



首都医科大学附属北京佑安医院

Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University

1例遗传性球形红细胞增多 症误诊CNS

肝病中心一科

侯维



1例Crigler-Najjar综合征 (II型) ?

患者男，35岁，**发现眼黄1年余**来我院就诊

- TBIL: 129.6 μ mol/l ; DBIL:11.3 μ mol/l
- ALT 25.3U/L AST 22.5U/L
- WBC $7.47 \times 10^9/L$, RBC $4.67 \times 10^9/L$, **HB 152g/L**, PLT $163 \times 10^9/L$
- 彩超：脂肪肝（轻度），脾大（厚48mm，长185mm），肝内低回声（血管瘤？）胆囊多发结石



UGT1A1常见的32个突变位点

编号	突变位点	突变区域	相关疾病	突变情况	编号	突变位点	突变区域	相关疾病	突变情况
1	c.101C>A, p.P34Q ⁽⁵⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	17	c.689A>G, p.Y230C ⁽¹⁶⁾	Exon1	CNS-II型	未发现
2	c.115C>G, p.H39D ⁽⁶⁾	Exon1	CNS-I型	未发现	18	c.715C>T, p.Q239T ⁽¹⁷⁾	Exon1	CNS-I型	未发现
3	c.118T>C, p.W40R ⁽⁷⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	19	c.826G>C, p.G276R ⁽¹⁸⁾	Exon1	CNS-I型	未发现
4	c.145C>T, p.Q49T ⁽⁸⁾	Exon1	CNS-I型	未发现	20	c.835A>T, p.N279Y ⁽¹¹⁾	Exon1	CNS-I型	未发现
5	c.222C>A, p.Y74T ⁽⁶⁾	Exon1	CNS-I型	未发现	21	c.840C>A, p.C280T ⁽¹⁹⁾	Exon1	CNS-I型	未发现
6	c.392T>C, p.L131P ⁽⁹⁾	Exon1	CNS-I型	未发现	22	IVS1+1G>C ⁽⁸⁾	IVS1	CNS-I型	未发现
7	c.479T>A, p.V160E ⁽¹⁰⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	23	c.1309A>T, p.K437T ⁽²⁰⁾	Exon5	CNS-I型	未发现
8	c.524T>A, p.L175Q ⁽¹¹⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	24	c.1381T>C, p.W461R ⁽²¹⁾	Exon5	CNS-I型	未发现
9	c.527C>T, p.P176L ⁽¹²⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	25	c.1388A>C, p.E463A ⁽²²⁾	Exon5	CNS-II型	未发现
10	c.529T>C, p.C177R ⁽¹¹⁾	Exon1	CNS-I型	未发现	26	c.1433C>A, p.A478D ⁽⁵⁾	Exon5	CNS-II型	未发现
11	c.554A>C, p.Q185P ⁽⁷⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	27	c.1448G>A, p.W483T ⁽⁶⁾	Exon5	CNS-I型	未发现
12	c.572C>T, p.S191F ⁽¹³⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	28	c.1449G>A, p.W483T ⁽⁶⁾	Exon5	CNS-I型	未发现
13	c.576C>G, p.Y192T ⁽⁵⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	29	c.1456T>G, p.Y486D ⁽²³⁾	Exon5	CNS-II型	未发现
14	c.610A>G, p.M204V ⁽¹⁰⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	30	c.1477G>C, p.G493R ⁽²⁴⁾	Exon5	CNS-II型	未发现
15	c.625C>T, p.R209W ⁽¹⁴⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	31	c.1487T>A, p.L496T ⁽⁶⁾	Exon5	CNS-I型	未发现
16	c.674T>G, p.V225G ⁽¹⁵⁾	Exon1	CNS-II型	未发现	32	IVS4-1G>A ⁽²⁵⁾	IVS4	CNS-I型	未发现

对UGT1A1基因全部5个外显子进行sanger测序未发现突变!



1例遗传性球形红细胞增多症误诊CNS

- 血常规：WBC $9.06 \times 10^9 /L$ ，N 80%，RBC $4.63 \times 10^{12} /L$ ，HB 154g/L, plt $189 \times 10^9/L$,
- 网织红细胞绝对值计数 $570.9 \times 10^9 /L$ (24-84), 网织红细胞百分比12.33%(0.5%-1.5%), 均明显升高!
- RDW:64.8Fl(40-53)
- 外周血涂片发现：红细胞轻度大小不等，可见球形红细胞
- Coomb's 试验阴性



NGS结果: ANK1基因突变

北京协和医院
门诊病历

姓名: 性别:男 年龄:36岁 ID号
就诊科室:血液科门诊 就诊日期:21

主诉: 黄疸复诊

现病史: Hb 149, ret 14%, PLT 178。外周血见10%球形红细胞。渗透脆性阳性。

既往史和其他病史: 同前。

流行病学史: 近2周内无体温大于等于37.3摄氏度; 无流涕、咽喉痛等临床表现; 近2周内无疫区(含境外)居住或旅行史; 未接触过发热病人; 无外出与人近距离频繁接触史(不戴口罩、封闭环境、1米内、大于1小时); 近2周内未曾前往或来自国内中高风险地区; 未注射过新型冠状病毒疫苗。

查体: 同前。

辅助检查: ANK1基因突变, 考虑HS

诊断: 遗传性球形红细胞增多症
胆石症

处理: 诊断明确, 目前无贫血, 暂不需特殊处理。注意补充叶酸, 清淡饮食。

NGS测序结果								
基因名称 Gene	转录本 Transcript	染色体 Chromosome	外显子 Exon	碱基改变 Nucleotide	氨基酸改变 Amino Acid	基因型 GeneType	疾病相关性预测 Clinical	蛋白质功能预测
ANK1	NM_000037	8p11.21	exon23	c.2467G>T	p.E823X	het	Likely pathogenic	-
疾病预测分析								
基因名称 Gene	可能相关疾病Disease	疾病信息Information						
ANK1	球形红细胞增多症	球形红细胞增多症是可导致慢性溶血性贫血的一类疾病, 其特点为血液中包含大量不规则形状的红细胞(多数为球型)。						
本测序结果采用血液cDNA进行测序文库构建, 其结果不能区分突变来源(体细胞突变or胚系突变) 如蒙								

遗传性球形红细胞增多症



遗传性球形红细胞增多症

- 遗传性球形红细胞增多症 (Hereditary spherocytosis) ，是红细胞膜有先天缺陷的一种溶血性贫血
- 主要表现为贫血、黄疸、脾肿大
- 诊断依据是血液中球形红细胞增多
- 正常红细胞的形态是呈盘状且中间凹陷的，当红细胞的形态发生改变时可引起贫血
- 遗传方式是常染色体显性遗传，男女都可发病



HS主要临床、实验室特征和分类

	Mild	Moderate	Moderately severe	Severe*
Haemoglobin (g/L)	Normal	>80	60-80	<60
Reticulocytes	<6%	>6%	>10%	>10%
Bilirubin (μmol/L)	17.1-34.2	>34.2	>34.2-51.3	>51.3
Peripheral smear	Some spherocytes	Spherocytes	Spherocytes	Microspherocytes and poikilocytosis
OF (fresh blood)	Normal or slightly increased	Increased	Increased	Increased
OF (incubated blood)	Increased	Increased	Increased	Increased
Splenectomy	Rarely†	If physical ability is decreased or in some cases†	Necessary (at >5 years)	Necessary (at >2-3 years)
Transfusions	0-1	0-2‡	>2	Regular
SDS-PAGE (protein deficiency)	Normal	Sp, Ank+Sp, band 3, protein 4.2	Sp, Ank+Sp, band 3	Sp, Ank+Sp, band 3
Heredity	AD	AD, de novo mutation	AD, de novo mutation	AR

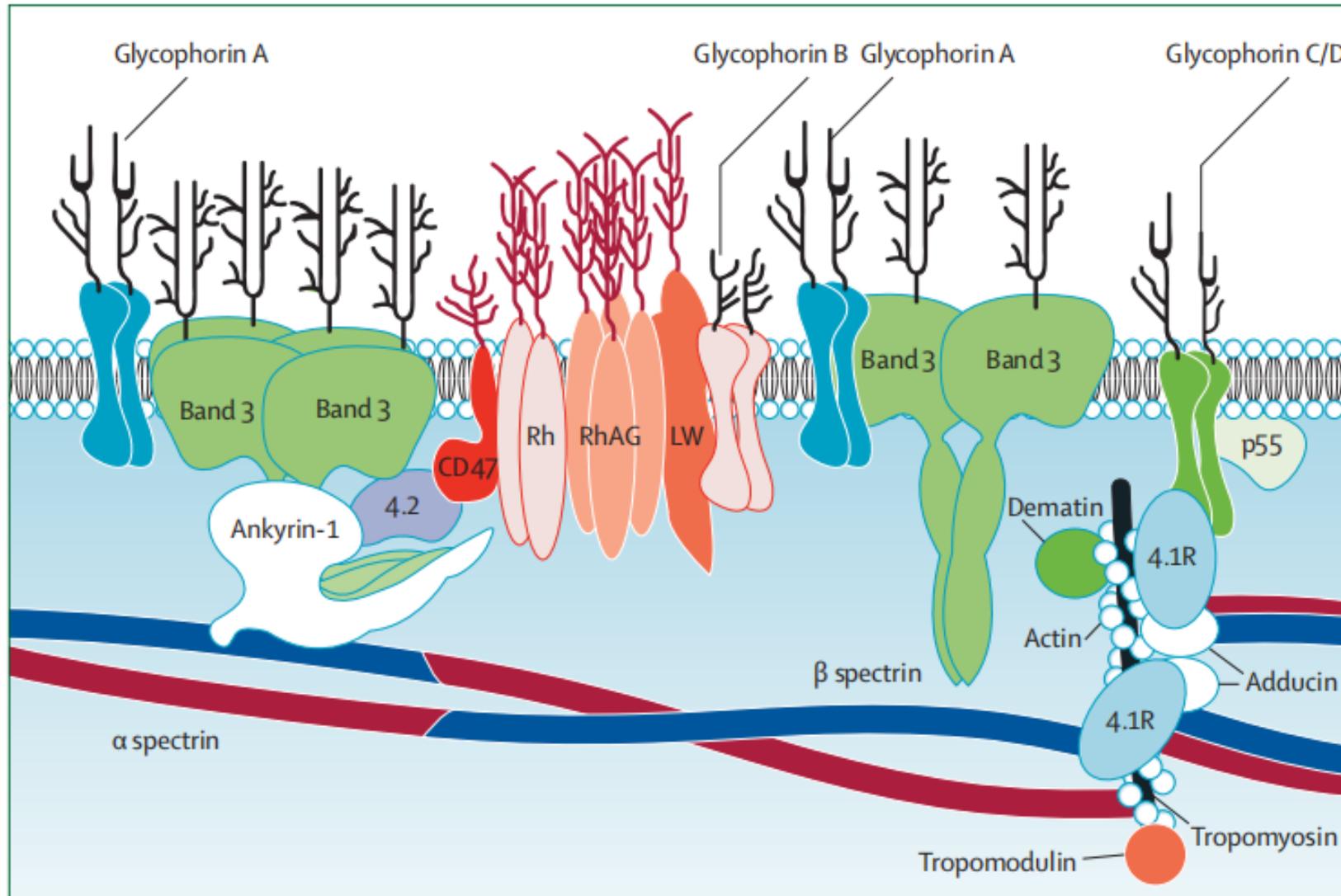
AD=autosomal dominant. Ank=ankyrin-1. AR=autosomal recessive. OF=osmotic fragility. SDS-PAGE=sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis. Sp=spectrin. *Patients depend on regular transfusions. †Adults undergoing cholecystectomy or with pronounced jaundice. ‡Some patients need one or two transfusions during infancy.

Table 3: Classification of hereditary spherocytosis

- 贫血、脾大、黄疸
- 溶血、巨幼细胞危象
- 胆结石
- 罕见表现：腿部溃疡、痛风、慢性皮炎、髓外造血肿瘤、血液系统恶性疾病、血管样条纹
- 神经肌肉疾病
- 心血管疾病
- 肌病、脊髓小脑变性
- 网织红细胞增多
- 球型红细胞
- 平均红细胞血红蛋白浓度和红细胞分布宽度增加
- 高密度细胞的比例增加
- 渗透性脆性增加
- 直接抗球蛋白试验均为阴性
- 遗传性：显性遗传75%，非显性遗传约25%
- 对脾切除术的反应良好



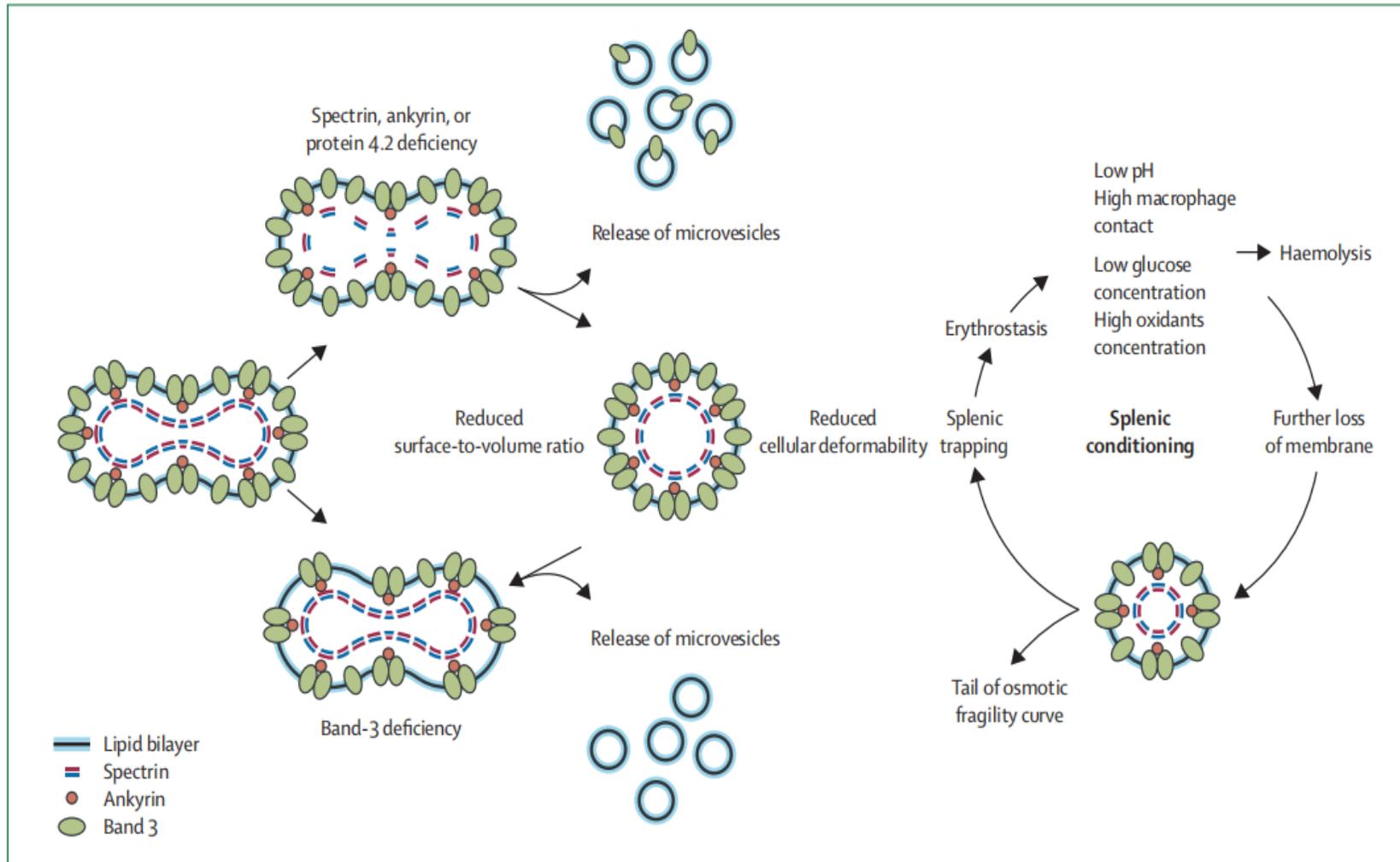
红细胞膜的简化横截面



红细胞膜是一种动态的流体结构。它的脂质双层主要由磷脂和胆固醇组成，脂质双层中嵌入了完整的蛋白质，这些蛋白质横跨膜和细胞质侧的膜骨架。与细胞膜结构的完整性有关的跨膜蛋白主要有带3蛋白(Band 3)，Rh相关的糖蛋白(RhAG)，血型糖蛋白C，等。细胞膜骨架网络又称细胞骨架。长丝状膜收缩蛋白结构独特，由大量的106个氨基酸的三螺旋结构组成，其中20个是 α 膜收缩蛋白，16个是 β 膜收缩蛋白。这种三螺旋结构的展开及变形与膜的弹性有关。在丝状结构的两端有连接复合体，由肌动蛋白(actin)，4.1R蛋白，内收蛋白(adducin)，demafin，原肌球蛋白(tropomyosin)，原肌球调节蛋白(tropomodulin)组成。



遗传性球形红细胞增多症的病理生理效应



细胞膜及其骨架为红细胞提供了变形能力，即在微循环过程中发生实质性变形而不破碎或失去完整性的能力，以及承受动脉循环的剪切应力的能力。有两个因素与遗传性球形红细胞增多症的病理生理效应有关——固有的红细胞膜缺陷和完整的脾脏，可选择性地保留、损伤和清除有缺陷的红细胞



主要的人类红细胞膜蛋白和基因缺陷

	Protein	Gene	Location	Exons	Aminoacids	Molecular weight×10 ³ (gel/calculated)	Oligomeric state
SDS-PAGE band 1	α-spectrin	SPTA1	1q22-q23	52	2429	240/281	Heterodimer/tetramer
SDS-PAGE band 2	β- spectrin	SPTB	14q23-q24.1	32	2137	220/246	Heterodimer/tetramer
SDS-PAGE band 2.1	Ankyrin-1	ANK1	8p11.2	42	1880	210/206	Monomer
SDS-PAGE band 2.9	β-adducin	ADD2	2p13.3	16	726	97/80	Heterodimer/tetramer
SDS-PAGE band 3	Band 3 (AE1)	SLC4A1	17q21	20	911	90-100/102	Dimer/tetramer
SDS-PAGE band 4.1R	Protein 4.1	EPB41	1p33-p34.2	>23	588	80+78*/66	Monomer
SDS-PAGE band 4.2	Protein 4.2	EPB42	15q15-q21	13	691	2/77	Dimer/trimer
SDS-PAGE band 4.9†	Dematin	EPB49	8p21.1	15	383	48+52/43	Trimer
	p55	MPP1	Xq28	12	466	46+55/53	Dimer
SDS-PAGE band 5‡	β-actin	ACTB	7pter-q22	6	375	43/42	Oligomer
	Tropomodulin	TMOD	9q22	9	359	43/41	Monomer
SDS-PAGE band 6	G3PD	GAPD	12p13	9	335	35/36	Tetramer
SDS-PAGE band 7§	Stomatin	STOM	9q33.2	7	288	31/32	..
	Tropomyosin	TPM3	1q31	13	239	27+29/28	Heterodimer
SDS-PAGE band PAS-1¶	Glycophorin A	GYPA	4q31.21	7	131	36/14	Dimer
SDS-PAGE band PAS-2¶	Glycophorin C	GYPC	2q14-q21	4	128	32/14	..
SDS-PAGE band PAS-3¶	Glycophorin B	GYPB	4q31.21	5	72	20/8	Dimer
	Glycophorin D	GYPD	2q14 q21	4	107	23/11	..

AE1=anion exchange protein-1. G3PD=glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. PAS=periodic acid Schiff reagent. SDS-PAGE=sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis. *Protein 4.1 is a doublet of 4.1a and 4.1b on SDS-PAGE gel. †Band contains both dematin and p55; ‡Band contains β actin and tropomodulin. §Band contains stomatin and tropomyosin. ¶Glycophorins are visible only on PAS-stained gels. ||Glycophorins C and D arise from alternative translation initiation sites.



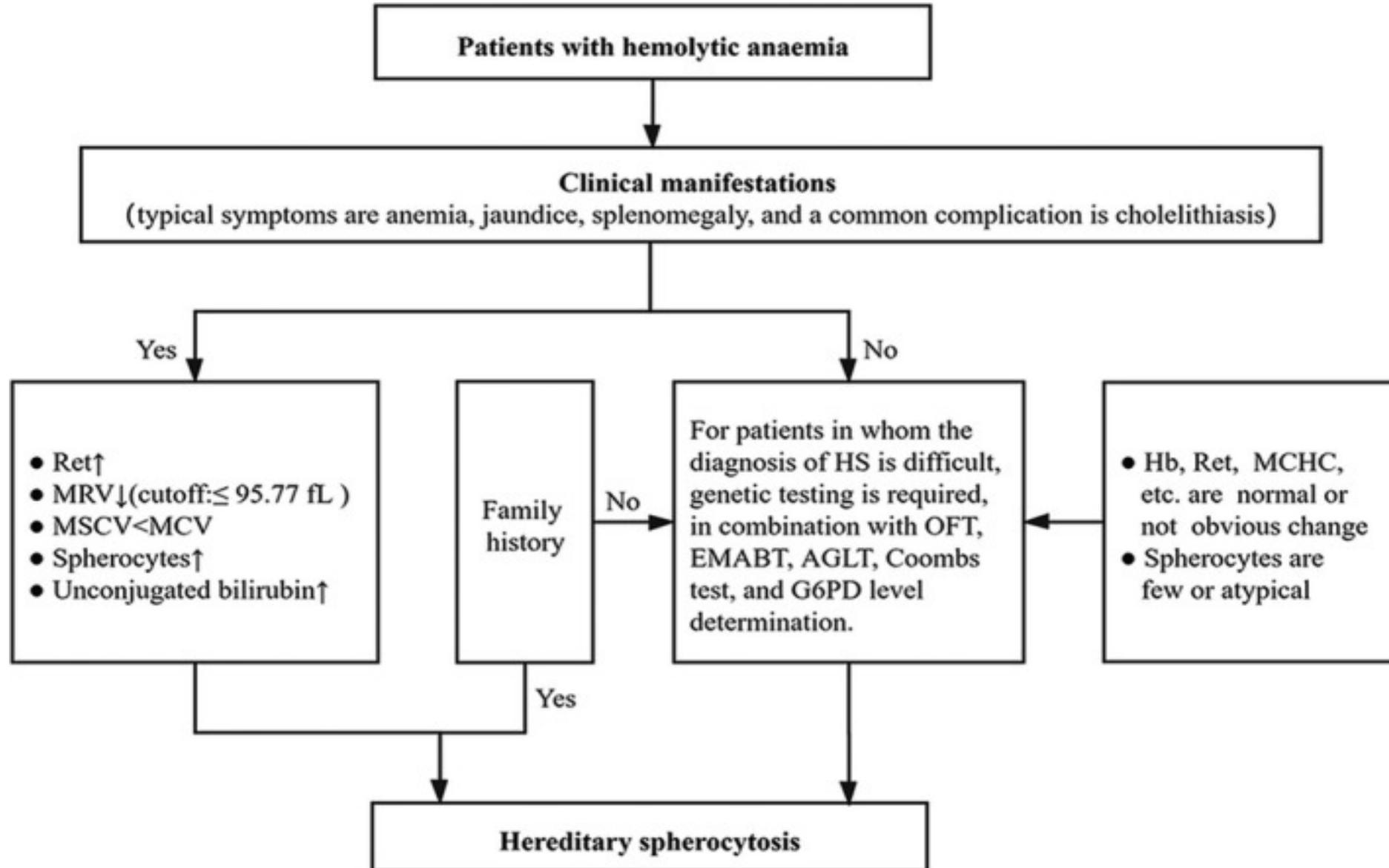
遗传性球形红细胞增多症分子缺陷的临床和分子特征

	Patients with HS	Heredity	Prevalent mutations	Protein reduction	Disease severity	Peripheral blood smear
Ankyrin-1	USA and Europe 40–65%; Japan 5–10%	AD, AR, de novo	AD or de novo: null mutation; AR: mis-sense and promoter mutations	Spectrin and ankyrin-1 15–50%	Mild to moderate	Spherocytes
Band 3	20–35%	AD	Functionally null mutation	Band 3 15–35%	Mild to moderate	Spherocytes, occasional mushroom-shaped or pincered cells
α spectrin	<5%	AR	α -LEPRA allele and null mutation	α spectrin 50–75%	Severe	Spherocytes, contracted cells, and poikilocytes
β spectrin	15–30%	AD, de novo	Null mutation	β spectrin 15–40%	Mild to moderate	Spherocytes, 5–10% acanthocytes
Protein 4.2	USA and Europe <5%; Japan 45–50%	AR	Mis-sense (prevalence of 4.2 Nippon)	Protein 4.2 95–100%	Mild to moderate	Spherocytes, ovalostomatocytes

AD=autosomal dominant. AR=autosomal recessive. HD=hereditary spherocytosis. LEPRA=low-expression allele Prague.



遗传性球形红细胞增多症的诊断过程



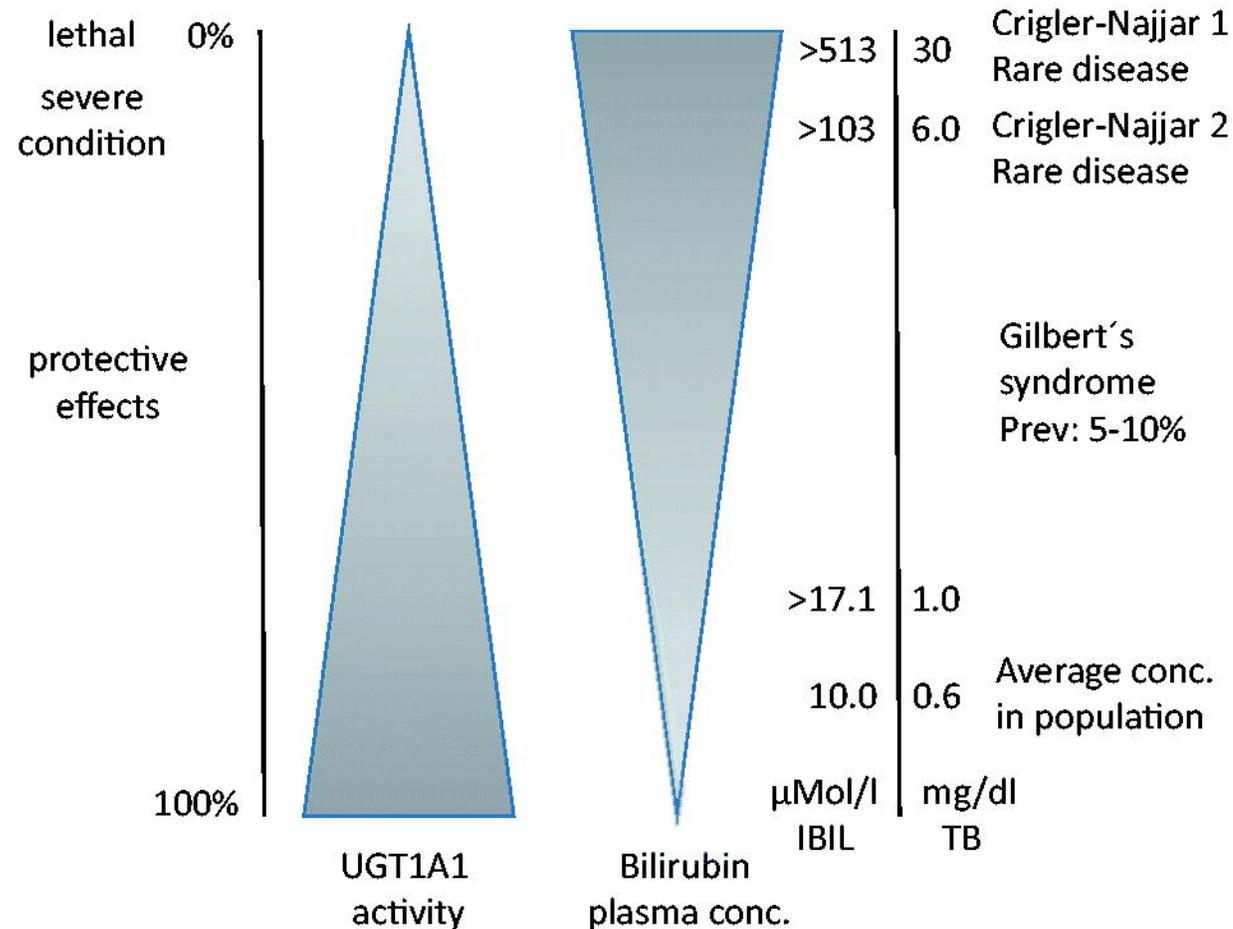


Crigler-Najjar综合征

- II型Crigler-Najjar综合征 (CNS-II) 是一种罕见的由*UGT1A1*基因突变引起的遗传性疾病
- 遗传方式是常染色体隐性遗传，同一基因的突变可能或者引起其他疾病，如I型Crigler-Najjar综合征和Gilbert综合征
- 主要特征是高胆红素血症
- 胆红素通常是红细胞分解的最终产物，*UGT1A1*突变导致胆红素UDP葡萄糖醛酸基转移酶功能障碍
- 胆红素UDP葡萄糖醛酸基转移酶通过与葡萄糖醛酸结合参与胆红素的解毒
- 功能失常的胆红素UDP葡萄糖醛酸基转移酶阻止胆红素与葡萄糖醛酸结合，导致血浆中非结合胆红素水平升高，表现出黄疸
- 该疾病的发病率为1/750000-1000000

Abdul Raffay E, Liaqat A, Khan M, Awan AI, Mand B. A Rare Case Report of Crigler Najjar Syndrome Type II. *Cureus*. 2021 Jan 12;13(1):e12669.

UGT1A1基因病：突变导致酶活性下降，表现为不同严重程度的黄疸



**Gilbert综合征、
Crigler-Najjar II/I：
UGT1A1基因病的不同状态**

注：尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (UGT1A1)

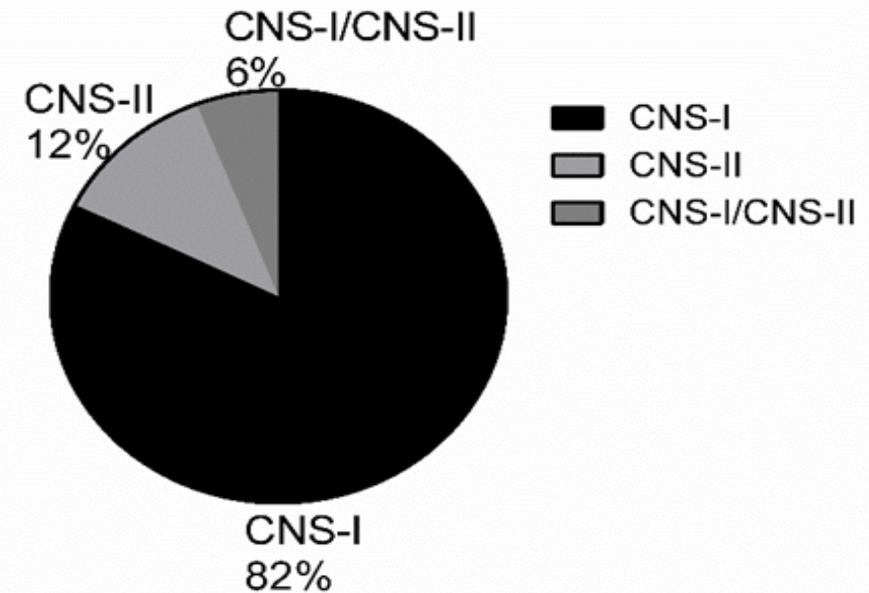
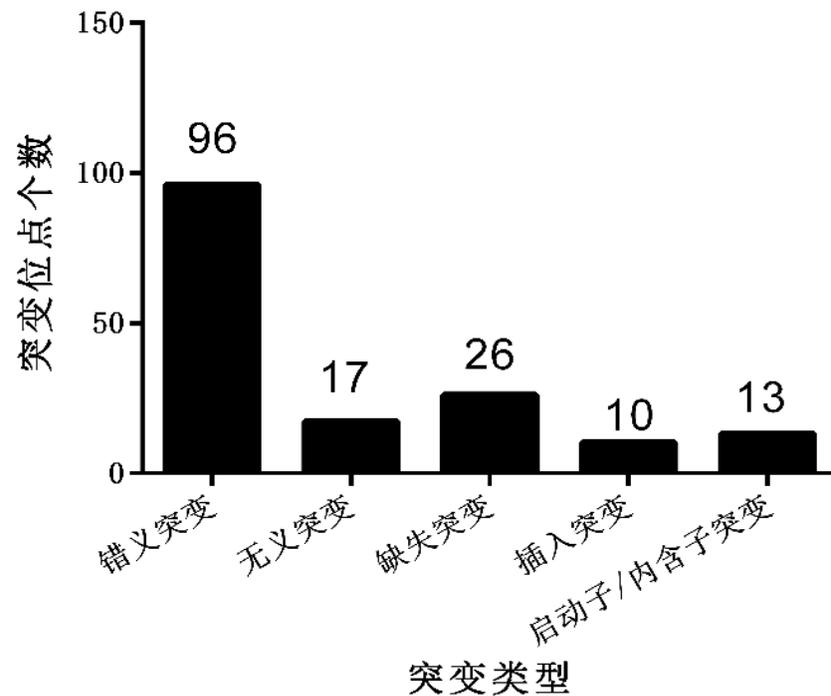


目前发现的UGT1A1突变位点:162个

GS: 增强子区、启动子突变, 其他外显子突变少, SNP突变为主, 可杂合/纯合

CNS-II: 外显子区的SNP突变 (错义突变)为主, 纯合/复合杂合突变多见

CNS-I: 外显子区的无义、删除、插入突变为主, 酶活性丧失



UGT1A1基因无义突变及CNS

常见溶血性黄疸疾病与 Gilbert 综合征、Crigler-Najjar 综合征的鉴别诊断



项目	遗传性球形 红细胞增多症	红细胞 G6PD 缺陷	自身免疫性溶血	Gilbert 综合征/ Crigler - Najjar 综合征
机制	红细胞膜缺陷,多血管外溶血	NADPH 生成障碍,对氧化剂耐受性差	免疫作用;多血管外溶血(慢性溶血时)	UGT1A1 基因突变、酶活性降低
家族史	75% 显性遗传,多有家族史、自幼发病	X 伴性不完全显性遗传,可有家族史	一般无家族史;多成人发病	隐性遗传;可有家族史; Gilbert 综合征青少年发病, Crigler - Najjar 综合征自幼发病
脾肿大	多见	可有	可有	Gilbert 综合征:无; Crigler - Najjar 综合征:部分患者可有
血红蛋白	下降,也可正常	下降,也可正常	下降,也可正常	正常
网织红细胞	增多	增多	常增多	正常
红细胞形态	球形红细胞	咬痕细胞	球形红细胞	正常
红细胞渗透脆性	增加	正常	正常,但发作时多数增高	正常
抗人球蛋白试验	阴性	阴性	多阳性	阴性
G6PD 活性测定	正常	下降	正常	正常
治疗	脾切除	多不需治疗;避免摄入蚕豆等氧化剂,控制感染	糖皮质激素	Gilbert 综合征:不需要治疗; Crigler - Najjar 综合征:光疗、苯巴比妥、肝移植

谢谢大家!

