

· 临床研究 ·

疑难病研究—citrin 缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症

宋元宗¹, 郝虎¹, 牛饲美晴², 柳国胜¹, 肖昕¹, 佐伯武顿², 小林圭子², 王自能³

(1 暨南大学附属第一医院儿科, 广东 广州 510632; 2 日本鹿儿岛大学分子代谢和生化遗传学系, 日本 鹿儿岛 890-8544; 3 暨南大学医学院妇产科教研室, 广东 广州 510632)

[摘 要] citrin 缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症 (NICCD) 是一种以黄疸、肝功能异常为主要临床表现的遗传代谢病。作为一种线粒体溶质载体蛋白, citrin 在糖有氧分解、糖异生、尿素循环以及蛋白质和核苷酸的合成过程中起重要作用, 因此其缺陷可导致复杂多样的代谢紊乱, 包括低血糖、高乳酸、高氨血症、低蛋白血症、高脂血症和半乳糖血症等。该文报道 1 例经 SLC25A13 (编码 citrin 的基因) 突变分析证实的 NICCD 病例。患儿为 6 个月男婴, 因发现皮肤和巩膜黄染近半年入院, 体查发现明显的皮肤和巩膜黄染, 肝脏肋下 5 cm, 肝功能检查发现除 GGT, ALP, AST, ALT 等酶学指标升高外, TBA 和 Tbil (Dbil 为主) 升高, 而总蛋白/白蛋白和纤维蛋白原水平降低。血氨、血乳酸和血胆固醇、甘油三酯等指标也升高。AFP 水平更是高达罕见的 319 225.70 $\mu\text{g/L}$ 。血串联质谱分析发现游离脂肪酸和酪氨酸、蛋氨酸、瓜氨酸和苏氨酸等氨基酸增高, 尿 UP-GC-MS 分析检出大量的半乳糖和半乳糖醇。患儿于是被疑诊 NICCD。停母乳喂养, 予无乳糖和强化中链脂肪酸配方奶喂养, 同时补充多种维生素 (包括脂溶性的维生素 A, D, E 和 K), 并口服精氨酸降血氨治疗。经以上处理半月, 患儿黄疸迅速消退, 实验室指标改善或恢复正常。目前患儿已经门诊随访 6 月, 体格生长发育正常, 除有时有轻微的高乳酸血症外, 实验室各项指标已经得以纠正。SLC25A13 基因突变分析显示患儿系突变 851del4 和 1638ins23 的复合杂合子。

[中国当代儿科杂志, 2006, 8(2): 125-128]

[关键词] citrin; citrin 缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症; 甲胎蛋白; 瓜氨酸

[中图分类号] R589, R596 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2006)02-0125-04

A difficult and complicated case study: neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency

SONG Yuan-Zong, HAO Hu, USHIKAI Miharuru, LIU Guo-Sheng, XIAO Xin, SAHEKI Takeyori, KOBAYASHI Keiko, WANG Zi-Neng. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital, Jinan University, Guangzhou 510632, China (Email: songyuanzong@tom.com)

Abstract: Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD) is a kind of inborn errors of metabolism, with the main clinic manifestations of jaundice, hepatomegaly, and abnormal liver function indices. As a mitochondrial solute carrier protein, citrin plays important roles in aerobic glycolysis, gluconeogenesis, urea cycle, and protein and nucleotide syntheses. Therefore citrin deficiency causes various and complicated metabolic disturbances, such as hypoglycemia, hyperlactic acidemia, hyperammonemia, hypoproteinemia, hyperlipidemia, and galactosemia. This paper reported a case of NICCD confirmed by mutation analysis of SLC25A13, the gene encoding citrin. The baby (male, 6 months old) was referred to the First Affiliated Hospital with the complaint of jaundice of the skin and sclera, which it had suffered from for nearly 6 months. Physical examination showed obvious jaundice and a palpable liver 5cm below the right subcostal margin. Liver function tests revealed elevated enzymatic activities, like GGT, ALP, AST, and ALT, together with increased levels of TBA, bilirubin (especially conjugated bilirubin), and decreased levels of total protein/albumin and fibrinogen. Blood levels of ammonia, lactate, cholesterol, and triglyceride were also increased, and in particular, the serum AFP level reached 319 225.70 $\mu\text{g/L}$, a extremely elevated value that has rarely been found in practice before. Tandem mass analysis of a dried blood sample revealed increased levels of free fatty acids and tyrosine, methionine, citrulline, and threonine as well. UP-GC-MS analysis of the urine sample showed elevated galactose and galactitol. The baby was thus diagnosed with suspected NICCD based on the findings. It was then treated with oral arginine and multiple vitamins (including fat-soluble vitamins A, D, E, and K), and was fed with lactose-free and medium-chain fatty acids

[收稿日期] 2006-01-01; [修回日期] 2006-02-17

[作者简介] 宋元宗 (1970-), 男, 博士, 副教授, 副主任医师。主攻方向: 遗传代谢病的诊断治疗研究。

[基金项目] 1. 广东省科技计划项目 (No. 2004B50301008), 2. 国家 973 项目 (No. 2001CB510305)。

[通讯作者] 王自能, 教授, 暨南大学附属第一医院, 邮编: 510632。

enriched formula instead of breast feeding. After half a month of treatment, the jaundice disappeared, and the laboratory findings, including liver function indices, blood levels of ammonia, lactate and AFP, were returned to normal level. The baby was followed up for 6 months. It developed well, and the abnormal laboratory findings, including MS-MS and UP-GC-MS analysis results, have been corrected, except a slightly elevated lactate level sometimes. SLC25A13 gene mutation analysis for the patient revealed a compound heterozygote of mutation 851del4 and 1638ins23 and therefore NICCD was definitely diagnosed.

[Chin J Contemp Pediatr, 2006, 8(2):125-128]

Key words: Citrin; Neonatal intrahepatic cholestasis; AFP; Citrulline

citrin 缺陷导致的新生儿肝内胆汁淤积症 (neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency, NICCD) 是近年来发现的一种以黄疸、肝功能异常为突出临床表现的遗传代谢病。本病文献报道最早见于 2001 年^[1,2], 患者以日本人为主, 但最近的研究提示此病在中国, 尤其是华南并不罕见, 如华南四省区 (广东、广西、湖南和香港) 的小样本调查结果表明该地区人群的 NICCD 致病基因携带率竟达 1/48^[3]。提高对本病的认识、诊断和治疗水平, 对于改善患儿临床症状至关重要, 应当引起我国儿科临床工作者足够的重视。

1 概述

1.1 病因

NICCD 是由于基因 SLC25A13 表达异常导致 citrin 功能缺陷, 进而造成一系列生化代谢紊乱, 导致临床出现症状体征的一种疾病。Citrin 是由基因 SLC25A13 编码的一种位于肝细胞线粒体的钙结合性跨膜溶质载体蛋白, 含有 4 个 EF 手模体和 6 个跨膜结构域, 其功能是将线粒体中的天冬氨酸转运至胞浆, 同时将胞浆的谷氨酸转运至线粒体内部。这一过程与苹果酸穿梭相偶联, 伴随着胞浆中还原型烟酰胺腺嘌呤二核甙酸 (NADH) 被重新氧化为 NAD^+ , 从而维持了胞浆中氧化/还原状态的稳定性。SLC25A13 位于染色体 7q21.3, 该基因含有 18 个外显子, 已经有 26 种突变形式被发现, 华南最常见者为 851del4。

1.2 病理生理

目前 NICCD 发病机制尚不完全清楚。但部分临床表现已经可以得到解释。本病苹果酸穿梭受累, NADH 大量堆积, 造成以下后果^[4]: ①使得乳酸等还原物质的糖异生过程受阻, 并由此导致低血糖和高乳酸血症等生化异常; ②激活枸橼酸-苹果酸穿梭系统^[5], 枸橼酸转运出线粒体后在胞浆中被其裂解酶分解产生大量乙酰辅酶 A, 进而合成脂肪酸和脂肪, 故 NICCD 患儿出现肝大 (脂肪肝)、高游离脂肪酸和高脂血症等表现; ③抑制半乳糖代谢酶 UDP-

葡萄糖-4-表位酶的活性, 导致血半乳糖、半乳糖醇增高, 甚至白内障等半乳糖血症表现。由此可见, 胞浆中 NADH 的堆积是本病发生发展的关键环节。值得注意的是, 大量碳水化合物可进一步加重胞浆 NADH 的堆积, 因此, Saheki^[4] 最近提出, 碳水化合物的摄入是造成本病代谢紊乱的原因。此外, Citrin 缺陷时, 胞浆中的天冬氨酸不足, 这种氨基酸不但是合成蛋白质的原料, 而且通过与瓜氨酸合成精氨酸代琥珀酸而参与尿素合成, 因此 NICCD 患者会有低蛋白血症、高氨血症和瓜氨酸血症表现。

1.3 临床表现

总结 NICCD 主要临床表现^[6-8] 如下: ①新生儿或婴儿期起病, 有肝大、黄疸等婴儿肝炎综合征表现, 部分患儿可有凝血功能障碍, 可有白内障等半乳糖血症表现; ②血生化检测可发现胆红素 (直接胆红素为主)、胆汁酸、酶学指标 (如 GGT, ALP, AST, ALT 等) 等升高, 而白蛋白/总蛋白降低, 同时有不同程度高血氨、高乳酸血症, 往往伴甲胎蛋白明显增高; ③血氨基酸分析发现瓜氨酸、苏氨酸、蛋氨酸、酪氨酸和精氨酸增高; ④尿液分析可有半乳糖、半乳糖醇和半乳糖酸等半乳糖血症标志物的增高。

1.4 鉴别诊断

NICCD 以肝脏受累为突出临床表现, 除了先天性感染外, 还需与下列代谢性疾病鉴别: ①酪氨酸血症 I 型, 也有肝大、黄疸、肝功能异常, 但尿液分析以 4-羟基苯乳酸和 4-羟基苯丙酮酸增高为突出特点, 治疗依赖限制苯丙氨酸和酪氨酸的特殊奶粉和特殊药物, 如 NTBC, 且病程迁延, 不能坚持治疗者远期预后也不乐观, 容易发展为肝硬化和肝癌。②半乳糖血症, 也是新生儿发病, 肝大、黄疸、肝功能异常明显, 但尿液分析半乳糖、半乳糖醇和半乳糖酸明显增高, 酶学分析 1-磷酸半乳糖尿苷酰转移酶 (galactose-1-phosphate uridylyltransferase, GALT) 或尿苷二磷酸-半乳糖-4-表异构酶 (UDP-galactose-4-epimerase, GALE) 活性降低, 部分患儿血半乳糖明显增高, 而半乳糖-1-磷酸明显减少, 提示半乳糖激酶 (galactokinase, GALK) 缺陷。

1.5 治疗

本病治疗以饮食控制为主。发病过程中的一个关键环节是胆汁淤积导致脂溶性维生素和脂肪酸肠道吸收不良,所以要减少饮食中的长链脂肪酸,代之以吸收不依赖胆汁的中链脂肪酸,同时注意补充维生素A,D,E,K等脂溶性维生素。半乳糖也会加重肝脏负担,应减少摄入。大量碳水化合物或者静脉应用甘油和果糖制剂都可以加重NICCD病情,甚至会导致严重的脑水肿,而临床实践中发现富含蛋白质和脂肪的食物具有改善症状的效果^[4]。这些经验应当引起临床足够的重视,以免加重病情,甚至造成不必要的纠纷。病情严重者可加用精氨酸控制血氨。丙酮酸钠和枸橼酸钠对于控制高血氨可能有效,但需要积累更多的临床经验。虽然大多数患儿预后良好,但也有少数患儿最终需接受肝脏移植治疗^[8]。

2 诊断要点

①新生儿或婴儿期起病,有肝大、黄疸、凝血功能障碍,和直接胆红素、胆汁酸、酶学指标(如GGT,ALP,AST,ALT等)升高等肝内胆汁淤积表现;②高血氨、高乳酸血症、低蛋白血症,甲胎蛋白可明显增高;③血串联质谱(MS-MS)分析可发现瓜氨酸、苏氨酸、蛋氨酸、酪氨酸和精氨酸等氨基酸增高,血游离脂肪酸也增高;④尿液UP-GC-MS分析可有半乳糖醇和半乳糖酸增高等半乳糖血症表现;⑤基因SLC25A13突变分析可作为确诊依据。

3 病例报告

患儿,男,6月。因发现巩膜皮肤黄染近6月来我院就诊。患儿生后第3天起家长即发现其巩膜和颜面部皮肤黄染,黄疸进行性加重,持续至1个半月时仍未见消退。到当地医院就诊,体查发现肝脏肋下3cm,诊断治疗不详,住院1月黄疸无减轻。之后又在当地多家医院反复就诊,期间曾查CMV-IgM(+),诊断考虑“巨细胞病毒肝炎”,予更昔洛韦抗病毒等治疗1月余,黄疸仍无明显消退。1月前到省城某综合医院就诊。查CMV-IgM(+),CMV-IgG(++),CMV-Ag和CMV-pp65检测均阳性。血生化示血糖1.8mmol/L,BUN1.7mmol/L,CO₂CP16mmol/L,其余指标正常;肝功能明显异常(见表1,入院前);血氨56μmol/L,血乳酸2.7mmol/L。血氨基酸分析发现瓜氨酸、酪氨酸、苏氨酸、蛋氨酸等增高。肝脏B超和SPECT核素造影未发现肝内占位和胆道闭锁依据。诊断考虑:“1.巨细胞病毒肝炎;2.尿素循环障碍”。予更昔洛韦抗病毒,同时予护肝、降酶、利胆等治疗(具体不详)20天,患儿CMV-Ag和CMV-pp65复查转阴,但黄疸及肝功能指标无明显改善而出院。出院继续以上治疗10余天,黄疸和肝大仍无改善而来我院就诊。

患儿系G₂P₂,孕39周顺产,出生体重3200g,身长49cm。生后母乳喂养,已添加果汁和维生素D。3月抬头,5月翻身。父母体健,有一兄4岁,体健。否认遗传病家族史。

表1 NICCD 患儿实验室检查结果

检测指标(参考范围)	入院前(5月)	入院时(6月)	出院时(6.5月)	随诊1(7月)	随诊2(8月)	随诊3(11月)
丙氨酸转氨酶(5-40 U/L)	96	42	26	46	39	23
天冬氨酸转氨酶(8-40 U/L)	200	140	77	147	74	44
碱性磷酸酶(10-500 U/L)	437	399	300	350	385	216
乳酸脱氢酶(109-245 U/L)	613	491	245	332	230	230
γ-谷氨酰转氨酶(7-50 U/L)	330	279	377	283	164	70
蛋白总量(60-80 g/L)	56	71.70	77.60	52.20	69.20	72.6
白蛋白(35-55 g/L)	35	39.66	45.00	31.67	47.55	41.9
球蛋白(20-35 g/L)	21	32.0	32.6	20.5	21.7	30.7
A/G(1.50-2.50)	1.6	1.24	1.38	1.54	2.20	1.36
总胆红素(5.1-23.0 μmol/L)	94.8	107.4	50.2	43.7	12.2	2.3
Dbil(0.6-6.8 μmol/L)	67.5	57.0	27.0	25.3	4.2	0.7
Ibil(1.7-17.0 μmol/L)	27.3	50.4	23.2	18.4	8.0	1.6
总胆汁酸(0-10 μmol/L)	152.0	196.1	85.9	104.2	14.9	9.5
胆固醇(3.10-5.70 mmol/L)	-	6.76	4.03	-	-	-
甘油三酯(0.56-1.70 mmol/L)	-	2.82	1.63	-	-	-
甲胎蛋白(0-20 μg/L)	-	319225.70	144114.2	18772.2	450.71	10.37
血乳酸(1.1-2.2 mmol/L)	2.7	1.54	-	-	-	3.11
血氨(<75 μg/dL)	105	113	73	94	67	57

入院体查: T 36.5℃, P 110 次/min, R 34 次/min, 体重 6.2 kg, 头围 40 cm。神清, 慢性病容。皮肤黄染, 颜面及躯干部为甚。前囟 0.5 cm × 0.5 cm。巩膜明显黄染, 双侧瞳孔等大等圆, 直径 3 mm, 对光反射灵敏。双肺呼吸音清, 未闻及干湿啰音。心率 110 次/min, 律整, 心音有力, 各瓣膜区未闻及杂音。腹膨隆, 肝脏肋下 5 cm, 质偏硬, 表面光滑, 边缘钝。脾脏肋下 2cm, 质中, 表面光滑。四肢活动正常。克、布、巴氏征均阴性。实验室检查: CMV-IgM 和 IgG 均阴性; 肝功能和血脂明显异常, 尤其是血 AFP 显著增高(见表 1)。APTT, PT, TT 正常, Fib 1.26mg/L(2.00~4.00mg/L)。血 MS-MS 检测发现游离脂肪酸和酪氨酸、蛋氨酸、苏氨酸等氨基酸升高。尿 UP-GC-MS 分析检出大量的甘油和半乳糖、半乳糖醇等成分。胸片示支气管肺炎。诊断: 1. NICCD; 2. 支气管肺炎。予肝泰乐护肝, 小施尔康补充多种维生素, 精氨酸口服降血氨; 停母乳, 改无半乳糖和强化中链脂肪酸的配方奶喂养。经上述处理半月, 患儿黄疸迅速消失, 肝脏变软, 肝功能、血脂、血氨、AFP、Fib 等明显改善或恢复正常而出院。住院期间经罗氏芬抗炎肺部啰音也消失。出院时体重增加到 6.7 kg, 身高达 60 cm。出院后继续上述治疗, 门诊随诊至今, 身高、体重等各项发育指标基本正常, 实验室检查结果除有时轻微高乳酸血症外, 各项指标基本恢复正常。血 MS-MS 和尿 UP-GC-MS 检查也无异常发现。SLC25A13 基因分析表明, 患儿系突变 851del4 和突变 1638ins23 的复合杂合子, 两种突变均使得 citrin 翻译提前终止, 于是影响其功能的正常发挥并最终导致 NICCD 临床表现。

4 诊断思维

本例患儿以黄疸和肝功能异常为突出临床表现, 且表现顽固, 病程迁延, 先后在多家医院多次检查均发现肝功能异常, 肝脏影像学检查无占位, 而 CMV 病原学和血清学检测阳性, 于是诊断为“巨细胞病毒肝炎”, 但经抗病毒治疗后病原学和血清学检测转阴而临床改善不明显, 提示巨细胞病毒感染不是患儿的主要病因。患儿缺乏围产期感染史而肝脏肿大较明显, 直接胆红素增高伴有胆汁酸和 GGT, ALP 等酶学指标增高, 肝内无占位, 胆道无闭锁, 故临床考虑肝内胆汁淤积症。进一步检查发现高氨血症而尿素氮降低, 提示先天性尿素循环障碍可能。但患儿同时存在高乳酸血症和低白蛋白血症, 血氨基酸分析瓜氨酸、酪氨酸、苏氨酸、蛋氨酸增

高, 查血清 AFP 亦显著高于正常, 至此已可高度怀疑 NICCD 或酪氨酸血症 I 型。尿液 UP-GC-MS 分析发现大量甘油、半乳糖和半乳糖醇, 而对羟基苯乳酸和对羟基苯丙酮酸含量不高, 提示患儿存在甘油和半乳糖代谢障碍, 而无酪氨酸代谢异常依据。尤其是患儿经无乳糖并强化中链脂肪酸的奶粉喂养, 并应用精氨酸降血氨治疗后, 临床黄疸迅速消失, 生化异常随之逐渐改善, NICCD 临床诊断基本成立, 并最终经 SLC25A13 基因突变分析而确诊。

5 评论

新生儿黄疸临床常见, 但遇到黄疸持久不退且有肝功能损害者应想到 citrin 缺乏。若伴有高血氨和高乳酸血症, 同时 AFP 明显增高, 则应从速作血样 MS-MS 和尿样 UP-GC-MS 等相关检测, 尽早作出 NICCD 的临床诊断, 以便采取针对性措施早期治疗, 改善患儿预后。

[参 考 文 献]

- [1] Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, Nishi I, Abukawa D, Sakamoto O, et al. Neonatal presentation of adult-onset type II citrullinemia[J]. Hum Genet, 2001, 108 (2): 87-90.
- [2] Tazawa Y, Kobayashi K, Ohura T, Abukawa D, Nishinomiya F, Hosada Y, et al. Infantile cholestatic jaundice associated with adult-onset type II citrullinemia[J]. J Pediatr, 2001, 138 (5): 735-740.
- [3] Lu YB, Kobayashi K, Ushikai M, Tabata A, Iijima M, Li MX, et al. Frequency and distribution in east Asia of 12 mutations identified in the SLC25A13 gene of Japanese patients with citrin deficiency[J]. J Hum Genet, 2005, 50(7): 338-346.
- [4] Saheki T, Kobayashi K. Physiological role of citrin, a liver-type mitochondrial aspartate-glutamate carrier, and pathophysiology of citrin deficiency. In: Pandalai, ed. Recent Res Devel Life Sci [M]. Kerala(India): Research Signpost, 2005, 59-73.
- [5] Saheki T, Kobayashi K. Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD)[J]. J Hum Genet, 2002, 47(7): 333-341.
- [6] Ohura T, Kobayashi K, Abukawa D, Tazawa Y, Aikawa J, Sakamoto O, et al. A novel inborn error of metabolism detected by elevated methionine and/or galactose in newborn screening: neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency[J]. Eur J Pediatr, 2003, 162(2): 317-322.
- [7] Tazawa Y, Kobayashi K, Abukawa D, Nagata I, Maisawa S, Sumazaki R, et al. Clinical heterogeneity of neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: case reports from 16 patients[J]. Mol Genet Metab, 2004, 83(3): 213-219.
- [8] Tamamori A, Okano Y, Ozaki H, Fujimoto A, Kajiura M, Fukuda K, et al. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: severe hepatic dysfunction in an infant requiring liver transplantation[J]. Eur J Pediatr, 2002, 161(11): 609-613.

(本文编辑: 吉耕中)