

# 遗传性嘧啶5'核苷酸酶缺乏症NT5C3A基因 新发变异位点二例报告并文献复习

李园<sup>1</sup> 赵馨<sup>1</sup> 胡向荣<sup>1</sup> 李建平<sup>1</sup> 熊佑祯<sup>1</sup> 孙晓星<sup>2</sup> 叶蕾<sup>1</sup> 杨洋<sup>1</sup>  
李洋<sup>1</sup> 杨文睿<sup>1</sup> 彭广新<sup>1</sup> 樊慧慧<sup>1</sup> 周康<sup>1</sup> 井丽萍<sup>1</sup> 张凤奎<sup>1</sup> 张莉<sup>1</sup>

<sup>1</sup>中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所),实验血液学国家重点实验室,国家血液系统疾病临床医学研究中心,天津 300020;<sup>2</sup>亳州市人民医院血液内科,安徽亳州 236800

通信作者:张莉,Email:zhangli@ihcams.ac.cn

基金项目:科技部国家科技重大专项(2017ZX09304024)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.08.012

## Two novel mutations (c.830A>G, c.252+1G>A) in NT5C3A associated with hereditary pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency: two cases report and literature review

Li Yuan<sup>1</sup>, Zhao Xin<sup>1</sup>, Hu Xiangrong<sup>1</sup>, Li Jianping<sup>1</sup>, Xiong Youzhen<sup>1</sup>, Sun Xiaoxing<sup>2</sup>, Ye Lei<sup>1</sup>, Yang Yang<sup>1</sup>, Li Yang<sup>1</sup>, Yang Wenrui<sup>1</sup>, Peng Guangxin<sup>1</sup>, Fan Huihui<sup>1</sup>, Zhou Kang<sup>1</sup>, Jing Liping<sup>1</sup>, Zhang Fengkui<sup>1</sup>, Zhang Li<sup>1</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China; <sup>2</sup>Bozhou People's Hospital, Bozhou 236800, China

Corresponding author: Zhang Li, Email: Zhangli@ihcams.ac.cn.

遗传性嘧啶5'核苷酸酶(P5'N)缺乏症是一种罕见的红细胞酶异常相关的溶血性贫血,主因NT5C3A基因突变导致P5'N活动减低致病,以外周血涂片显著的嗜碱性点彩红细胞和红细胞内嘧啶核糖核苷酸蓄积为特征,呈常染色体隐性遗传模式。国际上首例临床诊断报道于1974年<sup>[1]</sup>,首例基因诊断报道于2001年<sup>[2]</sup>。目前全世界累计报道仅100余例,已报道的遗传性P5'N缺乏症NT5C3A基因突变位点达27个。我国虽有遗传性P5'N缺乏症的临床报道<sup>[3-5]</sup>,但尚无该病相关基因报道。我们于国内首次报道携带NT5C3A基因新发突变位点的遗传性P5'N缺乏症2例,并附文献复习。

### 病例资料

病例1,女,15岁,主因“巩膜黄染6年余”就诊。患者6年前发现巩膜黄染,未予重视。2年前腹部B超未见肝胆胰脾异常。1年前因“左肘内翻”矫形手术前查血常规发现HGB减低,WBC 3.91×10<sup>9</sup>/L、HGB 103 g/L、RBC 3.24×10<sup>12</sup>/L、PLT 285×10<sup>9</sup>/L、红细胞平均体积(MCV)100.1 fl、红细胞平均血红蛋白含量(MCH)31.8 pg,红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)318 g/L。血生化:总胆红素(TBIL)86.78 μmol/L,直接胆红素(DBIL)11.44 μmol/L,间接胆红素(IBIL)75.34 μmol/L,LDH 550 U/L。尿常规:尿胆原3+,潜血2+。未进一步诊治。8个月前腹部B超检出“胆囊多发结石”。1个月前因“胆石症、胆囊炎”行经内镜逆行性胰胆管造影

(ERCP)取石术时疑诊“溶血性贫血”,为进一步诊治就诊于我院。个人史、月经史无特殊。家族中无类似病史,患者父母非血亲关系。入院查体:神志清,周身皮肤轻度黄染,全身浅表淋巴结无肿大。巩膜黄染,口唇无苍白。咽无充血,扁桃体未见肿大。胸骨无压痛,双肺呼吸音清,未闻及湿啰音,心音有力,律齐,各瓣膜区未闻及杂音。腹软,肝脏、脾脏肋缘下未触及。双下肢无水肿,神经系统查体未见异常。血常规:HGB 103 g/L,网织红细胞比值(RET)9.78%,网织红细胞绝对计数(ARC)0.315×10<sup>12</sup>/L,余正常。肝功能:TBIL 93.4 μmol/L,IBIL 83.1 μmol/L,LDH 556 U/L,余正常。P5'N活性1.05(参考值2.60~3.52)。其他溶血检查包括葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)活性、丙酮酸激酶活性、磷酸果糖激酶活性、红细胞渗透脆性试验、酸化甘油试验、伊红-5'-马来酰亚胺试验(EMA试验)、热不稳定试验、血红蛋白电泳、血红蛋白A2、血红蛋白F、异丙醇试验、变性珠蛋白小体试验、高铁血红蛋白还原试验、直接库姆试验、酸溶血试验等均阴性。未检出阵发性睡眠性血红蛋白尿(PNH)克隆。成熟红细胞寿命14 d。颅脑CT无异常。二代基因测序(图1):(1)NT5C3A基因(转录本NM\_016489)存在复合杂合突变:c.773T>C(p.I258T)和c.830A>G(p.D277G),经Sanger测序技术家系验证发现c.773T>C(p.I258T)来于母亲,c.830A>G(p.D277G)来于父亲;(2)UGT1A1基因(NM\_000463)存在纯合突变:c.211G>A(p.G71R)。未检出HBB、ALAS2等基

因突变。诊断:1. 遗传性 P5'N 缺乏症;2. Gilbert 综合征。

病例 2, 女, 54 岁。主因“巩膜黄染、发现贫血 10 余年”就诊。外院检查血常规示 HGB 90 g/L, 肝功能: TBIL 110.9  $\mu\text{mol/L}$ , IBIL 92.3  $\mu\text{mol/L}$ , LDH 512 U/L, 余正常。腹部 B 超未见脾肿大和胆结石。考虑“溶血性贫血”, 曾应用泼尼松治疗 3 个月, 贫血及黄疸无改善。为进一步诊治就诊于我院。既往史、个人史、月经史、婚育史无特殊。患者的父母为表亲, 患者的奶奶和姥爷为同胞兄妹, 均已故。查体: 神志清, 贫血貌, 周身皮肤黄染, 全身浅表淋巴结无肿大。巩膜黄染, 口唇无苍白。咽无充血, 扁桃体未见肿大。胸骨无压痛, 双肺呼吸音清, 未闻及湿啰音, 心音有力, 律齐, 各瓣膜区未闻及杂音。腹软, 肝脏、脾脏肋缘下未触及。双下肢无水肿, 神经系统查体未见异常。血常规: HGB 88 g/L, RET 15.14%, ARC  $0.354 \times 10^{12}/\text{L}$ , 余正常。P5'N 活性 1.01 (参考值 2.60 ~ 3.52)。其他溶血检查包括 G6PD 活性、丙酮酸激酶活性、磷酸果糖激酶活性、红细胞渗透脆性试验、酸化甘油试验、EMA 试验、热不稳定试验、血红蛋白电泳、血红蛋白 A<sub>2</sub>、血红蛋白 F、异丙醇试验、变性珠蛋白小体试验、高铁血红蛋白还原试验、直接库姆试验、酸溶血试验等均阴性。未检出阵发性睡眠性血红蛋白尿 (PNH) 克隆。经二代基因测序 (图 2): (1) NT5C3A 基因 (转录本 NM\_016489) 存在纯合突变: c.252+1G>A, 患者父母已故, 无法完成家系验证, 患者之子 NT5C3A 基因携带单等位基因杂合突变 c.252+1G>A; (2) UGT1A1 基因 (NM\_000463) 存在杂合突变 c.211G>A (p.G71R)。未检出 HBB、ALAS2 等基因突变。诊断: 遗传性 P5'N 缺乏症。

## 讨 论

在先天性红细胞酶病所致的溶血性贫血中, 遗传性 P5'N 缺乏症是第三常见的疾病, 排在 G6PD 缺乏症和丙酮酸激酶缺乏症之后<sup>[6]</sup>。由于该病罕见, 确切的发病率不详, 诊断亦常延误, 中位诊断年龄为 15 岁 (3 月龄 ~ 64 岁)<sup>[7]</sup>。

遗传性 P5'N 缺乏症为常染色体隐性遗传性疾病, 其致病基因 NT5C3A 位于染色体 7p14, 包含 11 个外显子<sup>[2]</sup>。NT5C3A 基因产物为 P5'N1 型 (P5'N-1), 也称为尿嘧啶核苷酸水解酶 1 型 (UMPH-1), 该酶主要表达于成熟阶段红细胞, 将嘧啶核苷酸水解为嘧啶核苷。突变导致活性 P5'N-1 缺失<sup>[7-8]</sup>, 从而出现红细胞内嘧啶核苷酸堆积, 发生溶血。

该病主要临床表现为轻、中度贫血, 重度贫血约占 12%<sup>[7]</sup>。黄疸和脾肿大也较常见 (分别为 46/61、49/62), 约 1/3 的患者出现胆石症和肝肿大, 约 1/6 的患者出现过新生儿黄疸。患者的中位 HGB 95 (28 ~ 152) g/L, 未切脾者的 RET 约 8%, IBIL 47  $\mu\text{mol/L}$ 。外周血涂片可见 2% ~ 12% 的嗜碱性点彩红细胞。外周血红细胞 P5'N-1 活性 ( $A_{260}/A_{280}$ ) 常减低至 1% ~ 64%。

该病的临床和血液学特征显著但不特异, 临床诊断主要取决于红细胞内高浓度的嘧啶核苷酸和 P5'N-1 活性下降<sup>[7]</sup>。检出 NT5C3A 基因纯合突变或复合杂合突变, 有助于

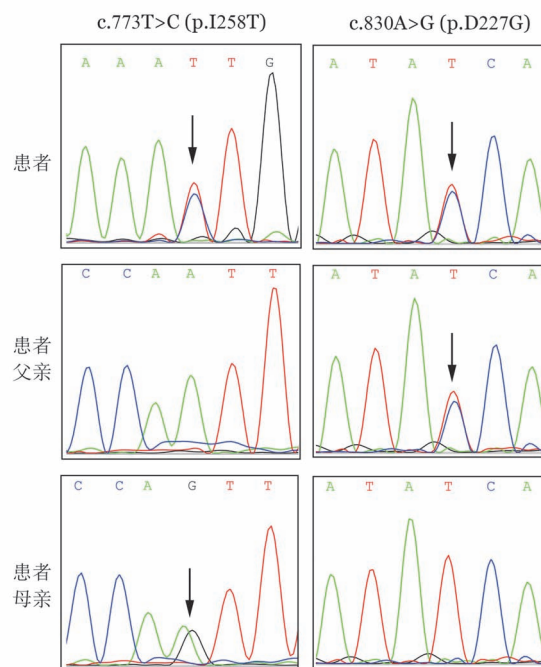


图 1 病例 1 的 NT5C3A 基因突变测序图 (箭头所示为突变位点)

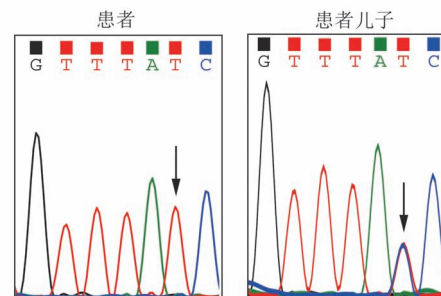
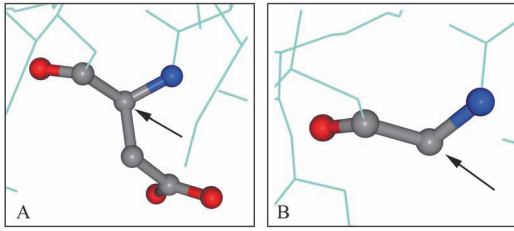


图 2 病例 2 的 NT5C3A 基因突变测序图 (箭头所示为突变位点)

精准诊断该病<sup>[9-10]</sup>。且须排除其他可能引起 P5'N-1 活性下降的疾患, 例如  $\beta$  型地中海贫血、血红蛋白病、铁粒幼细胞贫血、铅中毒等。

本文中的 2 例患者均为明确的溶血性贫血, 长期中度贫血, P5'N-1 活性下降, 分别检出了 NT5C3A 基因纯合突变或复合杂合突变。依据患者的病史、家族史、血液学检查、P5'N-1 活性测定、NT5C3A 基因检测情况, 可明确诊断为遗传性 P5'N 缺乏症。

通过查询 ClinVar 数据库和 HGMD 数据库, 本文中 c.773T>C (p.I258T) 为已知致病性突变<sup>[11]</sup>, 其他两个突变位点 c.830A>G (p.D277G) 和 c.252+1G>A 均为新发突变。c.830A>G (p.D277G) 位于 NT5C3A 基因第 10 外显子, 突变导致 277 位的天冬氨酸 (酸性氨基酸) 替代为甘氨酸 (非极性、疏水性氨基酸), Swiss-model 模拟 P5'N-1 蛋白三级结构可见侧链消失 (图 3), 推测突变位点可能影响了 P5'N-1 的酶催化效能或热稳定性, 继而降低酶的活性。而 c.252+1G>A 位于第 5 外显子的高度保守区, 邻近于已知的突变位点 c.251dupA<sup>[12-13]</sup>。c.251-252insA 造成第 83 位密码子插入了 1 个碱基, P5'N-1 的酶活性降至正常人的 27.5%。推测本文



A:NT5C3A 基因野生型 c.830A(p.D277)蛋白结构模拟,可见侧链结构完整(箭头处);B:NT5C3A 基因突变型 c.830A>G(p.D277G)的蛋白结构模拟,可见侧链消失(箭头处)

图3 NT5C3A 基因的野生型和突变型蛋白结构模拟图

中的剪接突变 c.252+1G>A 可能导致 NT5C3A 基因部分功能丧失,破坏酶的活性。依据 ClinVar 数据库,目前已报道的突变位点共 27 个,分别为错义突变 9 个,缺失突变 6 个,剪接突变 5 个,插入突变 4 个,无义突变 3 个。未检索到我国关于该病致病基因的报道。

这两例患者都携带 UGT1A1 基因突变 c.211G>A (p.G71R)<sup>[14]</sup>。例 1 为纯合子,合并 Gilbert 综合征,例 2 为杂合子,类似情况曾见于 Santos 等的报道<sup>[15]</sup>。据我们所知,这可能也是国内首次报道遗传性 P5'N 缺乏症合并 Gilbert 综合征。明确合并的 UGT1A1 基因突变的情况,有益于更准确地分析 NT5C3A 基因型-临床表型的关系。Gilbert 综合征<sup>[16]</sup>为一种较常见的遗传性胆红素代谢性疾病,呈常染色体隐性遗传模式,致病基因 UGT1A1 基因编码葡萄糖醛酸转移酶,该酶可使 IBIL 转变成 DBIL。当 UGT1A1 基因突变,其编码的酶功能受损,DBIL 生成减少,IBIL 水平增高。临床表现为慢性轻、中度的 IBIL 增高,无临床症状,也无溶血和肝损伤的证据。与溶血性贫血合并存在时,血清 IBIL 水平将进一步增高。由于与溶血性贫血的临床表型重叠,当与溶血性贫血合并存在时,Gilbert 综合征极易被忽略和漏诊。在诊断溶血性贫血时,如溶血严重程度与血清胆红素水平不相称,且无明确的肝损伤时,需注意合并 Gilbert 综合征等遗传性胆红素代谢性疾病。通过二代基因测序技术检测覆盖相关致病基因突变,可明确诊断<sup>[17]</sup>。

本文于国内首次报道了该病的基因突变,并且报道了 2 个新发突变位点,也是我国关于遗传性 P5'N 缺乏症合并 Gilbert 综合征的首次报道。新发位点丰富了 NT5C3A 基因突变的数据,对于该病的基础和临床研究、精准诊断、甚至靶向治疗都将起到积极作用。

参考文献

[1] Valentine WN, Fink K, Paglia DE, et al. Hereditary hemolytic anemia with human erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency[J]. J Clin Invest, 1974, 54(4):866-879. DOI: 10.1172/JCI107826.  
 [2] Marinaki AM, Escuredo E, Duley JA, et al. Genetic basis of hemolytic anemia caused by pyrimidine 5' nucleotidase deficiency[J]. Blood, 2001, 97(11):3327-3332. DOI: 10.1182/blood.v97.11.3327.  
 [3] 杨舟,孙秀娟,白洁,等. 丙酮酸激酶缺乏并嘧啶 5'核苷酸酶减

低症一例[J]. 中华血液学杂志, 2009, 30(8):573. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2009.08.021.  
 [4] 杜传书,谢江新,王菁,等. 遗传性红细胞嘧啶 5'-核苷酸酶缺乏症(一例报告)[J]. 中华血液学杂志, 1990, 11(11): 567-569. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.1990.11.104.  
 [5] 马则敏,赵玉环,吴昆凤,等. 红细胞嘧啶 5'-核苷酸酶缺乏性溶血性贫血(一例报告)[J]. 中华血液学杂志, 1990, 11(11): 570-572. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.1990.11.105.  
 [6] Vives i Corrons JL. Chronic non-spherocytic haemolytic anaemia due to congenital pyrimidine 5' nucleotidase deficiency: 25 years later[J]. Baillieres Best Pract Res Clin Haematol, 2000, 13(1):103-118. DOI: 10.1053/beha.1999.0060.  
 [7] Zanella A, Bianchi P, Fermo E, et al. Hereditary pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency: from genetics to clinical manifestations [J]. Br J Haematol, 2006, 133(2):113-123. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2006.05992.x.  
 [8] Chiarelli LR, Morera SM, Galizzi A, et al. Molecular basis of pyrimidine 5'- nucleotidase deficiency caused by 3 newly identified missense mutations (c.187T>C, c.469G>C and c.740T>C) and a tabulation of known mutations [J]. Blood Cells Mol Dis, 2008, 40(3): 295-301. DOI: 10.1016/j.bcmd.2007.10.005.  
 [9] Kim Y, Park J, Kim M. Diagnostic approaches for inherited hemolytic anemia in the genetic era[J]. Blood Res, 2017, 52(2): 84-94. DOI: 10.5045/br.2017.52.2.84.  
 [10] 李园. 开创我国先天性红细胞疾病分子诊断新局面[J]. 临床血液学杂志, 2020, 33(11):737-741. DOI: 10.13201/j.issn.1004-2806.2020.11.001.  
 [11] Manco L, Relvas L, Silva Pinto C, et al. Molecular characterization of five Portuguese patients with pyrimidine 5'-nucleotidase deficient hemolytic anemia showing three new P5'N-I mutations [J]. Haematologica, 2006, 91(2):266-267.  
 [12] Balta G, Gumruk F, Akarsu N, et al. Molecular characterization of Turkish patients with pyrimidine 5' nucleotidase-I deficiency [J]. Blood, 2003, 102(5):1900-1903. DOI: 10.1182/blood-2003-02-0628.  
 [13] Kanno H, Takizawa T, Miwa S, et al. Molecular basis of Japanese variants of pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency [J]. Br J Haematol, 2004, 126(2):265-271. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05029.x.  
 [14] Teng HC, Huang MJ, Tang KS, et al. Combined UGT1A1 and UGT1A7 variant alleles are associated with increased risk of Gilbert's syndrome in Taiwanese adults[J]. Clin Genet, 2007, 72(4):321-328. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2007.00873.x.  
 [15] Ad S, Dantas LE, Traina F, et al. Pyrimidine-5'- nucleotidase Campinas, a new mutation (p.R56G) in the NT5C3 gene associated with pyrimidine-5'-nucleotidase type I deficiency and influence of Gilbert's Syndrome on clinical expression [J]. Blood Cells Mol Dis, 2014, 53(4):246-252. DOI: 10.1016/j.bcmd.2014.05.009.  
 [16] Memon N, Weinberger BI, Hegyi T, et al. Inherited disorders of bilirubin clearance[J]. Pediatr Res, 2016, 79(3):378-386. DOI: 10.1038/pr.2015.247.  
 [17] Li Y, Li Y, Yang Y, et al. Next generation sequencing reveals co-existence of hereditary spherocytosis and Dubin-Johnson syndrome in a Chinese girl: A case report [J]. World J Clin Cases, 2019, 7(20):3303-3309. DOI: 10.12998/wjcc.v7.i20.3303.  
 (收稿日期:2021-04-23)  
 (本文编辑:刘爽)