

NPHP1 基因纯合缺失所致肾消耗病 一个家系的临床特征及遗传学分析

周立飞^{1,2}, 郑琳璐^{1,3}, 王文艺^{1,4}, 李建磊^{1,4}, 张丹莉^{1,3}, 张萍萍¹, 田海深¹, 李亚丽¹

(1.河北省人民医院生殖遗传科, 河北 石家庄 050051; 2.华北理工大学研究生学院, 河北 唐山 063210;

3.河北北方学院研究生学院, 河北 张家口 075132; 4.河北医科大学研究生学院, 河北 石家庄 050011)

关键词: 肾消耗病; 肾囊蛋白; NPHP1 基因

中图分类号: R715 文献标志码: B

肾消耗病(nephronophthisis, NPHP)是一种常染色体隐性囊性肾病,是儿童肾衰竭最常见的原因,在引起NPHP的已知致病基因中,NPHP1是最常见的,约占NPHP病例的五分之一^[1]。本病在国外报道居多,国内少有报道,目前认为位于染色体2q13的NPHP1基因纯合缺失是引起肾消耗病的主要原因,在我国关于NPHP的发病率没有确切数据,在全球约为1:50 000至1:70 000,占肾衰竭病例的10%~15%,占儿童肾移植的15%^[2],1997年Hildebrandt等^[3]首次发现NPHP1与肾消耗病有关。本文报道了一个NPHP1基因纯合缺失所致的肾消耗病家系的临床表型和基因检测结果,分析总结该病的临床表现,为青少年肾脏疾病的基因型-表型的相关性遗传咨询提供了见解,以增强临床医师对该病发病机制的认识和鉴别,为产前诊断提供指导。

1 病例资料

先证者,男,2010年出生,为足月顺产,出生体质量不详,产伤史、窒息史均无,11岁时主因血钾增高就诊医院确诊慢性肾脏病3期,12岁诊断为慢性肾脏病5期,现尿毒症期透析治疗。辅助检查提示:血压168/124 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),血常规:红细胞为 $3.30 \times 10^{12}/L$,血红蛋白为95 g/L;血电解质+肾功能测定:尿素为37.70 mmol/L(参考范围:2.7~7.0 mmol/L),肌酐为893.0 $\mu\text{mol}/L$ (参考范围27~66 $\mu\text{mol}/L$), β_2 微球蛋白为19.50 mg/L(参考范围:1.0~2.3 mg/L),钙为1.87 mmol/L(参考范

围:2.1~2.8 mmol/L),钾为6.67 mmol/L(参考范围:3.7~5.2 mmol/L);肝功能:碱性磷酸酶为1 347.0 U/L(参考范围:146~500 U/L);腹部超声示:双肾体积偏小,右肾盂充盈(前后径约0.6 cm),右肾实质部无回声(囊肿?),左肾轻度积水(肾盂前后径约1.5 cm),肝、胆、胰、脾未见占位性病变。出院诊断为:慢性肾脏病5期、肾单位肾痹、肾性贫血、肾性高血压、高钾血症、低钙血症、佝偻病、支气管炎、肝功能损伤。右眼视力差,0.01。先证者外祖父因肾癌去世。先证者妹妹2016年出生,为足月顺产,有肾功能低下及右眼视力差病史,因症状轻微未给予特殊治疗。其父母均表型正常,否认近亲婚配。现先证者母亲34岁,G4P2,于2015年因个人原因人工引产1次,来我科就诊时孕17周,我科胎儿超声示:宫内孕单活胎(胎位横位、胎盘0级)、胎儿心室强光点、孕妇多发子宫肌瘤。孕妇要求对本次妊娠进行产前诊断。家系系谱图如图1。本研究通过了河北省人民医院伦理委员会的审查(批准号:2024-LW-047)。

抽取先证者外周血样5 mL,行全外显子组(copy number variations, CNV)检测,抽取先证者父母及其妹妹外周血样5 mL行实时荧光定量PCR法(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)对目标基因外显子拷贝数进行检测,并以单拷贝基因白蛋白(albumin, ALB)基因作为内参对照,根据NPHP1突变位点以NPHP1_E1、NPHP1_E20为引物设计序列对其先证者及其父母进行验证,以NPHP1_E2、NPHP1_E11、NPHP1_E20为引物设计序列对其妹妹进行PCR验证。经

孕妇本人及家系成员同意后,于孕 17 周行羊膜腔穿刺术,抽取羊水 30 mL 于我院生殖遗传科实验室进行染色体核型分析及 CNV-seq 检测。

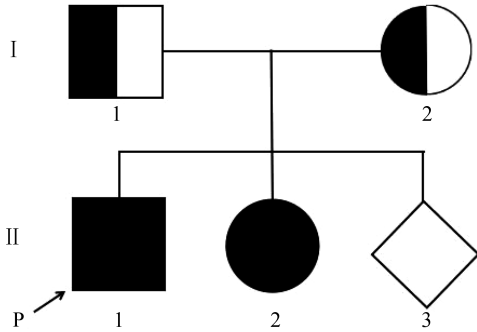


图 1 患儿家系的系谱图(P 为先证者)

2 结果

全外显子组检测 CNV 分析结果显示:患儿在 2 号染色体 q13 区带发生约 81 766 bp 纯合缺失,涉及

NPHP1 基因(EX.1-EX.20)的全部测序缺失(图 2),后采用定量 PCR 验证,为真实缺失。先证者 1 号、20 号外显子缺失从而诊断为该(EX.1-EX.20)的全部测序缺失。其妹妹 NPHP1 基因 2 号、11 号、20 号外显子纯合缺失从而诊断为该(EX.1-EX.20)的全部测序缺失,与其先证者缺失片段相同,其父母该区域存在杂合缺失(图 3)。根据 2015 年版美国医学遗传学与基因组学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)指南对变异的致病性评估及先证者的临床症状,该区域缺失定义为致病性变异(PVS1+PS4+PP1),PVS1:当一个疾病的致病机制为功能丧失(loss of function, LOF)时,无功能变异(无义变异、移码变异、经典±1 或 2 的剪接变异、起始密码子变异、单个或多个外显子缺失);PS4:变异出现在患病群体中的频率显著高于对照群体;PP1:变异与疾病在家系中共分离(在家系多个患者中检测到此变异)。结合先证者及妹妹临床症状及基因缺失位点,考虑为肾消耗病。

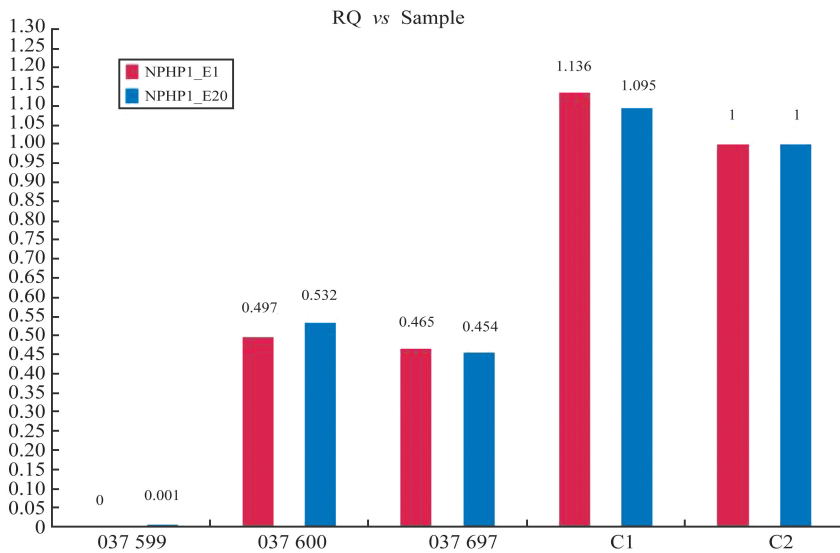


图 2 RT-qPCR 检测结果图

037 599 为受检者,037 600 为受检者母亲,037 697 为受检者父亲,C1/C2 为 2 个正常对照;一般认为 $2^{-\Delta\Delta ct} < 0.1$ 为纯合缺失, $0.3 < 2^{-\Delta\Delta ct} < 0.7$ 为杂合缺失, $0.7 < 2^{-\Delta\Delta ct} < 1.3$ 为正常, $1.3 < 2^{-\Delta\Delta ct} < 1.8$ 为单倍重复。

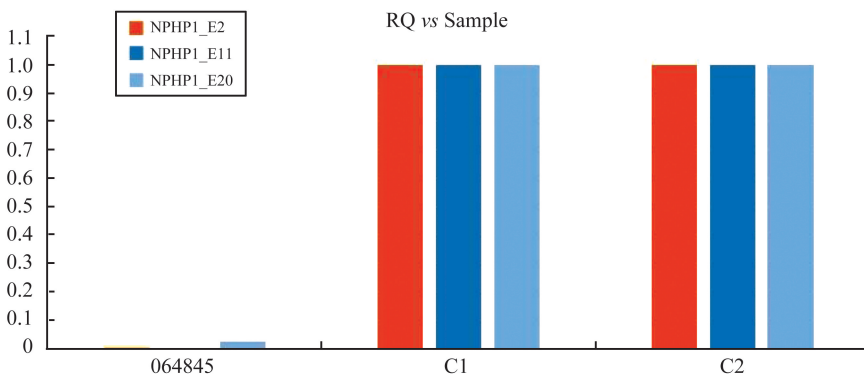


图 3 RT-qPCR 检测结果图

064 845 先证者妹妹,C1/C2 为 2 个正常对照(均为正常女性)

胎儿产前诊断:羊水染色体核型与 CNV-seq 检测分析均未见数目及其结构明显异常;随访:

先证者的母亲足月剖宫产一女婴,体质量 2.8 kg,外观无畸形,母乳喂养,现 3 个月,发育正常。

3 讨论

NPHP 是一种由位于 2q13 的 NPHP1 基因纯合缺失引起的一种常染色体隐性遗传的囊性肾脏疾病,是儿童或青少年期肾功能衰竭的最常见原因之一。其主要的临床表现为多饮、多尿、贫血和进行性肾衰竭,导致最终发展为终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD)^[4],根据其终末期肾病的发病年龄又被分为婴儿型、少年型与青年型。NPHP 通常存在肾间质浸润伴纤维化、肾小管萎缩伴基底膜破坏、皮髓质边缘囊肿为主要特征的肾脏系统疾病,约 15% 的患者同时亦可出现肾外表现,例如视力减退或色素视网膜炎、肝纤维化和心脏畸形等^[1,5]。眼睛是肾消耗病最常受累的肾外器官,具有两种不同的眼科表型,色素性视网膜炎为最常见的症状,早发性视网膜色素变性类似于 Leber 先天性黑蒙,而晚发性视网膜色素变性的特征在于进行性视力丧失和夜盲。Cogan 型动眼运动失用症相对少见,主要症状为水平凝视受损和眼球震颤^[6]。迄今为止,已经鉴定出了超过 20 个基因可导致 NPHP,主要相对常见的致病基因分别为 NPHP1、INVS、NPHP3、NPHP4、CEP290、TMEM67 以及 IQCB1 等,NPHP1 和 NPHP4 通常在幼年型肾萎缩患者中发现,大约 90% 的病例由 NPHP1 突变引起,NPHP2 和 NPHP9 通常参与婴儿型,NPHP2 特征为发病年龄早,其主要表现为超声影像显示肾脏增大以及合并肾外内脏逆位和心脏异常等表现,NPHP3 通常参与青少年型,在 19 岁左右发展为终末期肾衰竭^[7-9]。NPHP1 基因位于 2 号染色体上,具有 20 个外显子,是导致 NPHP 最常见的致病基因,主要编码一种称为肾囊蛋白-1 的蛋白质,一种与细胞-细胞和细胞-基质信号传导组分相互作用的蛋白质,该蛋白质可调控复合体的磷酸化状态,促进细胞黏附以及细胞间信号转导,因其存在于初生纤毛中,因此将其归类为纤毛病^[10-11]。肾囊蛋白不仅在肾脏中表达,亦可在肝脏、胰腺、中枢神经系统和眼睛中普遍表达,因此会导致影响多种器官的多种纤毛病综合征,例如 Senior-Loken 综合征、Joubert 综合征(Joubert Syndrome),并在多个家系中与疾病表现共分离。Joubert 综合征,是一种与几种基因突变相关的神经发

育障碍性疾病,为常染色体隐性遗传,包括 NPHP 1 和 NPHP 6 中的突变^[12]。其主要的临床表现包括发育迟缓、呼吸模式失调、动眼神经失用症、脉络膜视网膜缺损、多指(趾)畸形和肝纤维化等多器官受累,其主要的影像学特征为小脑蚓部发育不全和具有典型的“磨牙症”(molar tooth sign, MTS)^[13-14]。Senior-Loken 综合征是一种罕见的常染色体隐性遗传的遗传性睫状体病,其主要特征为肾消耗病和视网膜综合征^[15]。NPHP1 的基因产物肾囊蛋白 1 在光感受器的内节与外节的鞭毛内转运中起着重要作用,在一项 NPHP1 靶向破坏的小鼠模型中证实了 NPHP1 突变会导致视网膜疾病这一假设,但一旦连接纤毛建立,低水平的 NPHP1 就足以维持连接纤毛的正常功能^[16]。现有资料表明,仅 20% 至 23% 的 NPHP1 变体引起的青少年肾单位患者的视网膜受累,但一研究队列报告了所有入选患者中均观察到视网膜改变,该队列包含了 16 例 NPHP1 基因纯合性缺失的肾消耗病患者^[17-18]。这种情况可能是因为 NPHP 1 相关视网膜病变大多是轻度的,与全身性疾病表现无关从而未能及时诊断治疗。未来在 NPHP 患者中使用多模式视网膜成像进行深度表型分型为患者长期视力预后方面得到更精确和可靠的咨询。此外,详细的视网膜评估可能有助于 NPHP 患者的鉴别诊断,而且特定的视网膜疾病还可以提醒临床医生对患者做肾脏相关检查。

目前,国内文献报道具有明确基因诊断的肾消耗病 NPHP 并不多见,对于肾消耗病国内研究主要以临床病例报道为主。在 1982 年至今所报道的 100 多例肾消耗病中仅有 10 多例是由 NPHP1 大片段纯合缺失所致,发病年龄皆在 9~13 岁左右,均在一年内发展为终末期肾衰竭^[19-20]。该家系中先证者及其妹妹均出现相同的临床表型,遗传性肾消耗病和单基因病的可能性非常大。先证者及其妹妹行全外显子组 CNV 测序及实时荧光定量 PCR 结果提示 NPHP1 基因均存在纯合缺失,且分别遗传自表型正常的父亲和母亲,符合常染色体隐性遗传方式。明确了基因诊断,考虑到先证者妹妹年龄 6 岁,已嘱家属密切观察,如有高血压、多饮和多尿现象及早就诊。

总之,NPHP 通常在 13 岁左右进展为终末期肾病,在成人 ESRD 患者中的发病率逐年升高,尚无特效治疗方法,多采用常规治疗手段包括营养支持为主;对进入终末期肾病的患者,也仅有肾透析与肾移植作为最后治疗手段^[20-21]。此外根据 NPHP 的发病机制,需要更多地考虑肾衰竭和进展性儿童慢性

病患者中 NPHP 的诊断。NPHP 儿童通常在 6 岁左右出现多尿、高血压以及继发贫血等症状,肾脏超声可发现肾脏回声增强和皮髓质囊肿,肾活检可显示肾小管基底膜破坏、肾小管间质纤维化和皮髓质囊肿特征性三联征,目前分子遗传学检测被用于该疾病诊断^[21]。对于有肾功能下降家族史的家庭进行遗传咨询、基因筛查和产前诊断至关重要。因此通过该病例报告加强临床医师对此病基因型及临床表型的认识,有针对性地筛查有风险的家庭成员从而降低出生缺陷,预防遗传病的发生。

参考文献:

- [1] Kang HG, Ahn YH, Kim JH, et al. Atypical retinopathy in patients with nephronophthisis type 1: an uncommon ophthalmological finding [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2015, 43(5): 437-442.
- [2] Potter DE, Holliday MA, Piel CF, et al. Treatment of end-stage renal disease in children: a 15 year experience [J]. *Kidney Int*, 1980, 18(1): 103-109.
- [3] Hildebrandt F, Otto E, Rensing C, et al. A novel gene encoding an SH3 domain protein is mutated in nephronophthisis type 1 [J]. *Nat Genet*, 1997, 17(2): 149-153.
- [4] Abdelwahed M, Maaloul I, Benoit V, et al. Copy-number variation of the NPHP1 gene in patients with juvenile Nephronophthisis [J]. *Acta Clin Belg*, 2021, 76(1): 16-24.
- [5] Hoefele J, Nayir A, Chaki M, et al. Pseudodominant inheritance of nephronophthisis caused by a homozygous NPHP1 deletion [J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(6): 967-971.
- [6] Hildebrandt F, Attanasio M, Otto E. Nephronophthisis: disease mechanisms of a ciliopathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(1): 23-35.
- [7] Otto EA, Helou J, Allen SJ, et al. Mutation analysis in nephronophthisis using a combined approach of homozygosity mapping, CEL I endonuclease cleavage, and direct sequencing [J]. *Hum Mutat*, 2008, 29(3): 418-426.
- [8] Simms RJ, Hynes AM, Eley L, et al. Nephronophthisis: a genetically diverse ciliopathy [J]. *Int J Nephrol*, 2011, 2011: 527137. doi: 10.4061/2011/527137.
- [9] Hildebrandt F, Zhou W. Nephronophthisis-associated ciliopathies [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18(6): 1855-1871.
- [10] Akira M, Suzuki H, Ikeda A, et al. Atypical histological abnormalities in an adult patient with nephronophthisis harboring NPHP1 deletion: a case report [J]. *BMC Nephrol*, 2021, 22(1): 261.
- [11] Wolf MT. Nephronophthisis and related syndromes [J]. *Curr Opin Pediatr*, 2015, 27(2): 201-211.
- [12] Chettiankandi S, Khan GA, Khan HA. Joubert syndrome with a rare ocular phenotype: coloboma with retrobulbar cysts - a case report [J]. *Case Rep Ophthalmol*, 2022, 13(2): 604-610.
- [13] Maria BL, Quisling RG, Rosainz LC, et al. Molar tooth sign in Joubert syndrome: clinical, radiologic, and pathologic significance [J]. *J Child Neurol*, 1999, 14(6): 368-376.
- [14] Maria BL, Boltshauser E, Palmer SC, et al. Clinical features and revised diagnostic criteria in Joubert syndrome [J]. *J Child Neurol*, 1999, 14(9): 583-590.
- [15] Yahalom C, Volovelsky O, Macarov M, et al. SENIOR-LØKEN SYNDROME: a case series and review of the renoretinal phenotype and advances of molecular diagnosis [J]. *Retina*. 2021, 41(10): 2179-2187.
- [16] Lu J, Xiong K, Qian X, et al. Spata7 is required for maintenance of the retinal connecting cilium [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 5575.
- [17] Birtel J, Spital G, Book M, et al. NPHP1 gene-associated nephronophthisis is associated with an occult retinopathy [J]. *Kidney Int*, 2021, 100(5): 1092-1100.
- [18] Wolf MT. Nephronophthisis and related syndromes [J]. *Curr Opin Pediatr*, 2015, 27(2): 201-211.
- [19] Snoek R, van Setten J, Keating BJ, et al. NPHP1 (nephrocystin-1) gene deletions cause adult-onset ESRD [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(6): 1772-1779.
- [20] 马斯禹, 阮雯聪, 曹宗富, 等. 一例 NPHP1 纯合缺失所致的 Joubert 综合征 [J]. *生殖医学杂志*, 2019, 28(7): 797-804.
- [21] Kramers BJ, Koorevaar IW, van Gastel MDA, et al. Effects of hydrochlorothiazide and metformin on aquaresis and nephroprotection by a vasopressin V2 receptor antagonist in ADPKD: a randomized crossover trial [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2022, 17(4): 507-517.

(编辑:张彩凤)