

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2018.11.009

论著·临床研究

5例 Kallmann 综合征患者的临床及遗传学分析

陈娇^{1,2} 袁珂¹ 何敏菲¹ 王春林¹ 陈春¹ 方燕兰¹ 朱建芳¹ 梁黎¹

(1. 浙江大学医学院附属第一医院儿科, 浙江 杭州 310003; 2. 临安区人民医院儿科, 浙江 杭州 311300)

[摘要] Kallmann 综合征(KS)是一类罕见的儿科疾病,主要表现为嗅觉功能缺陷和低促性腺激素性腺功能减退。本文报道的5例KS患者就诊年龄为6月龄至19岁,男4例、女1例,均表现为低促性腺激素性腺功能减退,其中3例伴嗅觉功能缺陷(2例MRI发现嗅球发育不良),1例伴唇腭裂,1例婴儿期表现为小阴茎、隐睾、右肾缺如。5例患者染色体核型均正常,其父母临床表型均正常,1例的伯父自幼有第二性征发育不全伴嗅觉障碍。高通量测序发现2例存在已报道的FGFR1基因杂合错义突变,分别是c.1097C>T(p.P366L)、c.809G>C(p.G270A);1例存在KAL1基因的新发移码突变:c.1877_1887/p.S627Tfs*6,该缺失突变碱基序列移码并产生截短蛋白,蛋白结构明显改变,具有高度致病性。KS临床和遗传异质性大,可伴不完全显性遗传,基因检测有助于诊断。

[中国当代儿科杂志, 2018, 20(11): 925-929]

[关键词] Kallmann 综合征; 基因; 低促性腺激素性腺功能减退; 儿童

Clinical and genetic features of Kallmann syndrome: an analysis of 5 cases

CHEN Jiao, YUAN Ke, HE Min-Fei, WANG Chun-Lin, CHEN Chun, FANG Yan-Lan, ZHU Jian-Fang, LIANG Li. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China (Wang C-L, Email: hzwangcl@zju.edu.cn)

Abstract: Kallmann syndrome (KS) is a rare pediatric disease with major manifestations of olfactory dysfunction and hypogonadotropic hypogonadism. Five children (4 boys and 1 girl) with KS reported in this article were aged between 6 months and 19 years at the time when they attended the hospital. All the children had the clinical manifestation of hypogonadotropic hypogonadism; in addition, three children had olfactory dysfunction (two were found to have olfactory bulb dysplasia on magnetic resonance imaging), one had cleft lip and palate, and one had micropenis and cryptorchidism with right renal agenesis during infancy. All the five children had normal karyotype and their parents had normal clinical phenotypes. The uncle of one child had underdeveloped secondary sexual characteristics and olfactory disorder since childhood. High-throughput sequencing found two known heterozygous missense mutations in the FGFR1 gene, i.e., c.1097C>T(p.P366L) and c.809G>C(p.G270A), in two children. One child had a novel frameshift mutation, c.1877_1887/p.S627Tfs*6, in the KAL1 gene; this deletion mutation caused a frameshift in base sequence and produced truncated proteins, which led to a significant change in protein structure, and thus it was highly pathogenic. It is concluded that KS has great clinical and genetic heterogeneity and can be accompanied by incomplete dominant inheritance and that gene detection helps with the diagnosis of this disease.

[Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(11): 925-929]

Key words: Kallmann syndrome; Gene; Hypogonadotropic hypogonadism; Child

Kallmann 综合征(Kallmann syndrome, KS)是一种伴有嗅觉缺失或减退的低促性腺激素性腺功能减退综合征,具有很强的临床及遗传异质性^[1]。KS发病率男性为1:8000,女性1:40000,呈家族

性或散发性。KS的遗传方式多样,包括常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传、X染色体连锁遗传,也可能呈多基因遗传^[2]。具有典型的青春期性发育延迟或不发育、嗅觉减退和阳性家族史者临床容

[收稿日期] 2018-05-28; [接受日期] 2018-09-21

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(11571309)。

[作者简介] 陈娇,女,硕士研究生,主治医师。

[通信作者] 王春林,男,主任医师。

易诊断,但临床表现不典型者以及婴幼儿患者容易漏诊。随着基因测序的发展,越来越多的患者得以早期确诊。本研究回顾性分析5例诊断为KS患者的临床资料,总结其临床及基因突变特点,并对KS相关文献进行复习,有助于提高儿科医生对KS的认识。

1 资料与方法

1.1 研究对象

以2015年7月至2017年7月浙江大学医学院附属第一医院儿科诊断的5例KS患者为研究对象,就诊年龄为6个月至19岁,男4例、女1例。诊断参照KS主要的诊断标准^[3]:(1)有性腺功能减退症的临床表现;(2)促黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、睾酮(T)水平均低下;(3)甲状腺轴功能、肾上腺轴功能、生长激素轴功能及泌乳素正常;(4)鞍区MRI未见下丘脑及垂体器质性异常;(5)伴或不伴嗅球/嗅束发育异常;(6)骨龄落后;(7)GnRH兴奋试验表现为反应延迟;(8)染色体核型正常。

收集患儿的临床资料,包括一般资料以及激素测定、影像学检查结果。

1.2 性腺与生殖异常相关基因的高通量测序

提取外周血DNA行性腺与生殖异常相关基因检测(北京智因东方转化医学研究中心),包括KAL1、FGFR1、PROKR2、PROK2、CHD7、FGF8等KS常见的致病基因。基因检测获得患儿或监护人的知情同意。

1.3 生物信息学分析

应用Swiss-Model在线软件(<https://swissmodel.expasy.org/interactive>)对突变基因编码的蛋白进行结构预测。

2 结果

2.1 临床特点

除6月龄患儿(病例4)外,余均表现为低促性腺激素性腺功能减退,其中3例患儿伴嗅觉功能缺陷、2例MRI发现嗅球发育不良(图1、图2);1例伴唇腭裂;例4婴儿期表现为小阴茎、隐睾、

右肾缺如。5例患者的染色体核型均正常,其父母均无症状,病例5的伯父自幼有第二性征发育不全伴嗅觉障碍。5例患者垂体激素:甲状腺功能、皮质醇、泌乳素均正常,LH和FSH基础值低。5例患者均行GnRH试验,其中4例男性的LH峰值均 <3.3 U/L,提示低促性腺激素性腺功能减退;女性患者LH峰值5.1 IU/L、出现在给药后120 min,提示性腺功能反应延迟。病例1、3、5的hCG激发试验提示睾丸功能正常。见表1。

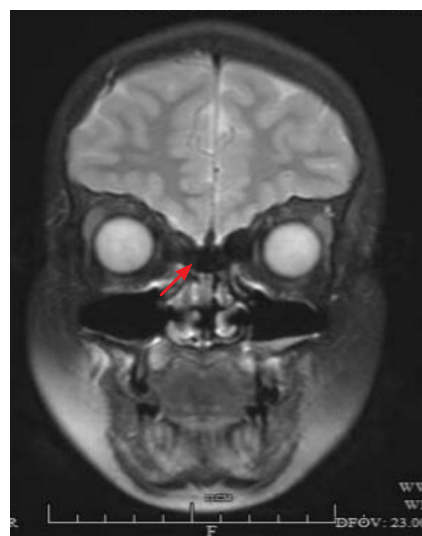


图1 病例1冠状位MRI(T2加权相) 嗅沟显示变窄(箭头所示),嗅束未显示。



图2 病例3冠状位MRI(T2加权相) 嗅沟明显变窄,嗅束未显示(箭头所示)。

表 1 5 例 KS 患者的临床特点及实验室检查结果

例号	年龄 (岁)	性别	嗅觉	阴茎 长度 (cm)	隐睾	左睾丸 (mL)	右睾丸 (mL)	阴毛	基值础		GnRH 试验		HCG 试验		其他畸形
									LH (U/L)	FSH (U/L)	LH 峰值 (U/L)	FSH 峰值 (U/L)	给药前 (ng/dL)	给药后 (ng/dL)	
1	13.8	男	异常	2	双侧	2	2	I 期	<0.07	0.8	2.49	6.3	25.2	75.4	无
2	14.3	女	异常	-	-	-	-	I 期	0.78	1.79	5.1	9.2	-	-	无
3	12.1	男	异常	1	无	1	1	I 期	0.78	0.97	1.5	5.9	0.97	18.9	唇腭裂
4	0.5	男	未查	1	双侧	1	1	I 期	-	-	0.58	3.7	-	-	右肾缺如
5	19	男	异常	2	无	4	4	I 期	0.4	1.1	1.32	1.74	1.1	37.7	无

2.2 基因测序结果

高通量测序发现病例 3、4、5 存在基因突变。病例 3 发现 FGFR1 基因 c.1097C>T/p.P366L (杂合), 其父亲携带相同的杂合突变, 母亲为野生型; 病例 5 发现 FGFR1 基因 c.809G>C/p.G270A (杂合), 其父亲携带相同的杂合突变, 其母亲为野

生型。这两个突变均为已报道的致病性突变^[4-5]。病例 4 发现 X 染色体上 KAL1 基因缺失突变: c.1877_1887del/p.S627Tfs*6, 来自于其母亲(杂合), 其父亲为野生型, 见图 3。经检索该突变未见报道, 为新发突变。

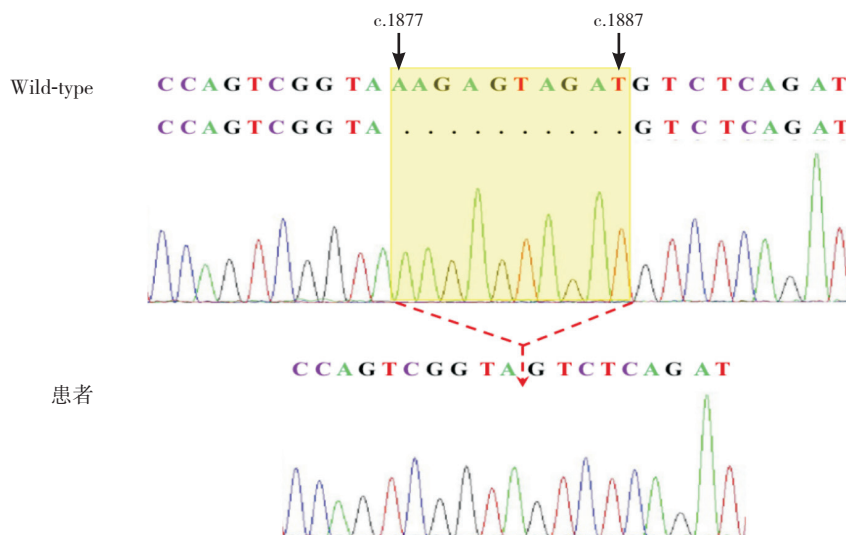


图 3 病例 4 的基因测序结果 患者 KAL1 基因存在 c.1877_1887del 突变, 导致 KAL1 基因在 1877 至 1887 碱基处产生 10 bp 的缺失并发生移码。

2.3 蛋白结构分析

应用 Swiss-Model (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) 对 KAL1 基因突变 c.1877_1887del 编码蛋白进行结构预测。KAL1 c.1877_1887del 突变导致第 627 位丝氨酸变为色氨酸, 移码后在 633 位氨基酸提前终止。野生型与突变后的蛋白结构见图 4。

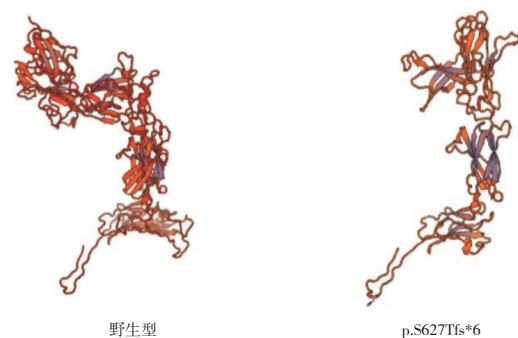


图 4 KAL1 基因 c.1877_1887del 突变前后的蛋白结构预测 突变导致蛋白在 633 位氨基酸提前终止, 纤连蛋白 III 型结构域 -4 缺失。

3 讨论

KS的临床特征主要包括低促性腺激素性腺功能减退和嗅觉功能缺陷,发病机制不完全清楚,可能与起源于嗅基板的GnRH神经元定位于下丘脑,不能正常迁徙有关,表现出青春期发育延迟^[6]。

经中国知网、万方数据库、维普数据库、PubMed数据库检索,检索到KS相关文献106篇,共报道KS 953例(其中女性46例,4.8%),27篇文献报道的382例进行了基因检测,占有KS患者的40.0%,基因突变阳性率约22.7%,前三位基因分别是KAL1(约43.7%)、FGFR1(约26.4%)、PROKR2(约19.5%);其中因第二性征发育不良就诊的占95%以上,嗅觉减退的占85%,合并其他畸形的占15%;在其他畸形中,隐睾约24%、智力异常约14.5%、唇腭裂约10%、色盲或色弱约10%、肾发育畸形约7.5%、听力异常约6%。在非生殖系统症状、非嗅觉症状的表型中,KAL1突变患者的单侧肾发育不良发生率约30%,FGFR1突变所致患者的唇腭裂发生率约30%^[7]。本研究报道的5例患儿中3例检出基因异常,分别是KAL1基因和FGFR1基因突变,与文献一致。

KAL1基因,又称ANOS1基因,编码的anosmin-1蛋白作为细胞粘附蛋白在大脑、脊髓和肾脏表达,并且对神经细胞的迁移起重要作用。KAL1基因突变与X连锁KS表型相关,其表型似乎比其他分子缺陷所致更为严重,可致嗅觉和GnRH神经元迁移异常,表现为泌尿生殖系统异常(30%~40%为肾发育不良)和联带运动(80%~85%),但不导致其他发育缺陷如中线异常、腭裂^[8-12]。5%~10%的KS患者与KAL1基因突变有关,家族性发生率较高^[13]。anosmin-1蛋白的第186~287位氨基酸、292~440位氨基酸、425~523位氨基酸以及550~658位氨基酸构成纤连蛋白III型1~4结构域,这些氨基酸构成 β 折叠,在进化上高度保守。本研究的1例6月龄患儿,表现为小阴茎、隐睾伴右肾缺如,基因检测证实患儿存在新发KAL1基因c.1877_1887del突变,与文献报道的30%~40%的KAL1基因突变患者发生肾发育不良相符,该突变使KAL1基因在1877~1887碱基产生10 bp缺失并发生移码,导致蛋白截短,纤连蛋白III型功能结构域缺失;蛋白三维结构分析亦

显示突变体的结构明显改变,因此该突变可能具有高度致病性,肾发育不良与KAL1基因突变可能相关。

FGFR1基因参与神经元迁移、胚胎发生过程中的分化和增殖以及嗅球的正常发育,其突变引起的KS是常染色体显性遗传。FGFR1突变所致的KS占10%,可致唇裂/腭裂、高腭弓、骨骼异常、眼征、听力损伤^[14-15]。本研究例3的FGFR1基因p.P366L突变来自于其父亲。Trarbach等^[4]曾报道FGFR1基因p.P366L突变病例,患者表现为嗅觉缺失伴肥胖、睡眠障碍,其两个姑姑均有性腺功能减退、嗅觉缺失。例5的FGFR1基因p.G270D突变同样来自于其父亲。Dodé等^[5]在1例女性患者检测到FGFR1基因c.809G>A(p.G270D),表现为性发育不良伴嗅觉异常,但其父亲无性发育不良或嗅觉异常、腭裂等临床表现,这可能与FGFR1基因不完全外显有关。病例5的伯父自幼有第二性征发育不全伴嗅觉障碍,推测可能存在相同突变(因拒绝基因检测而未证实)。家族性FGFR1基因突变,呈现“不完全外显性”的较多。Pitteloud等^[16]在一家系成员中检测到FGFR1基因R622X突变,患者表现为可逆的性腺功能减退,其母仅有青春期发育延迟,其外祖父仅表现为嗅觉丧失。同一家系的患者出现不同的外显性,推测与发育期FGFR1在GnRH神经元的迁徙中表达广泛有关^[17]。

KS早期诊断非常困难。男婴的“小青春期”是早期诊断的最佳“窗口”时机^[18]。如病例4因发现小阴茎、小睾丸行激素水平检测而得以早期确诊。女孩则缺乏早期诊断线索,诊断KS更为困难,如病例2直到青春期发育延迟方就诊。嗅觉异常是发现儿童KS的一个重要线索,但往往不能第一时间被发现或被归因于“鼻炎”。嗅觉识别试验与MRI表现具有一致性,特别是对于嗅球未发育及嗅觉缺失的一致性很高^[19]。MRI可以清晰显示KS患者嗅球、嗅束、嗅沟的未发育或发育不良,有助于KS诊断和排除其他引起性腺功能减退或嗅觉功能障碍的疾病,尤其当伴有垂体前叶小、垂体柄纤细时^[20]。儿童KS还可表现出中线颅骨异常(唇裂、腭裂和不完全融合)、牙缺失(牙齿发育不全)、视力问题(色盲或视神经萎缩)、听力异常、联带运动、肾发育异常等;骨骼肌肉

畸形、眼球运动异常、心脏缺损也被报道是KS的一些少见症状相关^[21]。因此,对于存在小阴茎、隐睾等表现的青春前期患儿,应仔细查体,积极完善听力检查、肾脏B超等,为早期诊断提供机会。

KS发病机制不明,临床和遗传的异质性大,临床医生需提高对此病的认识,结合基因检测,做到早期诊断。

[参 考 文 献]

- [1] Kim SH. Congenital hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome: Past, present, and future[J]. *Endocrinol Metab* (Seoul), 2015, 30(4): 456-466.
- [2] Boehm U, Bouloux PM, Dattani MT, et al. Expert consensus document: European consensus statement on congenital hypogonadotropic hypogonadism-pathogenesis, diagnosis and treatment[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11(9): 547-564.
- [3] Pitteloud N, Meysing A, Quinton R, et al. Mutations in fibroblast growth factor receptor 1 cause Kallmann syndrome with a wide spectrum of reproductive phenotypes[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2006, 254-255: 60-69.
- [4] Trarbach EB, Costa EM, Versiani B, et al. Novel fibroblast growth factor receptor 1 mutations in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism with and without anosmia[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(10): 4006-4012.
- [5] Dodé C, Fouveaut C, Mortier G, et al. Novel FGFR1 sequence variants in Kallmann syndrome, and genetic evidence that the FGFR1c isoform is required in olfactory bulb and palate morphogenesis[J]. *Hum Mutat*, 2007, 28(1): 97-98.
- [6] Teixeira L, Guimiot F, Dodé C, et al. Defective migration of neuroendocrine GnRH cells in human arrhinencephalic conditions[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(10): 3668-3672.
- [7] Dodé C, Hardelin JP. Kallmann syndrome[J]. *Eur J Hum Genet*, 2009, 17(2): 139-146.
- [8] de Castro F, Esteban PF, Bribián A, et al. The adhesion molecule anosmin-1 in neurology: Kallmann syndrome and beyond[J]. *Adv Neurobiol*, 2014, 8: 273-292.
- [9] Franco B, Guioli S, Pragliola A, et al. A gene deleted in Kallmann's syndrome shares homology with neural cell adhesion and axonal path-finding molecules[J]. *Nature*, 1991, 353 (6344): 529-536.
- [10] Costa-Barbosa FA, Balasubramanian R, Keefe KW, et al. Prioritizing genetic testing in patients with Kallmann syndrome using clinical phenotypes[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(5): E943-E953.
- [11] Quinton R, Duke VM, Robertson A, et al. Idiopathic gonadotrophin deficiency: genetic questions addressed through phenotypic characterization[J]. *Clin Endocrinol(Oxf)*, 2001, 55(2): 163-174.
- [12] Salenave S, Chanson P, Bry H, et al. Kallmann's syndrome: a comparison of the reproductive phenotypes in men carrying KAL1 and FGFR1/KAL2 mutations[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(3): 758-763.
- [13] Nie M, Xu H, Chen R, et al. Analysis of genetic and clinical characteristics of a Chinese Kallmann syndrome cohort with ANOS1 mutations[J]. *Eur J Endocrinol*, 2017, 177(4): 389-398.
- [14] Hu Y, Bouloux PM. Novel insights in FGFR1 regulation: lessons from Kallmann syndrome[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2010, 21(6): 385-393.
- [15] Miraoui H, Dwyer AA, Sykiotis GP, et al. Mutations in FGF17, IL17RD, DUSP6, SPRY4, and FLRT3 are identified in individuals with congenital hypogonadotropic hypogonadism[J]. *Am J Hum Genet*, 2013, 92(5): 725-743.
- [16] Pitteloud N, Acierno JS Jr, Meysing AU, et al. Reversible Kallmann syndrome, delayed puberty, and isolated anosmia occurring in a single family with a mutation in the fibroblast growth factor receptor 1 gene[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(3): 1317-1322.
- [17] Pitteloud N, Meysing A, Quinton R, et al. Mutations in fibroblast growth factor receptor 1 cause Kallmann syndrome with a wide spectrum of reproductive phenotypes[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2006, 254-255: 60-69.
- [18] 王伟. Kallmann 综合征研究进展及儿科早期诊断[J]. *临床儿科杂志*, 2008, 26(12): 1010-1012.
- [19] Koenigkam-Santos M, Santos AC, Versiani BR, et al. Quantitative magnetic resonance imaging evaluation of the olfactory system in Kallmann syndrome: correlation with a clinical smell test[J]. *Neuroendocrinology*, 2011, 94(3): 209-217.
- [20] Zhang ZL, Sun X, Wang C, et al. Magnetic resonance imaging findings in Kallmann syndrome: 14 cases and review of the literature[J]. *J Comput Assist Tomogr*, 2016, 40(1): 39-42.
- [21] Kaplan JD, Bernstein JA, Kwan A, et al. Clues to an early diagnosis of Kallmann syndrome[J]. *Am J Med Genet A*, 2010, 152A(11): 2796-2801.

(本文编辑: 俞燕)