

论著·临床研究

1例肾单位肾癆 12型的临床特点及 TTC21B基因型研究

简珊 魏骐骄 刘雨桐 王薇 周煜 全美盈 何艳燕 宋红梅 魏珉

(中国医学科学院北京协和医院儿科, 北京 100730)

[摘要] 肾单位肾癆(NPHP)是一组常染色隐性遗传, 主要累及肾小管间质的囊性肾病。该文报道1例TTC21B基因突变所致的NPHP 12型。患儿女, 起病隐匿, 3岁6个月首次就诊时即存在中量蛋白尿、肾功能损害、高血压2期, 并伴有内脏反位、短指/趾, 4岁前进展到终末期肾病。尿蛋白电泳以肾小球性蛋白尿为主。尿 β_2 -微球蛋白、尿 α_1 -微球蛋白等肾小管指标均明显增高。基因检测显示TTC21B基因存在c.1552T>C(p.C518R)、c.752T>G(p.M251R)复合杂合突变, 前者来自父亲, 后者来自母亲。c.752T>G为新发突变。TTC21B基因突变患儿的肾脏病理除了NPHP典型的肾小管改变外, 多同时存在显著的肾小球损害。

[中国当代儿科杂志, 2019, 21(6): 580-584]

[关键词] 肾单位肾癆 12型; TTC21B基因; 终末期肾病; 儿童

Clinical features and TTC21B genotype of a child with nephronophthisis type 12

JIAN Shan, WEI Qi-Jiao, LIU Yu-Tong, WANG Wei, ZHOU Yu, QUAN Mei-Ying, HE Yan-Yan, SONG Hong-Mei, WEI Min. Department of Pediatrics, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China (Wei M, Email: pumch_wm@126.com)

Abstract: Nephronophthisis (NPHP) is a group of autosomal recessive tubulointerstitial cystic kidney disorders. This article reports a case of NPHP type 12 caused by TTC21B mutations. The girl had an insidious onset, with moderate proteinuria, renal dysfunction, stage 2 hypertension, situs inversus, and short phalanges when she visited the hospital for the first time at the age of 3 years and 6 months. The renal lesions progressed to end-stage renal disease (ESRD) before she was 4 years old. Urine protein electrophoresis showed glomerular proteinuria. There were significant increases in urinary β_2 -microglobulin and α_1 -microglobulin. Gene detection revealed two compound heterozygous mutations, c.1552T>C (p.C518R) and c.752T>G (p.M251R), in the TTC21B gene, which came from her father and mother respectively. The c.752T>G mutation was a novel mutation. It is concluded that besides typical tubular changes of NPHP, marked glomerular damage is also observed in patients with TTC21B gene mutations.

[Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(6): 580-584]

Key words: Nephronophthisis type 12; TTC21B gene; End-stage renal disease; Child

肾单位肾癆(nephronophthisis, NPHP)是以肾囊肿形成为主要病变的慢性肾小管间质疾病, 为常染色体隐性遗传, 是导致儿童和青少年终末期肾病(ESRD)最常见的遗传性疾病之一。目前国际上已明确的NPHP致病基因有20多种, 按照发现的先后顺序分别命名为NPHP 1~NPHP 20型, 其中NPHP 1型较为常见, 约见于20%的病例^[1]。

2008年国内首次报道1例NPHP 1基因突变所致的家族性少年型NPHP患儿^[2], 其后陆续报道了其他基因突变所致的NPHP病例^[3]。NPHP 12型是由TTC21B基因突变所致, 较为罕见。目前全球已报道TTC21B基因致病性突变病例40余例, 而国内尚未见报道。现报道北京协和医院儿科通过基因确诊的1例NPHP 12型患儿, 总结其临床表现、

[收稿日期] 2019-02-01; [接受日期] 2019-04-08

[作者简介] 简珊, 女, 硕士, 主治医师。

[通信作者] 魏珉, 女, 主任医师, 教授。Email: pumch_wm@126.com。

实验室检查及分子遗传学特征，以增进对本病的认识。

1 资料与方法

1.1 研究对象

患儿女，3岁11个月，因发现血压高、蛋白尿4月余入院。患儿3岁6个月时因双下肢浮肿1周，加重伴夜间不能平卧2d收入当地医院，发现血压明显增高，波动在160/100/120/60 mm Hg，无抽搐、血尿等。外院查尿常规示尿蛋白(+~+++);血肌酐(Cr)161 μmol/L，尿素氮(BUN)17.6 mmol/L;心脏彩超示镜面右位心，左心室收缩功能减低，左心室射血分数(EF)26%。诊断为“高血压、高血压性心脏病、心力衰竭、肾功能不全、右位心”，予限液、地高辛强心、双氢克尿噻及螺内酯利尿、硝苯地平降压、美托洛尔控制心率及保肝等对症治疗。浮肿消退，血压有所下降，心功能好转(EF 31%)。为进一步诊治，完善基因检测后转至我院。

患儿系第1胎第1产，足月顺产，出生体重3000 g，无窒息抢救史，胎盘及羊水无特殊。家长自觉患儿自幼身高、体重均稍低于同龄儿，未重视，未诊治。智力、运动发育同同龄儿。既往史无特殊。父母非近亲结婚，均体健，父亲身高165 cm，母亲身高155 cm。有一2岁妹妹，体健。否认家族遗传病史及传染病接触史。

入院查体：血压105/63 mm Hg，体重12.9 kg (<P₃)，身高102.4 cm (P₂₅~P₅₀)。面容无特殊，轻度贫血貌。右位心，心率106次/分，心音有力，律齐，胸骨右缘可闻及2/6级收缩期吹风样杂音，余各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音。肺腹检查未见异常。肾区无叩痛。双手手指短小，双足第三趾短。双眼睑及四肢无浮肿。神经系统检查无异常。

辅助检查：血常规：HB 91 g/L (参考值：110~160 g/L)。肾功能：BUN 27.03 mmol/L (参考值：2.78~7.14 mmol/L)，Cr 462 μmol/L (参考值：18~69 μmol/L)，胱抑素C (Cys C) 6.96 mg/L (参考值：0.59~1.03 mg/L)。肾小球滤过率估算值(eGFR) 8.1 mL/(min·1.73 m²) [参考值：≥90 mL/(min·1.73 m²)]。血气分析BE -8.00 mmol/L (参考值：-4~2 mmol/L)，余正常。尿常规：蛋

白0.3 g/L (参考值：阴性)，余正常。24 h尿蛋白定量0.556 g (参考值：<0.2 g)，即43 mg/(kg·d);尿蛋白电泳：肾小管性蛋白16.5%，肾小球性蛋白83.5%。尿β₂-微球蛋白52.000 mg/L (参考值：0~0.227 mg/L)，尿α₁微球蛋白190.00 mg/L (参考值：0~12.00 mg/L)，尿氨基酸、尿钙肌酐比值均正常。β-胶原降解产物>6.00 ng/mL (参考值：0.21~0.44 ng/mL)，甲状旁腺素843.7 pg/mL (参考值：10.0~69.0 pg/mL)。血25羟维生素D、凝血功能、肝功能、心肌酶、电解质均正常。心脏彩超提示镜像右位心、心肌病变、左心增大、二尖瓣瓣尖增厚、重度二尖瓣关闭不全、左室后壁增厚、左室收缩功能重度减低(EF 33%)。腹部B超示全内脏转位，双肾实质回声弥漫性增强，皮髓分界欠清，右肾6.5×3.6×2.2 cm，左肾6.2×3.9×2.3 cm，右肾大小正常，左肾偏小。

1.2 遗传病相关基因二代测序检测

抽取患儿、父母及妹妹外周血各2 mL，EDTA抗凝，提取基因组DNA，在MiSeq测序仪(Illumina Inc, USA)对4811种遗传病相关基因的外显子区进行测序。对各个基因的功能、变异情况以及遗传模式进行分析，对可疑候选突变位点进行Sanger测序验证。根据美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)遗传变异分类标准与指南判断基因变异的致病性^[4]。以上由广州金域医学检验中心提供技术支持。

本研究经中国医学科学院北京协和医院伦理委员会批准(批准文号：2019[S-K647])，并患儿父母签署书面知情同意书。

2 结果

2.1 遗传学分析结果

4811种遗传病相关基因高通量测序和Sanger验证发现：患儿TTC21B基因存在c.1552T>C(p.C518R)、c.752T>G(p.M251R)复合杂合突变，均为错义突变；其父携带c.1552T>C(p.C518R)突变，其母和妹妹携带c.752T>G(p.M251R)突变(图1~2)。c.1552T>C(p.C518R)为已知致病性突变^[5]；c.752T>G(p.M251R)既往未见报道，为新发突变。根据ACMG指南判断均为可能致病性突变。

2.2 诊治与结局

患儿为学龄前女童,存在中量蛋白尿,血肌酐、尿素氮增高, $eGFR < 15 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$,存在肾衰竭;存在贫血、高血压、左肾稍小等,考虑为慢性肾衰竭;起病隐匿,4岁前进入ESRD期,肾小管和肾小球均受损,并有内脏反位、短指/趾等先天性异常,考虑遗传性肾脏病可能性大。确诊依赖于基因检测。患儿最终诊断为TTC21B基因突变所致NPHP 12型、ESRD、代谢性酸中毒、轻度贫血、慢性肾脏病矿物质和骨代谢异常、高血压2期、高血压性心脏病、心力衰竭、内脏反位。

入院后监测尿量在300~500 mL/d,予降压、纠酸、利尿、保肝、补钙、补铁及促红细胞生成素等对症支持治疗,患儿血压基本控制,心功能好转。建议进行肾替代治疗,家长拒绝,出院。

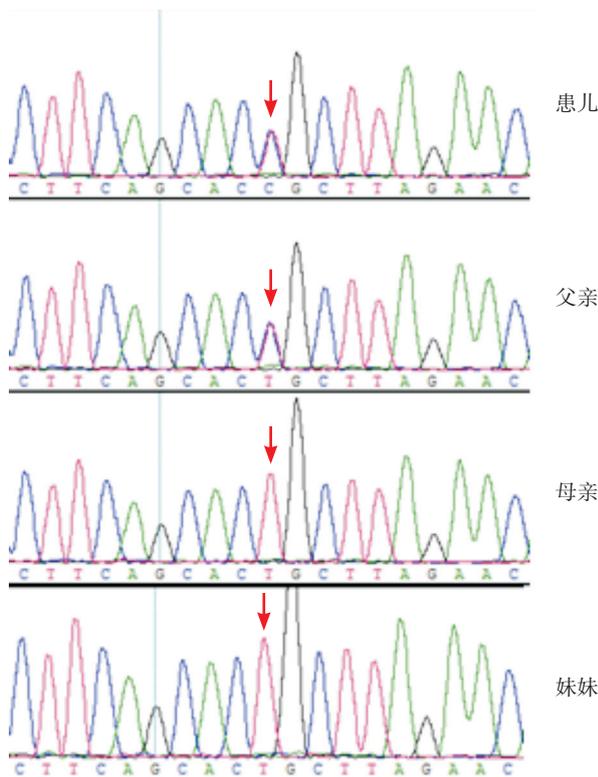


图1 TTC21B基因突变c.1552T>C的Sanger测序验证结果 患儿和其父亲的TTC21B基因存在c.1552T>C错义突变,其母亲和妹妹该位点正常。突变位点如箭头所示。

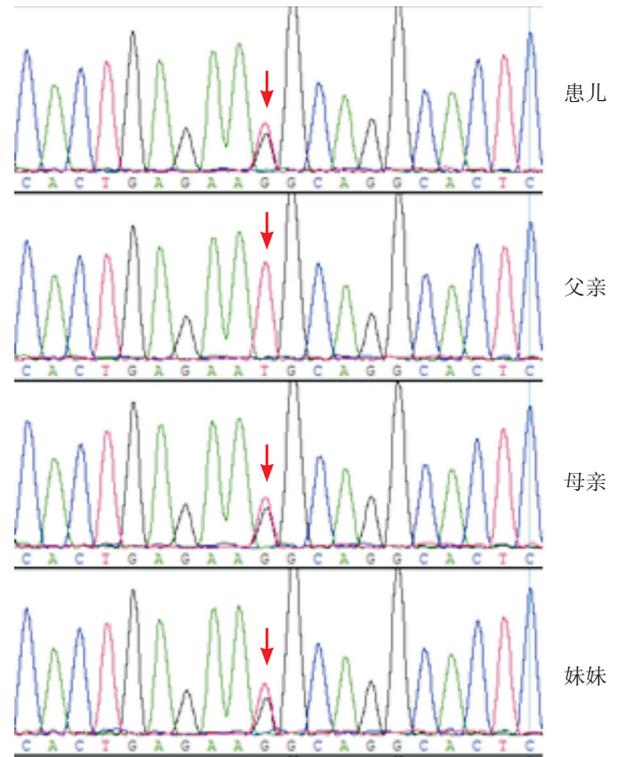


图2 TTC21B基因突变c.752T>G的Sanger测序验证结果 患儿和母亲、妹妹的TTC21B基因存在c.752T>G错义突变,其父亲该位点正常。突变位点如箭头所示。

3 讨论

NPHP是导致儿童和青少年ESRD最常见的遗传性疾病之一。不同地区NPHP发病率差异较大,加拿大NPHP的发病率约为1/50000^[6],美国约1/1000000^[7],我国尚无发病率的报道。NPHP往往起病隐匿,常见临床表现有多尿、烦渴、隐匿性慢性肾功能不全和生长发育迟缓等。根据患儿进入ESRD的年龄,NPHP可分为婴幼儿型、少年型和青年型,进展至ESRD的平均年龄分别为1岁、13岁和19岁,以少年型NPHP最常见^[3]。

TTC21B基因是NPHP 12型致病基因,定位于染色体2q24.3,有29个外显子,编码细胞纤毛内转运蛋白(IFT)139^[8]。在初级纤毛内,IFT-A和IFT-B两种复合物构成IFT复合体,负责纤毛内

沿轴丝微管进行的双向物质运输。IFT139 是 IFT-A 复合物的重要组成蛋白之一,参与调节纤毛内逆向运输部分。

截至 2018 年 11 月,中国知网、万方数据库、维普数据库、PubMed 和 EBSCO 中英文数据库已报道的 TTC21B 基因致病性突变病例共 47 例(33 个家系)^[5,8-16],有确切起病年龄的 26 例,中位起病年龄为 15.0 岁(5 个月~30 岁);有确切 ESRD 诊断年龄的 35 例,中位确诊年龄为 13(1~35)岁。因为 NPHP 12 型患者进展到 ESRD 的年龄从 1 岁到 35 岁不等,所以婴幼儿型、少年型和青年型均有涉及。本例患儿 4 岁前已进展到 ESRD,为婴幼儿型 NPHP。

一般认为,NPHP 患者在进入 ESRD 前的血压基本正常;临床上可有蛋白尿,多表现为少量肾小管性蛋白尿;肾脏病理通常以肾小管改变为主,肾小球病变相对轻微^[13]。总结 NPHP 12 型患者的临床特点,发现:(1) NPHP 12 型患者易出现高血压。62%(29/47) NPHP 12 型患者有血压资料,其中 83%(24/29)有高血压,且部分患者高血压出现在 ESRD 之前^[12-13]。(2) 蛋白尿常见,大量蛋白尿不少见。60%(28/47)患者有蛋白尿,其中 23 例有蛋白尿定量资料。57%(13/23)病程中曾有过大量蛋白尿,43%(10/23)为中小量蛋白尿。蛋白尿多以肾小球性尿蛋白为主^[5,13]。(3) 肾脏病理可见肾小球及肾小管均受累。20 例有肾脏病理资料,其中 90%(18/20)同时存在肾小球和肾小管受累,余只有肾小球病理。肾小球病理方面,80%(16/20)诊断为局灶性节段性肾小球硬化(FSGS),3 例为肾小球球性硬化,余 1 例为微小病变;肾小管病理方面,均有肾小管萎缩、肾小管基底膜增厚、肾小管间质炎性细胞浸润和/或肾小管间质纤维化等,偶可见髓质囊肿。分析上述 3 点发生的原因,可能与 TTC21B 基因编码的 IFT139 蛋白在肾脏不仅在远端肾小管上皮细胞上表达,在肾小球足细胞也强表达有关。在未分化的足细胞,IFT139 定位于纤毛的基部;在无纤毛的成熟足细胞,IFT139 蛋白沿着延伸的微管网络分布,有维持足细胞细胞骨架动态稳定的作用^[13]。因此,TTC21B 基因突变不仅可导致肾小管功能异常,还可破坏足细胞细胞骨架的稳定性,从而导致 FSGS,并可合并白蛋白尿和高血压。本例患儿

3 岁 6 个月首诊时即发现蛋白尿、高血压,到我院时患儿已进入 ESRD 期,因此未做肾脏活检,但实验室检查显示尿蛋白电泳以肾小球性尿蛋白为主,尿 β_2 -微球蛋白、尿 α_1 -微球蛋白等肾小管损害的指标均明显增高,说明肾小球及肾小管损害同时存在,符合文献报道的特点。

约 10%~20% 的 NPHP 患者可有肾外脏器受累。如果 NPHP 合并肾外表现时,称为 NPHP 相关综合征。47 例 NPHP 12 型患者的肾外脏器受累情况具体如下:(1) 28%(13/47)肝胆异常,其中肝纤维化 6 例,原发性硬化性胆管炎 3 例,肝功能异常 3 例,成年后发现肝囊肿 1 例;(2) 26%(12/47)骨骼异常,其中短指骨 5 例,多指 2 例,软骨发育不良 2 例,锥形骨骺 1 例,严重脊柱侧凸和双侧髋关节截骨术后各 1 例;(3) 17%(8/47)内脏反位;(4) 2%(1/47)视网膜营养不良;(5) 其他,如耳聋、器质性心脏病、消化道多发畸形、中性粒细胞减少等。本例患儿除了肾脏受累,也存在内脏反位、短指/趾。NPHP 12 型患者的多脏器受累考虑与 IFT139 蛋白在哺乳动物多种组织细胞的初级纤毛中均有表达有关^[5]。IFT139 蛋白可以调控器官的左右对称发育,因此 NPHP 12 型患者可出现内脏反位,且内脏反位的发生具有随机性。

确诊 NPHP 12 型需要基因诊断。截至 2018 年 3 月,人类基因组突变数据库(HGMD)报道的 TTC21B 基因突变有 39 种,包括错义突变、无义突变、剪接突变等。文献检索发现的 47 例患者的基因突变类型以错义突变(72/94, 77%)最常见,其它有无义突变(6/94, 6%),剪接突变(6/94, 6%)和移码突变(10/94, 11%)。47 例患者中 30 例(64%)为 TTC21B 基因纯合突变,17 例(36%)为复合杂合突变。35 例有确切诊断 ESRD 年龄的患者中,11 例在 8 岁前诊断为 ESRD,其中 10 例(91%)是复合杂合突变,余 1 例是纯合突变;24 例在 8 岁及以后诊断 ESRD,其中 3 例(12%)为复合杂合突变,余 21 例(88%)为纯合突变。在 8 岁及以后进展到 ESRD 期的患者以 TTC21B 基因纯合突变为主,究其原因如下:其一,与具体的突变位点相关。在 8 岁及以后诊断 ESRD 的 21 例纯合突变者中有 20 例存在 c.626C>T(p.P209L)纯合突变,余 1 例为 c.2211+3 A>G 纯合突变。p.P209L 基因是北非和葡萄牙人 TTC21B 基因的热点突变

基因, 是低表达等位基因 (hypomorphic gene), 其编码的蛋白能部分表达 IFT139 的功能, 因此, c.626C>T(p.P209L) 纯合突变患者的临床表现相对较轻, 多表现为晚发性蛋白尿和在 15~32 岁进入 ESRD^[13]。其二, 有研究发现^[15], 当肾小球疾病或囊性疾病的致病基因与 TTC21B 基因杂合突变同时存在时, 患者的临床表型可比预期更严重, 说明 TTC21B 基因的杂合突变可能具有基因修饰作用。这可能与为何 TTC21B 基因复合杂合突变患者的临床表型较纯合突变患者的相对严重有关。本例患儿为 TTC21B 基因复合杂合突变, 临床主要表现为早发中量蛋白尿, 4 岁前进展到 ESRD, 临床表现较重, 符合以上规律。

NPHP 12 型目前尚无特异性治疗, 以对症治疗为主, 如肾替代、保肝、补铁等支持治疗。有条件患者应尽早进行肾移植, 移植后患者目前未见 FSGS 复发的报道^[8,13]。同时累及肝、肾的患者可选择肝肾联合移植。

NPHP 是儿童和青少年不明原因肾衰竭最常见原因之一。因其临床表现缺乏特异性, 早期诊断困难。因此, 我们建议儿童和青少年不明原因肾衰竭均应考虑到 NPHP 的可能。对肾脏病理同时存在 NPHP 典型肾小管损害及肾小球硬化表现, 伴或不伴眼、肝、骨骼和 / 或神经系统等肾外器官受累的患儿, 应考虑到 NPHP 12 型可能性, 可通过基因检测明确诊断。

[参 考 文 献]

[1] Hildebrandt F, Attanasio M, Otto E. Nephronophthisis: disease mechanisms of a ciliopathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(1): 23-35.

[2] 管娜, 张宏文, 丁洁, 等. 家族性少年型肾单位肾病的临床和基因诊断[J]. *临床儿科杂志*, 2008, 26(4): 287-290.

[3] 孙良忠, 林宏容, 岳智慧, 等. 少年型肾单位肾病 13 例临床特点和基因突变分析[J]. *中华儿科杂志*, 2016, 54(11): 834-839.

[4] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus

recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. *Genet Med*, 2015, 17(5): 405-424.

[5] Zhang H, Su B, Liu X, et al. Mutations in TTC21B cause different phenotypes in two childhood cases in China[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2018, 23(4): 371-376.

[6] Waldherr R, Lennert T, Weber HP, et al. The nephronophthisis complex. A clinicopathologic study in children[J]. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*, 1982, 394(3): 235-254.

[7] Potter DE, Holliday MA, Piel CF, et al. Treatment of end-stage renal disease in children: a 15-year experience[J]. *Kidney Int*, 1980, 18(1): 103-109.

[8] Bullich G, Vargas I, Trujillano D, et al. Contribution of the TTC21B gene to glomerular and cystic kidney diseases[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2017, 32(1): 151-156.

[9] Schueler M, Halbritter J, Phelps IG, et al. Large-scale targeted sequencing comparison highlights extreme genetic heterogeneity in nephronophthisis-related ciliopathies[J]. *J Med Genet*, 2016, 53(3): 208-214.

[10] Kang HG, Lee HK, Ahn YH, et al. Targeted exome sequencing resolves allelic and the genetic heterogeneity in the genetic diagnosis of nephronophthisis-related ciliopathy[J]. *Exp Mol Med*, 2016, 48: e251.

[11] McInerney-Leo AM, Harris JE, Leo PJ, et al. Whole exome sequencing is an efficient, sensitive and specific method for determining the genetic cause of short-rib thoracic dystrophies[J]. *Clin Genet*, 2015, 88(6): 550-557.

[12] Neuhaus TJ, Stallmach T, Leumann E, et al. Familial progressive tubule-interstitial nephropathy and cholestatic liver disease—a newly recognized entity?[J]. *Eur J Pediatr*, 1997, 156(9): 723-726.

[13] Huynh Cong E, Bizet AA, Boyer O, et al. A homozygous missense mutation in the ciliary gene TTC21B causes familial FSGS[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(11): 2435-2443.

[14] Otto EA, Ramaswami G, Janssen S, et al. Mutation analysis of 18 nephronophthisis associated ciliopathy disease genes using a DNA pooling and next generation sequencing strategy[J]. *J Med Genet*, 2011, 48(2): 105-116.

[15] Davis EE, Zhang Q, Liu Q, et al. TTC21B contributes both causal and modifying alleles across the ciliopathy spectrum[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(3): 189-196.

[16] Halbritter J, Porath JD, Diaz KA, et al. Identification of 99 novel mutations in a worldwide cohort of 1,056 patients with a nephronophthisis-related ciliopathy[J]. *Hum Genet*, 2013, 132(8): 865-884.

(本文编辑: 王颖)