

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症研究进展

陶子馨¹ 朱安娜² 杨芳^{1*}

(1. 南方医科大学南方医院 妇产科, 广东 广州 510515; 2. 广州市达瑞生物技术股份有限公司, 广东 广州 510665)

【摘要】 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)缺乏症是临床常见的遗传性酶缺陷疾病, 遗传方式为伴 X 染色体不完全显性遗传。其发病已知与摄入氧化性食物、药物或感染有关, 不同个体的酶活性及临床表现有极大差异, 可由无症状至严重的急性溶血性贫血, 新生儿可能因高胆红素血症诱发神经系统的永久性损伤。实验室检查以酶学及基因诊断为主。目前该病无法治愈, 治疗有赖于预防和对症支持治疗。现今研究有望通过改善 G6PD 稳定性缓解严重的 G6PD 缺乏。

【关键词】 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶; 诊断方法; 治疗; 研究进展

【中图分类号】 R714.51 **【文献标识码】** A

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)缺乏症是人类最常见的遗传性酶缺陷疾病之一。据 Ella 等^[1]统计, 世界范围内约有 4 亿人受到影响。亚洲特别是东南亚等地区对此疾病多有报道, 但发病率最高的地区位于撒哈拉以南的非洲, 而第二高的则是中东地区。最早是在 1932 年由 Otto 等在酵母和红细胞中发现并描述了一种氧化还原剂, 这是人类发现的第一种与糖代谢有关的酶类。19 世纪时, 儿科医生 Greece 等发现孩童中存在一种进食蚕豆后发病的疾病, 该疾病存在家族聚集性。自 19 世纪 20 年代后, 人们发现使用 8-氨基喹啉药物(如伯氨喹、扑虐喹啉等)用于防治疟疾时, 对于特定人群会出现严重的急性溶血性贫血。1956 年, Paul 等在芝加哥报道了一种人类红细胞中的 G6PD 缺乏症(即酶活性 $<15\%$ 正常值)。1958 年 Gennaro 等证实 G6PD 缺乏症为 X 连锁遗传。Mary 等和 Ernie 等则分别在实验鼠和人类中证实了 X 染色体失活现象。此时, “酶缺乏症”作为专业术语登上历史舞台^[2]。根据 1967 年 WHO 制定的标准, G6PD 缺乏的在临床上可以分为 5 类: I

类为酶活性 $<10\%$, 有慢性非球形细胞溶血性贫血; II 类为酶活性 $<10\%$, 有间断溶血性贫血; III 类为酶活性 $10\% \sim 60\%$, 酶活性中度缺乏, 如因感染或药物诱发溶血性贫血; IV 类为酶活性 $>60\%$, 酶活性正常, 无溶血性贫血; V 型为酶活性过高($>200\%$), 没有溶血性贫血^[3]。然而, G6PD 缺乏症在人类基因组进化的研究中有非常重要的意义。Ruwende 等^[4]发现 G6PD 缺乏症患者能显示出一定的抗疟性。疟疾是严重危害全球健康水平的一种虫媒传染病, 主要分布于热带及亚热带地区。Louicharoen 等^[5]在东南亚的研究发现 G6PD 缺乏症患者体内红细胞不适合疟原虫的生存, 而这些个体由于自然选择, 长期生活在疟疾流行地区的群体逐渐产生了抵抗疟疾的能力, 随着不断繁衍, 突变基因可出现较高的频率。Santana 等^[6]在巴西的研究证明 G6PD 酶活性与疟疾的易感性直接相关。此外, 亦有研究显示 G6PD 缺乏可能增加机体对某些病毒的易感性, 与糖尿病的发生有所联系, 在肿瘤的形成和增长中发挥重要作用, 或可量化其酶活性作为衡量肿瘤恶性程度的指标, 对白内障的发生发展也有一定关系^[7]。也有报道称 G6PD 缺乏是男婴败血症高危因素之一^[8]。在一项 2017 年发表的生物信息学研究中, 作者 Chen 等^[9]共纳入 2253 篇原始文献, 发现 G6PD 失调也同某些自身免疫疾病和代谢疾病

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2019.03.011

通讯作者: 杨芳, E-mail:

基金项目: 国家科技支撑计划课题(2015BAI13B04); 广州开发区国际科技合作项目(2017GH01)

有关,这提示我们 G6PD 缺乏症的临床风险被低估了。

1 遗传特征

G6PD 缺乏症是一种伴 X 染色体不完全显性遗传病。其基因定位于 Xq28,包括 13 个外显子和 12 个内含子,总长度约 20kb,其编码产物 G6PD 单体由 515 个氨基酸组成。根据遗传规律,男性为半合子,女性常为杂合子,在一些人群中,因 G6PD 缺乏的等位基因频率较高,女性纯合子也不少见。但 Luzzatto 等^[10]认为,并不存在所谓“纯合子”,因为目前已知的 G6PD 突变基因类型中未发现大片段缺失或框移突变,无论病情有多“严重”,均可检测到剩余的酶活性。他们对小鼠胚胎的研究发现,如定向失活 G6PD 基因导致酶合成剧烈下降,那么在胚胎开始血液循环的时候就会死亡,这提示 G6PD 对胚胎的早期生物合成具有不可或缺的作用。对于女性,每一个细胞中的一条 X 染色体随机失活,女性杂合子都是嵌合体,她们有缺陷的细胞可以像男性半合子一样表现出 G6PD 酶活性缺乏,而也有部分细胞可以正常生成 G6PD。总的来说,女性杂合子相对于男性半合子,其病情严重程度稍轻,但也有病例发展为严重的急性溶血性贫血^[11]。目前已知的突变已有 230 种。根据突变类型,主要分为单个错义突变、多个错义突变、缺失、内含子突变、单个无义突变。Minucci 等^[12]在 2012 年对当时已知的 186 种基因突变进行了分析,其中单个错义突变占 85.4%,表现为单个核苷酸替换,8.0%为多个错义突变,表现为两个或两个以上的核苷酸替换,5.3%为缺失,1.0%突变涉及内含子。对于最严重的 I 类 G6PD 缺乏症,其主要影响外显子 6、10 和 13,导致辅酶无法结合,从而表现出酶活性缺失。迄今为止在中国人群中发现的突变有 33 种,其中 1388G > A、1376G > T 和 95A > G 是最常见的突变类型。G6PD 缺乏症在我国呈“南高北低”分布特点,南方地区特别是处于热带及亚热带地区均有较高患病率,其中广东、广西、云南、贵州、海南等省份多有该病报道,但随着人口的流动,原患病率较低的地区也有增高趋势^[13]。

2 分子学特征

G6PD 可见于人体各种细胞,但在不同组织中有不同的浓度。Luzzatto 等^[14]发现,G6PD 活性在骨骼肌中最低,而在肾上腺和脑组织活性最高,这可能与不同组织中的甲基化模式及转录调控有关。人类红细胞中缺乏线粒体,因此仅能在磷酸戊糖途径中获得烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH),G6PD 作为限速酶催化 6-磷酸葡萄糖脱氢反应,此过程中生成的 NADPH 参与还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)的形成,这是人类的第一道抗氧化应激反应分子防线。G6PD 在二聚体或四聚体的形式获得功能,每一个单体都有催化辅酶 II (NADP⁺)的结合区域和 $\beta+\alpha$ 区域,这个区域有一个额外的 NADP⁺结合区域,使得酶结构更稳定。Cunningham 等^[15]发现,酶活性及稳定性是决定 G6PD 缺乏症患者临床预后的重要影响因素,二者处于一个动态平衡,也就是使酶活性能满足机体需要同时使酶在红细胞中保持稳定。仅酶活性或仅酶稳定性均不能决定或预测 G6PD 突变的表型,但二者结合就能给 G6PD 突变体进行明确的分类。酶稳定性最低的 G6PD 突变体预后常不良,或许可以通过提高酶稳定性治疗或改善 G6PD 缺乏。

3 临床表现及治疗手段

G6PD 缺乏症患者临床表现差异极大,许多患者可终身不发病,或仅有轻微症状,不影响其寿命及生活质量。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^[11]。常见的临床表现有:新生儿高胆红素血症、急性溶血性贫血(acute hemolytic anemia, AHA)和慢性非球形细胞溶血性贫血。对于新生儿,G6PD 缺乏导致的高胆红素血症常发生于出生后 2~4 天,而高峰位于第 3 天,新生儿出现黄疸,严重时可诱发胆红素脑病,造成永久的神经损害,预后不良,可予对症药物、蓝光照射甚至换血治疗^[16]。急性溶血性贫血则主要表现为乏力、发热、寒战、血红蛋白尿、黄疸、贫血,严重者可出现溶血危象,治疗上主要以对症支持治疗为

主,根据发病程度可决定是否予以输注 G6PD 活性正常红细胞或全血。Renzaho 等^[17]认为,供血者在输血前进行 G6PD 筛查并非必要,关于输注 G6PD 缺乏症患者的血液而引起不良反应的报道少见,但对于早产新生儿、经过换血的新生儿以及需要重复输血的患儿来说,输血前检测血制品 G6PD 活性还是有益处的。预防仍然是该病最重要的环节,主要以避免摄入蚕豆及可能引起溶血的食物药物为主。目前主要包括抗疟药(伯氨喹、氯喹等)、砒类(噻唑砒、氨苯砒等)、磺胺类(磺胺甲噁唑、磺胺吡啶等)、解热镇痛类(乙酰苯胺等)、其他类药物如呋喃妥因、黄连霉素等以及部分中药,如川莲、牛黄、金银花等^[3, 18-20]。20 世纪 70 年代曾有学者认为高剂量维生素 E 可以缓解 G6PD 缺乏症引起的溶血,但很快就被其他学者否定,目前已证实高剂量维生素 E 对 G6PD 缺乏治疗无效^[21-23]。然而在日常的临床工作中,医务人员并不会划分酶活性而对疾病进行分类,多数是提醒患者避免接触氧化性食物药物。Guan 等^[24]在中国台湾对 178 例 G6PD 缺乏症患儿家庭进行调查,研究患儿家长对该疾病的认识程度、自我保健的意识等,结果表明患儿家长对溶血性贫血的认识度严重不足,可能妨碍正确及时的治疗。他们强调应对 G6PD 患儿及家属宣教急性溶血性贫血的征象并指导他们正确就医,自我保健的意识对患儿健康水平提高有极大促进作用。

4 检测方法

1967 年 WHO 就制定了根据酶活性和酶动力学鉴定 G6PD 酶突变型的统一方案^[3]。我国对新生儿做重点筛查的疾病是苯丙酮尿症和甲状腺功能减低症,在特定地区亦开展 G6PD 缺乏症筛查^[25]。女性杂合子中可存在酶活性不同的红细胞,理论上,一条 X 染色体随机失活,则拥有正常酶活性及异常酶活性的红细胞的比值应为 1:1,但实际并非如此,这就有可能导致检测结果出现错误^[11, 26]。这给实验室诊断带来难题。采用荧光斑点法或荧光定量分析法筛查虽然有较高的灵敏性与特异性,但对女性杂合子诊断效能有限;实验室确诊一般采静脉外周血做红细胞 G6PD 活性测定,或 G6PD/6PGD(6 磷酸

葡萄糖脱氢酶)比值来判断;如遇疑难病例,则需行基因诊断:这种方法特别适用于女性杂合子,临床疑似而生化诊断不明确或有家族史的患者,是最有价值的检测方法,能有效降低酶学检测的漏诊风险,但成本较高,没有普适性^[27, 28]。AlSaif 等^[29]发现对于无 G6PD 缺乏新生儿,其外周血中酶活性水平比在脐带血中高;对于有 G6PD 缺乏新生儿,不管是外周血还是脐带血中其 G6PD 活性均低于正常值,这提示对于新生儿筛查,取脐带血或外周血检测并没有明显区别。

5 目前研究进展

G6PD 缺乏症作为一种基因缺陷病,无法被完全治愈。Cunningham 等^[15]的研究提示在结构性 NADP+ 结合区域进行修复有望通过提高酶稳定性改善严重的 G6PD 缺乏症。Hwang 等^[30]在高通量测序的条件下,发现了一种小分子—AG1(相对分子量=438.1912),可以增加 G6PD 野生型、Canton 突变型和几种其他常见类型突变的活性。Cunningham 团队在研究中以 G6PD 活性、GSH 及活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平作为观察指标,结果提示 Canton 型突变酶分子失去了重要的螺旋间相互作用——稳定性降低后,表现为更易被蛋白酶水解消化,而使用 AG1 处理后则可改变酶的 Km 值,提示该物质可活化并稳定突变的 G6PD。其后对斑马鱼胚胎进行试验,证实了 AG1 能在活体胚胎中降低氧化应激反应水平,最后尝试用 AG1 处理人类外周血,发现其溶血反应有所减低。这是在逆转已受损的酶活性及稳定性的一个重要发现,未来有望通过改善酶稳定性提高 G6PD 活性,以此达到治疗目的,大大提高严重 G6PD 缺乏症患者预后水平。

参考文献

- [1] Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, et al. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2009, 42(3): 267-278.
- [2] Luzzatto L, Nannelli C, Notaro R. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency[J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2016, 30(2): 373-393.

- [3] OrganizationWH. Standardization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase[J]. World Health Organ Tech Rep Ser, 1967,366:1-53.
- [4] Ruwende C, Khoo SC, Snow RW, et al. Natural selection of hemi- and heterozygotes for G6PD deficiency in Africa by resistance to severe malaria[J]. Nature, 1995, 376(6537): 246-249.
- [5] Louicharoen C, Patin E, Paul R, et al. Positively selected G6PD-Mahidol mutation reduces Plasmodium vivax density in Southeast Asians[J]. Science, 2009, 326(5959):1546-1549.
- [6] Santana MS, Monteiro WM, Siqueira AM, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient variants are associated with reduced susceptibility to malaria in the Brazilian Amazon [J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2013, 107(5): 301-306.
- [7] 李顶春,张韦,杨芳,等.葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症及相关疾病研究进展[J]. 热带医学杂志, 2013, 13: 1553-1556.
- [8] Rostami-Far Z, Ghadiri K, Rostami-Far M, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (G6PD) as a risk factor of male neonatal sepsis[J]. J Med Life, 2016, 9(1):34-38.
- [9] Chen L, Zhang C, Wang Y, et al. Data mining and pathway analysis of glucose-6-phosphate dehydrogenase with natural language processing[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(2): 1900-1910.
- [10] Letizia Longo, Meghavi Patel, Vittorio Rosti, et al. Maternally transmitted severe glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency is an embryonic lethal[J]. The EMBO Journal, 2002, 21: 4229-4239.
- [11] Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency[J]. Lancet, 2008, 371(9606): 64-74.
- [12] Minucci A, Moradkhani K, Hwang MJ, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations database: review of the "old" and update of the new mutations[J]. Blood Cells Mol Dis, 2012, 48(3): 154-165.
- [13] Jiang W, Yu G, Liu P, et al. Structure and function of glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient variants in Chinese population[J]. Hum Genet, 2006, 119(5): 463-478.
- [14] Battistuzzi G, D'Urso M, Toniolo D, et al. Tissue-specific levels of human glucose-6-phosphate dehydrogenase correlate with methylation of specific sites at the 3' end of the gene[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 198, 82(5):1465-1469.
- [15] Cunningham AD, Colavin A, Huang KC, et al. Coupling between Protein Stability and Catalytic Activity Determines Pathogenicity of G6PD Variants[J]. Cell Rep, 2017, 18(11): 2592-2599.
- [16] Francis RO, Jhang JS, Pham HP, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in transfusion medicine: the unknown risks[J]. Vox Sang, 2013, 105(4): 271-282.
- [17] Renzaho AM, Husser E, Polonsky M. Should blood donors be routinely screened for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency? A systematic review of clinical studies focusing on patients transfused with glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient red cells[J]. Transfus Med Rev, 2014, 28(1): 7-17.
- [18] Manganelli G, Fico A, Martini G, et al. Discussion on Pharmacogenetic Interaction in G6PD Deficiency and Methods to Identify Potential Hemolytic Drugs[J]. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2010, 10(2): 143-150.
- [19] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会新生儿筛查学组,中国医师协会医学遗传医师分会临床生化遗传专业委员会;中国医师协会医学遗传医师分会临床生化遗传专业委员会中国医师协会青春期医学专业委员会临床遗传学组.葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症新生儿筛查、诊断和治疗专家共识[J].中华儿科杂志, 2017, 55: 411-414.
- [20] Belfield KD, Tichy EM. Review and drug therapy implications of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency[J]. Am J Health Syst Pharm, 2018, 75(3): 97-104.
- [21] Spielberg SP, Boxer LA, Corash LM, et al. Improved erythrocyte survival with high-dose vitamin E in chronic hemolyzing G6PD and glutathione synthetase deficiencies[J]. Ann Intern Med, 1979, 90(1):53-54.
- [22] Newman JG, Newman TB, Bowie LJ, et al. An examination of the role of vitamin E in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency[J]. Clin Biochem, 1979, 12(5):149-151.
- [23] Johnson GJ, Vatassery GT, Finkel B, et al. High-dose vitamin E does not decrease the rate of chronic hemolysis in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency [J]. N Engl J Med, 1983, 308(17):1014-1017.
- [24] Guan Y, Roter DL, Huang A, et al. Parental discussion of G6PD deficiency and child health: implications for clinical practice[J]. Arch Dis Child, 2014, 99(3): 251-255.
- [25] 新生儿疾病筛查实验室检测技术规范[J]. 中国妇幼保健, 2005. 20: p. 263-264.
- [26] Mason PJ1, Bautista JM, Gilsanz F. G6PD deficiency: the genotype-phenotype association [J]. Blood Rev, 2007, 21(5): 267-283.
- [27] 江剑辉,马燮琴,宋诚燕,等.应用荧光斑点法筛查葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏[J]. 中华检验医学杂志, 2001, 6: 15-17.
- [28] 张娟,余朝文,苗静琨,等.基于测序分析的新生儿葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症分子诊断与基因新突变鉴定[J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39: 843-847.

- [29] AlSaif S, Ponferrada MB, AlKhairy K, et al. Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in neonates: a comparison between cord and peripheral blood samples[J]. BMC Pediatr, 2017,17(1): 159.
- [30] Hwang S, Mruk K, Rahighi S, et al. Correcting glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency with a small-molecule ac-

tivator[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 4045.

(收稿日期:2019-08-02)

编辑:宋文颖