 0.000$)。48例21-OHD患儿的临床表现见表1。

2.2 生化结果 所有21-OHD患儿使用糖皮质激素治疗前的生化检查结果,SW组与SV组比较,血17-OHP、ACTH及皮质醇差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),血钠、血钾差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。21-OHD患儿17-OHP、ACTH、皮质醇与血钠、血钾均无明显相关性($P > 0.05$),血钠与血钾呈负相关($r = -0.623, P = 0.000$),见表2。

2.3 基因结果 48例患儿中*CYP21A2*基因异常阳性者44例,同时对其父母进行验证,检测到父母相同等位基因上*CYP21A2*杂合变异。*CYP21A2*基因阴性者4例,

表 1 21-OHD 患儿 48 例临床特征 [例(%)]

Table 1 Clinical manifestations of 48 children with 21-OHD [case(%)]

临床表现	SW 型	SV 型
皮肤黏膜色素沉着	21(75.0)	13(65.0)
两性畸形、阴蒂肥大	7(25.0)	12(60.0)
阴茎粗大	5(17.9)	6(30.0)
呕吐、腹泻、脱水	27(96.4)	0
体质量不增	11(39.3)	0
低钠血症	28(100.0)	0
高钾血症	28(100.0)	0
代谢性酸中毒	21(75.0)	0
肾上腺危象	21(75.0)	0
心律失常	1(3.6)	0
骨龄提前	2(7.1)	9(45.0)
生长加速	0	7(35.0)
中枢性早熟	0	5(25.0)

注:21-OHD;21-羟化酶缺乏症;SW:失盐型;SV:单纯男性化型
21-OHD;21-hydroxylase deficiency;SW:salt wasting;SV:simple virilizing

表 2 21-OHD 患儿 SW 组与 SV 组生化资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of biochemical data of children with 21-OHD between SW group and SV group ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	17-OHP (nmol/L)	ACTH (ng/L)	皮质醇 (nmol/L)	Na ⁺ (mmol/L)	K ⁺ (mmol/L)
SW 组	28	321 ± 259	351 ± 293	118 ± 157	119.7 ± 9.7	7.35 ± 1.44
SV 组	20	219 ± 203	245 ± 260	141 ± 177	138.1 ± 2.3	4.74 ± 0.46
t/U 值		1.468	1.293	0.336	0.000	0.500
P 值		0.149	0.202	0.738	0.000	0.000

注:21-OHD;21-羟化酶缺乏症;SW:失盐型;SV:单纯男性化型;
17-OHP;17-羟孕酮,参考值 0.9 ~ 6.5 nmol/L;ACTH:促皮质素,参考值
0 ~ 46 ng/L;皮质醇参考值 85 ~ 618 nmol/L;Na⁺参考值 135 ~ 145 mmol/L;
K⁺参考值 3.5 ~ 5.5 mmol/L 21-OHD;21-hydroxylase deficiency;SW:
salt wasting;SV: simple virilizing; 17-OHP: 17-hydroxyprogesterone,
reference ranges 0.9 ~ 6.5 nmol/L; ACTH: adrenocorticotrophic hormone,
reference ranges 0 ~ 46 ng/L; cortisol reference ranges 85 ~ 618 nmol/L; Na⁺
reference ranges 135 ~ 145 mmol/L; K⁺ reference ranges 3.5 ~ 5.5 mmol/L

4 例临床诊断为 21-OHD 患儿未检测到 *CYP21A2* 基因
变异,均无失盐表现,为 SV 型。44 例 *CYP21A2* 基因变
异患儿中,纯合变异 21 例(47.7%),复合杂合变异 23
例(52.3%),88 个等位基因上共检测到 14 种变异。其
中重度突变组 29 例,中度突变组 13 例,未知突变组 2
例。具体基因突变情况见表 3。

2.4 基因变异频率 14 种基因变异中最常见的 3 种基
因变异类型分别为 I2G(36.4%)、I173N(20.4%)和 Del
(22.7%),3 者共占 79.5%,其次为 R357W(4.6%),
c. 1447dupC、c. 1451_1452delGGinsC、c. 1450dupC 均导致
第 483 或 484 位氨基酸发生框移突变,共 4.6%,Q319X
无义突变(2.3%),c. 292 + 1G > A(2.3%),c. 377C > G
(1.1%),E6Cluster(1.1%),G111Vfs * 21(1.1%)。
p. H393Q、m. 1647C > T 为 2 个新发现的变异,此变异在
DYDF、dbSNP、千人基因组、千人南方、千人北方、ExAC
正常人群数据库中未见收录,经 Provean、Polyphen2、
Sift、Mutationtaster、REVEL 等软件预测为有害,在
OMIM、HGMD、Clinvar 疾病数据库中均无报道。经美国
医学遗传学与基因组学学会(ACMG)分级综合评估为
可能致病性变异。其中 SW 型中最常见的变异类型为

表 3 基因阳性 21-OHD 患儿 44 例基因结果与临床表型

Table 3 Genetic results and clinical phenotype of 44 cases of 21-OHD with abnormal gene mutation

病例	性别	基因检测结果			临床表型
		变异类型	突变基因	基因型分组	
1	男	纯合	I2G 纯合	A	SW
2	男	复合杂合	I2G 杂合/del 杂合	A	SW
3	男	纯合	I2G 纯合	A	SW
4	男	复合杂合	I2G 杂合/R483fs 杂合	A	SW
5	男	复合杂合	I2G 杂合/c. 377C > G 杂合	A	SW
6	男	纯合	I2G 纯合	A	SW
7	男	复合杂合	I2G 杂合/c. 292 + 1G > A 杂合	A	SW
8	男	纯合	del 纯合	A	SW
9	男	纯合	I2G 纯合	A	SW
10	男	纯合	I2G 纯合	A	SW
11	男	纯合	I2G 纯合	A	SW
12	女	纯合	I2G 纯合	A	SW
13	男	复合杂合	R357W 杂合/R484fs 杂合	A	SW
14	男	复合杂合	I2G 杂合/del 杂合	A	SW
15	女	复合杂合	I2G 杂合/del 杂合	A	SW
16	女	纯合	del 纯合	A	SW
17	男	复合杂合	I2G 杂合/del 杂合	A	SW
18	女	纯合	I173N 纯合	B	SW
19	男	纯合	del 纯合	A	SW
20	女	复合杂合	R484fs 杂合/del 杂合	A	SW
21	男	复合杂合	I2G 杂合/c. 292 + 1G > A 杂合	A	SW
22	男	纯合	I2G 纯合	A	SW
23	男	复合杂合	R150P/I237N/V238E/M240K	A	SW
24	男	纯合	I2G 纯合	A	SW
25	男	复合杂合	Q319X/del 杂合	A	SW
26	男	纯合	del 纯合	A	SW
27	女	复合杂合	del 杂合/p. R484fs	A	SW
28	女	纯合	H393Q 纯合	N	SW
29	男	复合杂合	I173N 杂合/m. 1647C > T 杂合	N	SV
30	女	复合杂合	I2G 杂合/I173N 杂合	B	SV
31	女	纯合	I173N 纯合	B	SV
32	女	复合杂合	I173N 杂合/R357W 杂合	B	SV
33	女	纯合	I173N 纯合	B	SV
34	女	复合杂合	I2G 杂合/G111Vfs * 21 杂合/I173N 杂合	B	SV
35	女	复合杂合	I173N 杂合/del 杂合	B	SV
36	男	纯合	del 纯合	A	SV
37	男	纯合	del 纯合	A	SV
38	女	复合杂合	I2G 杂合/I173N 杂合	B	SV
39	男	复合杂合	I2G 杂合/I173N 杂合	B	SV
40	男	复合杂合	I2G 杂合/I173N 杂合	B	SV
41	男	纯合	R357W 纯合	A	SV
42	女	复合杂合	I173N 杂合/Q319X	B	SV
43	女	复合杂合	I2G 杂合/I173N 杂合	B	SV
44	女	纯合	I173N 纯合	B	SV

注:21-OHD;21-羟化酶缺乏症;A:重度突变组;B:中度突变组;N:未
知突变组;SW:失盐型;SV:单纯男性化型 21-OHD;21-hydroxylase de-
ficiency;A: severe mutation group; B: moderate mutation group; N: unknown
mutation group; SW: salt wasting; SV: simple virilizing

I2G(47.3%)、Del(27.3%),其次为框移突变(7.3%)、
I173N(3.6%)、c. 292 + 1G > A(3.6%),SV 型中最常见
的突变类型为 I173N(48.5%),其次为 I2G(18.2%)、
Del(15.2%),新发变异 p. H393Q 在 SW 型中发现,
m. 1647C > T 在 SV 型中发现。结果见表 4。

2.5 基因型与临床表型关系 对 44 例临床诊断
21-OHD 且基因检测异常阳性患儿进行基因型和表型的
相关性分析,基因型与临床表型密切相关,基因突变程

度越重,酶活性越低,失盐发生率越高,临床表现越严重,不同基因型的临床表型比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表 5。

表 4 21-OHD 基因突变频率

Table 4 Frequency of gene mutation in 21-OHD

碱基改变	氨基酸改变	突变类型	频数(频率%)		
			SW 型 + SV 型 (88 例)	SW 型 (55 例)	SV 型 (33 例)
c.293-13A/C>G	I2G	剪接突变	32(36.4)	26(47.3)	6(18.2)
c.518T>A	p.I173N	错义突变	18(20.4)	2(3.6)	16(48.5)
Del	大片段缺失	缺失突变	20(22.7)	15(27.3)	5(15.2)
c.292+1G>A		剪接突变	2(2.3)	2(3.6)	0
c.377C>G		错义突变	1(1.1)	1(1.8)	0
c.1447dupC	p.R483fs	框移突变	1(1.1)	1(1.8)	0
c.1069C>T	p.R357W	错义突变	4(4.6)	1(1.8)	3(9.1)
c.1451_1452delGGsC	p.R484fs	框移突变	2(2.3)	2(3.6)	0
c.1450dupC	p.R484fs	框移突变	1(1.1)	1(1.8)	0
	p.R150P/p.				
c.449G>C/c.710T>A /	I237N/p.	E6Cluster ^a	1(1.1)	1(1.8)	0
c.713T>A /c.719T>A	V238E/p.				
	M240K				
c.1179C>G	p.H393Q ^b	错义突变	2(2.3)	2(3.6)	0
m.1647C>T ^b		错义突变	1(1.1)	0	1(3.0)
c.332_339delGAGACTAC	p.G111Vfs*21	框移突变	1(1.1)	0	1(3.0)
c.955C>T	p.Q319X	无义突变	2(2.2)	1(1.8)	1(3.0)

注:21-OHD;21-羟化酶缺乏症;SW:失盐型;SV:单纯男性化型;^a指在 6 号外显子的一个等位基因上携带有多个点突变;^b为 2 个新发现的突变,预测为病理性致病突变 21-OHD:21-hydroxylase deficiency;SW:salt wasting;SV:simple virilizing;^acarries multiple mutations on one allele of exon 6;^bwere 2 novel pathogenic mutations

表 5 基因诊断阳性 21-OHD 患儿 44 例基因型与临床表型的关系

Table 5 Correlation between genotype and phenotype of 44 cases of 21-OHD with abnormal gene mutation

组别	例数	SW 型 (例)	SV 型 (例)	失盐表现 [例(%)]	χ^2 值	P 值
重度突变组	29	26	3	26(89.7)	27.62	0.000
中度突变组	13	1	12	1(7.7)		
未知突变组	2	1	1	1(50.0)		

注:21-OHD;21-羟化酶缺乏症;SW:失盐型;SV:单纯男性化型 21-OHD:21-hydroxylase deficiency;SW:salt wasting;SV:simple virilizing

3 讨论

21-OHD 发病率低,临床表现复杂多样,极易被漏诊和误诊,17-OHP 为准确诊断 21-OHD 的可靠依据,基因检测为确诊 21-OHD 的金标准。本研究 28 例 SW 型患儿中,失盐症状明显,肾上腺危象出现早,发生率高,其中 1 例因严重高钾血症并发室性心动过速,经电复律成功挽救生命,有 2 例 SW 型患儿同胞哥哥或姐姐出生后因高钾血症去世。女性 21-OHD 患者均有阴蒂肥大表现。该研究中 SV 型骨龄提前,性早熟发生率明显高于 SW 型,其中 2 例 SV 型患儿 5 岁后才初次就诊,初次检查骨龄已达 12 岁左右,骨龄显著提前且出现中枢性性早熟表现,2 例患儿均已接受重组人生长激素(rhGH)与促性腺激素释放激素类似物(GnRHa)治疗,因

患儿骨龄超前过多,生长空间显著受限,预计最终身高将受到影响,具体有待后续进一步随访观察。

该研究中检测到 SW 型及 SV 型患儿接受糖皮质激素治疗前基础 17-OHP 测值均明显高于正常值,但两者间差异无统计学意义。SW 组与 SV 组患儿 17-OHP 差异无统计学意义,因本研究纳入患儿仅 48 例,不能排除与样本量有关,有待更多样本的数据进一步证实。另外,SW 组与 SV 组患儿 ACTH 及皮质醇比较差异均无统计学意义,但 SW 组较 SV 组血钠值明显低,血钾值高。2 组 21-OHD 患儿皮质醇较正常无明显降低,因皮质醇检测受诸多因素影响,其有分泌节律性,抽血时间、母体激素水平、应激、进食、情绪等因素均会影响皮质醇检测结果,本研究未行皮质醇节律检测。

本研究采用 Sanger 测序与 MLPA 方法联合进行 CYP21A2 基因检测,48 例临床诊断 21-OHD 患儿中,检测到基因阳性者 44 例,阳性率达 91.7%。4 例基因检测阴性者均为 SV 型患儿,其中 3 例仅采用 Sanger 测序方法,1 例采用 Sanger 测序与 MLPA 方法联合行 CYP21A2 基因检测。基因测序是对 CYP21A2 基因的外显子编码区进行直接测序,从而发现可能存在的微小突变,MLPA 技术是检测 CYP21A2 基因的各个外显子,用健康人的 DNA 作为参考,从而检测基因是否发生缺失、重复突变,因 Sanger 测序方法仅能检测出基因点突变,对大片段缺失及重复可漏诊,MLPA 方法可以检测出 CYP21A2 基因绝大多数突变,但无法检测到 CYP21A2 基因的复杂重排以及启动子、内含子、基因侧翼序列的微小突变,可能漏检极少数的 21-OHD 患者,因此考虑该 4 例基因检测阴性者可能存在基因检测漏诊情况或存在某些新发突变尚未检测出来。本研究发现的 CYP21A2 基因热点突变为 I2G、I173N、Del,与国内文献报道的 CYP21A2 热点突变变异基本相似,除北京、新疆两地突变频率最高的为 I173N 外,上海、重庆、广西、山东、福建、河南、中国台湾等地突变频率最高者均为 I2G 剪接位点突变^[7-9],与本研究一致。因为北京、新疆两地研究对象中以 SV 型患者占主导,所以检测到 I173N 突变频率较高。CYP21A2 基因突变有种族和地区差异,国外相关研究表明,不同种族之间基因突变频率存在差异^[10-11,13-14]。CYP21A2 基因的不同突变可使 CYP21 活性不同程度丧失,而 21-OHD 临床表型由残余酶活性决定,因此基因型与临床表型密切相关。但仍有少数存在基因型与临床表型不一致的情况,研究表明各基因型间生化和临床表现可有所重叠,分析原因可能由于疾病严重程度的连续性,疾病严重程度分类近于交界处的患者容易进入边界的另一侧分类中,尽管 I2G 被分类为严重突变,但可以脱漏,从而产生足够正常剪接的 mRNA,减弱 CYP21 活性缺乏程度,另外 I173N 具有边缘性酶活

性,并非总能避免发生失盐。另外,一些复合杂合突变的患者可能是具有介于 2 种突变各自纯合子中间的酶活性。环境因素亦可影响患者临床表型,失盐程度一般随时间的变化而有所改善。

早期诊断与治疗 21-OHD 意义重大,可预防肾上腺危象所致死亡,可避免对女性患者性别的错判,同时可减少矮身材及心理障碍的发生率,基因检测可帮助早期诊断。按基因突变严重程度进行基因型分组,重度、中度突变可有效预测 21-OHD SW 型及 SV 型,帮助临床分型,指导治疗及预测预后,为遗传咨询及产前诊断提供依据。联合应用 Sanger 测序及 MLPA 法可以快速、准确检测出 *CYP21A2* 基因点突变、大片段缺失及重复,避免漏诊^[14]。其作为一种遗传性疾病,基因治疗有望成为新的治疗手段^[15],进一步加深对 21-OHD 基因的认识,将基因治疗早日应用到临床为今后的努力方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] van der Linde AAA, Schönbeck Y, van der Kamp HJ, et al. Evaluation of the Dutch neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia [J]. Arch Dis Child, 2019, 104 (7): 653-657. DOI: 10. 1136/archdischild-2018-315972.
- [2] Simpson JL, Rechitsky S. Prenatal genetic testing and treatment for congenital adrenal hyperplasia [J]. Fertil Steril, 2019, 111 (1): 21-23. DOI: 10. 1016/j. fertnstert. 2018. 11. 041.
- [3] El-Maouche D, Art W, Merke DP. Congenital adrenal hyperplasia [J]. Lancet, 2017, 390 (10108): 2194-2210. DOI: 10. 1016/S0140-6736(17)31431-9.
- [4] Witchel SF. Congenital adrenal hyperplasia [J]. J Pediatr Adolesc Gynecol, 2017, 30(5): 520-534. DOI: 10. 1016/j. jpag. 2017. 04. 001.
- [5] Speiser PW, Arlt W, Auchus RJ, et al. Congenital adrenal hyperplasia due to steroid 21-hydroxylase deficiency: an endocrine society clinical practice guideline [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2018, 103 (11): 4043-4088. DOI: 10. 1210/je. 2018-01865.
- [6] Choi JH, Kim GH, Yoo HW. Recent advances in biochemical and molecular analysis of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency [J]. Ann Pediatr Endocrinol Metab, 2016, 21 (1): 1-6. DOI: 10. 6065/apem. 2016. 21. 1. 1.

- [7] Wang RF, Yu YG, Ye J, et al. 21-Hydroxylase deficiency-induced congenital adrenal hyperplasia in 230 Chinese patients: genotype-phenotype correlation and identification of nine novel mutations [J]. Steroids, 2016, 108: 47-55. DOI: 10. 1016/j. steroids. 2016. 01. 007.
- [8] 陈晓波, 高亢. 21-羟化酶缺乏症诊治新进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2019, 34 (20): 1526-1530. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-428X. 2019. 20. 002.
- [9] Chen XB, Gao K. New advances in diagnosis and treatment of 21-hydroxylase deficiency [J]. Chin J Appl Clin Pediatr, 2019, 34 (20): 1526-1530. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-428X. 2019. 20. 002.
- [9] 王瑞芳, 顾学范, 叶军, 等. 新生儿筛查的 21 羟化酶缺乏症 66 例表型及基因型研究 [J]. 中华儿科杂志, 2016, 54 (9): 679-685. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1310. 2016. 09. 010.
- [9] Wang RF, Gu XF, Ye J, et al. Analysis of phenotypes and genotypes in 66 patients with 21-hydroxylase deficiency identified by neonatal screening [J]. Chin J Pediatr, 2016, 54 (9): 679-685. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0578-1310. 2016. 09. 010.
- [10] Turan I, Tastan M, Boga DD, et al. 21-Hydroxylase deficiency: mutational spectrum and genotype-phenotype relations analyses by next-generation sequencing and multiplex ligation-dependent probe amplification [J]. Eur J Med Genet, 2020, 63 (4): 103782. DOI: 10. 1016/j. ejmg. 2019. 103782.
- [11] Riedl S, Röhl FW, Bonfig W, et al. Genotype/phenotype correlations in 538 congenital adrenal hyperplasia patients from Germany and Austria: discordances in milder genotypes and in screened versus pre-screening patients [J]. Endocr Connect, 2019, 8 (2): 86-94. DOI: 10. 1530/EC-18-0281.
- [12] Santos-Silva R, Cardoso R, Lopes L, et al. CYP21A2 gene pathogenic variants: a multicenter study on genotype-phenotype correlation from a portuguese pediatric cohort [J]. Horm Res Paediatr, 2019, 91 (1): 33-45. DOI: 10. 1159/000497485.
- [13] Narasimhan ML, Khattab A. Genetics of congenital adrenal hyperplasia and genotype-phenotype correlation [J]. Fertil Steril, 2019, 111 (1): 24-29. DOI: 10. 1016/j. fertnstert. 2018. 11. 007.
- [14] Su L, Yin X, Cheng J, et al. Clinical presentation and mutational spectrum in a series of 166 patients with classical 21-hydroxylase deficiency from South China [J]. Clin Chim Acta, 2018, 486: 162-150. DOI: 10. 1016/j. cca. 2018. 07. 039.
- [15] Perdomini M, Santos CD, Goumeaux C, et al. An AAVrh10-CAG-CYP21-HA vector allows persistent correction of 21-hydroxylase deficiency in a Cyp21-/-mouse model [J]. Gene Ther, 2017, 24 (5): 275-281. DOI: 10. 1038/gt. 2017. 10.

(收稿日期: 2019-01-21)

(本文编辑: 李常艳)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

发表学术论文“五不准”

中国科协、教育部、科技部、卫生计生委、中科院、工程院、自然科学基金会联合印发《发表学术论文“五不准”》(科协发组字[2015]98号, 2015年11月23日)

1. 不准由“第三方”代写论文。科技工作者应自己完成论文撰写, 坚决抵制“第三方”提供论文代写服务。

2. 不准由“第三方”代投论文。科技工作者应学习、掌握学术期刊投稿程序, 亲自完成提交论文、回应评审意见的全过程, 坚决抵制“第三方”提供论文代投服务。

3. 不准由“第三方”对论文内容进行修改。论文作者委托“第三方”进行论文语言润色, 应基于作者完成的论文原稿, 且仅限于对语言表达方式的完善, 坚决抵制以语言润色的名义修改论文的实质内容。

4. 不准提供虚假同行评审人信息。科技工作者在学术期刊

发表论文如需推荐同行评审人, 应确保所提供的评审人姓名、联系方式等信息真实可靠, 坚决抵制同行评审环节的任何弄虚作假行为。

5. 不准违反论文署名规范。所有论文署名作者应事先审阅并同意署名发表论文, 并对论文内容负有知情同意的责任; 论文起草人必须事先征求署名作者对论文全文的意见并征得署名同意。论文署名的每一位作者都必须对论文有实质性学术贡献, 坚决抵制无实质性学术贡献者在论文上署名。

本“五不准”中所述“第三方”指除作者和期刊以外的任何机构和个人; “论文代写”指论文署名作者未亲自完成论文撰写而由他人代理的行为; “论文代投”指论文署名作者未亲自完成提交论文、回应评审意见等全过程而由他人代理的行为。

Q2xvdWRWZXXJzaW9uLQo?