

遗传相关肝病的基因诊断

南京市第二医院 杨永峰

基因的结构

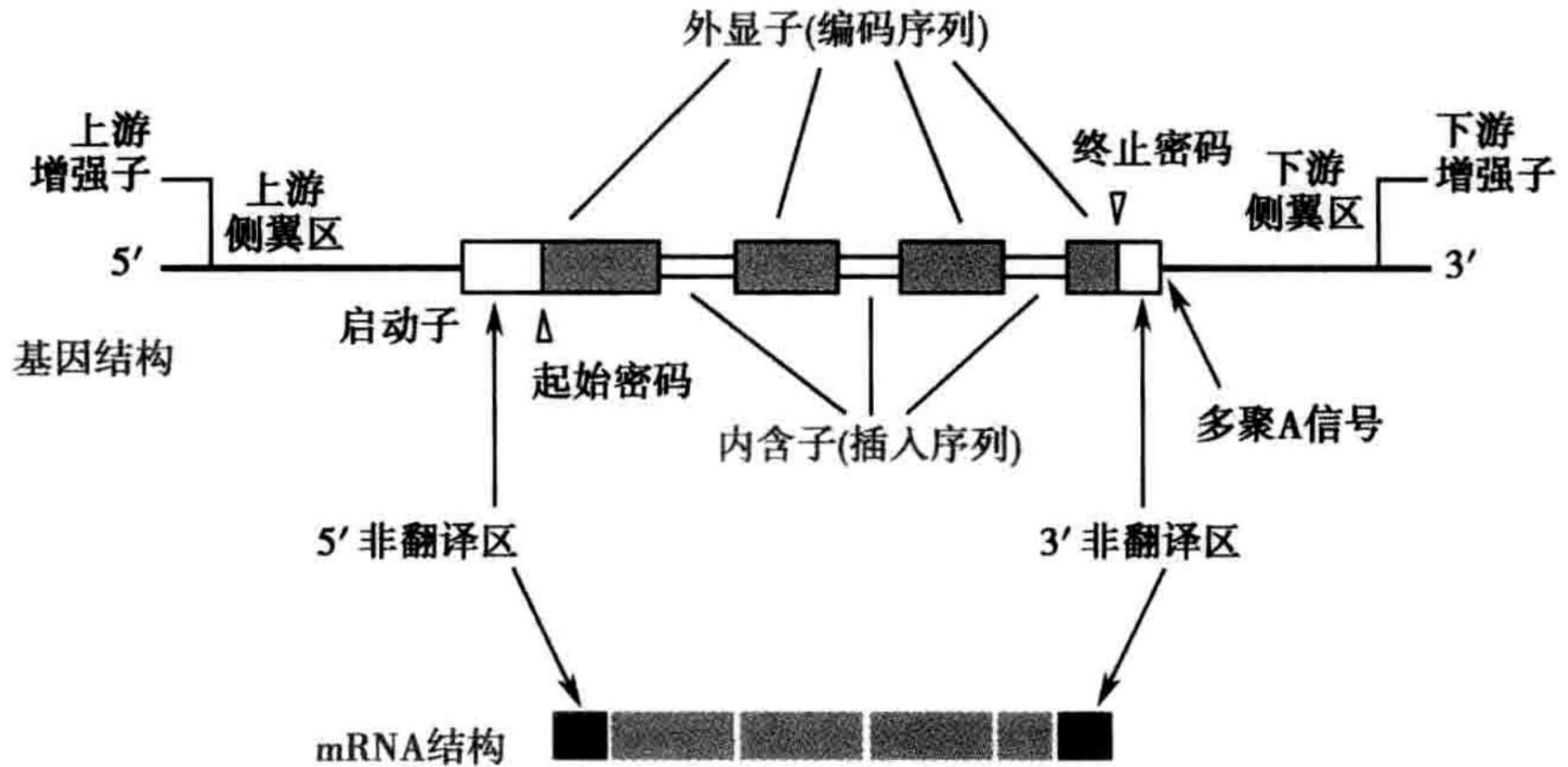
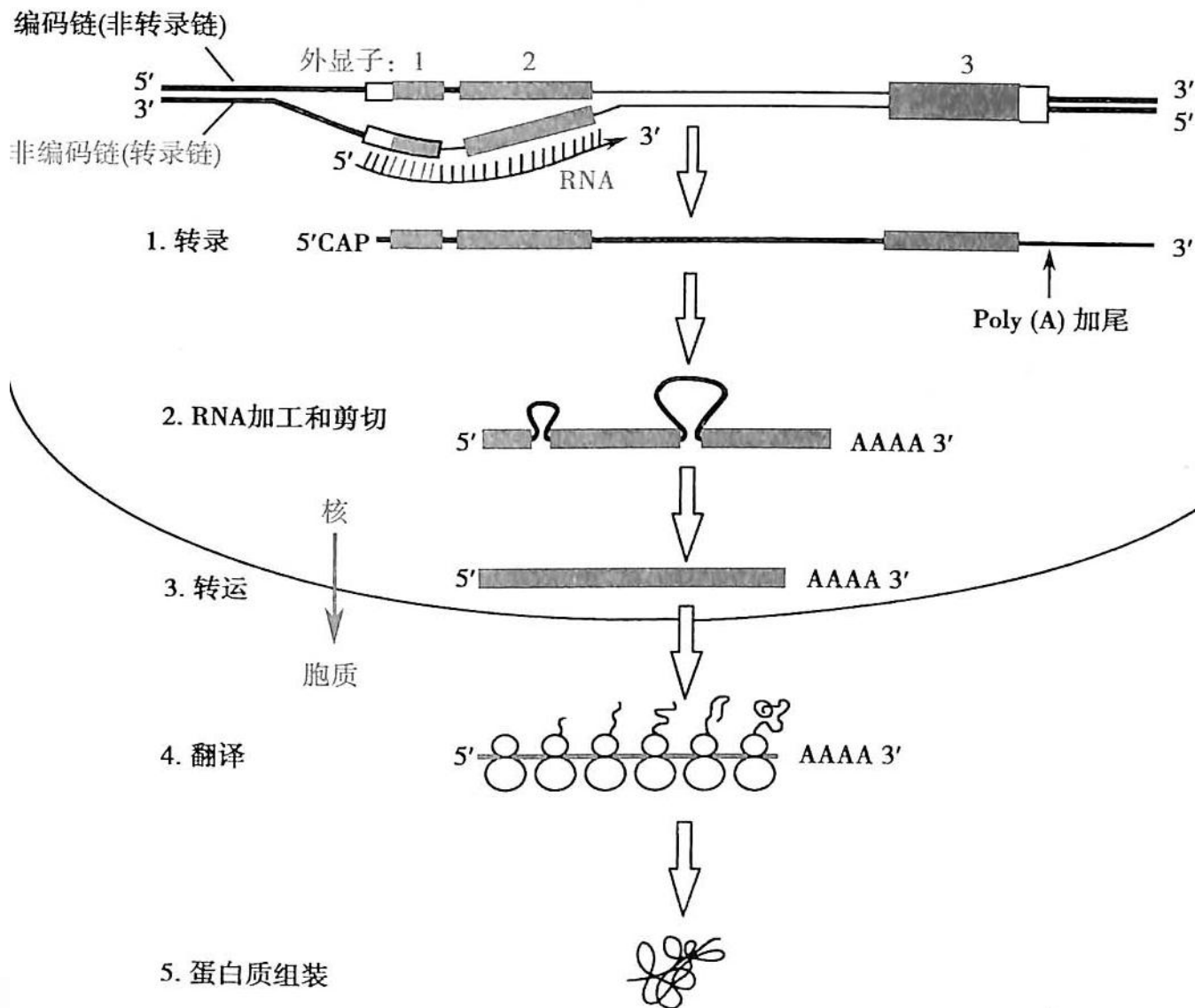


图 13-1 真核生物断裂基因

转录及加工过程

基因突变对蛋白质的影响:

- 功能丢失
- 功能获得
- 新特性获得
- 异位表达或易时表达



遗传相关肝病知多少？

- 单基因遗传病
 - 突变位点较少：HFE（p.C282Y和p.H63D）、AAT
 - 突变位点较多：Wilson病、PFIC1-6等大多数遗传代谢性肝病
- 多基因遗传病：有多个基因和外源因素形成
 - 胆石症
 - ICP
 - NAFLD
 - AIH
 - ...

遗传性代谢性肝病

- **胆红素代谢障碍**：包括Gilbert综合征，Crigler-Najjar综合征，Dubin-Johnson综合征和Roter综合征。
- **糖类代谢障碍**：包括半乳糖血症，遗传性果糖不耐受症，果糖-1,6-二磷酸酶缺乏症，糖原贮积症等
- **氨基酸代谢障碍**：如酪氨酸血症1型
- **脂肪酸氧化障碍**：如中链酰基辅酶A脱氢酶缺乏、长链3-羟酰辅酶A脱氢酶缺乏、羟甲基戊二酰-辅酶A（HMG - CoA）合成酶缺乏、肉碱-酰基转移酶缺乏
- **尿素循环障碍**：如鸟氨酸氨甲酰转移酶缺乏、氨甲酰磷酸合成酶缺乏、精氨基琥珀酸合成酶缺乏、瓜氨酸血症等
- **胆汁酸和胆汁转运障碍**：如良性复发性肝内胆汁淤积症和家族性进行性肝内胆汁淤积症
- **胆盐合成障碍**
- **溶酶体贮积症**：如Gaucher病、Niemann-Pick病、Wolman病等
- **过氧化物酶体失调**：如Zellweger综合征
- **线粒体性肝病**
- **其他代谢性肝病**：如 α 胰蛋白酶缺乏症、Wilson病、血色病等。



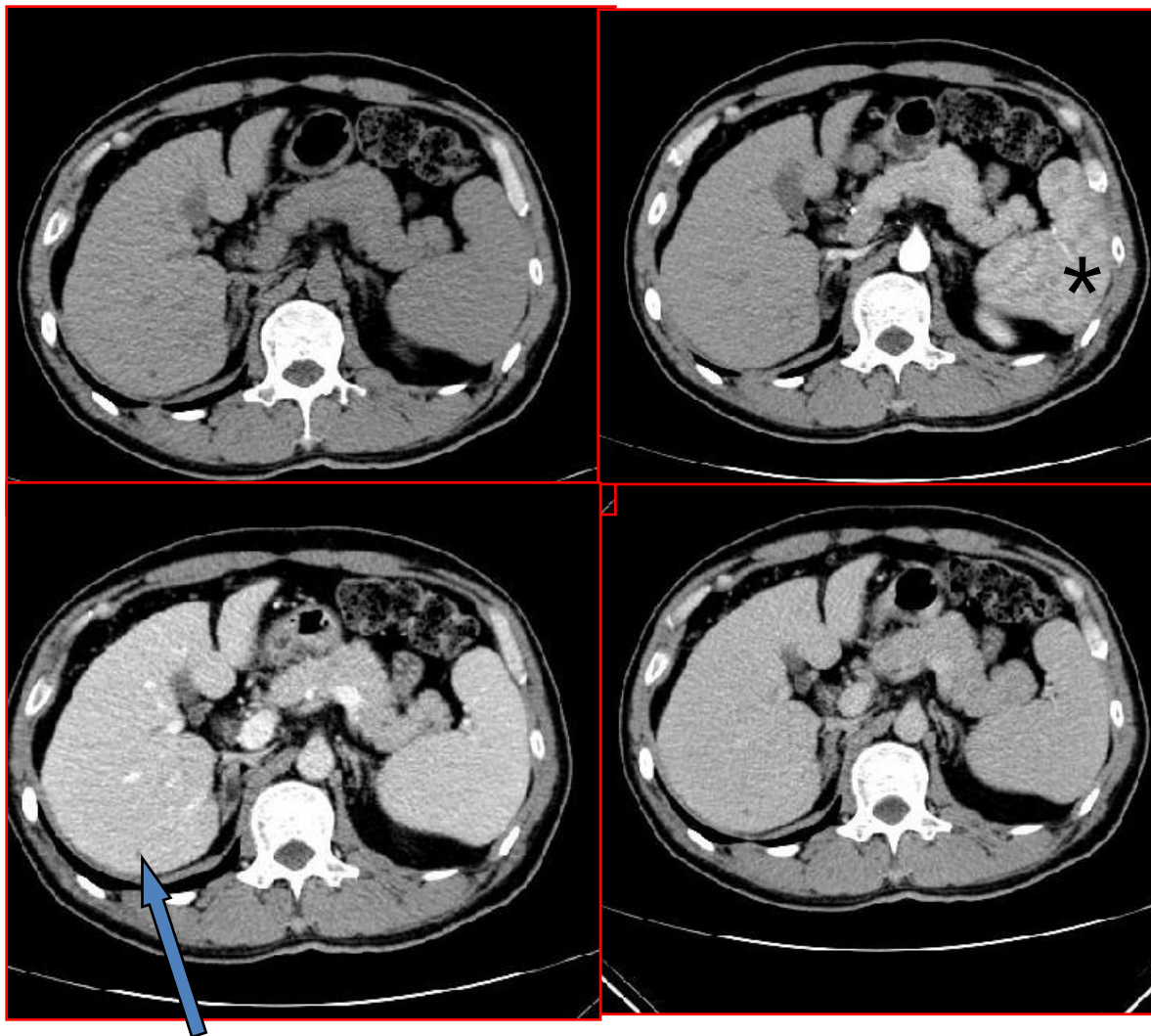
病例1：慢性乙肝抗病毒应答后ALT仍波动

- 毛XX，男，48岁
- 2009年其因“慢性乙肝、肝纤维化”在我院门诊予恩替卡韦（博路定）抗病毒治疗
- 抗病毒3个月后HBV DNA持续低于检测下限（Cobas检测亦低于下限），但转氨酶波动在50-100IU/L
- 多次B超示“肝硬化”
- 甲肝、丙肝、丁肝、戊肝皆阴性；自身免疫抗体阴性、免疫球蛋白正常、甲状腺功能正常；血脂正常；铜蓝蛋白正常

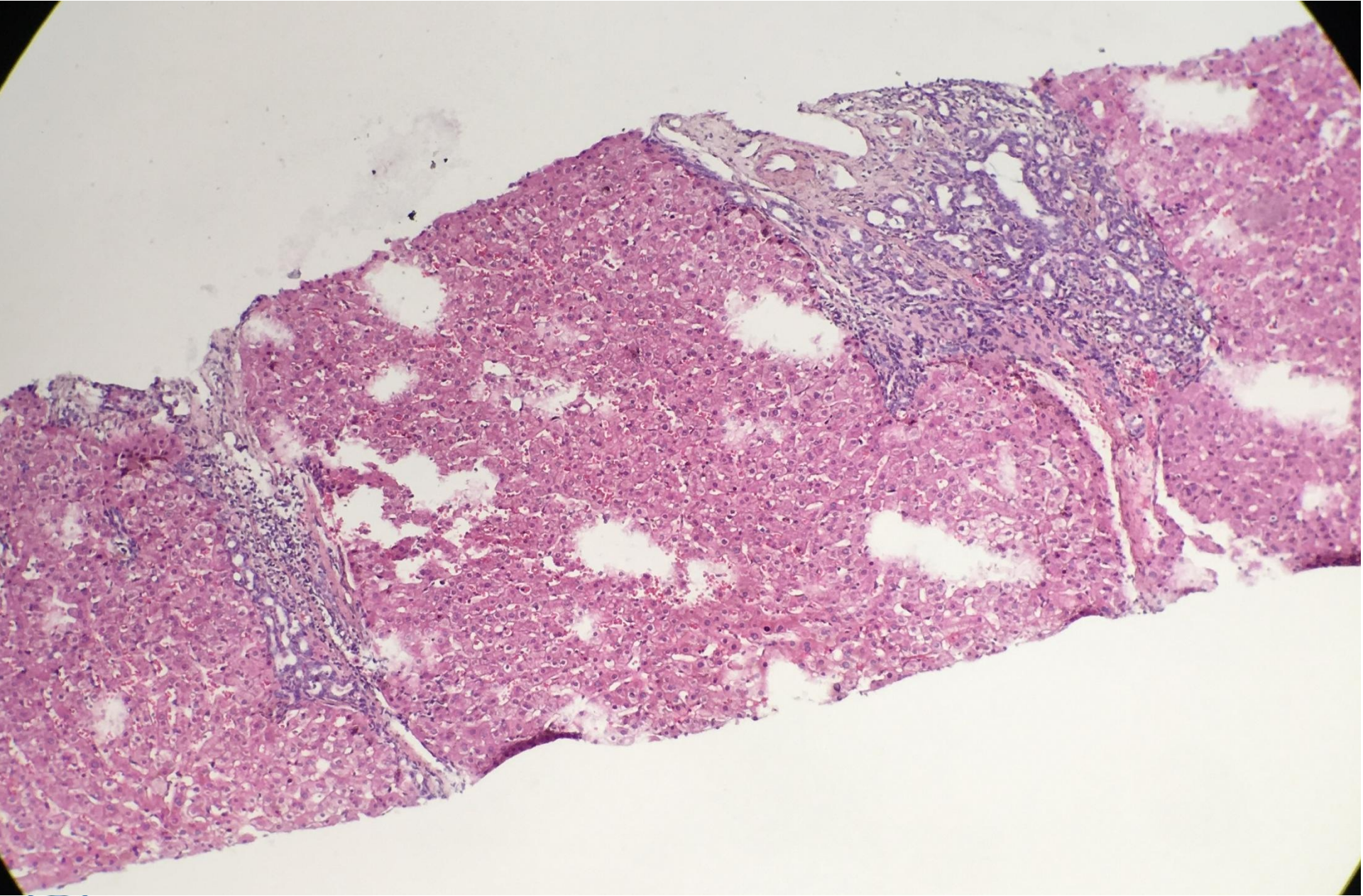
影像学检查

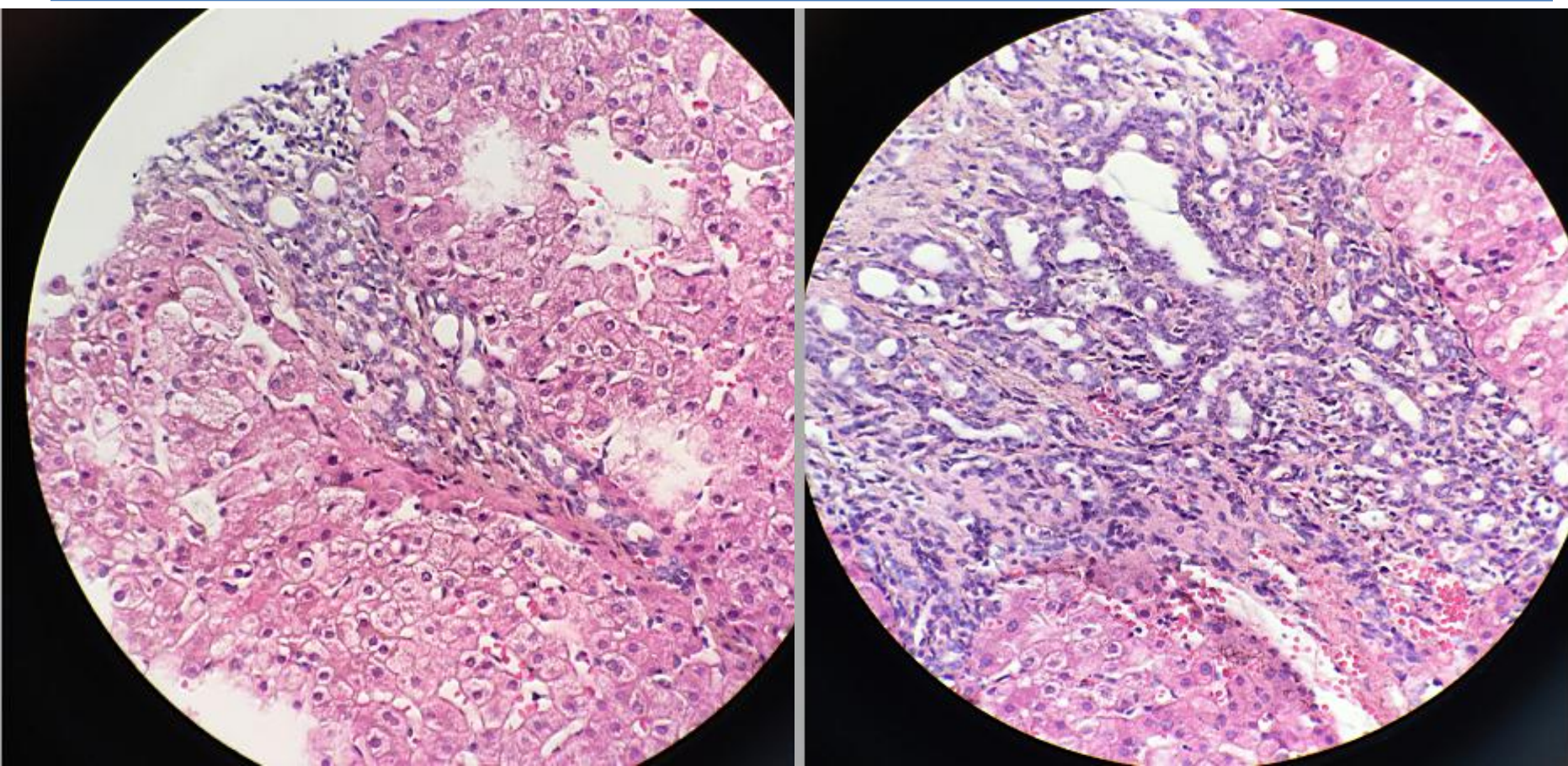
CT三期增强检查

肝右叶小囊肿（箭头）
肝体积变小
肝边缘不整
肝裂增宽
脾大（*）

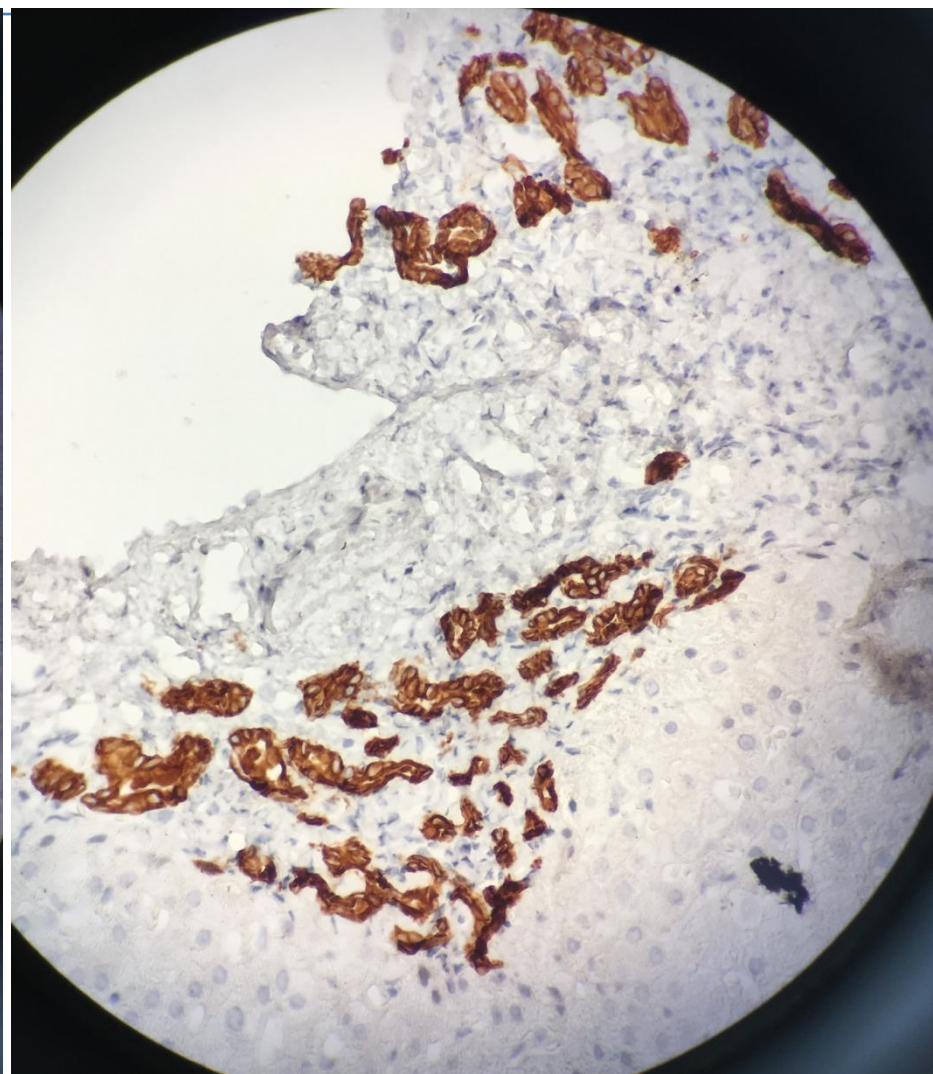


病理检查



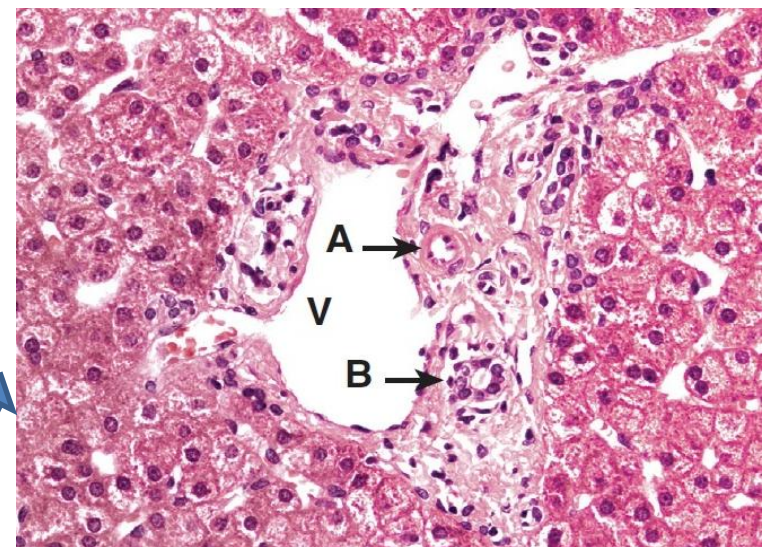
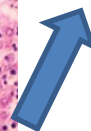
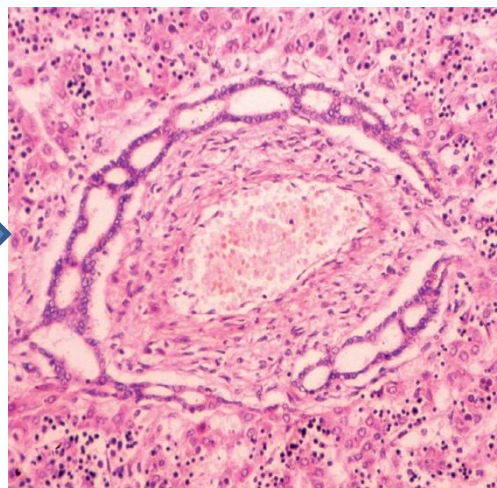
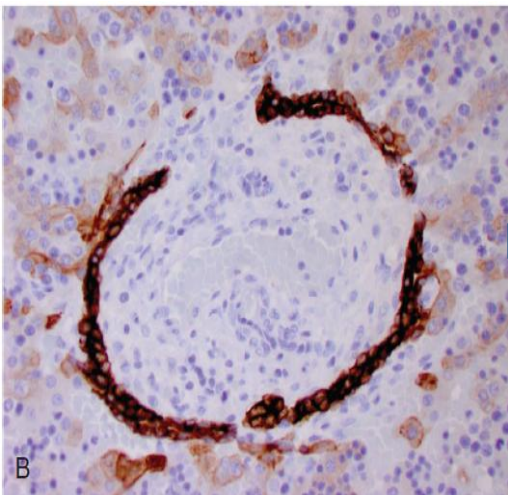


病理特征：纤维增生、胆管板畸形

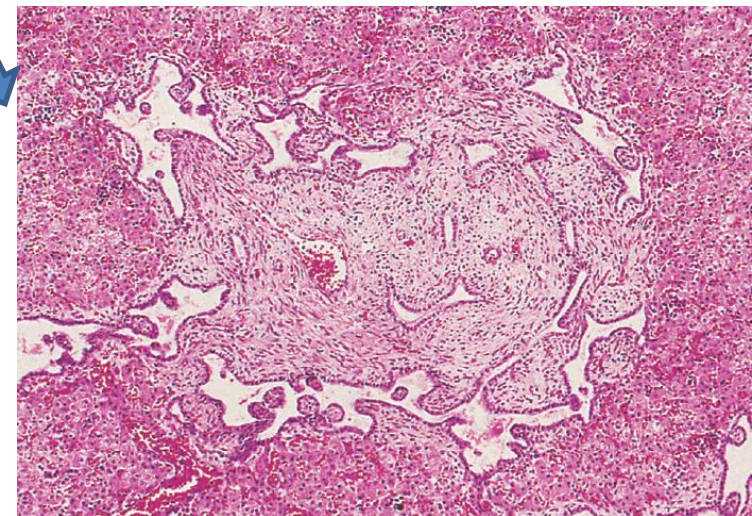
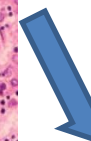


CK7免疫组化

胆管板畸形形成机制



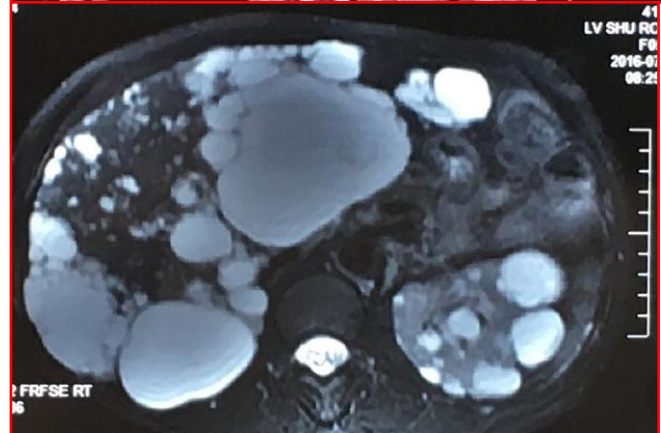
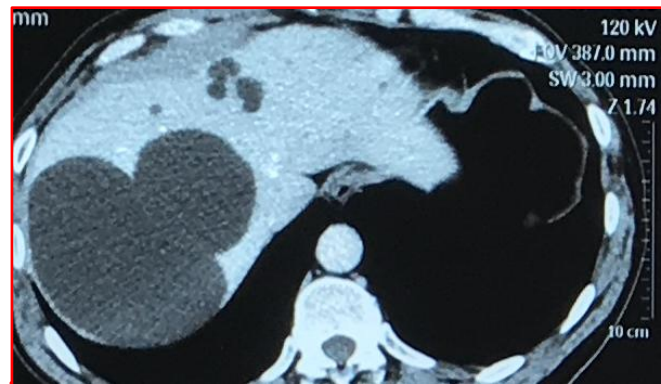
正常汇管区



胆管板畸形

胆管板畸形相关疾病

- 常染色体显性遗传多囊肝（PCLD）
 - PRKCSH基因突变
 - 表现多发肝囊肿
- 常染色体显性遗传多囊肾（ADPKD）
 - PKD1、PKD2基因突变
 - 临床表现多囊肝、多囊肾
 - 多于中年期以肾功能不全首发
- 常染色体隐性遗传多囊肾（ARPKD）
 - PKHD1基因突变
 - 临床可表现胆管错构瘤（VMC）、**先天性肝纤维化（CHF）**、Caroli综合症
 - 儿童或成人发病



脾大、多发肝囊肿

组织学符合CHF，进一步PKHD1测序

序号	基因	转录本	核苷酸改变	氨基酸改变	基因亚区	杂合性	染色体位置	RS-号	千人频率	本地频率	变异类型
1	PKHD1	NM_138694	c.12143A>G	p.Gln4048Arg	EX67/C DS66	Het	chr6:51483961	rs9381994	0.522	C	-
2	PKHD1	NM_138694	c.11696A>G	p.Gln3899Arg	EX66/C DS65	Het	chr6:51491884	rs4715227	0.5284	C	-
3	PKHD1	NM_138694	c.9237G>A	p.Ala3079Ala	EX58/C DS57	Hom	chr6:51613177	rs765525	0.2143	C	-
4	PKHD1	NM_138694	c.7764A>G	p.Leu2588Leu	EX49/C DS48	Hom	chr6:51720838	rs9349603	0.3114	C	-
5	PKHD1	NM_138694	c.7734-4T>C	-	Intron48	Hom	chr6:51720872	rs7452724	0.3123	C	-
6	PKHD1	NM_138694	c.5608T>G	p.Leu1870Val	EX35/C DS34	Hom	chr6:51875250	rs2435322	0.9405	C	-
7	PKHD1	NM_138694	c.4682G>A	p.Cys1561Tyr	EX32/C DS31	Het	chr6:51889926	rs150032027	0	A	VUS
8	PKHD1	NM_138694	c.3785C>T	p.Ala1262Val	EX32/C DS31	Het	chr6:51890823	rs9296669	0.4185	C	-
9	PKHD1	NM_138694	c.2278C>T	p.Arg760Cys	EX22/C DS21	Het	chr6:51914956	rs9370096	0.4203	C	-
10	PKHD1	NM_138694	c.1185T>C	p.Asp395Asp	EX15/C DS14	Hom	chr6:51924774	rs1896976	0.9432	C	-
11	PKHD1	NM_138694	c.234C>T	p.Asp78Asp	EX4/CD S3	Het	chr6:51947237	rs9474143	0.4203	C	-

• 问题1：这么多突变，哪个是可能的致病突变？

正常人群中低频突变有可能致病

外显子基因突变

- 突变的种类
 - **碱基置换突变**(substitution): 一个碱基对被另一个不同的碱基对取代
 - **移码突变** (translocation): DNA片段中某一位点插入或丢失一个或几个 (非3或3的倍数) 碱基对
 - **缺失突变**(deletion): 较长片段的DNA的缺失
 - **插入突变**(insertion): 插入一段外来的DNA
- 突变影响
 - **同义突变** (same sense mutation): 密码子所编码的氨基酸不变
 - **错义突变** (missense mutation): 某一个密码子变成编码另一种氨基酸的密码子 (**致病突变或多态性**)
 - **无义突变** (nonsense mutation): 某个密码突变为终止密码
 - **终止密码突变** (terminator codon mutation): 终止密码突变为编码某个氨基酸的密码子
- **问题2:** 测到的c.4682G>A为错义突变, 致病吗?

***PKHD1* Sequence Variations in 78 Children and Adults with Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease and Congenital Hepatic Fibrosis**

致病性分析的方法：生信软件预测

Pathogenicity Assessment

Several methods were used to evaluate the pathogenicity of the missense variants, although not all were used to assign the overall pathogenicity score. These included the following: 1. Consistency of segregation, checked by mutation analysis of the parents when available; 2. The general population frequencies of the novel missense variants, evaluated by analyzing 200 to 400 control chromosomes; 3. Missense variants, evaluated by 3 different web-based computational pathogenicity prediction tools, i.e., **Align GVD** (http://agvgd.iarc.fr/agvgd_input.php), **PolyPhen** (<http://coot.embl.de/PolyPhen/>) and **SNAP** (<http://cubic.bioc.columbia.edu/services/SNAP/>); 4. Novel missense variants, evaluated by the splice variant interpretation software **NetGene2 Server** (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2/>); 5. The *PKHD1*-specific mutation database (<http://www.humgen.rwth-aachen.de/>), the Human Genome Mutation Database (HGMD) (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) and the previously published *PKHD1* mutation detection articles, reviewed for existing data about the variants.

三个软件分析均显示致病



PolyPhen-2 prediction of functional effects of human nsSNPs

[Home](#)

[About](#)

[Help](#)

[Downloads](#)

[Batch query](#)

[WHESS.db](#)

PolyPhen-2 report for Q86Z26 C1561T

Query

Protein Acc	Position	AA ₁	AA ₂	Description
Q86Z26	1561	C	T	SubName: Full=Polycystic kidney and hepatic disease 1; SubName: Full=Polycystic kidney and hepatic disease 1 (Autosomal recessive), isoform CRA_a; Length: 4074

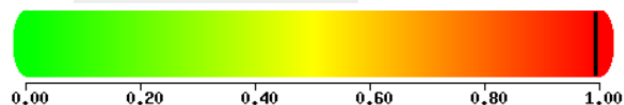
Results

Prediction/Confidence

PolyPhen-2 v2.2.2r398

HumDiv

This mutation is predicted to be **PROBABLY DAMAGING** with a score of 0.993 (sensitivity: 0.70; specificity: 0.97)



International Agency for Research on Cancer



Align GVGD



[ABOUT](#)

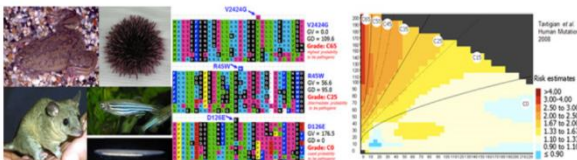
[USE ALIGN-GVGD](#)

[CONTACT](#)

[DISCLAIMER](#)

You are here: Home / [Use Align GVGD](#)

[USE ALIGN GVGD](#)



ALIGN GVGD

Your job ID is:03:57:562016.

[Click here to download results](#)

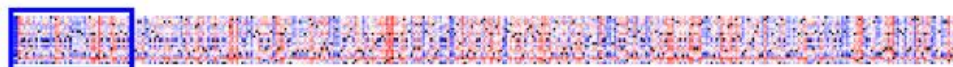
The following classifiers, ordered from most likely to interfere with function to least likely, were used:

GD>=65+Tan(10)x(GV^2.5) => Class C65 <=> most likely
GD>=55+Tan(10)x(GV^2.0) => Class C55
GD>=45+Tan(15)x(GV^1.7) => Class C45
GD>=35+Tan(50)x(GV^1.1) => Class C35
GD>=25+Tan(55)x(GV^0.95) => Class C25
GD>=15+Tan(75)x(GV^0.6) => Class C15
Else (GD<15+Tan(75)x(GV^0.6)) => Class C0 <=> less likely

Substitution	GV	GD	Prediction
A1262V	0.00	65.28	Class C65

SNAP²

Predicting functional effects of sequence variants



C

1561

T

effect

34

66%

Home	About	Help	Downloads	Batch query	WHESS.db
----------------------	-----------------------	----------------------	---------------------------	-----------------------------	--------------------------

WHESS.db

Query

Protein Acc	Position	AA ₁	AA ₂	Description
-------------	----------	-----------------	-----------------	-------------

Q86Z26	1561	C	T	SubName: Full=Polycystic kidney and hepatic disease 1; SubName: Full=Polycystic kidney and hepatic disease 1 (Autosomal recessive), isoform CRA a; Length: 4074
--------	------	---	---	---

Results

Prediction/Confidence

PolyPhen-2 v2.2.2r398

HumDiv

This mutation is predicted to be **PROBABLY DAMAGING** with a score of 0.993 (sensitivity: 0.70; specificity: 0.97)

问题3: 常染色体隐性遗传疾病, 杂合突变是否有意义?

International Agency for Research on Cancer



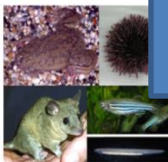
Align GV

ABOUT

USE ALIGN-GVGD

You are here: [Home](#) / [Use Align GVGD](#)

USE ALIGN GVGD



ALIGN GVGD

Your job ID is:03:57:562016.

[Click here to download results](#)

The following classifiers, ordered from most likely to interfere with function to least likely, were used:

$$GD \geq 65 + \tan(10) \times (GV^{2.5}) \Rightarrow \text{Class C65} \Leftrightarrow \text{most likely}$$

GD>=55+Tan(10)x(GV^2.0) => Class C55

$$GD \geq 45 + \tan(15) \times (GV^{1.7}) \Rightarrow \text{Class C45}$$
$$GD \geq 35 + \tan(50) \times (GV^{1.1}) \Rightarrow \text{Class C35}$$
$$GD \geq 25 + \tan(55) \times (GV^{0.95}) \Rightarrow \text{Class C25}$$
$$GD \geq 25 + \tan(55) \times (GV^{0.95}) \Rightarrow \text{Class C25}$$

```
GD>=15+Tan(75)x(GV^0.6) => Class C15
Else (GD<15+Tan(75)x(GV^0.6)) => Class C0 <=> less likely
```

Substitution	GV	GD	Prediction
A1262V	0.00	65.28	Class C65

-100 neutral 0 effect 100

C

1561

1

effect

34

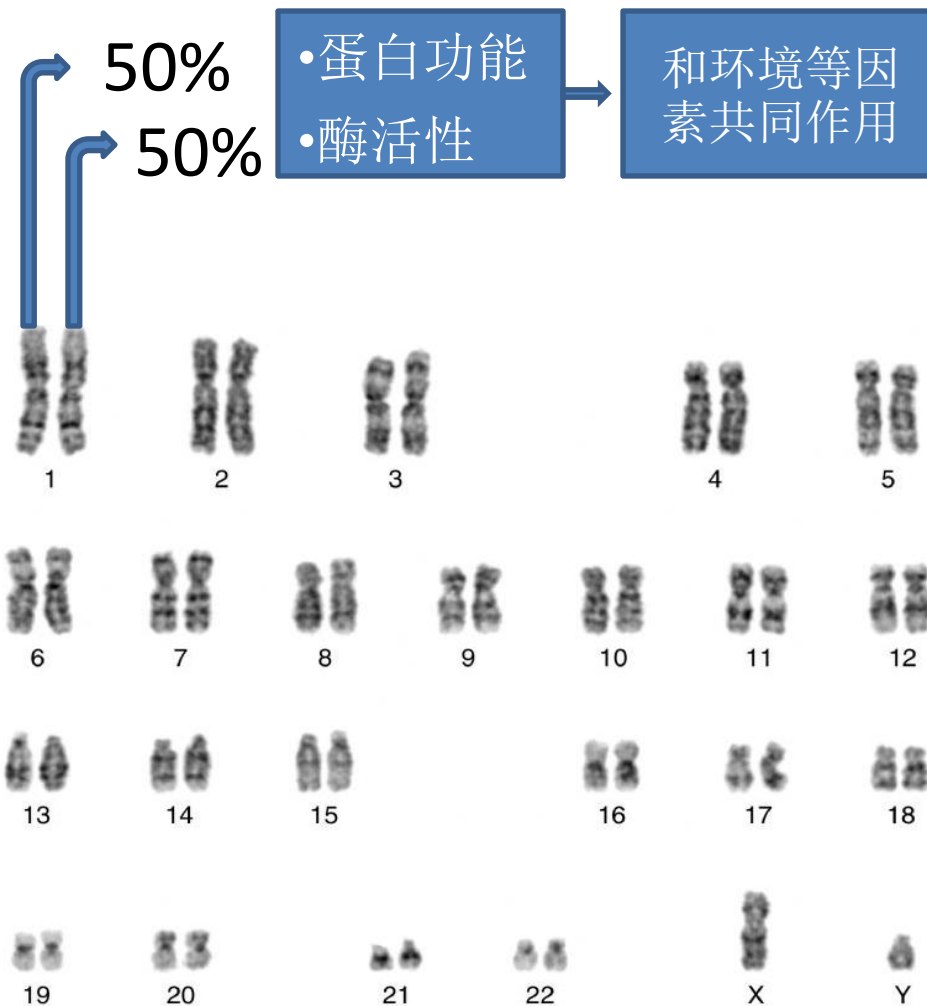
66%

疾病遗传模式

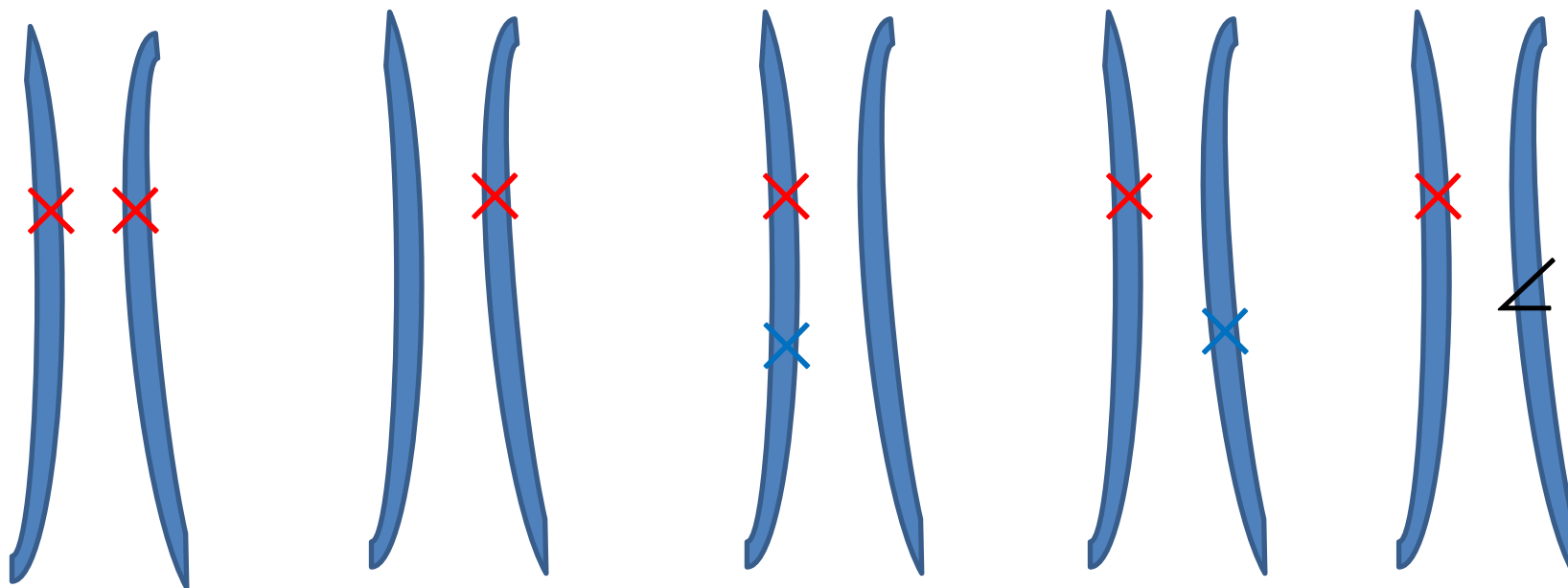
- 常染色体显性遗传
- 常染色体隐性遗传
- X染色体连锁遗传
- Y染色体连锁遗传

常染色体隐性遗传，
杂合子会发病吗？

- 实际上：会的！
- 理论上呢？



突变的不同分布形式



纯合

杂合

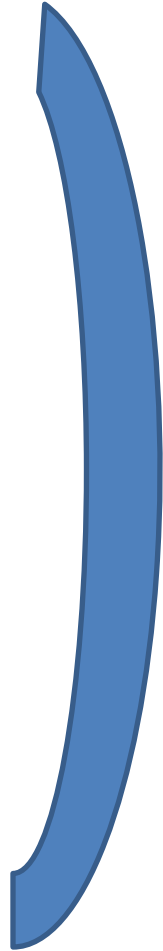
杂合

复合杂合

杂合

×：致病突变A ×致病突变B ∠多态性位点

缺胳膊少腿（拷贝数变异， CNV）

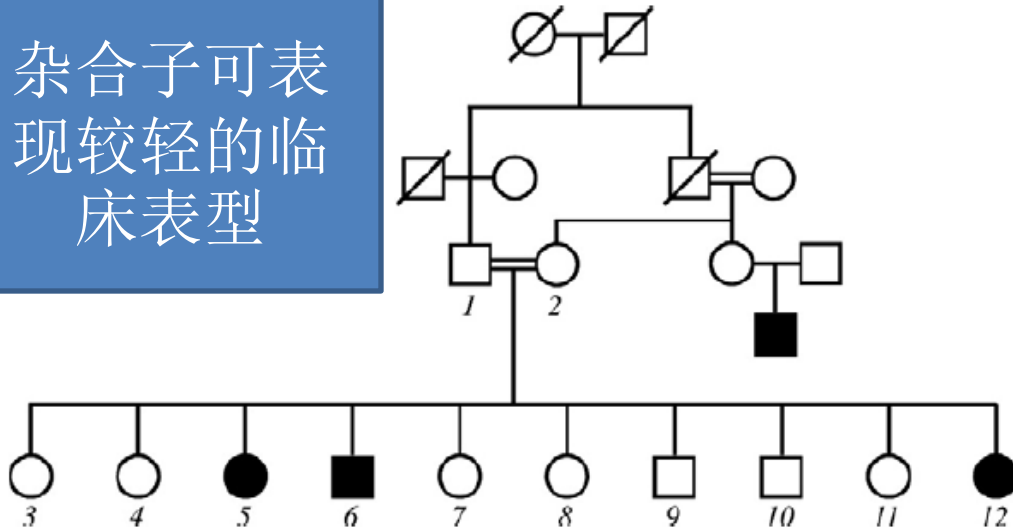


“非典型”遗传

- 不完全显性遗传（半显性遗传）
 - 杂合子（Aa）的表型介于显性纯合子（AA）和隐性纯合子（aa）之间
- 延迟显性遗传
 - 杂合子（Aa）到达一定年龄才表现疾病
- 不规则显性遗传
 - 杂合子在一些个体致病，一些个体不致病
- 表现度
 - 不同遗传背景和环境因素影响下，相同基因型个体在性状或疾病表现程度上产生差异

Recessive Congenital Total Cataract with Microcornea and Heterozygote Carrier Signs Caused by a Novel Missense *CRYAA* Mutation (R54C)

杂合子可表现较轻的临床表型



- 小角膜先天性白内障 (AR)
- 纯合子表现为白内障
- 携带致病基因的3个杂合子裂隙灯检查可见晶状体浑浊
- 未携带致病基因者裂隙灯检查正常

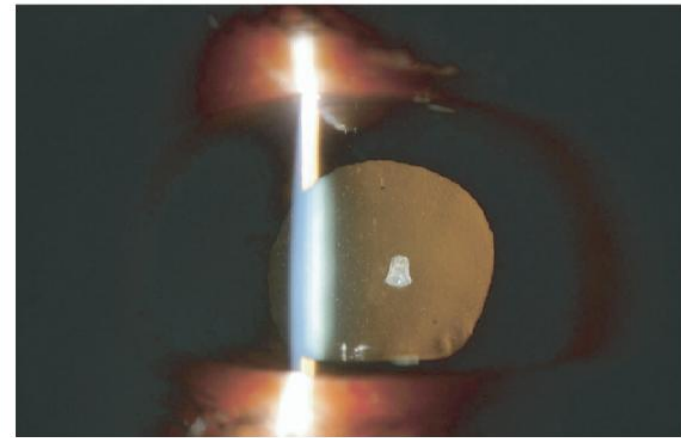
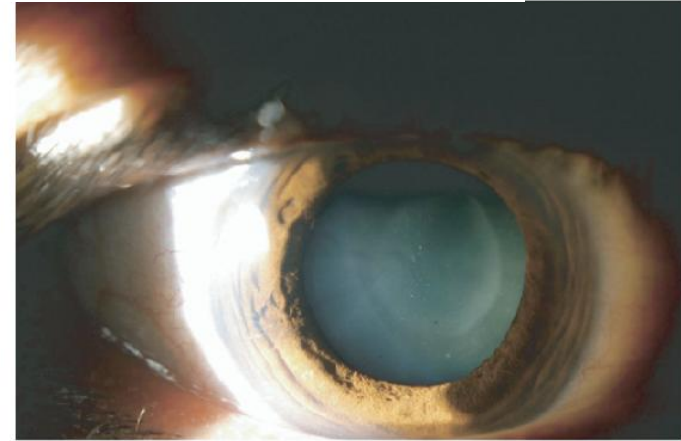


FIGURE 4. The three carriers of the R54C *CRYAA* (individuals 1, 2, and 11) were asymptomatic but had similar bilateral discrete punctate lenticular opacities evident by careful slit-lamp examination; this finding was not present in the noncarriers (individuals 3, 4, 7 to 10). The right eye of the mother (individual 2) is shown in both the upper and lower images.

PiZ杂合突变增加酒精肝和NAFLD肝硬化风险

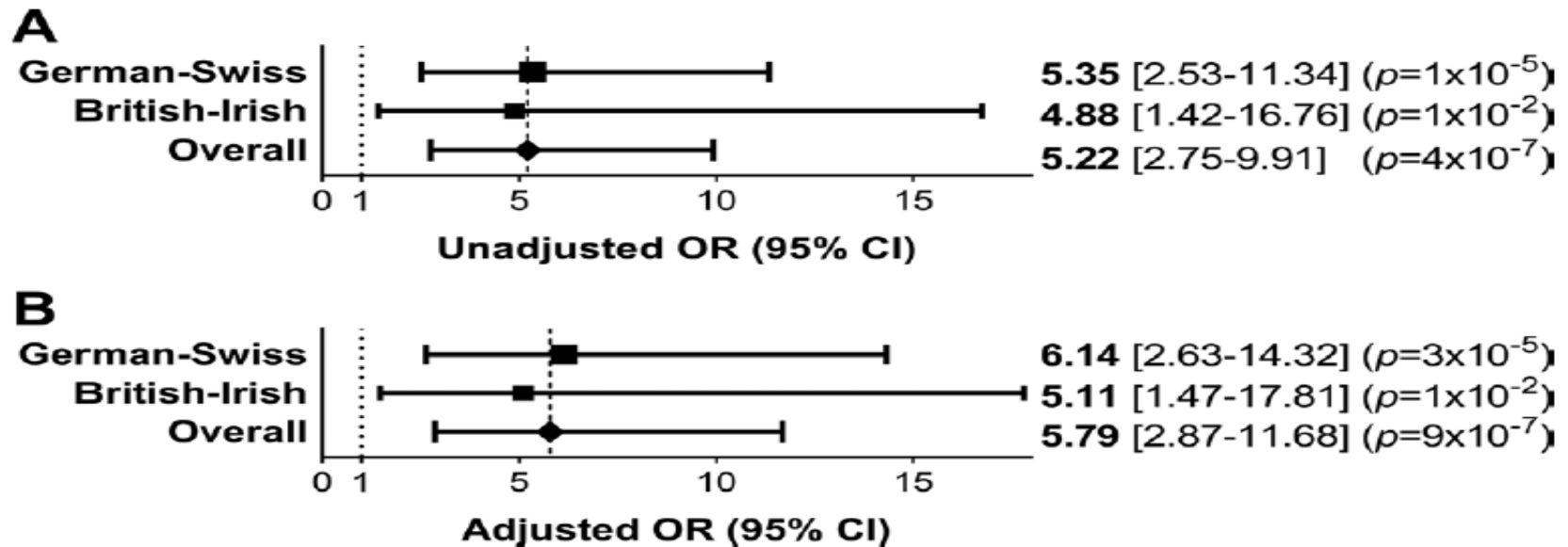


Figure 4 Analysis of the risk of developing cirrhosis in two cohorts of alcohol misusers heterozygous for the alpha1-antitrypsin Pi*Z variant. A univariable (A) and a multivariable (B) analysis was performed in 1191 alcohol misusers from Germany and Switzerland as well as 440 alcohol misusers from Great Britain and Ireland, both cohorts with and without cirrhosis. Adjustments were made for sex, age, body mass index and the presence of diabetes mellitus. The term 'overall' depicts the meta-analysis of both cohorts.

杂合突变可作为共同致病因素

Characteristics of Congenital Hepatic Fibrosis in a Large Cohort of Patients With Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease

GASTROENTEROLOGY 2013;144:112–121

研究一： CHF/ARPKD患者中，1/3 为PKHD1单个杂合致病突变

Hepatorenal Findings in Obligate Heterozygotes for Autosomal Recessive Polycystic Kidney Disease

Mol Genet Metab. 2011; 104: 677–681

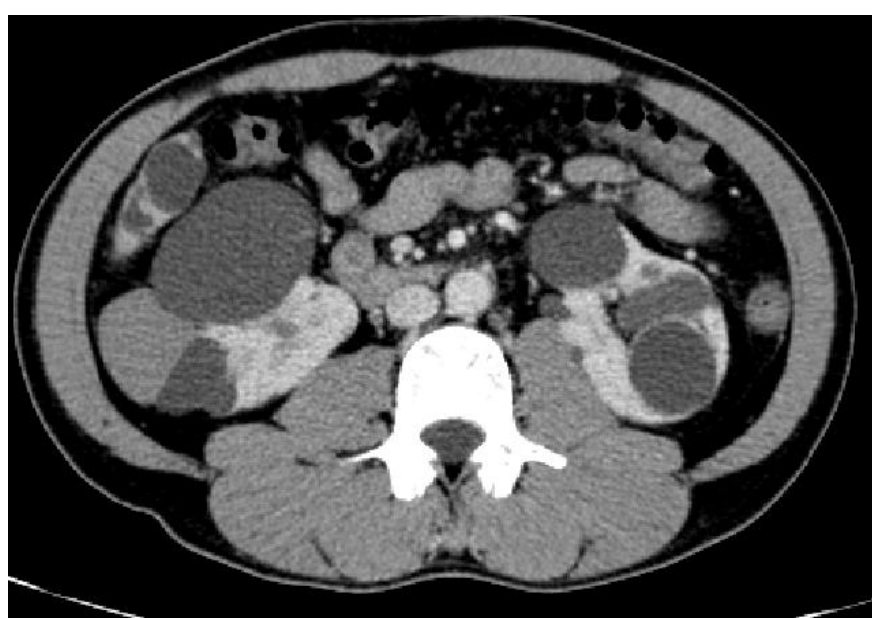
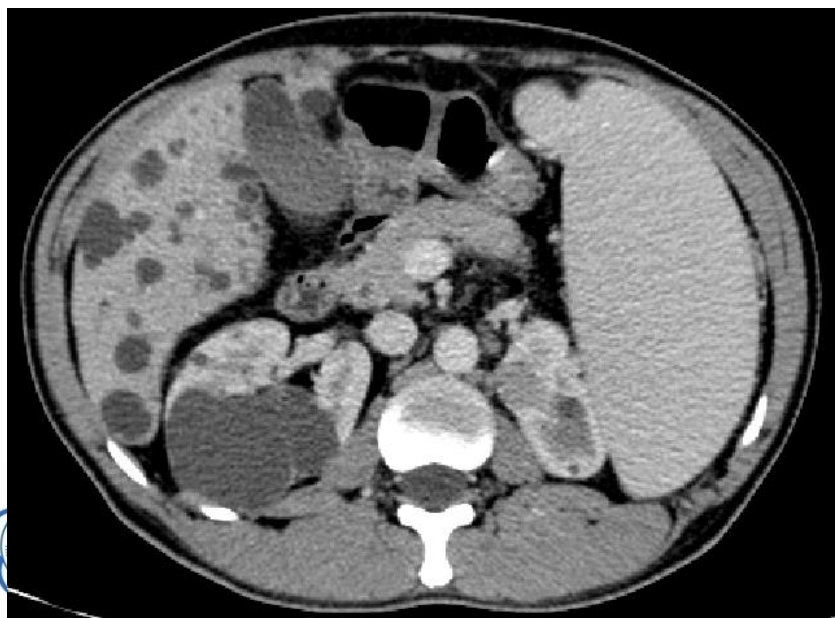
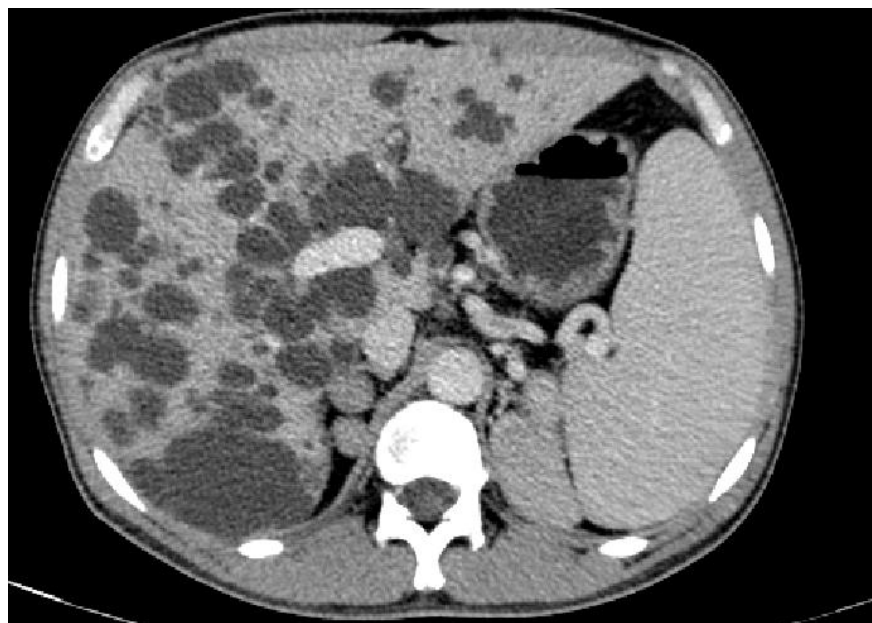
- 研究二：** PKHD1杂合突变的携带者（患者的父母）部分为PLD或CHF

寻求文献支持

病例1

- 最终诊断
 - 先天性肝纤维化（CHF）
 - 慢性乙肝

病例2 男，40岁，门脉高压、脾大



最终诊断：常染色体显性遗传多囊肾（ADPKD）

1	Risk	Gene	HGVs	GeneRaw	hgmd_2018	clinvar	cosmic70	ExAC_2018	gnomAD_ex	esp6500si	1000g2018	dbnsnp147	Het/Hom	Chr	Start	End	Ref	Obs	mRNA	acc	AAChange	Filter	Freq	Total	Cov
7	0	PKHD1	N-intron1	PKHD1		Benign;not_specif	[PASS]	[86.0.7466]	0	0.86	rs132660	Hom	chr6	51618170	51618170	T	G	NM_138694.3		PASS		100	69		
8	0	PKHD1	N-intron1	PKHD1		Benign;not_specif	[PASS]	[56.0.4458]	0	0.3011	0.4	rs392062	Het	chr6	51640751	51640751	C	G	NM_138694.3		PASS		64.7	34	
9	0	PKHD1	PKHD1	6 ₁ PKHD1		Benign Benign;not	[PASS]	[56.0.4445]	0	0.3546	0.54	rs934960	Hom	chr6	51720838	51720838	T	C	NM_138694.3	PKHD1:NM	PASS		100	68	
10	0	PKHD1	P-splicir	PKHD1(NM_138694.3)		Benign Benign;not	[PASS]	[56.0.4445]	0	0.3455	0.54	rs745272	Hom	chr6	51720872	51720872	A	G	NM_138694.3		PASS		100	44	
11	0	PKHD1	N-intron1	PKHD1		Benign;not_specif	[PASS]	[510.4449]	0	0.3545	0.54	rs938204	Hom	chr6	51732628	51732628	G	A	NM_138694.3		PASS		100	67	
12	0	PKHD1	N-intron1	PKHD1		Benign;not_specif	[PASS]	[T;0.4434]	0	0.3534	0.54	rs982874	Hom	chr6	51735261	51735261	G	T	NM_138694.3		PASS		100	52	
13	0	PKHD1	N-intron1	PKHD1		Benign;not_specif	[PASS]	[86.0.7057]	0	0.6798	0.77	rs126688	Hom	chr6	51799166	51799166	T	C	NM_138694.3		PASS		100	41	
14	0	PKHD1	PKHD1	6 ₁ PKHD1	[R][Poly	Benign Benign;not	[PASS]	[110.9899]	1	0.9539	0.96	rs243532	Hom	chr6	51875250	51875250	A	C	NM_138694.3	PKHD1:NM	PASS		100	79	
15	0	PKHD1	PKHD1	6 ₁ PKHD1		Benign Benign;not	[PASS]	[56.0.4799]	0	0.3924	0.35	rs929666	Het	chr6	51890823	51890823	G	A	NM_138694.3	PKHD1:NM	PASS		50.4	141	
16	0	PKHD1	N-intron1	PKHD1		Benign;not_specif	[PASS]	[C;0.5187]	0	0.4539	0.41	rs249948	Het	chr6	51891011	51891011	T	C	NM_138694.3		PASS		62.3	53	
17	0	PKHD1	N-intron1	PKHD1		Benign;not_specif	[PASS]	[56.0.4772]	0	0.3887	0.36	rs109486	Het	chr6	51913240	51913240	G	A	NM_138694.3		PASS		48.2	56	
18	0	PKHD1	PKHD1	6 ₁ PKHD1	[DIFF][2	Benign Benign;not	[PASS]	[56.0.4771]	0	0.3887	0.36	rs937009	Het	chr6	51914956	51914956	G	A	NM_138694.3	PKHD1:NM	PASS		43.8	112	
19	0	PKHD1	PKHD1	6 ₁ PKHD1		Benign Benign;not	[PASS]	[110.9906]	1	0.9592	0.96	rs189697	Hom	chr6	51924774	51924774	A	G	NM_138694.3	PKHD1:NM	VQSRTrans		100	70	
20	0	PKHD1	N-intron1	PKHD1		Benign;not_specif	[PASS]	[36.0.2756]	0	0.2721	0.33	rs947414	Het	chr6	51938242	51938242	A	G	NM_138694.3		PASS		34.1	41	
21	0	PKHD1	N-intron1	PKHD1			[PASS]	[570.4842]	0	0.4187	0.38	rs189227	Het	chr6	51944847	51944847	T	C	NM_138694.3		PASS		61.1	18	
22	0	PKHD1	PKHD1	6 ₁ PKHD1		Benign Likely ben	[PASS]	[34.0.2821]	0	0.2957	0.35	rs947414	Het	chr6	51947237	51947237	G	A	NM_138694.3	PKHD1:NM	PASS		47.7	132	
23	1	PKD2	PKD2	4 ₀ PKD2			0	0	0	0		Het	chr4	88928901	88928901	C	A	NM_000297.3	PKD2:NM	(PASS		55.3	141		
24	0	PKD2	PKD2	4 ₀ PKD2	[R][Poly	Benign Likely ben	[PASS]	[66.0.0629]	0	0	0.1	rs117078	Hom	chr4	88929453	88929453	G	A	NM_000297.3	PKD2:NM	(PASS		100	140	
25	0	PKD2	N-intron1	PKD2			[PASS]	[76.0.6029]	0	0.6594	0.7	rs272522	Hom	chr4	88959381	88959381	G	A	NM_000297.3		PASS		100	93	
26	0	PKD2	PKD2	4 ₀ PKD2	[DM?][Po	other;Polycystic_kidne	[PASS]	[26.0.0023]	0	0.0002	0.00639	rs180161	Het	chr4	88967828	88967828	A	G	NM_000297.3	PKD2:NM	(PASS		56.2	73	
27	2	PKD2	PKD2	4 ₀ PKD2	[EXT][DM	Polycystic_kidne	0	0	0	0		Het	chr4	88973310	88973310	G	C	NM_000297.3	PKD2:NM	(PASS		57.4	54		
28	0	PKD1	N-intron1	PKD1			[PASS]	[T;0.1777]	0	0.1326	0.2	rs579227	Het	chr16	2154461	2154461	C	T	NM_001009944.2		PASS		45.9	98	
29	0	PKD1	PKD1	16 ₁ PKD1			[PASS]	[36.0.0009]	0	0.000998	rs138672	Het	chr16	2158837	2158837	C	T	NM_001009944.2	PKD1:NM	(PASS		44.8	143		
30	1	PKD1	PKD1	16 ₁ PKD1			[PASS]	[T;0.0004]	0	0.000399	rs144091	Het	chr16	2160131	2160131	G	T	NM_001009944.2	PKD1:NM	(PASS		42.8	138		
31	1	PKD1	PKD1	16 ₁ PKD1		ID=COSM9	[PASS]	[T;0.0004]	0	0.0005	0.0002	rs138116	Het	chr16	2160332	2160332	C	T	NM_001009944.2	PKD1:NM	(PASS		36.1	119	
32	0	PKD1	PKD1	16 ₁ PKD1		Benign;not_specif	[PASS]	[96.0.0768]	0	0.0541	0.07	rs798841	Het	chr16	2160494	2160494	C	T	NM_001009944.2	PKD1:NM	(PASS		47.1	189	
33	1	PKD1	PKD1	16 ₁ PKD1			0.4.331e-06	0	0			Het	chr16	2164422	2164422	C	A	NM_001009944.2	PKD1:NM	(PASS		54	137		
34	0	PKD1	PKD1	16 ₁ PKD1		Benign;not_specif	[PASS]	[86.0.9750]	1	0	0.98	rs40433	Hom	chr16	2164808	2164808	C	T	NM_001009944.2	PKD1:NM	(VQSRTrans		100	34	
35	0	PKD1	PKD1	16 ₁ PKD1		Benign;not_specif	[PASS]	[26.0.8967]	0	0	0.94	rs35842	Hom	chr16	2167874	2167874	G	A	NM_001009944.2	PKD1:NM	(VQSRTrans		100	28	

病例3 病史

- 王XX，男，49岁。因“反复肝功能异常20年”于2017-12-19入院。
- 20年前因乏力纳差至医院就诊，乙肝两对半示“小三阳”，肝功能异常（具体不详），予保肝降酶处理后好转，此后定期复查肝功能，转氨酶正常，黄疸皆明显高于正常
- 2009年起HBsAg检测阴性
- 近期患者自觉尿黄明显，皮肤巩膜黄染，为求进一步诊治至我院，门诊收住入院。
- 病程中无畏寒发热、恶心呕吐，无呕血黑便，大便正常，体重无明显变化。

既往史和体格检查

- 既往因“**胆囊结石**”，行胆囊切除，既往无高血压，心脏病病史，糖尿病史，否认传染病史，否认食物、药物过敏史。否认手术外伤、输血史。
- 体格检查：皮肤巩膜重度黄染，未见蜘蛛痣，肝掌，浅表淋巴结未触及肿大，腹软，全腹无压痛，无反跳痛，无腹肌紧张，莫菲氏征（-），肝脾肋下未及，肝区叩击痛阴性，肾区无叩击痛，移动性浊音阴性，双下肢无凹陷性水肿。

就诊卡号: 00198436

样本号: 20171220YGS079

样本类型: 血清

临床诊断: 黄疸查因: 1.Crigler-Najjar综合征 检验目的: 乙肝二对半(发光法)+AFP、CEA

备注:

检验项目	结果	单位	参考值	检验项目	结果	单位	参考值
乙肝表面抗原	0.00阴性	IU/ml	0.0-0.05	乙肝核心抗体	8.56阳性	S/CO	0.00-1.00
乙肝表面抗体	0.20	mIU/ml	0.00-10.00	甲胎蛋白	1.0	ng/ml	0.0-8.78
乙肝e抗原	0.313阴性	S/CO	0.00-1.00	癌胚抗原	0.76	ng/ml	0.00-5.00
乙肝e抗体	0.23阳性	S/CO	1.0000-999.0				

临床诊断: 黄疸查因: 1.Crigler-Najjar综合征 检验目的: HBV-DNA定量

备注:

检验项目	结果	单位	参考值	检验项目	结果
HBVDNA定量	<5.0E+02	IU/ml	<5.0E+-02		

临床诊断: 黄疸查因: 1.Crigler-Najjar综合征 检验目的: 免疫球蛋白、补体测定

备注:

检验项目	结果	单位	参考值	检验项目	结果	单位	参考值
补体C3	0.64↓	g/L	0.75-1.35	免疫球蛋白A	3.10	g/L	0.70-4.06
补体C4	0.16	g/L	0.09-0.36	免疫球蛋白G	9.3	g/L	6.8-14.45
铜蓝蛋白	0.24	g/L	0.20-0.55	免疫球蛋白M	2.58↑	g/L	0.34-2.14

临床诊断：黄疸查因：1.Crigler-Najjar综合征

检验目的：肝功能+血脂分析1+电解质、肾功能

备注：

检验项目	结果	单位	参考值	检验项目	结果	单位	参考值
总胆红素	134.2↑	umol/L	3.0-19.0	β2微球蛋白	1.7	mg/L	1.0-3.00
直接胆红素	10.4↑	umol/L	0.5-6.8	视黄醇结合蛋白	30.2	mg/L	25.0-70
间接胆红素	123.8↑	umol/L	0.0-12.2	乳酸	3.85↑	mmol/L	1.13-3.60
总蛋白	60.5	g/L	60.0-80.0	钾	5.21	mmol/L	3.50-5.50
白蛋白	40.8	g/L	35.0-55.0	钠	139.3	mmol/L	136.0-145.0
球蛋白	19.7↓	g/L	20.0-30.0	氯	103.9	mmol/L	96.0-106.0
白球比	2.07		1.30-2.50	钙	1.97↓	mmol/L	2.10-2.60
谷丙转氨酶	23.2	IU/L	5.0-40.0	磷	0.85	mmol/L	0.70-1.50
谷草转氨酶	19.2	IU/L	5.0-40.0	铁	36.7↑	umol/L	14.3-35.6
谷草转氨酶线粒体同工酶	1.1	U/L	0.0-10.0	镁	0.76	mmol/L	0.60-1.10
谷草/谷丙	0.83			总二氧化碳	32↑	mmol/L	22-29
谷草线粒体酶/谷草	0.06			甘油三酯	1.37	mmol/L	0.28-1.70
胆碱酯酶	5699	U/L	4230-13000	总胆固醇	2.06↓	mmol/L	3.00-6.00
谷氨酰转肽酶	39.4	U/L	0.0-50.0	高密度脂蛋白胆固醇	0.78↓	mmol/L	1.00-1.55
碱性磷酸酶	57.1	IU/L	40.0-129.0	低密度脂蛋白胆固醇	1.01↓	mmol/L	1.50-3.12
乳酸脱氢酶	113	IU/L	109-245	载脂蛋白A1	0.96↓	g/L	1.00-1.60
总胆汁酸	5.0	umol/L	0.0-13.0	载脂蛋白-B	0.41↓	g/L	0.60-1.10
葡萄糖	4.08	mmol/L	3.90-6.20	脂蛋白a	77.9	mg/L	1.0-300.0

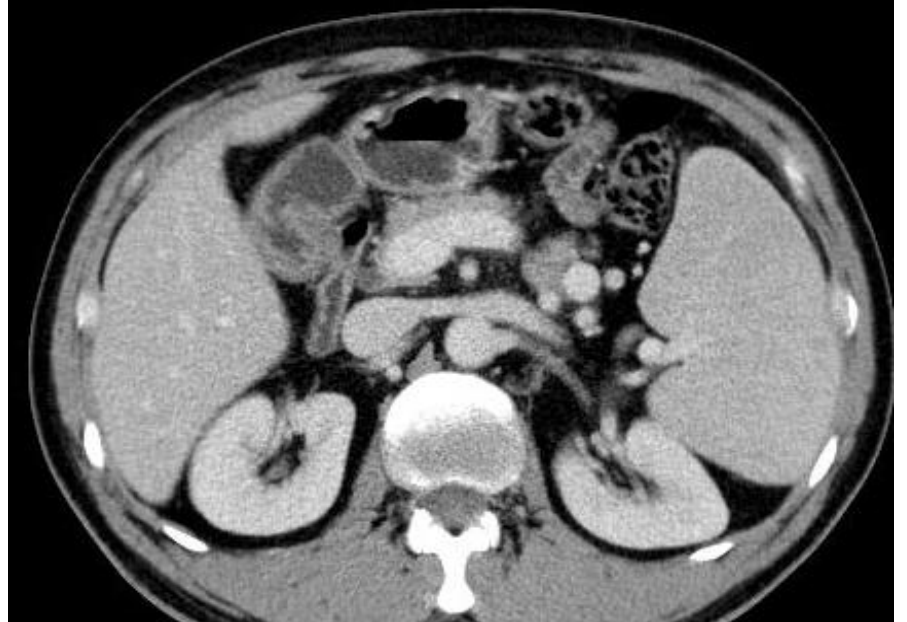
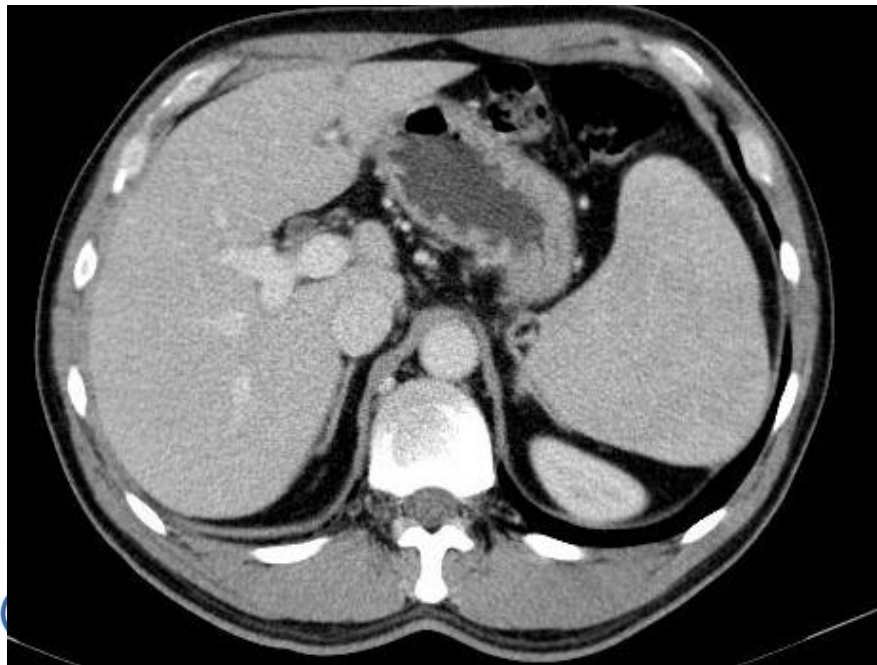
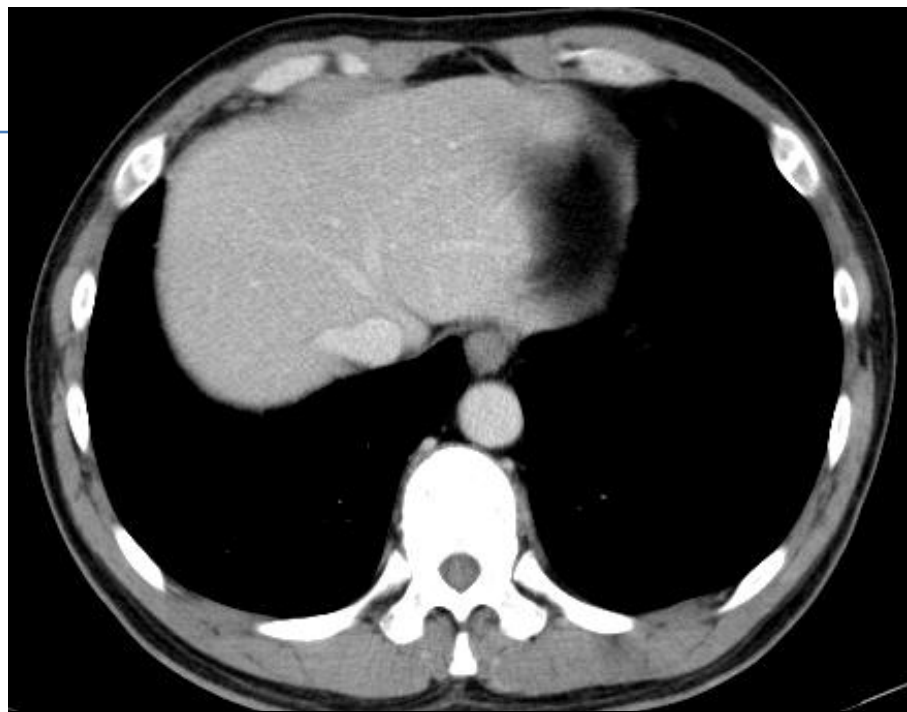
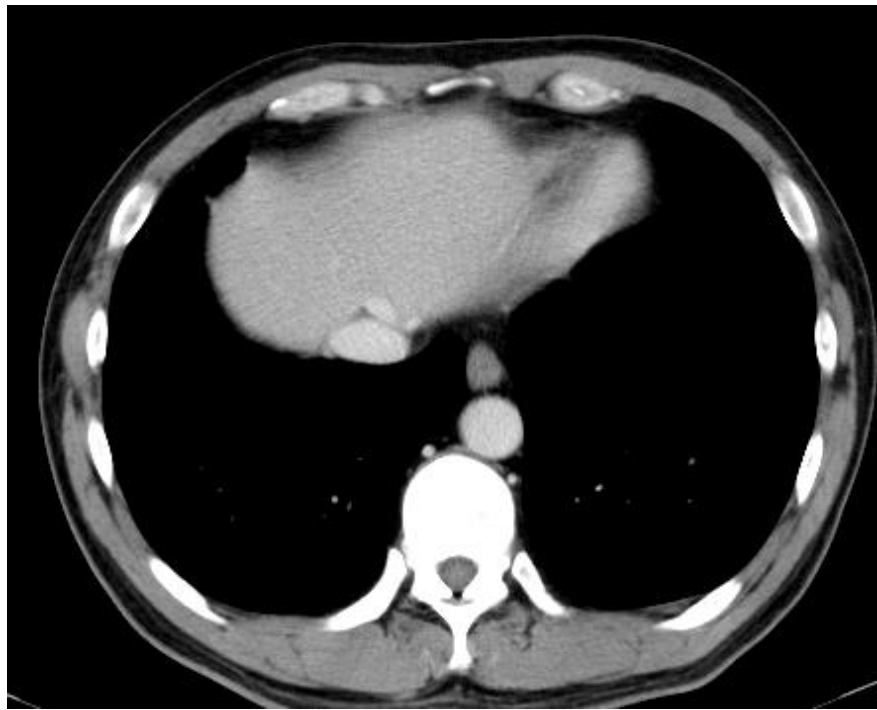
评语



临床诊断: 黄疸查因: 1.Crigler-Najjar综合征 检验目的: 血液分析+网织红

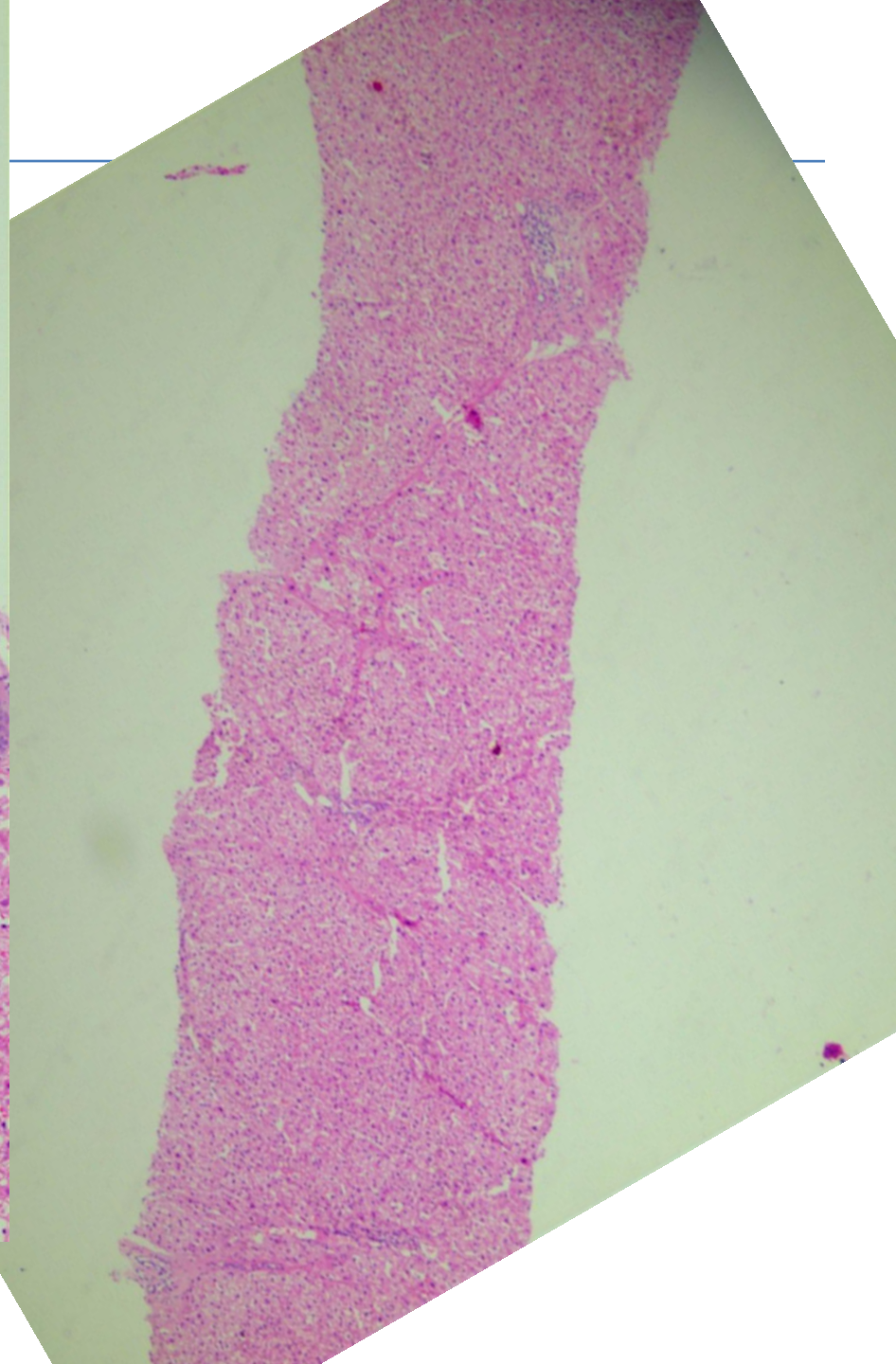
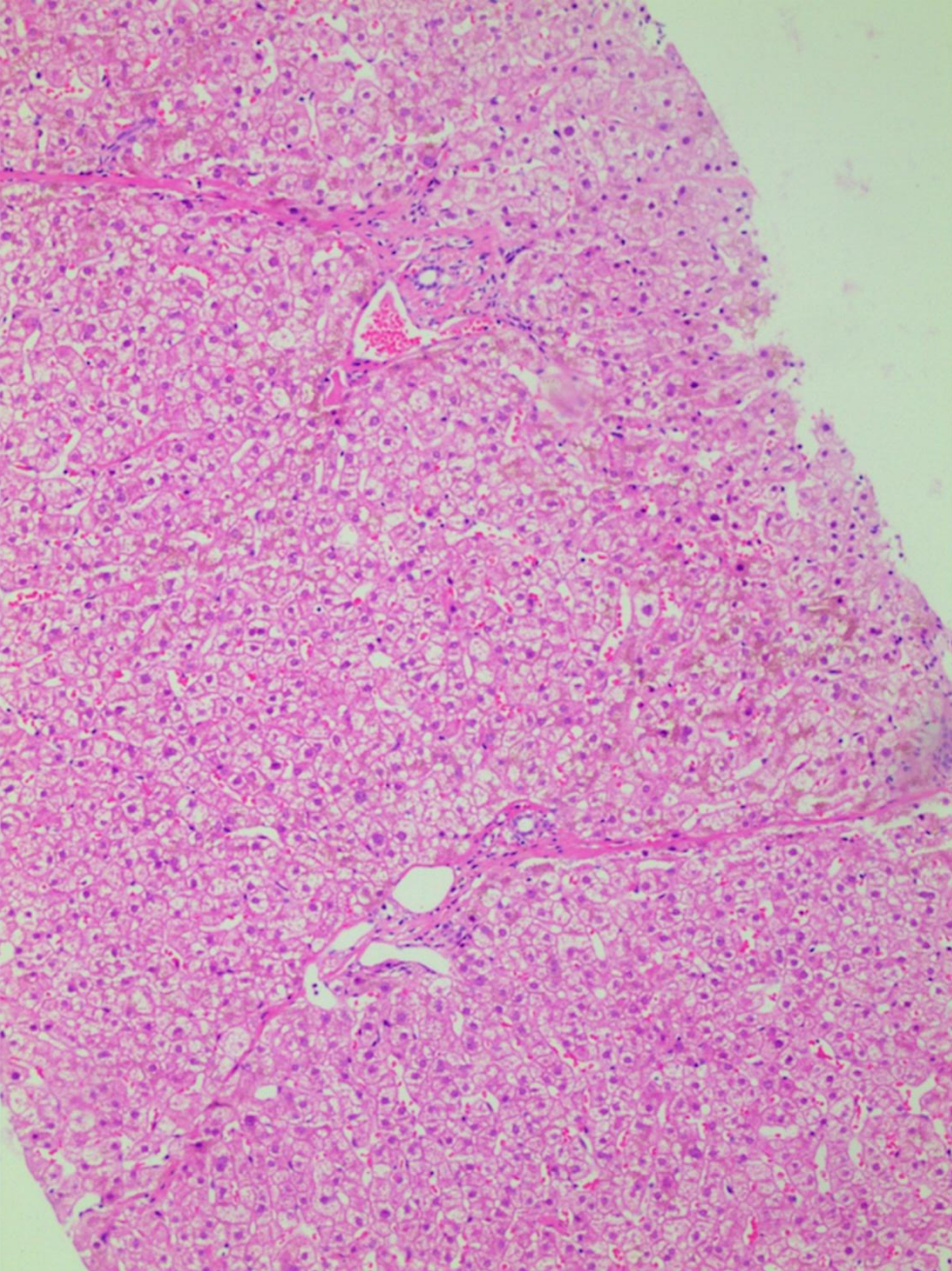
备注:

检验项目	结果	单位	参考值	检验项目	结果	单位	参考值
网织红细胞	3.00↑	%	0.50-1.50	血红蛋白	148	g/L	131-172
白细胞	6.14	10 ⁹ /L	3.97-9.15	红细胞压积	41.2	%	38.0-50.0
中性粒细胞百分比	63.6	%	40.0-75.0	红细胞平均体积	99.7↑	fL	83.9-99.1
淋巴细胞百分比	27.5	%	20.0-40.0	平均血红蛋白含量	35.8↑	pg	27.8-33.8
嗜酸性粒细胞百分比	1.40	%	0.50-5.00	平均血红蛋白浓度	359↑	g/L	320-355
单核细胞百分比	7.40	%	3.00-10.0	红细胞体积分布宽度CV	12.4	%	10.0-15.0
嗜碱性粒细胞百分比	0.10	%	0.00-1.00	红细胞体积分布宽度SD	52.0	fL	35.0-56.0
中性粒细胞绝对值	3.91	10 ⁹ /L	2.00-7.00	血小板	80↓	10 ⁹ /L	85-303
淋巴细胞绝对值	1.69	10 ⁹ /L	0.80-4.00	血小板平均体积	11.10↑	fL	6.50-11.00
嗜酸性粒细胞绝对值	0.09	10 ⁹ /L	0.02-0.50	血小板压积	0.09	%	
单核细胞绝对值	0.45	10 ⁹ /L	0.12-1.00	血小板体积分布宽度	16.80	%	
嗜碱性粒细胞绝对值	0.01	10 ⁹ /L	0.00-0.05	异常白细胞	未见		
红细胞	4.13	10 ¹² /L	4.09-5.74	异常红细胞	未见		



诊断思路

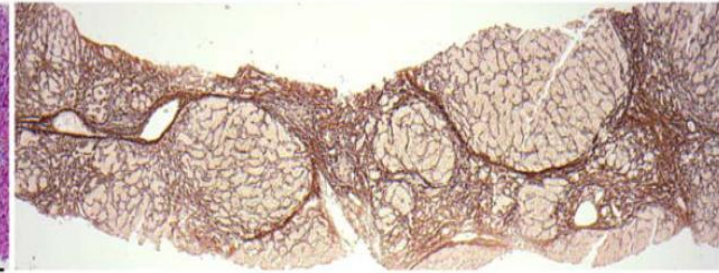
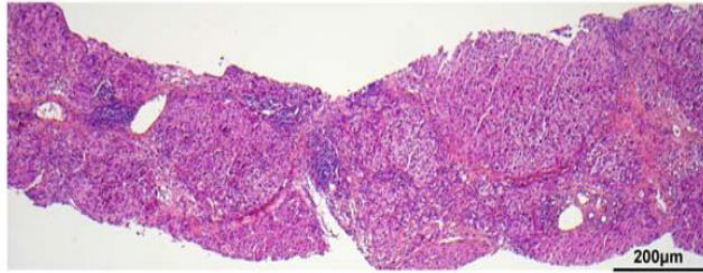
- 黄疸特点：间胆为主，不伴其他肝生化指标异常。伴脾大和网织红增高
- 病因：
 - 肝硬化门脉高压，脾功能亢进致红细胞破坏？
 - UGT1A1病（包括Gilbert和Crigler-Najjar）？
 - 遗传性溶血？



参考北京分类，患者为逆转为主型纤维化

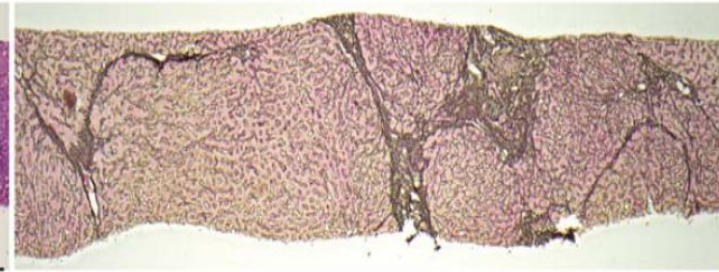
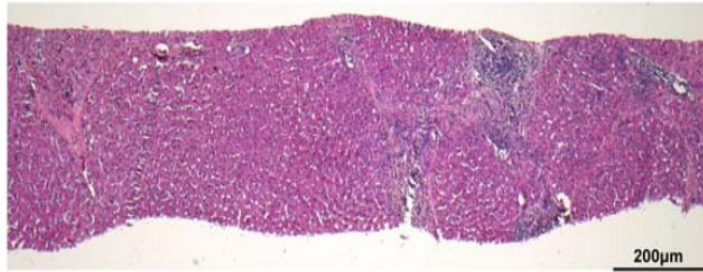
进展为主型：
>50%的纤维间隔处于进展期

A Predominantly Progressive



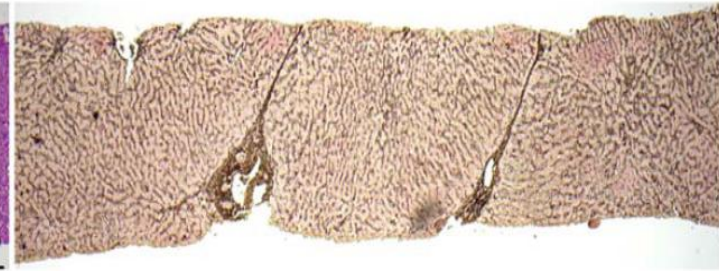
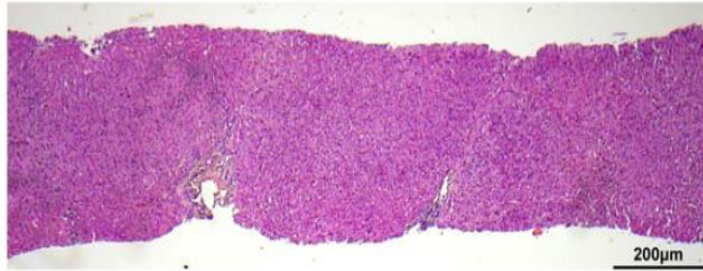
中间型：
进展/逆转处于平衡

B Indeterminant



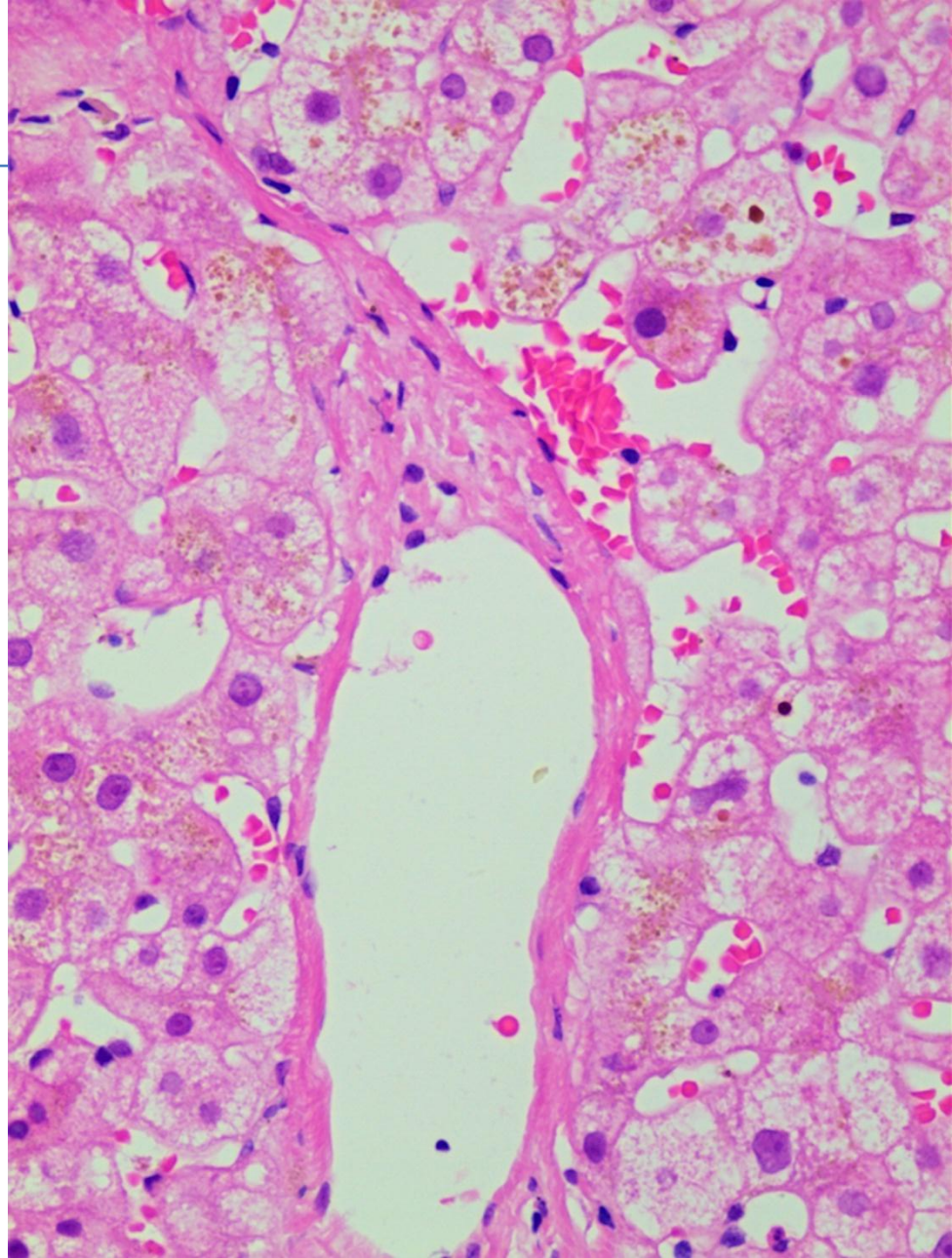
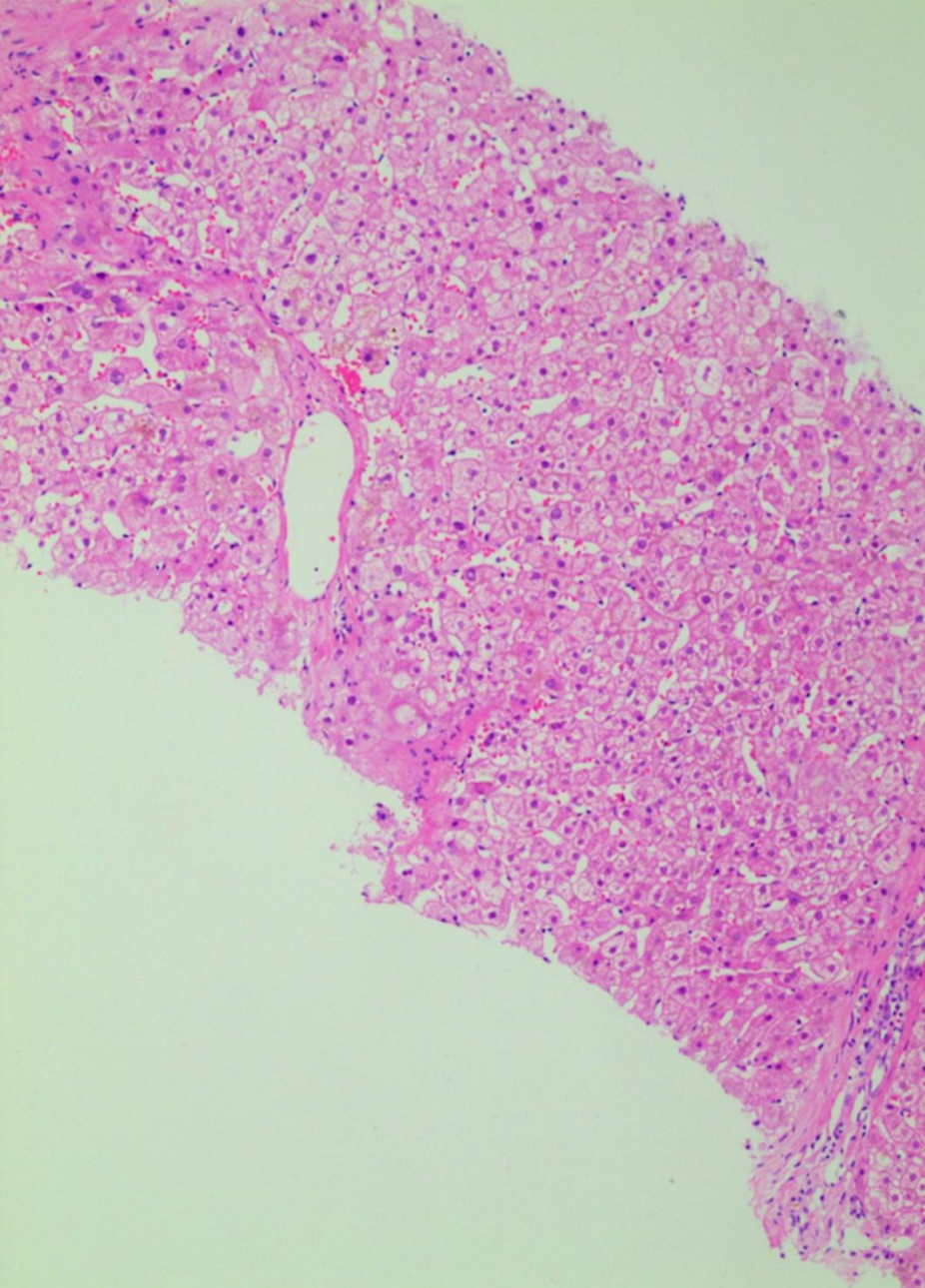
逆转为主型：
>50%的纤维间隔处于逆转展期

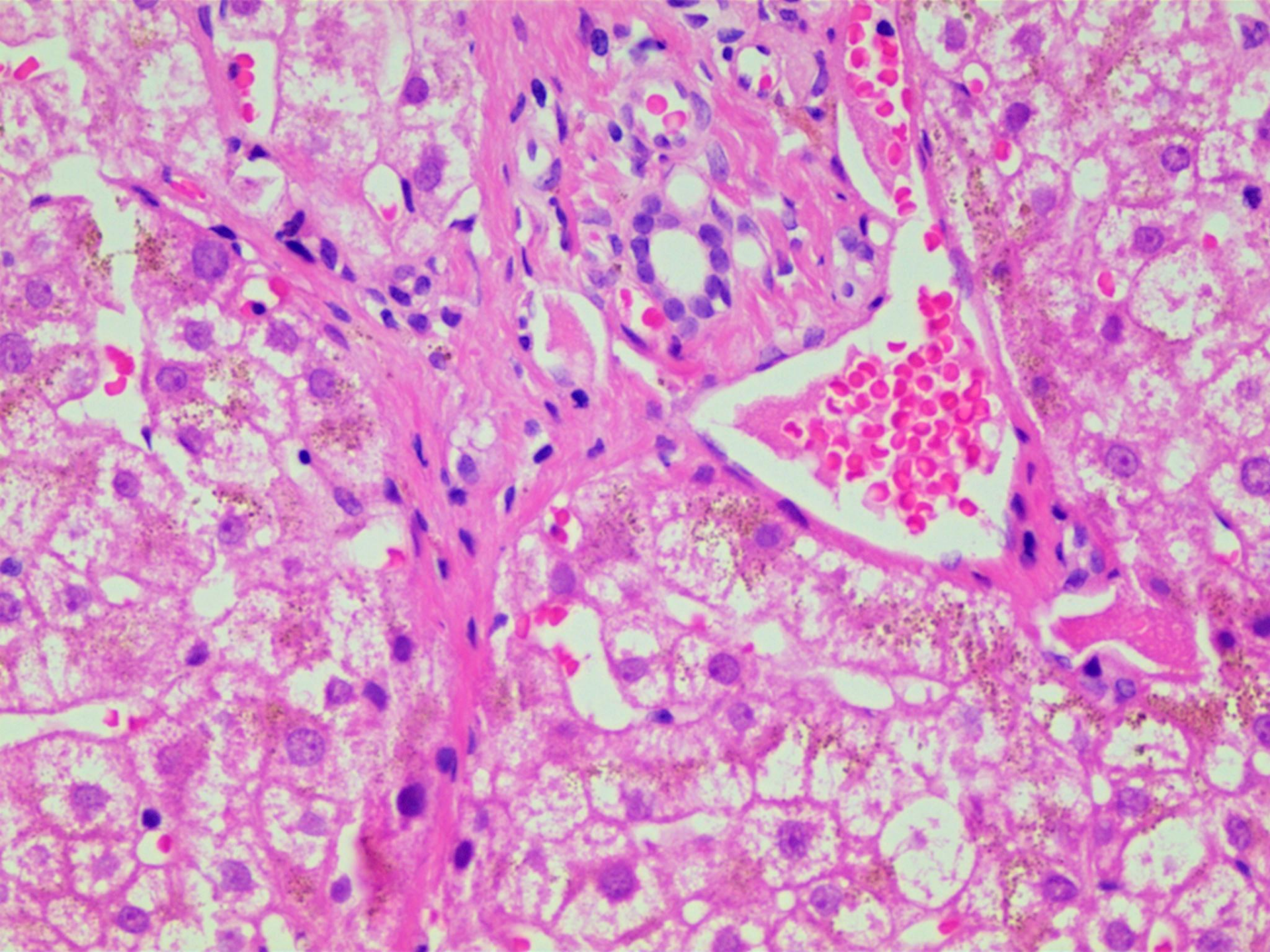
C Predominantly Regressive



H&E

Reticulin





遗传性溶血相关检查

就诊卡号: 00198436 样 本 号: 20171220HXB001 样本类型: C

临床诊断: 黄疸查因: 1.Crigler-Najjar综合征 检验目的: 红细胞渗透脆性试验 备注:

检验项目	结果	单位	参考值	检验项目	结果	单位	参考值
红细胞渗透脆性开始溶血	4.4	g/L	3.8-4.6	红细胞渗透脆性完全溶血	3.2	g/L	2.8-3.2

• 血红蛋白电泳正常

UGT1A1、遗传球和地贫等均未测到致病突变

性 别: 男

年 龄: 49 岁

民 族:

联系电话:

门诊/住院号: 00198436

房/床号: 28床

申请医生:

送检标本:

标本情况: 符合检测要求

采样时间:

接收时间: 2017-12-21

检测项目: 黄疸相关基因测序

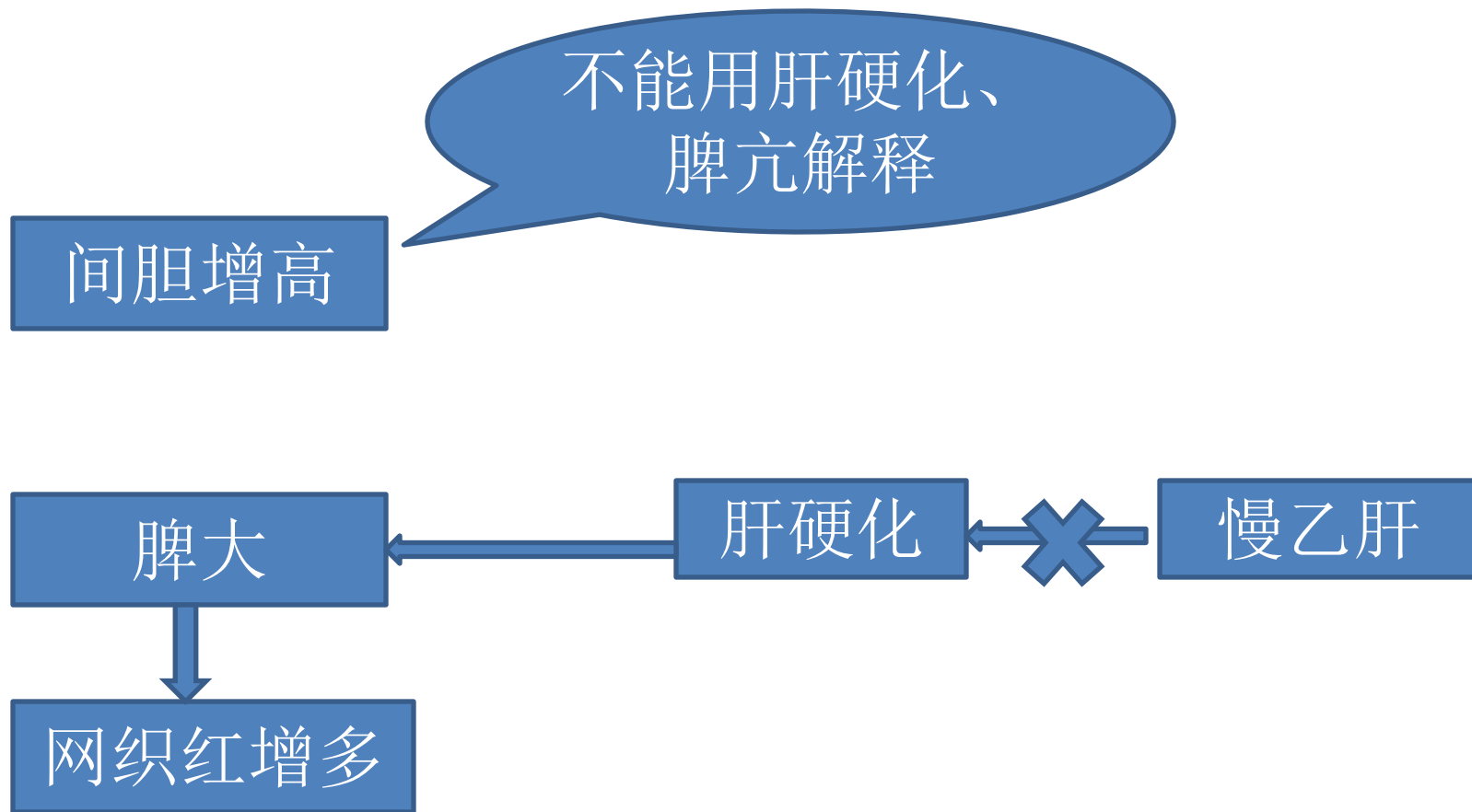
临床提示:

检测结果: 未检测到明确的致病变异。

黄疸相关基因检测（详见方法学说明）测序结果均未见明确致病性变异。

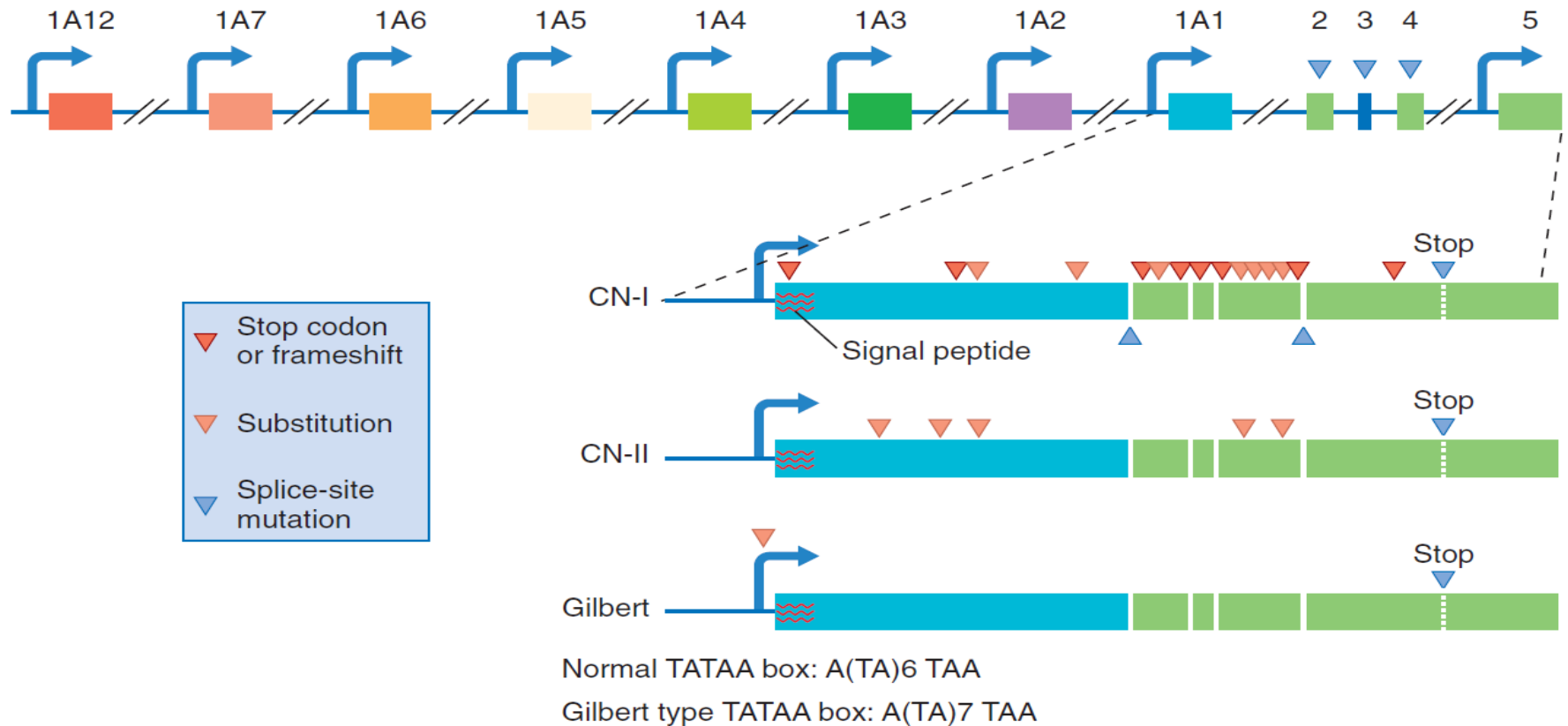
•涵盖的基因: 球形红细胞增多症(ANK1, EPB42, SLC4A1, SPTA1, SPTB, KLF1); 溶血性贫血(PKLR, GPI, HK1, KLF1, NT5C3A); 地中海贫血 (EPB42, HBB, HBA1, HBA2, KLF1); 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症(G6PD); 肝内胆汁淤积症(ABCB11, ABCB4, ABCC2, ATP8B1, SLC25A13, NR1H4); 半乳糖血症(GALE, GALK1, GALT); α 1-抗胰蛋白酶缺乏症(SERPINA1); Dubin-Johnson综合征(ABCC2); Alagille综合征(JAG1, NOTCH2); Crigler-Najjar综合征(UGT1A1, UGT1A4); Gilbert综合征(UGT1A1); Rotor综合征(SLCO1B1, SLCO1B3); Zellweger综合征(ABCD3); 尼曼-匹克病(NPC1, NPC2, SMPD1)

不是溶血，不是UGT1A1，到底是什么？



- 网织红增高可用既往乙肝感染所致脾大、少量红细胞在脾脏破坏解释；
- 显著的间接胆红素增高，最大可能性还是Gilbert

UGT1A基因家族结构示意图



- 1/3 Gilbert综合征是由于UGT1A1启动子区突变
- 回顾送该公司检测的20余份结果，**从未**发过UGT1A1启动子区突变的报告
- 电话询问，二代测序是**不**测启动子区的

最终诊断：Gilbert综合征

- 构建方法，**重新检测**

性 别： 男

门诊/住院号： 00198436

年 龄： 49 岁

房/床号： 28床

联系电话：

申请医生：

临床诊断：

项目名称 启动子测序(UGT1A1基因)

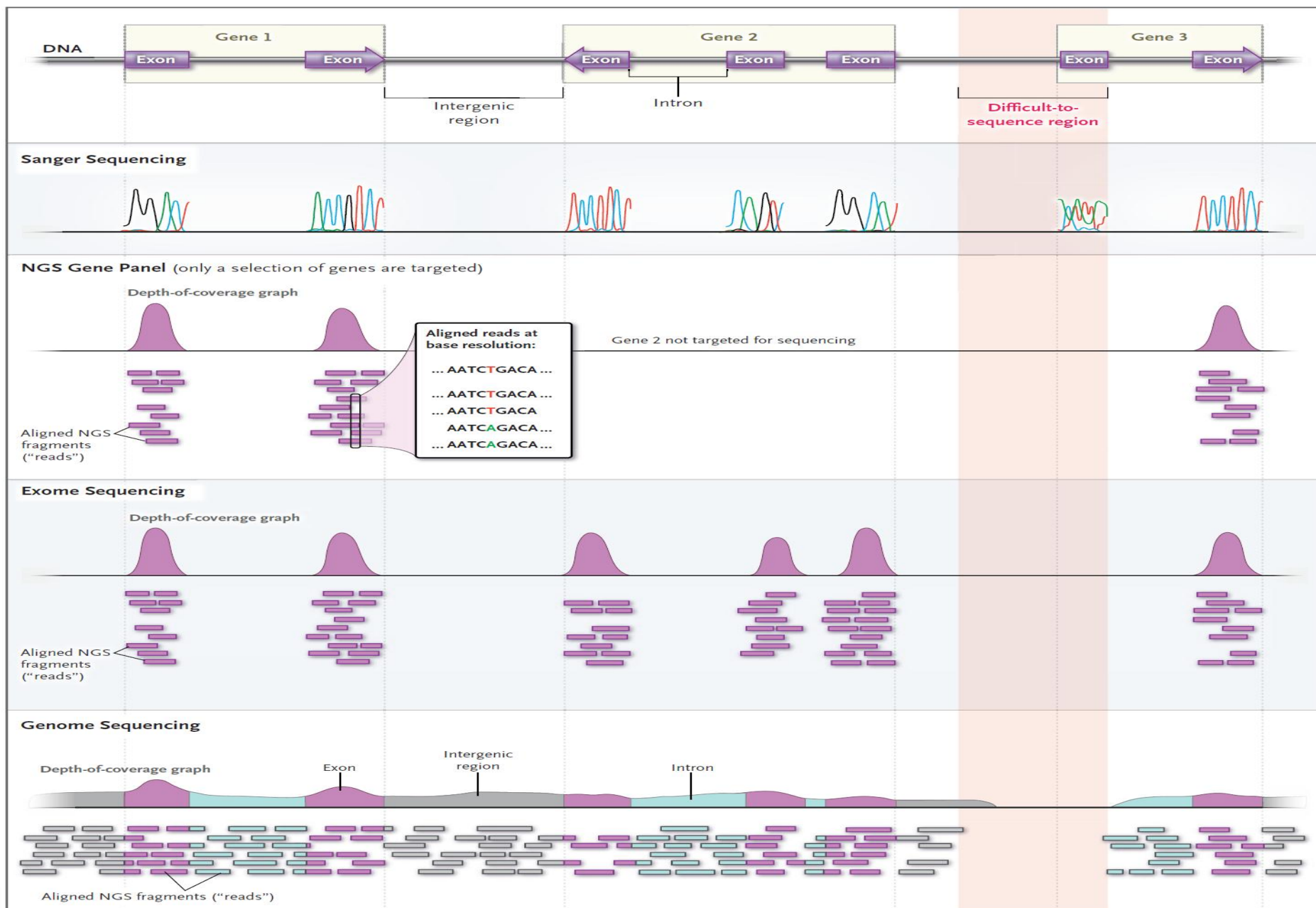
检测结果及解释

(TA)_n拷贝数：TA7/TA7

其他病理性点突变：无

解释：一对等位基因表达活性均下降。

重要提示：遗传性疾病85%突变发生在编码区，二代测序可覆盖；非编码区突变二代测序可能不能覆盖



NGS时代的分子诊断

Sanger测序

MLPA(多重连接探针扩增技术)

确证
实验

二代测序

靶向基因测序（测序包）

临床外显子组测序

外显子组测序

基因组测序

发现新致病基因

临床诊断

研究

二代测序不能解决所有问题

- 一定会报告
 - 严重突变：无义突变、终止密码突变、移码突变、插入突变、剪接位点突变、缺失突变
 - 已知致病突变
- 通常不会报告
 - 同义突变（可能位于剪接调控区）
 - 新发现的致病突变
- 检测不全面
 - 富含GC区域
 - 拷贝数变异（CNV）
- 无法检测
 - 转录调控元件（启动子、增强子、沉默子、绝缘子）
 - 剪接调控元件（多位于内含子）

代谢性肝病—临床中找线索

临床表现	可能疾病
疲倦无力	UCDs, 线粒体酶病
间歇性黄疸	PFIC
生长缓慢	中间产物代谢障碍
发育迟缓	很多疾病
神经系统症状、抽搐等	UCDs、FAO障碍、UCDs
厌食和营养不良	UCDs、线粒体病
肝脏肿大	多数贮积性疾病
脾脏肿大	贮积病或门脉高压
黄疸	胆汁淤积性肝病
K-F环	Wilson病
瘙痒抓痕	胆汁淤积病
低血糖	很多疾病, 如GSD

临床表现	可能疾病
高氨血症	UCDs
ALT/AST和ALP↑	很多疾病
结合胆红素↑	PFIC等疾病
ALP↓	Wilson病
GGT↑	PFIC3/ABCB4缺陷
不适应的GGT↓	BASD, PFIC1, PFIC2
白蛋白↓	非特异性
铜蓝蛋白↓	Wilson病
胆汁酸↑	多种, 包括PFIC1、PFIC2等
BA正常或降低伴淤胆	PFIC1、PFIC2、TJP2
vitA、D、E降低伴INR↑	胆汁淤积, 如BASDs, PFIC1、PFIC2

感慨

- 发病太低、种类太多、抓耳挠腮、难得其解
- 临床发现线索
- 病理指明方向（光镜+电镜，必要时冰冻）
- 蛋白和酶太难
- 基因简单易行
- 检测可交第三方，分析不能仅靠第三方
- 重要的事情说三遍：结合临床！结合临床！！结合临床！！！！



杨永峰肝病临床病理讨论群

扫码加入我的医生圈

谢谢

做一个**懂病理**的
临床医生

站得高——

视角广、视野宽
更精准做出诊断

看得远——

知病理、知预后
更客观判断病情

微信号: yyf1972

门诊: 周一上午 (汤山分院)
周四上午 (钟阜路本部)