

## 5例儿童X连锁无丙种球蛋白血症报告及基因特征分析\*

丁星梅<sup>1</sup>, 张冲<sup>2</sup>, 林毅<sup>2</sup>, 张秋业<sup>2</sup>

(1. 青岛大学, 山东青岛 266003; 2. 青岛大学附属医院, 山东青岛 266003)

**摘要:**目的 总结X连锁无丙种球蛋白血症(XLA)患儿的临床和免疫学特征及基因突变特点, 提高对该病的认识。方法 对高度疑似XLA的5例男童的临床和实验室资料进行回顾性总结, 并采用二代测序+一代验证技术对患儿及父母进行BTK基因测序。结果 5例患儿均为男性、汉族, 以反复下呼吸道感染为主要临床表现, 并发鼻炎、鼻窦炎2例, 关节炎1例, 血小板减少性紫癜1例; 体格检查显示浅表淋巴结和扁桃体缺如; 血清免疫球蛋白和外周血B细胞显著降低; 基因检测示5例患儿均存在人类酪氨酸激酶(BTK)基因半合子突变, 均来自母亲, 分别为c.1349+5G>T, c.1154deIC, p.(Pro386fs), c.1632-1G>T, c.110T>G和c.1751C>A。结论 男性患儿、反复呼吸道感染、扁桃体及外周淋巴结缺如、血清免疫球蛋白和外周血B细胞显著降低或缺如是XLA的重要特征, BTK基因突变是确诊依据; BTK基因c.1632-1G>T和c.1751C>A突变为首次报道。

**关键词:** X连锁无丙种球蛋白血症; 人类酪氨酸激酶基因; 儿童

**中图分类号:** R553; R446.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2018)03-065-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.03.017

### Analysis of X-linked Agammaglobulinemia and Genetic Characteristics of 5 Cases

DING Xing-mei<sup>1</sup>, ZHANG Chong<sup>2</sup>, LIN Yi<sup>2</sup>, ZHANG Qiu-ye<sup>2</sup>

(1. Qingdao University, Shandong Qingdao 266003, China;

2. the Affiliated Hospital of Qingdao University, Shandong Qingdao 266003, China)

**Abstract:** **Objective** To summarize the clinical and immunological characteristics and gene mutation characteristics of children with X-linked agammaglobulinemia (XLA), so as to improve the understanding of the disease. **Methods** Carried on the retrospective analysis for the clinical and laboratory data of 5 boys who were highly suspected of XLA, and did the BTK gene sequencing for children and their parents with the two generation sequencing generation verification techniques. **Results** 5 cases were all males and Han nationality, with main clinical manifestations of recurrent lower respiratory tract infection, accompanying 2 cases with rhinitis and sinusitis, 1 cases of arthritis, 1 case of thrombocytopenic purpura. Physical examination revealed a superficial lymph node and tonsil deletion, and serum immunoglobulin and peripheral blood B cells significantly decreased; BTK gene hemizygous mutations were proved by the gene detection in 5 these cases, and they were all from the mother, which were c.1349+5G>T, c.1154deIC, p.(Pro386fs), c.1632-1G>T, c.110T>G and c.1751C>A respectively. **Conclusion** Male patients, the important feature of XLA could be summarized as recurrent respiratory tract infection, tonsil and absence of peripheral lymph nodes, significant decrease or absence of serum immunoglobulin and B cells in peripheral blood. BTK gene mutation is the basis of diagnosis; BTK gene c.1632-1G>T and c.1751C>A mutations were reported for the first time.

**Keywords:** X-linked agammaglobulinemia; BTK gene; children

X连锁无丙种球蛋白血症(X-linked agammaglobulinemia, XLA)是人类酪氨酸激酶(BTK)基因突变导致前B细胞进一步成熟为B细胞障碍而引起的原发性免疫缺陷病。临床常表现为反复细菌感染。该病为X连锁隐性遗传病, 发生率大约是1:200 000<sup>[1]</sup>。是最早发现且发病率最高的人类原发性免疫缺陷病之一, 曾有报道B细胞在淋巴细胞亚群低于1%的男性约90%是XLA<sup>[2,3]</sup>。XLA发病年龄较早, 一般为9~18个月龄<sup>[4]</sup>, 临床

表现无特异性, 常规检查不易发现该病, 易漏诊, BTK基因检测可尽早确诊XLA。为提高对本病的认识, 减少延误诊疗, 对近1余年来收治的5例XLA患儿的临床资料和遗传学特征进行分析总结。

#### 1 材料与方法

1.1 研究对象 选择2016年7月~2017年8月期间因反复感染于青岛大学附属医院儿科就诊的

\* 作者简介: 丁星梅(1982-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 儿童免疫。

通讯作者: 张秋业(1963-), 男, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 儿童肾病风湿免疫, 青岛大学附属医院心肾免疫儿科主任, 现任亚洲小儿肾脏病学会会员, 中华儿科学会临床免疫学组委员, 山东省儿科学会肾脏病学组组长, 《中国误诊学研究》特邀编委, E-mail: qyzh9816@163.com。

患儿,给予常规检查血细胞检测、细胞及体液免疫功能测定,初步筛出5例B细胞缺乏、免疫球蛋白缺乏的患儿,临床诊断:“免疫缺陷病:XLA可疑”,给予静脉输注人免疫球蛋白治疗,完成BTK基因检测。

1.1.1 首次发病及确诊时间:5例XLA患儿均为汉族男性,首次发病年龄1月~4岁,确诊年龄9月~12岁。自发病年龄至确诊年龄的时间跨度短则8个月,长则达9年。病例5追问到家族中有舅舅夭折病史。其他病例否认阳性家族病史。见表

1。  
1.1.2 临床表现:所有患儿均以呼吸道感染起病,表现为反复支气管炎或/和肺炎,发作频率每年3~8次;间隔时间1~3月。并发反复鼻炎、鼻窦炎2例,关节炎1例,血小板减少性紫癜1例。体格检查显示患儿体格发育情况一般,多偏消瘦,浅表淋巴结和扁桃体缺如,肝脾轻度肿大,心脏无异常,并发下呼吸道感染时肺部闻及干湿性罗音,见表1。

表1 5例XLA患儿临床资料					
病例	发病年龄	确诊年龄	诊断	临床患病情况	家族史
1	2月	2岁	XLA	反复下呼吸道感染(3~5次/年)、腹泻	—
2	3岁	5岁	XLA	反复下呼吸道感染(5~8次/年)、鼻炎、鼻窦炎	—
3	4岁	11岁	XLA,JRA	反复下呼吸道感染(3~5次/年)、关节肿痛	—
4	42天	9月	XLA	反复下呼吸道感染(3次)	—
5	3岁	12岁	XLA	反复下呼吸道感染(7~8次/年)、鼻炎、鼻窦炎 血小板减少性紫癜	±

1.2 研究方法 对反复感染患儿行免疫功能检查,以速率散射比浊法检测血清免疫球蛋白,包括免疫球蛋白G(IgG),免疫球蛋白A(IgA),免疫球蛋白M(IgM)和免疫球蛋白E(IgE),用流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群,包括T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀伤细胞,疑诊XLA患儿采用二代测序+一代验证技术对患儿及父母进行BTK

基因测序。  
2 结果  
2.1 免疫功能检测结果 见表2。5例患儿血清IgG,IgA,IgM和IgE均广泛降低,外周血T细胞(CD3<sup>+</sup>,CD4<sup>+</sup>,CD8<sup>+</sup>,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>)正常,自然杀伤细胞(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)百分率无明显异常,而B细胞(CD19<sup>+</sup>)百分率显著降低。

表2 5例XLA患儿细胞及体液免疫功能检测结果									
病例	细胞免疫(%)						体液免疫(g/L)		
	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	CD19 <sup>+</sup>	CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>	IgG	IgA	IgM
1	92.4	59.5	26.1	2.28	2.3	2.8	<1.29	<0.25	<0.17
2	91.92	50.36	37.88	1.33	0.09	5.81	<1.37	<0.26	<0.179
3	91.64	49.04	36.9	1.33	0.02	7.14	2.72	<0.23	<0.17
4	84.77	60.89	21.89	2.78	0.9	10.08	2.15	<0.23	<0.17
5	89.5	44.84	39.67	1.13	0.1	8.02	<0.3	<0.04	<0.05

注:病例3间断静脉免疫球蛋白注射7年;病例5在6岁患血小板减少性紫癜曾静注免疫球蛋白治疗,间断静脉注射免疫球蛋白4年。

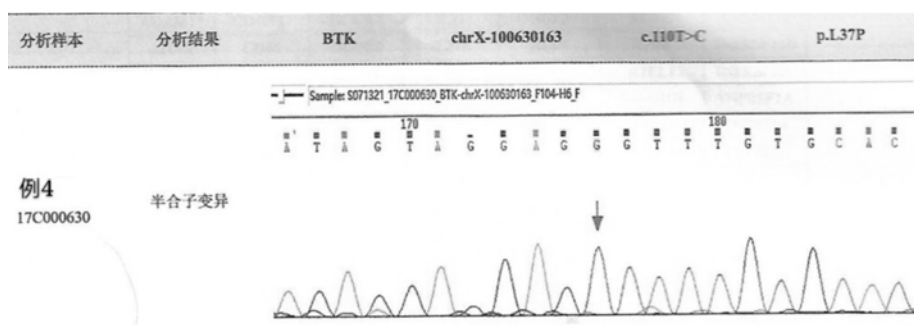
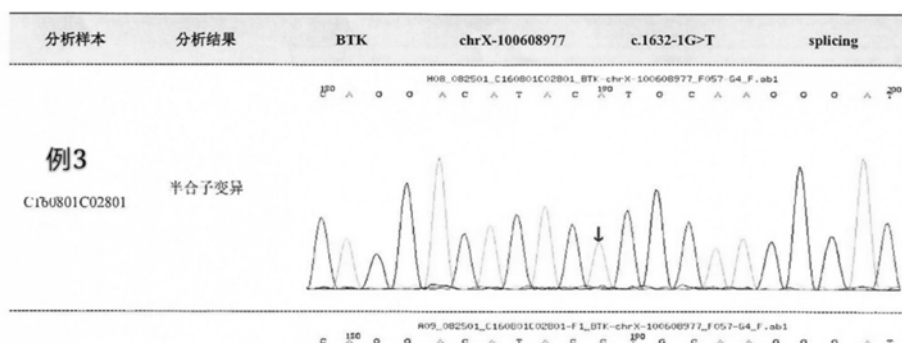
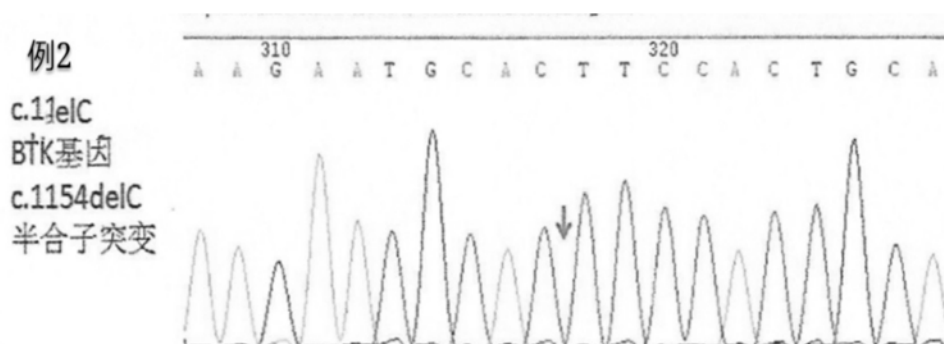
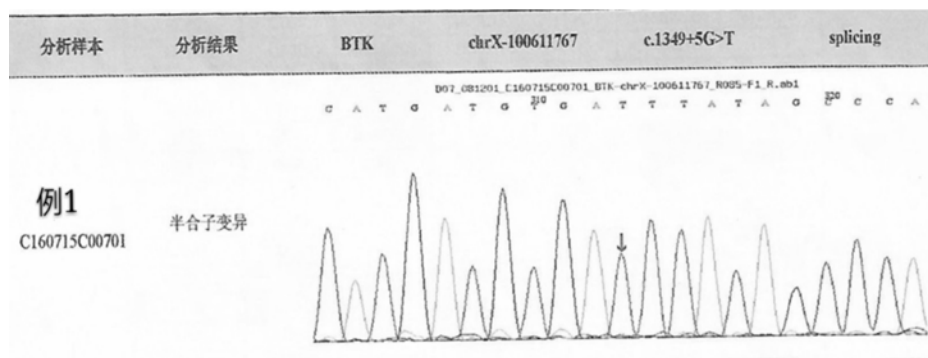
2.2 BTK基因突变筛查结果 采用二代测序+一代验证技术对5例患儿及其父母进行全基因组测序,基因检测显示均存在BTK基因半合子突变,且均来源于母亲。结果见表3,图1(例1~5)。

表3 5例XLA患儿BTK基因检测结果					
病例	外显子	核苷酸变化	氨基酸变化	遗传方式	来源
1	exon15	c.1349+5G>T	splicing	XR	母亲
2	exon13	c.1154delC	P.(pro385fs)	XR	母亲
3	exon17	c.1632_1G>T	Splicing	XR	母亲
4	exmo2	c.110T>C	p.L37P	XR	母亲
5	exmo16	c.1571C>A	p.A524D	XR	母亲

注:病例3在HGMD专业数据库中未见报道;病例5在HGMD专业数据库中未见报道。

剪切突变2例,移码突变1例,错义突变2例;其中病例2为 Exon13 c: .1154delC; p. (Pro386fs),移码突变,翻译产物蛋白质第385位氨基酸开始编码发生紊乱,并使得蛋白质翻译提前终止,曾有文献报道在 XLA 中检测到该突变,ESP6500,千人基因组和 dbSNP 数据库均未见收录;病例3为 c.1632-1G>T,编码区第1632-1号

核苷酸由鸟嘌呤变异为胸腺嘌呤,导致氨基酸改变(剪接突变),在 HGMD 专业数据库中未见报道;病例5为 c.1751C>A,编码区第1571号核苷酸由胞嘧啶变异为腺嘌呤,导致第524号氨基酸由丙氨酸变异为天冬氨酸,为错义突变,在 HGMD 专业数据库中未见报道。



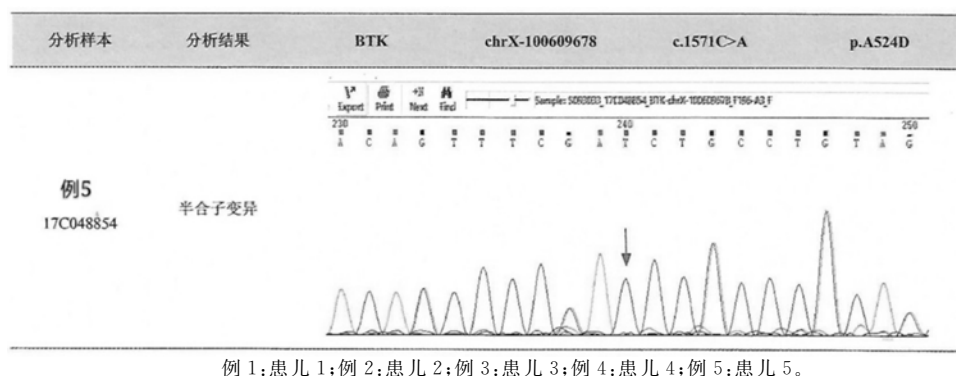


图1 患儿基因图

2.3 治疗及随访结果 注射免疫球蛋白的替代治疗费用昂贵,有感染乙肝等患肝硬化风险<sup>[5]</sup>,但仍是XLA最有效的治疗。Quartier等<sup>[6]</sup>研究表明,早期替代治疗,肺炎发病率明显下降。IgG>5g/L,感染明显减少;IgG>8g/L,支气管扩张可有效避免<sup>[7]</sup>。本研究5例患儿基因诊断明确后,给予每月静注人免疫球蛋白400~600mg/kg,维持静脉血IgG水平在5g/L以上,并定期检测的乙肝抗体均阴性,随访7~16个月,未发生严重细菌感染,住院天数减少,显著提高了患儿的生活质量,帮助其正常生长发育。

3 讨论 XLA临床表现各异,有显著变异性<sup>[8]</sup>,下呼吸道感染为主,其中20%的XLA患者可并发关节炎、化脓性关节炎,也可并发幼年特发性关节炎等<sup>[9,10]</sup>,曾有国外报道美国和加拿大XLA患者鼻窦炎最为常见<sup>[11]</sup>,还可出现骨髓炎、脑膜炎、脊髓灰质炎以及皮肤感染、营养不良、淋巴组织发育不良<sup>[12,13]</sup>,且发生恶性肿瘤风险可能增加<sup>[14,15]</sup>。本研究5例患儿均以呼吸道感染起病,并发反复鼻炎、鼻窦炎2例,关节炎1例,血小板减少性紫癜1例。与王晓川报道<sup>[16]</sup>8例XLA无慢性鼻窦炎不同,与王艳琼等<sup>[17]</sup>报道3例患儿中2例鼻窦炎一致。这些均提示XLA临床表现存在个体差异,可能与种族、基因突变位点、样本量不足有关,目前大样本的临床研究尚缺乏。

XLA的致病基因于1993年被定位于BTK,定位于染色体Xq21.3~q22,全长37.5kb,外显子19个,编码序列18个,全长氨基酸659个,相对分子质量为76449。BTK蛋白能通过多条途径调控B细胞分化,BTK蛋白任何位点突变均可导致B细胞功能障碍,原始B细胞分化受阻,B细胞减少,免疫球蛋白明显下降甚至不能检测到,易发生反复的细菌感染<sup>[18,19]</sup>。基因检测BTK基因突变为XLA的确诊手段。突变基因来自母亲,偶有非遗传突变报道<sup>[20]</sup>。BTK突变类型多样化,主要包括错义突变、无义突变、插入或缺失突变、剪接位点突

变。曾有研究报道780种BTK基因突变中,错义突变或无义突变44.5%,插入或缺失39.2%,剪接15.8%<sup>[21,22]</sup>。王莹等<sup>[23]</sup>统计40例XLA基因突变包括:16例(40.0%)错义突变,13例(31.5%)无义突变,4例(10.0%)插入突变,4例(10.0%)缺失突变和3例(7.5%)剪切突变,突变类型以错义突变和无义突变为主。本研究5例患儿BTK基因突变为剪切突变2例,移码突变1例,错义突变2例。其中病例2为Exon13 c.:1154delC; p.(Pro386fs),移码突变,曾有文献报道在XLA中检测到该突变,ESP6500,千人基因组和dbSNP数据库均未见收录;病例3为c.1632-1G>T,剪接突变,在HGMD专业数据库中未见报道;病例5为c.1751C>A,错义突变,在HGMD专业数据库中未见报道。这些数据提示可能存在未知的变位点、未发现的突变类型,而且可能与发病情况有相关性,需进一步深入研究。

综上所述,临床医师应加强对XLA的认识,对存在反复感染、或有确切家族史、幼年起病、感染不随年龄增长而减轻、淋巴结和扁桃体无明显增大者,完成血细胞检测、血清免疫球蛋白及T淋巴细胞亚群测定,筛查出可疑患儿,进一步BTK基因分析确诊,及时给予免疫球蛋白替代疗法,尽早发现携带者并进行遗传咨询,提高患儿及家庭生活质量。本研究5例病例临床症状各不相同,其中有2例新发基因突变,提示可能存在新的未知的突变位点、突变类型,另外突变与临床关联性不明确,均需进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Vancsa A, Toth B, Szekanez Z. BTK gene mutation in two non-identical twins with X-linked agammaglobulinemia associated with polyarticular juvenile idiopathic arthritis[J]. Isr Med Assoc J, 2011, 13(9): 579-580.
- [2] Lindvall JM, Blomberg KE, VaoLiha J, et al. Bruton's tyrosine kinase: cell biology, sequence conservation, mutation spectrum, siRNA modifications, and expression profiling[J]. Immunol Rev, 2005, 203(1): 200-

- 215.
- [3] 陶英博,陈慧珊,曾华松. X-连锁无丙种球蛋白血症 BTK 基因新发突变 1 例报告[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志,2013,7(2):203-205.
- Tao YB, Chan HS, Zeng HS. X-linked agammaglobulinemia with BTK mutation: 1 cases report[J]. Chinese Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2013,7(2):203-205.
- [4] Sigmon JR, Kasasbeh E, Krishnaswamy G. X-linked agammaglobulinemia diagnosed late in life: case report and review of the literature[J]. Clin Mol Allergy, 2008,6(5):5.
- [5] 邓朝晖,蒋丽蓉,张 斌,等. 抗体缺陷病并发肝硬化一例并文献复习[J]. 中华儿科杂志,2016,54(5):379-382.
- Deng ZH, Jiang LR, Zhang B, et al. Primary hypogammaglobulinemia complicated with liver cirrhosis and literature review[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2016,54(5):379-382.
- [6] Quartier P, Debré M, De Blic J, et al. Early and prolonged intravenous immunoglobulin replacement therapy in childhood agammaglobulinemia: a retrospective survey of 31 patients[J]. J Pediatr, 1999, 134(5):589-596.
- [7] 师丽晓,罗丹青,师晓东. X-连锁无丙种球蛋白血症 BTK 基因突变 1 例并文献复习[J]. 中国医刊,2017,52(2):57-60.
- Shi LX, Luo DQ, Shi XD. X-linked agammaglobulinemia with BTK mutations and literature review[J]. Chinese Journal of Medicine, 2017,15(2):57-60.
- [8] 李小琳,付四毛,刘玉玲,等. X-连锁无丙种球蛋白血症 3 例报告并文献复习[J]. 临床儿科杂志,2014,32(7):690-693.
- Li XL, Fu SM, Liu YL, et al. Three cases report and literature review of X-Linked agammaglobulinemia[J]. J Clin Pediatr, 2014,32(7):690-693.
- [9] Sukumaran S, Marzan K, Shaham B, et al. A child with X-linked agammaglobulinemia and enthesitis-related arthritis[J]. Int J Rheumatol, 2011, 2011:175973.
- [10] Toth B, Volokha A, Mihás A, et al. Genetic and demographic features of X-linked agammaglobulinemia in Eastern and Central Europe: a cohort study[J]. Mol Immunol, 2009,46(10):2140-2146.
- [11] Conley ME, Howard V. Clinical finding leading to the diagnosis of X-linked agammaglobulinemia[J]. J Pediatr, 2002,141(4):566-571.
- [12] 涂明辉,朱小燕. X 连锁无丙种球蛋白血症一例误诊分析[J]. 临床误诊误治,2010,23(5):499.
- Tu MH, Zhu XY. A misdiagnosed case of X-linked agammaglobulinemia[J]. Clinical Misdiagnosis & Mistherapy, 2010,23(5):499.
- [13] Yang L, Wu EY, Tarrant TK, et al. Immune gamma globulin therapeutic indications in immune deficiency and autoimmunity[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2016,16(8):55.
- [14] Corneth OBJ, Klein Wolterink RGJ, Hendriks RW. BTK signaling in B cell differentiation and autoimmunity[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2016,393(12):67-105.
- [15] Garcia-Garcia E, Staines-Boone AT, Vargas-Hernandez A, et al. Clinical and mutational features of X-linked agammaglobulinemia in Mexico[J]. Clinical Immunology, 2016(165):38-44.
- [16] 王晓川. X 连锁无丙种球蛋白血症的临床特点[J]. 中华儿科杂志,2004,42(8):564-567.
- Wang XC. Clinical features of X-linked agammaglobulinemia: analysis of 8 cases[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2004,42(8):564-567.
- [17] 王艳琼,崔玉霞,王予川,等. X-连锁无丙种球蛋白血症患儿临床表型和基因诊断分析[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(9):684-686.
- Wang YQ, Cui YX, Wang YC, et al. Clinical phenotype and genetic diagnosis analysis of X-linked agammaglobulinemia[J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2012,27(9):684-686.
- [18] Lee KH, Shyur SD, Chu SH, et al. Clinical manifestations and BTK gene defect in 4 unrelated Taiwanese families with Bruton's disease[J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2011,29(3):260-265.
- [19] Ikegame K, Imai K, Yamashita M, et al. Allogeneic stem cell transplantation for X-linked agammaglobulinemia using reduced intensity conditioning as a model of the reconstitution of humoral immunity[J]. J Hematol Oncol, 2016(9):9.
- [20] 凌瑶君,蔡家泉,王红霞,等. 基因突变致非遗传性 X 连锁无丙种球蛋白血症 1 例[J]. 中国热带医学,2015,15(7):887-889.
- Ling YJ, Cai JQ, Wang HX, et al. A cases with non hereditary X-linked agammaglobulinemia caused by gene mutation[J]. China Tropical Medicine, 2015,15(7):887-889.
- [21] 孔祥东,莫桂玲,刘 宁,等. X-连锁无丙种球蛋白血症家系 BTK 基因突变分析及产前诊断研究[J]. 中华医学杂志,2014,94(18):1405-1408.
- Kong XD, Mo GL, Liu N, et al. Mutation analysis and prenatal diagnosis in families of X-linked agammaglobulinemia caused by BTK gene mutation[J]. National Medical Journal of China, 2014, 94(18):1405-1408.
- [22] 张晓敏,李 虹,李 强,等. 六例 X 连锁无丙种球蛋白血症患儿 BTK 基因突变检测及临床分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2014,31(1):29-33.
- Zhang XM, Li H, Li Q, et al. Detection of Bruton's tyrosine kinase gene mutations and clinical analysis of 6 patients with X-linked agammaglobulinemia[J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2014, 31(1):29-33.
- [23] 王 莹,应文静,孙金峭,等. 中国 X 连锁无丙种球蛋白血症 40 例基因型表型相关性分析[J]. 中国循证儿科杂志,2012,7(1):4-10.
- Wang Y, Ying WJ, Sun JQ, et al. Characterization and correlation of genotype with phenotype of 40 cases of X-linked agammaglobulinemia in China[J]. Chinese Journal of Evidence-Based Pediatrics, 2012, 7(1):4-10.

收稿日期:2018-03-23

修回日期:2018-04-20