

· 病例报告 ·

经基因型鉴定确诊为 Gilbert 综合征一例报道及文献复习

武桂萍 石银月 郝俊贵 颜学兵 王兴田 柳红

Gilbert 综合征(Gilbert syndrome, GS)是一种常见的胆红素代谢紊乱性常染色体遗传病,其发病机制主要为编码尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶(uridine diphosphate glucuronosyltransferase, UGT)的 UGT1A1 基因启动子和外显子发生突变,致间接胆红素(indirect bilirubin, IB)葡萄糖醛酸化过程障碍而发病。由于多数患者仅表现为慢性轻度升高的间接胆红素血症,临床症状轻微,造成临床诊断时程较长,若合并肝炎病毒感染,则更加难以诊断,我国大多数医院受实验室条件限制,难以排除类似疾病,现对本科近期收治的 1 例 GS 患者的临床资料进行总结,并结合文献探讨 GS 的临床特点、诊断及治疗等。

一、病例资料

1. 主诉:患者,男性,32 岁,农民,江苏邳州人,因“间断乏力、尿黄 8 年”入院。

2. 现病史:患者于 8 年之前,因乏力、尿黄,当地医院检测抗-HBs、抗-HBe 和抗-HBc 均阳性,肝功能检查提示血清胆红素(serum bilirubin, SB)升高且超过正常上限,先后服用过保肝、利胆药物(具体不详),但效果不明显。八年来,患者上述乏力与尿黄症状间断出现,多次复查肝功能 SB 均处于水平高,最高可达 35 $\mu\text{mol/L}$,其中以间接胆红素(indirect bilirubin, IB)升高为主,仅发现 1 次 ALT 升高至 46 U/L,先后在本院和上海多家医院行超声检查,均提示慢性肝脏损害,查 HBV DNA(-),肝损伤原因未明,今为明确病因行肝脏组织活检而住院。该患者患病以来,无纳差、腹泻、腹胀,无肝区疼痛,无关节肌肉疼痛,无心悸、气短,无发热,无消瘦、口干,食欲、睡眠良好,体重无明显变化。

3. 既往史:患者既往患有胃炎、胆汁返流,否认高血压、糖尿病史,无外伤手术及输血史,无药物、食物过敏史。无外地久居史,无血吸虫病等疫水接触史,不吸烟,偶有少量饮酒,无常在外就餐史,病前无明确损肝药物应用史。其父有间断尿黄、乏力,查肝功能 SB 升高,以 IB 升高为主。其妻为 HBV 携带者[HBsAg(+), HBeAg(+), HBeAb(+)],否认家族性传染病及遗传病史,否认既往肝炎病史。

二、入院诊疗经过

该患者入院查体示体温 37.1℃,脉搏 86 次/min,呼吸 20 次/min,血压 120/80 mm Hg。精神可,发育正常,营养中等,面色不华,肝掌(-),蜘蛛痣(-),浅表淋巴结未及肿大,皮肤、巩膜无黄染,心肺无异常;腹部无压痛、反跳痛,未及包

块,肝脾肋下未触及,肝脏剑突下未触及, Murphy's 征(-),腹水征(-),双肾区无叩击痛,双下肢无水肿,生理反射存在,病理反射未引出。

辅助检查:血常规:WBC $5.44 \times 10^9/\text{L}$, N $3.11 \times 10^9/\text{L}$, Hb 152 g/L, RBC $4.74 \times 10^9/\text{L}$, PLT $206 \times 10^9/\text{L}$;尿、便常规结果均阴性。肝功能:TP 80.9 g/L, ALB 47.7 g/L, ALT 7.0 U/L, AST 15.0 U/L, GGT 18.0 U/L, AKP 86.0 U/L, SB 46.4 $\mu\text{mol/L}$, DB 8.4 $\mu\text{mol/L}$ 。铜蓝蛋白(CER) 0.132 g/L。凝血功能检查:凝血酶原活动度(PTA) 113.0%;凝血酶原时间(PT) 12.6 s。甲胎蛋白(AFP) 3.71 ng/ml;癌胚抗原(CEA) 3.93 ng/ml,糖类抗原(CA19-9) 3.95 U/ml,铁蛋白(Ferritin) 299.80 ng/ml。自身免疫系列及自身免疫肝病谱均阴性, HBsAb、HBeAb 阳性,抗-HCV、抗-HEV-IgM、HIV、TP 均阴性, HBV DNA $< 1.0 \times 10^3$ 拷贝/ml。

肝脏超声检测结果:肝脏光点稍密集,胆囊大小正常,脾脏不大,肝内胆管不扩张(图 1)。肝脏病理学检查:肝小叶结构尚完整,少数肝细胞胞质疏松化,偶见片状坏死,散在少数大泡性脂肪变性的肝细胞,部分肝细胞内可见少量脂褐素,门管区少量淋巴细胞浸润,无明显纤维增生。网染及 Masson 染色未显示门管区及小叶内网状纤维及胶原纤维增多。免疫组化示普鲁士蓝染色(-), CK19、CK7 检测结果显示患者肝脏少数门管区小胆管轻度增生, CD34 检测结果显示患者肝脏少数门管区小血管轻度增生; HBsAg(-), HBeAg(-), HCV(-), 提示患者轻度小叶内炎症,需除外 Gilbert 综合征(图 2A~F)。Gilbert 特异性基因检测:外周血特异性 UGT1A1 基因检测,对 UGT1A1 基因可能发生突变的基因位点进行检测,结果发现启动子区 -3279 位出现 T(胸腺嘧啶)/G(鸟嘌呤)杂合双峰(箭头所示);第 1 号外显子第 211 位的 G(鸟嘌呤)突变为腺嘌呤(A)(箭头所示)(图 3)。

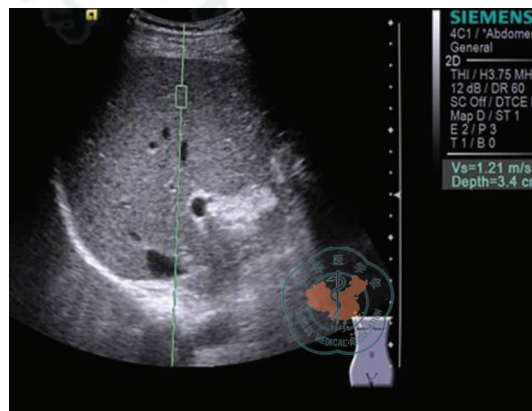


图 1 彩色超声所示患者慢性肝病表现

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2012.05.023

基金项目:江苏省“科教兴卫工程”医学重点人才及 2011 年江苏省“六大人才高峰”基金资助(No. 2012202002)

作者单位:221002 徐州市,徐州医学院附属医院感染病科(武桂萍、石银月、郝俊贵、颜学兵),超声科(王兴田),病理科(柳红)

通讯作者:颜学兵, Email: yxbxuzhou@126.com

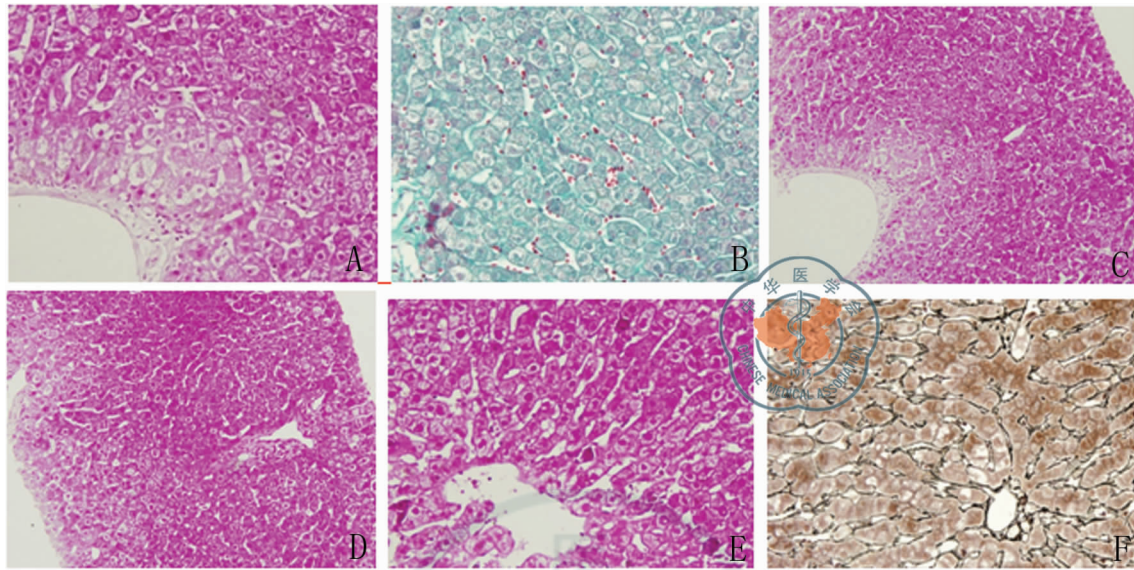


图2 患者肝脏病理表现

注:A:HE 染色($\times 400$);B:Masson 染色($\times 400$);C:HBsAg(-),免疫组织化学法($\times 200$);D:HBcAg(-),免疫组织化学法($\times 200$);E:HCV(-),免疫组织化学法($\times 400$);F:网状纤维染色($\times 400$)

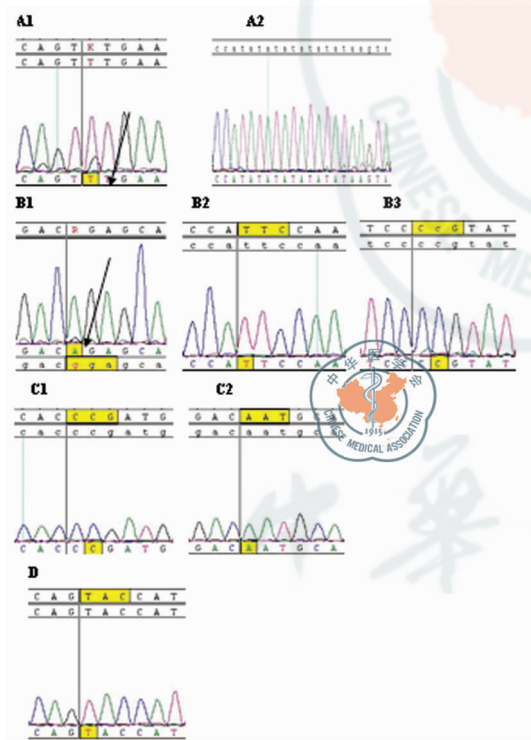


图3 患者 UGT1A1 基因测序

注:A:promoter 区,A1:-3263(-3279),T-G(异常,出现 T/G 杂合双峰),A2:A(TA)6TAA,-24~39(正常);B:exon 1:B1:GGA211AGA,Gly71Arg(出现异常 G/A),B2:TTC247CTC,Phe83Leu(正常);B3:CCG686CAG,Pro229Gln;CCG686CTG,Pro229Leu(正常);C:exon 4,C1:CCG-CTG,Pro364Leu(正常),C2:AAT1213GAT,Asn400Asp(正常);D:exon 5,TAC-GAC,Tyr486Asp(正常)

讨论 GS 由 Gilbert 和 Lereboullet 于 1901 年首次报道,是一种以肝脏无器质性病变和 IB 轻度升高为主要表现的常染色体遗传病。以往认为该病十分罕见,但近年来,随着诊疗技术的不断发展,人群中的发病率为 3%~12%,尤以 18~30 岁者多见,男女之比为 10:1^[1]。临床上若患者反复乏力、尿黄,SB 轻、中度升高,以 IB 升高为主,转氨酶正常或轻度异常,需考虑 GS 的可能。既往诊断主要依据:①慢性间歇性黄疸,阳性家族史,常因劳累、饥饿、受凉、饮酒和感染等加重;②多数无症状或仅有乏力及轻度消化道症状;③实验室检查除溶血性、肝细胞性、阻塞性黄疸,多次检验均显示 IB 升高,肝功其他指标正常;④特异性低热卡试验(饥饿试验)阳性;⑤苯巴比妥治疗有效;⑥利福平试验阳性;⑦肝组织活检病理学排除肝脏其他器质性病变,电镜下发现脂褐素颗粒;无其他实验室异常,排除其他疾病,即可诊断为 GS。随着分子遗传学的发展,基因诊断逐渐应用于临床,GS 的确诊可进一步检测 UGT1A1 基因的多态性^[2-3],发现突变更有助于诊断。

UGT 家族分为 UGT1 和 UGT2 两类,UGT1 基因位于第 2 号常染色体上,UGT1 参与胆红素代谢,主要通过 UGT1A1 实现。Bosma 等^[4]通过对 GS 患者 UGT 的基因结构进行研究,认为其启动子区基因突变致使 UGT1 酶活性降低是导致 GS 的主要原因,但尚不能完全解释 GS 发病机制。研究发现 GS 患者 UGT 酶活性明显下降,仅为健康人的 30%。Shabana 等^[5]于 95 例 GS 患者启动子区发现 76 例为(TA)7TAA 纯合性突变,15 例为(TA)7TAA/(TA)6TAA 杂合性突变,4 例为(TA)6TAA 突变。研究认为亚洲人群中,UGT1A1 基因的遗传多态性特别是检测到启动子区和外显子突变,能更好的解释 GS 患者的间接胆红素血症。研究发现在 UGT1A1 基因上有 11 种突变,启动子区 3 种突变[CAT 插入、G→C、(TA)6TAA→(TA)7TAA],外显子 1 上有 3 种突变(G71R、I159T、R209W),外显子 2 上有 2 种突变(A321G、I322V),外显子 3

上有 1 种突变(D359N),外显子 4 上有 2 种突变(P364L、H376R),外显子 5 上未发现突变。UGT1A1 基因启动子区除了 TA 插入外,此研究最具有创新性的是在 CAAT 盒中发现 CAT 的插入,CAT 插入突变多见于 Crigler-Najjar 综合征而在 GS 患者仅为 10%。研究发现 CAT 插入突变的 GS 患者 IB 水平比单纯 TA 插入者高,其他不同突变基因型间 IB 水平无显著性差异。Niels 等^[6]认为运用分子生物学检测 UGT1A1 基因型更为简便、准确;UGT1A1 基因多态性检测首先设计合成引物,提取外周血基因组 DNA,以基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增,将 PCR 扩增产物采用琼脂糖凝胶电泳法进行鉴定,并进行 DNA 测序,判断分析基因突变位点,从而做出 GS 诊断。既往利福平试验被认为是诊断 GS 的简单、无创、准确率较高的方法,国外常作为首选诊断方法,然而,利福平可诱导溶血的发生,具有肝脏毒性,可导致患者病情加重而住院因而而不推荐使用。肝组织活检曾被认为是诊断 GS 的金标准,然而因其有创性,存在一定风险且花费较高,多数患者不愿接受,此外,肝组织病理学检查常无显著异常发现,使得诊断不能明确。相比较而言,基因多态性检测具有无创、快速、花费低、不损害肝脏功能等优点,且从基因水平上进行检测、判断,使得结果更准确、可靠。

本例患者 8 年间反复乏力、尿黄,反复查肝功能胆红素升高,以 IB 升高为主,其他指标正常,多次彩色超声均提示慢性肝病表现,无其他实验室异常,排除了自身免疫性肝病、病毒性肝炎、药物性肝病、溶血性因素、肝细胞性阻塞性黄疸和慢性胆囊炎;肝组织病理学炎症轻微,部分肝细胞可见脂褐素颗粒沉积,UGT1A1 基因测序发现启动子区-3279 位 T/G 杂合双峰,第 1 号外显子第 211 位 G→A,并查阅相关文献,结合患者一般状况良好,又因其父亲有类似表现,故诊断为 GS 成立。

GS 的临床特点多数有阳性家族史,无肝病史或药物史,慢性间歇性黄疸是其唯一临床表现,常因劳累、饥饿、受凉、饮酒、感染等加重;多数无症状或仅有乏力及轻度消化道症状;检查血象及骨髓象基本正常,各型肝炎病毒标志物检测无异常,多次查肝功能均示 IB 升高为主,其他指标正常;体格检查除皮肤、巩膜轻度黄染外,无其他阳性体征;饥饿试验阳性;苯巴比妥治疗有效;利福平试验阳性;影像学检查无显著异常发现;肝组织病理学检查光镜下无明显异常,电镜下发现脂褐素颗粒。

需要鉴别的疾病包括其他先天性非溶血性疾病:如遗传性球形红细胞增多症,慢性溶血性贫血,病毒性肝炎,由柯萨奇病毒、巨细胞病毒等引起的获得性间接胆红素增高血症、慢性胆囊炎等^[7],当该病与 HBV 等感染并存时容易发生漏诊。还需与其他遗传性高胆红素血症鉴别^[8]:如 Crigler-

Najjar 综合征、Dubin-Johnson 综合征和 Rotor 综合征。Crigler-Najjar 综合征分两型:Ⅰ型多在新生儿早期出现核黄疸而死亡;Ⅱ型临床特点与 GS 类似,采用苯巴比妥治疗有效,多可生存至成年,鉴别较困难。Dubin-Johnson 综合征和 Rotor 综合征以直接胆红素升高为主,Dubin-Johnson 综合征为常染色体隐性遗传,镜下可见较粗糙的棕黑色色素颗粒沉积。Rotor 综合征为常染色体显性遗传,镜下几乎难觅色素颗粒沉积,可见 Kupffer 细胞轻度增生活跃。

本病为良性疾病,临床表现除黄疸外,多无其他明显症状。目前 GS 尚无特效治疗,虽然黄疸可持续终生,但多数病例不需要治疗,寿命也不会受到影响。饥饿、饮酒、劳累和感染等诱因可加重黄疸,因此,教育患者养成正确的生活和饮食习惯十分必要。

参 考 文 献

- 1 毛莉萍. Gilbert 综合征(附 2 例报告). 齐鲁医学杂志,2008,23(1):76-77.
- 2 Sugatani J, Yamakawa K, Yoshinari K, et al. Identification of a defect in the UGT1A1 gene promoter and its association with hyperbilirubinemia. Biochem Biophys Res Commun,2002,292(2):492-497.
- 3 Gutler V, Parkin JD, Mayill BC. Use of double gradient denaturing gradient gel electrophoresis to detect (AT)n polymorphisms in the UDP-glucuronosyltransferase 1 gene promoter associated with Gilbert syndrome. Electrophoresis,1999,20(14):2841-2843.
- 4 Bosma PJ, Chowdhury JR, Bakker C, et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. N Engl J Med,1995,333(18):1171-1175.
- 5 Shabana F, Sanghamitra S, An S, et al. Gilbert's syndrome: High frequency of the (TA)7TAA allele in India and its interaction with a novel CAT insertion in promoter of bilirubin in UDP-glucuronosyltransferase 1 gene. World J Gastroenterol,2006,12(4):2269-2275.
- 6 Niels T, Inken L, Jonas R, et al. The inverse starving test is not a suitable provocation test for Gilbert's syndrome. BMC Research Notes,2008,1:35.
- 7 许超宇,麦丽,谢俊强,等. Gilbert 综合征 2 例临床分析并文献复习. 新医学,2008,39(12):789-791.
- 8 孙平艳,赵景民,辛绍杰,等. 几种主要的先天性胆红素代谢障碍性肝病的临床及病理研究. 传染病信息,2008,21(5):287-290.

(收稿日期:2011-12-15)

(本文编辑:孙荣华)

武桂萍,石银月,郝俊贵,等. 经基因型鉴定确诊为 Gilbert 综合征一例报道及文献复习[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2012,6(5):464-466.