

3 小 结

由于布鲁菌病致病菌种类、暴发地区、感染人群、感染途径和流行模式不断演变且多样化,布鲁菌病的危害已进入城镇普通人群日常生活。布鲁氏菌引起疾病有急有缓,临床症状复杂,前期症状类似感冒,极易造成误诊或漏诊,因此病史的追溯及专业的检查对该病的确诊尤为重要。临床工作可参照我国卫生行业标准中所述的布鲁菌病诊断流程进行。本文所述病例的最初症状仅仅是简单的发热,并且出现在新型冠状病毒肺炎疫情防控期间,可能会导致临床医生的漏诊,作为辅助诊断的临床检验结果就显得尤为重要,这不仅能实现精确诊断,还能实现精准治疗,缩短病程,让患者更快康复。畜牧业等相关行业从业人员在工作中应注意防护,普通民众应尽量少接触牲畜,尤其病畜,加工相关食品时注意皮肤是否有破损,并且不食用未经煮熟的牛羊肉、奶及其制品等,尽量避免接触病原体。

参考文献

- [1] KNEIPP C, MALIK R, SIOBHAN M M, et al. Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis[J]. *Front Microbiol*, 2019, 14(10): 1859.
- [2] KATO Y, MASUDA G, ITODA I, et al. Brucellosis in a returned traveler and his wife: probable person-to-person transmission of *Brucella melitensis* [J]. *J Travel Med*, 2007, 14(5): 343-345.
- [3] ULU-KILIC A, METAN G, ALP E. Clinical presentations and diagnosis of brucellosis[J]. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*, 2013, 8(1): 34-41.
- [4] KIZILKILIC O, CALLI C. Neurobrucellosis[J]. *Neuroimaging Clin N Am*, 2011, 21(4): 927-937.
- [5] CHEN J D, KE C W, DENG X, et al. Brucellosis in Guangdong province, People's Republic of China, 2005—2010[J].

Emerg Infect Dis, 2013, 19(5): 817-818.

- [6] YAGUPSKY P, MORATA P, COLMENERO J D. Laboratory diagnosis of human Brucellosis[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2019, 33(1): e00073-19.
- [7] 吴雨航. 布氏杆菌病间接 ELISA 方法的建立及吉林省梅花鹿主要养殖地区鹿布氏菌病血清学调查[D]. 吉林: 吉林农业大学, 2015.
- [8] AVIJGAN M, ROSTAMNEZHAD M, JAHANBANI-ARDAKANI H. Clinical and serological approach to patients with brucellosis: a common diagnostic dilemma and a world-wide perspective[J]. *Microb Pathog*, 2019, 129(2): 125-130.
- [9] GEMECHU M Y, GILL J P, ARORA A K, et al. Polymerase chain reaction (PCR) assay for rapid diagnosis and its role in prevention of human brucellosis in Punjab, India[J]. *Int J Prev Med*, 2011, 2(3): 170-177.
- [10] KAMAL I H, GASHGARI B A, MOSELHY S S, et al. Two-stage PCR assay for detection of human brucellosis in endemic areas[J]. *BMC Infect Dis*, 2013, 13: 145.
- [11] MUCHOWSKI J K, KOYLASS M S, AL A D. Using molecular tools to identify the geographical origin of a case of human brucellosis[J]. *Case Reports Epidemiol Infect*, 2015, 143(14): 3110-3113.
- [12] SKALSKY K, YAHAV D, BISHARA J, et al. Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials[J]. *BMJ*, 2008, 336(7646): 701-704.
- [13] SOLERA J, JULIÁN S G D P. Treatment of pulmonary brucellosis: a systematic review[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2017, 15(1): 33-42.
- [14] SMAEILNEJAD-GANJIS M E, SMAEILNEJAD-GANJIS M R. Osteoarticular manifestations of human brucellosis: a review[J]. *World J Orthop*, 2019, 10(2): 54-62.

(收稿日期: 2020-10-12 修回日期: 2021-02-18)

• 案例分析 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2021.14.044

甲状腺过氧化物酶基因高频突变 c.2268insT 的家系报道及文献复习*

杨 柳¹, 戚小艳¹, 施依彤¹, 马绍刚^{2△}

1. 江苏省宿迁市第一人民医院检验科, 江苏宿迁 223800; 2. 广西中医药大学第一附属医院内分泌科, 广西南宁 530023

关键词: 特发性亚临床甲状腺功能减退症; 基因突变; 甲状腺过氧化物酶基因

中图法分类号: R34

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2021)14-2136-03

常见的亚临床甲状腺功能减退症(简称甲减)患

者血清促甲状腺激素(TSH)水平升高, 并伴有甲状腺

* 基金项目: 宿迁市领军人才引进专项资金项目[宿发(2011)35号]。

△ 通信作者, E-mail: mashaogang@163.com。

特异性抗体升高。而特发性亚临床甲减是指甲状腺特异性抗体[抗甲状腺过氧化物酶(TPO)抗体(TPO-Ab)、抗甲状腺球蛋白(Tg)抗体(TGAb)、抗甲状腺素受体抗体(TRAbs)等]均阴性, TSH 升高的一类亚临床甲状腺疾病^[1], 往往病因不详。特发性亚临床甲减患者无明显临床表现, 多在体检中发现, 是否给予左旋甲状腺素治疗尚存争议, 具体机制尚不明, 可能与基因突变有关。长期高水平 TSH 刺激可导致甲状腺肿大、甲状腺结节、高脂血症、动脉粥样硬化风险^[2-3]。妊娠期伴 TSH 水平升高, 应给予治疗^[4-5]。

甲状腺激素合成障碍多与基因突变有关, 其中较为常见的是 TPO、Tg、双氧化酶 2(DUOX2)、双氧化酶成熟因子 2(DUOX2)、钠/碘协同转运体(NZS)、Pendrin 等基因^[6]。上述基因的杂合子可表现为特发性亚临床甲减, TPO 杂合突变相关的亚临床甲减较为少见。而甲状腺发育相关基因 TSH 受体、PAX8、TTF-1、TTF-2 杂合突变也可表现为特发性亚临床甲减^[7]。所以特发性亚临床甲减的临床表型与基因型并不完全一致。本文对 1 个特发性亚临床甲减家系进行遗传学研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 先证者, 女, 25 岁, 无明显临床症状, 因体检发现“TSH 水平升高”就诊。通过询问病史、查体, 初步判断先证者为特发性亚临床甲减, 考虑与基因突变有关。先证者甲状腺功能检查中 TSH 水平升高, 甲状腺特异性抗体阴性, 彩超检查显示甲状腺未见异常。随后对先证者进行外显子组测序。本研究获得宿迁市第一人民医院伦理委员会批准, 并获得患者及其家属的同意。

1.2 仪器与试剂 采用瑞士罗氏 Cobas E602 全自动免疫分析仪及其配套试剂检测甲状腺相关激素(电化学发光免疫测定法); 使用 AxyPrep 血液基因组 DNA 小量试剂盒(上海晶能生物技术有限公司提供)提取基因组 DNA。

1.3 方法 DNA 提取: 分别抽取先证者及其相关亲属(包括先证者的祖父母、父母、兄弟姐妹)外周血 2 mL, 乙二胺四乙酸抗凝以备基因检测, 使用 AxyPrep

血液基因组 DNA 小量试剂盒(上海晶能生物技术有限公司提供)提取基因组 DNA。

外显子测序: 按照上海晶能生物技术有限公司的操作流程, 通过构建 DNA 文库、捕获外显子、簇生成等步骤后, 采用 Illumina Nova600 测序仪进行高通量测序。测序结果与人类参考基因组序列 19 进行碱基对比, 鉴别并标注突变基因。突变基因经 Sanger 正反测序证实后进行生物信息学分析。

Sanger 测序: 对目标突变, 用 Sanger 测序法进行验证。TPO 基因第 13 位外显子及其侧翼引物序列: 5'-GCTCAGTGAGTGACCACAGC-3', 常规 PCR 扩增外显子片段, 纯化后 Sanger 正向测序分析; TPO 基因第 13 位外显子及其侧翼引物序列: 5'-GCTCAGTGAGTGACCACAGC-3', 常规 PCR 扩增外显子片段, 纯化后 Sanger 反向测序分析。

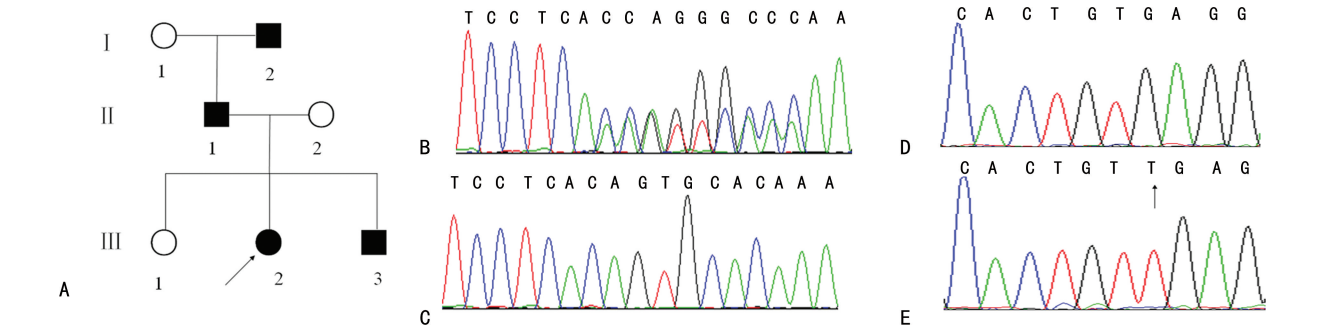
2 结果

先证者 TPO 基因第 13 外显子 c. 2268insT 杂合突变。PCR 扩增 TPO 基因第 13 位外显子并对 PCR 产物进行 Sanger 测序, 证实先证者及其家系成员中 I 2、II 1、III 3 均存在相同 TPO 基因 c. 2268insT 杂合突变, 符合隐性遗传规律, 其中 II 1、III 3 TPO 基因 c. 2268insT 杂合突变伴有亚临床甲减, 见表 1、图 1。

表 1 先证者及家系成员的甲状腺功能检测结果

变量	参考范围	先证者	I 2	II 1	III 3
年龄(岁)	—	25	84	49	23
TSH(IU/mL)	0.60~4.84	5.55	1.8	6.63	6.01
FT4(pmol/L)	12.00~22.00	16.86	16.32	18.28	18.61
FT3(pmol/L)	3.10~6.80	5.00	3.34	5.40	5.59
TT4(nmol/mL)	66.00~181.00	106.30	106.40	87.40	122.50
TT3(nmol/mL)	1.20~3.10	1.90	1.15	2.08	2.27
TGAb(IU/mL)	0.00~115.00	10.04	<10.00	—	<10.00
TPOAb(IU/mL)	0.00~34.00	11.19	13.04	—	12.43
TRAbs(U/L)	0.00~1.75	<0.30	0.34	—	0.42
甲状腺彩超	—	正常	正常	—	正常

注: FT₄ 为游离甲状腺素; FT₃ 为游离三碘甲状腺原氨酸; T₄ 为甲状腺素; T₃ 为三碘甲状腺原氨酸; —为该项无数据。



注: A 为该患者的家系遗传图(○表示健康女性; ●表示患病女性; □表示健康男性; ■表示患病男性); B 为突变型; C 为野生型; D 为健康人 TPO 基因测序图; E 为患者克隆基因测序; ↗ 所指为先证者, ↑ 所指为插入 T。

图 1 家系遗传图及其 TPO 基因第 13 位外显子 c. 2268insT 测序图

3 讨 论

TPO 与髓过氧化物酶、乳过氧化物酶和嗜酸性粒细胞过氧化物共同属于含血红素的人过氧化物酶家族,人的 TPO 基因位于 2 号染色体上,编码 933 个氨基酸蛋白质^[8],主要在甲状腺滤泡细胞合成,是合成 T₄ 的关键酶,直接催化甲状腺球蛋白中酪氨酸残基的碘化和偶联,从而合成 T₃ 和 T₄,TPO 基因突变是导致 T₄ 合成障碍的重要原因,除了已经发现的纯合子和杂合子基因突变外,人群中还存在大量未被发现的突变位点,可能导致某些甲状腺疾病。

本研究对包括先证者在内共 12 位直系亲属进行随访调查,发现该家系三代成员中 4 人测序结果显示 TPO 基因 c. 2268insT 杂合子突变(比例约 33.33%),该突变为 TPO 基因的高频突变,在中国人群中较为常见^[9-12]。在既往研究报道中,TPO 基因纯合或复合杂合突变是导致先天性甲减的重要病因^[13-15],单纯杂合突变发生亚临床甲减较为少见。由此可见亚临床甲减的临床表型与基因型并不完全一致。

TPO 基因 c. 2268insT 插入性突变使翻译的氨基酸序列明显错误,影响 TPO 的正常功能。在蛋白质翻译阶段 TPO 基因 c. 2268insT 插入性突变导致密码子移码变异(翻译氨基酸序列的密码子发生移位),提前出现终止密码子,合成 TPO 肽链变短,成为截短蛋白,无法发挥蛋白质的正常功能,影响 TPO 活性。TPO 生物活性下降,可引起碘有机化障碍,导致甲状腺激素合成降低,垂体负反馈性调节使 TSH 水平升高。长期高水平 TSH 的刺激,增加了甲状腺结节发生风险,长期可能会导致甲状腺癌变^[16],所以对于 TPO 基因突变的患者定期随访是十分必要的。

TPO 基因缺陷通常是常染色体隐性遗传,因此区分遗传突变性甲状腺疾病和其他甲状腺疾病对遗传咨询具有重要的临床意义。在临床上,常规有关甲状腺方面的检查,如血清甲状腺功能检测、甲状腺彩超等并不能起指导性作用。因此,针对这一类的亚临床甲减,需要基因诊断进行确诊。本研究存在一定不足,研究样本量过少,在特发性亚临床甲减及其家系调查中仅发现 4 例携带突变基因,应扩大样本量以期发现特发性亚临床甲减的其他致病基因,亦应进行长期临床随访。

综上所述,本研究认为 TPO 基因 c. 2268insT 突变为该家系成员的致病原因。

参考文献

[1] 顾盼瑾,臧荣发. 检测甲状腺激素及甲状腺自身抗体在亚临床甲减患者中的临床意义[J]. 中国实验诊断学,2019,23(3):461-463.
[2] 郭珈. 亚临床甲状腺功能减退与心血管疾病发生的关系探究[J]. 西藏医药,2020,41(1):92-93.

[3] 蔡静,刘秀,张力双,等. 原发性甲状腺功能减退患者血 nesfatin-1 与动脉粥样硬化的相关性[J]. 中国慢性病预防与控制,2016,24(12):933-935.
[4] 何昆,刘利红,郑莉霞. 左甲状腺素治疗妊娠期亚临床甲状腺功能减退症的效果观察及对妊娠结局的影响[J]. 临床误诊误治,2020,33(4):48-52.
[5] 郭华峰,杨俊娟,张新华,等. 孕早期甲状腺过氧化物酶抗体阴性的亚临床甲状腺功能减退孕妇治疗与否对子代智力及运动发育的影响[J]. 中国妇幼保健,2020,35(3):419-421.
[6] SZINNAI G. Clinical genetics of congenital hypothyroidism[J]. Endocr dev,2014,26:60-78.
[7] 马绍刚,方佩华,吕枚,等. 先天性甲状腺功能减退症 TSH 受体基因突变研究[J]. 天津医科大学学报,2005,11(1):55-57.
[8] GODLEWSKA M, KRASUSKA W, CZARNOCKA B. Biochemical properties of thyroid peroxidase (TPO) expressed in human breast and mammary-derived cell lines [J]. PLoS One,2018,13(3):e0193624.
[9] LEE C C, HARUN F, JALALUDIN M Y, et al. Prevalence of c. 2268dup and detection of two novel alterations, c. 670_672del and c. 1186C>T, in the TPO gene in a cohort of Malaysian-Chinese with thyroid dysmorphogenesis[J]. BMJ Open,2015,5(1):e006121.
[10] NIU D M, HWANG B, CHU Y K, et al. High prevalence of a novel mutation(2268 insT) of the thyroid peroxidase gene in Taiwanese patients with total iodide organification defect, and evidence for a founder effect[J]. J Clin Endocrinol Metab,2002,87(9):4208-4212.
[11] 郭曼丽,李伟,马绍刚,等. 甲状腺过氧化物酶基因 c. 2268dupT 突变与甲状腺结节的相关性研究[J]. 国际内分泌代谢杂志,2017,37(4):232-235.
[12] FU C, XIE B, ZHANG S, et al. Mutation screening of the TPO gene in a cohort of 192 Chinese patients with congenital hypothyroidism [J]. BMJ Open, 2016, 6(5): e010719.
[13] 方娅,孙凤,张瑞佳. 等先天性甲减患儿的甲状腺过氧化物酶基因突变研究[J]. 现代生物医学进展,2019,19(15):2807-2811.
[14] 苏跃青,王旌,周进福,等. TPO 基因多态性与先天性甲状腺素合成障碍性甲低的关联分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2015,32(6):861-865.
[15] 黄永兰,谭敏沂,蒋翔,等. 疑似甲状腺素合成障碍性永久性先天性甲状腺功能减低症患儿 TPO、DUOX2 及 DUOX2 基因突变分析[J]. 中华儿科杂志,2017,55(3):210-214.
[16] CHERTOK S E, ISHAY A, IRIT E, et al. Minimally invasive follicular thyroid carcinoma developed in dysmorphogenetic multinodular goiter due to thyroid peroxidase gene mutation[J]. Thyroid,2012,22(5):542-546.