

论著·临床研究

Alagille 综合征患儿 1 例临床和遗传学分析：一个包含 JAG1 基因的染色体新中间缺失的识别

李华 刘佳佳 邓梅 郭丽 程映 宋元宗

(暨南大学附属第一医院儿科, 广东 广州 510632)

[摘要] Alagille 综合征 (ALGS) 是一种常染色体显性遗传病, 可累及肝脏、心脏、骨骼、眼睛、肾脏、颜面等多个系统。本文报道 1 例 ALGS 患儿的临床和遗传学特征。患儿为 3 个月 10 d 男婴, 因发现皮肤、巩膜黄染 3 个月就诊。体格检查示: 宽额头, 小下颌; 胸骨左缘第 2、3 肋间可闻及 3~4/6 级收缩期杂音; 腹部膨隆, 肝右肋下 3 cm 可触及, 质地中等。生化结果示肝功能明显异常, 胆红素升高, 且以结合胆红素升高为主, 伴总胆汁酸和 γ -谷氨酰转肽酶显著升高。心脏彩超示房间隔缺损、肺动脉狭窄。二代测序发现该患儿 JAG1 基因整体杂合缺失, 而染色体微阵列分析在患儿 20 号染色体 p12.3p12.2 处检出约 3.0 Mb 缺失, 该范围包含 ALGS 致病基因 JAG1。该患儿具备特殊面容、心脏畸形和胆汁淤积等临床表现, 结合遗传学分析结果, 诊断 ALGS 明确。确诊后给予对症支持治疗, 现已随访至生后 11 个月, 胆红素较治疗前明显下降, 但总胆汁酸和 γ -谷氨酰转肽酶等指标仍明显升高, 其远期预后仍有待随访观察。本研究扩展了 JAG1 基因突变谱, 同时为患儿诊断、治疗及家系遗传咨询和产前诊断提供了实验室依据。 [中国当代儿科杂志, 2017, 19(10): 1098-1103]

[关键词] Alagille 综合征; JAG1 基因; 二代测序; 染色体微阵列; 儿童

Clinical and genetic study of an infant with Alagille syndrome: identification of a novel chromosomal interstitial deletion including JAG1 gene

LI Hua, LIU Jia-Jia, DENG Mei, GUO Li, CHENG Ying, SONG Yuan-Zong. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital, Jinan University, Guangzhou 510632, China (Song Y-Z, Email: songyuanzong@vip.tom.com)

Abstract: Alagille syndrome (ALGS) is an autosomal dominant disease affecting multiple systems including the liver, heart, skeleton, eyes, kidneys and face. This paper reports the clinical and genetic features of an infant with this disease. A 3-month-and-10-day-old female infant was referred to the hospital with jaundiced skin and sclera for 3 months. Physical examination revealed wide forehead and micromandible. A systolic murmur of grade 3-4/6 was heard between the 2th and 3th intercostal spaces on the left side of the sternum. The abdomen was distended, and the liver palpable 3 cm under the right subcostal margin with a medium texture. Serum biochemistry analysis revealed abnormal liver function indices, with markedly elevated bilirubin (predominantly direct bilirubin), total bile acids (TBA) and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT). Atrial septal defect and pulmonary stenosis were detected on echocardiography. Next generation sequencing detected entire deletion of the JAG1 gene, and then chromosomal microarray analysis revealed a novel interstitial deletion of 3.0 Mb in size on chr20p12.3p12.2, involving JAG1 gene. The child had special facial features, heart malformations, and cholestasis, and based on the genetic findings, ALGS was definitively diagnosed. Thereafter, symptomatic and supportive treatment was introduced. Thus far, the infant had been followed up till his age of 11 months. The hyperbilirubinemia got improved, but GGT and TBA were persistently elevated, and the long-term outcome needs to be observed. This study extended the JAG1 mutation spectrum, and provided laboratory evidences for the diagnosis and treatment of the patient, and for the genetic counseling and prenatal diagnosis in the family. [Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(10): 1098-1103]

Key words: Alagille syndrome; JAG1 gene; Next generation sequencing; Chromosomal microarray analysis; Child

[收稿日期] 2017-04-30; [接受日期] 2017-06-12

[基金项目] 国家自然科学基金 (81570793)。

[作者简介] 李华, 女, 硕士, 住院医师。

[通信作者] 宋元宗, 男, 教授, 主任医师。

Alagille 综合征 (Alagille syndrome, ALGS) 是一种常染色体显性遗传病, 可累及肝脏、心脏、骨骼、眼睛、肾脏、颜面等多个系统, 常以婴儿期胆汁淤积为突出表现^[1-2]。本病于 1969 年由 Alagille 等首次描述, 并在 1975 年得到进一步阐述^[3]。国外有文献报道本病发病率约 1/30000^[4], 目前国内尚无关于本病的流行病学数据。近年研究表明, 94% 的 ALGS 由编码 JAGGED1 蛋白的 JAG1 基因突变导致, 约 1.5% 患者由 NOTCH2 基因突变导致, 另有 4.5% 的患者致病基因不明^[5]。

JAG1 基因定位在染色体 20p12, 共有 26 个外显子和 25 个内含子, 基因组全长 38 kb, 编码细胞膜表面蛋白 JAGGED1。JAGGED1 是 Notch 受体的功能性配体, 受体与配体相互作用启动下游信号转录, 从而影响细胞的增殖与分化^[6]。目前人类基因突变信息库 (HGMD, <http://www.hgmd.cf.ac.uk>) 已收录 JAG1 突变 467 种, 其中大片段缺失仅 49 例, 约占 JAG1 基因突变的 10%。国内儿科界虽有本病分子诊断的报道^[7-8], 但 JAG1 基因大片

段缺失罕见。本文报道 1 例 ALGS 患儿的临床特征和一个新的包含 JAG1 基因的染色体中间缺失, 为本病诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 病例介绍

患儿, 男, 3 个月 10 d。因皮肤、巩膜黄染 3 个月来我院就诊。患儿生后约 2 周开始出现皮肤、巩膜黄染, 不伴咳嗽、咳痰, 无发热、寒战, 无腹泻、便秘, 无陶土样大便。生后 3 月龄时于当地医院诊治, 查肝功能异常, 总胆红素高, 且以结合胆红素升高为主 (表 1)。心脏彩超示: 卵圆孔未闭 (2.5 mm); 主肺动脉形态偏细。上腹部磁共振 (MR) 平扫 + 磁共振胰胆管造影 (MRCP) 检查未见明确异常。腹部 B 超示肝脾未见明显异常, 肠气影响胆囊显示不清。予甘草酸二胺护肝、口服茵栀黄退黄等治疗 4 d。患儿肝功能及胆红素未见明显好转 (表 1), 为进一步诊治而转入我院。

表 1 患儿实验室指标随年龄的纵向比较

指标 (参考范围)	3 个月 4 d	3 个月 8 d	3 个月 9 d	3 个月 16 d	8 个月 3 d	11 个月 3 d
ALT (5~40 U/L)	188	160	191	207	45	222
AST (8~40 U/L)	266	162	238	256	131	247
GGT (8~50 U/L)	923	804	1012	1450	446	742
CHE (4600~12000 U/L)	-	-	9282	8636	8574	7858
ALB (35.0~55.0 g/L)	42.4	-	48.1	44.1	45.6	44.8
GLB (20.0~30.0 g/L)	-	-	17.2	44.1	18.7	24.1
TP (60.0~83.0 g/L)	56.2	-	65.3	49.8	64.3	68.9
Tbil (2~19 μmol/L)	99	90	129	135	47	54
Dbil (0~6 μmol/L)	81	74	78	85	24	28
Ibil (2.6~20.9 μmol/L)	17.6	16.4	52.2	50.2	23.4	26.1
TBA (0~10 μmol/L)	174	134	116	160	138	299
AFP (0~10 μmol/L)	-	2974	4815	2793	-	7

注: [ALT] 丙氨酸氨基转移酶; [AST] 门冬氨酸氨基转移酶; [GGT] γ-谷氨酰转肽酶; [CHE] 胆碱酯酶; [ALB] 白蛋白; [GLB] 球蛋白; [TP] 总蛋白; [Tbil] 总胆红素; [Dbil] 结合胆红素; [Ibil] 非结合胆红素; [TBA] 总胆汁酸; [AFP] 甲胎蛋白; - 表示未检测。

患儿系第 1 胎第 1 产, 出生胎龄 36⁺³ 周, 因“双卵双胞胎, 体外受精 - 胚胎移植术后”在当地医院行剖宫产出生, 出生时 1 min、5 min 及 10 min Apgar 评分分别为 9 分、10 分和 10 分, 出生体重 2.01 kg (小于胎龄儿)。双胞胎之小出生体重 2.0 kg, 体健。父母体健, 非近亲结婚。母孕期按时产检, 未发现异常。否认家族史。

体格检查: 体重 4.1 kg (<-3 SD), 身长

43 cm (<-3 SD), 头围 37 cm (<-2 SD)。神志清楚, 精神可, 发育落后, 营养差。全身皮肤、巩膜黄染, 无皮疹及皮下出血点, 浅表淋巴结未触及肿大。前囟平软, 宽额头, 小下颌, 可追视物体, 唇红, 咽无充血, 未见脓性分泌物。颈软, 无抵抗, 可竖头, 气管居中, 胸廓对称, 双肺呼吸音清, 未闻及干、湿罗音。心律齐, 心音有力, 胸骨左缘第 2、3 肋间可闻及 3~4/6 级收缩期杂音。腹胀, 腹壁静脉可

UCSC Genome Browser (<http://genome.ucsc.edu>)，发现这个 3.0 Mb 的染色体缺失片段，包含在线人类孟德尔遗传数据库 (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM) 已收录的 9 种基因 (表 2)，其中包含重要功能基因 JAG1，从而证实该患儿为完整 JAG1 基因杂合缺失导致的 ALGS 患者。经检索

HGMD、PubMed、万方、维普和知网等国内外数据库，未发现该缺失的文献报道。HGMD 数据库中收录的表现为 ALGS 的 3.0~4.0 Mb 的缺失片段共 5 个 (表 3)^[9]，均与本研究发现的中间缺失性质不同。

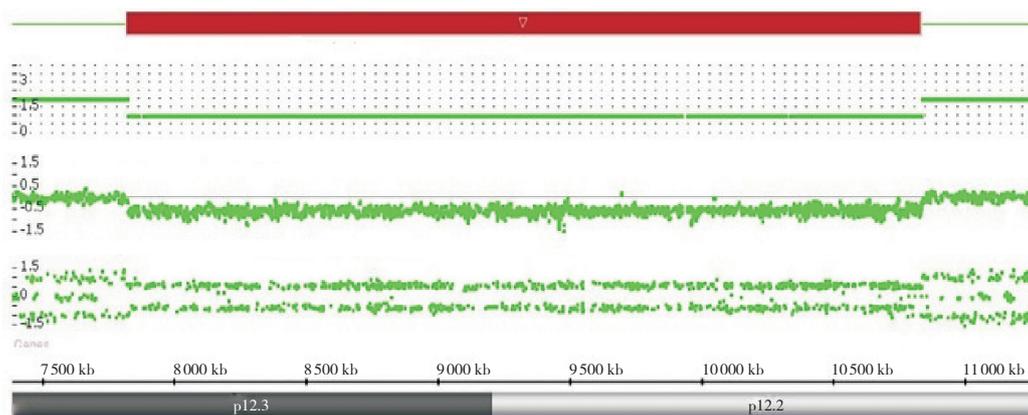


图 2 染色体微阵列检测结果截图 患儿 chr20p12.3p12.2 (7824240~10831812) 处存在 3007573 bp 的缺失。

表 2 患儿缺失片段包含的在 OMIM 中已报道的基因

基因	染色体位置	基因组坐标	遗传方式	表型
JAG1	20p12.2	20:10637683~10674045	AD	ALGS; 法洛四联征
HAO1(605023)	20p12.2	20:7882983~7940445	-	-
PLCB1(607120)	20p12.2	20:8132235~8884910	AR	癫痫性脑病; 早产
PLCB4(600810)	20p12.3-p12.2	20:9068709~9480815	AR, AD	耳廓状突综合征
LAMP5(614641)	20p12.2	20:9514357~9530525	-	-
SNAP25(600322)	20p12.2	20:10218693~10307419	AD	先天性肌无力
MKKS(604896)	20p12.2	20:10404779~10434238	AR	McKusick-Kaufman 综合征; Bardet-Biedl 综合征
TMX4	20p12.3	20:7977352~8019828	-	-
SLX4IP(615958)	20p12.2	20:10434452~10628137	-	-

注: [AD] 常染色体显性遗传; [AR] 常染色体隐性遗传; - 表示遗传方式或表型不明。

表 3 HGMD 数据库中收录的表现为 ALGS 的染色体缺失片段

染色体位置	基因组坐标	大小 (Mb)
20p12.2	8813006~11844206	3.03
20p12.2-p12.1	10380766~13660393	3.28
20p12.3-p12.1	8521437~12366350	3.84
20p12.3-p12.2	7383615~11268829	3.89
20p12.3-p12.2	8044130~12044897	4.00

2.2 治疗与结局

患儿入院后给予无乳糖并强化中链甘油三酯

的配方奶粉喂养，还原型谷胱甘肽护肝，康普力星补锌，补充维生素 AD 及维生素 E 等对症支持治疗 9 d 后出院，嘱门诊随访。出院诊断：胆汁淤积症；房间隔缺损（继发孔型，左向右分流）；肺动脉口狭窄（轻度）；锌缺乏症；维生素 D 缺乏症。8 个月大时门诊复查肝功能明显好转，胆红素较前明显下降 (表 1)。11 个月大时门诊随访，身高 69.0 cm (<-1 SD)，体重 7.25 kg (<-2 SD)，头围 43.5 cm (<-1 SD)，无肉眼可见黄疸，与住院时比较胆红素水平下降 (表 1)。

3 讨论

ALGS的诊断经历了从临床诊断^[10]到加入肝脏活检病理诊断依据^[11],再到加入分子生物学诊断依据^[11]的过程。Kamath^[12]和Guru Murthy等^[13]提出本病修订诊断标准,纳入了肾脏表现、家族史和基因突变等诊断依据。根据该标准,若检测到JAG1基因突变,有1个或以上主要临床特征即可确诊。本例患儿存在JAG1基因缺失,并存在特殊面容、心脏畸形和胆汁淤积等临床表现,诊断ALGS明确。遗传性胆汁淤积症致病基因种类繁多,采用二代测序技术可同时对多个致病基因进行检测,降低漏诊及误诊率,同时避免了一代测序耗费人力、物力及耗时长等缺点。然而二代测序对于大片段基因缺失不能明确缺失起止位点,需要通过染色体微阵列技术等手段深入分析才能明确突变具体性质。2010年国际细胞基因组芯片标准协作组推荐将染色体微阵列技术作为对原因不明的多种体征畸形患者的首选临床一线检测方法^[14]。本例患儿就是联合应用二代测序和染色体微阵列技术,最终发现了一个涉及JAG1基因的新中间缺失,从而为患者确诊提供了遗传学依据。HGMD数据库中已收录5个导致ALGS的染色体缺失,但其性质均与本病例不同^[9]。

本研究发现的中间缺失包含HAO1、TMX4、PLCB1、PLCB4、LAMP5、PAK7、SNAP25-AS1、ANKEF1、SNAP25、MKKS、SLX4IP和JAG1等12个基因,其中有9个已被收录于OMIM。JAG1、PLCB4和SNAP25基因可呈常染色体显性遗传方式,PLCB1和MKKS基因呈常染色体隐性遗传,其余4个基因遗传方式不明。但PLCB4突变可引起耳廓状突综合征,表现为外耳或下颚畸形,而SNAP25突变可引起先天性肌无力。本文患儿缺乏相应临床表现,所以不能确诊相应的遗传性疾病。患儿虽有PLCB4和SNAP25基因缺失却未出现相应临床表现,这种现象在遗传学上称为不穿透(non-penetrance)^[15]。实际上,并非所有含有JAG1基因突变者均有ALGS的临床表现,ALGS的穿透度约为94%^[16]。

ALGS目前尚无根治手段,其治疗以对症支持为主。注意平衡膳食,补充微量元素及脂溶性维生素,可改善生长发育落后^[17]。予以深度水解蛋

白及强化中链甘油三酯奶粉喂养。轻症者可口服熊去氧胆酸促进胆汁分泌,口服考来烯胺吸附胆汁酸。药物治疗失败可行胆汁部分外转流术^[18]。若出现门脉高压,继发严重胆汁淤积,黄色瘤病,难治性瘙痒,生长发育落后、生活质量下降需要进行肝移植^[19]。几乎所有早期死亡者均死于心脏病变。周围肺动脉狭窄是ALGS最常见的心脏异常,可进行导管介入干预^[20]或行肺动脉重建术^[21]。Fukumoto等^[22]的实践表明,对ALGS相关白内障病人可进行白内障超声乳化术及人工晶体植入术。肾脏损伤可考虑透析治疗,但对于严重肾病可进行肾移植^[23]。本文患儿经特殊配方奶粉喂养,并补充锌和脂溶性维生素等对症支持治疗,目前病情平稳,但其远期预后有待随访观察。

总之,本研究采用目标基因捕获二代测序技术和染色体微阵列技术,在1例ALGS患儿中检测到1个包含JAG1基因的新中间缺失。这一发现扩展了JAG1基因突变谱,同时为患儿诊断和治疗,以及家系遗传咨询和产前诊断提供了遗传学依据。

[参 考 文 献]

- [1] McElhinney DB, Krantz ID, Bason L, et al. Analysis of cardiovascular phenotype and genotype-phenotype correlation in individuals with a JAG1 mutation and/or Alagille syndrome[J]. *Circulation*, 2002, 106(20): 2567-2574.
- [2] Balistreri WF, Bezerra JA, Jansen P, et al. Intrahepatic cholestasis: summary of an American Association for the Study of Liver Diseases single-topic conference[J]. *Hepatology*, 2005, 42(1): 222-235.
- [3] Alagille D, Odièvre M, Gautier M, et al. Hepatic ductular hypoplasia associated with characteristic facies, vertebral malformations, retarded physical, mental, and sexual development, and cardiac murmur[J]. *J Pediatr*, 1975, 86(1): 63-71.
- [4] Kamath BM, Yin W, Miller H, et al. Outcomes of liver transplantation for patients with Alagille syndrome: the studies of pediatric liver transplantation experience[J]. *Liver Transpl*, 2012, 18(8): 940-948.
- [5] Leonard LD, Chao G, Baker A, et al. Clinical utility gene card for: Alagille syndrome (ALGS)[J]. *Eur J Hum Genet*, 2014, 22(3): e1-e4.
- [6] Vanorny DA, Prasasya RD, Chalpe AJ, et al. Notch signaling regulates ovarian follicle formation and coordinates follicular growth[J]. *Mol Endocrinol*, 2014, 28(4): 499-511.
- [7] 程映, 赵书涛, 郭丽, 等. 1个Alagille综合征家系中JAG1基因新突变的识别[J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(11): 1130-1135.
- [8] Li L, Dong J, Wang X, et al. JAG1 mutation spectrum and

- origin in Chinese children with clinical features of Alagille syndrome[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0130355.
- [9] Kamath BM, Thiel BD, Gai X, et al. SNP array mapping of chromosome 20p deletions: genotypes, phenotypes, and copy number variation[J]. Hum Mutat, 2009, 30(3): 371-378.
- [10] Alagille D, Estrada A, Hadchouel M, et al. Syndromic paucity of interlobular bile ducts (Alagille syndrome or arteriohepatic dysplasia): review of 80 cases[J]. J Pediatr, 1987, 110(2): 195-200.
- [11] Li L, Krantz ID, Deng Y, et al. Alagille syndrome is caused by mutations in human Jagged1, which encodes a ligand for Notch1[J]. Nat Genet, 1997, 16(3): 243-251.
- [12] Kamath BM. Alagille syndrome[M]//Suchy FJ, Sokal RJ, Balistreri WF, et al. Liver disease in children. 3rd ed. New York: Cambridge University Press, 2007: 326-345.
- [13] Guru Murthy GS, Rana BS, Das A, et al. Alagille syndrome: a rare disease in an adolescent[J]. Dig Dis Sci, 2012, 57(11): 3035-3037.
- [14] Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies[J]. Am J Hum Genet, 2010, 86(5): 749-764.
- [15] Angus J. Genetics[M]//Lissauer T, Carrol W. Illustrated textbook of pediatrics. 5th ed. Amsterdam: Elsevier, 2017: 128.
- [16] Dhorne-Pollet S, Deleuze JF, Hadchouel M, et al. Segregation analysis of Alagille syndrome[J]. J Med Genet, 1994, 31(6): 453-457.
- [17] Turnpenny PD, Ellard S. Alagille syndrome: pathogenesis, diagnosis and management[J]. Eur J Hum Genet, 2012, 20(3): 251-257.
- [18] Whittington PF, Whittington GL. Partial external diversion of bile for the treatment of intractable pruritus associated with intrahepatic cholestasis[J]. Gastroenterology, 1988, 95(1): 130-136.
- [19] Mozer-Glassberg Y, Hojsak I, Zevit N, et al. Pruritus responsive to naltrexone in a patient with cholestatic liver disease[J]. Isr Med Assoc J, 2011, 13(2): 111-112.
- [20] Cunningham JW, McElhinney DB, Gauvreau K, et al. Outcomes after primary transcatheter therapy in infants and young children with severe bilateral peripheral pulmonary artery stenosis[J]. Circ Cardiovasc Interv, 2013, 6(4): 460-467.
- [21] Mainwaring RD, Sheikh AY, Punn R, et al. Surgical outcomes for patients with pulmonary atresia/major aortopulmonary collaterals and Alagille syndrome[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2012, 42(2): 235-240.
- [22] Fukumoto M, Ikeda T, Sugiyama T, et al. A case of Alagille syndrome complicated by intraocular lens subluxation and rhegmatogenous retinal detachment[J]. Clin Ophthalmol, 2013, 7: 1463-1465.
- [23] Shrivastava R, Williams A, Mikhail A, et al. An unusual cause of hypertension and renal failure: a case series of a family with Alagille syndrome[J]. Nephrol Dial Transplant, 2010, 25(5): 1501-1506.

(本文编辑: 万静)