

ATP7B 基因特殊的复合杂合突变致 Wilson 病 1 例报道

史兆博 孙永 耿海威 马丽丽

【摘要】 目的 探讨 1 例 ATP7B 基因特殊的复合杂合突变导致 Wilson 病的临床及影像学特征。**方法** 分析 1 例疑似 Wilson 病患者的临床表现及影像学特点,对其进行基因测序。**结果** 患者 14 岁开始即出现精神异常,17 岁开始出现不自主震颤、写字过小等神经系统症状,血清铜蓝蛋白水平降低,瞳孔笔照射下可见双眼角膜色素环(Kayser-Fleischer ring,K-F 环),肝脏彩超提示肝脏弥漫性损害;具备 Wilson 病的典型影像学表现,即双侧丘脑、中脑、脑桥对称性长 T₁ 长 T₂ 信号,轻度脑萎缩改变;基因检测提示 ATP7B 基因特殊的复合杂合突变,即 c. 1470C>A(p. C490 *),4 号内含子区域剪接突变 c. 1708-1G>C(splice-3),启动子区域 c. -157-u53A>T, c. 1168A>G(p. I390V);家系验证发现先证者父亲及弟弟存在杂合突变 c. 1708-1G>C(splice-3),c. -157-u53A>T(promoter), c. 1168A>G(p. I390V)。根据美国遗传学与基因组学学会(American college of medical genetics and genomics, ACMG)指南,前 3 个变异位点均评级为致病性突变,证据分别为 PVS1 + PM2_支持 + PP4;PVS1 + PM2_支持 + PM3_非常强 + PP4; PS3 + PM2_支持 + PM3_强 + PP4。变异位点 c. 1168A>G 评级为临床意义未明(PM2_支持 + PP4)。**结论** 该复合杂合突变患者具备 Wilson 病典型的临床及影像学特征。

【关键词】 ATP7B 基因 复合杂合突变 Wilson 病 内含子区域 启动子区域

【中图分类号】 R742.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2022)04-0373-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.04.014

肝豆状核变性(Hepatolenticular degeneration, HLD)又称 Wilson 病(Wilson's disease),是一种由 ATP7B 基因突变引起的常染色体隐性遗传的铜代谢障碍疾病,ATP7B 编码一种铜转运 P 型三磷酸腺苷(Adenosinetriphosphate,ATP)酶,该基因的致病变异导致 ATP 酶的功能缺陷或丧失,造成胆道排铜障碍,大量铜蓄积于肝、脑、肾、骨关节、角膜等组织和脏器,患者出现肝脏损害、神经精神表现、肾脏损害、骨关节病及角膜色素环(Kayser-Fleischer ring,K-F 环)等^[1]。人类基因突变数据库专业版(Human gene mutation database professional edition, HGMD pro)收录了 1060 种 ATP7B 基因突变,其中与 Wilson 病相关的 900 余种,复合杂合突变居多,纯合子突变少见。目前国内外报道的复合杂合突变病例中变异位点多在外显子^[2-3],本例患者虽为复合杂合突变,但变异位点涉及外显子、内含子及启动子,为特殊的复合杂合突变,现报道如下。

1 临床资料

1.1 病史

先证者,女,17 岁,因“双眼视物模糊 1 月,右上肢不自主抖动 1 周”入院,入院前 1 月开始常于看书时感字迹不清,双眼不能对焦,休息后可缓解;入院前 1 周开始于写字时或做精细动作时出现右侧前臂及手不自主抖动,书写字迹不清,字体逐渐缩小,停止写字或精细动作症状可缓解;自发病来,精神状态一般,饮食及大小便正常,体重无明显改变。生长发育如常,14 岁开始学习成绩下降,性格改变,经常自暴自弃,与同学关系处理不好,2 年前至精神心理科就诊,诊断为“抑郁症”,开始口服精神类药物(阿立哌唑 + 舍曲林 + 艾司唑仑)。15 岁月经来潮,2 年内共 2 次月经,每次持续 7 d,无痛经,月经量较少。家族中无类似症状患者,其父母无血缘关系,非近亲结婚。

1.2 体格检查

生命体征平稳,内科系统查体无异常;意识清楚,精神一般,语速偏快,记忆力、理解力、判断力、计算力、定向力正常,双侧视野无缺损,双眼无上睑下

基金项目:开封市科技发展计划项目(1703035)

作者单位:475000 河南省开封市中心医院[史兆博 孙永 耿海威 马丽丽(通信作者)]

垂,眼球各方向运动充分,无眼震及复视,双侧瞳孔等大等圆,直接、间接对光反射灵敏,瞳孔笔照射下可见双眼 K-F 环(+) (图 1),双侧额纹及鼻唇沟对称,口角无偏斜,伸舌居中,无舌肌萎缩;四肢肌张力正常,肌力 V 级,双侧腱反射对称减弱,双侧 Barbinski 征阴性,双侧肢体深、浅感觉正常,双侧指鼻试验欠稳准,右侧快复轮替试验笨拙,双侧跟膝胫试验稳准,Romberg 征阴性,自主神经系统检查未见明显异常,脑膜刺激征阴性,神经干牵拉实验阴性;写字时右手不自主震颤,“写字过小征”阳性。先证者父亲在瞳孔笔照射下可见双眼 K-F 环,其母亲及弟弟无阳性体征。

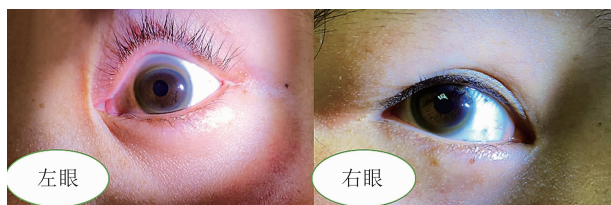


图 1 瞳孔笔照射下可见双眼 K-F 环(+) (左眼 右眼)

1.3 辅助检查

1.3.1 一般辅助检验 先证者血清铜蓝蛋白 $< 3 \text{ mg/dL}$ (参考值女 $16 \sim 45 \text{ mg/dL}$);促甲状腺激素 6.51 偏高(参考值 $0.27 \sim 4.2 \text{ uIU/mL}$),游离三碘甲状腺原氨酸、游离四碘甲状腺原氨酸正常,抗甲状腺球蛋白抗体、抗过氧化物酶抗体、促甲状腺激素抗体未见明显异常,提示亚临床甲减;血常规、尿常规、大便常规、肝肾功能、电解质、肌酸激酶、血糖等未见明显异常。先证者父母、弟弟肝肾功能及甲状腺功能检查未见异常。

1.3.2 先证者视力表检查提示右眼视力 0.8^- ,左眼视力 0.8^+ ;颅脑磁共振提示双侧丘脑、中脑、脑桥对称性长 T_1 长 T_2 信号,轻度脑萎缩改变(图 2);甲状腺彩超提示甲状腺体积偏小,双侧叶囊性及囊实性结节;肝胆胰脾彩超提示肝脏弥漫性病变,脾大;腹腔探查未见腹水;泌尿系彩超及子宫附件彩超未见明显异常。先证者父母及弟弟甲状腺彩超及肝胆胰脾彩超检查未见异常。

1.3.3 基因检测及家系图谱 先证者行全外显子基因组测序发现 ATP7B 基因复合杂合突变(图 3) c. 1470C $>$ A(p. C490 *), c. 1708-1G $>$ C(splice-3), c. -157-u53A $>$ T (promoter), c. 1168A $>$ G (p. I390V);家系验证发现先证者父亲及弟弟存在杂合突变 c. 1708-1G $>$ C (splice-3), c. -157-u53A $>$ T

(promoter), c. 1168A $>$ G(p. I390V)。

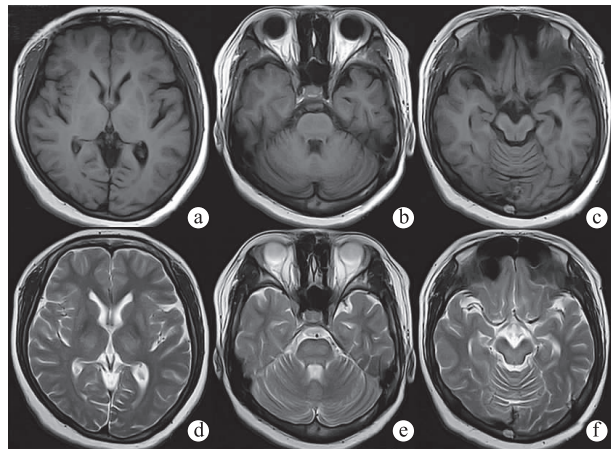


图 2 颅脑磁共振提示双侧丘脑、中脑、脑桥对称性长 T_1 长 T_2 信号,轻度脑萎缩改变

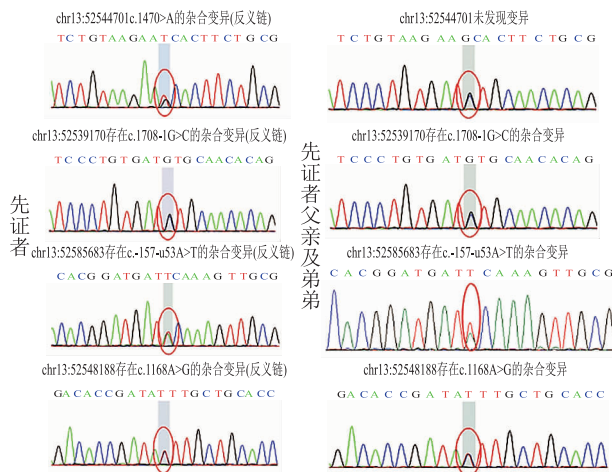


图 3 基因检测及家系图谱先证者行全外显子基因组测序发现 ATP7B 基因复合杂合突变

1.3.4 诊断与治疗 确诊为 Wilson 病,嘱先证者低铜禁碘高蛋白饮食,并口服锌剂;先证者口服二巯丁二酸钠驱铜治疗,嘱其定期复查血清铜蓝蛋白、肝肾功能、甲状腺功能,肝胆胰脾彩超及甲状腺彩超。

2 讨论

Wilson 病是一种由 ATP7B 基因突变所致铜代谢异常的常染色体隐性遗传病,在世界范围内人群发病率为 $1/3$ 万- $1/10$ 万,致病基因携带者约 $1/90$ ^[4],可在任何年龄起病,但多见于 5-35 岁,多数患者缓慢起病,症状进行性加重,常见症状为肝脏损害、神经精神表现、角膜色素环等^[5]。诊断 Wilson 病的常用生化指标为血清铜蓝蛋白水平降低和(或) 24 h 尿铜水平升高;其典型颅脑磁共振成像表现为

双侧对称的壳核、屏状核、尾状核头部、丘脑、中脑、脑桥或小脑等部位的 T_1 加权像低信号, T_2 加权像高信号^[4]。本例先证者 14 岁开始即出现精神异常, 17 岁开始出现不自主震颤、写字过小等神经系统症状, 有肝脏损害、K-F 环及典型的颅脑磁共振表现, 具备 Wilson 病典型的临床特征。此外, 该先证者有月经失调, 考虑可能与卵巢芳香酶活性降低引起雌激素水平低下相关^[6-7]; 其亚临床甲状腺功能减退考虑可能与垂体铜沉积或继发性垂体神经元损伤相关^[8], 需要进一步基础研究证实。

ATP7B 基因位于 13 号染色体 p14.3, 包含 21 个外显子和 20 个内含子, HGMD pro 收录了 1060 种 ATP7B 基因突变, 其中与 Wilson 病相关的有 900 余种, 大部分为错义突变、编码区的小缺失/插入突变或剪接突变, 外显子缺失、内含子区域、启动子区域突变及同时具备三种致病性突变的病例也有报道^[9-10], 但相对罕见。不同人群中常见突变类型不同, 亚洲人群中 ATP7B 基因突变热点位于第 8, 13, 16, 12 和 18 号外显子, 最常见的为 8 号外显子 c. 2333G>T (p. A778L) 突变, 其次为 13 号外显子 c. 2975C>T (p. P992L) 突变, 而欧洲及北美地区最常见的为 c. 3207 C>A (p. H1069G) 突变^[2]。该先证者基因检测发现 ATP7B 基因同时存在 3 号外显子区域 c. 1470C>A (p. C490 *), 4 号内含子区域剪接突变 c. 1708-1G>C (splice-3), 启动子区域 c. -157-u53A>T, 2 号外显子区域 c. 1168A>G (p. I390V) 等 4 种突变类型。根据 HGMDpro 数据库报道情况, 变异位点 c. 1470C>A^[11-12]、c. 1708-1G>C^[5, 12-14]、c. -157-u53A>T^[11]、c. 1168A>G^[15] 均为致病性变异, 发生于 4 号内含子区域的 c. 1708-1G>C 剪接突变可引起 5 号外显子跳跃^[11-12], 发生于启动子区域的 c. -157-u53A>T 变异引起蛋白表达水平降低^[11]。根据美国遗传学与基因组学学会 (American college of medical genetics and genomics, ACMG) 指南, 前 3 个变异位点均评级为致病性突变, 证据分别为 PVS1 + PM2_支持 + PP4; PVS1 + PM2_支持 + PM3_非常强 + PP4; PS3 + PM2_支持 + PM3_强 + PP4。变异位点 c. 1168A>G 评级为临床意义未明 (PM2_支持 + PP4), 需要进一步动物实验功能验证。

作为少数可治的神经遗传病之一, 早期诊断和驱铜治疗非常重要, 如果能在发病早期或症状前期被确诊并得到及时治疗, 大多预后良好^[3]。但是

Wilson 病有很强的临床异质性^[5], 基因诊断在早期、快速、准确诊断 Wilson 病的价值非常大, 经家系共分离及基因变异致病性分析确定 2 条染色体均携带 ATP7B 基因致病变异可以确诊 Wilson 病, 若无症状, 可定为 Wilson 病的症状前个体^[1]。该先证者通过进一步家系验证发现 c. 1470C>A 位于母源染色体上, 余突变均来自于父源染色体, 符合基因确诊的 Wilson 病。遗憾的是, 先证者母亲未进一步基因验证, 不能判断变异位点 c. 1470C>A 源自于母体遗传还是自发突变。此外, 先证者父亲存在双眼 K-F 环, 理论上很可能两条染色体均携带 ATP7B 基因致病变异, 属于症状前个体, 但其只进行了家系验证, 拒绝进一步 ATP7B 基因测序, 无法筛查有无其他变异类型。

本研究提示, 对于同时伴有神经系统症状及精神障碍的患者, 需要考虑到 Wilson 病的可能性, 应进一步完善 K-F 环、血清铜、铜蓝蛋白和 (或) 24 小时尿铜、颅脑磁共振、基因检测等检查, 以便早期诊断或治疗; 对于症状前个体, 应尽早低铜饮食, 避免出现临床症状; 本例先证者 ATP7B 基因的复合杂合突变较为特殊, 但具备 Wilson 病典型的临床特征和影像学特征, 未来将进一步追踪随访了解其对药物治疗的效果及预后。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会神经病学分会神经遗传学组. 中国肝豆状核变性诊治指南[J]. 中华神经科杂志, 2021, 54(4): 310-319.
- [2] Li M, Ma J, Wang W, et al. Mutation analysis of the ATP7B gene and genotype-phenotype correlation in Chinese patients with Wilson disease[J]. BMC Gastroenterol, 2021, 21(1): 339.
- [3] Bandmann O, Weiss KH, Kaler SG. Wilson's disease and other neurological Copper disorders[J]. Lancet Neurol, 2015, 14(1): 103-113.
- [4] Dong Y, Wang RM, Yang GM, et al. Role for biochemical assays and Kayser-Fleischer rings in diagnosis of wilson's disease [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2021, 19(3): 590-596.
- [5] Xiao Z, Yang Y, Huang H, et al. Molecular analysis of 53 Chinese families with Wilson's disease; Six novel mutations identified[J]. Mol Genet Genomic Med, 2021, 9(9): e1735.
- [6] 郑明翠, 韩辉, 吴丽敏, 等. 韩辉辨治肝豆状核变性月经不调经验[J]. 江西中医药大学学报, 2020, 32(5): 14-17.
- [7] Krysiak R, Handzlik-Orlik G, Okopien B. Endocrine symptoms as the initial manifestation of Wilson's disease[J]. Yale J Biol Med, 2012, 85(2): 249-254.
- [8] Lee HW, Kang JD, Yeo CW, et al. Hypopituitarism presenting as adrenal insufficiency and hypothyroidism in a patient with wilson's disease; a case report[J]. J Korean Med Sci,

2016, 31(8): 1345-1348.

- [9] Coffey AJ, Durkie M, Hague S, et al. A genetic study of Wilson's disease in the United Kingdom[J]. *Brain*, 2013, 136 (Pt 5): 1476-1487.
- [10] Möller LB, Ott P, Lund C, et al. Homozygosity for a gross partial gene deletion of the C-terminal end of ATP7B in a Wilson patient with hepatic and no neurological manifestations [J]. *Am J Med Genet A*, 2005, 138(4): 340-343.
- [11] Wan L, Tsai CH, Hsu CM, et al. Mutation analysis and characterization of alternative splice variants of the Wilson disease gene ATP7B[J]. *Hepatology*, 2010, 52(5): 1662-1670.
- [12] Tsai CH, Tsai FJ, Jy W, et al. Mutation analysis of Wilson disease in Taiwan and description of six new mutations[J]. *Hum Mutat*, 1998, 12(6): 370-376.

- [13] Hua R, Hua F, Jiao Y, et al. Mutational analysis of ATP7B in Chinese Wilson disease patients[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(6): 2851-2861.
- [14] Chen YC, Yu H, Wang RM, et al. Contribution of intragenic deletions to mutation spectrum in Chinese patients with Wilson's disease and possible mechanism underlying ATP7B gross deletions[J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2019, 5(62): 128-133.
- [15] Cheng N, Wang H, Wu W, et al. Spectrum of ATP7B mutations and genotype-phenotype correlation in large-scale Chinese patients with Wilson Disease[J]. *Clin Genet*, 2017, 92(1): 69-79.

(2021-11-26 收稿)

(上接第 372 页)

物(左旋肉碱)]目前疗效存在争议。其他常规对症支持治疗、抗癫痫治疗应避免使用线粒体毒性药物如丙戊酸、卡马西平、苯巴比妥和苯妥英等^[18-20]。新治疗策略包括清除特定的有毒化合物、补充脱氧核苷和脱氧核苷酸、细胞替代疗法、基因治疗、线粒体 DNA (Mitochondrial deoxyribonucleic acid, mtDNA) 突变异质转移和稳定突变线粒体转运 RNA (Transfer ribonucleic acid, tRNA)、改善线粒体吞噬和受损线粒体的清除^[12,21]。

参 考 文 献

- [1] Whitehead MT, Wien M, Lee B, et al. Black toenail sign in MELAS syndrome[J]. *Pediatr Neurol*, 2017, 75(10): 61-65.
- [2] El-Hattab AW, Almannai M, Scaglia F. Arginine and citrulline for the treatment of MELAS syndrome[J]. *J Inborn Errors Metab Screen*, 2017, 5: 1-5.
- [3] Ohsawa Y, Hagiwara H, Nishimatsu S, et al. Taurine supplementation for prevention of stroke-like episodes in MELAS; a multicentre, open-label, 52-week phase III trial[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2019, 90(5): 529-536.
- [4] El-Hattaba W. MELAS syndrome; Clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options[J]. *Mol Genet Metab*, 2015, 116(1/2): 4-12.
- [5] Finsterer J. Rare phenotypic manifestations of MELAS[J]. *Yonsei Med J*, 2020, 61(10): 904-906.
- [6] Koga Y, Povalko N, Inoue E, et al. Therapeutic regimen of l-arginine for MELAS; 9-year, prospective, multicenter, clinical research[J]. *J Neurol*, 2018, 265(12): 2861-2874.
- [7] Pia S, Lui F. Melas syndrome[Z], 2021:30422554.
- [8] Bhatia KD, Krishnan P, Kortman H, et al. Acute cortical lesions in MELAS syndrome: anatomic distribution, symmetry, and evolution[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2020, 41(1): 167-173.

- [9] Chen WT, Lin YS, Yf W, et al. Adult onset MELAS Syndrome Presenting as A Mimic of Herpes Simplex Encephalitis [J]. *Acta Neurol Taiwan*, 2019, 28(2): 46-51.
- [10] Handzel O, Ungar OJ, Lee DJ, et al. Temporal bone histopathology in MELAS syndrome[J]. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*, 2020, 5(1): 152-156.
- [11] Hovsepian D, Galati A, Chong RA, et al. MELAS: monitoring treatment with magnetic resonance spectroscopy[J]. *Acta Neurol Scand*, 2019, 139(1): 82-85.
- [12] Hirano M, Emmanuele V, Quinzii CM. Emerging therapies for mitochondrial diseases[J]. *Essays Biochem*, 2018, 62(3): 467-481.
- [13] Doppler C, Kabbasch C, Fink GR, et al. Rapid alterations in Mr imaging in MELAS syndrome[J]. *Pract Neurol*, 2019, 19 (5): 447-448.
- [14] Malhotra K, Liebeskind DS. Imaging of MELAS[J]. *Curr Pain Headache Rep*, 2016, 20(9): 54.
- [15] Koenig MK, Emrick L, Karaa A, et al. Recommendations for the management of strokelike episodes in patients with mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes[J]. *JAMA Neurol*, 2016, 73(5): 591-594.
- [16] Ko A, Lee YM. Magnetic resonance spectroscopy in Leigh-MELAS overlap syndrome[J]. *World J Pediatr*, 2019, 15(3): 306-308.
- [17] Sun XR, Jiang GH, Ju XY, et al. MELAS and macroangiopathy A case report and literature review[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(52): e13866.
- [18] 袁云. 中国线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作的诊治专家共识[J]. *中华神经科杂志*, 2020, 53(3): 171-172.
- [19] Finsterer J. Rhabdomyolysis in MELAS May be multifactorial [J]. *Rinsho Shinkeigaku*, 2017, 57(7): 399.
- [20] Finsterer J, Zarrouk-Mahjoub S. Epilepsy in MELAS[J]. *Pediatr Neurol*, 2017, 67: e7-e8.
- [21] Deng J, Lu Y, Xie Z, et al. RNA-seq profiling, and impaired autophagic process in skeletal muscle of MELAS[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 523(1): 91-97.

(2021-12-03 收稿)