

论著·临床研究

### 3例 Fanconi-Bickel 综合征 SLC2A2 基因分析

王薇 魏珉 宋红梅 邱正庆 张乐嘉 李卓 唐晓艳

(中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院儿科 / 卫生部内分泌重点实验室, 北京 100730)

**[摘要]** Fanconi-Bickel 综合征 (FBS, OMIM 227810) 是一种常染色体隐性遗传的罕见糖代谢异常疾病, 致病基因为 SLC2A2。该文报道 3 例经 SLC2A2 基因分析确诊的 FBS 病例。3 例患儿表现为典型的糖原累积症及近端肾小管功能障碍表现。基因测序显示 1 例为纯合剪接突变 IVS8+5G>C (c.1068+5 G>C); 1 例为纯合无义突变 c.1194T>A (p.Tyr398X); 1 例为错义突变 c.380C>A (p.Ala127Asp) 和重复突变 c.970dupT (p.324TyrfsX392), 其中 c.970dupT (p.324TyrfsX392) 非经父母遗传, 为新生突变。该 4 种突变中, 除 IVS8+5G>C 外, 其余 3 种为中国人种 FBS 新突变, 而 c.970dupT (p.324TyrfsX392) 可能为世界首例 FBS 新生突变报道。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(4): 362-366]

**[关键词]** Fanconi-Bickel 综合征; SLC2A2; 新生突变; 中国人种; 儿童

#### SLC2A2 gene analysis in three Chinese children with Fanconi-Bickel syndrome

WANG Wei, WEI Min, SONG Hong-Mei, QIU Zheng-Qing, ZHANG Le-Jia, LI Zhuo, TANG Xiao-Yan. Department of Pediatrics/Laboratory of Endocrinology, Ministry of Public Health, Peking Union Medical College Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China (Qiu Z-Q, Email: zhengqingqiu33@aliyun.com)

**Abstract:** Fanconi-Bickel syndrome (FBS, OMIM 227810), a rare autosomal recessive disorder of carbohydrate metabolism, is caused by SLC2A2 (GLUT2) mutations. The study reported 3 cases of FBS who were confirmly diagnosed by SLC2A2 gene analysis. The three patients showed typical features like glycogen storage disease and proximal renal tubular nephropathy. Homozygous splice-site mutation IVS8+5G>C (c.1068+5 G>C) was found in patient A and homozygous nonsense mutation c.1194T>A (p.Tyr398X) in patient B. Patient C harboured a missense mutation c.380C>A (p.Ala127Asp) and a de novo insertion c.970dupT (p.324TyrfsX392) which was not inherited from her parents. Four mutations were identified in the 3 Chinese FBS patients. Except IVS8+5G>C mutation, the other 3 mutations were novel in Chinese population. To the best of our knowledge, patient C may be the first FBS case worldwide with de novo mutation.

[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(4): 362-366]

**Key words:** Fanconi-Bickel syndrome; SLC2A2; De novo mutation; Chinese population; Child

Fanconi-Bickel 综合征 (FBS, OMIM 227810) 是一种罕见的糖代谢异常的常染色体隐性遗传病, 主要表现为喂养困难、运动及体格发育落后、肝脏增大、多饮多尿、膝内翻或膝外翻、低血糖、高脂血症、高乳酸血症、低磷血症、肝功能异常、尿糖和尿蛋白阳性、高尿钙、高尿磷、代谢性酸中毒、骨质疏松等<sup>[1]</sup>。1997年 Santer 等<sup>[2]</sup>发现 FBS 致病基因为 SLC2A2 (GLUT2), 该基因编码的葡萄

糖转运载体 GLUT2 蛋白在肝脏、胰腺 β 细胞、肠细胞及肾小管细胞中表达<sup>[3]</sup>。SLC2A2 位于染色体 3q26.1-26.3, 有 11 个外显子, 长度 30 kb<sup>[4]</sup>。据人类基因突变数据库 (HGMD, <http://www.hgmd.org>) 报道, 到 2014 年 4 月 FBS 共有突变 68 种。

本研究通过对 3 例疑似 FBS 患儿及其家人进行 SLC2A2 基因分析, 以明确致病突变, 并总结其临床特征, 提高对疾病表型的认识。

[收稿日期] 2014-08-26; [接受日期] 2014-10-23

[作者简介] 王薇, 女, 硕士, 助理研究员。

[通信作者] 邱正庆, 女, 教授。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

研究对象为2006~2012年于我院就诊的3例疑似FBS患儿(称为患儿A、B、C),均为女童,就诊年龄分别为30、16、21个月,随诊时间2~7年。其中患儿A曾被本课题组报道<sup>[5]</sup>。

临床拟诊标准:运动及体格发育落后、肝脏增大、伴或不伴佝偻病表现。实验室检查有空腹低血糖、高脂血症、高乳酸血症、低磷血症、尿糖和尿蛋白阳性、高尿钙、高尿磷和代谢性酸中毒等。

### 1.2 SLC2A2 基因 PCR 扩增

取患儿静脉抗凝外周血2 mL,应用北京博迈德科技发展公司柱型外周血基因组DNA提取试剂盒提取基因组DNA;应用Primer3在线设计引物(<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0>),由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成(引物序列见表1),对SLC2A2全部11个外显子及内含子连接处进行PCR扩增。

表1 SLC2A2 各外显子片段引物序列

引物名称	引物序列	PCR 片段长度 (bp)
SLC2A2_1_F	CCATGCTCCACAGCACAGCA	549
SLC2A2_1_R	TAGCTACACCCAACCTCCCC	
SLC2A2_2_F	GGGAAAGAACCAGCCTGTGGA	315
SLC2A2_2_R	ATGGCCTTGTGTCTCCACG	
SLC2A2_3_F	CCTGCCTGGTTCTTGTGGC	605
SLC2A2_3_R	TGCCTCATAGGTCATGAGTTG	
SLC2A2_4_F	TGACAGAGCGAGTGAGACCCTG	626
SLC2A2_4_R	TGCCATGGACGAGAACCCTGA	
SLC2A2_5_F	TCAGGGAGGGGCTTTCATTCA	350
SLC2A2_5_R	AATGGACAGTCAGGGAGGGACG	
SLC2A2_6_F	TTGATTCTCATCTGACTGTCCAA	619
SLC2A2_6_R	TGAATGCCTATGGGTGCCAAA	
SLC2A2_7_F	GGGGCATGCAGAAATGTAGCTC	402
SLC2A2_7_R	AGCAAGACCCATGATGCCAA	
SLC2A2_8_F	GGTGCATGCCCTATAGAAACAA	301
SLC2A2_8_R	CTTTTAGAGCCGAAGTTCCTCA	
SLC2A2_9_F	GAAGGATGGAATTGCCTTTATCTG	361
SLC2A2_9_R	TGTTGCTCTGGCTTTATTTCTG	
SLC2A2_10_11_F	AGCAGAAGCAAAGGTCACCTG	808
SLC2A2_10_11_R	CAGACGGTCCCTTATTGTTT	

PCR体系:博迈德<sup>®</sup> 2×PCR mix 12 μL, dd H<sub>2</sub>O 11 μL, DNA 1 μL, 10 μmol/L引物 1 μL。PCR条件:95℃ 5 min;每个循环94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 45 s,共35个循环;72℃延伸10 min,4℃维持。PCR产物用2%西班牙琼脂糖(Biowest Agarose)凝胶电泳分离,切胶纯化,测序。检测到可疑突变位点后,对能提供标本的患儿父母进行相应位点检测。

### 1.3 基因变异致病性验证

将检测到的变异通过HGMD及NCBI进行检索,对于未报道突变反向验证,并检测同意提供标本的患儿父母相应位点;未报道的错义突变应用SIFT(<http://sift.jcvi.org>)在线推测其致病性。

## 2 结果

### 2.1 临床表现

3例患儿中2例主诉为“腹部膨隆,发育落后”,另1例为“多饮多尿,发育落后”。患儿均存在体格发育迟缓(身高均位于第3百分位以下,2例体重低于第3百分位)。运动发育落后主要表现为独坐、爬和行走时间明显推迟。3例均有或多饮多尿症状,体查均可见腹部膨隆、肝大、佝偻病体征以及不同程度的骨骼畸形。实验室检查可见空腹低血糖、餐后高血糖、高乳酸、高血脂、转氨酶增高、低血磷,血气分析示代谢性酸中毒、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>降低;蛋白尿、大量糖尿、24 h尿钙和尿磷增高。腹部B超均示肝大,可有肾大、胆囊大、肾积水等。双膝关节、双腕关节或骨盆正侧位X线片示程度不等的佝偻病改变或骨质疏松。1例患儿血氯增高;1例出现了心肌损害(心电图示PR间期延长,T波各导联切迹;24 h动态心电图示窦性心律不齐,I°房室阻滞,QT间期延长,ST段抬高,有时可见I、II、III导联T波切迹)。所有患儿智力正常,血钙和尿酸无明显异常,脾脏不大。3例患儿的临床资料见表2。

表2 3例患儿初诊临床资料

项目	患儿 A	患儿 B	患儿 C
性别	女	女	女
就诊年龄	30个月	16个月	21个月
起病年龄	1岁	9个月	17个月
随诊时间	3年	7年4个月	2年3个月
主诉	腹部膨隆,发育落后	多饮多尿,发育落后	腹部膨隆,发育落后
身高(cm)	76(<第3百分位)	67(<第3百分位)	77(<第3百分位)
体重(kg)	9(<第3百分位)	5(<第3百分位)	10(<第15百分位)
骨骼异常	双手前臂成角畸形,手(足)镯征阳性,串珠肋,34月龄开始出现双下肢不等长	轻方颅,串珠肋,26月龄开始膝内翻	膝内翻,双下肢不等长
空腹血糖(参考值3.6~6.1 mmol/L)	1.4	1.3	1.9
餐后2h血糖(mmol/L)	10.7	9.8	未检测
血乳酸(参考值0.5~1.6 mmol/L)	1.0	6.8	4.0
血尿酸(参考值150~357 μmol/L)	51	98	38.3
谷丙转氨酶(参考值5~40 U/L)	39	130	59
谷草转氨酶(参考值5~37 U/L)	70	243	73
甘油三酯(参考值0.45~1.7 mmol/L)	2.53	3.35	2.54
总胆固醇(参考值2.85~5.7 mmol/L)	5.14	7.35	4.47
血钙(参考值2.13~2.7 mmol/L)	2.35	2.43	2.41
血磷(参考值0.81~1.45 mmol/L)	0.74	0.8	0.78
血氯(参考值96~111 mmol/L)	109	116	107
碱剩余(mmol/L)	-5.5	-9.1	-7.9
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol/L)	17.4	14.1	16.7
尿糖(mmol/L)	56	56	≥55
尿蛋白(g/L)	0.75	0.25	1.0
尿钙(mg/kg-d)	17.5	5.36	12.64
尿磷(mg/kg-d)	57.14	95.98	81.22
右肝斜径(cm)	10.4	8.6	10.1
X光片	骨小梁稀疏紊乱,干骺端增宽如杯口状,呈毛刷样改变	干骺端增宽如杯口状,呈毛刷样改变	骨质稀疏,未见明显佝偻病改变
其他	胆囊较大,右肾轻度积水	双肾大,右肾结石,集合系统强回声	双肾大,肝实质弥漫性病变,心肌损害

## 2.2 基因测序结果

3例患儿分别发现了SLC2A2基因纯合或复合杂合突变,确诊为FBS。患儿A发现纯合剪切突变:IVS8+5G>C(c.1068+5 G>C),其母亲检测到杂合突变:IVS8+5G>C(c.1068+5 G>C),无父亲标本;患儿B发现纯合无义突变:c.1194T>A(p.Tyr398X),抱养儿,无亲生父母标本;患儿C发现2个杂合突变:错义突变c.380C>A(p.Ala127Asp)及重复突变c.970dupT(p.324TyrfsX392),其父亲发现杂合突变c.380C>A(p.Ala127Asp),母亲未发现突

变(图1)。

## 2.3 基因变异致病性验证

反向测序结果显示这些变异真实存在,经HGMD检索及文献检索,除本课题组前期报道的剪切突变c.1068+5 G>C外,其余3种突变均未见报道。其中仅有c.380C>A(p.Ala127Asp)为错义突变,应用SIFT推测,SIFT值为0,结果显示其为有害性新错义突变。另c.1194T>A(p.Tyr398X)为无义突变,c.970dupT(p.324TyrfsX392)为移码突变,致病性明确。

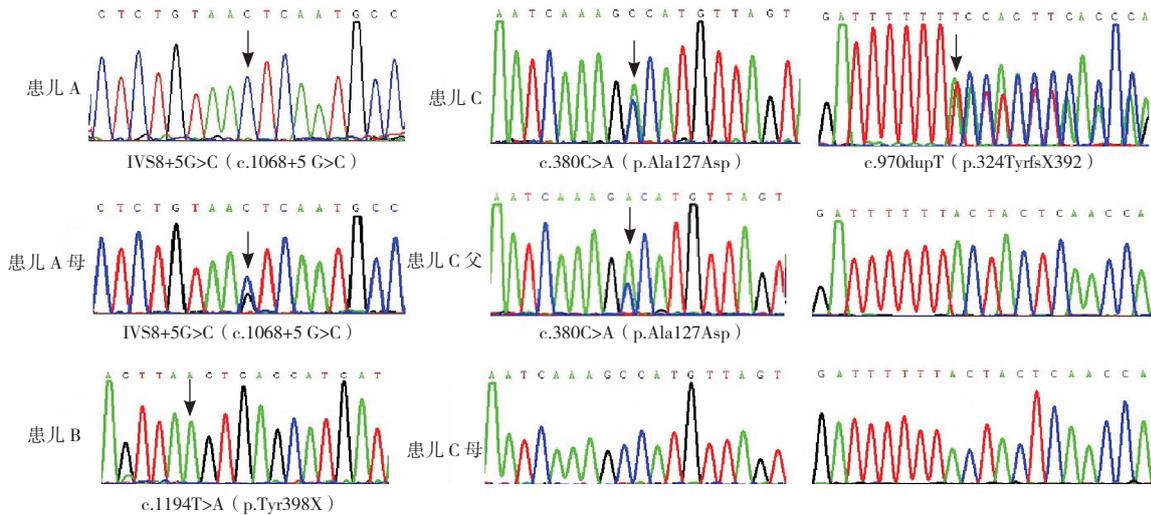


图1 FBS家庭基因突变测序图谱 3例患儿均检测到纯合突变或复合杂合突变，其中患儿A父亲及患儿B父母未收集到标本；患儿C的突变c.970dupT (p.324TyrfsX392)并非来源于父母，为新生突变。箭头所指为突变位点。

### 3 讨论

FBS于1949年最早由Fanconi及Bickel报道<sup>[6]</sup>，患儿3~10个月时即可有发热、呕吐、生长发育延迟等，之后会出现空腹低血糖、矮小、腹膨隆、肝大、满月脸以及肩膀和腹部脂肪沉积这些类似于糖原累积症(GSD)的症状<sup>[1]</sup>。另外FBS具有典型的近端肾小管肾病表现，出现肾小管酸中毒、大量尿糖，其肾脏会随身高增长而增大。患儿常可见牙齿畸形、易位及牙釉质缺损等。低磷性佝偻病及骨质疏松最常见，有的甚至会导致骨折<sup>[1]</sup>。有的患儿未发现肾小管功能缺陷及身材矮小<sup>[1]</sup>，肝肿大也不是FBS确诊的必要条件<sup>[7]</sup>。FBS患儿的预后都较好，部分患儿成年后病情稳定。2011年von Schnakenburg等<sup>[8]</sup>报道了1例成功孕育的FBS患者。

本文所报道的3例患儿临床症状与国外报道基本符合。患儿身高体重多低于第3百分位，均有腹膨隆，肝大但未见脾大，骨骼畸形以四肢畸形为主。实验室检查空腹血糖可低至1.5 mmol/L左右，多有血乳酸升高，谷草转氨酶升高比谷丙转氨酶明显，血脂以甘油三酯升高为主，低血磷，血气分析示代谢性酸中毒；但血尿酸无增高，血钙正常，血氯升高不明显。所有患儿尿钙、尿磷、尿蛋白均阳性。影像学检查均可见肝大，1例有肝实质弥漫性病变，但均未见脾大，肾脏均有异常，可表现为肾大、积水及肾结石。1例胆囊大。所有

患儿X片均提示为佝偻病或骨质疏松。除经典症状外，患儿C还出现了心肌损害。

可见FBS的临床表现多与GSD(尤其是Ia型)以及以近端肾小管酸中毒为主要表现的Fanconi综合征(FS)相重叠，需要与二者进行鉴别。GSD Ia与FBS所不同的表现主要有：GSD Ia常有血小板功能障碍、高尿酸血症，而FBS通常没有。并且GSD Ia肾脏受累为远端肾小管功能失调，所以没有FBS的高尿糖、低磷性佝偻病等近端肾小管功能缺陷的表现。FS主要由于近端肾小管重吸收障碍而引起葡萄糖尿、蛋白尿、尿磷、尿钾、碳酸氢盐尿及氨基酸尿等。患者常伴有乏力、骨痛及尿崩导致的血容量不足<sup>[9]</sup>。FS通常不伴有低血糖及相关表现。FBS最初的症状具有隐匿性，不易被察觉，本研究中的3例患儿均在1岁左右起病，往往出现比较明显的症状(如腹部膨隆)后才就医，而此时患儿各系统已经明显受累。监测尿糖、血糖可能有助于该病的早期发现。

SLC2A2编码的GLUT2是低亲和力的单糖转运体，介导D-葡萄糖和少量D-半乳糖、D-甘露糖和D-果糖的转运<sup>[10]</sup>。Glut2缺陷导致患者对葡萄糖及半乳糖等不耐受。因其无法有效转运，空腹时糖原降解产生的葡萄糖无法转运至胞外，而造成胞内葡萄糖浓度升高，肝糖原累积，血糖降低；餐后血糖不能有效转运至肝脏胞内形成糖原，表现为高血糖。糖原累积进而出现上述类似于GSD的症状。肾小管细胞GLUT2缺陷使对葡萄糖的重吸

收降低,导致了大量的尿糖<sup>[1]</sup>。肾小管酸中毒,高尿糖,钙磷代谢异常导致的高尿钙、尿磷,进而导致骨质疏松、佝偻病等。Santer等<sup>[7]</sup>认为人群中该基因的突变率很低,在他们所发现的33种突变中没有突变热点。Su等<sup>[11]</sup>于2011年报道了2例中国FBS患者,分别检测到复合杂合突变c.682C>T(p.Arg228X)和c.1185G>A(p.Trp395X),以及c.196G>T(p.Glu66X)和c.1117delA(p.Met373X),均为无义突变。

本研究共检测到4种突变:剪接位点突变IVS8+5G>C(c.1068+5G>C),无义突变c.1194T>A(p.Tyr398X),错义突变c.380C>A(p.Ala127Asp)及重复突变c.970dupT(p.324TyrfX392)。除本课题组曾报道的IVS8+5G>C(c.1068+5G>C)外,其余3种均为新突变。结合Su等<sup>[11]</sup>所报道的2例中国病例,国人SLC2A2突变中无义突变最为常见,这与国外报道类似。本研究的3名患儿的临床表现没有明显的差异,未发现基因型与表型之间明确的相关性。患儿C为杂合复合突变,其中c.380C>A(p.Ala127Asp)来源于父亲,而c.970dupT(p.324TyrfX392)并未在其父母亲发现,提示c.970dupT(p.324TyrfX392)并非经父母遗传,而是患儿C自身发生了基因突变而致病,为新生突变。该突变位点为polyT区域,有可能在DNA复制过程中出现了识别错误导致多复制了一个T。迄今国内外未见该疾病有新生突变的报道,本研究报道可能为首例。无义突变c.1194T>A(p.Tyr398X)及移码突变c.970dupT(p.324TyrfX392)均导致终止密码子提前出现,造成提前终止蛋白翻译产生截短蛋白或引起蛋白降解,是明确的致病突变。由于SLC2A2基因的mRNA在外周血中的表达量过低,本研究未完成对剪接突变c.1068+5G>C所导致的RNA具体剪接结果的研究。在之后的研究中,如能获患者同意,我们会对mRNA表达含量高的组织或细胞进行进一步研究。

综上所述,本研究对3例FBS患儿进行了

SLC2A2基因分析而确诊,并对患者的临床表现进行了概括总结。本研究发现了4种基因突变,除本课题组曾报道的1种剪切突变外,余3种为新突变,未发现基因型与表型之间明确的相关性。患儿C发现了一个新生突变c.970dupT(p.324TyrfX392),可能为国内外首例新生突变报道。

#### [参 考 文 献]

- [1] Santer R, Schneppenheim R, Suter D, et al. Fanconi-Bickel syndrome—the original patient and his natural history, historical steps leading to the primary defect, and a review of the literature[J]. *Eur J Pediatr*, 1998, 157(10): 783-797.
- [2] Santer R, Schneppenheim R, Dombrowski A, et al. Mutations in GLUT2, the gene for the liver-type glucose transporter, in patients with Fanconi-Bickel syndrome[J]. *Nat Genet*, 1997, 17(3): 324-326.
- [3] Mueckler M, Kruse M, Strube M, et al. A mutation in the Glut2 glucose transporter gene of a diabetic patient abolishes transport activity[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(27): 17765-17767.
- [4] Takeda J, Kayano T, Fukumoto H, et al. Organization of the human GLUT2 (pancreatic beta-cell and hepatocyte) glucose transporter gene[J]. *Diabetes*, 1993, 42(5): 773-777.
- [5] 张乐嘉, 邱正庆, 丁国芳, 等. Fanconi-Bickel综合征1例并文献复习[J]. *实用儿科临床杂志*, 2011, 26(24): 1882-1884.
- [6] Fanconi G, Bickel H. Die chronische Aminoacidurie (Aminosaeurediabetes oder nephrotisch-glukosurischer Zwergwuchs) bei der Glykogenose und der Cystinkrankheit[J]. *Helv Paediat Acta*, 1949, 4(5): 359-396.
- [7] Santer R, Groth S, Kinner M, et al. The mutation spectrum of the facilitative glucose transporter gene SLC2A2 (GLUT2) in patients with Fanconi-Bickel syndrome[J]. *Hum Genet*, 2002, 110(1): 21-29.
- [8] von Schnakenburg C, Santer R. Fanconi-Bickel syndrome and fertility[J]. *Am J Med Genet A*, 2011, 155A(10): 2607.
- [9] Murphy N, Elramah M, Vats H, et al. A case report of deferasirox-induced kidney injury and Fanconi syndrome[J]. *WJM*, 2013, 112(4): 177-180.
- [10] Leturque A, Brot-Laroche E, Le Gall M. GLUT2 mutations, translocation, and receptor function in diet sugar managing[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 296(5): E985-E992.
- [11] Su Z, Du ML, Chen HS, et al. Two cases of Fanconi-Bickel syndrome: first report from China with novel mutations of SLC2A2 gene[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2011, 24(9-10): 749-753.

(本文编辑:王庆红)