

两个戈谢病家系的临床特征和基因分析

李世俊¹ 郑维维² 孙明媛² 齐军元² 姜波²

¹天津市第四中心医院血液科 300140; ²中国医学科学院血液病医院(血液学研究所)

GCP中心 300020

通信作者:姜波, Email: jiangbo@ihcams.ac.cn

基金项目:血液系统疾病新药临床评价技术平台建设(2017ZX09304024)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.09.014

Clinical features and genetic manifestations of two families with Gaucher's disease

Li Shijun¹, Zheng Weiwei², Sun Mingyuan², Qi Junyuan², Jiang Bo²

¹Department of Hematology, Tianjin Fourth Central Hospital, Tianjin 300140, China; ²GCP Center,

Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Jiangbo, Email: jiangbo@ihcams.ac.cn

戈谢病为常染色体隐性遗传病,溶酶体内的酸性β-葡萄糖苷酶缺陷,使葡萄糖脑苷脂贮积在各器官的单核巨噬细胞系统中形成戈谢细胞,可表现为血细胞减少、肝脾肿大及神经系统症状^[1]。戈谢病由GBA基因突变导致,目前已发现500多种基因突变类型,包括错义突变,剪接位点突变,核苷酸插入、缺失,结构基因与假基因之间交换。根据发病急缓及神经是否受累分为I型(慢性非神经型)、II型(急性神经病变型)、III型(亚急性神经病变型)3型,其中I型最常见,可合并肺动脉高压、肝硬化、B细胞淋巴瘤、帕金森病(PD)^[2]。本研究报道2个戈谢病家系的临床表现和基因分析结果。

病例资料

家系1,先证者女,汉族,56岁,因“肢体震颤1年,血小板减少4个月,口干10 d”于2016年8月29日收住入院。入院1年前无明显诱因出现左侧肢体不自主震颤,静止时明显,活动笨拙,行动不便,伴疲乏无力,当地医院诊断为“帕金森病”,予“多巴丝肼、盐酸苯海索”口服。10 d前出现口干、眼干(伴磨砂感),当地医院查血常规:WBC $3.6 \times 10^9/L$ 、ANC $2.07 \times 10^9/L$ 、HGB 111 g/L、PLT $82 \times 10^9/L$;骨髓象:红系比例偏高,片中可见一类细胞,疑似戈谢细胞。患者为进一步明确诊断来我院就诊。入院后血常规:WBC $3.61 \times 10^9/L$ 、ANC $2.18 \times 10^9/L$ 、RBC $4.23 \times 10^{12}/L$ 、HGB 126 g/L、PLT $115 \times 10^9/L$ 。肝肾功能、电解质、血脂、尿酸、凝血、感染相关标志物(HIV+TP+HAV)均正常。骨髓象:三系增生,红系比例增高,戈谢细胞易见。骨髓活检:HE及PAS染色示骨髓增生较活跃(60%),戈谢细胞呈片状或小簇状聚集,可识别的粒红系细胞散在分布,巨核细胞不少,分叶核为主,网状纤维染色(MF-1级),免疫组化:CD68⁺、CD1a⁻、S-100⁻、CD163⁺、CD30⁻、Langerin⁻、Lysozyme 粒细胞⁺。染色体核型:46,XX [20]。白血病融合基因TCRγ、TCRβ、IGH、IGK均阴性。B超

提示肝实质回声增强,脾轻度大,胆胰未见明显异常。β-葡萄糖苷酶活性 $0.84 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ (参考值 $> 6.8 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$)。先证者直系亲属β-葡萄糖苷酶活性:母亲 $4.00 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$,哥哥 $5.00 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$,妹妹 $13.43 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$,长女 $3.58 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$,次女 $5.93 \text{ nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。诊断:戈谢病(I型)。GBA基因突变检测结果提示先证者及家系成员都具有R120W、D409H、L444P、A456P和V460V杂合突变,先证者及其母亲、长女均有S196P、G202R、F213I杂合突变,此外先证者还有N188K/S、V191G杂合突变。先证者口腔黏膜标本GBA基因测序结果与外周血检测结果完全一致(表1)。先证者确诊后未接受治疗。

家系2,先证者男,汉族,21岁,因腹胀16余年于2016年9月20日收住入院。入院前16年无明显诱因出现左腹部胀满不适,进食差,后腹胀感进行性加重,5年前发现血小板偏低(具体数值不详),不伴有出血倾向。后腹胀感明显加重,纳差,进少量食物后出现恶心,无呕吐,无腹痛,为进一步诊治至当地医院诊断为“巨脾、脾功能亢进、慢性胃炎”。于2016年8月30日行“脾脏切除术”,脾脏病理示:脾窦和脾索内充满弥漫性或结节性排列的细胞,该类细胞体积大,细胞核小,居中或偏位,胞质丰富,微嗜酸性;免疫组化示:CD68⁺、CD163⁺、CK⁻、Vim⁺、P53⁻、Ki-67⁻,特殊染色:PAS(+),病理诊断:(脾)类脂质沉积症,考虑“戈谢病”,累及脾门淋巴结。后为进一步诊治收住本院。入院后血常规:WBC $7.39 \times 10^9/L$ 、ANC $3.05 \times 10^9/L$ 、RBC $6.15 \times 10^{12}/L$ 、HGB 155 g/L、PLT $758 \times 10^9/L$ 。肝肾功能、电解质、心肌酶、血脂、免疫球蛋白、感染相关标志物(HIV+TP+HAV)均正常。骨髓象:骨髓增生明显活跃,可见戈谢细胞。骨髓活检:HE及PAS染色示骨髓增生较活跃(80%~90%),粒红比例增大,粒系各阶段细胞可见,以中幼及以下阶段细胞为主,红系各阶段细胞可见,以中晚幼红细胞为主,巨核细胞不少,分叶核为主;组织

表 1 戈谢病家系 1 的 GBA 基因突变分析报告

外显子	突变位点	母亲	哥哥	先证者		妹妹	长女	次女
				外周血	口腔黏膜			
5	c.475C>T; p.R120W	+	+	+	+	+	+	+
6	c.680A>G, 681T>G; p.N188K/S	未测	未测	+	+	未测	未测	未测
6	c.689T>G; p.V191G	未测	未测	+	+	未测	未测	未测
6	c.703T>C; p.S196P	+	-	+	+	-	+	-
6	c.721G>A; p.G202R	+	-	+	+	-	+	-
6	c.754T>A; p.F213I	+	-	+	+	-	+	-
9	c.1342G>C; p.D409H	+	+	+	+	+	+	+
10	c.1448T>C; p.L444P	+	+	+	+	+	+	+
10	c.1483G>C; p.A456P	+	+	+	+	+	+	+
10	c.1497G>C; p.V460V	+	+	+	+	+	+	+

细胞呈结节状及间质性增生,胞质丰富,可见少量皱褶,网状纤维染色(MF-1级),免疫组化:Lysozyme⁺、CD68⁺、MPO 粒细胞⁺、CD34⁻、CD117⁻、CD20⁻、CD3⁻。染色体核型:46,XY [20]。骨髓电镜:可见到细胞直径 40 μm,胞质丰富,含大量泡沫物质,为戈谢细胞。脾脏病理:脾脏结构破坏,髓窦扩张,见一类大细胞结节状增生,胞体大,胞质丰富,胞核圆形,核染色质稍粗,可见核仁,免疫组化:Vim⁺、CD68⁺、CD163⁺、CK⁻、P53⁻、Ki67 阳性率<10%。β-葡萄糖苷酶活性 0.85 nmol·h⁻¹·mg⁻¹(参考值>6.8 nmol·h⁻¹·mg⁻¹)。先证者直系亲属β-葡萄糖苷酶活性:父亲为 4.11,母亲为 4.20,妹妹为 7.63。诊断:戈谢病(I型)。同时检测先证者及直系亲属 GBA 基因突变,结果提示所有人均具有 R120W、D409H、L444P、A456P 和 V460V 杂合突变,父亲和先证者具有 M123V 杂合突变,而仅有先证者具有 N188K/S、V191G 杂合突变。先证者口腔黏膜 GBA 基因突变,发现口腔黏膜测序结果与其父亲外周血检测结果完全一致(表 2)。先证者确诊后未接受治疗。

讨论及文献复习

戈谢病的诊断主要依据葡糖脑苷脂酶活性检测,外周血白细胞或皮肤成纤维细胞中葡糖脑苷脂酶活性明显降低至正常值的 30% 以下时可诊断戈谢病。葡糖脑苷脂酶活性检测是诊断戈谢病最有效、最可靠的方法。对于少数酶活性轻度降低患者,需检测壳三糖酶,并进一步做基因突变检测以确诊。但此两种分析方法均存在缺陷。因为普通人存在缺失壳三糖酶活性的可能,导致结果假阳性,故壳三糖检测只能辅助诊断^[1]。基因突变分析要求较高的实验室检测水平。GBA 突变多达 500 余种,以错义突变最常见。因受到 GBA 基因下游 16 kb 处一高度同源的假基因 GBAP 的影响,可造成基因检测的假阳性^[3],同样单个突变类型检测阴性时,亦不能排除戈谢病诊断。此外,检测环境、修饰基因等其他因素也可以影响基因诊断的结果。

家系 1 先证者以肢体不自主震颤为首表现,血常规示 WBC、PLT 减少,骨髓涂片及活检均可见戈谢细胞,外周血

表 2 戈谢病家系 2 的 GBA 基因突变分析报告

外显子	突变位点	父亲	母亲	先证者	
				外周血	口腔黏膜
5	c.475C>T; p.R120W	+	+	+	+
5	c.484A>G; p.M123V	+	-	+	+
6	c.680A>G, 681T>G; p.N188K/S	未测	未测	+	-
6	c.689T>G; p.V191G	未测	未测	+	-
6	c.703T>C; p.S196P	-	-	-	-
6	c.721G>A; p.G202R	-	-	-	-
6	c.754T>A; p.F213I	-	-	-	-
9	c.1342G>C; p.D409H	+	+	+	+
10	c.1448T>C; p.L444P	+	+	+	+
10	c.1483G>C; p.A456P	+	+	+	+
10	c.1497G>C; p.V460V	+	+	+	+

β-葡萄糖苷酶活性为 0.84,据此诊断为戈谢病 I 型。检测先证者及其直系亲属的 GBA 基因,先证者及其母亲、长女均有 S196P、G202R、F213I 杂合突变;此外先证者还有 N188K/S、V191G 杂合突变,考虑后两种突变来源于其父亲。故考虑先证者为复合杂合型。而所有人都具有的 R120W、D409H、L444P、A456P 和 V460V 考虑为高度同源的假基因 GBAP 导致的假阳性。研究发现 N188S 为轻型突变,使 GBA 酶活性轻度降低,与戈谢病 I 型相关,且见于中国患者^[4]。多项报道发现 N188S(包括纯合和杂合突变)可以引发肌阵挛性癫痫^[5-6],如携带 N188S/N188S 突变患者表现为严重的内脏受累、癫痫以及小脑综合征,上述数据均提示 N188S 突变表现为癫痫症状,可以解释先证者症状。S196P 和 G202R 的纯合突变多见于 II 型患者,而杂合突变多见于 I 型患者。G202R 突变和严重的临床表现相关,占中国人突变频率的 1.3%,在 III 型患者均见报道。梅世月等^[7]发现 1 例 II 型患者存在 R120W 和 G202R 复合杂合突变。F213I 突变在 III 型戈谢病中均有表现,在疾病临床表型上起到修饰作用。故本例患者以 PD 发病,与 N188S 突变有关。戈谢病患者发生 PD 与经典的 PD 不同,一般发病的年龄较早,治疗困难,一项家族性 PD 的研究发现,10 例携带 GBA 基因突变的家族发展为 PD,在

患病和不患病的亲属中检测DNA,发现了L444P突变的杂合子与PD相关^[8],且在后续研究得到进一步证实^[3,9]。但对于此例患者,L444P突变并不是致病突变。由此综合分析,此例患者发病属于复合杂合型,N188S突变引发癫痫症状,当合并S196P、G202R、F213I杂合突变,共同表现为以PD发病的I型戈谢病。

家系2基因突变提示,先证者及其直系亲属均具有R120W、D409H、L444P、A456P和V460V的杂合突变,考虑为高度同源的假基因GBAP导致的假阳性,而仅有先证者携带的致病突变M123V、N188K/S、V191G与本病有关。其中M123V突变来源于父亲;N188K/S、V191G这两个突变在患者口腔黏膜测序中未发现,考虑为患者出生后的新发突变。有资料发现I型戈谢病患者表现为血小板减少及进行性脾大,基因突变检测发现R120W、V191G和G202R^[10]。Wan等^[11]发现1例血小板减少合并脾大的I型戈谢病患者存在M123V纯合突变,其父亲、母亲、儿子、女儿及妹妹均为M123V杂合突变。所以我们推断家系2先证者出现脾大、血小板减少,与V191G、M123V突变均相关,为复合杂合型突变。本例患者也有N188K/S突变,但并未表现出神经系统症状,说明戈谢病的基因型与临床表型之间相关性复杂,相同基因型的患者临床表型可以不同。

GBA基因型与临床表型相关性较复杂,基因的变异可影响酶活性及稳定性,受个体特有的遗传构成及环境因素等的影响,相同基因型的患者可表型不同,不同的基因型可以表型相同,大部分GBA基因突变类型可出现在各型戈谢病患者中,因多数突变为杂合突变,增加预测其临床表型的难度^[12]。临床医师应综合分析,合理诊断,以确定后续治疗、随访方案。

目前对于戈谢病的治疗主要包括酶替代治疗、底物减少疗法、基因疗法、分子伴侣疗法以及干细胞移植等。目前酶替代疗法对I型戈谢病效果满意,最常用的为伊米苷酶,能够显著缩小患者的肝脾体积,恢复血红蛋白及血小板水平。需指出的是,当合并有严重肺疾病时不推荐应用酶替代疗法^[13]。另还有底物减少疗法,美格鲁特、伊格鲁特经FDA批准上市为用于成人I型戈谢病,尚未批准用于儿童。对于II型、III型戈谢病目前尚无有效的治疗方法。

综上所述,戈谢病的临床表现多种多样,酶活性检测是戈谢病诊断的金标准,GBA基因突变检测可以辅助诊断。戈谢病临床表型与基因型的相关性较复杂,增加临床医师分析的难度。二代测序技术等的广泛应用,有利于医师对本病有更深入的认识,做到早期诊断、早期治疗。

参考文献

[1] 张惠文,顾学范.应重视戈谢病的实验室诊断[J].中华医学杂

志,2009,89(44):3099-3100. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2009.44.002.

- [2] Serratrice C, Cox TM, Leguy-Seguín V, et al. Splenic Artery Aneurysms, A Rare Complication of Type 1 Gaucher Disease: Report of Five Cases[J]. J Clin Med, 2019, 8(2) DOI: 10.3390/jcm8020219.
- [3] Leija-Salazar M, Sedlazeck FJ, Toffoli M, et al. Evaluation of the detection of GBA missense mutations and other variants using the Oxford Nanopore MinION [J]. Mol Genet Genomic Med, 2019, 7(3):e564. DOI: 10.1002/mgg3.564.
- [4] 张为民,邓亮生,孟岩,等.中国人戈谢病基因突变的分析[J].中华医学杂志,2009,89(48):3397-3400. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2009.48.004.
- [5] Filocamo M, Mazzotti R, Stroppiano M, et al. Early visual seizures and progressive myoclonus epilepsy in neuronopathic Gaucher disease due to a rare compound heterozygosity (N188S/S107L)[J]. Epilepsia, 2004, 45: 1154-1157.
- [6] Kowarz L, Goker-Alpan O, Banerjee-Basu S, et al. Gaucher mutation N188S is associated with myoclonic epilepsy[J]. Hum Mutat, 2005, 26(3):271-273; author reply 274-275. DOI: 10.1002/humu.20217.
- [7] 梅世月,白楠,胡爽,等. II型戈谢病3个家系基因突变分析及产前诊断[J].中华医学杂志,2017,97(28):2220-2223. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.28.013.
- [8] Goker-Alpan O, Schiffmann R, LaMarca ME, et al. Parkinsonism among Gaucher disease carriers[J]. J Med Genet, 2004, 41(12):937-940. DOI: 10.1136/jmg.2004.024455.
- [9] Velez-Pardo C, Lorenzo-Betancor O, Jimenez-Del-Rio M, et al. The distribution and risk effect of GBA variants in a large cohort of PD patients from Colombia and Peru[J]. Parkinsonism Relat Disord, 2019. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2019.01.030.
- [10] Du X, Ding Q, Chen Q, et al. Three mutations of adult type 1 Gaucher disease found in a Chinese patient: A case report [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(47):e13161. DOI: 10.1097/MD.00000000000013161.
- [11] Wan L, Wu H, Xie F, et al. Thrombocytopenia and GBA gene mutation in a patient with adult type 1 Gaucher disease [J]. Platelets, 2017, 28(8): 829-831. DOI: 10.1080/09537104.2017.1306044.
- [12] 中华医学会儿科学分会遗传代谢内分泌学组,中华医学会儿科学分会血液学组.中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组.中国戈谢病诊治专家共识(2015)[J].中华儿科杂志,2015,53(4): 256-261. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2015.04.006.
- [13] 闫伟洋,冯文化.戈谢病及相关治疗药物[J].中国新药杂志,2015,24(13):1493-1497.

(收稿日期:2019-02-22)

(本文编辑:刘爽)