

1例FGG基因突变致纤维蛋白原贮积症患者临床及基因分析

刘希, 彭晓康, 刘攀, 卫慧静, 刘小乖 (西安市儿童医院 感染三科, 陕西 西安 710002)

摘要: 纤维蛋白原贮积症是一种罕见的常染色体显性遗传病, 本文报道1例因肝功能异常、纤维蛋白原水平降低诊断纤维蛋白原贮积症病例, 肝组织活检、肝病相关基因检测及随访资料完整, 通过对该病例诊治及随访过程的分析, 希望提高临床医师对该病的认识, 做到早诊断、早治疗。

关键词: FGG基因; 纤维蛋白原; 纤维蛋白原贮积症

Clinical and genetic analysis of a child with fibrinogen storage disease caused by FGG gene mutation: a case report

Liu Xi, Peng Xiaokang, Liu Pan, Wei Huijing, Liu Xiaoguai (The Third Department of Infectious Diseases, Xi'an Children's Hospital, Xi'an 710003, Shaanxi Province, China)

Abstract: Fibrinogen storage disease is a rare autosomal dominant genetic disease. This paper reported a case of diagnosed fibrinogen storage disease due to abnormal liver function and decreased fibrinogen level, the data of liver biopsy, liver disease-related gene testing and the follow-up were complete. Through the analysis of diagnosis, treatment and follow-up process of this case, we hope that clinicians could improve the understanding of the disease and achieve early diagnosis and early treatment.

Key words: FGG gene; Fibrinogen; Fibrinogen storage disease

纤维蛋白原贮积症 (fibrinogen storage disease, FSD) 是一种罕见的常染色体显性遗传病, 该病表现隐匿, 常因发现丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 等升高而就诊, 患者通常无出血及凝血障碍表现, 进一步检查时可发现纤维蛋白原水平降低。国内关于该病的报道较少, 本研究报告1例我院感染科诊断的FGG基因突变导致纤维蛋白原贮积症患儿的临床特点、辅助检查、诊疗及随访经过, 以提高临床医生对该病的认识。

1 病例资料

1.1 主诉 患儿女性, 3岁2个月, 发现肝功能异常13 d。

1.2 现病史 13 d前患儿入幼儿园体检时发现转氨酶升高, 多次检查ALT在309~388 U/L, AST在176~230 U/L, 无发热、乏力、食欲不振等不适,

无皮肤巩膜黄染。

1.3 既往史及个人史 患儿病前无感染表现, 无用药史; G2P2, 足月, 围产期无异常。生长发育同正常同龄儿, 按计划免疫接种。父母及姐姐 (13岁) 均体健, 家族中无肝病者。

1.4 体格检查 神志清, 精神好, 无特殊面容, 无皮肤与巩膜黄染, 无出血点。腹平软, 肝脏肋下触及2 cm, 质软, 缘锐, 无触痛; 脾脏肋下未触及。其余查体阴性。

1.5 辅助检查 入院后查肝功能: ALT 229 U/L, AST 117 U/L, γ -谷氨酰转肽酶49.6 U/L; 凝血功能: 凝血酶原时间17.4 s, 国际标准化比值1.13, 纤维蛋白原0.44 g/L; 血常规、肾功能、心肌酶、电解质、甲胎蛋白均正常; 甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎病毒抗体阴性, 梅毒、人类免疫缺陷病毒、微小病毒B19及EB病毒抗体均阴性; 铜蓝蛋白、24 h尿铜定量、血铜、血糖、血脂、血氨、血乳酸、血串联质谱、尿有机酸分析均正常; 自身抗体系列、自身免疫性肝病抗体、免疫球蛋白及T细胞、B细胞、NK细胞亚群分析均无异常。

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2023.03.011

基金项目: 西安市卫生健康委员会项目 (J201902036); 西安市儿童医院特殊项目 (2019A04); 2021年西安市儿童医院院级项目 (2021C04)

通讯作者: 刘小乖 Email: xiaoguai760725@126.com

1.5.1 基因检测与分析 经患儿监护人知情同意后,采用EDTA抗凝管抽取患儿及父母静脉血各3 ml,采用肝病基因panel(含988个基因,如*JAG1*、*SLC25A13*、*NOTCH2*、*ATP7B*、*ATP8B1*、*ABCB11*、*ABCB4*等)进行基因组DNA测序。从外周静脉血中提取基因组DNA,经片段化、连接接头、扩增纯化后,使用SeqCap EZ Choice XL Library (Roche NimbleGen)杂交捕获与肝病相关的基因外显子区及相邻内含子区域(50 bp),捕获到的DNA经洗脱和扩增纯化后,使用高通量测序仪(Illumina)进行测序,其中平均测序深度为165.71X,目标序列的98.00%测序深度达20X以上。突变在正常人群的发生率参照人类外显子组整合数据库(ExAC),有害性预测采用PolyPhen2、SIFT和Mutation_Taster等生物信息学软件,致病性分级依据2015版美国医学遗传学及基因组学学会(the American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)的序列变异解读标准与指南^[1]。本研究符合《世界医学会赫尔辛基宣言》。经检测发现患儿*FGG*基因(NM_000509.4)第9号外显子上存在c.1201C>T(p.Arg401Trp)杂合变异,通过Sanger测序验证受检者父母未存在该变异(见图1),因此该变异可能为新生变异。该变异为错义突变,在HGMD数据库已收录,同一氨基酸位置的p.Arg401Gly亦为HGMD数据库收录的已知变异,并通过功能验证证实与异常纤维蛋白原血症相关^[2]。

c.1201C>T(p.Arg401Trp)未在ExAC正常人数数据库中检出;经PolyPhen2和Mutation_Taster软件预测均可能有害,SIFT预测其可能为良性。根据ACMG指南判定该变异为致病性变异(PS2 + PS3 + PM2)。

1.5.2 肝组织活检及病理结果 患儿行超声引导下肝脏穿刺活检术。光学显微镜所见:肝小叶结构不清,肝细胞水肿,汇管区内少许淋巴细胞、浆细胞浸润,汇管区纤维组织增生向小叶内延伸,胆管结构欠清晰。形态学提示低纤维蛋白原血症,见图2。免疫组化:CD34染色未见明显异常,CK7染色显示局部胆小管增生,乙型肝炎病毒表面抗原(-),Masson染色示汇管区纤维组织增生,PAS、铁、铜及网织纤维染色未见异常,肝细胞内可见大量PAS-D阳性颗粒。

1.6 诊疗经过及随访 综合患儿临床表现、实验室检查及基因检测结果,确诊为纤维蛋白原贮积症。诊断明确后予以口服熊去氧胆酸胶囊每次10 mg/kg,2次/d以及维生素E 100 mg/次,3次/d治疗。随访3年10个月,患儿生长发育正常,无出血表现,多次查腹部彩色超声(肝胆胰脾)均正常,肝功能提示ALT 120~312 U/L、AST 73~213 U/L,纤维蛋白原0.44~0.66 g/L;最近1次(7岁)肝功能示ALT及AST正常,纤维蛋白原升至1.34 g/L,其余肝功能指标及凝血功能指标均正常。历次肝功能及凝血功能结果见表1。

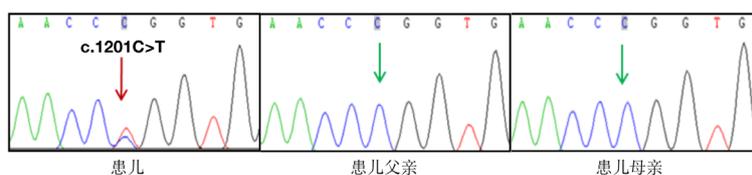


图1 *FGG* 基因 Sanger 测序图

注:患儿存在*FGG*基因的c.1201C>T(p.R401W)杂合变异,患儿父母均未携带该变异。

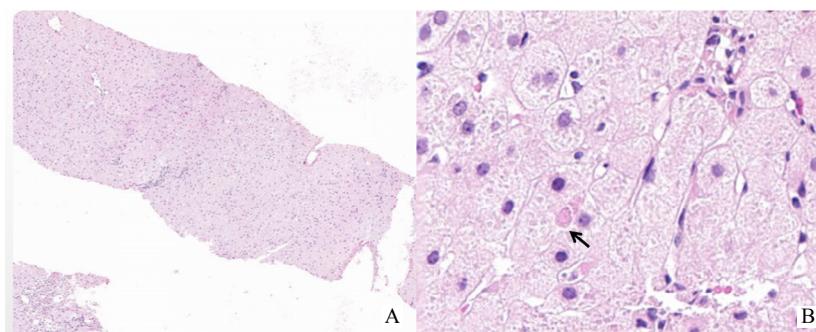


图2 FSD 患儿肝组织 HE 染色

注:A为肝小叶结构不清,肝细胞水肿,汇管区内少许淋巴细胞、浆细胞浸润($\times 20$);B为部分肝细胞胞浆内可见圆形或多角形嗜酸性小体(箭头处)($\times 200$)。

表1 患儿历次肝功能及凝血功能检查结果

指标	正常参考值	3岁2个月	3岁4个月	4岁	4岁5个月	5岁	6岁	7岁
肝功能								
ALB (g/L)	39~54	41.4	44.3	44.6	44.2	46.3	43.9	45.6
ALT (U/L)	7~30	229	312	178	167	163	120	29
AST (U/L)	14~44	117	213	126	89	116	73	36
ALP (U/L)	143~406	363	350	310	501	598	497	397
GGT (U/L)	5~19	49.6	77.3	29.8	24.1	24.1	24.9	14.5
凝血功能								
PT (s)	11~15	17.4	15.8	18.1	17.9	13.2	15.4	13.9
INR	0.8~1.2	1.13	1.26	0.44	1.45	1.0	1.24	1.2
APTT (s)	28~44	30.3	33.7	36.2	38.1	44.6	41.2	38.2
FIB (g/L)	2~4	0.44	0.6	0.44	0.47	0.59	0.66	1.34

注: ALB 为白蛋白; ALT 为丙氨酸氨基转移酶; AST 为天门冬氨酸氨基转移酶; ALP 为碱性磷酸酶; GGT: γ -谷氨酰转肽酶; PT 为凝血酶原时间; INR 为国际标准化比值; APTT 为活化部分凝血酶原时间; FIB 为纤维蛋白原。

2 讨论

FSD是一种罕见的常染色体显性遗传病, 基因突变导致异常结构的纤维蛋白原在内质网聚集, 继而出现低纤维蛋白原血症, 属于内质网贮积性疾病^[3,4]。编码纤维蛋白原的基因包括*FGA*、*FGB*和*FGG*, 任一基因突变均可能导致先天性异常纤维蛋白原血症。根据国内外文献报道, 目前发现*FGG*基因第8、9号外显子发生突变可导致FSD, 根据首次发现先证者的居住城市分别命名为Aguadilla、Al Du Pont、Angers、Beograd、Brescia、Ankara、Pisa及Trabzon^[5]。FSD表现隐匿, 常因体检发现ALT、AST升高而就诊, 通常无出血及凝血障碍表现, 进一步检查时可发现纤维蛋白原降低。本例患儿无相关临床表现, 多次肝功能提示ALT及AST存在不同程度升高, 纤维蛋白原波动于0.44~0.66 g/L, 起病方式及疾病发生过程符合该病特点, 基因检测证实为*FGG*基因突变(Aguadilla)。

纤维蛋白原是由肝脏合成的参与凝血过程的蛋白, 其分子量约为340 kDa, 结构上呈对称性二聚体, 由 α 、 β 、 γ 三对不同多肽链组成($\alpha\alpha\beta\beta\gamma$)^[6]。内质网在纤维蛋白原组装和分泌过程中发挥重要作用。1981年全球首次报道了1例遗传性低纤维蛋白原血症, 并提出该病是一种内质网贮积性疾病^[7], 先天异常的蛋白从粗面内质网向滑面内质网转运障碍, 最终导致其在肝细胞内贮积而血浆中缺乏^[8,9]。研究发现, 只有编码位于310~401(包括信号肽)的纤维蛋白原 γ 链残基发生突变, 才可引起低纤维蛋白原血症和肝细胞内异常纤维蛋白原贮积^[10,11]。目前共发现8种*FGG*基因突变可引起FSD, 分别为c.928G>A (p.Gly310Arg)、c.1018A>C (p.Thr340Pro)、c.1024G>A (p.Asp342Asn)、c.1174G>A (p.Gly392Ser)、c.1174G>A (p.Gly366Ser)、c.1115_1129del (p.G372_Q376del)、c.1190C>

T (p.Thr371Ile)和c.1201C>T (p.Arg401Trp)^[12-20]。c.1201C>T (Aguadilla)曾被多次报道, 该变异可遗传自上一代, 也可是自发突变, 由于该位点涉及一个CpG序列, 该序列可通过甲基化和C到T的去甲基化而发生超突变^[21], 故*FGG*基因中的此位点似乎更易发生突变。目前我国已报道的7例FSD患者有4例均为此位点突变^[5,21,22], 另外2例*FGG*突变位于第8号外显子c.1106A>G (p.His369Arg)和c.905T>C (p.Leu302Pro), 有1例未检出可明确解释患者表型的致病变异, 但根据病理表现明确诊断^[23]。本研究中的患儿也证实为c.1201C>T (p.Arg401Trp), 该突变是否为我国FSD患者*FGG*基因的热点突变, 有待进一步的大样本流行病学调查研究。

FSD的临床特征主要是血纤维蛋白原显著降低和转氨酶升高, 而出血表现或凝血功能障碍并不常见, 提示*FGG*基因突变可能主要影响的靶器官是肝脏^[24]。需要注意的是, FSD累及肝脏的表型存在个体差异, 轻者可以无症状, 重者可出现慢性肝炎、肝硬化。有报道在一个患有FSD的家族中发现了两例胰腺癌, 提出这种罕见病可能与恶性肿瘤发生相关^[25]。有研究发现, 在Brescia突变的一个意大利家庭中, 所有携带该基因突变的亲属均有低纤维蛋白原血症, 但只有1位家庭成员有肝硬化, 其余5位成员无肝损伤迹象^[19]。在一个波多黎各家庭中, 有Aguadilla突变的先证者及其妹妹早期即发现肝纤维化, 而具有相同突变的父亲并无肝病表现^[19]。目前FSD存在表型差异的机制尚不明确, 除受基因突变类型影响以外, 肝病进展的严重程度可能还取决于环境和其他遗传因素。

FSD患者首先要限制饮酒和避免肥胖, 这和一般肝病的治疗原则相同。有研究显示自噬是负责细胞内纤维蛋白原清除的主要途径^[12]。卡马西平可通过增强自噬作用来介导异常折叠的蛋白质在内质网上的自我清除^[26,27], 从而降低FSD的肝毒性,

但并不能改善纤维蛋白原水平^[2]。维生素E可能具有类似于卡马西平的增强自噬作用,同时熊去氧胆酸联合维生素E可能产生有益的抗氧化作用并抑制内质网应激^[28,29],也可用于FSD患者的治疗。本例患儿使用熊去氧胆酸和维生素E联合治疗,随访3年10个月,病情逐渐好转,转氨酶恢复正常,血纤维蛋白原升至1.34 g/L,且无肝硬化征象。有文献报道,熊去氧胆酸和维生素E联合治疗36个月可使患者转氨酶水平正常^[10],与本研究结果相似,提示熊去氧胆酸和维生素E联合治疗对部分FSD患者有效,且可逆转肝脏损伤、阻止疾病进展,但需要注意的是,治疗初期转氨酶及纤维蛋白原指标改善不明显,进一步的疗效观察需延长用药时间并规律随访。目前不同研究中FSD患者选择的治疗方案及疗效存在差异,有研究报道亦存在熊去氧胆酸联合维生素E治疗效果不佳者,使用卡马西平治疗效果也不一致^[10,21]。目前FSD患者尚无特效治疗方案,尝试对参与自噬过程的基因进行修饰可能为新的治疗途径,还有待进一步探索和研究。

当不明原因的肝功能异常伴有纤维蛋白原水平降低时需考虑FSD,早期基因检测有助于该病的确诊,本例患儿口服熊去氧胆酸联合维生素E疗效好。越来越多的新的FSD患者和新的治疗方法可能会提高人们对这种罕见遗传性疾病的认识。

参考文献

- [1] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. *Genet Med*,2015,17(5):405-424.
- [2] SHIRAKAWA H, YOSHIDA M. Structure of a gene coding for human HMG2 protein[J]. *J Biol Chem*,1992,267(10):6641-6645.
- [3] PULS F, GOLDSCHMIDT I, BANTEL H, et al. Autophagy-enhancing drug carbamazepine diminishes hepatocellular death in fibrinogen storage disease[J]. *J Hepatol*,2013,59(3):626-630.
- [4] PADILLA-GODÍNEZ FJ, RAMOS-ACEVEDO R, MARTÍNEZ-BECERRIL H A, et al. Protein misfolding and aggregation: the relatedness between parkinson's disease and hepatic endoplasmic reticulum storage disorders[J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(22):12467.
- [5] GU L, WANG B, LIU L, et al. Hepatic fibrinogen storage disease and hypofibrinogenemia caused by fibrinogen Aguadilla mutation: a case report[J]. *J Int Med Res*,2020,48(1):300060519898033.
- [6] MOSESSON M W. Fibrinogen and fibrin structure and functions[J]. *J Thromb Haemost*,2005,3(8):1894-1904.
- [7] PFEIFER U, ORMANNS W, KLINGE O. Hepatocellular fibrinogen storage in familial hypofibrinogenemia[J]. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*,1981,36(2-3):247-255.
- [8] SCHRÖDER M, KAUFMAN R J. ER stress and the unfolded protein response[J]. *Mutat Res*,2005,569(1-2):29-63.
- [9] COSTA C A D, MANAA W E, DUPLAN E, et al. The endoplasmic reticulum stress/unfolded protein response and their contributions to

- parkinson's disease physiopathology[J]. *Cells*,2020;9(11):2495.
- [10] MAGGIORE G, NASTASIO S, SCIVERES M. Long-term outcome of liver disease-related fibrinogen aguadilla storage disease in a child[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*,2011,53(6):699.
- [11] CALLEA F, TOMÀ P, BELLACCHIO E. The recruitment-secretory block ("r-Sb") phenomenon and endoplasmic reticulum storage diseases[J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(13):6807.
- [12] ASSELTAR, PARABOSCHI E M, DUGA S. Hereditary hypofibrinogenemia with hepatic storage[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(21): 7830.
- [13] BRENNAN S O, WYATT J, MEDICINA D, et al. Fibrinogen brescia: hepatic endoplasmic reticulum storage and hypofibrinogenemia because of a gamma284 Gly>Arg mutation[J]. *Am J Pathol*,2000,157(1):189-196.
- [14] BRENNAN S O, DAVIS R L, CONARD K, et al. Novel fibrinogen mutation γ 314Thr→Pro (fibrinogen AI duPont) associated with hepatic fibrinogen storage disease and hypofibrinogenemia[J]. *Liver International*,2010,30(10):1541-1547.
- [15] ASSELTAR R, ROBUSTO M, BRAIDOTTI P, et al. Hepatic fibrinogen s, torage disease: identification of two novel mutations (p.Asp316Asn, fibrinogen Pisa and p.Gly366Ser, fibrinogen Beograd) impacting on the fibrinogen γ -module[J]. *J Thromb Haemost*,2015,13(8):1459-1467.
- [16] CALLEA F, GIOVANNONI I, SARI S, et al. A novel fibrinogen gamma chain mutation (c.1096C>G; p.His340Asp), fibrinogen Ankara, causing hypofibrinogenemia and hepatic storage[J]. *Pathology*,2017,49(5):534-537.
- [17] DIB N, QUELIN F, TERNISIEN C, et al. Fibrinogen angers with a new deletion (gamma GVYYQ 346-350) causes hypofibrinogenemia with hepatic storage[J]. *J Thromb Haemost*,2007,5(10):1999-2005.
- [18] BURCU G, BELLACCHIO E, SAG E, et al. Structural characteristics in the γ chain variants associated with fibrinogen storage disease suggest the underlying pathogenic mechanism[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(14):5139.
- [19] BRENNAN S O, MAGHZAL G, SHNEIDER B L, et al. Novel fibrinogen gamma375 Arg→Trp mutation (fibrinogen aguadilla) causes hepatic endoplasmic reticulum storage and hypofibrinogenemia[J]. *Hepatology*,2002,36(2):652-658.
- [20] AL-HUSSAINI A, ALTALHI A, EL HAG I, et al. Hepatic fibrinogen storage disease due to the fibrinogen γ 375 Arg → Trp mutation "fibrinogen Aguadilla" is present in Arabs[J]. *Saudi J Gastroenterol*,2014,20(4):255-261.
- [21] ZHANG M H, KNISELY A S, WANG N L, et al. Fibrinogen storage disease in a Chinese boy with de novo fibrinogen Aguadilla mutation: Incomplete response to carbamazepine and ursodeoxycholic acid[J]. *BMC Gastroenterol*,2016,16(1):92.
- [22] 张慧, 欧阳文献, 袁远宏, 等. FGG基因突变致肝纤维蛋白原贮积症一家系临床表型 病理和基因分析[J]. *中国实用儿科杂志*,2021,36(1):60-63.
- [23] 方园, 王一真, 陈莲, 等. 儿童肝脏纤维蛋白原贮积病临床病理学分析[J]. *中华病理学杂志*,2022,51(4):326-331.
- [24] CALLEA F, FRANCALANCI P, GIOVANNONI I. Hepatic and extrahepatic sources and manifestations in endoplasmic reticulum storage diseases[J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(11):5778.
- [25] RADHI J M, LUKIE B E. Pancreatic cancer and fibrinogen storage disease[J]. *J Clin Pathol*,1998,51(11):865-867.
- [26] KAMIMOTO T, SHOJI S, HIDVEGI T, et al. Intracellular inclusions containing mutant alpha1-antitrypsin Z are propagated in the absence of autophagic activity[J]. *J Biol Chem*,2006,281(7):4467-4476.
- [27] HIDVEGI T, EWING M, HALE P, et al. An autophagy-enhancing drug promotes degradation of mutant α 1-antitrypsin Z and reduces hepatic fibrosis[J]. *Science*,2010,329(5988):229-232.
- [28] UNDERWOOD B R, IMARISIO S, FLEMING A, et al. Antioxidants can inhibit basal autophagy and enhance neurodegeneration in models of polyglutamine disease[J]. *Hum Mol Genet*,2010,19(17):3413-3429.
- [29] CASINI A, SOKOLLIK C, LUKOWSKI S W, et al. Hypofibrinogenemia and liver disease: a new case of Aguadilla fibrinogen and review of the literature[J]. *Haemophilia*,2015,21(6): 820-827.

收稿日期: 2022-05-18

刘希, 彭晓康, 刘攀, 等. 1例FGG基因突变致纤维蛋白原贮积症患儿临床及基因分析[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2023,15(3): 69-72.