

DOI:10.14188/j.ajsh.2022.06.007

一个蚕豆病遗传家系 *G6PD* 基因突变及 X 染色体失活偏移检测

石梦婕, 苏银帆, 谢明水, 黄宏耀*

(湖北医药学院附属随州医院 检验科, 湖北 随州 441300)

摘要: 对一蚕豆病遗传家系的 *G6PD* 基因突变进行分析, 检测突变后 *G6PD* 酶活变化, 并对先证者家系进行 X 染色体失活 (XCI) 偏移模式检测, 从而预测 *G6PD* 突变女性携带者患蚕豆病的风险。取家系成员的外周血样, 并提取基因组 DNA, 用聚合酶链式反应 (PCR) 和 DNA 测序法进行序列分析, 确定先证者突变位点和突变类型及家庭成员遗传情况, 若先证者的母亲和姐姐为 *G6PD* 突变携带者, 则对先证者母亲和姐姐进行 X 染色体偏移检测以及酶活检测分析, 以评估携带者患蚕豆病的风险, 同时对研究对象进行随访。结果患者 X 染色体上 *G6PD* 基因发生点突变 c. 1376G>T; 酶活性检测结果显示该突变使 *G6PD* 酶活性下降大约 25%, 导致蚕豆病发生。该家系的两位女性携带者 X 染色体失活偏移<80%, 未来发生蚕豆病的可能性低。

关键词: 蚕豆病; *G6PD* 突变; 酶活性; X 染色体失活偏移

中图分类号: R34

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2022)06-0590-07

Detection of *G6PD* gene mutation and skewed X chromosome inactivation in a genetic family with favism

SHI Mengjie, SU Yinfan, XIE Mingshui, HUANG Hongyao*

(Department of Laboratory, Suizhou Hospital, Hubei University of Medicine, Suizhou 441300, Hubei, China)

Abstract: To analyze the mutation of the *G6PD* gene in a genetic family with favism, and detect the change of *G6PD* enzyme activity and the skewed X-chromosome inactivation (XCI) mode of the proband family, to predict the risk of favism in females carriers with *G6PD* mutation, peripheral blood samples of family members were collected and genomic DNA was extracted. PCR and DNA sequencing methods were used for sequence analysis to determine the mutation sites and mutation types of probands and the genetic status of family members. If the mother and sister were heterozygotes of *G6PD* mutation, skewed X-chromosome inactivation detection and enzyme activity analysis were performed for them to assess the risk of favism in the carriers, and the study subjects were followed up. As a result, the point mutation of *G6PD* gene on patient X chromosome c. 1376G>T; the results of enzyme activity test showed that the mutation reduced the activity of *G6PD* by about 25%, leading to the occurrence of favism. The X chromosome inactivation deviation of the two female carriers in this family is less than 80%, so the possibility of favism in the future is low.

Key words: favism; *G6PD* mutation; enzymatic activity; skewed X-chromosome inactivation

0 引言

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, *G6PD*) 缺乏症是一种由管家基因

G6PD 的有害突变引起的 X 连锁隐性 (或 X 连锁不完全显性) 遗传病, 全球估计有 5 亿人受累, *G6PD* 突变分布具有典型的种族及地域差异^[1]。*G6PD* 是磷酸戊糖途径的关键酶, 用于产生烟酰胺腺嘌呤二核

收稿日期: 2022-08-25 修回日期: 2022-09-22 接受日期: 2022-12-29

作者简介: 石梦婕 (1996-), 女, 研究生, 主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail: shidreamjie@163.com

* 通讯联系人: 黄宏耀 (1973-), 男, 主任技师, 硕士, 主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail: hhy731120hb@sina.com

基金项目: 湖北省卫健委科研面上项目 (WJ2019M099)

引用格式: 石梦婕, 苏银帆, 谢明水, 等. 一个蚕豆病遗传家系 *G6PD* 基因突变及 X 染色体失活偏移检测 [J]. 生物资源, 2022, 44(6): 590-596.
Shi M J, Su Y F, Xie M S, et al. Detection of *G6PD* gene mutation and skewed X chromosome inactivation in a genetic family with favism [J]. Biotic Resources, 2022, 44(6): 590-596.

苷酸磷酸(NADPH)以维持细胞内适当的还原环境,在红细胞中尤为重要^[2]。因此G6PD的功能障碍可导致红细胞处理氧化应激的能力下降。这种功能障碍是由多种突变引起的,其中最常见的是单核苷酸替换,其次是多个突变、缺失和内含子突变。目前根据G6PD的生化和物理化学特性,已有400多个基因突变位点在G6PD缺乏症中被描述^[3]。

G6PD基因位于X染色体长臂2区8带(Xq28),位于凝血因子VⅢ基因及红绿色盲基因编码区之间。全长18.5 kb,由13个外显子(12个编码外显子)及12个内含子构成,共编码515个氨基酸。5'端非编码区由1号外显子及部分2号外显子组成,启动子位于2号外显子,启动区域富含GC序列^[4]。

由于G6PD缺乏症一般是X连锁隐性遗传病,男性发病显著高于女性,男性可能是正常的半合子或者缺陷的半合子,而女性可能是正常纯合子、缺陷的纯合子或者杂合子。女性杂合子是表达野生型细胞和表达缺失突变细胞的嵌合体^[5]。但是杂合子女性由于X染色体失活机制,亦有可能出现轻微症状^[6]。

研究导致G6PD缺乏症的突变的特征,让我们对这种疾病有一个完整的认识,有助于及时发现和治疗并可为该病的产前诊断提供必要的信息。

1 材料与方法

1.1 研究对象

突变家系基本信息:本研究样本来自湖北省随州市中心医院,抽取该家系每位成员2 mL外周血(EDTA-K₂抗凝管)。具体信息见图1。

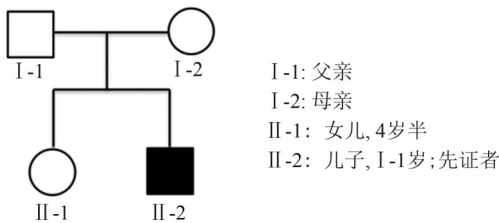


图1 一例G6PD突变家系图
Fig. 1 A family diagram of G6PD mutation

1.2 设计G6PD外显子引物

本研究根据SnapGene软件设计了8对引物,覆盖了G6PD基因的UTR、外显子及邻近侧翼内含子序列。并由武汉百翼生物公司合成并鉴定引物序列。引物序列如表1所示:

1.3 先证者外显子扩增

使用先证者外周血提取基因组DNA(提取试剂

表1 G6PD基因相关扩增引物
Table 1 G6PD gene related amplification primers

引物	序列	长度/bp
G6PD-5UTR-F	acggatggaacctgtcttt	451
G6PD-5UTR-S	gggcagctcttcttgattcc	
G6PD-EXON1-F	taacccatcaaccactcccc	376
G6PD-EXON1-R	ggggccctgcaacaattag	
G6PD-EXON2&3-F	cggggctcttctgtctgtat	539
G6PD-EXON2&3-R	aaggaagtacgagagcaggc	
G6PD-EXON4-F	gacactgactctgagggca	420
G6PD-EXON4-R	ctcatagagtggaggagca	
G6PD-EXON5&6-F	ggaaggtgttgagccagagg	746
G6PD-EXON5&6-R	tttgactgcagggtagga	
G6PD-EXON7-F	tgagtcttcagcttgcac	379
G6PD-EXON7-R	aacttgggtctcatgactgc	
G6PD-EXON8&9-F	ctgagggtgcacatctgt	758
G6PD-EXON8&9-R	CGTTTctgtgaggagagagt	
G6PD-EXON10-13-F	cagagaaggagcagtggtga	659
G6PD-EXON10-13-R	atgtgcagctgaggtcaatg	

盒为北京艾德莱生物科技有限公司的产品)。以基因组DNA为模板进行PCR扩增,1.5%琼脂糖凝胶电泳检测PCR产物。

1.4 突变危害性预测分析

用PolyPhen-2(<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)、PROVEAN(<http://provean.jcvi.org/>)、MutationTaster(<http://www.mutationtaster.org/>)和Align GVGD(<http://agvgd.hci.utah.edu/>)对有意义的突变位点进行突变危害性预测。PolyPhen-2基于蛋白质三维结构的原理,PROVEAN基于查询序列与通过BLAST(生物大分子序列对比搜索工具)收集的紧密相关序列的相似性的变化所引起的变化。MutationTaster基于氨基酸序列同源性的原理,Align GVGD基于氨基酸的生物学特性和蛋白质序列同源性的原理^[7]。

1.5 G6PD突变的功能验证

使用SalI/NotI构建表达pHAGE-G6PD WT/MUT的表达载体,转染HEK293T细胞(此细胞转染效率高易于培养)后进行G6PD活性检测、QPCR、western blot实验进而验证G6PD基因的功能和作用方式(HEK293T细胞系及pHAGE质粒载体由武汉百翼生物有限公司保存)。用SnapGene软件进行引物设计和预测。G6PD活性检测、QPCR实验结果应用Graphpad Prism8软件进行单因素方差统计学分析。pHAGE-G6PD WT/MUT的表达载体构建引物序列如表2所示。

表 2 G6PD WT 和 MUT 表达载体构建所用引物
Table 2 Primers for construction of G6PD WT and MUT expression vectors

引物名称	引物序列
G6PD-SalI-F	TGACGTCGACCATGGCAGAGCAGGTGGCCCTG
G6PD-NotI-R	CGACGCGGCCGCgGAGCTTGTGGGGGTTCACC
G6PD-MUT-R	ATACGCCAGGCCTCAAGGAGCTCGTCGCTGC
G6PD-MUT-F	GCAGCGACGAGCTCCtTGAGGCCTGGCGTAT

1.6 X 染色体失活偏移检测

本研究采用检测 X 染色体失活的双重 PCR 分子诊断试剂盒(武汉百翼生物有限公司保存由南方医科大学发明专利号:CN 201010506300 的试剂盒)进行 X 染色体失活偏移的检测,所用引物见表 3。

表 3 X 染色体失活偏移检测引物
Table 3 Primers for skewed X-chromosome inactivation detection

引物名称	引物序列
MIC2-F	agaggtgcgtccgattttt
MIC2-R	cgccgcagatggacaattt
AR-F	GCCGCCGTCCAAGACCTACC
AR-R	TGGGGAGAACCATCCTCACC
RP2-F	tgacatagcgagacctgtg
RP2-R	ttggtgggttctctagctggt

1.7 毛细管电泳

将 AR-F(人类雄激素受体基因-F)引物进行 FAM 标记后扩增父亲基因组、母亲和女儿酶切前后的基因组样本,根据父亲和母亲的峰图判断母亲和女儿失活的 X 染色体,并计算失活比例,预测母亲和女儿是否存在患病风险。

根据以下公式计算 X 染色体失活比例

失活率(%)= $\frac{d_1/u_1}{d_1/u_1 + d_2/u_2} \times 100\%$

其中: d_1 和 d_2 分别代表消化样本 PCR 产物 2 条带峰值大小, u_1 和 u_2 则分别代表未消化样本 PCR 产物 2 条带峰值大小。

2 结果与分析

2.1 先证者外显子 PCR 扩增结果

以基因组 DNA 为模板,表 1 序列为引物进行 PCR 扩增,1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,如图 2 所示。

将图 2 中的先证者 G6PD 基因的扩增片段进行测序,将测序结果与标准序列进行对比,发现在 ex-

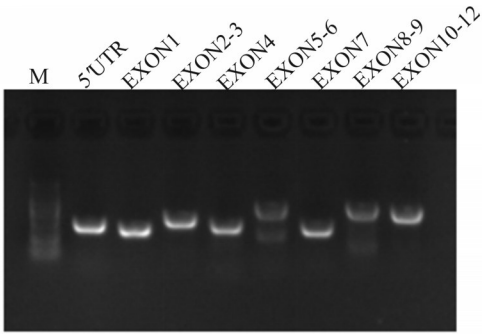


图 2 先证者外显子 PCR 扩增结果
Fig. 2 PCR amplification results of exons of probands

on10-exon12 区间上存在 3 个突变,其中 2 个为非致病突变,另一个 c. 1376G>T 为已知的热点致病突变(表 4)。

2.2 家系内突变检测

以家系内其他成员的基因组 DNA 为模板扩增 EXON10-12 片段,测序。扩增结果如图 3 所示,扩增结果良好。

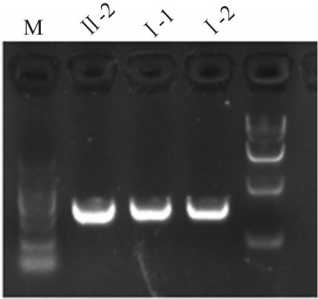


图 3 家系内成员 exon10-12 片段扩增结果
Fig. 3 Amplification results of exon10-12 fragments of family members

将家系成员 exon10-12 片段序列与先证者的序列进行比对,如图 4 显示,父亲不携带 c. 1376G>T 突变,母亲和女儿均携带 c. 1376G>T 突变;该家系内女儿和儿子从母亲遗传了携带 c. 1376G>T 突变的 X 染色体。

2.3 G6PD 基因 c1376G 生物信息学分析

PolyPhen-2 和 Mutation Taster 分数和预测值在 0~1 之间,值越大越影响影响蛋白质功能;Provean

表 4 先证者 G6PD 突变分析
Table 4 Analysis of G6PD mutation in probands

测序结果	突变位点	突变影响
GCTCCCTGACGCCTATGAGCGCCTCATC GCTCCCTGACGCCTAGGAGCGCCTCATC	Exon10 C1311T>C	TAT 变化为 TAC,均编码酪氨酸,不影响蛋白序列
:ataccatgtcccctcagCGACG/ :ATACTATGTCCCCTCAGCGACG/	intron10 g.15280T>C	经生物信息学分析为基因多态性
GAGCTCCGTGAGGCCTGC GAGCTCCTTGAGGCCTGC	exon11 c.1376G>T	在 CDS1376 位由 G 突变为 T,459 位氨基酸由精氨酸突变为亮氨酸,经生物信息学分析和文献查找,确定为一个已知的热点突变

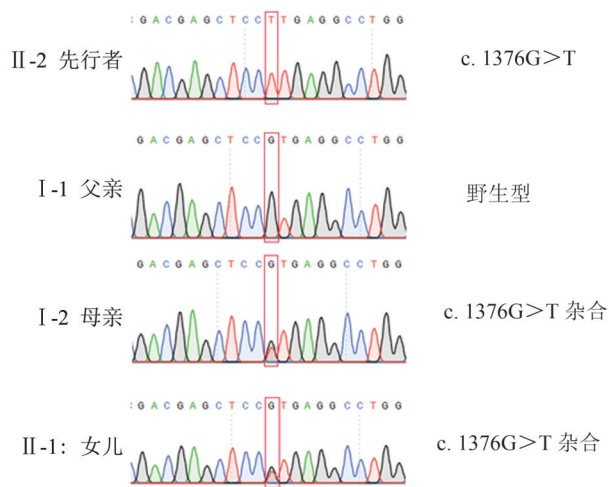


图 4 家系成员 G6PD 突变情况
Fig. 4 G6PD mutation of family members

分数等于或者低于-2.5 认为有害的;如果(GV=O)和(GD>0),该位置是 100% 保守的,该位置的任何突变都被预测为有害^[8]。根据以上生物信息学解释,c. 1376G>T,p. Arg459Leu 突变很可能对蛋白质功能产生有害作用(表 5)。

表 5 生物信息学预测突变对蛋白质功能的影响
Table 5 Predicting the effects of a mutation on protein function by bioinformatics

预测工具	预测结果	参数		
		分数	预测值	GV 值
PolyPhen-2	有害	0.996		
Provean	有害	-2.788		
Mutation Taster	有害		0.999	
Align GVGD	有害			0
				101.88

2.4 G6PD 突变的功能验证

G6PD-Phage-WT/MUT 采用 SalI/NotI 双酶切后,琼脂糖凝胶电泳显示,pHAGE 载体(6 384 bp)

和 WT/MUT 片段(1 545 bp)两条带均符合预期大小(图 5A);对构建好的 G6PD-Phage-WT/MUT 表达载体进行测序,显示突变位点 c. 1376G>T 构建成功(图 5B)。酶活性结果显示 c. 1376G>T 突变使 HEK293T 细胞 G6PD 酶活性下降大约 25%(图 5C)。QPCR 和 WB 结果显示,c. 1376G>T 突变几乎不影响 HEK293T 细胞的 mRNA 水平和蛋白水平(图 5D 和 E)。

2.5 X 染色体失活分析

2.5.1 X 染色体多态性检测

对照 MIC 基因,说明酶切完全(图 6A)。AR 和 RP2 片段扩增良好。将母亲和女儿的 AR 基因扩增片段进行测序,表明母亲和女儿的 AR 扩增片段存在多态性(图 6B),说明可以继续后续毛细管电泳检测。

2.5.2 毛细管电泳结果和 X 染色体失活分析

毛细管电泳结果中的等位基因的大小表示亲本来源,峰下面积表示等位基因的扩增程度。甲基化阻止 HpaII 的酶切。因此,在女性中,只有未甲基化的 X 染色体扩增被消化掉,从而不会产生任何 PCR 产物;甲基化的 X 染色体将被 HpaII 酶扩增,不会被消化掉,因此会产生扩增产物。基于此原理,由图 7 及表 6 可知,先证者姐姐的 G6PD 基因为杂合子,等位基因 253.0 bp 来自于父亲,258.4 bp 来自于母亲。经过 HpaII 酶切后,说明母源 X 染色体失活率为 44.76%,父源染色体失活率为 55.24%,为完全随机失活。母亲的 G6PD 基因为杂合子,经过 HpaII 酶切后,在 244.4 bp 上有部分消化,消化掉 73.52%,说明此处的 X 染色体处于失活状态,失活率为 73.52%,258.4 bp 处的 X 染色体失活率为 26.48%,说明母亲为 X 染色体轻度失活偏移^[9,10]。

本检测中女儿的 X 染色体失活率未达到 80%,视作无 X 染色体失活偏移,为完全随机失活,未来发

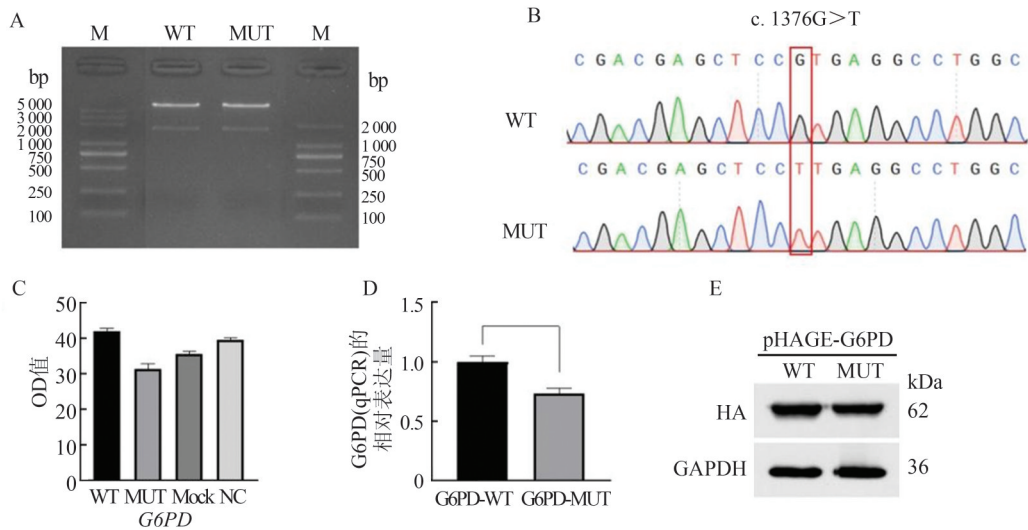


图 5 G6PD 基因 pHAGE-WT/MUT 表达载体的构建及 G6PD-MUT 载体导致 G6PD 酶活性下降
Fig. 5 Construction of pHAGE-WT/MUT expression vector of G6PD gene and G6PD-MUT vector reduces G6PD enzyme activity

注: A, pHAGE 载体 (6 384 bp) 和 WT/MUT 片段 (1 545 bp) 两条带; B, MUT 引入 c. 1376G>T 突变位点; C, phage-G6PD-WT/MUT 酶活性结果; D, phage-G6PD-WT/MUT QPCR 结果; E, pHAGE-G6PD-WT/MUT WB 结果
Note: A, two bands of pHAGE vector (6 384 bp) and WT/MUT fragment (1 545 bp); B, MUT adds c. 1 376 G>T mutation site; C, enzyme activity results of phage-G6PD-WT/MUT; D, QPCR results of phage-G6PD-WT/MUT; E, WB results of phage-G6PD-WT/MUT

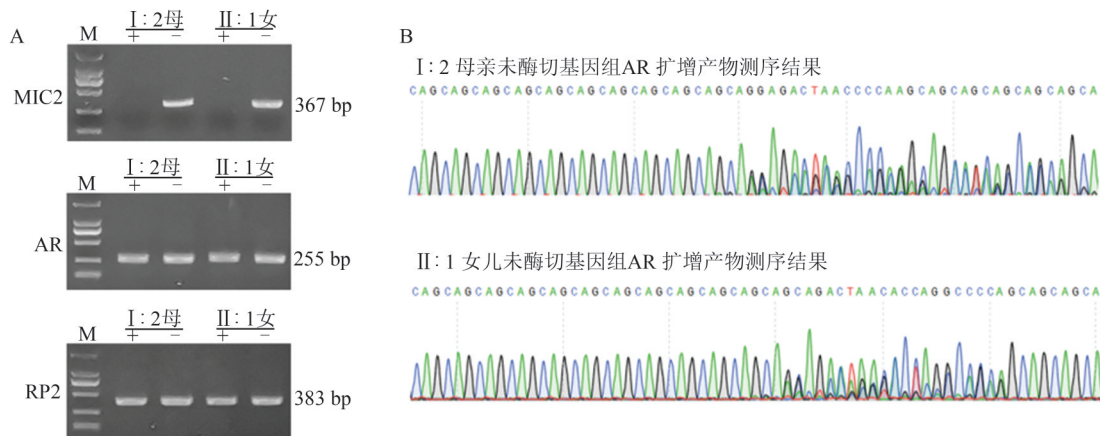


图 6 X 染色体失活相关基因扩增结果及多态性检测
Fig. 6 Amplification results and polymorphism detection of X chromosome inactivation-related genes

注: a, AR 和 RP2 对照 MIC 基因, 酶切后分别显示 255 bp 和 383 bp 扩增产物; b, 母亲和女儿未酶切基因组 AR 扩增产物测序
Note: a, AR and RP2 control MIC gene, enzyme digestion showed 255bp and 383bp amplification products; b, sequence of mother and daughter undigested genomic AR amplification products

生蚕豆病的概率小, 母亲的 X 染色体失活率为 73.52%, 为轻度失活偏移, 但仍具有正常功能的 X 染色体, 所以无患病表现。

3 讨论

G6PD 缺乏症作为全球发病率最高的遗传病之一, 每年数以万计的患者因此丧命, 该病的发病形势十分严峻, 积极预防该病的发生具有重要意义。

G6PD 基因的表达主要受该基因的突变类型、

外显子剪接沉默子、转录因子及表观遗传学等方面的调控^[11]。受基因调控与环境等因素的影响, G6PD 缺乏症患者的临床表现差异极大, 许多患者可终身不发病, 或仅有轻微症状, 但仍有部分患者可因特定的食物、药物、感染、机体病理状态等诱发急性溶血^[12]。症状严重程度及治疗有效性与酶功能缺乏程度、氧化剂种类及数量、暴露时间、暴露人群等因素有关^[13]。

据报道大多数 G6PD 突变的女性杂合子的酶活

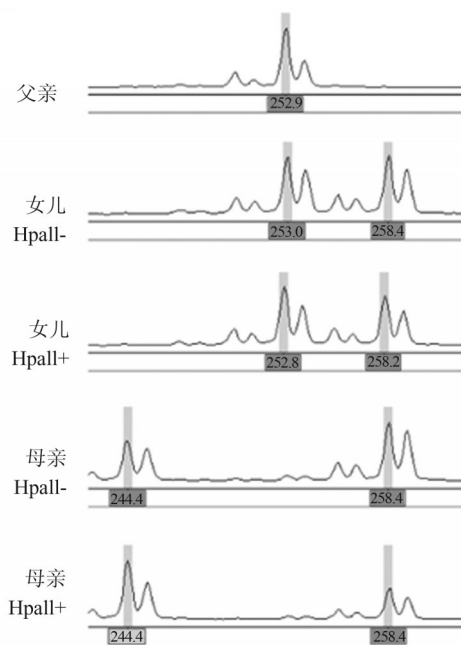


图7 毛细管电泳结果

Fig. 7 Results of capillary electrophoresis

性主要与 *G6PD* 基因的突变类型有关,然而研究发现即便是同种突变的女性杂合子也表现出不同的酶活性^[14~16],这表明根据 *G6PD* 突变并不能完全解释 *G6PD* 缺乏杂合子的临床异质性,对于雌性杂合子来说,DNA 甲基化和 X 染色体失活(XCI)可能是酶活性变化的主要因素^[17,18]。另有研究同时检测 *G6PD* 启动子内特定 CpG 岛(富含 GC 序列)的高甲基化与野生型等位基因的优先 XCI,以 71 名 *G6PD* 缺陷型女性杂合子和 68 名非缺陷型为对照进行统计学分析,结果表明在具有相同 *G6PD* 突变的女性杂合子中,*G6PD* 启动子内特定的 CpG 岛的高甲基化降低了酶活性;野生型等位基因的优先 XCI 也会降低 *G6PD* 活性^[19]。

通过基因检测与筛查,我们明确了患者的发病病因,弄清了该家系中的遗传图谱,并构建突变与野

生载体对突变功能进行了验证。先证者男童的 *G6PD* 基因含有三个突变位点对蛋白质序列改变的为 c. 1376G>T,使 459 位氨基酸由精氨酸突变为亮氨酸。该突变为 *G6PD*-Canton 热点突变,是中国人群最常见的突变类型之一,其变异位于二聚体 an 螺旋上,Leu459 侧链参与两个独立二聚体的接触,形成的产物比野生型稳定性高 2 倍,这种突变被归类于严重溶血突变体^[20,21]。本研究成功构建载体后显示携带 c. 1376G>T 的 MUT 的酶活性比 WT 下降,在 mRNA 和蛋白水平几乎不改变,说明此位点改变影响酶活性从而导致患者发病。母亲与姐姐均为携带者,在生育前建议进行基因检测。同时,两名女性携带者的 X 染色体没有发生失活偏倚,符合了随机失活的概率,在未来的生活中大概率不会出现蚕豆病症状。这符合 *G6PD* 缺乏症 X 连锁不完全显性遗传的特点。

本研究通过对一家系进行基因突变的鉴定及验证,推测了 *G6PD* 基因的结构和功能之间可能存在的关系,基因突变与疾病发生的具体遗传机制需要在更多的家系中或者在 *G6PD* 突变的动物模型中进一步验证。

参考文献

- [1] Luzzatto L, Ally M, Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency [J]. *Blood*, 2020, 136(11): 1225-1240.
- [2] Zhang Z, Chen X, Jiang C, *et al.* The effect and mechanism of inhibiting glucose-6-phosphate dehydrogenase activity on the proliferation of *Plasmodium falciparum* [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2017, 1864(5): 771-781.
- [3] Gómez-Manzo S, Marcial-Quino J, Vanoye-Carlo A, *et al.* Glucose-6-phosphate dehydrogenase: update and analysis of new mutations around the world [J]. *Int J*

表6 X 染色体失活偏移分析表

Table 6 Analysis of skewed X-chromosome inactivation

报告编号	样品名称	等位基因位置		等位基因峰面积		失活染色体	失活比例
1	母亲(-)	244.4	/	258.4	8 521 / 12 348	244.4	73.52%
2	母亲(+)	244.4	/	258.4	27 993 / 14 610		
3	女儿(-)	/	253.0	258.4	/ 8 950 9 441	253.0	55.24%
4	女儿(+)	/	252.8	258.4	/ 23 312 19 923		
5	父亲	/	252.9	/	/ 24 592	/	/

X 染色体失活程度: 50%~59% 为 X 染色体完全随机失活; 65%~79% 为 X 染色体轻度失活偏移; ≥80% 为 X 染色体失活偏移的标准

degree of X-chromosome inactivation: 50%~59%, completely random X-chromosome inactivation; 65%~79%, mildly skewed X-chromosome inactivation; ≥80%, the standard of skewed X-chromosome inactivation

- Mol Sci, 2016, 17(12): E2069.
- [4] Chen E Y, Cheng A, Lee A, *et al.* Sequence of human glucose-6-phosphate dehydrogenase cloned in plasmids and a yeast artificial chromosome [J]. Genomics, 1991, 10(3): 792-800.
- [5] Roper D, Layton M, Rees D, *et al.* Laboratory diagnosis of G6PD deficiency. A British Society for Haematology Guideline [J]. Br J Haematol, 2020, 189(1): 24-38.
- [6] Allen R C, Zoghbi H Y, Moseley A B, *et al.* Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation [J]. Am J Hum Genet, 1992, 51(6): 1229-1239.
- [7] 林美华, 陈业达, 欧阳平, 等. 一个中国 G6PD 缺乏症家系致病基因的突变分析[J]. 基础医学与临床, 2015, 35(8): 1011-1014.
- Lin M H, Chen Y D, Ouyang P, *et al.* Mutation analysis of the pathogenic gene in a Chinese family with G6PD deficiency [J]. Basic Clin Med, 2015, 35(8): 1011-1014.
- [8] Mathe E, Olivier M, Kato S, *et al.* Computational approaches for predicting the biological effect of p53 missense mutations: a comparison of three sequence analysis based methods [J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34(5): 1317-1325.
- [9] Uehara S, Hashiyada M, Sato K, *et al.* Preferential X-chromosome inactivation in women with idiopathic recurrent pregnancy loss [J]. Fertil Steril, 2001, 76(5): 908-914.
- [10] Robinson W P, Beever C, Brown C J, *et al.* Skewed X inactivation and recurrent spontaneous abortion [J]. Semin Reprod Med, 2001, 19(2): 175-181.
- [11] 张力佳, 熊符. G6PD 缺乏症发病的分子病理学新机制[J]. 国际遗传学杂志, 2011, 34(5): 271-276.
- Zhang L J, Xiong F. New mechanisms in the molecular pathology of human glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency [J]. Int J Genet, 2011, 34(5): 271-276.
- [12] Abramova I, Park K, Hosny C, *et al.* A study on the relevance of glucose-6-phosphate dehydrogenase level screening in patients with rheumatic diseases prior to initiating treatment with hydroxychloroquine [J]. Cureus, 2020, 12(8): e9519.
- [13] Howes R E, Battle K E, Satyagraha A W, *et al.* G6PD deficiency: global distribution, genetic variants and primaquine therapy [J]. Adv Parasitol, 2013, 81: 133-201.
- [14] Cappellini M D, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency [J]. Lancet, 2008, 371(9606): 64-74.
- [15] Mizukawa B, George A, Pushkaran S, *et al.* Cooperating G6PD mutations associated with severe neonatal hyperbilirubinemia and cholestasis [J]. Pediatr Blood Cancer, 2011, 56(5): 840-842.
- [16] Howes R E, Piel F B, Patil A P, *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.
- [17] Toniolo D, Filippi M, Dono R, *et al.* The CpG island in the 5' region of the G6PD gene of man and mouse [J]. Gene, 1991, 102(2): 197-203.
- [18] Mason P J, Bautista J M, Gilsanz F. G6PD deficiency: the genotype-phenotype association [J]. Blood Rev, 2007, 21(5): 267-283.
- [19] Wang J, Xiao Q Z, Chen Y M, *et al.* DNA hypermethylation and X chromosome inactivation are major determinants of phenotypic variation in women heterozygous for G6PD mutations [J]. Blood Cells Mol Dis, 2014, 53(4): 241-245.
- [20] Boonyuen U, Chamchoy K, Swangsri T, *et al.* A trade off between catalytic activity and protein stability determines the clinical manifestations of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 104(pt a): 145-156.
- [21] 徐芸, 罗建明. 我国 G6PD 缺乏症基因突变的研究现状[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2009, 14(3): 143-145.
- Xu Y, Luo J M. Research status of G6PD deficiency gene mutation in China [J]. J China Pediatr Blood Cancer, 2009, 14(3): 143-145.

□

(编辑: 张丽红)