

## Wilson 病的流行病学研究进展

张海云 程楠 韩咏竹

[关键词] Wilson 病;发病率;患病率;分子流行病学  
doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2014.03.048

Wilson 病(Wilson's disease, WD)又称肝豆状核变性(hepatolenticular degeneration, HLD),是一种好发于青少年期的常染色体隐性遗传铜代谢障碍性疾病。WD 患者因位于 13q14.3 的 ATP7B 基因突变,导致铜离子跨膜转运障碍,引起肝细胞内铜蓝蛋白(ceruloplasmin, CP)合成障碍及铜在胆汁中的排泄障碍,过量的铜在肝、脑、角膜等组织脏器中沉积而起病,临床以肝硬化、神经/精神症状、角膜 K-F 环为主要表现<sup>[1]</sup>。

WD 是少数可以治疗的神经遗传性疾病之一,若能早期诊断并给予及时有效的治疗,多数患者病情可获有效控制,甚至获得接近正常人的寿命和生活质量,反之预后不良甚至危及生命<sup>[1]</sup>。受诊断技术的限制,以往认为 WD 属罕见疾病而未给予足够的重视,加之 WD 存在高度的临床和遗传异质性,在发病早期临床表现复杂多样,极易发生误诊和漏诊,严重影响本病患者的预后。因此,对不同地域和种族的人群进行流行病学调查,获得 WD 的患病率和发病率等研究资料,可加深人们对 WD 的了解和重视程度,对提高 WD 的诊疗水平、避免误诊误治有重要意义。

## 1 WD 发病率和患病率的研究

1.1 国外 WD 发病率和患病率的研究 美国在 1968~1978 年进行的研究结果显示与 WD 相关的死亡率为 13.21/100 万,这是最早报道的 WD 流行病学研究。1979 年, Bachmann 等的研究认为德意志民主共和国(前东德)WD 的发病率为 29/100 万。1981 年, Saito 对 289 个日本家庭的研究结果认为其发病频率为 33/100 万。1984 年, Scheinberg 和 Sternlieb 根据以上研究结果得出以下结论:不同人群 WD 的发病率为(15~30)/100 万,患病率约 1/3 万,携带者频率约 1/90。此结论长期以来得到大多数学者的认可和引用,美国国立卫生研究院和欧洲公共卫生委员会也据此将 WD 划归罕见病范畴。但有学者认为,这些统计结果均源于已确诊的 WD 患者,由于并不是所有的患者都能够被确诊,因此该结论得出的 WD 发病率和患病率被严重低估<sup>[2]</sup>。

后来,采用高灵敏度诊断技术的流行病学研究结果发现 WD 具有更高的患病率。2002 年,在日本的儿科中心进行的采用单克隆抗体 ELISA 法检测干血片或 CP 的前瞻性实验研究

中,WD 患儿的检出率为 2/48 819<sup>[3]</sup>; Hahn 等<sup>[4]</sup>2002 年应用三明治 ELISA 法测定干血片 CP 含量,在 3 667 例韩国儿童中发现 1 例患者。由于 CP 检查可能存在假阳性且这些儿童中未行进一步的基因检测结果来验证,其患病率有可能被高估。

在针对某些特定人群进行的 WD 流行病学研究中,其发病率或患病率明显高于其他人群。如 Garcia 等<sup>[5]</sup>2000 年报道西班牙大加那利岛人群的患病率为 1/2 600,2004 年韩国儿童中的患病率约为 1/37 000(2.7~6/10 万人口)<sup>[6]</sup>, Dedoussis 等<sup>[7]</sup>研究则发现希腊 Crete 岛 2005 年 WD 的患病率高达 6/90 个新生儿。

1.2 中国人 WD 发病率和患病率的研究 有关中国人 WD 的研究最早见于程玉麟(1932 年)和林文秉(1932 年)等的报道,截至 1986 年共有近百篇文献报道了约 1 200 例患者,近年来国内 WD 的病例报道呈增多趋势<sup>[8]</sup>。中山医科大学第一附属医院对 1982~1991 年神经遗传性疾病专科门诊就诊的患者进行统计分析,WD 占 10.14%,居全部单基因遗传病的第二位<sup>[9]</sup>。1996 年,胡学强等<sup>[10]</sup>在广东省顺德市容奇镇通过对 8 758 人的流行病学调查,发现 1 例 WD 患者。

由于目前缺乏大样本的中国人 WD 发病率和患病率的流行病学研究资料,安徽中医药大学于 2008 年 11 月至 2010 年 6 月采用裂隙灯检查双眼角膜 K-F 环的筛查方法,以位于江淮之间丘陵地带安徽省含山县、皖西大别山区金寨县和淮河以北平原地带利辛县的城乡居民作为研究对象,对 3 县汉族人群的 WD 发病率和患病率进行了调查,含山县 112 810 例调查对象中共发现 WD 确诊患者 7 例,其中 3 例已经发病的患者病程在 1 年以内。因此含山县本组人群 WD 的发病率约为 2.66/10 万,患病率约为 6.21/10 万<sup>[11]</sup>。金寨县和利辛县 40 560 名调查对象中,共发现 WD 确诊患者 2 例,金寨县和利辛县 WD 的患病率约为 4.93/10 万<sup>[12]</sup>。国内调查 153 370 人共发现 WD 患者 9 例,其中 3 例在 1 年内发病,因此人群发病率约为 1.96/10 万,患病率约为 5.87/10 万<sup>[13]</sup>。该研究结果与同位于东亚地区的日本、韩国等<sup>[2]</sup>国家报道的 WD 流行病学研究资料十分接近,但明显高于欧美国家。以上研究从流行病学角度证实了 WD 的发病存在人种和地域的差异。

基金项目:安徽省教育厅省高校重点科研项目(项目编号:KJ2012A183)

作者单位:230031 合肥 安徽中医药大学研究生部(张海云)

230061 合肥 安徽中医药大学神经病学研究所(张海云,程楠,韩咏竹)

通信作者:韩咏竹, hanyongzhutcm@aliyun.com

## 2 WD 的分子流行病学研究

由于 WD 患者的 CP 等生化检测存在假阳性或假阴性结果,而角膜 K-F 环在无症状的亚临床型患者和肝型患者的阳性率明显低于脑型 WD 患者<sup>[14]</sup>,因此采用这些方法进行的 WD 流行病学研究结果与实际的发病率和患病率之间存在差异。随着 WD 基因的克隆,对不同人群采用 WD 基因型检测方法进行分子流行病学调查有望获得最为准确的流行病学研究数据。

研究表明,WD 基因突变在不同种族人群中存在明显的差异:欧洲裔白种人 WD 患者中第 14 外显子 p. H1069Q 有较高的突变频率,尤其是高加索裔白种人的等位基因突变频率高达 72%<sup>[15-20]</sup>,而东亚黄种人 WD 患者中第 8 外显子 p. R778L 的突变率高达 44%<sup>[21-26]</sup>。基于此,Olivarez 等<sup>[27]</sup>采用检测 WD 基因 p. H1069Q 点突变的方法筛查了 2 601 例美国高加索裔新生儿,估算其患病率为 1/55 000。Mak 等<sup>[28]</sup>筛查了 660 例无血缘关系的香港地区汉族人 WD 基因 p. R778L 位点(该突变位点在汉族人中最为常见)的等位基因频率,发现 3 例杂合子,推算其患病率为 1/5 400。

由于 WD 基因存在高度的遗传异质性,各外显子的突变位点众多(目前已发现超过 300 种形式的基因突变),在不同人种的突变特征亦存在明显差异,因此有学者提出,在明确不同地域、不同人群 WD 基因的突变热区和高频突变位点的基础上采用 PCR 或多重 PCR 技术扩增相应人群的突变热区并进行序列比对分析,可明显提高 WD 基因突变的检出效率<sup>[29]</sup>,因此也是进行 WD 分子流行病学常用的研究方法。Lovicu 等<sup>[30]</sup>采用多重 PCR 检测 WD 基因 c. -441 427del、c. 213 214delAT、c. 15 121 513insT、p. R778W、c. 2463delC 和 p. V1146M 等 6 个位点的方法在撒丁岛人群中可检出 85% 的染色体突变;Gupta 等<sup>[31]</sup>选择 c. 1 216TCT>GCT、c. 1 544-43A>C、c. 2 495AAG>AGG 和 c. 2 855AGA>AAA 等 4 个 SNP 标记在 28 例无亲缘关系的 WD 家系成员中发现有 25 例与其先证者紧密连锁,因此将这 4 个 SNP 标记与之前发现的 p. C271X、c. 1 708-1G>C、p. G1 061E、c. 448delGAGGG 和 p. Y187X 等 5 个高频突变位点联合检测可明显提高印度人群 WD 患者的检出率。由于中国北方人群、台湾地区 and 朝鲜人群中 WD 基因第 8、12、13、16、和 18 外显子检出率较高,而第 5、8、12、13 和 16 外显子在中国南方人群和日本人群有较高的检出率,有学者提出采用上述 5 个外显子的组合可检出 70% 东亚人群的 WD 基因突变<sup>[2]</sup>。安徽中医药大学采用 PCR-酶切方法检测了中国人 WD 患者第 8 外显子 p. R778L、第 12 外显子 p. T935M 和第 13 外显子 p. P992L 突变,检出率为 69.01%<sup>[32]</sup>,因此采用该方法在中国人 WD 患者中达到接近 70% 的检出率。

近年来,Gojova'等<sup>[33]</sup>采用含有 87 种突变和 17 种多态的 DNA 微阵列芯片在东欧 WD 患者中检出 43 种突变和 15 种多态,并指出该方法是一种可用于大样本人群筛选的高效、高灵敏度的 WD 基因突变检测方法。美国 Sequenom 公司研发的将多重 PCR 技术、质谱技术、芯片技术以及生物信息学方法结合于一体的 MassARRAY 检测平台<sup>[34]</sup>能够区分含有 1 个不同碱

基的两段基因序列,具有高通量、高质量、低成本、简单、灵活等优势,目前已广泛用于 SNP 基因分型、基因表达研究、拷贝数变异、基因甲基化分析等研究,且与 WD 以点突变为主的基因突变特征相契合,是可用于 WD 分子流行病学研究的有力工具。

## 3 小结

综上所述,基于大样本人群的 WD 流行病学研究能加深人们对 WD 的了解和重视程度,对提高 WD 的诊断和治疗水平有重要意义。由于采用常规生化(及)角膜 K-F 环等筛查方法进行 WD 的流行病学研究存在各种缺陷,难以得到接近于实际的研究结果,而对大样本人群的 WD 分子流行病学研究尽管花费不菲、存在个人隐私权保护和社会伦理方面的争议,但却是目前最为准确的流行病学调查方法。随着不同人群 WD 基因突变谱的明确,DNA 微阵列芯片及 MassARRAY 等高通量、高灵敏度的基因检测技术在 WD 的分子流行病学研究中有较好的应用前景<sup>[35]</sup>。

## 参考文献

- [1] Huster D. Wilson disease[J]. Best Pract Res Cl Ga,2010,24(5):531-535.
- [2] Mak CM,Lam CW. Diagnosis of Wilson's disease;a comprehensive review[J]. Crit Rev Cl Lab Sci,2008,45(3):263-290.
- [3] Owada M,Suzuki K,Fukushi M,et al. Mass screening for Wilson's disease by measuring urinary holoceruloplasmin[J]. J Pediatr,2002,140(5):614-616.
- [4] Hahn SH, Lee SY, Jang YJ, et al. Pilot study of mass screening for Wilson's disease in Korea[J]. Mol Genet Metab, 2002,76(2):133-136.
- [5] Garcia-Villarreal L, Daniels S, Shaw SH, et al. High prevalence of the very rare Wilson disease gene mutation Leu708Pro in the Island of Gran Canaria (Canary Islands, Spain): a genetic and clinical study[J]. Hepatology, 2000, 32(6):1329-1336.
- [6] Seo JK, Kim YS, Hahn CJ, et al. A nationwide survey for prevalence and clinical characteristics of Wilson disease in Korea[J]. Korean J Hepatol, 2004, 10(Suppl):5-15.
- [7] Dedoussis GV, Genschel J, Sialvera TE, et al. Wilson disease: high prevalence in a mountainous area of Crete[J]. Ann Hum Genet, 2005, 69(Pt 3):268-274.
- [8] 杨任民. 肝豆状核变性[M]. 合肥:安徽科学技术出版社, 1995:7.
- [9] 李润桦,梁秀龄,刘焯霖,等. 957 例神经遗传病病例分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 1994, 11(6):372-374.
- [10] 胡学强,潘永辉,黎锦如,等. 肝豆状核变性的流行病学调查(附一家系报告)[J]. 中华医学遗传学, 1996, 13(6):371.
- [11] 胡文彬,韩咏竹,薛本春,等. 安徽省含山县肝豆状核变性

- 的流行病学调查研究[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(13): 894-897.
- [12] 胡文彬, 韩咏竹, 杨任民, 等. 安徽省金寨县和利辛县汉族人群肝豆状核变性的患病率调查(附一家系报道)[J]. 安徽医学, 2012, 33(6): 734-737.
- [13] Cheng N, Wang K, Hu WB, et al. Wilson disease in the south Chinese Han population[J]. *Can J Neurol Sci*, 2013 (accepted).
- [14] Roberts EA, Schilsky ML. Diagnosis and treatment of Wilson disease: An update[J]. *Hepatology*, 2008, 47(6): 2089-2111.
- [15] Thomas GR, Forbes JR, Roberts EA, et al. The Wilson disease gene: spectrum of mutations and their consequences[J]. *Nat Genet*, 1995, 9(2): 210-217.
- [16] Firneisz G, Lakatos PL, Szalay F, et al. Common mutations of ATP7B in Wilson disease patients from Hungary[J]. *Am J Med Genet*, 2002, 108(1): 23-28.
- [17] Panagiotakaki E, Tzetzis M, Manolaki N, et al. Genotype-phenotype correlations for a wide spectrum of mutations in the Wilson disease gene (ATP7B)[J]. *Am J Med Genet A*, 2004, 131(2): 168-173.
- [18] Cox DW, Prat L, Walshe JM, et al. Twenty-four novel mutations in Wilson disease patients of predominantly European ancestry[J]. *Hum Mutat*, 2005, 26(3): 280.
- [19] Gromadzka G, Schmidt HH, Genschel J, et al. p. H1069Q mutation in ATP7B and biochemical parameters of copper metabolism and clinical manifestation of Wilson's disease[J]. *Mov Disord*, 2006, 21(2): 245-248.
- [20] Folhoffer A, Ferenci P, Csak T, et al. Novel mutations of the ATP7B gene among 109 Hungarian patients with Wilson's disease[J]. *Eur J Gastroen Hepat*, 2007, 19(2): 105-111.
- [21] Thomas GR, Roberts EA, Walshe JM, et al. Haplotypes and mutations in Wilson disease[J]. *Am J Hum Genet*, 1995, 56(6): 1315-1319.
- [22] Okada T, Shiono Y, Hayashi H, et al. Mutational analysis of ATP7B and genotype-phenotype correlation in Japanese with Wilson's disease[J]. *Hum Mutat*, 2000, 15(5): 454-462.
- [23] Wu ZY, Wang N, Lin MT, et al. Mutation analysis and the correlation between genotype and phenotype of Arg778Leu mutation in Chinese patients with Wilson disease[J]. *Arch Neurol*, 2001, 58(6): 971-976.
- [24] Yoo HW. Identification of novel mutations and the three most common mutations in the human ATP7B gene of Korean patients with Wilson disease[J]. *Genet Med*, 2002, 4(Suppl 6): 43S-48S.
- [25] Liu XQ, Zhang YF, Liu TT, et al. Correlation of ATP7B genotype with phenotype in Chinese patients with Wilson disease[J]. *World J Gastroentero*, 2004, 10(4): 590-593.
- [26] Wan L, Tsai CH, Tsai Y, et al. Mutation analysis of Taiwanese Wilson disease patients[J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2006, 345(2): 734-738.
- [27] Olivarez L, Caggana M, Pass KA, et al. Estimate of the frequency of Wilson's disease in the US Caucasian population: a mutation analysis approach[J]. *Ann Hum Genet*, 2001, 65(Pt 5): 459-463.
- [28] Mak CM, Lam CW, Tam S, et al. Mutational analysis of 65 Wilson disease patients in Hong Kong Chinese: identification of 17 novel mutations and its genetic heterogeneity[J]. *J Hum Genet*, 2008, 53(1): 55-63.
- [29] Harmut H, Schmidt J. Introducing single-nucleotide polymorphism markers in the diagnosis of Wilson disease[J]. *Clin Chem*, 2007, 53(9): 1568-1569.
- [30] Lovicu M, Dessi V, Zappu A, et al. Efficient strategy for molecular diagnosis of Wilson disease in the sardinian population[J]. *Clin Chem*, 2003, 49(3): 496-498.
- [31] Gupta A, Maulik M, Nasipuri P, et al. Molecular diagnosis of Wilson disease using prevalent mutations and informative single-nucleotide polymorphism markers[J]. *Clin Chem*, 2007, 53(9): 1601-1608.
- [32] 程楠, 陆兵勋, 杜益刚, 等. 中国人 Wilson 病患者基因高频突变位点的快速检测[J]. 中风与神经疾病杂志, 2009, 26(4): 414-417.
- [33] Gojová L, Jansová E, Külm M, et al. Genotyping microarray as a novel approach for the detection of ATP7B gene mutations in patients with Wilson disease[J]. *Clin Genet*, 2008, 73(5): 441-452.
- [34] Gabriel S, Ziaugra L, Tabbaa D. SNP genotyping using the sequenom massarray iPLEX platform[J]. *Curr Protoc Hum Genet*, 2009, (Suppl 60): 2.12.11-2.12.18.
- [35] 杜益刚, 程楠, 胡纪源. 肝豆状核变性基因诊断技术的研究进展[J]. 安徽医学, 2009, 30(4): 488-489.

(2013-09-23 收稿 2013-11-08 修回)

## Wilson病的流行病学研究进展

作者: [张海云](#), [程楠](#), [韩咏竹](#)  
作者单位: [张海云\(230031 合肥 安徽中医药大学研究生部 230061; 合肥 安徽中医药大学神经病学研究所\)](#), [程楠,韩咏竹\(合肥 安徽中医药大学神经病学研究所\)](#)  
刊名: [安徽医学](#) **ISTIC**  
英文刊名: [Anhui Medical Journal](#)  
年, 卷(期): 2014(3)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_ahyx201403054.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_ahyx201403054.aspx)