

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002603

S945L 变异致囊性纤维化 1 例并文献复习

汪东海, 牛超, 代继宏, 田代印

(重庆医科大学附属儿童医院呼吸科、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、国家儿童健康与疾病临床医学研究中心、
儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地、儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014)

【摘要】目的:报道 S945L 变异致囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)1 例,并结合文献对该病在国内分子靶向治疗的现状及前景进行探讨。**方法:**对重庆医科大学附属儿童医院诊治的 1 例囊性纤维化跨膜传导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)特定位点 S945L 变异的 CF 患儿临床资料及基因结果进行分析。以“囊性纤维化”及“cystic fibrosis”和“China”为关键词,对中国知网、万方、维普数据库及 PubMed、Embase 数据库建库至 2019 年 7 月收录的论文进行检索,总结中国报道的可以通过分子靶向治疗的特定 CFTR 变异的 CF 患儿临床资料及基因变异特点,并结合文献进行分析。**结果:**患儿平素反复呼吸道感染,营养状况差,胸部 CT 提示广泛支气管扩张,2 次汗液氯离子浓度检测分别为 74 mmol/L、75 mmol/L,基因检测结果:CFTR 基因 R851X/S945L 复合杂合变异,最终确诊为 CF。文献检索发现中国目前报道的通过基因确诊的 90 例 CF 患者中,共 5 例患者携带可以通过分子靶向治疗的特定变异位点。携带出现频率最高的 G970D 位点的 15 例患儿极有可能通过靶向治疗,但尚无临床研究证实。**结论:**临床上表现为反复呼吸道感染、生长发育落后,有广泛支气管扩张的患儿需警惕 CF,需完善 CFTR 基因检测。中国 CF 患者中,可能符合靶向药物治疗条件的患儿所占比例大,治疗前景可观,条件允许情况下,需开展更多的临床研究,以期对这些患者延长寿命,提高生存质量。

【关键词】囊性纤维化;分子靶向治疗;儿童**【中图分类号】**R725.6**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2020-02-27

Cystic fibrosis caused by S945L variation: a case report and literature review

Wang Donghai, Niu Chao, Dai Jihong, Tian Daiyin

(Department of Respiration, Children's Hospital of Chongqing Medical University; Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders; National Clinical Research Center for Child Health and Disorders; China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders; Chongqing Key Laboratory of Pediatrics)

【Abstract】Objective: To report one case of cystic fibrosis (CF) caused by S945L variation, and to investigate the present state and perspectives of molecular targeted therapy for this disease in China. **Methods:** The clinical data and gene mutation of a CF case caused by S945L mutation in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) special site in Children's Hospital of Chongqing Medical University were analyzed. The literature till July 2019 was searched with key words of “cystic fibrosis” and “China” in the database of CNKI, Wanfang, VIP, PubMed and Embase. The clinical data and gene mutation of patients with cystic fibrosis caused by special mutations of CFTR gene reported in China were summarized and analyzed in combination with the literature. **Results:** The patient had recurrent respiratory tract infection and poor nutritional status, with chest CT suggesting extensive bronchiectasis. Results of sweat chloride concentration test were 74 mmol/L and 75 mmol/L, respectively. Gene detection demonstrated CFTR gene R851X/S945L compound heterozygous mutation, which was finally diagnosed as CF. According to the literature review, 90 patients with CF were reported in China, and 5 patients carried specific mutation sites that could be treated with molecularly targeted treatment. The 15 children with the G970D mutation were most likely to be treated with gene targeting therapy, without confirmed clinical study. **Conclusion:** Children with recurrent respiratory tract infection, slow growth development and extensive bronchiectasis

should guard against CF and the CFTR is in need. In China, more CF patients meet the requirements of targeted drug therapy, with considerable treatment prospect. Therefore, more clinical studies should be carried out when necessary, so as to increase patients' life span and improve life quality.

【Key words】cystic fibrosis; molecular targeting therapy; child

作者介绍: 汪东海, Email: guyezihan@126.com,

研究方向: 小儿呼吸。

通信作者: 田代印, Email: t_dy@163.com。

基金项目: 重庆市卫健委资助项目 (编号: 2018MSXM004)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200708.0907.002.html>

(2020-07-09)

囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)是高加索人群中一种常见的常染色体隐性遗传疾病,由囊性纤维化跨膜传导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)基因突变所致,常累及呼吸系统、消化系统、皮肤汗腺及生殖系统等,具有慢性、进行性、致死性等特点^[1]。目前在全世界有 70 000 多 CF 患者,主要聚集在欧洲、北美洲、澳大利亚等高加索人聚集区。由于 CF 在欧美发达国家发病率高,受重视程度高,且随着近年来分子生物学的快速发展,分子靶向治疗发展迅猛,使 CF 患者的寿命及生活质量明显提高。但该病在亚洲人群中少见,在日本其发病率约 1/35 万^[2],在韩国仅报道过 6 例患儿^[3]。在中国,目前暂无 CF 发病率相关流行病学报道。1993 年至今,中国共报道通过基因检测确诊 CF 约 90 例。遗憾的是,CF 在中国属于罕见病,临床表现缺乏特异性,易误诊、漏诊,且尚无分子靶向治疗药物上市。2019 年重庆医科大学附属儿童医院收治通过基因测序确诊 CF 1 例,且该 CFTR 基因缺陷为特定变异,可以通过分子靶向治疗。但由于条件受限,并未能进行靶向治疗,现将其临床特征及遗传学特点进行总结,并结合文献对 CF 分子靶向治疗的国内现状进行探讨。

1 病例资料

患儿,女,6 岁 8 个月,因“反复咳嗽、咳痰、喘息 3 年,加重伴发热 4 d”于 2018 年 11 月于重庆医科大学附属儿童医院呼吸科住院治疗。患儿 3 岁后即因“反复咳嗽、咳痰、喘息”于当地医院就诊,2~3 个月 1 次,每次均诊断为“支气管炎或肺炎”,于当地门诊输液、雾化等治疗后可好转。平素无反复腹泻、便秘等表现。本次住院前 4 d 患儿出现咳嗽、喘息加重,伴发热,外院予以抗感染、平喘等对症治疗病情稍缓解后入本院。患儿系母亲第 4 胎第 2 产,生后排胎便延迟,24 h 内未解胎便。第一胎因“宫内窘迫”胎死子宫中;第二胎为患儿同母异父哥哥,现 13 岁,体健;第三胎因宫内停止生长,自然流产。

入院体格检查:体温 37.1℃,呼吸 42 次/min,心率 122 次/min,血压 98/52 mmHg,经皮血氧饱和度 98%,体质量 15 kg,身高 108 cm。发育落后,营养不良貌。皮下脂肪薄,皮肤弹性稍差。唇红,湿润,唇周无紫绀。呼吸急促,可见吸气性三凹征,双肺呼吸音粗,可闻及细湿啰音及哮鸣音。心腹查体无异常。肢端暖,有杵状指(趾)。

辅助检查:粪便检查未见脂肪滴;血淀粉酶、血脂肪酶、尿淀粉酶均正常;肝肾功能、电解质、随机血糖、糖化血红蛋白均正常;痰培养及肺泡灌洗液培养提示:铜绿假单胞菌(半

定量 4⁺);肺泡灌洗液曲霉菌抗原检测阴性。胸部 CT 提示:双肺广泛病变,间质及实质均有,部分可见“马赛克征”,伴广泛支气管扩张,管壁增厚,可见“轨道征”及“印戒征”;肺功能检查:肺通气呈中度阻塞;舒张试验:阴性;支气管镜检查提示气管及支气管均可见大量脓性分泌物,各支气管见鱼鳞样改变,可窥见多级支气管。

治疗经过:入院后予头孢哌酮舒巴坦抗感染治疗 8 d,并予以 3 次支气管镜灌洗治疗,患儿咳嗽、咯痰好转出院。因高度考虑呼吸系统相关遗传疾病可能,住院期间完善全外显子测序(由北京迈基诺基因科技有限公司完成)。2019 年 5 月患儿再次因“咳嗽、咳痰、喘息加重伴发热”于本院住院治疗,复查胸部 CT 提示与前片(2018 年 11 月 7 日)比较,双肺仍见广泛病变,以广泛支气管扩张为主,与前片大致相仿;复查支气管镜检查仍可见各级气道均有大量脓性分泌物;肺泡灌洗液培养及痰培养仍提示铜绿假单胞菌(半定量 4⁺),再次予以头孢哌酮舒巴坦抗感染治疗 1 周后好转出院,出院后予以小剂量阿奇霉素口服,普米克及高渗盐水雾化治疗。出院后在院外用美国 Wescor 公司的 Macroduct 汗水收集和分析系统 2 次检测汗液试验氯离子浓度为 74 mmol/L、75 mmol/L。

基因测序结果:患儿 CFTR 基因有一个复合杂合变异:c.2551C>T(R851X)/c.2834C>T(S945L)。患儿父亲 CFTR 基因存在 R851X 变异,但未检测到 S945L 变异;患儿母亲 CFTR 基因存在 S945L 变异,但未检测到 R851X 变异。患儿父母均体健,无慢性呼吸道疾病及消化道疾病表现。关于 R851X,于 1991 年被报道为 CF 致病性变异^[4],在美国 CFTR2 基因数据库中(<https://www.cftr2.org>)检索“R851X”,显示目前登记在册的有 27 位 CF 患者携带该变异;关于 S945L,于 1993 年被报道为 CF 致病性变异^[5],在 CFTR2 基因数据库中检索“S945L”,显示目前登记在册的有 161 名 CF 患者携带该变异;但检索“R851X”and“S945L”,没有检索到任何结果,提示无相关病例登记,本例患儿为 1 种新的复合杂合变异。

2 文献复习

分别以“囊性纤维化”及“cystic fibrosis”and“China”为关键词,对中国知网、万方、维普数据库及 PubMed、Embase 数据库建库至 2019 年 7 月收录的论文进行检索,相关病例报道共 45 篇,因存在重复报道最终入选 39 篇文献,除本例患儿外共 90 例通过基因测序最终确诊的 CF 患者,其中 5 例患者携带可以通过分子靶向治疗的特定变异。病例 1^[6]:女,确诊时 20 岁,13 岁前反复腹泻及流脓涕,因铜绿假单胞菌肺部感染多次住院,肺部有广泛支气管扩张表现;姐姐 4 个月时因肺炎去世,有一妹妹因反复铜绿假单胞菌肺部感染及支气管扩张于 16 岁时死亡;其 CFTR 基因变异类型为 3849+10kb C->T 纯合变异。病例 2^[7]:男,确诊时 6 个月,该患儿反复肺部感染,同时有低钠血症、低钾血症及代谢性碱中毒,伴营养不良,汗液氯离子浓度检测 112 mmol/L,其 CFTR 基因变异类型为 c.1766+5G>T/3272-26A>G 复合杂合变异。病例

3^例:女,确诊时 6 个月,反复肺部感染,痰培养提示铜绿假单胞菌感染,同时有低钠血症、低钾血症、代谢性碱中毒等假性 Bartter 综合征表现,汗液氯离子浓度检测为 123.4 mmol/L,其 CFTR 基因变异类型为 R347H/c.4056G>C 复合杂合变异。病例 4^例:女,确诊时 7 岁 6 个月,有反复呼吸道感染,有营养不良表现,彩超提示胰腺边缘不规则,回声增粗,其 CFTR 基因发现 G178R 变异。病例 5^例:女,确诊时 6 个月,有反复腹泻合并营养不良,有反复肺部感染及鼻窦炎表现,有胰腺炎病史,彩超提示胰腺边缘不规则,回声增粗,其 CFTR 基因发现 G178R 变异。5 例患者均为 2012 年后报道,其报道单位分别来自台湾、香港、湖北、北京、北京,现均存活,予以呼吸道管理、胰酶补充、营养支持等对症治疗,均未接受分子靶向治疗。在 90 例患者中,共发现 174 个变异位点,其中出现频率最高的 G970D 出现 17 次,15 例患者携带该变异。现体外试验已证实,携带 G970D 变异患者鼻上皮细胞经 Ivacaftor 治疗后,其 CFTR 功能明显得到改善^[9],因欧美国国家携带该变异的患者极少,未有相应的临床试验证实。这 15 名患者极有可能符合分子靶向治疗的条件。

3 讨 论

因 CF 带来的严重社会负担,欧美国国家重视程度高,早期便进行基因筛查,美国 CF 基金会数据 (<https://www.cff.org>) 表明,美国 CF 中心 CF 患儿平均确诊年龄为 6 个月,2017 年 58.4% 的患儿为通过新生儿筛查确诊,因而他们可以尽早开始最有效的治疗。但在亚洲地区发病率低,且 CF 最常表现为反复呼吸道感染,临床症状缺乏特异性,加之中国临床医师对疾病的认识不足,早期容易误诊及漏诊。本例患儿近 7 岁才被确诊,确诊时患儿肺部已有广泛的不可逆的支气管扩张表现,错过了最佳治疗时机。

CF 病因是患者体内的 CFTR 基因存在缺陷,导致外分泌腺导管上皮细胞分泌氯离子和水减少,从而影响机体内分泌液变得黏稠,阻塞管腔,可使细菌在其间繁殖,并引发感染及免疫介导的炎症反应,造成相应脏器功能进行性受损^[1]。依据 CFTR 合成、结构和功能的异常,通常将 CFTR 基因变异分为 5 类。I 类突变通常致不能合成 CFTR 蛋白;II 类突变能合成 CFTR 蛋白,但由于蛋白空间结构的错误折叠,使氯化物不能转运至细胞表面,约占 CF 人群中的 88%,F508del 即属于该类;III 类突变指能够合成功能正常的 CFTR 蛋白,可以将氯化物转运至细胞表面,但其转运通道不开放;IV 类突变则是指能合成 CFTR 蛋白,可以将氯化物转运至细胞表面,且有开放的通道,但其通道功能异常,不能正常转运

氯化物;V 类突变指功能正常 CFTR 蛋白可将氯化物通过开放通道转运,但 CFTR 蛋白数量不够。不同 CFTR 突变类型可引起不同的临床表现,I 类和 II 类突变临床表现最重,V 类突变因部分氯离子通道存在正常功能因此表现较轻;III、IV、V 类突变因存在 CFTR 蛋白,仅其转运通道或蛋白数量受限,可以通过 CFTR 调节剂进行靶向治疗。

除营养支持、控制感染、呼吸道管理等对症综合治疗外^[1],分子靶向治疗可以针对 CFTR 功能缺陷这一源头问题从根源上进行攻克。随着近年来分子靶向治疗迅猛发展,CF 患者的生存率显著提高^[12]。美国 CF 基金会数据表明,2017 年登记的死亡病例中平均年龄为 31 岁,预计 2017 年出生的婴儿中有一半人预期寿命能超过 46 岁。针对某些特定变异人群,目前经美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市的有 4 种靶向治疗药物,即 CFTR modulators:ivacaftor (kalydeco)、lumacaftor/ivacaftor (orkambi)、tezacaftor/ivacaftor (symdeko) 和 trikafta ivacaftor。Ivacaftor 是全球首个 CF 靶向治疗药物,是一种 CFTR 增强剂(potentiator),通过增加 CFTR 蛋白通道的开放概率,增加氯化物的转运,从而起到相应的治疗作用。该药的使用可以改善 CF 患者的肺功能、促进体质量的增长和减轻呼吸系统症状,降低汗液氯化物浓度使之低于诊断阈值^[13-14]。该药可用于携带特定 38 种 CFTR 基因变异中任意一种且年龄在 6 个月以上的 CF 患者。本例患儿所携带的 S945L 变异及文献检索中其他 5 例患儿分别所携带的 G178R、R347H、3272-26A→G、3849+10kbC→T,恰为该 38 种变异中的一种。理论上讲,这些患儿都可以通过 ivacaftor 进行治疗。Symdeko 由 tezacaftor 和 ivacaftor 组合而成,其中 tezacaftor 是 CFTR 矫正器。该药主要用于 12 岁以上的 F508del 纯合变异患者,也可用于携带 26 种特定 CFTR 基因变异中任意一种且年龄在于 12 岁以上的 CF 患者,这 26 种特定变异包含 S945L、R347H、3272-26A→G、3849+10kbC→T。理论上讲,本例患儿及文献检索中的 3 例患儿,12 岁以后也可使用 tezacaftor/ivacaftor (symdeko) 进行治疗。另外,orkambi 是由 lumacaftor 和 ivacaftor 组合而成,但其仅用于 2 岁以上的 F508del 纯合变异 CF 患者。Trikafta 则是于 2019 年 10 月 21 日刚刚由 FDA 批准上市的分子靶向治疗药物,由 tezacaftor、ivacaftor 和 elexacaftor 组合而成,用于 12 岁以上且至少有一个 F508del 变异

的患者,其治疗有效性比其他分子靶向药物更明显。

本例患儿所携带的 S945L 变异用 ivacaftor 进行干预治疗。体外试验表明,可使 CFTR 蛋白功能表达从 6%增至 76%,携带氯离子的能力提高 12.6 倍^[15]。体内临床试验进一步证实,ivacaftor 治疗使 1 例患者 S1(S945L/G542X)CFTR 蛋白功能表达从 9%增至 47%,tezacaftor/ivacaftor 治疗使另 1 例患者 S2(S945L/F508del)CFTR 蛋白功能表达从 12%增至 63%,均近乎达到 CF 变异携带者的水平^[16]。因此,预测本例患儿使用 ivacaftor 治疗及 12 岁后使用 tezacaftor/ivacaftor 治疗,应该疗效显著,能最大程度弥补 S945L 所致的 CFTR 蛋白功能缺陷。遗憾的是,ivacaftor 及 tezacaftor/ivacaftor 在中国并未上市,无法购买,不能对该患儿进行最有效的靶向治疗。文献检索到的其余 5 例患儿,因条件受限均未能使用分子靶向治疗,肺功能及生活质量均未得到明显改善。不仅如此,统计中国报道的 90 例基因确诊的患儿中,共检测出 174 个变异位点,其中 G970D 出现最多,共出现 17 次,共 15 例患者携带该变异。体外试验已证实,携带 G970D 变异患者鼻上皮细胞经 ivacaftor 治疗后,其 CFTR 功能明显得到改善^[10],因欧美国家携带该变异人数较少,并没有进行临床试验进行验证。该变异位点于 1999 年首次在中国患者身上发现^[17],且目前中国拥有最多携带该变异位点的患者。体外试验证实携带该变异位点患者对 ivacaftor 有效,然而中国尚无靶向治疗药物上市,并不能进行临床试验以证实疗效。中国 CF 患者基因突变谱与欧美国家存在较大差异,从目前报道的病例分析来看,近 1/4(21/90)的患者可能通过分子靶向治疗,且从目前情况预测来讲,国内变异位点更多倾向于Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ类,可能还有更多患者能够接受分子靶向治疗,并能从中获益。条件允许情况下,国内临床工作者应尽可能开展临床研究以证实其疗效。

综上所述,对于生长发育受限、反复呼吸道感染、有广泛支气管扩张等表现的患儿,需考虑到 CF 可能,需完善基因测序确诊。中国 CF 患者中,可能符合分子靶向治疗条件的患者所占比例大,中国临床工作者应尽可能开展临床研究以证实其疗效,以提高患者生活质量,延长患者寿命。

参 考 文 献

- [1] Elborn JS. Cystic fibrosis[J]. Lancet, 2016, 388(10059): 2519–2531.
- [2] Yamashiro Y, Shimizu T, Oguchi S, et al. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1997, 24(5): 544–547.
- [3] Sohn YB, Ko JM, Jang JY, et al. Deletion of exons 16–17b of CFTR is frequently identified in Korean patients with cystic fibrosis[J]. Eur J Med Genet, 2019, 62(8): 103681.
- [4] White MB, Leppert M, Nielsen D, et al. A de novo cystic fibrosis mutation: CGA(Arg) to TGA(stop) at codon 851 of the CFTR gene[J]. Genomics, 1991, 11(3): 778–779.
- [5] Claustres M, Laussel M, Desgeorges M, et al. Analysis of the 27 exons and flanking regions of the cystic fibrosis gene: 40 different mutations account for 91.2% of the mutant alleles in southern France[J]. Hum Mol Genet, 1993, 2(8): 1209–1213.
- [6] Liu LC, Shyur SD, Chu SH, et al. Cystic fibrosis: experience in one institution[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2014, 47(4): 358–361.
- [7] Leung GK, Ying D, Mak CC, et al. CFTR founder mutation causes protein trafficking defects in Chinese patients with cystic fibrosis[J]. Mol Genet Genomic Med, 2017, 5(1): 40–49.
- [8] Qiu L, Yang F, He Y, et al. Clinical characterization and diagnosis of cystic fibrosis through exome sequencing in Chinese infants with Bartter-syndrome-like hypokalemia alkalosis[J]. Front Med, 2018, 12(5): 550–558.
- [9] Wang GL, Zhao CN, Zhou J, et al. Clinical analysis of 11 children with pancreatic cystic fibrosis[J]. Zhonghua Er Ke Za Zhi, 2017, 55(5): 373–376.
- [10] Amato F, Scudieri P, Musante I, et al. Two CFTR mutations within codon 970 differently impact on the chloride channel functionality[J]. Hum Mutat, 2019, 40(6): 742–748.
- [11] Savant AP, McColley SA. Cystic fibrosis year in review 2018, part 2[J]. Pediatr Pulmonol, 2019, 54(8): 1129–1140.
- [12] Savant AP, McColley SA. Cystic fibrosis year in review 2018, part 1[J]. Pediatr Pulmonol, 2019, 54(8): 1117–1128.
- [13] Rosenfeld M, Wainwright CE, Higgins M, et al. Ivacaftor treatment of cystic fibrosis in children aged 12 to <24 months and with a CFTR gating mutation (ARRIVAL): a phase 3 single-arm study[J]. Lancet Respir Med, 2018, 6(7): 545–553.
- [14] Accurso FJ, Rowe SM, Clancy JP, et al. Effect of VX-770 in persons with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation[J]. N Engl J Med, 2010, 363(21): 1991–2003.
- [15] Van Goor F, Yu H, Burton B, et al. Effect of ivacaftor on CFTR forms with missense mutations associated with defects in protein processing or function[J]. J Cyst Fibros, 2014, 13(1): 29–36.
- [16] Kim J, Davies Z, Dunn C, et al. Ivacaftor restores CFTR-dependent sweat gland fluid secretion in cystic fibrosis subjects with S945L alleles[J]. J Cyst Fibros, 2018, 17(2): 179–185.
- [17] Wagner JA, Vassilakis A, Yee K, et al. Two novel mutations in a cystic fibrosis patient of Chinese origin[J]. Hum Genet, 1999, 104(6): 511–515.

(责任编辑:冉明会)