

· 病例报告 ·

CYP21A2 基因 I172N, I2G, 8Del 杂合缺失的 21 羟化酶缺乏症 1 例报道及文献复习

黄绍含¹ 郑芬萍²¹浙江大学医学院, 杭州 310011; ²浙江大学医学院附属邵逸夫医院内分泌科, 杭州 310016

通信作者: 郑芬萍, Email: 3407004@zju.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20191008-10010

21-Hydroxylase deficiency with I172N, I2G, 8Del heterozygous deletion of CYP21A2 gene; a case report and literatures review Huang Shaohan¹, Zheng Fenping². ¹College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310011; ²Department of Endocrinology, The Affiliated Sir Run Run Shaw Hospital, College of

Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China

Corresponding author: Zheng Fenping, Email: 3407004@zju.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20191008-10010

先天性肾上腺皮质增生症 (CAH) 是一组以皮质醇合成受损为特征的常染色体隐性疾病。CAH 最常见的形式是由编码肾上腺类固醇 21-羟化酶的基因 CYP21A 突变引起的, 即 21 羟化酶缺乏症 (21-OHD)^[1]。按酶活性的缺陷程度, 21-OHD 可分为经典型 (失盐型和单纯男性化型) 和非经典型 (非典型或迟发型)。21-羟化酶基因包含有功能的 CYP21A2 真基因和无功能的 CYP21A1P, 能编码 21-羟化酶的为 CYP21A2 基因, 由于这两个基因排列位置相近且同源度很高, 因此大部分 21-羟化酶等位基因突变与真假基因在细胞减数分裂期出现同源重组偏差或连锁不平衡所致的真假基因错配有关^[2]。基因型和临床表型常常一致, 尤其在经典型患者中, 但在同一患者中存在 I172N、I2G、Del8 和 -113bp 单核苷酸多态性 (SNP) 基因杂合缺失临床罕见。本文报道浙江大学附属邵逸夫医院内分泌科收治的表现为经典失盐型伴多发基因杂合缺失的 21-OHD 患者 1 例, 旨在提高对该疾病的认识和拓展 21-OHD 基因缺陷谱。本报道已获得患者的知情同意。

1 病例介绍

患者, 女性, 31 岁, 已婚, 汉族, 四川省宜宾市人, 因“阴蒂肥大、皮肤黑 31 年”入院。患者系足月顺产, 自出生起发现阴蒂肥大、外生殖辨别不清, 全身肤色较深。自小体弱, 8 岁阴毛腋毛出现, 体毛增多, 声音低沉。10 岁前身高相对同龄儿童高。10 岁后生长速度减慢, 自小学毕业后 (12 岁) 无明显生

长。患者青春期后无月经来潮, 乳房小, 一直未就诊治疗。2013 年就诊于上海红房子医院, 查“染色体核型为 46, XX”, 完善相关检查后诊断为“先天性肾上腺皮质增生症”, 行“腹腔镜探查术 + 子宫扩大术 + 宫腔支架; 阴道口探查术 + 口腔黏膜代阴道形成术 + 阴蒂缩短成形术 + 外阴整形术”。术后予醋酸可的松 (具体剂量及用法不详) 治疗, 术后半个月月经来潮。此后月经周期一直不规律, 周期 15 ~ 60 d, 行经 3 ~ 4 d, 量少。服药后患者皮肤逐渐变白, 乳房略增大。服药 1 ~ 2 年后患者自行停药, 肤色重新变深。2016 年患者结婚后因不孕就诊于海宁市第二人民医院, 间断服用补佳乐、优思明及中药调经 1 年, 未孕自行停药。2018 年 3 月患者拟辅助生殖就诊于浙江省人民医院, 予“氢化可的松 10 mg 每晚 1 次”对症治疗, 因孕酮下降不达标, 逐渐调整为“氢化可的松 早上 20 mg, 晚上 10 mg”, “地塞米松片 1 片 每晚 1 次 (9 PM)”, “地塞米松片 1 片 每天 2 次”, “氢化可的松 早上 10 mg, 晚上 20 mg”和“氢化可的松 10 mg 每天 1 次 (7 AM) + 地塞米松片 0.375 mg 每晚 1 次 (8 ~ 10 PM)”, 调整用药后于浙江大学医学院附属邵逸夫医院门诊 2019 年 5 月 2 日查“促肾上腺皮质激素 (ACTH) < 1.0 ng/L ↓, 孕酮 3.52 μg/L ↑, 睾酮 0.00 μg/L ↓, 硫酸脱氢表雄酮 70.20 ng/ml ↓ (180 ~ 4 000), 肾素-立位 63.32 μIU/ml ↑ (4.4 ~ 46.1), 17α-羟孕酮 (2.2 nmol/L), 醛固酮-立位 18.00 ng/dl (3 ~ 35.3)”, 服用激素后

体重增加 4 kg。患者因“孕酮下降不理想”于 2019 年 5 月收住浙江大学医学院附属邵逸夫医院。患者父母非近亲结婚,父亲 2 年前已故(肝癌)、母亲已故(患者 4 岁时,死因不详),1 哥正常,育 2 子。入院查体:身高 148 cm,体重 53 kg,体重指数 24.19 kg/m²,体温(口) 36.7℃,脉搏 82 次/min,血压 108/68 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa),神清,精神可,全身肤色偏深,体毛增多,满月脸,脸红,颈部脂肪垫,乳房 Tanner IV 期,乳晕着色较深;无皮肤紫纹,无明显腹性肥胖,双下肢皮肤稍变薄,阴蒂肥大(5 mm),外生殖器呈现女性型,阴毛 Tanner VI 期,呈男性型。

辅助检查(停用激素 2 d 后入院检查):血常规、凝血功能、术前免疫、甲状腺功能、尿常规、粪常规无特殊。血钾 3.99 mmol/L,血钠 136 mmol/L ↓ (137 ~ 147),总胆固醇 5.27 mmol/L ↑ (3.1 ~ 5.17)。皮质醇节律(停用激素 1 d):ACTH(8 AM ~ 4 PM)84 ↑ (参考值 10 ~ 80) ~ 49 ng/L;可的松(8 AM ~ 4 PM ~ 0 AM) 0.72 ↓ (参考值 6.7 ~ 22.6) ~ 1.16 ~ 0.15 μg/dl;24 h 尿可的松计算 18.7 μg/24h ↓ (58 ~ 403)。性激素:黄体生成素 0.34 IU/L,垂体催乳素 7.54 μg/L,卵泡刺激素 3.15 IU/L,孕酮 28.48 μg/L ↑,17α-羟孕酮 116 nmol/L ↑,雌二醇 36 ng/L,睾酮 0.07 μg/L ↓ (0.1 ~ 0.75),硫酸脱氢表雄酮 79.4 ng/ml ↓ (180 ~ 400)。肾素-立位 127.4 μIU/ml ↑ (4.4 ~ 46.1),醛固酮-立位 5.21 ng/dl (3 ~ 35.3)。ACTH 刺激试验(25 IU + 生理盐水 500 ml 持续静滴 8 h):ACTH(静滴前 ~ 静滴后):91 ↑ ~ >2 000 ng/l ↑;可的松(静滴前 ~ 静滴后):2.27 ↓ ~ 3.48 μg/dl ↓;24 h 尿可的松计算(静滴前 ~ 静滴后)34.1 ↓ ~ 69 μg/24 h;17α-羟孕酮(静滴前 ~ 静滴后):276 ↑ ~ 383 nmol/L。

妇科 B 超:(1)子宫体积偏小。(2)左侧卵巢内囊性包块。骨密度:腰椎骨量正常。肝、胆、胰、脾超声未见明显异常。双侧肾上腺区超声未见明显占位。肾上腺增强 MRI:双侧肾上腺增粗,考虑增生(图 1)。

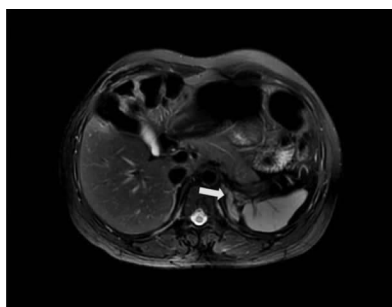
诊断:先天性肾上腺皮质增生症,首先考虑 21-OHD 经典失盐型。治疗予氢化可的松片 10 mg (7 AM) + 地塞米松片 0.375 mg (9 PM),并加用 50 μg/d 9-α 氟氢可的松。半个月后复查:孕酮 0.77 μg/L,睾酮 0.03 μg/L ↓ (0.1 ~ 0.75),ACTH 17.7 ng/L,肾素 5.2 μIU/ml (4.4 ~ 46.1)。

基因检测[多重 PCR (MLPA) + Sanger 测序]:(1)外显子呈杂合缺失状态,p. I172N/I2G/8Del 基因杂合缺陷。(2)样本同时携带 CYP21A2 基因 Ex. 1, -113bp SNP(表 1、2)。经患者知情同意后采血外送迪安诊断检测基因,检测方法:应用多重连接依赖式探针扩增技术,设计 CYP21A2 基因(NM—000500.7)PCR 扩增引物,采用 Taq DNA 聚合酶试剂盒对 DNA 样本 CYP21A2 基因(外显子及其侧翼序列)进行扩增,扩增后电泳条带清晰、特异,Life 3500 Dx 测序仪 Sanger 测序。测序数据利用 Mutation Surveyor 软件进行分析,并结合文献及多种数据库进行基因变异致病性的判断。

2 讨论

21-羟化酶缺乏是导致 CAH 最常见的病因,为常染色体隐性遗传疾病。编码基因 CYP21A2 突变可以导致不同程度的酶活性下降,引起连续的疾病谱,分经典型和非经典型 21-OHD。经典 CAH 表现为两种表型:失盐型和单纯男性化型^[3-4]。

本例报道的成年女性应考虑经典失盐型,属于 21-OHD 严重型。患者出生即存在假两性畸形,阴蒂



注:T2 加权像可见双侧肾上腺增粗

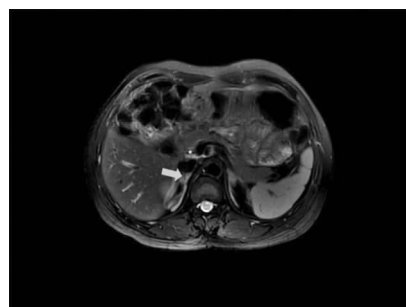


图 1 患者肾上腺增强 MRI

表 1 患者 CYP21A2 基因 Sanger 测序检测报告

基因	NM 号	核苷酸改变	氨基酸改变	变异类型	纯合/杂合	变异来源	遗传模式	临床意义
CYP21A2	NM_000500.7	c. 518T > A	p. I173N	Missense	het	unknown	AR	P

注:Missense:错义变异;het:杂合变异;unknown:未知;AR:常染色体隐性遗传;P:致病性

表 2 患者基因 MLPA 检测

外显子	检测内容	检查结果 (受检样本拷贝数状态)	参考值 (正常样本拷贝数状态)
Exon-1	- 113bp SNP	1	2
Exon-3	I2G(c. 293 - 13A/C > G)	1	2
Exon-3	c. 706_713del8	1	2
Exon-4	I172N(c. 518T > A)	1	2
Exon-6	V237E(c. 713T > A)	2	2
Exon-6	M239K(c. 719T > A)	2	2
Exon-7	F3069 + T(c. 923dupT)	2	2

肥大;皮肤黑,儿童期生长加速,成年终身高矮;青春
期乳房不发育,无月经来潮,外院行外阴整形术及激
素治疗后月经来潮,但周期不规律、量少,提示高雄
激素临床表型,而入院完善 ACTH 刺激试验提示
17 α -羟孕酮高反应(> 300 nmol/L)亦支持21-OHD
经典型^[5-8]。患者需考虑合并盐皮质激素不足:(1)
尽管患者出生后无呕吐、脱水、低钠高钾等典型盐皮
质激素缺乏临床表现,但患者自小体弱多病,血压偏
低,尽管醛固酮水平正常,但肾素一直高(即使糖皮
质激素治疗后肾素水平仍高)。(2)患者在糖皮质
激素(地塞米松过量)替代后,孕酮下降一直不理想
(辅助生殖要求卵泡期孕酮 < 1.5 μ g/L),也提示盐
皮质激素不足导致孕酮仍代偿产生增加。而后续加
用50 μ g/d 9- α 氟氢可的松后,肾素、孕酮均下降亦
支持患者存在盐皮质激素不足。

21-OHD 基因型和临床表型总体相关,尤其在
失盐型和非经典型患者中二者似乎高度一致^[9-10]。
CYP21A2基因片段的缺失、真假基因的重组和(或)
嵌合基因的形成(即 Del),以及 Q318X、R356W、
Cluster E6、内含子上的 I2G 突变等,可导致整个蛋
白质结构的改变(或剪切障碍),最终引起酶活性丧
失,引起经典失盐型。而 I172N 突变常发生在
CYP21A2基因的保守区域内,突变影响酶的释放,使
酶活性为正常的 1% ~ 2%,常引起单纯男性化型。
V281L、P30L、A339H 等点突变使酶活性减低为正常
活性的 20% ~ 50%,临床常常表现为非经典
型^[9,11-12]。而 Ex. 1, - 113bp SNP(覆盖 65% ~ 90%
的 21-OHD 患者和 62% ~ 86% 的 CAH 患者),常常
引起 CYP21A2 基因表达下降 20% ~ 50%,可能与其
他突变有协同作用^[2,9,13]。该例患者 CYP21A2 基因
同时存在 p. I172N、I2G、Ex. 3-8Del 杂合缺陷,以及
Ex. 1-113bp SNP,属于复杂罕见突变,无类似文献报
道,且基因型与临床表型(失盐型)相符。因患者父
母已故,无法确认患者突变的亲代来源。

对于成人 21-OHD 的治疗目标主要通过糖皮质
激素的替代治疗,保护正常生殖能力,预防雄激素过

多。成年患者多采用中长效的糖皮质激素治疗^[14]。
故本例患者仍以氢化可的松 10 mg(7 AM) + 地塞
米松 0.375 mg 每晚 1 次以抑制高雄激素产生,补充
糖皮质激素不足。同时考虑存在盐皮质激素不足,
加用 50 μ g/d 9- α 氟氢可的松后,复查孕酮、肾素下
降,ACTH、17 α -羟孕酮为可接受水平。因拟辅助生
殖,建议其丈夫行基因检测,以确定生育风险。

本文报道 CYP21A2 复杂突变导致的 21-OHD 经
典失盐型 1 例,但基因型仍和临床表现符合,拓展了
21-OHD 基因异常突变类型,可供临床医生参考。

参 考 文 献

- [1] Ginalska-Malinowska M. Classic congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency-the next disease included in the neonatal screening program in Poland [J]. Dev Period Med, 2018, 22(2): 197-200.
- [2] 苏跃青,陈涵强,朱文斌,等. 经典型 21-羟化酶缺乏症的 CYP21A2 基因突变分析 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2016, 33(6): 786-791. DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2016.06.009.
- [3] Auchus RJ. The classic and nonclassic congenital adrenal hyperplasias [J]. Endocr Pract, 2015, 21(4): 383-389. DOI:10.4158/EPI14474.RA.
- [4] Parsa AA, New MI. Steroid 21-hydroxylase deficiency in congenital adrenal hyperplasia [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2017, 165(Pt A): 2-11. DOI:10.1016/j.jsbmb.2016.06.015.
- [5] New MI, Lorenzen F, Lerner AJ, et al. Genotyping steroid 21-hydroxylase deficiency: hormonal reference data [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1983, 57(2): 320-326. DOI:10.1210/jcem-57-2-320.
- [6] Manoli I, Kanaka-Gantenbein C, Voutetakis A, et al. Early growth, pubertal development, body mass index and final height of patients with congenital adrenal hyperplasia: factors influencing the outcome [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2002, 57(5): 669-676. DOI:10.1046/j.1365-2265.2002.01645.x.
- [7] Van Der Kamp HJ, Otten BJ, Buitenveg N, et al. Longitudinal analysis of growth and puberty in 21-hydroxylase deficiency patients [J]. Arch Dis Child, 2002, 87(2): 139-144. DOI:10.1136/adc.87.2.139.
- [8] Stikkelbroeck NM, Van't Hof-Grootenboer BA, Hermus AR, et

- al. Growth inhibition by glucocorticoid treatment in salt wasting 21-hydroxylase deficiency; in early infancy and (pre) puberty [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(8):3525-3530. DOI: 10.1210/jc.2002-030011.
- [9] 王会贞, 卫海燕, 沈凌花, 等. 携带 I2G 突变的 21 羟化酶缺乏症患儿基因突变谱与临床表型的关系[J]. *临床儿科杂志*, 2018, 36(4):256-260. DOI:10.3969/j.issn.1000-3606.2018.04.005.
- [10] Brønstad I, Breivik L, Methlie P, et al. Functional studies of novel CYP21A2 mutations detected in Norwegian patients with congenital adrenal hyperplasia[J]. *Endocr Connect*, 2014, 3(2):67-74. DOI:10.1530/EC-14-0032.
- [11] Krone N, Braun A, Roscher AA, et al. Predicting phenotype in steroid 21-hydroxylase deficiency? Comprehensive genotyping in 155 unrelated, well defined patients from southern Germany[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(3):1059-1065. DOI:10.1210/jcem.85.3.6441.
- [12] Rabbani B, Mahdih N, Ashtiani MT, et al. Mutation analysis of the CYP21A2 gene in the Iranian population[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2012, 16(2):82-90. DOI:10.1089/gtmb.2011.0099.
- [13] Concolino P. Issues with the detection of large genomic rearrangements in molecular diagnosis of 21-hydroxylase deficiency[J]. *Mol Diagn Ther*, 2019, 23(5):563-567. DOI:10.1007/s40291-019-00415-z.
- [14] 张令晖, 邓爱群, 严兆丹, 等. 经典型类固醇 21-羟化酶缺乏症 86 例临床诊治分析[J]. *临床内科杂志*, 2016, 33(7):472-474. DOI:10.3969/j.issn.1001-9057.2016.07.014.

(收稿日期:2019-10-18)

(本文编辑:饶颖)

(上接第 356 页)

是,本例患儿在初诊时,由于其临床表现不符合经典的 1 型糖尿病及 2 型糖尿病,及时予以进行基因检测,继而发现其真正的病因,由于该患儿为杂合子突变,完善胰腺外分泌功能未见异常,临床表现符合其基因突变类型。接下来,笔者计划对该患儿的大部分家庭成员进行基因检测,同时对患儿及其直系亲属进行 qPCR 检测。在针对患者父母的基因检测过程中,并未发现存在 PDX-1 的基因突变,目前考虑该患儿存在基因突变,即为 MODY4 的先证者,仔细询问其母亲妊娠过程及养育过程,否认不良妊娠结局,否认特殊药物、食物服用史,否认疾病、创伤史,该患儿目前基因突变原因不明,不能排除与化学污染及电离辐射有关,需进行进一步的询问及观察。该患儿目前为家系中的唯一患病者,临床上预示着如果单纯通过家族史来决定是否对患者进行基因检测,势必会造成一部分患者,尤其是患儿的误诊及漏诊,临床上如果发现低龄、低体重、胰岛素治疗敏感的糖尿病患儿,应完善基因检测,避免误诊。

参 考 文 献

- [1] 陈家伦. 上海:临床内分泌学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2009.
- [2] Heuvel-Borsboom H, de Valk HW, Losekoot M, et al. Maturity onset diabetes of the young: seek and you will find[J]. *Neth J Med*, 2016, 74(5):193-200.
- [3] Weintrob N, Stern E, Klipper-Aurbach Y, et al. Childhood obesity complicating the differential diagnosis of maturity-onset diabetes of the young and type 2 diabetes[J]. *Pediatr Diabetes*, 2008, 9(1):60-64. DOI:10.1111/j.1399-5448.2007.00259.x.
- [4] Wang X, Sterr M, Bartscher I, et al. Genome-wide analysis of PDX1 target genes in human pancreatic progenitors[J]. *Mol Metab*, 2018, 9:57-68. DOI:10.1016/j.molmet.2018.01.011.
- [5] Jonsson J, Carlsson L, Edlund T, et al. Insulin-promoter-factor 1 is required for pancreas development in mice[J]. *Nature*, 1994, 371(6498):606-609. DOI:10.1038/371606a0.
- [6] Brissova M, Shiota M, Nicholson Wendell E, et al. Reduction in pancreatic transcription factor PDX-1 impairs glucose-stimulated insulin secretion[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(13):11225-11232. DOI:10.1074/jbc.M111272200.
- [7] Holland AM, Hale MA, Kagami H, et al. Experimental control of pancreatic development and maintenance[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(19):12236-12241. DOI:10.1073/pnas.192255099.
- [8] Caetano LA, Santana LS, Costa-Riquetto AD, et al. PDX1-MODY and dorsal pancreatic agenesis: new phenotype of a rare disease[J]. *Clin Genet*, 2018, 93(2):382-386. DOI:10.1111/cge.13044.
- [9] Deng M, Xiao X, Zhou L, et al. First case report of maturity-onset diabetes of the young type 4 pedigree in a Chinese family[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10:406. DOI:10.3389/fendo.2019.00406.
- [10] Pihoker C, Gilliam LK, Ellard S, et al. Prevalence, characteristics and clinical diagnosis of maturity onset diabetes of the young due to mutations in HNF1A, HNF4A, and glucokinase: results from the SEARCH for diabetes in youth[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(10):4055-4062. DOI:10.1210/jc.2013-1279.

(收稿日期:2019-12-23)

(本文编辑:刘欣)