

VHL基因突变所致家族性红细胞增多症2型一例及文献复习

张伟¹ 包慎¹ 蒋丽君² 马燕萍¹

¹宁夏回族自治区人民医院血液内科 750021; ²宁夏回族自治区人民医院宁夏老年病中心 750021

通信作者:包慎,Email:3591060@qq.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.12.015

A case of familial erythrocytosis type 2 caused by VHL gene mutation

Zhang Wei¹, Bao Shen¹, Jiang Lijun², Ma Yanping¹

¹Department of Hematology, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750021, China; ²Ningxia Geriatric Center, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750021, China

Corresponding author: Bao Shen, Email: 3591060@qq.com

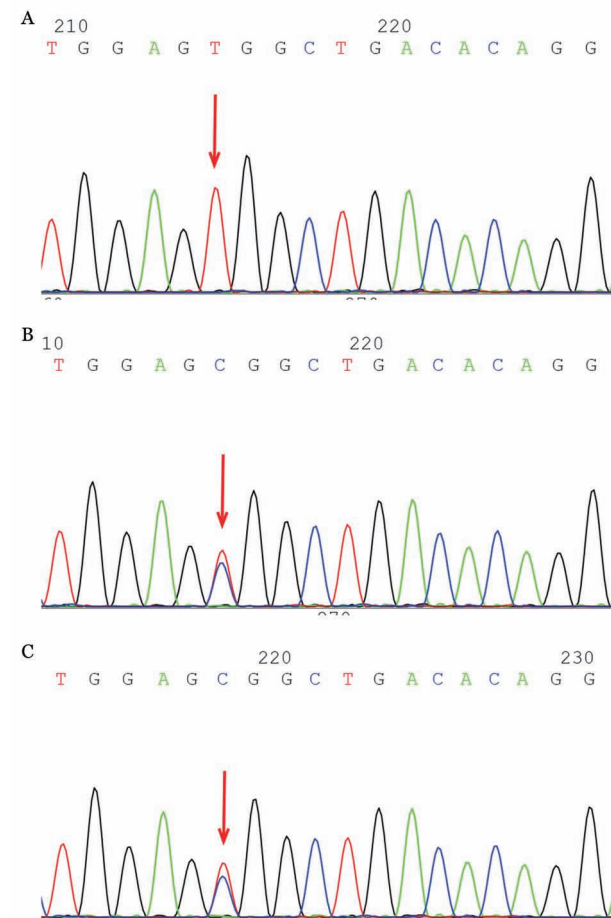
红细胞增多症病因繁多,或由于组织缺氧引起的代偿机制,或由于JAK2酪氨酸激酶体细胞突变导致真性红细胞增多症(PV),或为遗传性红细胞增多症。遗传性红细胞增多症已知机制包括高氧亲和血红蛋白变体(HOA)和二磷酸甘油酸变位酶(BPGM)缺乏所致血红蛋白病及红细胞生成素受体(EPOR)和氧敏感途径(OSP)异常引起的家族性红细胞增多症(familial erythrocytosis, FE)。其中OSP的最新研究已证实相关基因突变会导致 von Hippel-Lindau (VHL, FE 2型)、脯氨酰羟化酶结构域2(PHD2, FE 3型)、低氧诱导因子2 α 亚基(HIF2A, FE 4型)功能异常继发FE^[1-2]。我科近期收住一例VHL基因纯合突变致FE 2型患者,为国内首次报告,现对其基因突变特征及致病的分子机制、家系、临床资料等分析如下。

病例资料

患者,男,21岁,主因“齿龈渗血半年,伴头痛头晕1个月”于2019年11月就诊,查血常规示:WBC $8.04 \times 10^9/L$, RBC $7.82 \times 10^{12}/L$, HGB 272 g/L, PLT $85 \times 10^9/L$,以“红细胞增多症”收住我科。患者既往有红细胞增多病史3年余。入院查体:神清,颜面及颈部潮红,口唇、甲床呈紫红,周身浅表淋巴结未触及肿大,心肺腹查体未见异常,双下肢无水肿。末梢血涂片:成熟红细胞呈地毯样密集分布。血生化:葡萄糖(空腹)3.2 mmol/L(正常参考值3.9~6.1 mmol/L),尿酸478 $\mu\text{mol/L}$ 。凝血全套:纤维蛋白原1.8 g/L(正常参考值2.2~5.0 g/L),其他指标正常;红细胞生成素(EPO)浓度26.65 U/L(正常参考值2.59~18.50 U/L);肝肾功能、电解质、免疫球蛋白、心肌酶谱、肿瘤标志物、贫血三项(叶酸、维生素B₁₂、血清铁蛋白)、淋巴细胞亚群、降钙素原、尿便常规均正

常;类风湿因子、抗ENA、抗核抗体、血及尿免疫固定电泳均阴性;EB病毒(EBV DNA)定量 $< 1 \times 10^3$ 。骨髓象:骨髓增生活跃,红系比例增高,未见早幼红细胞,中幼红细胞占0.120(正常参考值0.026~0.107),晚幼红细胞占0.230(正常参考值0.052~0.175)。骨髓活检:①骨髓有核细胞增生活跃,脂肪组织大致正常;②粒系增生,各阶段细胞比例正常;③红系增生异常活跃,以晚幼红为主;④巨核系增生减低,形态大致正常;⑤淋巴及浆细胞散在分布;⑥可见局灶少量的纤维组织。骨髓染色体核型分析未见异常;骨髓JAK2 V617F及12~15号外显子、MPL、CALR检测未见异常;心脏彩超正常;头胸腹增强CT未见异常。胃肠镜检查未见异常。患者父母非近亲结婚,家族史及遗传史无异常。本研究已征得患者及其父母知情同意,并获得本院伦理委员会批准。

基因检测:患者携带有VHL基因纯合突变c.598C>T(p.Arg200Trp),区带3p25.3,序列NM_000551.3,位置Exon3,为错义突变(图1A),患者上述突变分别遗传自其父母,c.598C>T的杂合核苷酸突变,家系验证来源于父亲,c.598C>T的杂合核苷酸突变,家系验证来源于母亲,其父母均只携带其中1个杂合突变,为正常表型(图1B、C)。VHL基因纯合突变在金城医学数据库KMTD、千人基因组数据库1000 genomics均未见收录。美国国家心肺血液研究所ESP6500数据库有收录(0.0002)。生物信息学软件预测其致病可能性大。根据美国医学遗传学与基因组学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)2015指南,该突变分类为病理性突变。上述突变不属于多态性变化,在人群中发生的频率极低,上述突变可能导致蛋白质功能受到影响,结合患者临床表现、实验室检查、影像学检查,确诊为家族性红细胞增多症2型。



A: 患者 VHL 3p25.3 NM_000551.3 Exon3 c.598C>T p.(Arg200Trp) 纯合突变; B: 患者母亲 VHL 3p25.3 NM_000551.3 Exon3 c.598C>T p.(Arg200Trp) 杂合突变; C: 患者父亲 VHL 3p25.3 NM_000551.3 Exon3 c.598C>T p.(Arg200Trp) 杂合突变

图 1 红细胞增多症 2 型患者及其父母 VHL 基因测序图

讨论及文献复习

FE 是常染色体隐性遗传的红细胞增多症, 发病率极低, 临床罕见。根据发病原因分为原发性和继发性, 原发性为 EPOR 基因突变, 为 FE 1 型, 也称为先天性红细胞增多症 (CE) 或原发性先天性家族性红细胞增多症^[3-5]。继发性 FE 是由于 OSP 相关基因突变, 导致促红细胞生成物质 (主要为 EPO) 调节异常, 血清 EPO 水平升高^[6], 继发红细胞增多。

本例患者 VHL 等位基因发生错义突变并纯合突变, 其父母均为杂合突变表型正常, 为隐性遗传, 且缺乏原发和继发红细胞增多的证据, EPO 浓度增高, 可明确诊断为 FE 2 型。FE 2 型与 VHL 病鉴别如下: VHL 病通常均以常染色体显性的方式遗传, VHL 基因缺陷位于染色体 3p25.5, 如发生体细胞突变, 还可引起小脑成血管细胞瘤、肾细胞癌; 临床表现有红细胞增多症、神经系统血管母细胞瘤、嗜铬细胞瘤、肾细胞癌或肾囊肿、胰腺肿瘤或胰腺囊肿、内耳淋巴瘤和生殖系统囊肿等, 其临床表型多变^[7]。FE 2 型为常染色体隐性遗

传, VHL 基因缺陷位于染色体 3p25-26, 临床表现有红细胞增多、红细胞比容升高、血红蛋白升高、静脉曲张、头痛等。

随着对 FE 的深入研究, 2002 年 Ang 等^[8]发现 VHL 基因突变, 定位在 3 号染色体上, 提出 pVHL 功能的破坏会导致 HIF-1 α 降解失败, 从而导致 HIF-1 α 积累, 下游靶基因 (如 EPO) 上调以及红细胞增多症的临床表现。Mallik 等^[9]对 FE 研究发现纯合 VHL c.598C>T (p.Arg200Trp) 是 FE 最常见的致病突变, 由此使 FE 的发病机制逐渐被阐明。VHL 基因全长约为 16 kb, 包含 E1、E2、E3 三个外显子, 可翻译成两种蛋白异构体, 即含有 213 个氨基酸残基的 pVHL30 和含有 160 个氨基酸残基的 pVHL19, 这两种异构体生物学效应相似^[10]。pVHL 涉及多种功能, 研究最多的是 OSP, 即 HIF-PHD 通路, 其主要参与者是 HIF, HIF 是一种低氧依赖性的转录因子, 它以 3 种亚型 HIF-1 α 、HIF-2 α 和 HIF-3 α 存在, 通过激活基因转录参与调控机体对缺氧的全身和局部应答。在正常氧气供应下, HIF 的 α 亚基被氧化, 随后被 PHD 羟基化, 然后与 pVHL 结合, pVHL 是 E3 泛素连接酶复合物的一个亚基, 能直接与转录延长因子 Elongin C 连接, 再结合 Elongin B、CUL2 蛋白和环指蛋白 RBX1 最终形成 VCB-CR 复合体, 该复合体属于 E3 泛素连接酶系统, 可促进 HIF- α 泛素化并随后在蛋白酶体降解^[11], 从而不会产生 EPO。PHD 是 HIF 降解的限速酶, 在缺氧或 VHL 基因突变情况下, PHD 活性降低, 使 HIF- α 亚基保持稳定, 并与 HIF- β 亚基结合成二聚体, 构成功能性 HIF 复合物易位至细胞核, 并与靶基因的缺氧反应元件结合, 转录激活与适应减少氧气供应有关的包括 EPO 在内的 200 多个基因的表达^[12-13]。该患者 VHL 基因突变致缺氧途径的失调, EPO 水平增高, 是红细胞增多的根本原因。

多数 FE 2 型患者无症状, 部分患者因红细胞增多引起血液流速减慢, 血液淤滞, 造成组织器官缺氧, 引起一系列临床症状, 最常见是反复头痛头晕, 其他表现包括疲劳、怕热、胸闷、胸痛、高血压、劳累性呼吸困难及腹痛和脾肿大, 血栓并发症包括脑血管意外、短暂性脑缺血发作、肺栓塞、肢体血栓形成、门静脉血栓形成和深静脉血栓形成等^[14]。该患者主要表现为头痛头晕同时伴有间断齿龈少量渗血, 齿龈渗血考虑可能与原发病、血小板及纤维蛋白原减低等相关, 具体原因仍不明确。实验室检查提示患者血糖 (空腹) 波动于 3.0~3.4 mmol/L, 考虑与 FE 相关。McClain 等^[15]报道 VHL 598C>T 纯合突变与较低的葡萄糖浓度和较低的糖基化血红蛋白水平相关, HIF-1 α 或 HIF-2 α 上调可能导致血清葡萄糖浓度降低, 葡萄糖转运蛋白 GLUT2 和糖异生葡萄糖 6 磷酸酶 (G6PC) 的肝表达降低, 以及葡萄糖异生磷酸烯醇丙酮酸羧激酶的限速酶表达降低, 但 GLUT1 或 PDK2 的表达没有明显增加。这些发现表明, 肝糖原异生的损害导致了 FE 患者血糖的总体下降, 导致葡萄糖从肝脏的释放受损, 肝糖原储存增加和低血糖。

综上, 我们报道了国内首例 VHL 基因 c.598C>T 纯合突变所致 FE 2 型病例, 并探讨了 FE 2 型遗传学病因和发病的分子基础。

参考文献

- [1] Percy MJ, Furlow PW, Beer PA, et al. A novel erythrocytosis-associated PHD2 mutation suggests the location of a HIF binding groove [J]. *Blood*, 2007, 110 (6):2193-2196. DOI: 10.1182/blood-2007-04-084434.
- [2] Percy MJ, Furlow PW, Lucas GS, et al. A gain-of-function mutation in the HIF2A gene in familial erythrocytosis [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(2):162-168. DOI: 10.1056/NEJMoa073123.
- [3] Arcasoy MO, Karayal AF, Segal HM, et al. A novel mutation in the erythropoietin receptor gene is associated with familial erythrocytosis [J]. *Blood*, 2002, 99 (8):3066-3069. DOI: 10.1182/blood.v99.8.3066.
- [4] Bento C, Percy MJ, Gardie B, et al. Genetic basis of congenital erythrocytosis: mutation update and online databases [J]. *Hum Mutat*, 2014, 35(1):15-26. DOI: 10.1002/humu.22448.
- [5] Vočanec D, Prijatelj T, Debeljak N, et al. Genetic variants of erythropoietin (EPO) and EPO receptor genes in familial erythrocytosis [J]. *Int J Lab Hematol*, 2019, 41 (2):162-167. DOI: 10.1111/ijlh.12949.
- [6] McMullin MF. The classification and diagnosis of erythrocytosis [J]. *Int J Lab Hematol*, 2008, 30 (6):447-459. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2008.01102.x.
- [7] Couvé S, Ladroue C, Laine E, et al. Genetic evidence of a precisely tuned dysregulation in the hypoxia signaling pathway during oncogenesis [J]. *Cancer Res*, 2014, 74 (22):6554-6564. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1161.
- [8] Ang SO, Chen H, Gordeuk VR, et al. Endemic polycythemia in Russia: mutation in the VHL gene [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2002, 28(1):57-62. DOI: 10.1006/bcmd.2002.0488.
- [9] Mallik N, Sharma P, Kaur Hira J, et al. Genetic basis of unexplained erythrocytosis in Indian patients [J]. *Eur J Haematol*, 2019, 103(2):124-130. DOI: 10.1111/ejh.13267.
- [10] Pack SD, Zbar B, Pak E, et al. Constitutional von Hippel-Lindau (VHL) gene deletions detected in VHL families by fluorescence in situ hybridization [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(21):5560-5564.
- [11] Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis [J]. *Nature*, 1999, 399 (6733):271-275. DOI: 10.1038/20459.
- [12] Chopra T, Rosner MH. Recent advances in CKD and ESRD: A literature update [J]. *Hemodial Int*, 2017, 21 (1):11-18. DOI: 10.1111/hdi.12518.
- [13] 刘芳, 魏巍, 丁谨, 等. HIF-2 α 对高原红细胞增多症模型大鼠骨髓 CD71+细胞 GATA-1 表达的影响 [J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37 (8): 696-701. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.08.013.
- [14] Oliveira JL, Coon LM, Frederick LA, et al. Genotype-Phenotype Correlation of Hereditary Erythrocytosis Mutations, a single center experience [J]. *Am J Hematol*, 2018. DOI: 10.1002/ajh.25150.
- [15] McClain DA, Abuelgasim KA, Nourai M, et al. Decreased serum glucose and glycosylated hemoglobin levels in patients with Chuvash polycythemia: a role for HIF in glucose metabolism [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91 (1):59-67. DOI: 10.1007/s00109-012-0961-5.

(收稿日期:2020-08-09)

(本文编辑:刘爽)

·读者·作者·编者·

2020 年本刊可直接用英文缩写的常用词汇

血红蛋白 HGB	辅助性 T 淋巴细胞 Th 细胞	半乳甘露聚糖检测 GM 试验
红细胞计数 RBC	调节性 T 淋巴细胞 Treg 细胞	酶联免疫吸附实验 ELISA
白细胞计数 WBC	细胞毒性 T 淋巴细胞 CTL 细胞	噻唑蓝实验 MTT 实验
血小板计数 PLT	自然杀伤细胞 NK 细胞	磷酸盐缓冲液 PBS
中性粒细胞绝对计数 ANC	白细胞介素 IL	胎牛血清 FBS
丙氨酸转氨酶 ALT	嵌合抗原受体 T 细胞 CAR-T 细胞	乙二胺四乙酸 EDTA
天冬氨酸转氨酶 AST	肿瘤坏死因子 TNF	二甲基亚砷 DMSO
谷氨酰转氨酶 GGT	干细胞生长因子 SCF	十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 SDS-PAGE
碱性磷酸酶 ALP	粒细胞集落刺激因子 G-CSF	美国国家综合癌症网络 NCCN
乳酸脱氢酶 LDH	粒-巨噬细胞集落刺激因子 GM-CSF	国际预后积分系统 IPSS
凝血酶原时间 PT	巨噬细胞集落刺激因子 M-CSF	国际预后指数 IPI
部分激活的凝血活酶时间 APTT	粒-巨噬细胞集落形成单位 CFU-GM	异基因造血干细胞移植 allo-HSCT
红细胞生成素 EPO	弥散性血管内凝血 DIC	自体造血干细胞移植 auto-HSCT
血小板生成素 TPO	实时荧光定量 PCR RQ-PCR	移植植物抗宿主病 GVHD
乙型肝炎病毒 HBV	磁共振成像 MRI	人类白细胞抗原 HLA
丙型肝炎病毒 HCV	正电子发射断层扫描 PET	受试者工作特征曲线 ROC 曲线
人类免疫缺陷病毒 HIV	荧光原位杂交 FISH	常见不良反应事件评价标准 CTCAE
核因子- κ B NF- κ B	(1,3)- β -D 葡聚糖检测 G 试验	

本刊编辑部