

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2015.07.020

案例分析

男性幼儿体检发现转氨酶升高 ——发现肝豆状核变性两处新的错义突变

朱渝 邓思燕 万朝敏

(四川大学华西第二医院儿科, 四川 成都 610041)

[摘要] 1例3岁男性患儿因体检发现肝功能异常5个月入院。患儿无厌食、纳差、黄疸等症状, 生长发育正常, 肝脾无肿大, 实验室检查常规筛查铜蓝蛋白水平(35 mg/L)明显降低, 其余嗜肝病毒及巨细胞病毒、EB病毒均为阴性。肌酶正常, 血糖、血氨及代谢筛查正常, 自身免疫肝病抗体阴性。进一步行眼科检查示K-F环阴性, 24 h尿铜水平0.56 $\mu\text{mol/L}$ (正常)。对患儿、患儿父母及其妹妹进行ATP7B基因检测, 明确患儿和其妹妹具有两处新发现错义突变, 为Exon7杂合突变c.2075T>C, p.L692P和Exon13杂合突变c.3044T>C, p.L1015P, 各来自父母双方, 符合复合杂合突变, 基因诊断肝豆状核变性(Wilson)病成立。患儿及其妹妹确诊Wilson病后被嘱低铜饮食, 患儿给予青霉胺驱铜治疗及锌剂拮抗铜吸收, 其妹妹因尚无临床症状, 故给予锌剂治疗。患儿经上述治疗3个月后复查肝功能完全正常。 [中国当代儿科杂志, 2015, 17(7): 741-743]

[关键词] 肝豆状核变性; 基因诊断; 杂合突变

A young boy with elevated aminotransferases in physical examination —Two novel missense mutations associated with Wilson's disease were found

ZHU Yu, DENG Si-Yan, WAN Chao-Min. Department of Pediatrics, West China Second Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, China (Wan C-M, Email: wcm0220@126.com)

Abstract: A 3-year-old boy had abnormal liver function, which was found in physical examination, for 5 months before admission. He had no symptoms such as anorexia, poor appetite, and jaundice, had normal growth and development, and showed no hepatosplenomegaly. Laboratory examination revealed significantly reduced ceruloplasmin (35 mg/L), as well as negative hepatotropic virus, cytomegalovirus, and Epstein-Barr virus. There were normal muscle enzymes, blood glucose, and blood ammonia and negative liver-specific autoantibodies. The boy had negative K-F ring and normal 24-hour urine copper (0.56 $\mu\text{mol/L}$). The ATP7B gene testing for the boy, his sister, and their parents detected two novel missense mutations in the boy and his sister, i.e., compound heterozygous mutations in exon 7 (c.2075T>C, p.L692P) and exon 13 (c.3044T>C, p.L1015P), which were inherited from their father and mother, respectively. Wilson's disease was confirmed by genetic diagnosis in the boy and his sister. The boy and his sister were given a low-copper diet. The boy was administered with penicillamine for decoppering and zinc supplement against copper uptake. His sister received zinc supplement alone because no clinical symptoms were observed. The boy showed normal liver function in the reexamination after 3 months of treatment. [Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(7): 741-743]

Key words: Wilson's disease; Genetic diagnosis; Compound heterozygous mutation

1 病历介绍

患儿, 男, 3岁, 因发现肝功能异常5个月入院。5个月前患儿体检发现转氨酶(ALT)升高

(150 U/L), 曾口服药物保肝治疗, ALT无明显下降, 患儿无纳差、黄疸、尿黄等症状。家族史: 父母平素健康, 有一妹妹1岁3个月, 未进行肝功能检测。体查: 生长发育正常, 神志清

[收稿日期] 2015-03-24; [接受日期] 2015-06-17

[基金项目] 四川省卫生计生委(原卫生厅)资助项目(0040215301443)。

[作者简介] 朱渝, 女, 博士研究生, 主治医师。

[通信作者] 万朝敏, 女, 教授。

楚,精神好,全身皮肤及巩膜无黄染;腹部平坦,未见腹壁静脉曲张,全腹软,肝、脾均未触及;移动性浊音阴性;双下肢无水肿;心肺及神经系统体查无异常。实验室检查:血常规示 WBC $11.17 \times 10^9/L$ (正常值 $4.0 \sim 10.0 \times 10^9/L$), HGB $141 g/L$ (正常值 $110 \sim 150 g/L$), PLT $356 \times 10^9/L$ (正常值 $100 \sim 450 \times 10^9/L$); 肝功能示:丙氨酸氨基转移酶 (ALT) $51 U/L$ (正常值 $<49 U/L$)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST) $162 U/L$ (正常值 $<40 U/L$)、碱性磷酸酶 (ALP) $265 U/L$ (正常值 $45 \sim 129 U/L$)、谷氨酰转肽酶 (GGT) $51 U/L$ (正常值 $<38 U/L$),胆红素及蛋白水平正常;凝血功能、肌酶、血糖、血气及血氨检查均未见异常;乙肝表面抗原 (HBsAg) (-)、丙型肝炎 (HCV) 抗体 (-)、甲型肝炎 (HAV) 抗体 IgM (-)、戊型肝炎 (HEV) 抗体 IgM (-); EB 病毒抗体 IgM (-)、巨细胞病毒 (CMV) 抗体 IgM (-)、抗 CMV IgG (-); 铜蓝蛋白 (CPN) $35 mg/L$ (正常值 $220 \sim 580 mg/L$); 自身抗体系列检测 (抗核抗体、抗线粒体抗体、抗线粒体 M2 亚型 IgG 抗体、抗平滑肌抗体、抗肝/肾微粒体抗体) 结果均阴性。腹部彩超:肝胆胰脾未见异常。眼科检查:裂隙灯下角膜 K-F (Kayser-Fleischer) 环阴性。患儿进一步进行血、尿气相色谱分析未见异常。24 h 尿铜检测结果为 $0.56 \mu mol/L$ (尿量 1.5 L, 24 h 尿铜正常值 $0.64 \sim 1.6 \mu mol$)。患儿父母和妹妹进行 CPN 检测,其妹妹 CPN $134 mg/L$,肝功能正常;其父母肝功能正常,CPN 分别为 $198 mg/L$ 、 $203 mg/L$,均低于正常下限。

2 诊断思维

3岁男性幼儿体检发现ALT慢性升高,无恶心、黄疸、食欲消退等消化道症状,无肝脾肿大等体征,并且经过保肝降酶治疗无效。这种“无声性”的ALT升高,应当首先明确是肝脏源性还是肌肉源性,应当注意筛查肌酶,排除肌营养不良等肌病。进一步筛查引起肝炎的嗜肝病毒,虽然我国近十几年儿童嗜肝病毒感染率明显下降,但仍属于常见的肝功能异常原因;而EBV、CMV等非嗜肝病毒感染应当有发热、黄疸、淋巴结肝脾肿大等相应的其他表现以及抗体、病毒核酸指标阳性;根

据该患儿病毒感染检测结果,排除以上病毒感染后,还应当注意代谢性疾病。根据患儿年龄及单纯ALT升高,应当注意糖原累积病、肝豆状核变性 (Wilson) 病;然而糖原累积病多有明显的肝肿大,表现为腹胀,也可能出现明显低血糖发作的症状。初步筛查血糖、血气分析及血乳酸指标后,结果提示上述指标也为阴性。本例患儿检查血浆CPN $35 mg/L$,降低非常明显。当血浆CPN低于 $200 mg/L$ 时就要考虑Wilson病,而低于 $100 mg/L$ 则属于明显降低,需要高度怀疑Wilson病。本例患儿进行了Wilson病的其他证据检查,包括眼K-F环,尿铜检查。幼儿期Wilson病因为铜沉积的范围和影响有限,因此缺乏其他特异性的症状体征:如眼K-F环,尿铜升高有限,缺乏神经系统表现^[1]。根据目前Wilson病诊断指南^[2],患儿仅有血浆CPN降低,可评2分,基因检测一旦发现有特征性的突变,可计4分,达到确诊标准。因此基因检查是患儿目前安全、可行的诊断方法。另外,指南对于疑似Wilson病的患儿,建议对其同胞进行肝功能及CPN的检查,以搜索家族的患病者,故发现了患儿的同胞妹妹CPN降低。

3 进一步检查

由于诊断不明确,患儿未达到Wilson病诊断标准^[2],故建议患儿全家进行ATP7B基因检测。先证者(患儿)采集外周血提取DNA,然后进行了ATP7B基因编码全部外显子的PCR扩增及测序检测。其中检出5个已报道的多态性位点:Exon2 纯合突变 c.1216T>G, p.S406A、Exon3 杂合突变 c.1366G>C, p.V456L、Exon10 杂合突变 c.2495A>G, p.K823R、Exon12 杂合突变 c.2855G>A, p.R952K、Exon16 杂合突变 c.3419T>C, p.V1140A。另外检测到Exon7 杂合突变 c.2075T>C, p.L692P 和 Exon13 杂合突变 c.3044T>C, p.L1015P,这两处突变为错义突变,检索基因库 (<http://www.wilsonsdisease.med.ualberta.ca/database.asp>; <http://www.hgmd.org/>),这两处突变为未报道过的新发突变。由于患儿两处突变均为新发的杂合突变,故采集患儿父母、妹妹外周血提取DNA,进行了Exon7和Exon13基因的扩增及测序检测,发现其父亲存在与患儿相同的Exon13杂合突变,但Exon7基因序列正常,其母

亲存在与患儿相同的 Exon7 杂合突变, 但 Exon13 基因序列正常。并且患儿妹妹与患儿有相同的复合杂合突变, 因此根据家系基因测定, 患儿和其妹妹符合复合杂合突变, 基因诊断 Wilson 病成立。

4 确诊依据

患儿 Wilson 病基因家系检查明确患儿和其妹妹具有两处错义突变, 来自父母双方, 符合复合杂合突变, 基因诊断 Wilson 病成立。

5 临床经过

患儿及妹妹确诊 Wilson 病, 嘱低铜饮食, 根据指南, 患儿给予了青霉胺驱铜治疗及锌剂拮抗铜吸收, 其妹妹因为尚无临床症状, 故给予锌剂治疗^[3]。患儿经上述治疗3个月后复查肝功能完全正常。

6 讨论

Wilson 病是一种铜代谢障碍所引起过量的铜沉积于肝脏、肾脏、脑等组织的常染色体隐性遗传疾病, 临床主要表现为肝硬化、锥体外系症状、肾脏损害、血液系统损害及角膜色素环 K-F 环等症状^[4]。ATP7B 基因编码一种铜转运 ATP 酶 (ATP7B), 包括 21 个外显子和 20 个内含子, 当其发生基因突变可导致铜代谢异常而造成 Wilson 病^[5]。Wilson 病早期诊断及治疗直接影响患者预后, 然而疾病早期由于铜沉积不明显 K-F 环常常呈阴性导致确诊困难^[6]。因此, 对于临床表现不典型的 Wilson 病患者的诊断, 基因检测意义重大^[7]。尤其是在儿童期诊断依据不足, 或先证者家系中未搜索到发病患者的情况下。

据报道, 国内外已发现 500 余种 ATP7B 基因突变类型, 多为杂合突变, 仅少数为纯合杂合突变^[8]。根据文献报道, 一个患者发现 2 个不同的有义突变或纯合突变即可考虑基因诊断, 但仍需注意和临床病情及治疗效果关联^[9]。本例患儿 2 个错义突变均为新发现的突变, 虽然未经以往病例证实, 但从家系检查发现父母各有一个突变, 即患儿从父母双方各继承了一个错义突变, 因此基因诊断成立^[10]。通过后续随访显示患儿限制铜摄入

及排铜治疗有效, 故进一步证实基因诊断。并且病例中父母双方的 CPN 水平也略低于正常下限, 故可以推测父母所携带的突变基因可导致亚临床的 CPN 表达水平降低。

7 结语

本例患儿系入托体检无意中发现肝功能异常, 常规保肝药物治疗无效, 通过基因检测确诊, 同时其同胞妹妹亦通过基因检查得以在未发病时诊断, 从低年龄开始限制铜摄入的有效预防, 从而使生活质量进一步提高。儿童患者由于铜沉积尚不明显, 故多数症状不典型, 如 K-F 环阴性, 尿铜检测阴性。但该病早期有效治疗能预防以及明显减缓病程进展, 患者有望获得与正常人同样的预期寿命及生活质量。因此基因诊断成为解决这一临床矛盾的唯一有效方法。特别是基因诊断的推广和干预对易感人群筛查、携带者检出、遗传咨询、产前检查、基因诊断等都有极其重要的意义。

[参 考 文 献]

- [1] 王卫平, 毛萌, 李廷玉, 等. 儿科学[M]. 第8版, 北京: 人民卫生出版社, 2013: 160-162.
- [2] European Association for Study of Liver; Ferenci P, Czlonkowska A. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease[J]. J Hepatol, 2012, 56(3): 671-685.
- [3] 解秀文, 李堂. 儿童肝豆状核变性 80 例治疗效果的随访研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2010, 12(5): 398-400.
- [4] Ala A, Walker AP, Ashkan K, et al. Wilson's disease[J]. Lancet, 2007, 369(9559): 397-408.
- [5] Tanzi RE, Petrukhin K, Chernov I, et al. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene[J]. Nat Genet, 1993, 5(4): 344-350.
- [6] Roberts EA, Schilsky ML; American Association for Study of Liver Diseases (AASLD). Diagnosis and treatment of Wilson disease: an update[J]. Hepatology, 2008, 47(6): 2089-2111.
- [7] Dufernez F, Lachaux A, Chappuis P, et al. Wilson disease in offspring of affected patients: report of four French families[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2013, 37(3): 240-245.
- [8] Merle U, Schaefer M, Ferenci P, et al. Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: a cohort study[J]. Gut, 2007, 56(1): 115-120.
- [9] Michael LS. Genetic testing for Wilson disease: availability and utility[J]. Curr Gastroenterol Rep, 2010, 12(1): 57-61.
- [10] 刘晓青, 张雅芬, 顾学范, 等. 与 ATP7B 基因紧密连锁的卫星 DNA 单体型在汉族 Wilson 病的多态性分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2002, 4(6): 448-452.

(本文编辑: 万静)