

myces odontolyticus infection in a pyriform sinusfistula [J]. *Pediatr Int*, 2017, 59(8):941-942.

[10] 范碧君, 吴学玲. 免疫功能正常患者播散性放线菌病 1 例报道并文献复习[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2020, 20(6): 638-644.

[11] GILBERT D N, CHAMBERS M D, ELIOPOULOS G

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.06.036

M, et al. *The sanford guide to antimicrobial therapy*[M]. 46th ed. Sperryville, USA: Antimicrobial therapy, Inc, 2016:51.

(收稿日期:2022-09-29 修回日期:2023-01-18)

1 例新型 FGA 基因纯合突变导致的遗传性纤维蛋白缺陷症家系分析*

杨 敏¹, 钟硕贤¹, 林荣万¹, 蒙火凤¹, 谭会柳¹, 谭碧玉¹, 陈淑琴², 刘焕亮^{1,3}, 郑 丽^{1△}

1. 中山大学附属第六医院临床检验科, 广东广州 510655; 2. 中山大学附属第六医院妇科, 广东广州 510655; 3. 广东省胃肠病学研究所, 广东广州 510655

关键词: 遗传性纤维蛋白缺陷症; 家系分析; 纤维蛋白原; 基因突变

中图分类号: R554. +5

文献标志码: C

文章编号: 1672-9455(2023)06-0862-03

纤维蛋白原(FIB)是一个由 A α 链, B β 链和 γ 链 3 对多肽链组成的, 由 29 个链间二硫键连接而成的相对分子质量为 340×10^3 的糖蛋白。3 条肽链分别由 FIB α 链(FGA)、FIB β 链(FGB)和 FIB γ 链(FGG) 3 个同源基因编码^[1]。遗传性 FIB 缺陷症(CFD)主要分为 I 型和 II 型两种类型, I 型为 FIB 数量减少, 包括低纤维蛋白血症和无纤维蛋白血症; II 型则为患者血浆中 FIB 数量正常或减少, 但活性水平不成比例的显著降低, 包括异常纤维蛋白血症和低-异常纤维蛋白血症^[2]。CFD 是一种罕见的染色体隐性遗传疾病, 主要是由于 FIB 基因突变导致 FIB 数量或结构异常造成的。临床症状呈现多样性, 包括无症状、出血、血栓形成, 或出血表现和血栓形成同时存在。本研究发现了 1 例 CFD, 经患者及其家属之情同意后, 对此患者及其家属的表型和基因型进行了家系研究, 初步探讨其发病机制, 为该病的研究提供临床依据。

1 资料与方法

1.1 家系资料 先证者, 女, 45 岁, 15 年前剖宫产曾出现大出血, 进行输血治疗, 此次因“宫腔肿物”需行宫腔镜手术, 术前查凝血功能, 发现凝血功能异常。自述无自发性出血、鼻衄等症状, 否认高血压、冠状动脉粥样硬化性心脏病等慢性病史。该家系共 3 代 5 人, 遗传家系图谱见图 1。

1.2 试剂与仪器 日本希森美康 XN-2000 全自动血液分析仪(血常规试剂为原厂配套试剂), 美国沃芬 ACL TOP 血凝分析仪(凝血相关项目试剂为原厂配套试剂), 美国贝克曼库尔特 AU5800 全自动生化分析仪(肝功能检测试剂为原厂配套试剂), 基因组 DNA 提取试剂盒(Qiagen, 德国), Illumina Novaseq 6000 测序仪(Illumina, 美国)。

1.3 方法

1.3.1 血常规检测及肝功能检测 用希森美康 XN-2000 全自动血液分析仪及其配套试剂对乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝静脉血标本进行血常规检测, 用贝克曼库尔特 AU5800 全自动生化分析仪及其配套试剂进行肝功能检测。

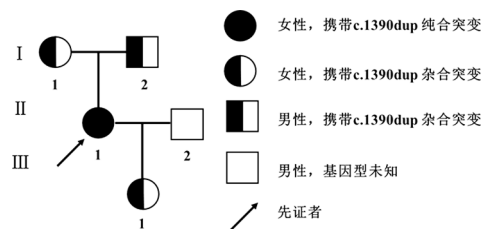


图 1 先证者的家系图

1.3.2 血栓与止血实验室检测 将枸橼酸钠抗凝血标本进行离心(3 000 r/min, 10 min), 然后取上层血浆, 用沃芬 ACL TOP 血凝分析仪及其配套试剂进行凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、FIB(Clauss 法)和 D-二聚体(D-D)检测。同时, 将枸橼酸钠抗凝血标本进行血栓弹力图检测。

1.3.3 基因检测 使用 DNA 提取试剂盒提取先证者及其家属的外周血白细胞基因组 DNA, 然后通过超声破碎并纯化以产生 200~300 bp 的 DNA 片段, 末端标记双脱氧法在 Illumina Novaseq 6000 测序仪上进行正向和反向测序。

2 结果

2.1 血液系列检查结果 先证者与家系成员血常规和肝功能检测均未见异常, 故排除因肝脏疾病等引起的 FIB 缺陷。先证者 PT、TT 均明显延长, FIB 水平

* 基金项目: 中山大学附属第六医院学科建设支撑经费-突出贡献学科(X20210501202200007)。

△ 通信作者, E-mail: zhengli6@mail.sysu.edu.cn.

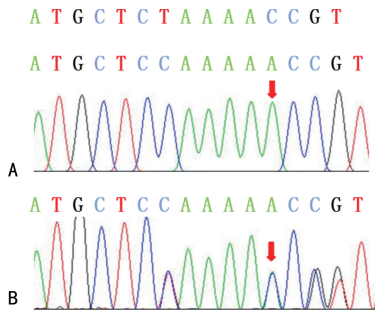
显著降低,其父亲、母亲和女儿 TT 均轻度延长,FIB 轻微降低,其他均在正常范围(表 1)。先证者血栓弹力图检测中 FIB 功能参数 K 值和 Angel 角结果正常,说明 FIB 活性正常。

2.2 基因检测结果 经 FGA、FGB 和 FGG 基因外显子和毗邻内含子区域进行 PCR 扩增和高通量测序

表 1 先证者及其家属的凝血指标、血常规和肝功能结果

项目	年龄(岁)	PT(s)	INR	APTT(s)	TT(s)	FIB(g/L)	D-D($\mu\text{g}/\text{mL}$)	血常规	肝功能
父亲(I 1)	73	11.7	1.02	31.1	18.2	1.6	0.14	正常	正常
母亲(I 2)	72	11.0	0.96	29.4	21.4	1.5	0.23	正常	正常
先证者(II 1)	45	22.4	1.82	30.6	82.8	<0.5	0.15	正常	正常
女儿(III 1)	15	12.7	1.10	32.3	19.8	1.4	0.16	正常	正常

注:PT 参考范围为 9.4~12.5 s;INR 参考范围为 0.8~1.2;APTT 参考范围为 25.1~36.5 s;TT 参考范围为 10.3~16.6 s;FIB 参考范围为 2.00~4.98 g/L;D-D 参考范围为 0~0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。



注:A 为先证者的 FGA 基因序列;B 为先证者母亲的 FGA 基因序列;箭头表示 c.1390Adup 突变。

图 2 测序峰图

3 讨 论

位于 4 号染色体上的 FGA、FGB 和 FGG 基因,分别编码 A α 链、B β 链和 γ 链 3 条肽链,然后形成 A α -B β - γ 多肽链,两条多肽链通过二硫键结合形成一个对称型六聚体复合物,其外部包含两个 D 结构域和一个中央的 E 结构域,即为 FIB^[3]。FIB 由肝细胞分泌释放进入血液,主要通过两种方式在外周血中发挥凝血和止血功能。首先,FIB 与血小板表面的膜糖蛋白 II b/III a 受体结合,从而促进血小板的活化与聚集^[4]。其次,FIB 还在凝血酶的作用下,裂解出纤维蛋白多肽,转变成纤维蛋白单体,然后在凝血因子 XIII a 和 Ca²⁺ 的作用下,通过共价键形成稳定的纤维蛋白多聚体,从而发挥止血功能^[5]。由于编码基因的突变导致 FIB 分子结构和(或)功能异常,从而引起 FIB 释放异常,FIB 单体聚合异常,FIB 单体交联异常和纤维蛋白凝块纤溶异常等,因此引发 CFD。

本家系中,先证者 APTT、D-D 和血栓弹力图检测均正常,PT 和 TT 明显延长,FIB 显著降低,初步诊断为 CFD,其父母及女儿的 TT 轻度延长,FIB 轻微降低。家系成员基因测序是诊断 CFD 的金标准,因此对先证者及其父母和女儿进行了基因测序。研究结果发现先证者存在 FGA 基因第 5 号外显子的

后发现,先证者的 FGA 基因第 5 号外显子的 c.1390A 存在碱基重复突变,且为纯合变异,其父母和女儿则携带该位点杂合变异(图 2)。通过 gnomAD 数据库对该位点进行查询,未发现该位点突变的数据,排除基因多态性可能。

c.1390Adup 的纯合突变,从而导致该基因编码的第 464 位氨基酸发生移码突变,导致苏氨酸(Thr)变为天冬氨酸(Asp),在移码突变 3 个氨基酸后,翻译随即中止。其父母和女儿则携带该位点杂合变异,其父母为非近亲结婚,均符合孟德尔遗传定律。由于本研究目的为确定是否为 CFD,故未做 FIB 抗原检测,未对先证者进行 CFD 的进一步分型。1958 年发现第 1 例 CFD 患者和 1968 年发现第一个突变位点,之后陆续有大量的研究报道了不同的致病突变位点,不仅涉及 FGA、FGB 和 FGG3 个基因的外显子,还涉及其旁侧的内含子区域,通过影响转录、mRNA 剪切、翻译、肽链折叠和组装等一系列过程导致 FIB 出现分子结构和(或)功能异常,从而导致疾病发生^[6]。ASSELTA 等^[7]报道,一些突变虽然使转录提前终止,产生了严重截短的 α 链,从而逃脱了无义突变介导的 mRNA 降解,但是却最终导致了 FIB 六聚体分子分泌障碍。ATTANASIO 等^[8]发现 IVS3+1_+4delGTAA 能够导致 3 号外显子跳跃,最终破坏编码框,导致转录提前终止。本研究先证者因一个碱基对的重复,产生移码突变,从而导致框外转录产物和终止密码子提前,该变异可能会引起蛋白质截断或者激活无义介导的 mRNA 降解,从而导致 FGA 基因的蛋白质产物功能丧失。查阅文献显示,该突变类型为国际尚未报道的新突变,未在文献中报道,但是有研究表明该变异的下游截断变异为致病性变异^[9]。

研究发现约 55% 的 CFD 患者无任何临床症状,约 25% 的 CFD 患者主要临床表现为出血,包括脐带出血、中枢神经系统出血、肌肉血肿、关节出血、牙龈出血、鼻衄等,约 20% 的 CFD 患者有血栓倾向且主要为静脉血栓^[10]。本研究中的先证者自述无自发性出血、鼻衄等症状,曾因剖宫产引发大出血。其父母均无症状,女儿自 12 岁首次月经开始至今存在月经量大、经期过长的症状。由于该疾病较为少见,且因检

测手段有限,极易被漏诊,误诊,而这类患者随着病程进展或经历外伤、手术分娩等,有严重出血或血栓形成甚至危及生命。因此临床医生应通过临床表现、凝血相关检查及基因遗传学检查综合诊断。

通过以上分析可以推断,c. 1390Adup 的纯合突变是导致先证者患 CFD 的原因,且其父母及女儿均为该位点的杂合突变,故表现为 TT 轻度延长, FIB 轻微降低。因此笔者认为,通过凝血相关检查结合基因测序能够对 CFD 进行确诊。希望随着分子遗传学的不断发展,同时通过更多病例及其突变位点的报道和收集,更好地揭示基因型和表型的关系,对 CFD 的致病分子机制了解越来越深入。

参考文献

- [1] UNDAS A, CASINI A. Congenital structural and functional fibrinogen disorders: a primer for internists[J]. Pol Arch Intern Med, 2019, 129(12): 913-920.
- [2] 王甜甜, 邵静茹, 王杰, 等. 新型 FGG 基因突变导致遗传性纤维蛋白原缺陷症的研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2021, 29(2): 586-590.
- [3] ACHARYA S S, DIMICHELE D M. Rare inherited disorders of fibrinogen[J]. Haemophilia, 2008, 14(6): 1151-1158.
- [4] 宋景春. 重症患者纤维蛋白原缺乏症的现代诊疗观点

(上接第 859 页)

- [8] 朱晶, 王蓓丽, 郭玮, 等. 临床生化检验报告自动审核系统的规范化建立和优化[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(9): 704-707.
- [9] 张超, 徐金建, 计虹. 基于集成平台的实验室信息系统改进的研究与应用[J]. 中国数字医学, 2019, 14(3): 114-116.
- [10] VLADIMIRA R, IVANA L, KRESIMIR K, et al. Implementation of the autovalidation algorithm for clinical chemistry testing in the laboratory information system[J]. Lab Med, 2018(3): 284-291.
- [11] WANG H, WANG H, ZHANG J, et al. Using machine learning to develop an autoverification system in a clinical biochemistry laboratory[J]. Clin Chem Lab Med, 2020, 59(5): 883-891.
- [12] 蒋义, 李琨, 李林. 美国退伍军人健康管理局信息系统及其在医疗协同中的作用[J]. 中国数字医学, 2019, 14(6): 27-30.
- [13] 陈荣山, 姚婕. 医院信息系统集成平台的建设思考[J]. 科技经济市场, 2020(12): 91-92.
- [14] 潘玉龙, 陈韧. 市级统筹核酸信息系统的设计与实践探讨[J]. 中国数字医学, 2022, 17(5): 95-98.
- [15] RIMAC V, LAPIC I, KULES K, et al. Implementation of the autovalidation algorithm for clinical chemistry testing

[J]. 东南国防医药, 2018, 20(5): 454-458.

- [5] TISCIA G L, MARGAGLIONE M. Human fibrinogen: molecular and genetic aspects of congenital disorders[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(6): 1597.
- [6] 刘琳, 王卫敏, 聂鼎睿, 等. 1 个 FGA 基因 c. 103C>T 杂合突变导致的遗传性异常纤维蛋白原血症家系分析[J]. 河南医学研究, 2020, 29(33): 6161-6164.
- [7] ASSELT A R, DUGA S, SPENA S, et al. Congenital afibrinogenemia: mutations leading to premature termination codons in fibrinogen A alpha-chain gene are not associated with the decay of the mutant mRNAs[J]. Blood, 2001, 98(13): 3685-3692.
- [8] ATTANASIO C, DAVID A, NEERMAN-ARBEZ M. Outcome of donor splice site mutations accounting for congenital afibrinogenemia reflects order of intron removal in the fibrinogen alpha gene (FGA) [J]. Blood, 2003, 101(5): 1851-1856.
- [9] MORET A, ZUNIGA A, IBANEZ M, et al. Clinical and molecular characterization by next generation sequencing of Spanish patients affected by congenital deficiencies of fibrinogen[J]. Thromb Res, 2019, 180: 115-117.
- [10] DE MOERLOOSE P, CASINI A, NEERMAN-ARBEZ M. Congenital fibrinogen disorders: an update [J]. Semin Thromb Hemost, 2013, 39(6): 585-595.

(收稿日期: 2022-04-25 修回日期: 2023-01-10)

in the laboratory information system[J]. Lab Med, 2018, 49(3): 284-291.

- [16] 夏良裕, 程歆琦, 刘茜, 等. 临床实验室生化免疫项目自动审核程序的建立与应用[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(8): 616-621.
- [17] YAN C, ZHANG Y, LI J, et al. Establishing and validating of an laboratory information system-based auto-verification system for biochemical test results in cancer patients[J]. J Clin Lab Anal, 2019, 33(5): e22877.
- [18] TOMAEV N, GLOROT X, RAE J W, et al. A clinically applicable approach to continuous prediction of future acute kidney injury[J]. Nature, 2019, 572(7767): 116-119.
- [19] KHALIQUE F, KHAN S A, NOSHEEN I. PHF-A framework for public health monitoring, analytics and research[J]. IEEE Access, 2019, 7: 101309-101326.
- [20] 赵军, 陈子晗, 高子航. 基于微服务架构的一体化科研管理平台设计与实现[J]. 无线电工程, 2019, 49(5): 436-441.
- [21] CONNELLY D P, SIELAFF B H, WILLARD K E. A clinician's workstation for improving laboratory use. Integrated display of laboratory results[J]. Am J Clin Pathol, 1995, 104(3): 243-252.

(收稿日期: 2022-06-10 修回日期: 2023-01-11)