

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.02.009

论著 · 临床研究

新疆维吾尔族儿童 21-羟化酶缺乏症 基因型与表型的研究

李静 罗燕飞 米热古丽·买买提

(新疆医科大学第一附属医院儿科, 新疆 乌鲁木齐 830054)

[摘要] **目的** 探讨新疆维吾尔族儿童 21-羟化酶缺乏症(21-OHD)基因突变规律及基因型和临床表型的关系。**方法** 选取 2013 年 10 月至 2014 年 10 月就诊的 20 例维吾尔族 21-OHD 患儿为研究对象,联合应用全长直接测序法和多重连接依赖探针扩增技术检测 21-羟化酶编码基因 CYP21A2 的突变类型,并按照基因突变类型将 21-OHD 患者分成不同的组别,比较预期的临床表型和实际临床表型的一致性。**结果** 20 例患儿共发现 9 种突变,其中 8 种为已确定的致病突变,分别为 Del、conv、I2g、I172N、Cluster E6、8-bp del、V281L、R356W,另 1 种突变为内含子 5 上的新发突变(c.648+37A>G),目前尚未有相关文献报道,暂不明确是否具有病理性意义。大部分根据基因突变类型预测的临床表型与实际临床表型符合率较高(67%以上),根据 P30L、V281L 突变预测的临床表型与实际临床表型符合率较低(33%)。**结论** 21-OHD 的基因型与表型有较好的相关性,通过检测患者的基因型可以预测疾病的临床表型;新发突变(c.648+37A>G)可能与 21-OHD 的发病有一定的关系。**[中国当代儿科杂志, 2016, 18(2): 141-146]**

[关键词] 维吾尔族; 21-羟化酶缺乏症; 基因型; 表型; 儿童

Genotypes and phenotypes in Uyghur children with 21-hydroxylase deficiency in Xinjiang, China

LI Jing, LUO Yan-Fei, Mireguli MAIMAITI. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China (Maimaiti M, Email: milikita17@aliyun.com)

Abstract: Objective To investigate gene mutations and the relationship between genotypes and clinical phenotypes in Uyghur children with 21-hydroxylase deficiency (21-OHD) in Xinjiang, China. **Methods** A total of 20 Uyghur children with 21-OHD who visited the hospital between October 2013 and October 2014 were enrolled. Full-length direct sequencing and multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) were used to detect the mutations of CYP21A2 gene, which encoded 21-hydroxylase. According to the type of mutation, the patients with 21-OHD were divided into different groups to analyze the consistency between predicted clinical phenotypes and actual clinical phenotypes. **Results** A total of 9 mutation types were found in the 20 patients, and 8 of them were identified as pathogenic mutations, i.e., Del, conv, I2g, I172N, Cluster E6, 8-bp del, V281L, and R356W. The other mutation is the new mutation occurring in intron 5 (c.648+37A>G), which had not been reported, and its pathological significance remains unknown. Most clinical phenotypes predicted by mutation types had a higher coincidence rate with actual clinical phenotypes (above 67%), and the clinical phenotypes predicted by P30L and V281L had a lower coincidence rate with actual clinical phenotypes (below 33%). **Conclusions** The genotype of 21-OHD has a good correlation with phenotype, and the clinical phenotype can be predicted by detecting the patient's genotype. The new mutation (c.648+37A>G) may be related to the pathogenesis of 21-OHD. **[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(2): 141-146]**

Key words: Uyghur; 21-Hydroxylase deficiency; Genotype; Phenotype; Child

[收稿日期] 2015-11-11; [接受日期] 2015-12-23

[基金项目] 国家自然科学基金(81360139)。

[作者简介] 李静,女,硕士研究生。

[通信作者] 米热古丽·买买提,女,主任医师。

先天性肾上腺皮质增生症 (congenital adrenal hyperplasia, CAH) 是一组因肾上腺皮质激素合成途径中酶缺陷引起的疾病, 属常染色体隐性遗传病, 其中以 21-羟化酶缺乏症 (21-hydroxylase deficiency, 21-OHD) 最常见, 占本病的 90%~95%^[1]。21-OHD 因不同的基因缺陷, 可能对酶的影响不同导致临床表型的差异。根据酶缺乏的程度, 可分为失盐型 (salt wasting, SW)、单纯男性化型 (simple virilizing, SV) 和非经典型 (non-classic, NC) 3 种。受累的酶 21 羟化酶由活性基因 CYP21A2 编码, 该基因位于第 6 号染色体短臂上, 与不具活性的假基因 (CYP21A1P) 串联排列组成。绝大多数突变源于有功能的 CYP21A2 基因和假基因之间的基因转换, 假基因成了突变的源头^[2]。已知突变 120 多种, 约 90% 的突变是由 9 种点突变以及 CYP21 基因的缺失、转换引起^[3-5]。据报道, CAH 发病率有明显的种族和地区差别^[6], 但目前尚未有关新疆地区维吾尔族 CAH 的有关研究, 因此本研究将有利于了解中国维吾尔族 21-OHD 基因突变规律及基因型和临床表型的关系。目前不同类型的 21-OHD 可通过临床症状和生化检测来诊断, 但均可能发生误诊或漏诊, 而对患者进行基因型分析, 可以做到早期诊断和类型鉴别^[7-8]。在遗传咨询和产前诊断中, 21-OHD 的基因诊断是唯一可靠的方法^[9]。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2013 年 10 月至 2014 年 10 月新疆医科大学第一附属医院小儿内一科收治的 18 例 21-OHD 患儿因肾上腺危象或外生殖器畸形就诊, 初诊年龄 28 d 至 12 岁; 民族均为维吾尔族; 父母均非近亲结婚; 社会性别男 8 例, 女 10 例, 其中 1 例社会性别为男性者染色体性别为女性, 其余社会性别均与染色体性别一致; 12 例为 SV 型, 5 例为 SW 型, 1 例为 NC 型。另 2 例于新生儿筛查时发现, 其中男 1 例, 女 1 例, 均为染色体性别; 民族均为维吾尔族; 后经基因测序确诊, 均为 SW 型。故本研究共纳入研究对象 20 例, 临床表型中 SV 型 12 例, SW 型 7 例, NC 型 1 例; 染色体性别男 8 例, 女 12 例。

1.2 方法

20 例患儿除进行详细的体格检查外, 均进行血 17 α -羟孕酮 (17-OHP)、促肾上腺皮质激素 (ACTH)、睾酮 (T)、血钾、血钠、肾上腺 B 超及染色体核型分析。部分患儿检测血气分析、心电图、肾上腺 CT 及骨龄。其中 T、雌二醇 (E2)、卵泡生成素 (FSH)、黄体生成素 (LH) 采用酶联免疫法测定; ACTH、皮质醇 (COR) 采用电化学发光法测定; 17-OHP 采用放免法测定。

1.3 标本采集和 DNA 提取

在知情同意的原则下, 采集受检者外周血 2 mL, 置于 EDTA 抗凝管中。取 EDTA 抗凝外周血标本 0.2 mL, 按血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 (北京天根生物) 说明书提取 DNA。

1.4 CYP21A2 基因全长测序

针对 CYP21A2 基因点突变采用直接测序法检测, 参照文献^[10-11], 根据 CYP21A2 和 CYP21A1P 基因序列的差别, 设计合成了 CYP21A2、CYP21A1P 基因及嵌合基因的上下游特异性引物, 对扩增的 3.4 kb DNA 进行完全测序, 与 CYP21A2 标准参照序列 GenBank M12792.1 比对, 检测全长 CYP21A2 基因的点突变。

1.5 多重连接探针扩增技术分析 CYP21A2 基因缺失或重复突变

操作步骤参照荷兰 MRC-Holland 公司的 SALSA MLPA KIT P050-B2 CAH (Lot 0510) 说明书进行, 探针和靶序列 DNA 杂交后通过连接、PCR 扩增, 产物经毛细管电泳分离得到。收集的数据经 Genemapper 4.0 (Applied Biosystems) 软件分析后得出包括峰高、峰面积、片段长度等一系列数据, 根据扩增峰的改变判断靶序列是否有拷贝数的异常或点突变存在, 从而分析缺失/重复突变情况。

1.6 分组及临床表型预测

21-OHD 因基因突变的位点不同, 可能对酶有不同程度的影响, 导致临床表型的差异^[12-13], 故按照突变类型将 21-OHD 患者分成不同的组别, Null 组: 包括 Del、conv、Q318X、Cluster E6、R356W、8-bp del 突变者; A 组: 包括 I2g 纯合子突变或 I2g 与 Null 组组成的杂合突变者; B 组: 包括 I172N 纯合突变或者 I172N 与 I2g/Null 组组成的杂合突变者; C 组: 包括 P30L、V281L 纯合突变

或者合并其他组组成的杂合突变者；D 组：合并非以上 10 种突变者。其中 Null 组和 A 组预测为 SW 型患者；B 组预测为 SV 型患者；C 组预测为 NC 型患者；D 组未能进行基因型的预测^[14]。

2 结果

2.1 临床症状和体征

20 例患儿中，1 例患儿社会性别为男性，就诊前一直当男童哺养，经腹部 B 超提示有子宫，做染色体核型分析为 46XX 方明确性别；1 例男性患儿 5 岁时提前出现第二性征（阴毛早现，阴茎勃起、遗精现象），6 岁时即出现变声，生长加速，身高较同龄儿高大（125 cm）；所有女性患儿中，均伴有阴蒂肥大，并不同程度逐渐出现皮肤色素沉着、痤疮、胡须旺盛、多毛等男性化表现，其中 2 例女性患者已行阴蒂切除成形术。

2.2 激素及影像学检查

12 例 SV 型患儿血清 ACTH 及 17-OHP 水平均明显高于正常值，血清 E2 水平低于正常值，部分患儿血清 T、COR 及血钠水平在正常范围内，所有患儿血清 LH、FSH 及血钾水平均在正常范围（表 1）。

12 例 SV 型患儿中，8 例患儿出现骨龄提前；7 例患儿有不同程度的肾上腺增生。

表 1 12 例 SV 型 21-OHD 患儿基础激素水平

激素	测量值	参考值范围
T [M(P ₂₅ , P ₇₅), nmol/L]	26.9(7.5, 51.3)	6.1~27.1
E2 ($\bar{x} \pm s$, pmol/L)	44 ± 26	73.4~172.5
LH ($\bar{x} \pm s$, IU/L)	1.7 ± 1.3	1.24~8.62
FSH ($\bar{x} \pm s$, IU/L)	3.5 ± 1.9	1.27~19.26
ACTH [M(P ₂₅ , P ₇₅), pg/mL]	189.3(102.3, 289.3)	7.2~63.3
COR [M(P ₂₅ , P ₇₅), nmol/L]	189.9(57.7, 429.2)	185~624
17-OHP ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)	38.4 ± 11.6	0.31~2.17
Na ⁺ [M(P ₂₅ , P ₇₅), mmol/L]	136(132, 140)	135~145
K ⁺ [M(P ₂₅ , P ₇₅), mmol/L]	3.9(3.7, 4.3)	3.5~5.5

注：[T]睾酮；[E2]雌二醇；[LH]黄体生成素；[FSH]卵泡生成素；[ACTH]促肾上腺皮质激素；[COR]皮质醇；[17-OHP]17 α -羟孕酮。

7 例 SW 型患儿有不同程度吐泻、皮肤色素沉着和高雄体征，血清 ACTH 及 17-OHP 均高于正常值，且存在明显低钠、高钾。1 例 NC 患儿无吐泻症状，以多毛、初潮延迟就诊，血清 ACTH、17-OHP 及 T 水平均高于正常值，怀疑为 21-OHD，经同意基因检测后明确诊断。见表 2。

表 2 SW 及 NC 型 21-OHD 患儿临床症状及生化指标

病例	性别	临床表型	临床症状和体征			血清生化指标			
			吐泻	皮肤色素沉着	高雄体征	17-OHP (ng/mL)	ACTH (pg/mL)	T (nmol/L)	K ⁺ /Na ⁺ (mmol/L)
1	男	SW	2+	2+	2+	50.50	554	19.9	9.51/90.8
2	男	SW	2+	+	+	36.56	505	12.1	6.08/127.8
3	男	SW	2+	+	+	14.53	466	11.9	8.19/121.7
4	男	SW	2+	+	+	25.63	450	9.8	7.50/124.7
5	女	SW	2+	+	+	36.41	162	10.9	5.81/109.5
6	女	SW	+	+	+	34.52	101	25.1	5.76/119.2
7	女	SW	+	2+	2+	51.04	110	19.7	5.93/116.1
8	女	NC	+	+	+	17.71	136	28.2	4.26/139.4

注：吐泻：2+ 为伴有脱水症状，+ 为不伴有或仅伴有轻度脱水症状；皮肤色素沉着：2+ 为色素沉着明显，全身皮肤发黑，+ 为仅会阴及乳房周围皮肤色素沉着；高雄体征：2+ 为男性阴茎粗长或女性阴蒂肥大似阴茎，+ 为外生殖器雄性化不明显。[17-OHP] 17 α -羟孕酮，参考范围 0.31~2.17 ng/mL；[ACTH] 促肾上腺皮质激素，参考范围 7.2~63.3 pg/mL；[T] 睾酮，参考范围 6.1~27.1 nmol/L；K⁺ 参考范围 3.5~5.5 mmol/L；Na⁺ 参考范围 135~145 mmol/L。

2.3 基因测序结果

20 例患儿共发现 9 种突变，其中 8 种为已确定的致病突变，分别为 Del、conv、I2g、I172N、Cluster E6、8-bp del、V281L、R356W，另 1 种突

变为内含子 5 上的突变（c.648+37A>G），目前尚未有相关文献报道，暂不明确是否具有病理性意义，该种突变有 3 例患儿均被检测出。

根据基因型的分组进行了临床表型的预测，

并与实际的临床表型进行了比对(表 3), 并就其一致性进行分析(表 4), 结果显示: A、B 组中预测的临床表型与实际的临床表型符合率较高,

分别为 100% 和 91%, C 组的符合率较低, 只有 33%, D 组因未能进行基因型预测而未行一致性分析。

表 3 20 例肾上腺皮质增生症患儿基因诊断结果

患儿	染色体性别	基因测序			临床表型		
		突变数(n)	纯合/杂合	突变类型	实际临床表型	所属的基因型分组	预测临床表型
例 1 [#]	女	2	杂合	I172N/I2g [*]	SV	B	SV
例 2	女	2	杂合	I172N/I2g	SV	B	SV
例 3 [#]	女	2	杂合	I172N/Cluster E6 [*]	SV	B	SV
例 4	女	2	杂合	I172N/Cluster E6	SV	B	SV
例 5	女	2	杂合	I172N/conv	SV	B	SV
例 6	女	2	杂合	I172N/R356W	SV	B	SV
例 7	女	1	纯合	I172N/I172N	SV	B	SV
例 8	女	2	杂合	I172N/R356W	SV	B	SV
例 9	男	2	杂合	I172N/8-bp del	SV	B	SV
例 10	男	2	杂合	V281L/Cluster E6	SV	C	NC
例 11	男	2	杂合	I172N/8-bp del	SV	B	SV
例 12	男	1	纯合	R356W/R356W	SV	Null	SW
例 13	男	2	杂合	R356W/conv	SW	Null	SW
例 14	男	1	纯合	Del/Del	SW	Null	SW
例 15	男	2	杂合	V281L/I172N	SW	C	NC
例 16 [#]	男	2	杂合	[I172N+V281L]/[Cluster E6+Q318X] [*]	SW	D	-
例 17	女	2	杂合	I172N/I2g	SW	B	SV
例 18	女	2	杂合	I2g/8-bp del	SW	A	SW
例 19	女	2	杂合	I2g/conv	SW	A	SW
例 20	女	2	杂合	V281L/8-bp del	NC	C	NC

注: Null 组: 包括 Del、conv、Q318X、Cluster E6、R356W、8-bp del 突变者; A 组: 包括 I2g 纯合子突变或 I2g 与 Null 组组成的杂合突变者; B 组: 包括 I172N 纯合突变或者 I172N 与 I2g/Null 组组成的杂合突变者; C 组: 包括 P30L、V281L 纯合突变或者合并其他组组成的杂合突变者; D 组: 合并非以上 10 种突变者。[SV] 单纯男性化型; [SW] 失盐型; [NC] 非经典型。^{*} 为同时发现了 c.648+37A>G 突变类型的患儿, 未见相关文献报道, 暂不明确是否具有病理性意义。[#] 示例 1、3、16 有复合杂合的突变, 文献中也常有报道^[15-16]。

表 4 20 例患者基因型和临床表型关联一致性的分析

临床表型分组	总人数	不一致例数	一致性比率
Null	3	1	67%
A	2	0	100%
B	11	1	91%
C	3	2	33%
D	1	-	-

2.4 治疗及转归

患儿在明确诊断后立即给予醋酸氢化可的松 (10~20 mg/m²), 早 1/2, 午、晚各 1/4 治疗; SW 型加用氟氢可的松治疗 (每日 0.05~0.1 mg, 严重失盐者可增至每日 0.2 mg); 皮质功能危象者

先静脉应用氢化可的松 (50~100 mg/m², 每日 2~3 次), 同时补充钠盐, 待病情稳定后氢化可的松逐渐减量至维持量 (每日 10~20 mg/m²)。治疗后每 3 个月复查血电解质、17-OHP、ACTH 及 T 水平; 每 6~12 个月复查骨龄以调整治疗剂量。当患儿出现发热、腹泻等感染情况时, 氢化可的松剂量增加 2~3 倍^[17]。坚持长期治疗, 使 17-OHP 及 T 水平在正常高限或稍高于正常值^[18]。替代治疗后, 除 1 例男性 SW 型患儿因感染时未及时加量甚至有减量, 导致肾上腺危象再次就诊, 对其纠正肾上腺危象后氢化可的松逐渐减量至维持量继续治疗并定期随访。其余 SV 型患儿肤色及男性化表现明显好转, SW 型患儿酸中毒纠正, 血钠、钾恢复正常,

生长发育亦基本正常, 1 例 NC 型患儿多毛症状改善, 并于治疗半年后有月经初潮。1 例男性 SV 型患儿 (身高 131 cm, 骨龄约 11 岁至 11 岁半), 预测成人终身高为 155 cm, 明显受损 (男孩 <160 cm, 女孩 <150 cm), 向患儿家属建议并经家属知情同意后给予重组人生长激素 (rhGH) 治疗, 有文献显示可改善其生长情况, 但尚需更多循证医学依据, 不作为常规推荐^[19], 该患儿应用 rhGH 治疗 1 年内, 生长速率平均为 0.5 cm/月, 生长效果欠佳, 骨龄评估近 12 岁 (身高 137 cm, 预测成人终身高仍为 155 cm), 经与家属协商后未再进行 rhGH 治疗。对于用药后阴蒂仍肥大未能恢复正常的 2 例女性 SV 型患儿, 已行阴蒂切除成形术。

3 讨论

CAH 发病率有明显的种族和地区差别^[6], 复习文献发现, 北京协和医院 (9 例 SW, 26 例 SV, 8 例 NC, 均为汉族) 的研究中, 最常见的突变是 I172N (36.0%)^[20]; 中国台湾地区 (8 例 SW, 11 例 SV 和 1 例 NC) 的研究中, 最常见的突变也是 I172N (27.5%)^[21]; 与协和医院的研究比较, I172N、I2g 和 Del 的频率无显著差异, R356W 频率高于协和医院的研究, 所有病人未检测出 P30L 和 V281L 突变。新加坡地区的华人 21-OHD 患者中 (SW 12 例, SV 8 例), 最常见的突变也是 I172N 和 I2g, 各 27.5%, 未检测到 Exon6 Cluster 和 V281L^[22]; 与协和医院的研究比较, I172N 和 I2g 频率无显著差别, Del 频率显著低于协和医院的研究, 而 8-bp del 和 R356W 频率显著高于协和医院的研究。

对于 NC 型 21-OHD 病人的研究, 协和医院^[20] 与日本 Tajima 等^[23] 的研究结果一致, 最常见的突变类型是 P30L, 而白种人中最常见的为 V281L, 一般在 45%~60%^[24], 犹太人 V218L 可高达 80%^[25]。可见, 东西方 NC 型 21-OHD 突变特点不同。

本研究中的 20 例患儿均来自新疆地区, 民族均为维吾尔族, 其基因突变的频率以 I172N (32%, 13/40) 最常见, 同时还发现了内含子 5 上的一种突变, c.648+37A>G (8%, 3/40), 而此种基因突变类型目前尚未有相关文献报道, 暂不明确是否具有病理性意义。未检出 P30L 这种基因突变型

(只检测出 1 例 Q318X, 为复杂杂合突变)。与协和医院^[20]、中国台湾^[21]、新加坡^[22] 等不同地区的基因突变频率分布比较可知, 新疆地区与台湾地区相同的是均未检测出 P30L 突变, 但新疆地区 R356W 突变频率 (12%, 5/40) 均较其他地区高, 8-bp del 的频率 (10%, 4/40) 也较协和医院、台湾地区高, 其他突变类型无显著差异。

预测为 NC 型的 3 例患儿有 1 例表现为 SV 型, 1 例表现为 SW 型, 可能与不同组合的突变所致酶活性降低程度存在差异相关, 另可能存在其他内外源性影响酶活性的因素, 例如, 新生儿感染可能在非 SW 型中引起水、电解质紊乱, 因此, 基因型与临床表型有时也不一致^[26]。有报道, 基因型对 SW 型诊断的预测值可达 81.8%, 对 SV 型的阳性预测值为 94.1%, 对 NC 型的预测值则较低^[27]。本研究中基因型对临床表型的阳性预测值高于其他报道^[28-29], 考虑可能为本研究纳入的主要为 SW 型、SV 型病例, 缺乏 NC 型病例。由于基因型与表型有较好的相关性, 我们可以通过评估患者的表型来验证基因型, 反之也可以通过检测患者的基因型来预测疾病的严重程度。本研究中已明确诊断的 20 例患儿中, 其表型均和基因型关联的一致性较高。

CAH 是最常见的女性外生殖器性别难辨的病因, 也是在未开展新生儿筛查的发展中国家新生儿猝死的常见病因^[30]。临床多项研究提示早期诊断、规律治疗且症状控制良好的 CAH 患儿可有正常的青春期发育^[31]。本研究报道的 CYP21A2 基因突变类型中, 复杂杂合突变所占比重较大, 且基因突变呈多样性, 提示分子诊断需要注意全面性。

综上, 经过学者们多年的研究探索, 21-OHD 型 CAH 的基因型检测方面已获得了巨大进展, 基因型的检出可以预测临床表型的严重程度, 同时通过产前诊断可为患者及家庭提供有效的遗传咨询服务。然而, 目前尚有许多重要问题有待解决, 本研究由于样本量较小, 随访过程中有失访的现象, 同时可能有自发突变及其他未知突变的存在。但通过对 CYP21A2 基因突变谱的研究及基因型和表型相关性的分析, 可为遗传咨询、基因诊断及产前诊断提供重要的信息。随着研究的深入, 将会对中国人 21-OHD 基因突变有一个更全面的认识。

[参 考 文 献]

- [1] 陆召麟, 卢琳. 先天性肾上腺皮质增生症: 非典型 21 羟化酶缺陷症的研究进展 [J]. 内科急危重症杂志, 2010, 16(1): 1-3.
- [2] Tsai LP, Lee HH. Analysis of CYP21A1P and the duplicated CYP21A2 genes[J]. *Gene*, 2012, 506(1): 261-262.
- [3] Singh RJ. Quantitation of 17-OH-progesterone(OHPG) for diagnosis of congenital adrenal hyperplasia (CAH)[J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 603: 271-277.
- [4] Ramazani A, Kahrizi K, Razaghiyar M, et al. The frequency of eight common point mutations in CYP21 gene in Iranian patients with congenital adrenal hyperplasia[J]. *Iran Biomed J*, 2008, 12(1): 49-53.
- [5] Asanuma A, Ohura T, Ogawa E, et al. Molecular analysis of Japanese patients with steroid 21-hydroxylase deficiency[J]. *J Hum Genet*, 1999, 44(5): 312-317.
- [6] Trapp CM, Oberfield SE. Recommendations for treatment of nonclassic congenital adrenal hyperplasia (NCCAH): an update[J]. *Steroids*, 2012, 77(4): 342-346.
- [7] 罗飞宏. 先天性肾上腺皮质增生症诊断治疗进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(8): 564-569.
- [8] Balsamo A, Baldazzi L, Menabò S, et al. Impact of molecular genetics on congenital adrenal hyperplasia management[J]. *Sex Dev*, 2010, 4(4-5): 233-248.
- [9] Nimkarn S, New MI. Prenatal diagnosis and treatment of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 300(1-2): 192-196.
- [10] Yu Y, Wang J, Huang X, et al. Molecular characterization of 25 Chinese pedigrees with 21-hydroxylase deficiency[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2011, 15(3): 137-142.
- [11] Barannik AP, Koltunova AA, Ozolinia LA, et al. A new DNA diagnostic system for the detection of human CYP21 gene mutations associated with adrenal cortex hyperplasia[J]. *Biorg Khim*, 2010, 36(3): 354-365.
- [12] Chen W, Xu Z, Nishitani M, et al. Complement component 4 copy number variation and CYP21A2 genotype associations in patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency[J]. *Hum Genet*, 2012, 131(12): 1889-1894.
- [13] Baş F, Kayserili H, Darendeliler F, et al. CYP21A2 gene mutations in congenital adrenal hyperplasia: genotype-phenotype correlation in Turkish children[J]. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2009, 1(3): 116-128.
- [14] Krone N, Braun A, Roscher AA, et al. Predicting phenotype in steroid 21-hydroxylase deficiency? Comprehensive genotyping in 155 unrelated, well defined patients from southern Germany[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(3): 1059-1065.
- [15] Witchel SF, Smith R, Crivellaro CE, et al. CYP21 mutations in Brazilian patients with 21-hydroxylase deficiency[J]. *Hum Genet*, 2000, 106(4): 414-419.
- [16] Wedell A, Thilén A, Ritzén EM, et al. Mutational spectrum of the steroid 21-hydroxylase gene in Sweden: implications for genetic diagnosis and association with disease manifestation[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994, 78(5): 1145-1152.
- [17] 梁玲, 辛颖. 先天性肾上腺皮质增生症的诊断和治疗进展 [J]. 国际儿科学杂志, 2014, 41(1): 55-58.
- [18] 王昊, 于晓峰. 21-羟化酶缺陷型先天性肾上腺皮质增生症治疗现状 [J]. 国际内分泌代谢杂志, 2011, 31(6): 393-396.
- [19] Longui CA, Kochi C, Calliari LE, et al. Near-final height in patients with congenital adrenal hyperplasia treated with combined therapy using GH and GnRHa[J]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2011, 55(8): 661-664.
- [20] 张波, 陆召麟, 王玥, 等. 中国人 21-羟化酶缺乏症基因型和临床表型特点研究 [J]. 遗传学报, 2004, 31(9): 950-955.
- [21] Ko TM, Kao CH, Ho HN, et al. Congenital adrenal hyperplasia. Molecular characterization[J]. *J Reprod Med*, 1998, 43(4): 379-386.
- [22] Loke KY, Lee YS, Lee WW, et al. Molecular analysis of CYP-21 mutations for congenital adrenal hyperplasia in Singapore[J]. *Horm Res*, 2001, 55(4): 179-184.
- [23] Tajima T, Fujieda K, Nakae J, et al. Mutations of the CYP21 gene in nonclassical steroid 21-hydroxylase deficiency in Japan[J]. *Endocr J*, 1998, 45(4): 493-497.
- [24] Balsamo A, Cacciari E, Baldazzi L, et al. CYP21 analysis and phenotype/genotype relationship in the screened population of the Italian Emilia-Romagna region[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2000, 53(1): 117-125.
- [25] Weintrob N, Brautbar C, Pertzalan A, et al. Genotype-phenotype associations in non-classical steroid 21-hydroxylase deficiency[J]. *Eur J Endocrinol*, 2000, 143(3): 397-403.
- [26] Wilson RC, Mercado AB, Cheng KC, et al. Steroid 21-hydroxylase deficiency: genotype may not predict phenotype[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80(8): 2322-2329.
- [27] Concolino P, Mello E, Patrosso MC, et al. p.H282N and p.Y191H: 2 novel CYP21A2 mutations in Italian congenital adrenal hyperplasia patients[J]. *Metabolism*, 2012, 61(4): 519-524.
- [28] Marumudi E, Sharma A, Kulshreshtha B, et al. Molecular genetic analysis of CYP21A2 gene in patients with congenital adrenal hyperplasia[J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2012, 16(3): 384-388.
- [29] Oriola J, Bosch MZ, Valls C, et al. Association of p.His38Leu, a rare CYP21A2 mutation, with the classical simple virilizing phenotype of 21-hydroxylase deficiency in a 6-year-old boy[J]. *Horm Res Paediatr*, 2011, 76(3): 214-217.
- [30] Maiti A, Chatterjee S. Congenital adrenal hyperplasia: an Indian experience[J]. *J Paediatr Child Health*, 2011, 47(12): 883-887.
- [31] Hindmarsh PC. Management of the child with congenital adrenal hyperplasia[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2009, 23(2): 193-208.

(本文编辑: 万静)