

让罕见病“不罕见”

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003003

肝细胞核因子 4 α 基因突变致先天性高胰岛素血症合并 Fanconi 综合征 1 例报道

刘竹枫, 王文红, 王 欣

(天津市儿童医院/天津大学儿童医院肾脏科, 天津 300400)

A case report of congenital hyperinsulinemia with Fanconi syndrome caused by HNF4 α gene mutation

Liu Zhufeng, Wang Wenhong, Wang Xin

(Department of Nephrology, Tianjin Children's Hospital/Tianjin University Children's Hospital)

【中图分类号】R725.9

【文献标志码】B

【收稿日期】2021-03-25

先天性高胰岛素血症血症 (congenital hyperinsulinemia, CHI) 是由胰岛 β 细胞持续不适当分泌胰岛素导致的严重低血糖症, 其临床特征为婴儿期出现高胰岛素性低血糖, 是婴幼儿持续性、频发性低血糖的主要原因。目前已发现多种基因与 CHI 有关, 肝细胞核因子 4 α (hepatocyte nuclear factor 4 alpha, HNF4 α) 的基因发生功能缺失性突变引起 CHI 是 CHI 的罕见类型。2012 年 Stanescu DE 等^[1]首次报道了 HNF4 α R63W 基因突变引起的 CHI 同时合并 Fanconi 综合征 (Fanconi syndrome, FS), 目前仅有 16 例个案报道^[1-3], 临床罕见。作为一种临床综合征, 高胰岛素性低血糖伴 FS 是其特征性的表现。现报告 1 例由该基因突变引起 CHI 合并 FS 的患儿临床资料并相关文献复习, 以提高临床医生对该病的认识。

1 临床资料

病史摘要: 先证者, 男, 汉族, 2 岁 5 个月。因反复低血糖伴尿检异常 2 年余入住天津市儿童医院。患儿自生后 2 h 因出汗明显发现低血糖于外院住院治疗, 血糖最低 1.9 mmol/L, 并伴肝功能损害、胆汁淤积, 血糖 2.2 mmol/L 时, 测同期胰岛素水平 5.982 μ IU/mL ($>2 \mu$ IU/mL), C 肽 2.63 ng/mL (>1.5 ng/mL), 血浆 β 羟丁酸 0.2 mmol/L (<2.0 mmol/L); 尿糖 2+, 尿酮体阴性, 外院诊断“先天性高胰岛素血症、肾性糖尿,

肝功能损害”。先后予纠正低血糖、口服二氮嗪及保肝等治疗, 患儿血糖逐渐正常, 仅表现为空腹低血糖, 但仍有持续尿糖, 1 岁 5 个月出现尿蛋白阳性, 定性 1+~2+, 并逐渐出现生长发育迟缓、肾功能异常、代谢性中毒故转至天津市儿童医院, 病程中不伴抽搐、无浮肿、无烦渴、多饮、多尿、夜尿增多表现, 智力发育正常。患儿系其母第二胎第二产, 孕 37 周因胎膜早破剖宫产娩出, 生后 Apgar 评分 9 分, 出生体质量 4 500 g。患儿父母体健, 非近亲婚配, 兄 15 岁, 体健, 否认糖尿病、高胰岛素血症等家族史, 否认肾脏病家族史。入院后体格检查: 体温 36.7 $^{\circ}$ C, 呼吸 22 次/min, 脉搏 105 次/min, 血压 85/55 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa), 身高 85 cm (位于同年龄同性别组第 1.88 个标准差), 体质量 10.6 kg (低于同年龄同性别组 2 个标准差)。神志清, 无特殊面容, 全身皮肤无发绀及黄疸, 两肺呼吸音清, 未闻及啰音。心律齐, 心音有力。腹软, 肝肋下 4 cm, 质中边钝, 剑突下 2.5 cm, 质中, 脾肋下 2.5 cm, 质中缘锐。辅助检查: 空腹血糖 2.2~3.86 mmol/L, 餐后血糖正常, 胰岛素 6.49 pmol/L (参考范围 17.8~173 pmol/L), C 肽 0.12 nmol/L (参考范围 0.37~1.4 nmol/L), 血氨 50 μ mol/L (参考范围 18~72 μ mol/L), 血乳酸 1.41 mmol/L (参考范围 0.5~2.2 mmol/L), 尿常规 SG 1.007, pH 6.5, 尿蛋白 2+, 葡萄糖 4+, 尿糖定量 678 mg/d (参考范围 <0.15 mg/d), 尿蛋白定量 459~770 mg/d (参考范围 <150 mg/d)。尿蛋白电泳 $\beta 2$ 微球蛋白 10%, 视黄醇结合蛋白 12.5%, 游离轻链 7%, $\alpha 1$ 微球蛋白 8.7%, 游离轻链二聚体 6.2%, 白蛋白 43.9%, 转铁蛋白 8.3%, IgG+IgA 3.4%。尿钙定量 12.38~12.45 mg/(kg $\cdot$ d) [参考范围 <4 mg/(kg $\cdot$ d)], 磷重吸收分数 58.2% (参考范围 $>85\%$), 血

作者介绍: 刘竹枫, Email: liuzhufeng406@sina.cn,

研究方向: 小儿肾脏病。

通信作者: 王文红, Email: docwwh@163.com。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200717.1640.040.html>

(2022-04-01)

酰基肉碱谱发现癸酰肉碱和十八烯酰肉碱及 3 羟基丙酸略有增高,尿遗传代谢病筛查示轻度酮尿症伴氨基酸尿和糖尿。血肌酐 $60 \mu\text{mol/L}$,血尿素氮 9.4 mol/L ,Schwartz 公式计算内生肌酐清除率(Ccr) $68.9 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$;肝功能正常,电解质正常,腹部超声肝脾增大,胆囊结石,肾脏大小结构无异常。既往外院头颅 MRI 提示胼胝体薄略短,垂体核磁未见异常。

遗传学分析:①标本采集及脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid,DNA)提取:经监护人签署知情同意书并通过医院医学伦理委员会批准(批准文号:L2020-37),基因测序由天津金域医学检验实验室完成。用乙二胺四乙酸(edetic acid, EDTA)抗凝管抽取患儿及父母外周静脉血各 2 mL,采用 QIAamp DNA 提取试剂盒(QIAGEN 公司)抽提全基因组 DNA。②二代测序:提取的 DNA 用 DNA 酶片段化后用磁珠法进行纯化,随后进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增并连接上接头序列,经 TruSight One Sequencing Panel(美国 illumina Inc 公司)2 次捕获及纯化,再经 PCR 扩增和纯化后获得的最终文库在 NovaSeq6000 测序仪(美国 illumina Inc 公司)上对 4 811 个相关基因的外显子区进行测序。③一代测序验证(Sanger 法):对可疑候选突变的位点设计 PCR 引物进行扩增及进行 Sanger 测序验证,并对患儿父母相应位点进行检测。④数据分析及致病性分析:将所有数据比对到参考序列,采用默认设置对数据进行注释。滤去在

任何一个大型的人群频率数据库,包括外显子组整合数据库(exome aggregation consortium, ExAC),基因组突变频率数据库(genome aggregation database, gnomAD),外显子 6500 测序计划(exome sequencing project, ESP6500),千人基因组数据库中频率超过 5%,但保留在人类基因突变数据库(human gene mutation database, HGMD)、ClinVar 数据库中被标记为可能具有致病性的变异;结合患儿临床情况、家族史,以及生物信息学软件预测结果,对各个基因的功能、变异情况以及遗传模式进行分析,筛选出候选变异。参考美国医学遗传学及基因组学学会指南(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)指南,判断变异的性质。⑤基因检测结果:结果显示位于先证者常染色体(chr20:43034835)上的 *HNF4α* 基因(NM_175914.4)第 2 外显子区存在 c.187C>T(p.R63w)杂合错义变异,该变异可使编码蛋白质第 63 位氨基酸由精氨酸变成色氨酸(p.Arg63Trp)(图 1)。先证者父母未检测到该位点的突变,提示该突变为新发突变。该突变既往已报道。生物信息学软件预测其致病可能性较大,ACMG 指南评估变异位点的变异证据为 PS2+PS4+PM1+PM2+PM5+PP3,证实该变异为致病性变异,致病性等级为强。结合临床表现,患儿确诊为 *HNF4α* p.R63w 变异导致的 CHI 伴 FS。

治疗及随访:先证者入院后即予骨化三醇纠正骨质疏松、枸橼酸钠钾纠正肾小管性酸中毒,补充左旋肉碱改善线粒体功能等联合治疗,至 2021 年 1 月,共随访 20 个月,患

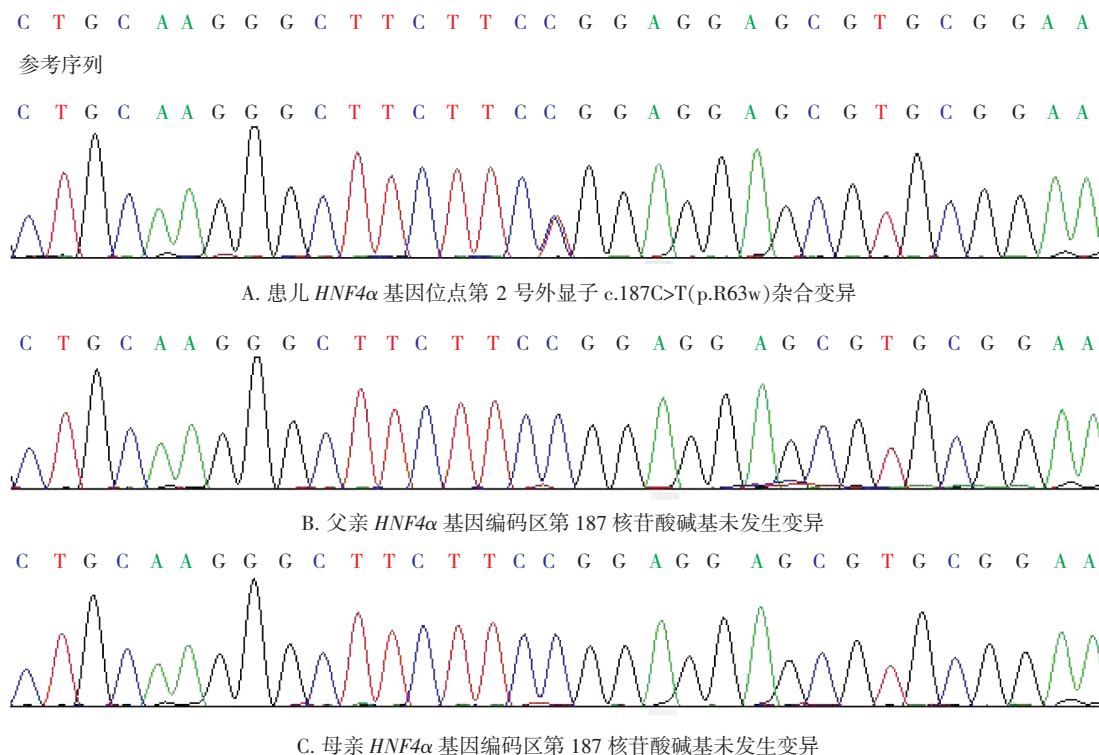


图 1 *HNF4α* 基因变异致高胰岛素血症伴范可尼综合征患儿 Sanger 测序验证结果

儿目前 4 岁 1 个月,体质量 12.5 kg(低于同年龄同性别组 2 个标准差),身高 94 cm(低于同年龄同性别组 2 个标准差),智力发育正常,空腹低血糖(血糖波动于 2.8~3.9 mmol/L),餐后血糖正常,肝肾功能正常,血气正常,尿常规仍示蛋白尿(尿蛋白 1+~2+),糖尿(尿葡萄糖 4+),高钙尿症[尿钙定量 7.52~10.67 mg/(kg·d)];腹部超声提示胆囊结石,肾脏大小形态正常,未见肾钙化,肝脾肿大较前好转。

文献检索及文献复习:以“高胰岛素血症”“范可尼综合征”“*HNF4α* 基因”为关键词在中国知网、万方数据库及维普数据库检索,以“Fanconi syndrome”“*HNF4α*”“Hyperinsulinemic hypoglycemia”为关键词在 PubMed 数据库(建库至 2021 年 2 月)进行数据检索。共检索到世界范围内无任何关联的 13 个家系的 16 例病例报道了该突变^[1-8],其中中国 2 例^[7-8]。对 16 例患儿的临床表型进行总结如下,性别比例男女比例为 1:1,100%的患儿存在 CHI、低血糖及 FS,68%为巨大儿;FS 最小发病年龄为新生儿期,81%的患儿 5 岁前即出现 FS;87%的患儿出现高钙尿症或肾钙质沉着;43%的患儿表现出不同程度的肝脏损害,包括黄疸、肝脾肿大、肝酶的异常增高、胆汁淤积或胆囊结石,部分可恢复正常;68%有生长发育迟缓或身材矮小;50%有佝偻病表现;50%出现肾功能损害并进展为慢性肾功能不全;2 例(12%)患儿分别在 12 岁及 20 岁患上糖尿病;1 例(6%)合并严重的听力损害^[7];1 例(6%)合并癫痫^[8]。

2 讨论

CHI 是婴幼儿期和儿童期持续反复低血糖的重要原因之一,其主要临床特征是婴儿期即可出现高胰岛素性低血糖。迄今已发现 14 种与 CHI 相关的基因,分为 2 类:与 ATP 敏感性钾通道相关的 *ABCC8*、*KCNJ11* 基因,与代谢病相关的 *GLUD1*、*GCK*、*HADH*、*UCP2*、*SLC16A1*、*HNF4A*、*HNF1A*、*HK1*、*FOXA2*、*CACNA1D*、*PPM2* 和 *PGM1* 基因,其中, *KCNJ11* 基因和 *ABCC8* 基因失活突变是 CHI 最常见的原因,占 CHI 的 40%~45%;其他基因突变占 CHI 患者的 5%~10%;其余 50% 的 CHI 患者致病基因不明^[9]。*HNF4α* 基因变异导致的 CHI 是 CHI 的罕见类型。据欧美国家报道,*HNF4α* 突变所致 CHI 占 CHI 总数的 0.42%~2.30%,国内报道约为 0.9%,本病通常以常染色体显性方式遗传,偶见新生突变^[10]。该类型的 CHI 患儿出生时多为巨大儿,发生低血糖的年龄较早,通常在生后 1 周左右发病。低血糖症状轻重不一,可表现为短暂的低血糖或持续到儿童后期的低血糖。目前尚无统一的诊断标准,临床常用的诊断标准^[11]:当血糖<2.5 mmol/L 时同时存在①高胰岛素血症:血浆胰岛素>2 mU/L;②低脂肪酸血症:血浆游离脂肪酸<1.5 mmol/L;③低酮血症:血浆 β-羟丁酸<1.5 mmol/L;

④1 mg 静脉胰高血糖素的反应:血糖上升>30 mg/dL。本例患儿为男性,出生体质量 4 500 g,为巨大儿,生后 2 h 即出现低血糖,血糖<2.5 mmol/L 时测同期胰岛素及 C 肽水平增高、血浆 β-羟丁酸减低,尿酮体阴性,提示存在胰岛素的异常分泌,支持 CHI 诊断,符合文献报道的 *HNF4α* 变异导致的 CHI 的临床特征。该型患儿对二氮嗪治疗均有效,并可随年龄的增长,部分患儿的低血糖可自然缓解。本例患儿新生儿期应用二氮嗪治疗有效,目前患儿餐后血糖正常,仅表现为禁食时间长后的低血糖,恢复进食后可缓解。本患儿目前复查 C 肽、胰岛素水平低于正常,经复习文献可知即使经过治疗该病有罹患糖尿病的风险。因此,在随访过程中,应警惕胰岛分泌受损进展为糖尿病的可能,定期密切监测血糖,胰岛素水平,必要时可行糖耐量试验。

HNF4α 基因是核激素受体超家族的转录因子,该基因位于染色体 20q13.12,编码肝细胞核因子 4α,*HNF4α* 在细胞发育、分化和代谢中起着关键作用,尤其是在内脏内皮、肝脏、肠、肾脏和胰腺 β 细胞中,并维持葡萄糖稳态。*HNF4α* 基因缺陷最早被认为与青少年单基因糖尿病(maturity-onset diabetes of the young, MODY)有关,是由于胰岛 β 细胞对葡萄糖的胰岛素分泌反应受损所致。在新生儿期,*HNF4α* 基因突变可表现为高胰岛素血症性低血糖及巨大儿。*HNF4α* 基因突变导致新生儿期 CHI、低血糖及 MODY 这种双向表型的机制还不清楚,可能与早期胰岛素分泌增加和后期胰岛 β 细胞衰竭有关^[10]。

HNF4α 基因变异目前仅有 *HNF4α* p.R63w 特异性突变可使肾脏受累致 FS。2012 年,Stanescu DE 等^[11]首次报道了一例 *HNF4α* p.R76W 突变的病例(由于基因组注释的差异,这种突变被称为 R76W 或 R63W),主要表现为伴有 CHI 的 FS,临床罕见,目前仅有 13 个家系的 16 例个案报道^[1-8]。FS 是由近端肾小管功能受损导致的多种中小分子物质重吸收障碍综合征,临床表现为肾小管酸中毒、肾性糖尿、氨基酸尿、磷酸盐尿、碳酸盐尿等。FS 分为遗传性和获得性 2 种,前者与多种先天性代谢缺陷相关,如胱氨酸病、半乳糖血症、糖原累积病、肝豆状核变性、Lowe 综合征等,而获得性 FS 多与药物、重金属中毒、干燥综合征、多发性骨髓瘤等有关。本例患儿存在生长发育迟缓、小分子量蛋白尿、肾性糖尿、氨基酸尿、磷重吸收分数下降及代谢性酸中毒,表现出近端肾小管对多种物质的重吸收障碍,符合范可尼综合征临床表现,经基因检测证实患儿存在 *HNF4α* 基因 c.187C>T(p.R63w)杂合错义突变导致 FS。然而,人们对该变异位点在肾脏中的作用知之甚少,病理机制尚未明确。一项对发育中小鼠肾脏中基因表达的分析表明,*HNF4α* 是近曲小管内的候选基因,*HNF4α* 对分化的近端小管的形成是必需的,由于近端小管的缺乏,*HNF4α*

突变小鼠出现类似 FS 的症状^[12]。一项果蝇肾细胞的研究显示 *HNF4α* p.R63w 突变造成了近端小管上皮细胞的线粒体缺陷和脂滴积聚,进而引发内质网扩张、自噬,最终导致细胞死亡。由于 R63 残基位于 *HNF4α* 基因的 DNA 结合域中,因此 R63W 突变很可能干扰 *HNF4α* 与其靶基因的结合导致近端小管功能的缺失^[13]。一项肾活检研究发现 *HNF4α* p.R63w 在维持肾脏线粒体完整性方面发挥重要作用,而近端小管上皮细胞需要消耗大量能量,*HNF4α* p.R63w 突变可能通过对线粒体的影响导致近端肾小管功能障碍^[14]。

HNF4α p.R63w 突变肾损害除 FS 表型外,大多数患儿可出现高钙尿症或肾钙质沉着,16 例患儿中近半数患儿出现肾功能损害并进展为慢性肾功能不全。此外还可表现出不同程度的肝脏损害,包括黄疸、肝脾肿大、肝酶异常增高、胆汁淤积或胆囊结石,部分可恢复正常;亦有合并癫痫及严重听力损害的个例报道^[7-8]。由此可见,该病的预后并不乐观,可出现多系统损害,随着时间的推移,多系统损伤的表现会有所不同,高钙尿症的患儿可能会进展为肾钙化,胆汁淤积的患儿进展为胆囊结石,即使经过治疗,已有 2 例患儿罹患糖尿病,半数的患儿出现慢性肾功能不全。因此在随访过程中,要密切监测血糖、胰岛功能,注意并发糖尿病的风险,监测尿钙水平,随访肾脏影像学变化,同时还要监测肝肾功能、生长发育情况,治疗上除治疗低血糖外,还需限糖,并低蛋白、低钙饮食,最大限度延缓疾病进展。综上所述,对于新生儿期有高胰岛素血症合并 FS 病史的,应警惕 *HNF4α* p.R63W 突变,并注意疾病不同时期多系统受累的不同变化。

参 考 文 献

- [1] Stanescu DE, Hughes N, Kaplan B, et al. Novel presentations of congenital hyperinsulinism due to mutations in the MODY genes: *HNF1A* and *HNF4A*[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2012, 97(10): E2026–E2030.
- [2] Hamilton AJ, Bingham C, McDonald TJ, et al. The *HNF4A* R76W mutation causes atypical dominant Fanconi syndrome in addition to a beta cell phenotype[J]. J Med Genet, 2014, 51(3): 165–169.
- [3] Numakura C, Hashimoto Y, Daito T, et al. Two patients with *HNF4A*–related congenital hyperinsulinism and renal tubular dysfunction; a clinical variation which includes transient hepatic dysfunction[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2015, 108(3): e53–e55.
- [4] Improda N, Shah P, Guemes M, et al. Hepatocyte nuclear factor–4 alfa mutation associated with hyperinsulinaemic hypoglycaemia and atypical renal Fanconi syndrome: expanding the clinical phenotype[J]. Horm Res Paediatr, 2016, 86(5): 337–341.
- [5] Clemente M, Vargas A, Ariceta G, et al. Hyperinsulinaemic hypoglycaemia, renal Fanconi syndrome and liver disease due to a mutation in the *HNF4A* gene[J]. Endocrinol Diabetes Metab Case Rep, 2017, 2017: 16–0133.
- [6] Walsh SB, Unwin R, Kleta R, et al. Fainting Fanconi syndrome clarified by proxy: a case report[J]. BMC Nephrol, 2017, 18(1): 230.
- [7] Liu JJ, Shen Q, Li GM, et al. *HNF4A*–related Fanconi syndrome in a Chinese patient: a case report and review of the literature[J]. J Med Case Rep, 2018, 12(1): 203–208.
- [8] 顾洁, 朱若昕, 李栋. 经基因分析确诊的原发性范可尼综合征一例报告[J]. 天津医药, 2018, 46(4): 422–426.
- [9] Gu J, Zhu RX, Li D. A case report of inherited Fanconi syndrome diagnosed by gene analysis[J]. Tianjin Med J, 2018, 46(4): 422–426.
- [10] Galcheva S, Al-Khawaga S, Hussain K. Diagnosis and management of hyperinsulinaemic hypoglycaemia[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2018, 32(4): 551–573.
- [11] 徐子迪, 惠培培, 张琳, 等. 肝细胞核因子 4α 型高胰岛素血症一例并文献复习[J]. 中华糖尿病杂志, 2020, 12(5): 323–327.
- [12] Xu ZD, Hui PP, Zhang L, et al. Hepatocyte nuclear factor 4α hyperinsulinemia: a case report and literature review[J]. Chin J Diabet Mellit, 2020, 12(5): 323–327.
- [13] De León DD, Stanley CA. Mechanisms of disease: advances in diagnosis and treatment of hypofinsulinism in neonates[J]. Nat Clin Pract Endocrinol Metab, 2007, 3(1): 57–68.
- [14] Marable SS, Chung E, Adam M, et al. Hnf4a deletion in the mouse kidney phenocopies Fanconi renal tubular syndrome[J]. JCI Insight, 2018, 3(14): e97497.
- [15] Marchesin V, Pérez-Martí A, Meur GL, et al. Molecular basis for autosomal–dominant renal Fanconi syndrome caused by *HNF4A*[J]. Cell Rep, 2019, 29(13): 4407–4421.
- [16] Barry WE, Thunel CS. The drosophila HNF4 nuclear receptor promotes glucose–stimulated insulin secretion and mitochondrial function in adults[J]. Elife, 2016, 17(5): e11183.

(责任编辑:唐秋姗)