

遗传性铁粒幼细胞贫血新突变一例报告及文献复习

韩潇 文钦 刘学 万锴 颜红菊 张诚 张曦

陆军军医大学新桥医院血液病医学中心, 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室, 全军血液病中心, 重庆市医学重点学科, 重庆 400037

通信作者: 文钦, Email: qiqi105@sina.com

基金项目: 重庆市技术创新与发展专项面上项目 (cstc2019jscx-msxmX0147)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.07.013

New mutation of congenital sideroblastic anemia: a case report and literature review

Han Xiao, Wen Qin, Liu Xue, Wan Kai, Yan Hongju, Zhang Cheng, Zhang Xi

Medical Center of Hematology, Xinqiao Hospital of Army Medical University, State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, PLA Blood Disease Center, Chongqing Key Discipline of Medicine, Chongqing 400037, China

Corresponding author: Wen Qin, Email: qiqi105@sina.com

X 连锁铁粒幼细胞贫血 (XLSA) 是遗传性铁粒幼细胞贫血 (CSA) 最常见类型 (约占 40%)^[1], 由位于 Xp11.21 染色体上的红系特异性 5'-氨基乙酰丙酸合酶 2 (ALAS2) 基因突变引起并表现出 X 连锁遗传模式^[2]。XLSA 特征为骨髓中无效红细胞生成、大量的环形铁粒幼红细胞、小细胞低色素性贫血以及血清铁和铁蛋白水平升高^[3]。目前, 已鉴定出 104 种不同的 ALAS2 突变。本研究中, 我们报道了一个新发现的 ALAS2 基因 V110Afs*2 移码突变并进行文献复习如下。

病例资料

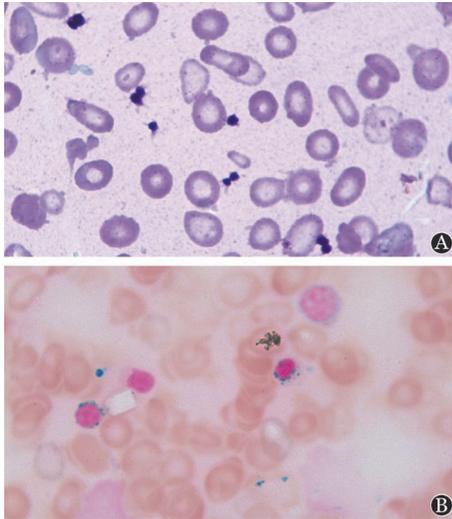
患者, 男, 16 岁, 因“反复头昏、乏力 2 年”于 2019 年 10 月 15 日就诊我院。患者 2 年前开始反复出现头晕、乏力, 当地医院查血常规提示小细胞低色素性贫血并予对症治疗, 症状无改善, 需反复输血, 为求进一步诊治来我院。查体: 重度贫血貌, 全身皮肤黏膜无黄染及出血, 浅表淋巴结未触及肿大, 胸骨无压痛, 心肺未见明显异常, 肝脾肋缘下未触及, 双下肢无水肿。既往史及家族史无特殊。血常规: WBC $5.58 \times 10^9/L$ 、RBC $2.5 \times 10^{12}/L$ 、HGB 51 g/L、平均红细胞体积 (MCV) 70 fl、平均血红蛋白含量 (MCH) 20.4 pg、平均血红蛋白浓度 (MCHC) 291 g/L、红细胞分布宽度 (RDW) 38.8%、网织红细胞绝对计数 (Ret) $3.3 \times 10^9/L$ 、PLT $858 \times 10^9/L$; 铁蛋白: $>2000 \mu g/L$; 血清铁: 34.1 mmol/L; 外周血涂片: 无核红细胞形态大小不一, 中心淡染区扩大, 椭圆、泪滴、棒状、碎片等异形红细胞可见 (图 1A); 骨髓象: 增生活跃, 粒系占 0.280, 红系占 0.675, 粒红比值为 0.41, 红系增生活跃, 以中晚幼红细胞增生为主, 形态可见体积小、胞质蓝染、核固缩, 淋巴细胞占 4.5%, 全片见巨核细胞 48 个, 环状铁粒幼红细胞增多 (69%), 细胞内铁 81%, 细胞外铁 (++) , 红细胞形态提示小

细胞低色素, 考虑环形铁粒幼细胞贫血 (图 1B)。骨髓活检: 增生性骨髓象 (红系比例增高)。流式免疫分型: 粒系减低, 红系比例增高, 可见 CD71 减弱。FISH: 5 号、7 号、8 号、20 号、性染色体未见异常。染色体核型: 46,XY[10]。

根据患者的临床表现及相关实验室检查结果, 经患儿父母知情同意, 采集患儿外周静脉血行基因测序, 结果显示, 患儿 ALAS2 基因第 4 外显子的 329-332 位点 TCAG 缺失 (c.329-332delTCAG), 相应的氨基酸残基 110 处的缬氨酸变为丙氨酸, 并在 112 个氨基酸终止编码 (p.V110Afs*2) (图 2A)。在人类基因突变数据库 (The Human Gene Mutation Database, HGMD) 中未见相关报道。Polyphen 2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) 软件预测中得分为 0.00, 该突变无害; SIFT (<http://sift.jcvi.org>) 软件预测值为 0.033, 该突变对蛋白质功能影响不确定, 然而本例患儿却有重度贫血, 该变异不属于多态性位点, 在人群中发生频率较低。采集其母亲外周血进行测序显示, 患儿母亲为相应位点同样的杂合突变 (图 2B), 患儿的上述变异遗传自母亲, 可推断为致病性变异。结合遗传学、临床表现及病理学, 综合分析诊断为 XLSA。予维生素 B₆ (100 mg/d) 口服, 治疗 1 个月后 HGB 水平明显升高 (HGB 76 g/L、MCV 92.5 fl、MCH 22.7 pg、MCHC 245 g/L、RDW 24.8%), 目前 HGB 已恢复正常。

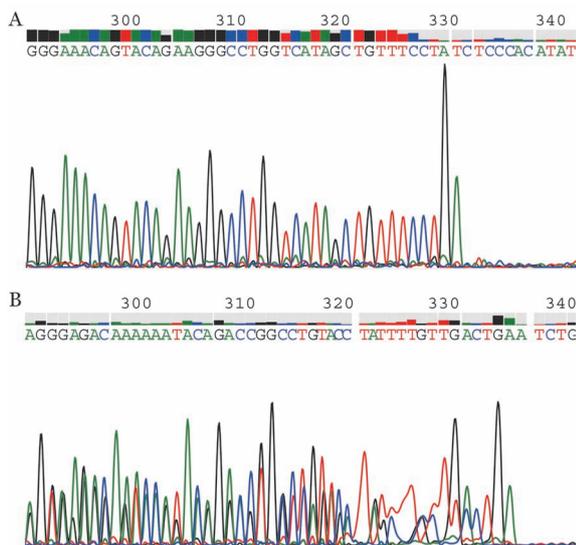
讨论及文献复习

CSA 是一组极为罕见的异质性疾病, 由 Cooley^[4] 于 1945 年首次报道, 1992 年 Cotter 等^[5] 在 XLSA 患者中首次发现 ALAS2 基因突变, 并揭示了 XLSA 的致病基因。临床上, XLSA 患者通常为半合子男性, 发病年龄多 < 40 岁, 初诊断为不同程度的小细胞性贫血^[3], 然而, 也有中年 XLSA 病例



A: 外周血涂片示无核红细胞形态大小不一,中心淡染区扩大,可见椭圆、泪滴、棒状、碎片等异形红细胞;B:骨髓铁染色可见红细胞成串排列及大量环形铁粒幼细胞

图1 遗传性铁粒幼细胞贫血患者外周血涂片及骨髓铁染色结果



A: 患者 ALAS2 基因第 4 外显子 c.329-332delTCAG (p.V110Afs*2), 为半合子; B: 患者母亲 ALAS2 基因第 4 外显子 c.329-332delTCAG (p.V110Afs*2), 为杂合子

图2 遗传性铁粒幼细胞贫血患者及其母亲 ALAS2 基因测序结果

的报道,多诊断为铁过载^[6]。但也有少数男性不会发病^[7]。大多数杂合子女性没有贫血的临床表现,因为正常的 ALAS2 蛋白可维持必需数量的红细胞产生,已报道的少量女性病例和家族性病例,可能是偏斜的 X 染色体失活和后天因素影响了 ALAS2 正常等位基因表达^[8-9]。目前报道的 104 种 ALAS2 突变中,尚未见 V110Afs*2。本研究为首次发现 XLSA 家系 ALAS2 基因 V110Afs*2 突变。

在血红素生物合成途径的第一步中,线粒体基质中的甘氨酸和琥珀酰辅酶 A 缩合成 5-氨基乙酰丙酸(ALA),此反应由 ALA 合成酶催化,在反应过程中吡哆醛 5'-磷酸(PLP,维

生素 B₆)作为关键辅助因子,通过稳定琥珀酰部分的碳基和甘氨酸α-碳的相互位置,从而增强 ALA 合成酶的活性。随后,ALA 被转运到细胞质中,参与血红素的合成^[3]。Bailey 等^[10]报告了人类 ALAS2 晶体结构,ALAS 突变后可引起 ALAS 蛋白构象发生改变,其 C 端延伸折叠到催化核心顶部形成 loop 结构,降低了对底物琥珀酰辅酶 A 的结合,从而影响了 ALA 合成效率。此外,人类 ALAS2 与 PLP 采用一组高度保守的相互作用,主要涉及催化核心的中心子结构域。因此,我们推测 PLP 能够结合 ALAS 突变后形成的 loop 结构,抑制其进入 ALAS 酶活性中心顶部,由此增加 ALAS 酶与琥珀酰辅酶 A 的结合,从而增加 ALA 合成效率。人类 ALA 合成酶由 ALAS2 基因编码,当 ALAS2 基因发生功能丧失性突变时,ALAS2 的酶活性降低,ALA 不能有效生成,而转铁蛋白受体仍然稳定,因此摄入铁不能有效利用并积累在线粒体中。

XLSA 患者的 ALAS2 基因突变通常是保守氨基酸的错义突变,通过改变 ALAS2 构象而导致功能丧失^[3,11-12]。在近一半的病例中,PLP 治疗效果良好,从而恢复酶活性并改善小细胞低色素性贫血^[10]。但仍有部分患者对吡哆醇治疗反应欠佳,ALAS2 基因突变位点不同影响治疗反应:产生过早终止密码子的无义突变和使 ALAS2 蛋白失去稳定性的突变均会导致维生素 B₆治疗无效;启动子突变导致 ALAS2 基因转录调控受损会导致维生素 B₆疗效不佳^[13-14]。对 ALAS2 基因突变的检测有助于准确诊断 CSA 及判断维生素 B₆疗效。维生素 B₆常用评价标准:①完全缓解:贫血治愈或接近治愈,HGB≥110 g/L;②部分缓解:贫血得到改善、血红蛋白水平升高 > 10 g/L 或症状缓解;③无效:血红蛋白水平没有升高或升高≤10 g/L^[15]。对于维生素 B₆难治性 SA 患者,可进行异基因造血干细胞移植,但疗效仍不明确^[16-17]。

迄今为止, HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>)中登记的 104 种 ALAS2 突变中大多数与 XLSA 相关,且多位于第 5~11 外显子的高度保守区^[6],主要影响 ALAS2 的催化活性或者与 PLP、甘氨酸或 sCoA 的结合^[18]。在本病例中检测到的突变 c.329-332delTCAG (p.V110Afs*2)位于第 4 外显子,该外显子突变的报道罕见。突变导致第 110 个氨基酸由甘氨酸变成丙氨酸,并在 112 个氨基酸终止编码。由于以前没有报道密码子 110 发生突变并且 Val110 不是已知的 PLP 结合位点,尚不清楚该突变如何影响 PLP 依赖性 ALAS2 活性,因此我们使用了 SIFT 和 Polyphen-2 来预测这种缺失突变的重要性,结果表明, SIFT 评分为 0.033, Polyphen-2 评分为 0。尽管预测分数较低,但 V110A 可能会产生功能改变的突变蛋白,从而引起 XLSA 发病,这种氨基酸取代的影响可能是间接的,但它可使蛋白质不稳定或影响酶催化作用^[19]。患者 ALAS2 基因 c.329-332delTCAG 变异遗传来自其母亲,其母亲该位点为杂合子,符合 X 连锁遗传方式,为患者发病的致病性变异。患者母亲未发病,大多数女性携带者因 ALAS2 基因表达正常而不发病,但若出现 X 染色体失活,可出现 X 连锁疾病临床表现。由于患者采用维生素 B₆治疗

有效,因此我们认为该突变可能影响ALAS2与PLP的相互作用。

参考文献

- [1] Camaschella C. Recent advances in the understanding of inherited sideroblastic anaemia [J]. *Br J Haematol*, 2008, 143(1):27-38. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07290.x.
- [2] May A, Bishop DF. The molecular biology and pyridoxine responsiveness of X-linked sideroblastic anaemia [J]. *Haematologica*, 1998, 83(1):56-70.
- [3] Fleming MD. Congenital sideroblastic anemias: iron and heme lost in mitochondrial translation [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2011, 2011:525-531. DOI: 10.1182/asheducation-2011.1.525.
- [4] Cooley TB. A severe type of hereditary anemia with elliptocytosis. Interesting sequence of splenectomy [J]. *Am J Med Sci*, 1945, 209:561-562.
- [5] Cotter PD, Baumann M, Bishop DF. Enzymatic defect in "X-linked" sideroblastic anemia: molecular evidence for erythroid delta-aminolevulinic synthase deficiency [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992, 89(9): 4028-4032. DOI: 10.1073/pnas.89.9.4028.
- [6] Méndez M, Moreno-Carralero MI, Morado-Arias M, et al. Sideroblastic anemia: functional study of two novel missense mutations in ALAS2 [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2016, 4(3): 273-282. DOI: 10.1002/mgg3.202.
- [7] Cazzola M, May A, Bergamaschi G, et al. Absent phenotypic expression of X-linked sideroblastic anemia in one of 2 brothers with a novel ALAS2 mutation [J]. *Blood*, 2002, 100(12):4236-4238. DOI: 10.1182/blood-2002-03-0685.
- [8] Cazzola M, May A, Bergamaschi G, et al. Familial-skewed X-chromosome inactivation as a predisposing factor for late-onset X-linked sideroblastic anemia in carrier females [J]. *Blood*, 2000, 96(13):4363-4365.
- [9] Sankaran VG, Ulirsch JC, Tchaikovskii V, et al. X-linked macrocytic dyserythropoietic anemia in females with an ALAS2 mutation [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(4):1665-1669. DOI: 10.1172/JCI78619.
- [10] Bailey HJ, Bezerra GA, Marcero JR, et al. Human aminolevulinic synthase structure reveals a eukaryotic-specific autoinhibitory loop regulating substrate binding and product release [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2813. DOI: 10.1038/s41467-020-16586-x.
- [11] Bottomley SS, Fleming MD. Sideroblastic anemia: diagnosis and management [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2014, 28(4):653-670, v. DOI: 10.1016/j.hoc.2014.04.008.
- [12] Furuyama K, Kaneko K. Iron metabolism in erythroid cells and patients with congenital sideroblastic anemia [J]. *Int J Hematol*, 2018, 107(1):44-54. DOI: 10.1007/s12185-017-2368-0.
- [13] Bekri S, May A, Cotter PD, et al. A promoter mutation in the erythroid-specific 5-aminolevulinic synthase (ALAS2) gene causes X-linked sideroblastic anemia [J]. *Blood*, 2003, 102(2): 698-704. DOI: 10.1182/blood-2002-06-1623.
- [14] Kaneko K, Furuyama K, Fujiwara T, et al. Identification of a novel erythroid-specific enhancer for the ALAS2 gene and its loss-of-function mutation which is associated with congenital sideroblastic anemia [J]. *Haematologica*, 2014, 99(2):252-261. DOI: 10.3324/haematol.2013.085449.
- [15] Liu G, Guo S, Kang H, et al. Mutation spectrum in Chinese patients affected by congenital sideroblastic anemia and a search for a genotype-phenotype relationship [J]. *Haematologica*, 2013, 98(12):e158-160. DOI: 10.3324/haematol.2013.095513.
- [16] Imataki O, Uchida S, Uemura M, et al. Graft failure after reduced-intensity stem cell transplantation for congenital sideroblastic anemia [J]. *Pediatr Hematol Oncol*, 2019, 36(1): 46-51. DOI: 10.1080/08880018.2019.1578844.
- [17] Kim MH, Shah S, Bottomley SS, et al. Reduced-toxicity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in congenital sideroblastic anemia [J]. *Clin Case Rep*, 2018, 6(9):1841-1844. DOI: 10.1002/ccr3.1667.
- [18] 陈昌明, 丁秋兰, 陆晔玲, 等. 一个X连锁遗传性铁粒幼细胞贫血家系的基因诊断及文献复习 [J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37(2):154-156. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.02.015.
- [19] Astner I, Schulze JO, van den Heuvel J, et al. Crystal structure of 5-aminolevulinic synthase, the first enzyme of heme biosynthesis, and its link to XLSA in humans [J]. *EMBO J*, 2005, 24(18):3166-3177. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600792.

(收稿日期:2021-01-17)

(本文编辑:刘爽)