

反复皮肤、巩膜黄染 2 年

袁小叶 贺湘玲 邹惠 邹润英

(湖南省人民医院儿童医学中心血液肿瘤科, 湖南 长沙 410005)

1 病例介绍

患儿, 女, 2 岁, 反复皮肤、巩膜黄染 2 年。出生后 4 d 无明显诱因出现皮肤、巩膜黄染, 并逐渐加重, 无其他不适, 予茵栀黄、苯巴比妥等治疗, 黄疸可退, 停药后反复, 于 6 月龄时第一次因黄疸住院, 诊断为“高未结合胆红素血症、溶血性黄疸”, 予以护肝及苯巴比妥治疗, 黄疸稍退。出院后规律复查肝功能、血常规, 间接胆红素间或升高, 血红蛋白一直正常; 黄疸严重时口服苯巴比妥(剂量不详), 黄疸可退, 但仍反复。2 岁时患儿再次因黄疸住院, 间接胆红素 89.2~116.0 $\mu\text{mol/L}$ (正常值 5.1~20.0 $\mu\text{mol/L}$), 直接胆红素、转氨酶、蛋白均正常。

患儿系第 1 胎, 足月剖宫产出生, 出生体重 3 kg, 生后 1 min、5 min Apgar 评分 10 分, 生长发育正常, 已进行卡介苗、乙肝、脊髓灰质炎糖丸、百白破、麻疹、乙脑、流脑疫苗接种。家族中无类似病史。

入院体查: 发育正常, 营养可, 神志清楚, 全身皮肤中度黄染, 巩膜黄染, 心肺无异常, 腹平软, 肝脏肋缘下 2 cm、质软、无触痛, 脾脏未触及。神经系统体查未见异常。

实验室检查: 血常规、网织红细胞计数、肾功能、甲状腺功能、铜兰蛋白、血清铁蛋白、大小便常规均正常; 肝功能总胆红素 128.6 $\mu\text{mol/L}$ (正常值 5.1~20 $\mu\text{mol/L}$), 直接胆红素 12.6 $\mu\text{mol/L}$ (正常值 0~6.1 $\mu\text{mol/L}$), 间接胆红素 116.0 $\mu\text{mol/L}$ (正常值 5.1~20 $\mu\text{mol/L}$), 谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总蛋白、白蛋白均正常; 葡萄糖 6-磷酸脱氢酶: 正常; Coomb's 试验阴性; HbF 正常; HbA₂ 正常;

红细胞渗透脆性试验正常; α 、 β 地中海贫血基因检测未见异常; CMV-DNA、EBV-Ab、HCV-Ab、HBV 表面抗原均阴性; 血氨基酸及酯酰肉碱谱、尿有机酸分析正常; 腹部彩超、超声心动图无异常, 骨髓细胞学提示正常骨髓象。

2 诊断思维

2 岁患儿, 生后 4 d 起出现波动性高间接胆红素血症, 口服苯巴比妥黄疸可消退, 除皮肤、巩膜黄染无其他症状及阳性体征, 实验室检查主要为间接胆红素增高, 肝脏酶学、蛋白、嗜肝病毒标志物及肝胆影像学均正常, 无红细胞破坏过多及代偿增生的证据, 也无红细胞葡萄糖 6-磷酸脱氢酶活性下降及地中海贫血基因异常。

间接胆红素增高为主的非溶血性黄疸, 需考虑先天性非溶血性黄疸及肝炎后高胆红素血症。患儿新生儿期即起病, 既往无肝炎病史及家族史, 多次肝酶、肝炎病毒标志物等检查均正常, 不支持肝炎后高胆红素血症, 高度考虑先天性非溶血性的高未结合胆红素血症, 常见的有 Gilbert 综合征 (Gilbert syndrome, GS)、Crigler-Najjar 综合征 (Crigler-Najjar syndrome, CNS)、Lucey-Driscoll 综合征 (Lucey-Driscoll syndrome, LDS) 等。其中 LDS 又称暂时性新生儿家族性高胆红素血症, 多在生后 48 h 内出现黄疸, 血清非结合胆红素可达 340 $\mu\text{mol/L}$ 以上, 其发病机制与母亲孕后期血中存在胆红素-尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (uridine diphosphate glucuronic acid, UGT) 抑制物有关, 该类物质可通过胎盘进入患儿体内, 导致肝细胞间接胆红素摄取障碍、黄疸, 可迅速发展

[收稿日期] 2016-08-26; [接受日期] 2016-10-20

[作者简介] 袁小叶, 女, 硕士, 医师。

[通信作者] 贺湘玲, 女, 主任医师, 教授。

成核黄疸,但经换血治疗后胆红素常于1个月内降至正常。本例表现为慢性反复性黄疸,不支持该病。CNS和GS因基因突变引起UGT发育不全从而导致间接胆红素醛酸化障碍、黄疸。UGT为存在于肝细胞内的一种催化酶,被肝脏摄取的未结合胆红素在此酶的作用下形成结合胆红素。编码UGT的基因UGT1A1定位于染色体2q37,发生突变时可影响UGT活性。I型CNS因UGT完全缺乏,导致患儿间接胆红素显著升高、婴儿期死亡,与本例特点不符;II型CNS与GS的UGT活性均部分降低,因此均可表现为反复的黄疸,苯巴比妥试验阳性,鉴别困难,本例患儿需高度考虑此类疾病,通过UGT1A1基因突变的不同类型可鉴别GS与CNS,故需完善基因分析。此外,引起黄疸的遗传代谢病还有Rotor综合征、Dubin-Johnson综合征、进行性家族性肝内胆胆汁淤积症以及某些氨基酸、糖类代谢障碍性疾病等,但均以直接胆红素升高为主,与本例特点不符。

3 进一步检查

取得患儿父母知情同意,采集患儿及父母外周血各3 mL,应用过柱法抽提DNA,参照文献^[1]针对UGT1A1基因上游苯巴比妥增强元件(PBREM)、启动子区TATA盒及5'对外显子及其部分内含子设计引物,进行PCR扩增。PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳鉴定,纯化后进行DNA测序。

结果显示,患儿存在UGT1A1基因c.211G>A(G71R)纯合突变,即第1外显子第211位碱基由G突变为A;c.1456T>G(Y486D)纯合突变,即第5外显子第1456位碱基由T突变为G;患儿父母均为c.211G>A和c.1456T>G双重杂合突变。

4 诊断及依据

结合患儿病史、胆红素特点、治疗反应及基因检测,确诊为GS。(1)自出生起的以间接胆红素升高为主的黄疸,口服苯巴比妥可使黄疸缓解,病程长、病情反复,无其他伴随症状及体征;(2)排除了溶血性黄疸、肝细胞性黄疸及胆汁淤积性黄疸等相关疾病;(3)患儿存在UGT1A1基因c.211G>A(G71R)纯合突变和c.1456T>G(Y486D)

纯合突变,父母均为双重杂合突变。该突变为已报道的致病突变。

5 临床经过

确诊后定期随诊,仅黄疸严重时予苯巴比妥治疗(每日5 mg/kg,连用7 d)。目前患儿无明显黄疸。

6 讨论

GS是一种较常见的遗传性高间接胆红素血症,因UGT1A1基因缺陷导致UGT活性下降,而UGT主要参与非结合胆红素的葡萄糖醛酸化,其活性下降导致胆红素摄取障碍、血清游离胆红素升高^[2]。GS的发病率可达3%~17%^[3],且存在明显性别差异,男性高于女性^[4]。

GS常表现为慢性波动性黄疸,一般生后4 d即可出现不同程度的黄疸,可有阳性家族史,多无其他症状,疲劳、紧张、应激、感染、饮酒等可诱发黄疸或加重症状,个别患者在黄疸加重时有乏力、消化不良或腹部不适^[5]。除皮肤、巩膜黄染,一般无其他阳性体征。间接胆红素水平增高,但转氨酶、肝炎病毒标志物均正常,无溶血证据,肝胆影像学无异常。肝组织在光镜下可有脂褐素沉积和滑面内质网改变等非特异性表现。任东青等^[6]在透射电镜下发现的特征性溶酶体可鉴别GS与其他高间接胆红素血症,该溶酶体镜下表现为卵圆形或不规则形、有膜包绕、含电子致密块状颗粒,与电子密度略低的聚集物以及脂滴互相混杂。对于自幼即以间接胆红素增高为主,有或无类似家族史,不能用常见肝损害或溶血等解释,且一般情况良好的黄疸患儿,应想到此病可能,若肝脏病理检查见到特征性溶酶体即可作出诊断。此外饥饿试验、苯巴比妥试验等非特异性试验均有助于诊断。国外有报道称利福平试验简便快捷、阳性率较高,对GS具有较高的诊断价值^[7]。然而,这些非特异性试验并不能很好的区分GS与其他有黄疸表现的疾病如CNS等^[8],需要完善基因检测进一步分析。

GS属于先天性遗传性疾病,其突变基因为染色体2q37位点的UGT1A1基因^[9]。目前已报道的UGT1A1基因突变约有130种^[10],主要分为启动

子变异和编码区突变。正常人群中, UGT1A1 基因启动子含6个重复的TA序列: A(TA)6TAA, 变异时可有TA插入, 出现7个TA重复序列: A(TA)7TAA, 使TATA盒序列延长, 导致与转录因子的结合减少、UGT合成受限、UGT活性下降; 启动子另外一个遗传变异形式是位于TATA盒上游的苯巴比妥反应增强元件(PBREM)突变, 有报道称PBREM T-3279G突变可使UGT1A1转录活性下降为正常的62%^[11]。国内关于该位点突变报道不多, 沈健等^[12]报道了国内首例A(T)7TAA合并T-3279G突变的GS病例。不同人群的GS患者存在遗传背景差异。在白种人, GS人群大部分为启动子位点变异, 均存在TATA盒杂合或纯合变异, 伴或不伴c.3279T>G, 80%GS在白种人和非洲人的基因型都为纯合的A(TA)7TAA^[6]; 而在亚洲人中, GS人群大部分是外显子编码序列错义突变, 最常见为核苷酸211位G→A点突变(G71R), 此外还有P229Q、Tyr486Asp、Arg367Gly等^[13]。本例的GS突变位点分别位于第1、5外显子区域, 突变类型为已报道的致病突变^[14-15]。

本例患儿基因型为G71R与Y486D复合纯合突变, 国内外较罕见, Yamamoto等^[14]首先报道了该突变类型病例, 并作了关于Gly71Arg与Tyr486Asp不同突变模式时UGT活性的研究, 发现Gly71Arg、Tyr486Asp、Gly71Arg+Tyr486Asp纯合突变时, UGT1A1酶活性分别为正常的(32.2±1.6)%、(7.6±0.5)%、(6.2±1.6)%, 提示不同位点突变时, 酶的活性不同, 且双重位点突变的UGT活性可能低于单一位点突变。而本例的父母为两位点杂合突变, 无明显症状; 患儿为两位点纯合突变, 血清间接胆红素明显升高, 提示基因纯合突变者胆红素水平往往高于杂合突变者, 因此, 基因突变类型的鉴定有助于预测酶活性和胆红素水平的高低。与UGT1A1突变有关的其他遗传性非溶血性高未结合胆红素血症还有CNS I型、II型^[16]。I型患儿的UGT完全缺乏,

胆红素明显升高, 多伴神经系统症状, 常于出生后15个月内死亡; II型的UGT部分缺乏, 胆红素多在170~340 μmol/L, 无其他伴随症状。II型患者以复合突变多见, UGT活性常>10%, 苯巴比妥治疗后血清胆红素水平可下降, 但停药后易反弹, 黄疸较难控制^[18]。因II型CNS与GS间存在UGT1A1某些突变位点的交叉, 故某些GS突变纯合子患者甚至表现为II型CNS。据Yamamoto等^[14]关于G71R、Y486D不同突变模式UGT活性的研究, 本例患儿属该两位点复合突变纯合子, 理论上UGT活性可下降到II型CNS水平, 黄疸应比较严重, 但该患儿胆红素水平远低于II型CNS水平, 苯巴比妥治疗后黄疸消退, 与GS临床特点相符, 故诊断为GS。

GS表现为慢性波动性黄疸, 预后较好, 无需特殊治疗, 严重者给予苯巴比妥类药物治疗, 黄疸可好转^[18]; GS患者的UGT1A1活性降低, 使患者更易出现某些药物的毒性反应甚至被诱发黄疸, 需避免使用经UGT代谢的药物如合成类固醇、伊立替康、雄激素、利福平、链霉素、氨苄青霉素、对乙酰氨基酚等^[19]。此外, 该类患者需避免与患有该病的异性婚配。

7 结语

GS临床少见, 容易误诊。本文报道的患儿, 表现为新生儿期起病的反复间接胆红素升高, 肝功能无酶学及蛋白的异常, 无溶血性贫血依据, 经基因检测最后诊断为GS。因此, 对于新生儿期起病的慢性波动性非结合胆红素增高, 在没有阳性家族史的情况下, 也应注意GS、CNS等先天性非溶血性高未结合胆红素血症, 可行苯巴比妥试验、饥饿试验初步鉴别, 尽早予以基因诊断以避免不必要的反复就诊及一些诱发因素, 也可对患者提供遗传咨询指导。

【摘要】 患儿, 女, 2岁, 反复皮肤、巩膜黄染2年, 无其他症状及体征, 应用苯巴比妥类药物黄疸可缓解。实验室检查间接胆红素多次升高, 转氨酶正常, 肝脏影像学正常, 无溶血证据。患儿尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(UGT1A1)基因分析提示: 存在已报道的GS致病突变, c.211G>A(G71R)、c.1456T>G(Y486D)双重纯合突变; 父母均为G71R、Y486D双重杂合携带者, 无黄疸症状。确诊为Gilbert综合征(GS)。该病较少见。高未结合胆红素血症不能用常见肝损害及溶血解释时, 建议调查家族史, 尽早完善基因分析, 以发现某些先天性胆红素代谢障碍性疾病。

【中国当代儿科杂志, 2017, 19(1): 77-80】

[关键词] Gilbert 综合征; 黄疸; UGT1A1 基因; 基因突变; 儿童

Repeated yellowing of the skin and sclera for 2 years

YUAN Xiao-Ye, HE Xiang-Ling, ZOU Hui, ZOU Run-Ying. Department of Pediatric Hematology and Oncology, Hunan People's Hospital, Changsha 410005, China (He X-L, Email: hexiangl@163.com)

Abstract: A two-year-old girl was admitted due to repeated yellowing of the skin and sclera for 2 years and had no other specific symptoms or signs. The use of phenobarbital could relieve the symptoms of jaundice. Multiple examinations showed increased indirect bilirubin levels, and the results of aminotransferases and liver imaging were normal. There was no evidence of hemolysis. The analysis of UGT1A1 gene in her family found that this child had double homozygous mutation of c.211G>A(G71R) and c.1456T>G(Y486D), which had been reported as the pathogenic mutation for Gilbert syndrome. Her parents carried double heterozygous mutation of G71R and Y486D and had no symptom of jaundice. The child was diagnosed as having Gilbert syndrome. It is concluded that as for patients with unconjugated hyperbilirubinemia which cannot be explained by liver damage and hemolysis, their family history should be investigated in detail and gene analysis should be performed as early as possible, in order to identify congenital bilirubin metabolic disorders.

[Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(1):77-80]

Key words: Gilbert syndrome; Jaundice; UGT1A1 gene; Gene mutation; Child

[参 考 文 献]

- [1] Maruo Y, Nakahara S, Yanagi T, et al. Genotype of UGT1A1 and phenotype correlation between Crigler-Najjar syndrome type II and Gilbert syndrome[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2016, 31(2): 403-408.
- [2] Fretzayas A, Moustaki M, Liapi O, et al. Gilbert syndrome[J]. Europ J Pediatr, 2012, 171(1): 11-15.
- [3] Maruhashi T, Soga J, Fujimura N, et al. Hyperbilirubinemia, augmentation of endothelial function, and decrease in oxidative stress in Gilbert syndrome[J]. Circulation, 2012, 126(5): 598-603.
- [4] Radlović N. Hereditary hyperbilirubinemia[J]. Srp Arh Celok Lek, 2014, 142(3-4): 257-260.
- [5] 张玉喜, 马晓瑞, 马国仁. Gilbert 综合征 21 例临床分析[J]. 宁夏医学杂志, 2010, 32(7): 634-635.
- [6] 任东青, 黄晓峰, 尹文, 等. Gilbert 综合征肝活检的超微结构特征[J]. 现代生物医学进展, 2012, 18(12): 3439-3441.
- [7] Hallal H, Egea JM, Mas P, et al. A shortened, 2-hour rifampin test: a useful tool in Gilbert's syndrome[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2006, 29(2): 63-65.
- [8] Weiß J. The Crigler-Najjar syndrome[J]. Z Gastroenterol, 2014, 52(4): 338.
- [9] Ostanbek B, Furlan D, Bratanič B. Genotyping UGT1A1(TA)(n) polymorphism rare variants by high resolution melting curve analysis[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(5-6): 489-490.
- [10] Canu G, Minucci A, Zuppi C, et al. Gilbert and Crigler Najjar syndromes: an update of the UDP-glucuronosyltransferase 1A1(UGT1A1) gene mutation database[J]. Blood Cells Mol Dis, 2013, 50(4): 273-280.
- [11] Costa E, Vieira E, Dos SR. The polymorphism C.-3279>G in the phenobarbital-responsive enhancer module of the bilirubin UDP-glucuronosyltransferase gene is associated with gilbert syndrome[J]. Clin Chem, 2005, 51(11): 2204-2206.
- [12] 沈健, 吴建新, 李定国. 1 例中国 Gilbert 综合征家系 UGT1A1 基因遗传分析[J]. 胃肠病学, 2007, 7(12): 392-396.
- [13] Ralotychou V, Karakosta M, Tzanetea R, et al. Contribution of G71R mutation to Gilbert's syndrome phenotype in a Greek patient: A case report[J]. World J Gastrointest Pharmacol Ther, 2011, 2(5): 42-45.
- [14] Yamamoto K, Sato H, Fujiyama Y, et al. Contribution of two missense mutations (G71R and Y486D) of the bilirubin UDP glycosyltransferase (UGT1A1) gene to phenotypes of Gilbert's syndrome and Crigler-Najjar syndrome type II [J]. Biochim Biophys Acta, 1998, 1406(3): 267-273.
- [15] 余利红, 高静, 王春丽, 等. 一个中国 Gilbert 综合征家系的遗传学分析[J]. 遗传, 2006, 28(1): 11-16.
- [16] 姚光弼. 遗传性高胆红素血症 [M]// 姚光弼. 临床肝脏病学. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2011: 502-506.
- [17] Ko JS, Chang JY, Moon JS, et al. Molecular analysis of the UGT1A1 gene in Korean patients with Crigler-Najjar syndrome type II [J]. Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr, 2014, 17(1): 37-40.
- [18] Memon N, Weinberger BI, Hegyi T, et al. Inherited disorders of bilirubin clearance[J]. Pediatr Res, 2016, 79(3): 378-386.
- [19] Oda S, Fujiwara R, Kutsuno Y, et al. Targeted screen for human UDP glucuronosyltransferases inhibitors and the evaluation of potential drug-drug interactions with zafirlukast[J]. Drug Metab Dispos, 2015, 43(6): 812-818.

(本文编辑: 俞燕)