

病例报告

伴有特殊表型的 Wiskott-Aldrich 综合征 3 例

贺建新¹ Chan Koon Wing³ 徐保平¹ 刘秀云¹ 桂晋刚²
申昆玲¹ 江载芳¹ Lau Yu Lung³

(首都医科大学附属北京儿童医院: 1. 呼吸科; 2. 免疫研究室, 北京 100045;
3. 香港大学儿童与青少年科学系)

病例 1 患儿, 男, 4 个月。因发现血小板减少 4 月余, 咳嗽 50 d, 发热 4 d 入院。患儿 4 个月前(生后 2 d)发现血小板减少(PLT $22 \times 10^9/L$), 外院经骨髓细胞学检查诊断为血小板减少性紫癜, 口服泼尼松及静脉丙种球蛋白治疗, 血小板正常后出院。出院后不规律口服泼尼松, 2 个月前停用, 血小板波动于 $50 \sim 60 \times 10^9/L$ 。50 d 前开始咳嗽, 胸片示肺炎, 予地塞米松、美罗培南 2 周, 4 d 前咳嗽加重, 出现喘憋、口周发绀、呼吸急促及奶量减少, 伴发热, 体温最高 $38.5^\circ C$ 。近 4 d 精神反应差, 奶量减少, 睡眠欠安稳, 大便略稀。个人史、家族史无异常。

入院查体: 发育落后, 营养差, 神清, 反应差, 呼吸急促, 口周略发绀, 颈部皮肤少量散在针尖样新鲜出血点, 左上臂卡痕阴性, 双侧颊粘膜散在白色乳凝状物, 双肺呼吸音略低, 余查体无特殊。

辅助检查: 血常规 WBC $10.54 \times 10^9/L$, L $0.36 \times 10^9/L$, PLT $36 \times 10^9/L$, 余项正常。CRP 173 mg/L (参考值: 0~8 mg/L), PCT 2.10 ng/mL (参考值: ≤ 0.25 ng/mL), ESR 41 mm/h (参考值: 0~15 mm/h)。IgG 10.6 g/L (参考值: 1.8~8.0 g/L), IgA 1.74 g/L (参考值: 0.08~0.80 g/L), IgM 3.9 g/L (参考值: 0.2~1.0 g/L), IgE 657 IU/mL (参考值: ≤ 29 IU/mL)。CD3 21.6% (参考值: 55.0%~82.0%), CD4 20.3% (参考值: 55.0%~57.0%), CD8 0.9% (参考值: 11.0%~25.0%), B 细胞 49.4% (参考值: 11.0%~45.0%), NK 细胞 20.5% (参考值: 7.0%~40.0%)。胸片示两肺广泛间、实质浸润。肺 CT 示两肺广泛间、实质浸润, 胸腺影较小。

香港大学儿童及青少年科学系 Sanger 测序结果: WAS exon 4 c.397G>A/p.E133K。

诊断考虑重症肺炎、呼吸衰竭、严重脓毒症、鹅口疮, 以及 WAS 可能性大。予头孢哌酮舒巴坦和伏立康唑抗感染, NCPAP 呼吸支持及血小板输注治疗。因病情加重家长要求出院, 出院后失访。

病例 2 患儿, 男, 10 个月。因发热 2.5 个月、关节肿痛 1 个月入院。患儿病初发热 5 d 后热退, 出现充血性斑丘疹, 分布于耳后、前胸后背。1 个月前皮疹加重, 再度持续高热, 伴左下肢及右上肢肿胀, 触痛。外院辅助检查: 血常规 WBC $1635 \times 10^9/L$, N 88.3%, L 比例不详, Hb、PLT 正常; CRP 44 mg/L; 脑脊液常规、生化正常; 四肢磁共振提示左下肢、右上肢软组织炎性病变表现, 左膝关节、踝关节、右腕关节、右手掌指关节积液, 左侧股骨髓腔信号欠均匀; 肺 CT 示肺炎, 双侧胸腔积液伴左侧叶间积液。外院予美罗培南、万古霉素等抗感染, 静脉丙种球蛋白输注, 胸腔闭式引流(引出约 220 mL 黄褐色液体), 以及强心及 NCPAP 呼吸支持。深静脉置管管端细菌培养提示洛非氏不动杆菌, 对美罗培南、哌拉西林敏感。治疗后热峰下降, 病情好转出院。出院后口服泼尼松。因四肢关节仍肿胀转我院。

既往史、个人史、家族史: 均无异常。

入院查体: 精神稍差, 双侧颊粘膜可见白色乳凝状物, 右侧颈部软组织饱满, 右旋受限。左下肢、右上肢肿胀, 周径较对侧粗, 左膝关节肿胀, 无皮温增高, 无活动受限。右手指间关节饱满, 中指近端指间关节肿胀, 屈曲略受限。其他查体

未见异常。

入院后辅助检查：WBC $14.46 \times 10^9/L$ ，N 40.6%，L 48.3%，Hb、PLT 正常。CRP 13 mg/L（参考值： <8 mg/L）。IgG 14.7 g/L（参考值：3.0~10.0 g/L），IgA、IgE 正常，IgM 1.7 g/L（参考值：0.3~1.0 g/L）。CD3 正常，CD4 38.6%（参考值：49.0%~55.0%），CD8 31.0%（参考值：13.0%~26.0%），B 细胞 4.7%（参考值：11.0%~45.0%），NK 细胞 14.2%（参考值：7.0%~40.0%）。X 线：右手第 3 指近节指骨远侧骨异常并周围软组织饱满，中节指骨骨密度增高；左膝软组织肿胀，左胫骨近端局部骨密度欠均匀；颈椎齿凸与寰椎前环间距稍宽，C4 以上前侧软组织饱满。超声：左侧膝关节积液、髌上囊壁稍肿、滑膜稍厚，双侧踝关节外侧肌腱周围少许积液；右侧胸锁关节化脓性关节炎，关节腔内少量积液，周围软组织及右侧胸锁乳突肌远端附着肌腱肿胀；右侧肘关节滑膜增厚，并少量关节积液，肱三头肌肌腱附着点炎性改变。颈胸椎 MRI：C1~C2、T6~T11 水平脊髓内散在少许稍长 T2 信号。腰骶椎 MRI 无异常。北京迈基诺公司二代测序及一代验证：WAS exon 11 C.1378C>T/p.P460S，为已报道突变。

诊断考虑化脓性关节炎、鹅口疮。先后予以头孢曲松、头孢哌酮舒巴坦等抗感染及丙球、泼尼松等对症支持治疗。20 余天后体温、血常规及 CRP 恢复正常，颈部右旋受限好转，左下肢、右中指近端指间关节肿胀减轻，好转出院。

病例 3 患儿，男，1 岁 3 个月。因咳嗽 28 d、发热 9 d 入院。患儿 28 d 前接种水痘疫苗后出现流涕、咳嗽。予以头孢呋辛等治疗。13 d 前出现皮疹，为躯干部点状皮疹，突出皮肤，密集成片，压之褪色，不伴痒感，逐渐延至颜面、全身。11 d 前因颈部触及数枚蚕豆大小淋巴结，行腹部超声，示肝脾大，脾门及脾动脉周围肿大淋巴结、较大者 $3.0 \text{ cm} \times 1.4 \text{ cm}$ ；骨髓细胞学见异淋（6%）；血常规：WBC $32.04 \times 10^9/L$ ，N 16.8%，L 79.9%，Hb、PLT 正常。近 9 d 发热，最高体温 39°C ，热峰每日 1~2 次。予美罗培南、阿奇霉素、更昔洛韦抗感染 9 d 后热退，口服抗过敏药后皮疹消退。因要求行淋巴结活检入院。既往史、个人史及家族史无异常。

入院查体：发育正常，营养良好，神志清，

精神佳，颈部、腋下、腹股沟可及数枚花生米大小淋巴结，质中，活动可，非融合，无压痛，表面皮肤无红、热，心肺查体无异常，腹膨隆，肝肋下恰及，脾肋下 5.5 cm、质中。神经系统查体无异常。

辅助检查：WBC $49.77 \times 10^9/L$ （参考值：4.00~10.00），N 12.2%（参考值：18%~46%），L 84.7%（参考值：37%~78%），Hb、血小板计数正常。多次血 EBV-DNA 阴性。CD3 11.7%（参考值：55.0%~82.0%），CD4 6.0%（参考值：42.0%~51.0%），CD8 3.9%（参考值：12.0%~28.0%），B 细胞 86.7%（参考值：11.0%~45.0%），NK 细胞 1.4%（参考值：7.0%~40.0%）。T、B 细胞亚群 11 项：淋巴细胞正常，B 细胞 $1705/\mu\text{L}$ （参考值：180~324/ μL ），NK 细胞 $5/\mu\text{L}$ （参考值：175~567/ μL ），CD3 $585/\mu\text{L}$ （参考值：1185~1901/ μL ），CD4 $228/\mu\text{L}$ （参考值：561~1137/ μL ），CD8 $320/\mu\text{L}$ （参考值：404~754/ μL ），原始 CD4 $120/\mu\text{L}$ （参考值：206~530/ μL ）。胸片示肺炎。肺 CT：两肺广泛间、实质病变，纵膈、肺门、隆突下、双腋下淋巴结肿大。腹部 CT 示肝脾大。腹部超声示脾大、肋下 4.6 cm，腹腔多发淋巴结、较大者 $3.0 \text{ cm} \times 1.4 \text{ cm}$ 。颈部淋巴结活检：反应性增生，T 细胞区为著，EB 病毒编码的小 RNA（EBER）阴性。多次骨髓细胞学或骨髓活检可见噬血现象和散在异型淋巴细胞，未见明确肿瘤细胞，其中一次 EBER（+）。骨髓流式细胞分析考虑异常成熟多克隆 B 淋巴细胞。穿孔素表达正常。NK 细胞活性：正常低限。CD107a 脱颗粒功能异常。颗粒酶 B 表达正常。sCD25 37224（参考值： <6400 ）。信号淋巴细胞活化分子相关蛋白（signaling lymphocytic activation molecule-associated protein, SAP）表达和 X 连锁凋亡抑制剂（X-linked inhibitor of apoptosis, XIAP）表达均正常。北京得易公司二代测序及一代验证：WAS exon 11 C.1378C>T/p.P460S，为已报道突变。

诊断考虑噬血细胞综合征（hemophagocytic lymphohistiocytosis, HLH），免疫缺陷病可疑，EB 病毒感染。予抗病毒治疗。入院后第 6 天出现高热，第 10 天白细胞降至 $3.93 \times 10^9/L$ 、中性粒细胞减少至 $0.14 \times 10^9/L$ 、Hb 97 g/L，予以连续丙种球蛋白输注及地塞米松治疗，并按 HLH 化疗，第 21 天热峰下降，第 27 天 Hb 一过性降至 80 g/L；第 28

天体温完全稳定。第39天 WBC $24.60 \times 10^9/L$, N $0.84 \times 10^9/L$, L $19.42 \times 10^9/L$, Hb、PLT 正常。

讨论: Wiskott-Aldrich 综合征 (WAS) 是少见的 X 连锁隐性原发性免疫缺陷病, 表现为血小板减少、湿疹、反复感染以及伴发自身免疫性疾病或肿瘤^[1-2]。除了经典的 WAS, 还可表现为变异型 X 连锁血小板减少^[3]或 X 连锁中性粒细胞减少伴骨髓发育不良。WAS 患者平均存活年龄为 20 岁^[4], 80% 的 WAS 患者有出血, 其中 4%~10% 可能因出血死亡; 自身免疫性疾病及肿瘤也是导致其预后不良的原因。本文报道 3 例伴有特殊表现的 WAS 患儿, 病例 1 于婴儿早期淋巴细胞减少; 病例 2 和 3 为 WAS 基因 P460S 突变, 无血小板减少, 前者伴明显感染, 后者伴淋巴细胞减少及 HLH。

WAS 患者细胞免疫、体液免疫及天然免疫功能均受损。因此可出现严重的播散性的病毒感染或真菌感染。以窦肺感染最常见, 败血症、脑膜炎亦多见。T 细胞缺陷是 WAS 患者最主要的免疫缺陷, 淋巴细胞减少经常出现于 WAS 患者, 22% 的 WAS 患者淋巴细胞 $<1000/\mu L$ ^[5]。WAS 患者 T 细胞表面还可出现微绒毛数目及结构异常, 丝裂原或异体细胞刺激后 T 淋巴细胞增殖降低, 抗 CD3 刺激后可表现为 T 淋巴细胞增殖缺陷, 提示不同刺激作用通路不同, 对 T 细胞功能影响也不同^[5]。WAS 患者的 T 细胞趋化、活化以及产生细胞因子的功能可受损; 血 IgG、IgA、IgM 通常降低, IgE 通常升高。WAS 患者体液免疫功能是否下降还可从同族血凝素滴度、蛋白抗体反应性及多糖抗体反应性等方面了解^[6-7]。

病例 1 新生儿期发现血小板减少、淋巴细胞绝对计数 ($360/\mu L$) 明显降低, CD3、CD4、CD8 比例明显降低, 基因分析证实为 WAS 基因 exon 4 c.397G>A/p.E133K。因患儿家长放弃治疗, 未能完善淋巴细胞增殖功能、原始 CD4⁺T 细胞绝对计数等检查; 患儿实时定量 PCR 检测的 T 细胞受体剪切环 (T receptor excision circle, TREC) 虽较正常人降低, 但比经典严重联合免疫缺陷病 (severe combined immunodeficiency, SCID) 患者高。Borte 等^[8]用滤纸片方法检测 TREC, 发现 11 例 WAS 患者中 4 例 TREC 低于 cut-off 值、但高于经典 SCID 患者, 与本文一致。但数个大大样本滤纸片新生儿 TREC 筛查项目未鉴定出 WAS 患者^[9], 可能与该

病发病率低以及 TREC 的 cut-off 值的选取有关。因此, 病例 1 提供了一个有意义的启示, WAS 患者可于婴儿早期出现淋巴细胞减少, 新生儿 TREC 筛查明显降低者需要注意此病。有作者建议, 对于 TREC 筛查阳性的男性应注意血小板是否减少, 有助于 WAS 的早期诊断^[8]。病例 3 在病初白细胞及淋巴细胞明显升高, 但 CD3、4、8 比例明显降低, CD4 绝对计数降低, 虽然原始 CD4 比例正常, 但绝对计数亦明显降低, 进一步支持 WAS 患儿可出现明显 T 淋巴细胞减少。

WAS 或 X 连锁血小板减少 (X-linked thrombocytopenia, XLT) 最显著的特征是血小板减少, 病例 2、3 无血小板减少, 因此在诊治当初未考虑 WAS 的可能性, 直至二代基因测序结果及一代验证回报为 WAS 基因 P460S 突变。文献报道该突变导致轻型的 XLT^[10-12]。相关文献^[13]提到间断 XLT 概念, 即 WAS 患者可表现出血小板间断性减少。病例 2 和 3 是否有此可能性需进一步观察。病例 2、3 无血小板减少, 还需注意体细胞逆转或第二位点突变导致的体细胞嵌合。文献报道^[14], 11% 的 WAS 患者存在体细胞逆转。在既往只有一代测序技术的前提下, 若怀疑此种情况, 需要对 T 淋巴细胞进行分选, 然后再分别进行蛋白表达分析和一代测序, 或直接行体外克隆分析。二代测序 (Next generation sequence, NGS) 可以针对某一位点进行上百次的检测, 极容易发现嵌合体。病例 2 和 3 的 NGS 结果显示 P460S 位点是纯合的, 也没有发现杂合的其他位点, 因此可除外体细胞嵌合的可能性。

病例 3 病初白细胞及淋巴细胞明显升高, 高热 1 周后出现白细胞明显下降、中性粒细胞减少及贫血, 并伴有肝脾 (脾大为著)、淋巴肿大, 噬血现象和 EBER 阳性, 以及可溶性 CD25 明显升高、NK 细胞活性降低, 按照 HLH 化疗后病情稳定。经查阅 PubMed 数据库, 仅有 Pasic 等^[15]报道的 1 例 WAS 患者合并 EBV 相关 HLH。提示 HLH 为 WAS 的少见事件, HLH 与 WAS 的关系需进一步研究。WAS 患者的脾脏及淋巴结病理特征为 T 细胞区小淋巴细胞耗竭, 代之以不典型浆细胞或浆细胞化或髓外细胞生成。原发性家族性 HLH 病理特征为活化的 T 淋巴细胞和组织细胞在网状内皮系统非肿瘤样聚集。病例 3 淋巴结活检示 T 细

胞区增殖,与HLH病理特征相符;但骨髓流式细胞分析提示异常成熟多克隆B细胞,与外周血细胞免疫表型相符。骨髓及外周血免疫表型以B细胞为主,淋巴结病理为T细胞区增殖,此种矛盾现象尚无法解释。

综上所述,WAS患者可于婴儿早期出现明显淋巴细胞减少及TREC值降低。WAS基因P460S突变的患儿可无血小板减少,但可能伴有严重感染或淋巴细胞减少或噬血细胞综合征。

[参 考 文 献]

- [1] Massaad MJ, Ramesh N, Geha RS. Wiskott-Aldrich syndrome: a comprehensive review[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2013, 1285: 26-43.
- [2] Zhang ZY, Xiao HQ, Jiang LP, et al. Analysis of clinical and molecular characteristics of Wiskott-Aldrich syndrome in 24 families from 23 unrelated Chinese families[J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2010, 21(3): 522-532.
- [3] Albert MH, Bittner TC, Nonoyama S, et al. X-linked thrombocytopenia(XLT) due to WAS mutations: clinical characteristics, long-term outcome, and treatment options[J]. *Blood*, 2010, 115(16): 3231-3238.
- [4] Catucci M, Castiello MC, Pala F, et al. Autoimmunity in Wiskott-Aldrich syndrome: an unsolved enigma[J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 209.
- [5] Albert MH, Notarangelo LD, Ochs HD. Clinical spectrum, pathophysiology and treatment of the Wiskott-Aldrich syndrome[J]. *Curr Opin Hematol*, 2011, 18(1): 42-48.
- [6] Ochs HD, Filipovich AH, Veys P, et al. Wiskott-Aldrich syndrome: diagnosis, clinical and laboratory manifestations, and treatment[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2009, 15(1 Suppl): 84-90.
- [7] Buchbinder D, Nugent DJ, Filipovich AH. Wiskott-Aldrich syndrome: diagnosis, current management, and emerging treatments[J]. *Appl Clin Genet*, 2014, 7: 55-66.
- [8] Borte S, Fasth A, Von Döbeln U, et al. Newborn screening for severe T and B cell lymphopenia identifies a fraction of patients with Wiskott-Aldrich syndrome[J]. *Clin Immunol*, 2014, 155(1): 74-78.
- [9] Kwan A, Church JA, Cowan MJ, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia in California: results of the first 2 years[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 132(1): 140-150.
- [10] Gulácsy V, Freiburger T, Shcherbina A, et al. Genetic characteristics of eighty-seven patients with the Wiskott-Aldrich syndrome[J]. *Mol Immunol*, 2011, 48(5): 788-792.
- [11] Lutskiy MI, Rosen FS, Remold-O'Donnell E. Genotype-proteotype linkage in the Wiskott-Aldrich syndrome[J]. *J Immunol*, 2005, 175(2): 1329-1336.
- [12] Lee WI, Huang JL, Jaing TH, et al. Clinical aspects and genetic analysis of Taiwanese patients with Wiskott-Aldrich syndrome protein mutation: the first identification of X-linked thrombocytopenia in the Chinese with novel mutations[J]. *J Clin Immunol*, 2010, 30(4): 593-601.
- [13] Notarangelo LD, Mazza C, Giliani S, et al. Missense mutations of the WASP gene cause intermittent X-linked thrombocytopenia[J]. *Blood*, 2002, 99(6): 2268-2269.
- [14] Wada T, Candotti F. Somatic mosaicism in primary immune deficiencies[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2008, 8(6): 510-514.
- [15] Pasic S, Micic D, Kuzmanovic M. Epstein-Barr virus-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis in Wiskott-Aldrich syndrome[J]. *Acta Paediatr*, 2003, 92(7): 859-861.

(本文编辑: 俞燕)