

缺失的胰腺哪去了？

首都医科大学附属北京佑安医院医院
肝病中心一科 侯维

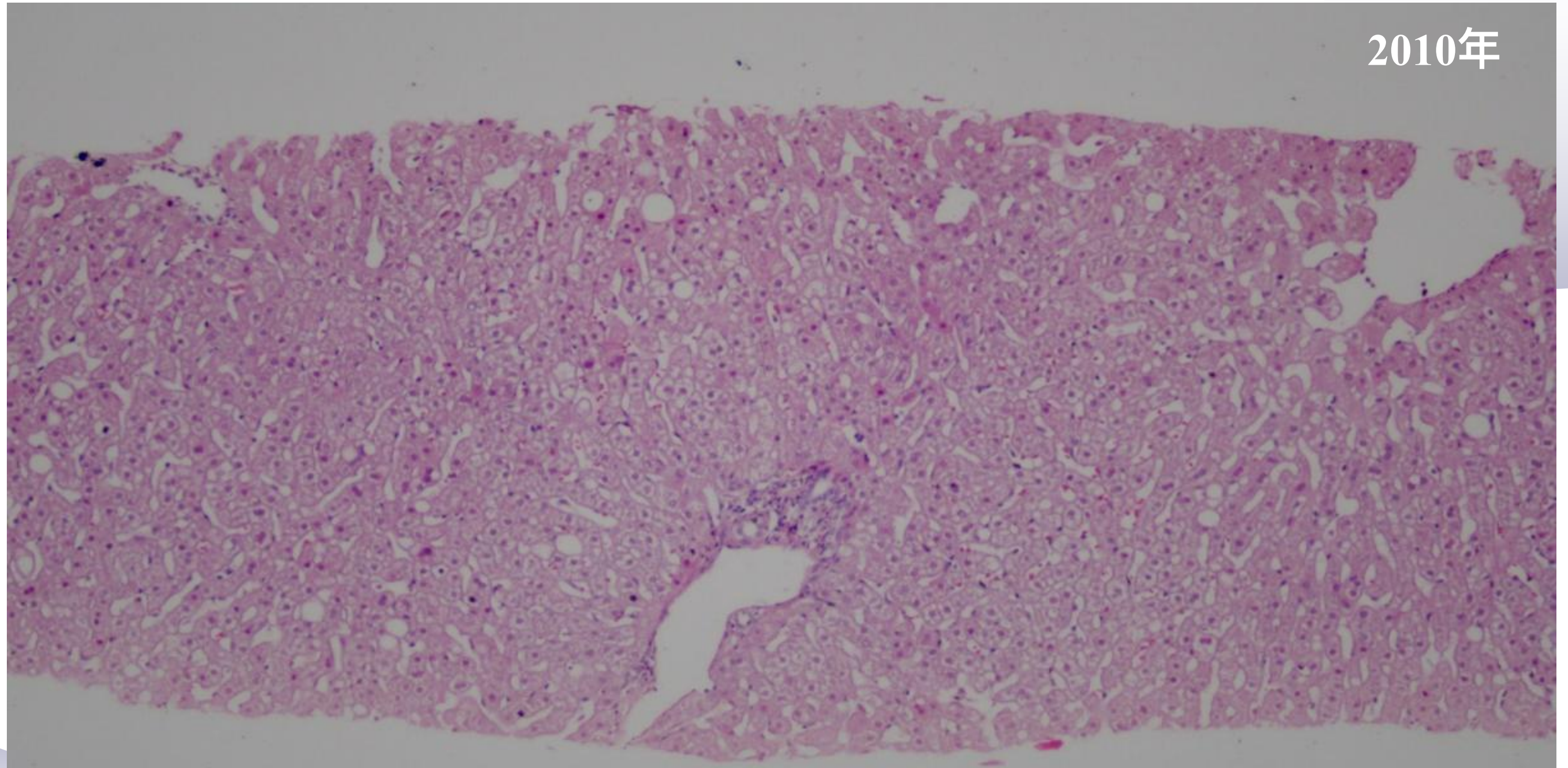
病例概况

- 患者男，29岁，未婚，身高165cm，体重55kg，体重指数20.2kg/m²
- 因“发现肝功异常，血红蛋白升高10年余”于2021年6月8日入本院肝病中心一科
- 患者10年余前体检发现肝功能异常伴血红蛋白升高，未明确诊断
- 既往发现血糖升高2年，口服阿卡波糖治疗
- 否认饮酒病史，否认家族中有类似病史患者

	2010年	2015年	2021年
ALT (U/L)	140.8	206	19
AST (U/L)	71.7	124	41
TBiL (umol/L)	17.7	17.6	22.1
DBIL (umol/L)	9.4	5.5	7.4
ALB (g/L)	48.7	39	47
ALP (U/L)	188	199	187
GGT (U/L)	198	257	226
TBA (umol/L)	9	8	29.1
UA (umol/L)	424	584	502
Glu (mmol/L)	5.6	6	6.98
WBC (10 ⁹ /L)	8.15	9.79	8.41
HGB (g/L)	190	195	198
HCT (%)	54.5	60.1	57.7
PLT (10 ⁹ /L)	166	210	199
JAK2 V617F	阴性		
自身抗体系列	阴性	阴性	阴性
特种蛋白系列	阴性	阴性	阴性
嗜肝病毒系列	阴性	阴性	阴性

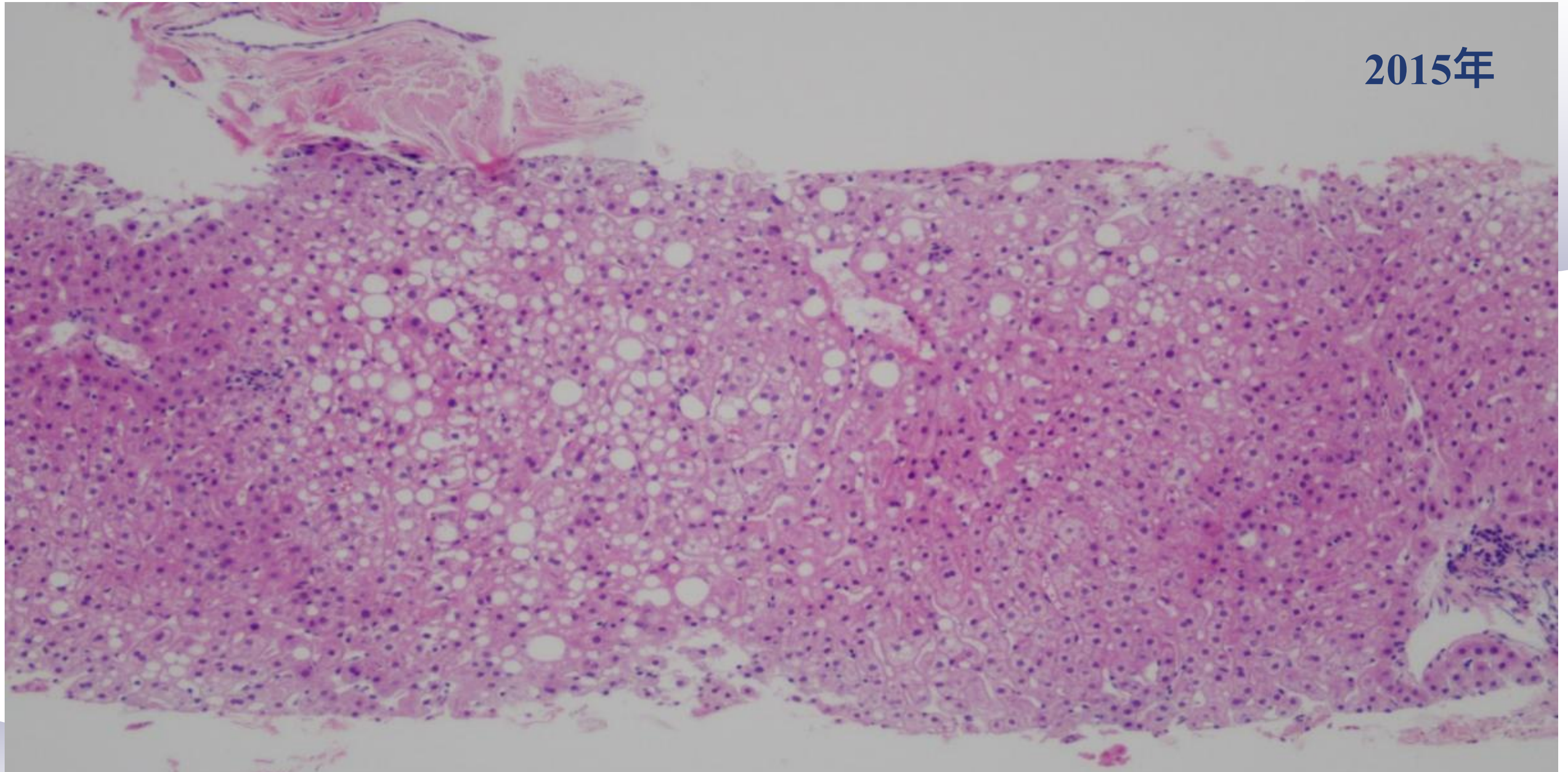
	2010年	2015年	2021年
B超	脂肪肝	中度脂肪肝（不均质性）	脂肪肝（不均质性）
CT	脾稍大，双肾实质多发低密度影，右肾结石		1、肝囊肿2、双肾多发囊肿3、脾大4、胰腺形态欠规则，背胰发育不全
肝穿	轻度慢性药物性或环境类毒物性肝损伤，病变程度相当于G1S0，肝细胞轻度脂肪变性	脂肪性肝炎，不除外慢性药物或环境类毒物等诱导所致，病变程度相当于G1S1，肝细胞中毒脂肪变性	轻度非特异性肝脏病变（轻度肝脂肪变，糖原核，汇管区轻度炎症）
骨穿	骨髓增生明显，但未见明显增殖性表现		骨髓增生明显，但未见明显增殖性表现

2010年



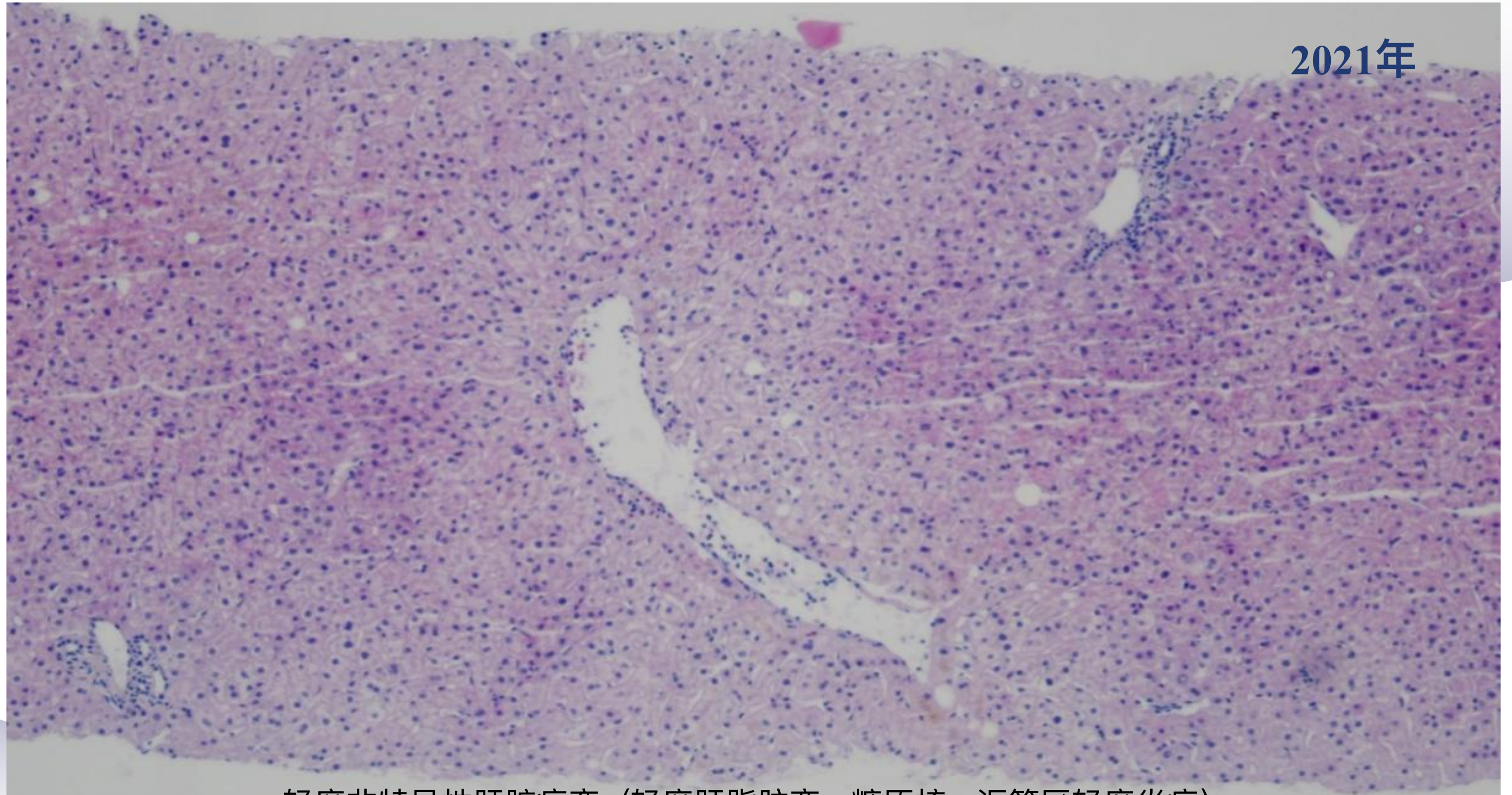
轻度慢性药物性或环境类毒物性肝损伤，病变程度相当于G1S0，肝细胞轻度脂肪变性

2015年



脂肪性肝炎，不排除慢性药物或环境类毒物等诱导所致，病变程度相当于G1S1，肝细胞中毒脂肪变性

2021年



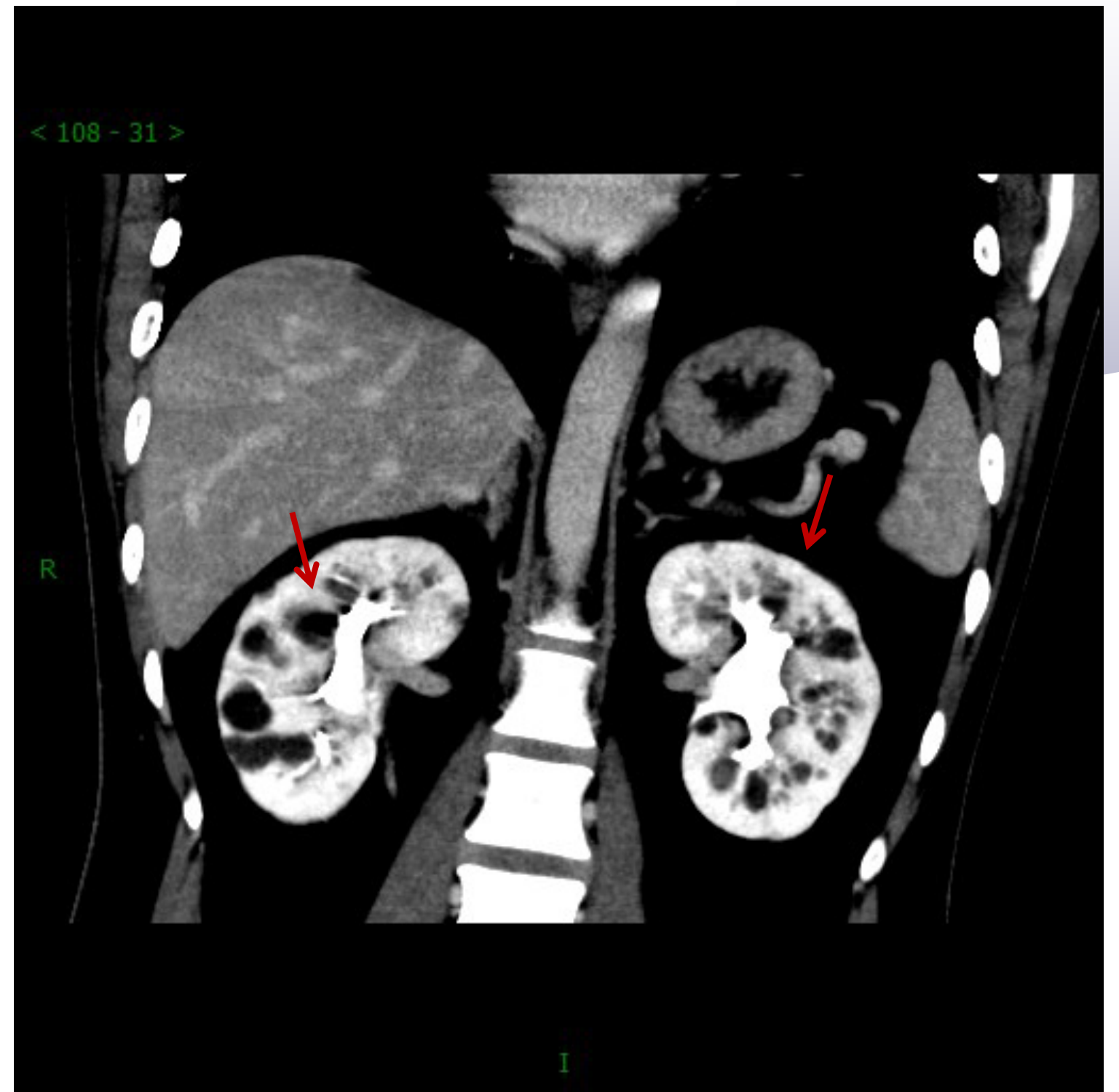
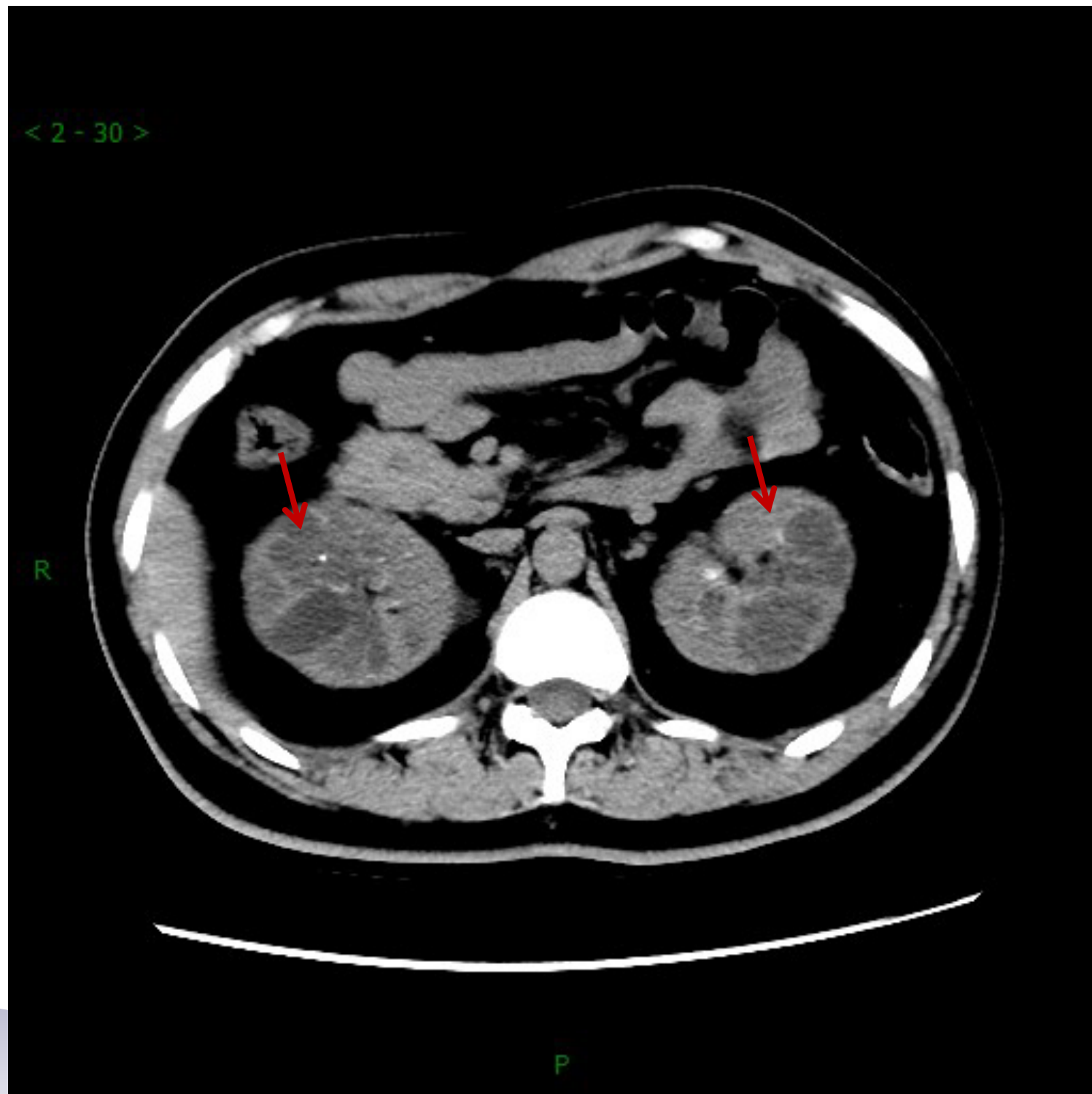
轻度非特异性肝脏病变（轻度肝脂肪变，糖原核，汇管区轻度炎症）

< 3 - 24 >

< 104 - 23 >



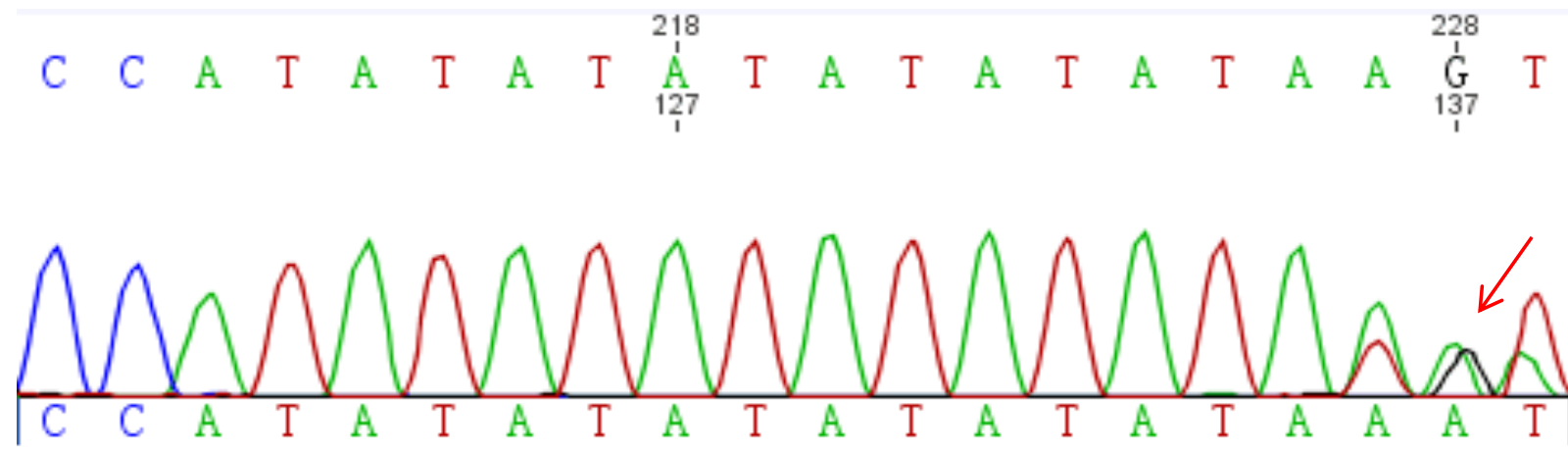
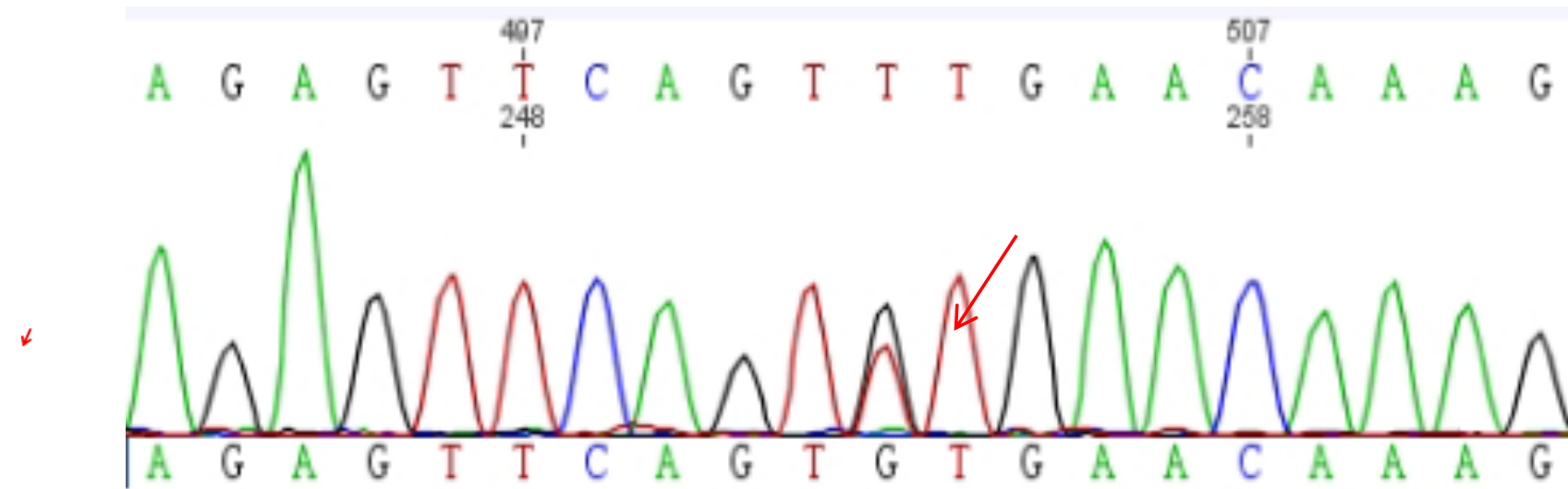
图中箭头所示胰腺发育缺陷，胰体、胰尾缺失



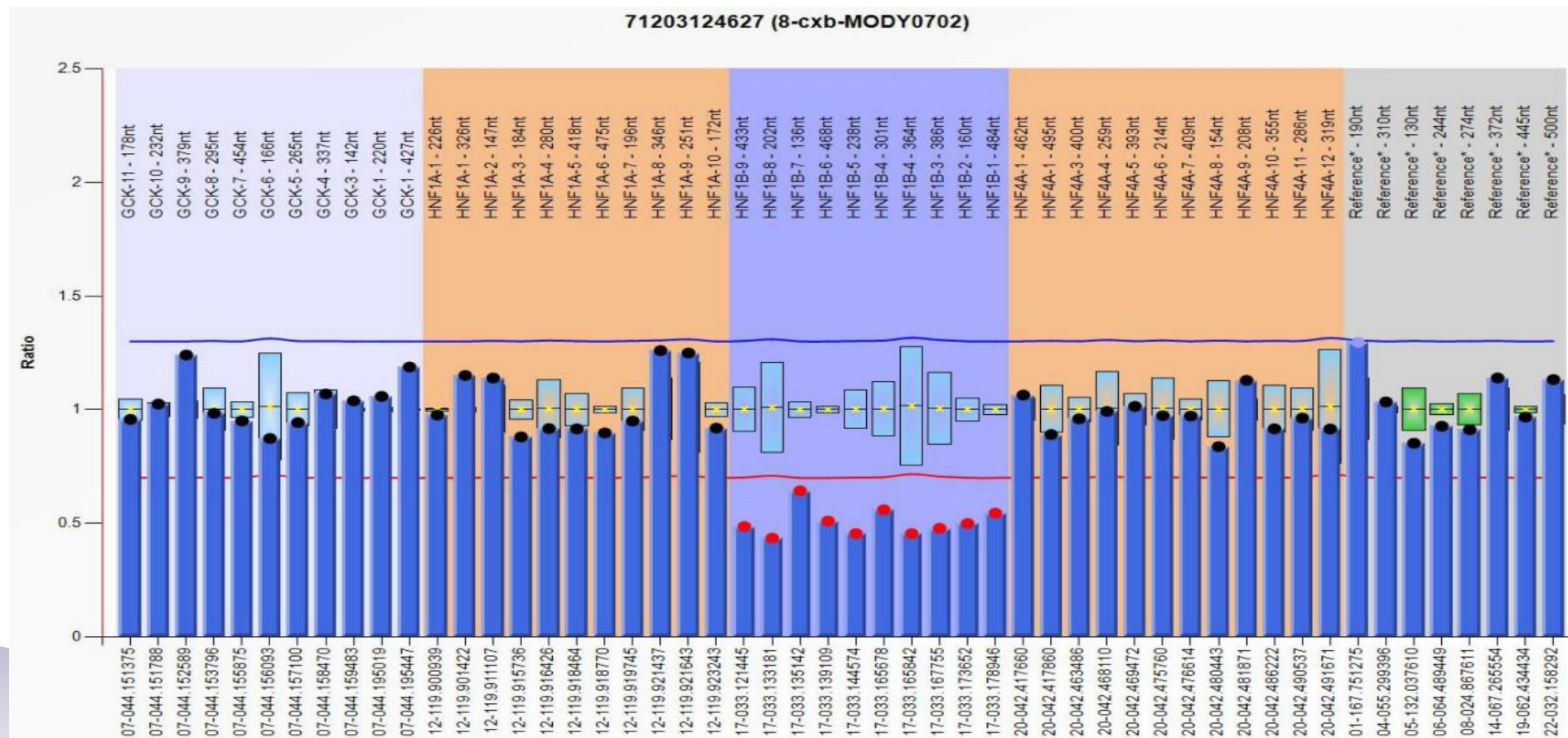
图中箭头所示双肾多发囊肿，呈髓质海绵样改变

基因测序

- 全外显子检测发现*UGT1A1*基因2个位点的杂合变异
- *UGT1A1*基因变异引起的*UGT1A1*病，主要表现为非结合胆红素升高，与次患者的临床表现不符
- 故不能用此基因变异来解释患者的病情



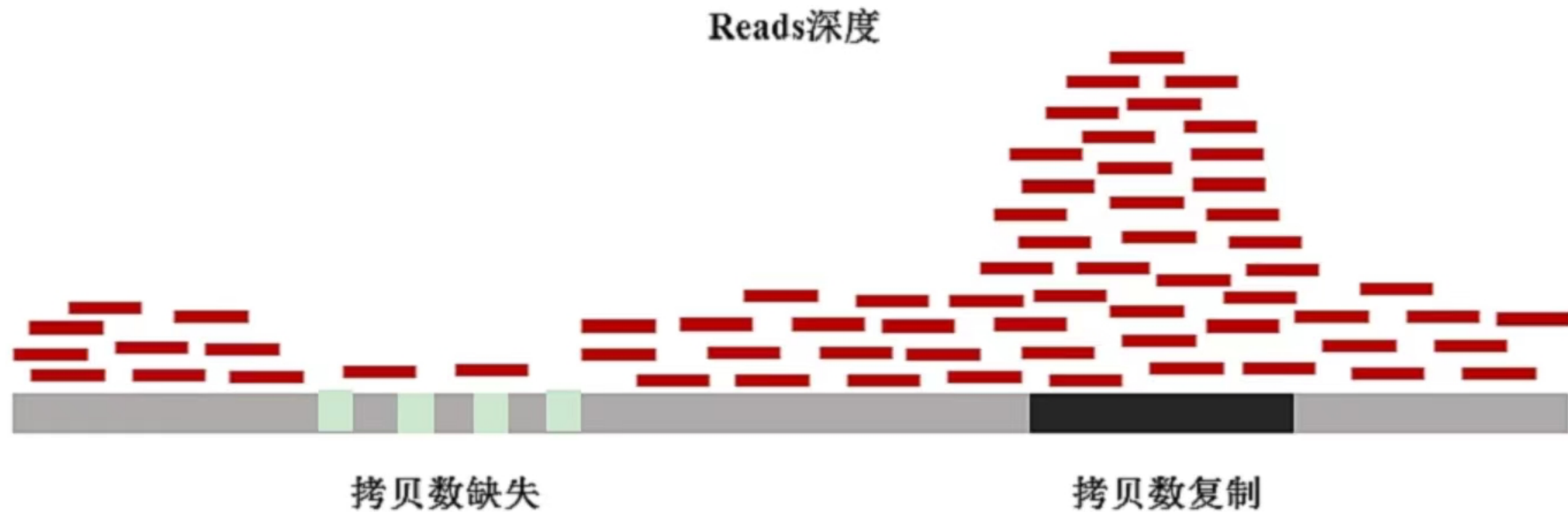
- 此例患者开始的基因检测仅进行了全外显子测序+线粒体基因组测序，并未发现突变位点
- 当发现胰腺缺失及肾囊肿表现后，针对*HNF1B*基因进行了多重连接探针扩增检测，最终才发现了*HNF1B*基因的拷贝数变异（Copy number variations, CNVs）。
- 而WES只能通过reads 深度检测CNVs，但存在很多困难，

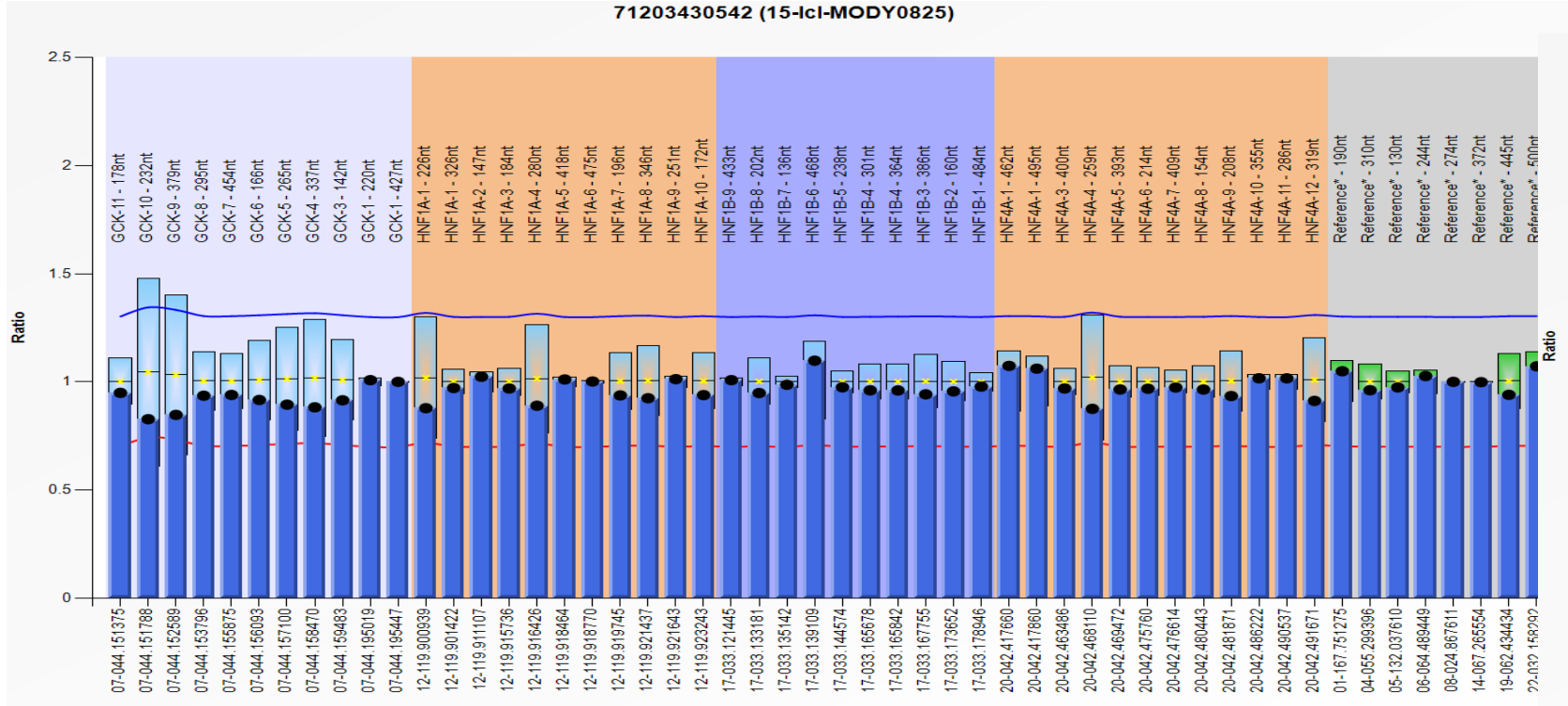


多重连接探针扩增技术 (MLPA)：

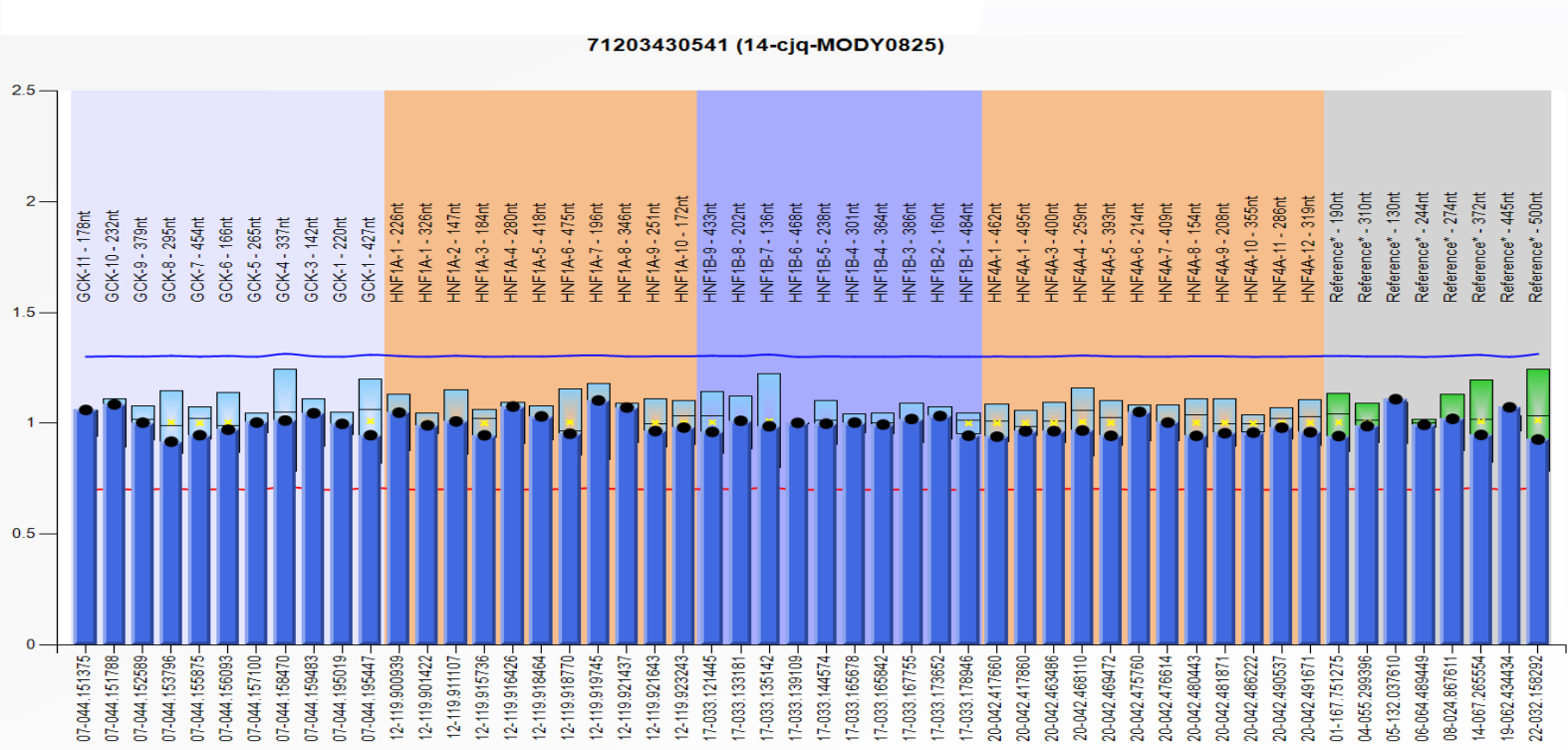
提示*HNF1B* 基因exon 1-9
杂合缺失，属于CNVs的一种

- 基于read深度信息检测拷贝数变异的困难性
- CNV区域的长度可能横跨了多个基因或者外显子，断裂点位于外显子以外的位置；
- 系统误差: GC含量，重复序列，捕获效率，PCR偏倚等导致的测序深度分布不均；
- 解决方法:往往需要4个软件联合使用: XHMM、CONIFER、ExomeDepth、CONTRA。

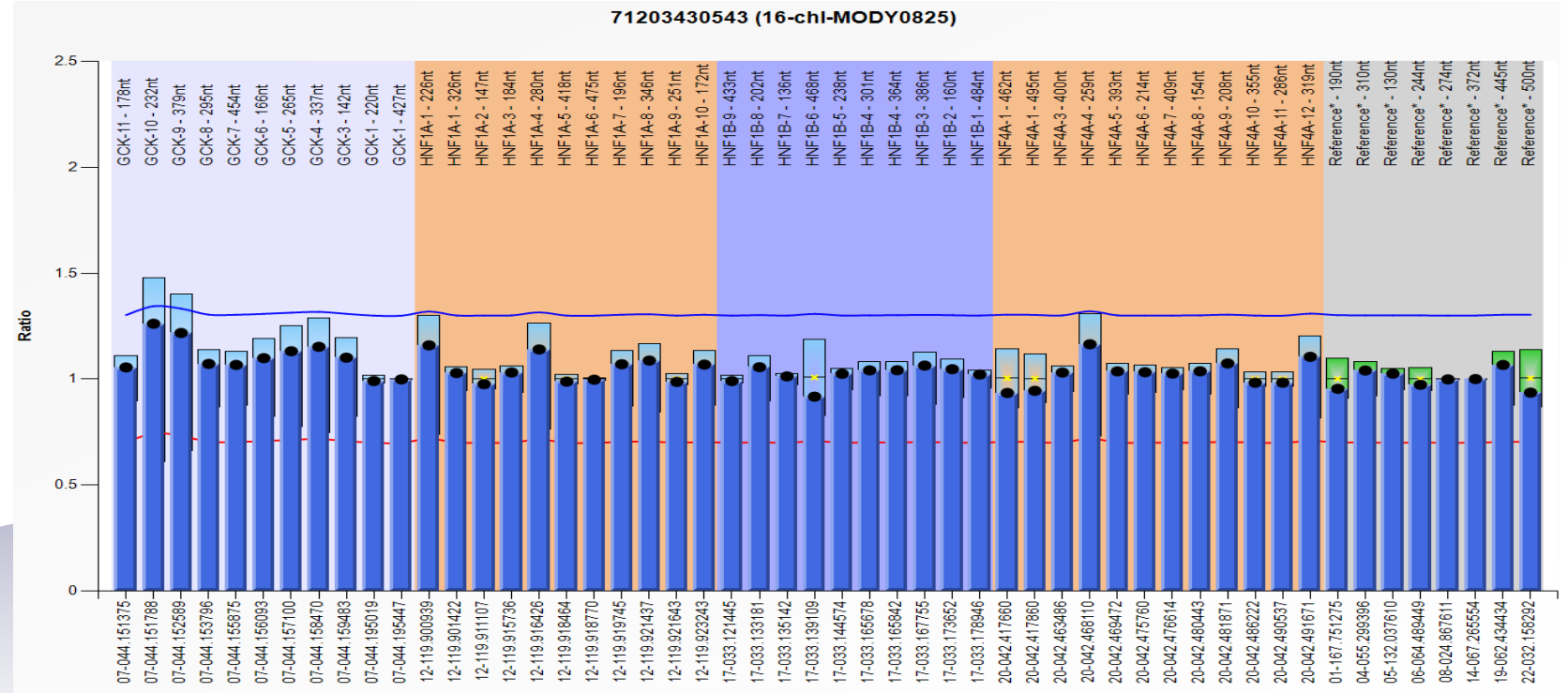




患者母亲



患者姐姐



患者父亲

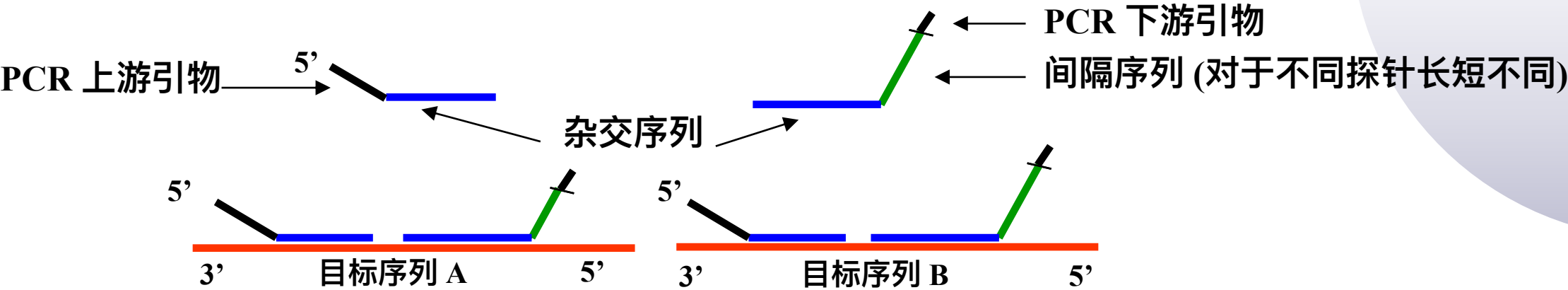
• 此患者的父母和姐姐均未发现与患者同样的症状及基因改变，考虑为此段变异为新的拷贝数突变（De novo CNVs）

MLPA:多重连接探针扩增技术

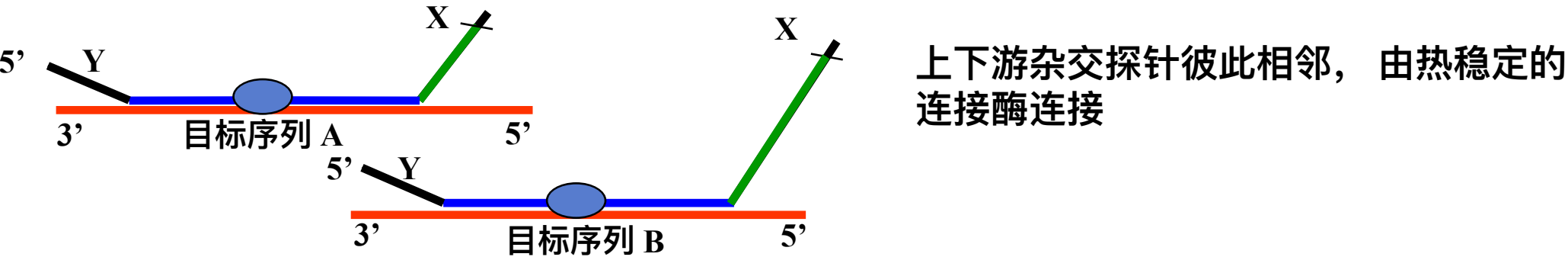
- 主要应用领域：
 - 多重检测人类基因组序列中微小的拷贝数变异
- 该技术于2002年首次发表：Schouten JP et al : Nucleic Acids Res. 30:e57
- 多种领域中得到应用
 - 人类基因组学
 - 分子细胞遗传学
 - 肿瘤诊断学

多重连接探针扩增技术原理

1. 变性 & 2. 杂交

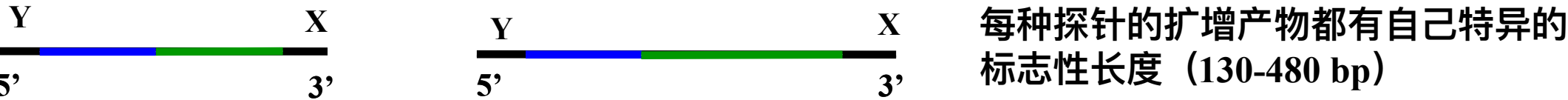


3. 连接



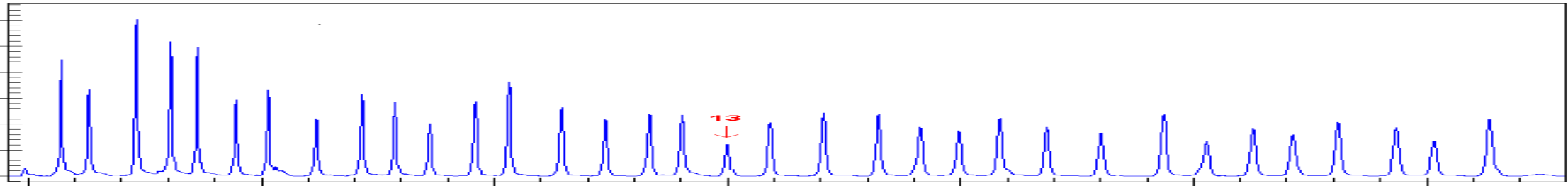
4. PCR

所有连接产物均由同一对引物进行PCR扩增



5. 毛细管电泳分析扩增产物

通过与对照DNA标本比较相同片段长度峰高的不同来确定目标序列的对拷贝数变化



肾囊肿和糖尿病（RCAD）综合征

- 青少年起病的成人糖尿病（MODY）是一种常染色体显性遗传病，异常高血糖是其疾病特征，目前已发现了13种亚型
- *HNF1B*基因是MODY5亚型的致病基因（也称为HNF1B-MODY或MODY5），占MODY总人数的2%~5%
- MODY5最常见的临床表型为肾脏发育异常和早发糖尿病，常在30岁以前发病，也称为肾囊肿和糖尿病（renal cysts and diabetes syndrome, RCAD）综合征
- RCAD患者的肾脏异常主要表现为囊肿，也可能有胰腺，肝脏或尿酸升高等表现，虽然此病逐渐被人们认识，但仍有38%的患者最初被误分为2型糖尿病。

Warncke K, Kummer S, Raile K, et al. Frequency and Characteristics of MODY 1 (HNF4A Mutation) and MODY 5 (HNF1B Mutation): Analysis From the DPV Database[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2019, 104(3): 845-855.

肾囊肿和糖尿病（RCAD）综合征

- 在日本的一项回顾性分析中，在33例患者中绝大多数病例有肾泌尿道形态异常，38.7%伴有糖尿病，19.3%伴有高尿酸血症，41.9%有低镁血症，22.6%有胰腺畸形，32.3%伴有肝脏异常
- 因此建议对肾畸形患者，尤其是与其他器官受累相关的患者，应考虑进行*HNF1B*基因检测
- 在我国既往报道的病例多为*HNF1B*转录活化区杂合错义突变，可能是受到检测技术的局限性，这种杂合性缺失的拷贝数变异罕见报道
- 生物信息学的最新进展使得从DNA二代测序数据中检测CNVs成为可能

Nagano C, Morisada N, Nozu K, et al. Clinical characteristics of HNF1B-related disorders in a Japanese population[J]. Clin Exp Nephrol, 2019, 23(9): 1119-1129.

Berberich A J, Wang J, Cao H, et al. Simplifying Detection of Copy-Number Variations in Maturity-Onset Diabetes of the Young[J]. Can J Diabetes, 2021, 45(1): 71-77.

治疗和转归

- 熊去氧胆酸胶囊 口服
- 多烯磷脂酰胆碱胶囊 口服
- 双环醇片 口服
- 监测血糖，口服降糖治疗，必要时胰岛素治疗

- GGT 324 U/L → 121 U/L
- ALP 187 U/L → 96 U/L

	2010年	2015年	2021年
Glu (mmol/L)	5.6	6	6.98

病例特点

- 本文报道的患者通过*HNF1B*基因检测明确诊断为肾囊肿和糖尿病综合征
- 与既往文献报道不同的是，本例患者并不是以糖尿病为首发症状，而是以转氨酶升高、胆汁淤积及高血红蛋白为首发表现，随后出现血糖及尿酸升高表现，但其特别的胰腺缺失及肾囊肿在既往诊治中被忽视，未能提早诊断
- 到目前为止，*HNF1B*缺陷的肝脏和胆道表型仅在单个患者中得到确认，多为儿童，多为胆汁淤积、胆道闭锁或胆道囊肿
- 另外患者高血红蛋白，多次骨穿检查及*JAK2*基因阴性，除外原发性真红细胞增多症，而*HNF1B*缺陷是否引起高血红蛋白在既往没有相关报道

1. Kotalova R, Dusatkova P, Cinek O, et al. Hepatic phenotypes of *HNF1B* gene mutations: a case of neonatal cholestasis requiring portoenterostomy and literature review[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(8): 2550-7.
2. Pinon M, Carboni M, Colavito D, et al. Not only Alagille syndrome. Syndromic paucity of interlobular bile ducts secondary to *HNF1β* deficiency: a case report and literature review[J]. Italian Journal of Pediatrics, 2019, 45(1).
3. Kettunen J L T, Parviainen H, Miettinen P J, et al. Biliary Anomalies in Patients With *HNF1B* Diabetes[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2017, 102(6): 2075-2082.

思考

- 肝功异常病因复杂，可能只是冰山一角
- 保持好奇的心，不断探究真相
- 新方法、新技术是工具和手段，不应被其禁锢思想

谢谢大家！
