

• 病例报告 •

# 1 例女性杂合变异致轻型血友病 A 的发病机制分析并文献复习\*

王稳<sup>1</sup> 崔东艳<sup>1</sup> 张艾<sup>1</sup> 刘爱国<sup>1</sup> 胡群<sup>1</sup>

**[摘要]** 通过对血友病 A(hemophilia A, HA)患者家系进行临床特征分析和分子学检测,探讨女性 FⅧ基因杂合变异致轻型 HA 的发病机制,并通过检索国际 FⅧ基因变异数据库进行相关文献复习。结果显示先证者 FⅧ:C 0.3%,为重型 HA 患者,伴有抑制物产生,基因变异检测发现先证者存在大片段缺失变异(c. delexons14\_22),此变异为已知的致病性变异,目前国内外报道了 6 例患者,均为重型 HA,其中 5 例报道了抑制物产生,1 例患者未对抑制物进行描述。先证者母亲为大片段缺失变异的杂合变异,FⅧ:C 13%,为轻型 HA,未见抑制物形成;X 染色体失活检测发现该母亲的正常 X 染色体比携带 FⅧ基因变异的 X 染色体表达活性低。大片段缺失变异(c. delexons14\_22)可引起重型 HA,且与抑制物产生高度相关。女性杂合变异致轻型 HA 的机制可解释为 X 染色体表达存在非随机不平衡失活。

**[关键词]** 女性;血友病 A;FⅧ基因;大片段缺失;X 染色体失活

**DOI:**10.13201/j.issn.1004-2806.2023.07.013

**[中图分类号]** R554 **[文献标志码]** D

## The pathogenesis of a female hemophilia A patient with heterozygous variant and literature review

WANG Wen CUI Dongyan ZHANG Ai LIU Aiguo HU Qun

(Department of Pediatric Hematology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430030, China)

Corresponding author: HU Qun, E-mail: qunhu2013@163.com

**Abstract** To explore the pathogenetic mechanism for a female patient affected with mild hemophilia A caused by heterozygous variants in FⅧ genes, it analyzed the clinical characteristics and molecular characteristics of the patients' families. Relevant literature was reviewed by searching the International FⅧ Variant Database. The proband, a 22-year-old boy was diagnosed with severe HA at 1-year-old, Sanger sequencing failed to identify molecular defects, and MLPA revealed a large duplication (c. delexons14\_22). This variant has been observed in 6 HA patients, 5 of whom had severe phenotype and had a history of inhibitors. His mother was a carrier of large duplication (c. delexons14\_22), with a lower concentration of FⅧ (FⅧ:C 13%). X chromosome inactivation test found that the normal X chromosome of the mother had lower expression activity than the X chromosome carrying the FⅧ gene variant. Large duplications (c. delexons14\_22) can cause severe HA and is highly correlated with inhibitor production. The mechanism of mild HA induced by heterozygous variant can be explained by the non-random imbalance inactivation of the X chromosome.

**Key words** femininity; hemophilia A; FⅧ gene; large deletion; X chromosome inactivation

血友病 A(hemophilia A, HA)是一组由编码凝血因子Ⅷ(coagulation factor Ⅷ, FⅧ)的基因变异引起的 X 连锁隐性遗传疾病,以自发性或外伤后的出血不止为特征<sup>[1-2]</sup>。FⅧ基因位于 Xq28,全长 186 kb,包括 26 个外显子和 25 个内含子,其编码的 FⅧ是一种由 2 351 个氨基酸组成的复杂糖蛋

白,由 A1-a1-A2-a2-B 结构域组成的重链和由 a3-A3-C1-C2 组成的轻链共价连接构成<sup>[3-4]</sup>。截至目前,EAHAD 数据库(<https://f8-db.eahad.org/>)列出了 3 052 种变异,其中点变异最为常见(66.1%,2 018/3 052),其次是缺失变异(23.4%,714/3 052)、重复变异(5.9%,181/3 052)、插入变异(1.6%,50/3 052)等。近年来,从延长半衰期的凝血因子产品、非凝血因子产品到成功的基因治疗临床试验,HA 患者的治疗方法不断增加,但外源性 FⅧ的替代治疗仍是患者的主要选择<sup>[5-7]</sup>。作为 X 连锁隐性遗传性出血性疾病,HA 患者以男性多

\*基金项目:HERO(Haemophilia Experience, Results, and Opportunities)基金(No:2018033)

<sup>1</sup>华中科技大学同济医学院附属同济医院儿童血液科(武汉,430030)

通信作者:胡群,E-mail:qunhu2013@163.com

见,女性通常为携带者,而携带者通常通过家系分析确定,并通过家族史及基因检测进行验证,携带者的检出及产前诊断对防止血友病患者的出生意义重大<sup>[8-10]</sup>。本研究对1例HA患者家系进行临床分析及分子学检测,并探讨女性HA患者的发病机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

先证者,男,22岁。1岁左右外院确诊为重型HA,并行按需治疗,无明确家族史。先证者母亲,44岁,无明显出血倾向。该研究已获得了患者及家属的知情同意,并通过了华中科技大学同济医学院医学伦理委员会的批准(No:2018033)。

### 1.2 FⅧ:C及抑制物定量检测

使用一期法测定FⅧ:C,使用的检测设备为STA-R EVOLUTION全自动凝血分析仪及配套的测定试剂盒。应用Bethesda法进行FⅧ抑制物定量检测,滴度 $\geq 0.6$  BU/mL则为抑制物阳性<sup>[11]</sup>。

### 1.3 基因检测

抽取先证者、胞姐及父母的外周静脉血2~3 mL于EDTA抗凝试剂管中,24 h内抽提基因组DNA备用。先对先证者进行基因检测,再对其他3人进行遗传验证。先证者院外已诊断为重型HA,故先筛查内含子22倒位及内含子1倒位,阴性再行Sanger测序以检测FⅧ基因编码区及其侧翼序列变异,仍阴性则运用多重连接探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)技术检测是否存在大片段的缺失/重复变异。

#### 1.3.1 内含子22倒位检测(长距离DNA扩增)

相应引物序列如下:正向引物(P)GCC CTG CCT GTC CAT TAC ACT GAT GAC ATT ATG CTG AC;野生反向(Q)GGC CCT ACA ACC ATT CTG CCT TTC ACT TTC AGT GCA ATA;倒位反向(B)CCC CAA ACT ATA ACC AGC ACC TTG AAC TTC CCC TCT CAT A。相应PCR反应体系为:总计25  $\mu$ L,包括:2 $\times$ GC Buffer I 12.5  $\mu$ L、5.0 U/ $\mu$ L LA Taq 0.5  $\mu$ L、10.0 mmol/L Dntp 1.0  $\mu$ L、10.0 mmol/L dTTP 1.0  $\mu$ L、10.0 mmol/L dCTP 1.0  $\mu$ L、5.0 mmol/L dGTP/7-zeada-dGTP 2.0  $\mu$ L、Genomic DNA 4.0  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 1.5  $\mu$ L、5.0  $\mu$ mol/L Q 0.5  $\mu$ L、10.0  $\mu$ mol/L B 0.5  $\mu$ L、10.0  $\mu$ mol/L P 0.5  $\mu$ L。相应PCR反应条件为:预变性(94 $^{\circ}$ C 1 min);变性(98 $^{\circ}$ C 10 s);退火/延伸(68 $^{\circ}$ C 10 min),10个循环;变性(98 $^{\circ}$ C 10 s);退火/延伸(68 $^{\circ}$ C 10 min+20 s,意思为每增加1个循环退火时间相应递增20 s),20个循环;延伸(72 $^{\circ}$ C 10 min)。对LD-PCR产物(琼脂糖凝胶电泳)进行检测:首先取0.5  $\mu$ L上述

PCR产物,加入适量6 $\times$  Loading Buffer,使用0.6%琼脂糖凝胶电泳分析,以电压50V电泳4~5 h,拍照分析。

**1.3.2 内含子1倒位检测(双管多重PCR)** 相应引物序列为:正向引物(9F)GTT GTT GGG AAT GGT TAC GG;反向引物(9cR)CTA GCT TGA GCT CCC TGT GG;正向引物(2F)GGC AGG GAT CTT GTT GGT AAA;反向引物(2R)TGG GTG ATA TAA GCT GCT GAG CTA。相应PCR反应体系为:其中,Int1 h-1体系共20  $\mu$ L,包括:2 $\times$ Mix(Novogene)10  $\mu$ L、9cR 1  $\mu$ L、9F 1  $\mu$ L、2F 1  $\mu$ L、Genomic DNA 1  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 6  $\mu$ L;Int1 h-2体系共20  $\mu$ L,包括:2 $\times$ Mix(Novogene)10  $\mu$ L、2F 1  $\mu$ L、9F 1  $\mu$ L、2R 1  $\mu$ L、Genomic DNA 1  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 6 mL。相应PCR反应条件为:预变性(95 $^{\circ}$ C 5 min);变性(94 $^{\circ}$ C 30 s);延伸(72 $^{\circ}$ C 2 min),35个循环;延伸(72 $^{\circ}$ C 7 min)。对双管多重PCR产物(琼脂糖凝胶电泳)进行检测:首先取5  $\mu$ L PCR产物,加入适量6 $\times$  Loading Buffer,使用1%琼脂糖凝胶电泳分析,以电压100 V电泳约20 min,拍照分析。

**1.3.3 编码区及侧翼突变检测(Sanger测序)** 相应引物:参考FⅧ、FⅨ基因突变数据库提供的序列。相应PCR反应体系:总计50  $\mu$ L,包括:2 $\times$ Mix(Novogene)25  $\mu$ L、10  $\mu$ mol/L F 2  $\mu$ L、10  $\mu$ mol/L R ddH<sub>2</sub>O 19  $\mu$ L、Genomic DNA 2  $\mu$ L;相应PCR反应条件:预变性(95 $^{\circ}$ C 5 min);变性(94 $^{\circ}$ C 30 s);退火(57 $^{\circ}$ C 30 s),延伸(72 $^{\circ}$ C 45 s),35个循环;延伸(72 $^{\circ}$ C 7 min)。相应PCR扩增产物纯化与测序:纯化PCR产物的测序PCR反应体系:包括:5 $\times$  Sequencing Buffer 3.5  $\mu$ L、Bigdye 1  $\mu$ L、0.8  $\mu$ mol/L F or R 2  $\mu$ L、Purified product by PCR 2  $\mu$ L、ddH<sub>2</sub>O 9.5  $\mu$ L;反应条件:96 $^{\circ}$ C 1 min;96 $^{\circ}$ C 10 s,50 $^{\circ}$ C 5 s,60 $^{\circ}$ C 4 min共25个循环。测序PCR产物经过纯化后,采用10  $\mu$ L高度去离子甲酰胺(HIDI)溶解后,进行变性反应:94 $^{\circ}$ C 5 min。变性后产物经3500Dx测序仪进行测序。测序文件在NCBI Blast网站进行比对。

**1.3.4 MLPA 具体过程:** DNA变性(DNA 5  $\mu$ L;98 $^{\circ}$ C 5 min;25 $^{\circ}$ C暂停)。探针与样本DNA杂交[探针混合液(SALSA probemix 1.5  $\mu$ L+MLPA buffer 1.5  $\mu$ L)3  $\mu$ L;95 $^{\circ}$ C 1 min;60 $^{\circ}$ C暂停]。杂交探针的连接[连接酶混合物(ligase buffer A 3  $\mu$ L+ligase buffer B 3  $\mu$ L+water 25  $\mu$ L+ligase-65 1  $\mu$ L)32  $\mu$ L;54 $^{\circ}$ C暂停;54 $^{\circ}$ C 15 min;98 $^{\circ}$ C 5 min;20 $^{\circ}$ C暂停]。连接探针的PCR扩增[PCR混合物(water 7.5  $\mu$ L+PCR Primer Mix 2  $\mu$ L+SALSA Polymerase 0.5  $\mu$ L)10  $\mu$ L;95 $^{\circ}$ C 30 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,7 $^{\circ}$ C 60 s,共35个循环;72 $^{\circ}$ C

20 min;15℃ 暂停]。PCR 产物的毛细管电泳(Beckman;90℃ 2 min;ABI;86℃ 3 min,4℃ 2 min)。

1.4 X 染色体失活(或里昂化)检测

1.4.1 引物序列 AR-F(FAM):GCT GTG AAG GTT GCT GTT CCT CAT;R-R:TCC AGA ATC TGT TCC AGA GCG TGC。

1.4.2 Hpa II 酶切反应体系(30 μL) 酶切组酶切反应体系包括 DNA 1 μg,10×NEBuffer 3 μL,Hpa II 2 μL,加 RNase-free H<sub>2</sub>O 至 30 μL;未酶切组酶切反应体系包括 DNA 1 μg,10×NEBuffer 3 μL,加 RNase-free H<sub>2</sub>O 至 30 μL。

1.4.3 酶切反应条件 37℃ 5 h。

1.4.4 PCR 反应体系(25 μL) 上游引物 Fp(10 μmol/L) 0.5 μL,下游引物 Rp(10 μmol/L) 0.5 μL,酶切反应 DNA Template 1 μL,PrimeSTAR HS(2X)12.5 μL,加 RNase-free H<sub>2</sub>O 至 25 μL。

1.4.5 PCR 反应条件 98℃(预变性)3 min;98℃(变性)10 s,60℃(退火)15 s,72℃(延伸)30 s,35 个循环;72℃(延伸)5 min。

1.4.6 凝胶电泳 2% 琼脂糖凝胶电泳,PCR 产物及 Marker 均上样 5 μL,于 130 V 下电泳 30 min,用 Green-DNA Dye 核苷酸胶体染料染色,紫外灯下拍照分析。

1.4.7 失活率计算 失活率=(d1/U1)/(d1/U1+d2/U2)。d1 和 d2 分别代表酶切样本 PCR 产物 2 条带峰值大小;U1 和 U2 分别代表未酶切样本 PCR 产物 2 条带峰值大小。

1.5 FVIII 基因变异数据库检索

根据本病例基因检测结果,检索 FVIII 基因变异数据库,并分析该变异类型已报道患者的临床特征。

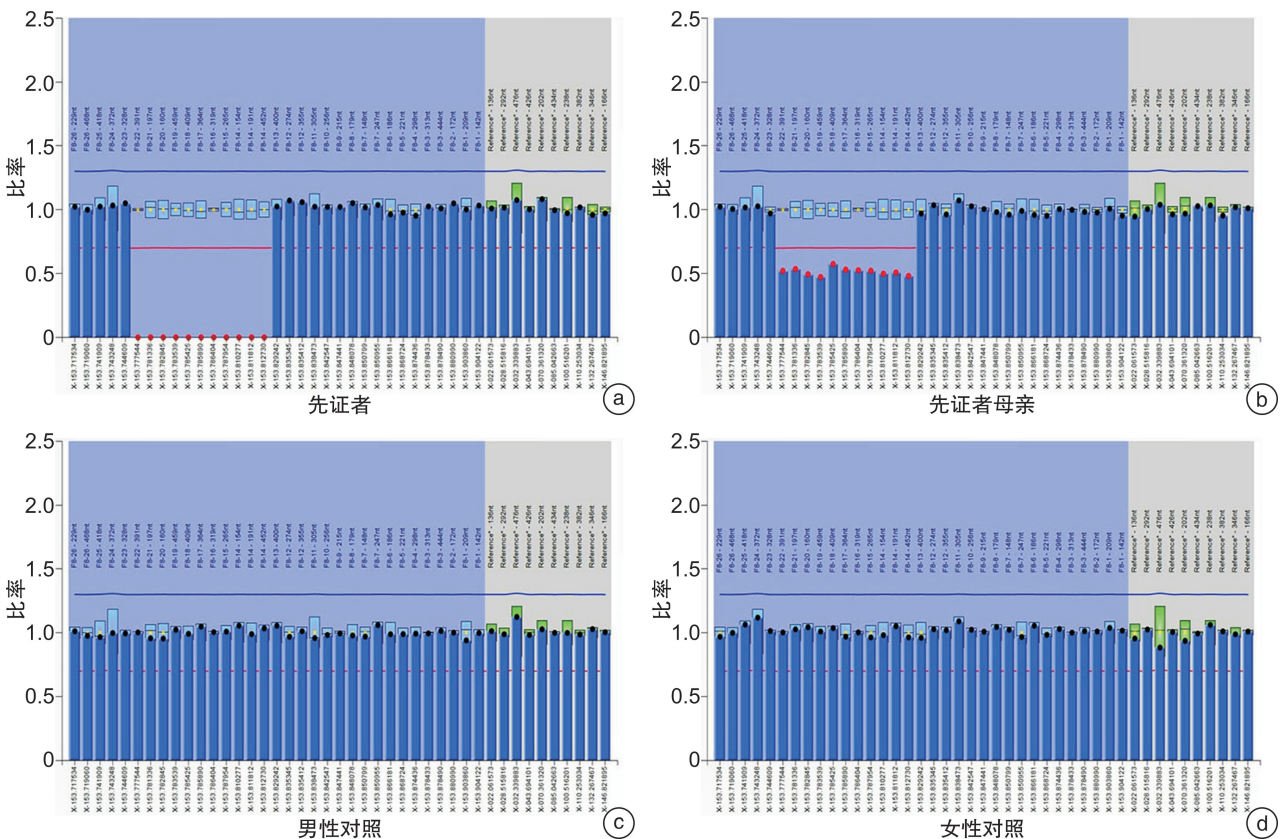
2 结果

2.1 FVIII 活性及抑制物检测

先证者 FVIII:C 0.3%,凝血酶原时间(PT)13.3 s,活化部分凝血活酶时间(APTT)121.6 s,FVIII 抑制物滴度为 126 BU/mL,vWF 抗原 144.4%。先证者母亲 FVIII:C 13%,既往无明显活动性出血、无凝血因子输注史。先证者胞姐及父亲 FVIII:C 正常(外院检查,具体不详)。

2.2 基因检测

先证者未测到内含子 22 倒位及内含子 1 倒位,FVIII 编码区及侧翼未测到错义、无义变异,MLPA 检测提示先证者 FVIII 基因存在大片段缺失 c. delexons14\_22 半合变异。对其家系进行遗传验证,先证者父亲及胞姐未测到该变异,而母亲为大片段缺失 c. delexons14\_22 携带者。基因变异结果见图 1。



a:先证者;b:先证者母亲;c:男性对照;d:女性对照。X 轴:由 MLPA 探针覆盖的 DNA 序列,(从右到左),参考对照区和 FVIII 基因外显子;Y 轴:正常样本的预期比率为 1.0,但 0.7~1.3 均属正常范围;比例接近 0 时表示外显子缺失,接近 0.5 表示杂合子状态下存在缺失;比例接近 2 时表示半合子复制,在杂合子复制状态下接近 1.5。

图 1 MLPA 的检测结果



### 2.3 X 染色体失活检测

对先证者及母亲进行 X 染色体失活检测,结果显示母亲存在 X 染色体倾斜性失活,见图 2、图 3。

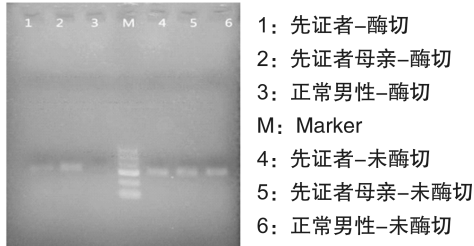


图 2 凝胶电泳图

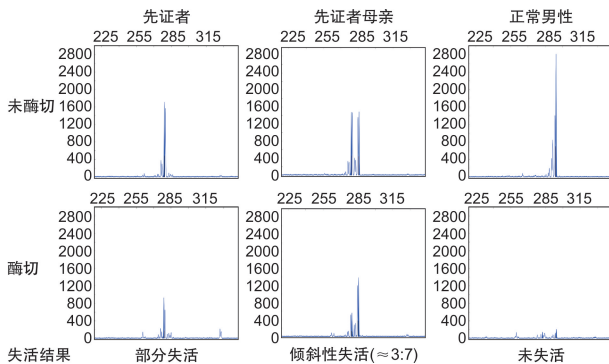


图 3 PCR 产物毛细管电泳图

### 2.4 FⅧ基因变异数据库

通过查询 FⅧ基因变异数据库得知, c. delexons14\_22 变异为已知的致病性变异, 目前国内外已报道 6 例患者存在此变异, 且均为重型 HA, 其中 5 例患者伴抑制物产生, 未对抑制物进行描述者 1 例。

### 3 讨论

目前, 血友病的诊断多基于临床表现及实验室检查, 通过基因检测确定致病基因, 对血友病的出血表型、抑制物、携带者筛查、遗传咨询与产前诊断具有重要意义。本研究对 1 例重型 HA 患者进行基因变异及 FⅧ抑制物检测, 结果显示, 该患者 FⅧ抑制物阳性且 FⅧ基因存在大片段缺失 (c. delexons14\_22) 变异。据研究, 存在大片段缺失变异的 HA 患者抑制物形成风险较高, 这是由于大片段缺失导致内源性 FⅧ蛋白合成障碍或截短, 无法诱导免疫耐受从而使自身免疫系统将外源性 FⅧ识别为外来蛋白, 并对其产生免疫反应, 从而产生抗 FⅧ同种异体抗体, 一般这类变异引起的 HA 患者凝血因子活性低, 出血表现明显<sup>[12]</sup>, 这与本研究结果相符。

由于其遗传特性, 女性通常为携带者, 有传递致病基因的风险, 部分大约携带者凝血因子浓度有

降低, 在日常生活中可出现血肿、月经过多、手术后出血的可能<sup>[13]</sup>。Plug 等<sup>[14]</sup>报道了荷兰血友病家庭女性携带或不携带 HA 或 HB 的情况, 研究中发现, 对于凝血因子活性 >60 IU/dL、40~60 IU/dL 和 <40 IU/dL 的患者, 观察到小伤口出血和手术或拔牙后出血事件数量的显著趋势; 与非携带者比较, 携带者拔牙或扁桃体切除/腺样体切除术后出血的风险更高, 携带者拔牙的出血风险是非携带者的 23.1 倍, 扁桃体切除/腺样体切除术后出血风险是非携带者的 9.9 倍。为保证充分的止血, 这些携带者在手术、事故或部分情况下可能需要采取额外措施, 如使用凝血酶原复合物等。部分女性也可由于 X 染色体失活 (细胞中 2 个单倍体 X 连锁基因中的一个随机失活且无表型表达的现象, 也称里昂化)、存在纯合或复合杂合变异、特纳综合征和睾丸女性化综合征等表现出 HA 的相关症状<sup>[15-16]</sup>。

本研究通过对先证者母亲进行因子活性、携带者筛查, 发现母亲为大片段缺失 c. delexons14\_22 变异携带者, FⅧ:C 13%, X 染色体失活检测提示母亲的正常 X 染色体比携带 FⅧ基因变异的 X 染色体表达活性低, 这也解释了先证者母亲 FⅧ活性低的原因。

X 染色体失活 (X chromosome inactivation, XCI) 现象是 Barr 于 1949 年首次在观察雌猫有丝分裂间期神经核时发现的<sup>[17]</sup>。它是一种发生在胚胎早期囊胚期的表观遗传现象, 主要效应是使哺乳类动物中雌雄间 X 连锁基因表达剂量平衡, 形成剂量补偿效应, 在这种情况下, 2 条 X 染色体中的一条转录沉默; 雌性的 2 条 X 染色体中的一条转录沉默, 导致与只有 1 条 X 染色体的雄性相同的基因表达, 从而确保女性 XX 细胞与男性 XY 细胞具有相同剂量的 X 染色体基因产物, 避免基因过度表达, 这种现象称为 XCI, 其中 DNA 甲基化在 XCI 中起着重要作用<sup>[18-19]</sup>。X 染色体失活中心 (XCI center, XIC) 是主要调控区域, 携带 XIC 的 X 染色体可以顺式启动失活, 而位于 XIC 中的 X 染色体失活特异转录基因 (X inactive specific transcript, Xist) 基因被证明为主要调节基因, 仅由非活性 X 染色体 (inactive X chromosome, Xi) 表达, Xist RNA 可能沿着 Xi 传播, 开始一系列表观遗传变化, 导致巴尔体的形成。Tsix 是起始于 Xist 下游的一个顺式调控元件, 其编码长度约 40 kb 的 RNA, 是 Xist 的一个重要的抑制因子, 它在其中一条 X 染色体上上调, 负责招募多梳蛋白顺式包裹 X 染色体, 以诱导 X 染色体沉默, 两者相互调控共同参与胚胎早期发育过程中 XCI 的生理过程<sup>[19-21]</sup>。

一般来说, X 染色体失活是一个随机的过程 (亲本 X 染色体失活的比例为 50:50), 一旦发生即可通过有丝分裂稳定的遗传给所有子细胞<sup>[22-23]</sup>。

女性携带者很少表现出疾病表型,这是由于女性存在另外 1 条正常的 X 染色体,或携带变异的 X 染色体在大多数细胞中优先失活,从而保留了正常的 X 染色体和常染色体,这种现象称为倾斜的 XCI<sup>[24]</sup>。但在少数情况下也可出现女性携带者的正常 X 染色体失活,如 Xist 基因变异、未携带基因变异的 X 染色体上存在一个有害的变异,导致该染色体的负选择和非随机失活等,从而导致一些疾病的发生<sup>[24-25]</sup>。

综上,本研究通过遗传筛查发现了 1 例携带杂合变异的女性轻型 HA 患者,其分子机制为 X 染色体非随机不平衡失活。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] Mahlangu J, Oldenburg J, Paz-Priel I, et al. Efficacy of prophylaxis in patients who have hemophilia A without inhibitors[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(9): 811-822.
- [2] Hirayama AB, Silva AKCD, Rocha JS, et al. Prevalence of symptoms in hemophilia carriers in comparison with the general population: a systematic review [J]. *Hematol Transfus Cell Ther*, 2019, 41(4): 349-355.
- [3] Al-Huniti A, Sharathkumar A, Krantz M, et al. Discrepant hemophilia A: an underdiagnosed disease entity[J]. *Am J Clin Pathol*, 2020, 154(1): 78-87.
- [4] Seaman CD, Xavier F, Ragni MV. Hemophilia A (factor VIII deficiency) [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2021, 35(6): 1117-1129.
- [5] Franchini M, Mannucci PM. The history of hemophilia [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2014, 40(5): 571-576.
- [6] Mannucci PM. Hemophilia therapy: the future has begun[J]. *Haematologica*, 2020, 105(3): 545-553.
- [7] 张磊,代新岳. 血友病基因治疗临床研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2022, 35(7): 464-468.
- [8] Shinozawa K, Amano K, Hagiwara T, et al. Genetic analysis of carrier status in female members of Japanese hemophilia families [J]. *J Thromb Haemost*, 2021, 19(6): 1493-1505.
- [9] Paroskie A, Gailani D, DeBaun MR, et al. A cross-sectional study of bleeding phenotype in haemophilia A carriers[J]. *Br J Haematol*, 2015, 170(2): 223-228.
- [10] Garagiola I, Mortarino M, Siboni SM, et al. X Chromosome inactivation: a modifier of factor VIII and IX plasma levels and bleeding phenotype in Haemophilia carriers[J]. *Eur J Hum Genet*, 2021, 29(2): 241-249.
- [11] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组, 中国血友病协作组. 凝血因子 VIII/IX 抑制物诊断与治疗中国指南 (2018 年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(10): 793-799.
- [12] Spina S, Garagiola I, Cannavò A, et al. Prediction of factor VIII inhibitor development in the SIPPET cohort by mutational analysis and factor VIII antigen measurement[J]. *J Thromb Haemost*, 2018, 16(4): 778-790.
- [13] Cygan PH, Kouides PA. Regulation and importance of factor VIII I levels in hemophilia A carriers [J]. *Curr Opin Hematol*, 2021, 28(5): 315-322.
- [14] Plug I, Mauser-Bunschoten EP, Bröcker-Vriends AHJT, et al. Bleeding in carriers of hemophilia [J]. *Blood*, 2006, 108(1): 52-56.
- [15] Miller CH, Bean CJ. Genetic causes of haemophilia in women and girls [J]. *Haemophilia*, 2021, 27(2): e164-e179.
- [16] d'Oiron R, O'Brien S, James AH. Women and girls with haemophilia: lessons learned [J]. *Haemophilia*, 2021, 27(Suppl 3): 75-81.
- [17] Loda A, Collombet S, Heard E. Gene regulation in time and space during X-chromosome inactivation [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(4): 231-249.
- [18] Furlan G, Galupa R. Mechanisms of choice in X-chromosome inactivation [J]. *Cells*, 2022, 11(3): 535.
- [19] Wang D, Tang L, Wu YF, et al. Abnormal X chromosome inactivation and tumor development [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(15): 2949-2958.
- [20] Pereira G, Dória S. X-chromosome inactivation: implications in human disease [J]. *J Genet*, 2021, 100: 63.
- [21] Dossin F, Heard E. The molecular and nuclear dynamics of X-chromosome inactivation [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2022, 14(4): a040196.
- [22] Shvetsova E, Sofronova A, Monajemi R, et al. Skewed X-inactivation is common in the general female population [J]. *Eur J Hum Genet*, 2019, 27(3): 455-465.
- [23] Posynick BJ, Brown CJ. Escape from X-chromosome inactivation: an evolutionary perspective [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 241.
- [24] Vianna EQ, Piergiorgio RM, Gonçalves AP, et al. Understanding the landscape of X-linked variants causing intellectual disability in females through extreme X chromosome inactivation skewing [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(9): 3671-3684.
- [25] Dardik R, Avishai E, Lalezari S, et al. Molecular mechanisms of skewed X-chromosome inactivation in female hemophilia patients—lessons from wide genome analyses [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 9074.

(收稿日期: 2022-06-09 修回日期: 2023-04-16)