

• 论 著 •

以外周性早熟为主要临床表现的先天性肾上腺皮质增生症 一家系的临床分析与基因诊断*

刘 舒¹, 欧阳海梅², 韦思思¹, 张 也¹, 梁金群¹, 陈 暖¹, 曾伟宏¹, 江剑辉¹
广东省妇幼保健院: 1. 儿童遗传代谢与内分泌科; 2. 医务科, 广东广州 511442

摘 要:目的 分析 1 例罕见的 21-羟化酶基因缺陷所致的先天性肾上腺皮质增生症患儿合并外周性早熟的临床表现及诊断流程, 为该病的诊断、鉴别诊断和精准治疗提供参考。方法 以 2020 年 1 例因“阴茎显著增长伴生长速率加速 5 年, 面部痤疮半年”在儿童遗传代谢与内分泌科就诊的男性患儿为研究对象, 患儿 5 岁 8 个月, 对其临床表型、病因学进行分析。结果 患儿血清雄激素、促黄体生成素和 17-羟孕酮异常升高。新一代基因测序发现 CYP21A2 基因复合杂合突变: c. 518T>A (p. I173N) 和 c. 740delA (p. E247Gfs * 11), 分别遗传自患儿父亲和母亲, 其中 c. 740delA (p. E247Gfs * 11) 为新突变。患儿确诊为 21-羟化酶基因缺陷所致的先天性肾上腺皮质增生症。患儿经积极治疗, 效果良好。结论 该患儿以阴毛早现、阴茎增大、生长加速、骨龄发育提前等为表现, 病情和临床表现复杂多样, 诊断困难, 最终通过基因检测得以确诊。临床上遇到具有上述临床表现却不能以常规性早熟解释的患儿, 需要考虑 21-羟化酶缺陷症可能。

关键词: 外周性早熟; 21-羟化酶缺陷症; 先天性肾上腺皮质增生症; 基因突变

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2021. 21. 008 **中图法分类号:** R596

文章编号: 1673-4130(2021)21-2592-04 **文献标志码:** A

Clinical analysis and genetic diagnosis in a family of congenital adrenal hyperplasia with peripheral precocious puberty as mainly clinical manifestation*

LIU Shu¹, OUYANG Haimei², WEI Sisi¹, ZHANG Ye¹, LIANG Jinjun¹,
CHEN Nuan¹, ZENG Weihong¹, JIANG Jianhui¹

1. Department of Children Inherited Metabolism and Endocrine; 2. Department of Medical Affairs,
Guangdong Provincial Women and Children Hospital, Guangzhou, Guangdong 511442, China

Abstract: Objective To analyze the clinical manifestations and diagnostic process for a rare case of congenital adrenal hyperplasia (CAH) caused by 21-hydroxylase gene defect complicating peripheral precocious puberty to provide the reference for the diagnosis, differential diagnosis and accurate treatment of this disease.

Methods A male case of clinical manifestations of precocious puberty visited the hospital due to "significant penis growth and early appearance of facial acne for half a year" by accelerated growth rate diagnosed and treated in the children inherited metabolism and endocrine department in 2020 served as the study subject. The patient was five years and eight months old. The clinical phenotype and etiology were analyzed. **Results** The serum androgen, luteinizing hormone and 17- α -hydroxy progesterone were abnormally increased in this child patient. The new generation gene sequencing found the compound heterozygous mutations of CYP21A2, c. 518T>A (p. I173N) and c. 740delA (p. E247Gfs * 11), which were inherited from his father and mother respectively, in which c. 740delA (p. E247Gfs * 11) was a new mutation. So, the child patient was definitely diagnosed as congenital adrenal hyperplasia caused by 21-hydroxylase deficiency. After the active treatment, the effects were good. **Conclusion** This child patient was manifested by early pubarche, penis enlargement, growth spurt, and early development of bone age, the condition and clinical manifestations were complex and diversity, so the diagnosis was difficult. The definite diagnosis was finally obtained by the gene detection. If physicians meet a patient with above clinical manifestations which cannot be explained by conventional precocity puberty, so the possibility of 21-hydroxylase deficiency needs to be considered.

Key words: peripheral precocious puberty; 21-hydroxylase deficiency; congenital adrenal hyperplasia;

* 基金项目: 广东省自然科学基金面上项目(2021A1515010969); 广东省中医药局科研项目(20211046)。

作者简介: 刘舒, 男, 副主任医师, 主要从事儿童遗传代谢病与内分泌病的诊治与分子机制方面的相关研究。

本文引用格式: 刘舒, 欧阳海梅, 韦思思, 等. 以外周性早熟为主要临床表现的先天性肾上腺皮质增生症一家系的临床分析与基因诊断

genetic mutation

先天性肾上腺皮质增生症(CAH)是由于肾上腺皮质激素合成通路中所必需的一些酶遗传性缺陷,引起肾上腺皮质醇合成不足,进而继发下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)和垂体促肾上腺皮质激素(ACTH)代偿性分泌增加,导致肾上腺皮质增生和一系列代谢紊乱的一组疾病^[1]。该疾病为一组常染色体隐性遗传病,其发病率在 1/20 000~1/10 000,在不同的地区、不同种族之间具有差异性^[2-3]。在皮质醇(Cor)合成过程中任何一种酶的缺陷都可引起本病,故而 CAH 根据肾上腺皮质激素合成途径中酶缺陷的种类不同,分为 21-羟化酶缺陷症(21-OHD)、11 β -羟化酶缺陷症(11 β -OHD)、17 α -羟化酶缺陷症(17 α -OHD)以及其他种类如 3 β -羟类固醇脱氢酶(3 β -HSD)和醛固酮合成酶缺陷症等。其中 21-OHD 最常见,占 CAH 的 90%~95%;11 β -OHD 次之,占 5%~8%;17 α -OHD 较罕见,仅占 1%^[4];其他种类的酶缺陷症更为罕见。

21-OHD 是因酶的先天性缺陷引起肾上腺皮质激素代谢异常。根据 21-羟化酶缺乏的程度,临床上可表现为失盐型、单纯男性化型和非经典型 3 种类型,其中前两种类型并称为经典型^[5-7]。因酶的先天性缺乏引起肾上腺皮质激素代谢异常,雄激素产生过多,引起女性男性化以及男性假性性早熟。在随后的糖皮质激素替代治疗过程中,相应的症状可得到明显改善,但部分患儿也有可能发生中枢性性早熟(CPP)^[8-9]。另外,部分患儿在初诊时即发生了 CPP,将严重影响患儿的最终身高,加重儿童期心理负担^[10]。因此,对 21-OHD,及早发现和治疗显得尤为重要。本文分析广东省妇幼保健院儿童遗传代谢与内分泌科 2020 年 11 月确诊的 1 例少见的 CAH(21-羟化酶缺陷型)合并 CPP 患儿的诊疗情况,现总结如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者男孩,5 岁 8 个月,以“阴茎显著增长伴生长速率加速 5 年,面部痤疮半年”为代主诉于 2020 年 8 月 26 日就诊于本院儿童遗传代谢与内分泌科门诊。家长诉患儿出生时阴茎大小未见异常,但阴囊色泽偏暗,半岁后即发现患儿阴茎比同龄儿大而粗,未予留意;近半年阴茎增大明显,且每日勃起数次,伴生长发育速率加快,及面部痤疮增多,遂来本院检查。体格检查:患儿身高 120.5 cm(同年龄同性别儿童的第 90.4 百分位),体质量 24.8 kg(同年龄同性别儿童的第 93.8 百分位),皮肤黝黑,面部多处痤疮,外生殖器未见畸形,阴茎长约 6.5 cm,双侧睾丸约 10 mL,阴囊皮肤色素沉着,阴毛 PH2 期。

患儿血尿常规、心肌酶谱、肝肾功能、甲胎蛋白、肿瘤标志物[糖类抗原(CA)-125、CA19-9、甲胎蛋白

(AFP)、癌胚抗原(CEA)、 β -人绒毛膜性腺激素(β -HCG)]、血串联质谱氨基酸酰基肉碱等未见异常。电解质:钠为 136.7 mmol/L(参考范围为 137~147 mmol/L),钾为 4.23 mmol/L(参考范围为 3.5~5.3 mmol/L),氯为 106.4 mmol/L(参考范围为 99~110 mmol/L)。父亲及其他家族成员无类似病史。

1.2 方法

1.2.1 辅助检查 完善相关激素水平测定,包括性激素、促性腺激素、皮质醇、17-羟孕酮(17-OHP)、ACTH、醛固酮、Gnrh 激发试验等;完善骨龄、肾上腺、性腺彩色超声检查。

1.2.2 基因检测 患儿父母签署知情同意书,并经医院伦理委员会批准。

1.2.2.1 基因组 DNA 提取 采集先证者及其父母外周血各 3 mL、EDTA 抗凝,用德国 Qiagen 公司试剂盒提取基因组 DNA,于 -20 °C 保存。

1.2.2.2 二代测序、数据分析及突变验证 采用北京迈基诺公司的全外显子测序和长片段 PCR 基因检测包,根据相应的位点信息进行引物设计,对目标待测区域进行捕获和测序。实验流程主要包括血液标本基因组 DNA 提取、DNA 文库制备、富集文库二代测序仪双端测序(Illumina Hiseq X Ten)。

1.2.2.3 数据分析 数据和参考基因组比对获得所有突变位点,保留健康人数据库中 $\leq 5\%$ 的位点作为候选致病位点。依据严格的筛选标准对突变进行过滤,根据美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)指南结合患儿临床表征对候选位点进行致病性分析,并添加 HGMD 数据库、蛋白功能预测软件的相关注释信息。

2 结果

2.1 辅助检查结果 17-OHP:271.66 ng/mL(参考范围为 1~13 岁儿童 <2.32 ng/mL);皮质醇:4.12 μ g/L(参考范围为 5~25 μ g/L);ACTH:103.7 ng/L(参考范围为 1.03~10.75 ng/L);醛固酮:1 076.52 pg/mL(参考范围为 50~313 pg/mL);睾酮:8.07 nmol/L(参考范围为 4.94~32.01 nmol/L);双清睾酮(DHT):208.71 pg/mL(参考范围为 0~200 pg/mL);雌二醇(E2):78 pmol/L(参考范围为 40.37~161.48 pmol/L);雄烯二酮(And): >35 nmol/L(参考范围为 1.05~11.52 nmol/L);泌乳素:950.91 mIU/L(参考范围为 73.3~411.3 mIU/L);硫酸脱氢表雄酮(DHEA-S):217.4 μ g/dL;类胰岛素样生长因子 1(IGF-1):227 ng/mL;甲状腺功能正常。彩超检查:肾上腺未见异常;睾丸超声提示左侧睾丸大小 22 mm $\times$ 10 mm $\times$ 16 mm(2.49 mL),右侧睾丸大小 22 mm $\times$ 10 mm $\times$ 16 mm(2.34 mL),未见占位性病变。垂体和肾上腺磁共振平扫未见明显异常。骨龄提示

12.8 岁(RUS-CHN),比实际年龄提前 7 年。Gnrh 激发试验促黄体生成素(LH)峰值为 1.70 IU/L,促卵泡激素(FSH)峰值为 3.98 IU/L,提示外周性早熟。

2.2 基因检测结果 外显子测序发现患儿 CYP21A2 基因复合杂合突变:c. 518T > A (p. I173N)和 c. 740delA (p. E247Gfs * 11),分别遗传自患儿父亲和母亲。其中,框移突变 c. 740delA (p. E247Gfs * 11)数据库未见报道,生物信息学分析提示为致病突变。CYP21A2 基因由 10 个外显子组成,外显子包含 1 488 个核苷酸,编码 495 个氨基酸。本病例中的新突变 c. 740delA (p. E247Gfs * 11)导致氨基酸三联密码子框发生改变,使得氨基酸发生移码突变,最终亦使多肽链提前终止,导致其蛋白功能受损,表现出无功能或功能异常的截短的 CYP21A2 蛋白,为致病性突变。患儿最终确诊为 21-羟化酶基因缺陷所致的 CAH,患儿父母为 CYP21A2 基因突变携带者。由于该病遗传方式为常染色体隐性遗传,故先证者发病,而患儿父母不表现出临床症状。

2.3 治疗过程 患儿病情进展缓慢,但骨龄显著提前,对预测成年身高影响较大;同时,外周性早熟对患儿心理、生理和行为发育造成一定影响,患儿已出现自卑、攻击性行为等表现。予以口服氢化可的松 15 mg/(m² · d),分 3 次口服(8:00,16:00,24:00),雄激素受体拮抗剂螺内酯(每次 20 mg,2 次/天),联合芳香化酶抑制剂来曲唑(每次 1.25 mg,1 次/天,睡前口服)进行替代治疗,每 3 个月复诊 1 次,根据临床表现、血 17-OHP、皮质醇、睾酮、睾丸超声、骨龄等指标变化,个体化调整药物治疗剂量。治疗 6 个月后复诊,体格检查发现阴茎未再继续增大,异常勃起次数和攻击性行为减少,痤疮明显消散;骨龄检测结果提示骨龄仅增加 0.5 岁;超声提示睾丸容积未见增加;同时,睾酮水平下降至幼儿水平(0.31 nmol/L),17-OHP、皮质醇、ACTH、电解质等指标均未见异常,生长发育正常。

3 讨论

21-羟化酶基因缺陷所致的 21-OHD 是 CAH 中最多见的一种类型,是一种较为罕见的儿童内分泌遗传代谢性疾病。21-OHD 是由于 21-羟化酶的编码基因(CYP21A2)突变所致,它编码 21-羟化酶(P450c21)。P450c21 催化 17-OHP 为 11-脱氧皮质醇和催孕酮为 11-脱氧皮质酮,两者分别为皮质醇和醛固酮的前体。P450c21 活性缺乏或低下导致皮质醇和醛固酮合成受损。皮质醇低下,经负反馈,使 ACTH 分泌增加,刺激肾上腺皮质细胞增生,以期增加皮质醇合成;因雄激素合成通路未受阻,在高 ACTH 刺激下,堆积的 17-OHP 和孕酮向雄激素转化增多,产生高雄激素血症。升高的雄激素在体内以雄烯二酮、睾酮和脱氢表雄酮(DHEA)形式存在。另外,盐皮质激素合成通路受阻,使孕酮不能向醛固酮

转化致醛固酮水平低下,致水盐电解质代谢失调,进一步发生致命的失盐危象。

21-OHD 临床表现极为复杂,从失盐型的低血钠、高血钾、低血容量性休克、喂养困难、腹泻、慢性脱水和体格生长迟滞,到男性化型因雄激素异常升高所致的女性外阴男性化、男性性早熟等,与醛固酮减少症^[11-12]、Addison 病^[13]表现类似,给诊断造成了较大的困难^[6]。结合本例患儿起病早,幼儿期出现睾丸容积增加、阴茎快速增大、频繁勃起、攻击性行为等雄激素水平升高的表现,同时伴生长发育速率加快,面部痤疮增多。ACTH、17-OHP、睾酮水平明显升高,皮质醇水平降低,与醛固酮减少症、Addison 病等极易混淆,仅根据临床表现和生化检查来查明病因进行诊断存在困难,容易误诊,不利于治疗和预后的判断。杜红伟等^[14]总结了该院近 10 年就诊的 120 例 CAH 患儿疾病谱,结果显示 20 例出现性早熟,性早熟发生率 16.7%。因此,临床工作中对存在难以解释的过早出现性早熟的患儿,应谨慎诊断,必要时完善基因检测,避免误诊。

近年来,随着分子诊断技术的进步和对 CAH 研究的深入,基因检测为该疾病的诊断提供了新的可靠手段^[15-16]。CYP21A2 基因由 10 个外显子组成,外显子包含 1 488 个核苷酸,编码 495 个氨基酸。到目前为止,数据库(The Human Gene Mutation Database, <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>)报道有 359 种突变在国内外被发现,类型包括错义/无义突变(209 种)、剪切突变(24 种)、调控去突变(5 种)、小缺失突变(28 种)、小插入突变(16 种)、小插入缺失突变(4 种)、大缺失突变(14 种)、大插入突变(3 种)和复杂重排(56 种),其中报道最多的是错义或无义突变。CYP21A2 基因突变大多位于基因编码区,或影响蛋白折叠,或造成结构改变,最终导致其转录抑制功能受损,P450c21 蛋白被截断。本病例中的新突变 c. 740delA (p. E247Gfs * 11)导致氨基酸三联密码子框发生改变,使得氨基酸发生移码突变,最终亦使多肽链提前终止,导致其蛋白功能受损,表现出无功能或功能异常的截短的 CYP21A2 蛋白,为致病性突变。患儿最终确诊为 21-羟化酶基因缺陷所致的 CAH。

本患儿入院用氢化可的松、螺内酯,联合芳香化酶抑制剂来曲唑治疗 6 个月后骨龄进展缓慢,阴茎未再继续增大,睾丸容积未见增加,阴茎异常勃起次数和攻击性行为减少,痤疮明显消散,睾酮水平下降,17-OHP、皮质醇、ACTH、电解质等指标均未见异常,生长发育正常,继续进行随访。

本研究中,患儿父母为 CYP21A2 基因突变携带者。由于该病遗传方式为常染色体隐性遗传,故先证者发病,而患儿父母不表现出临床症状。根据常染色体隐性遗传病的遗传规律,患儿父母再生育 21-OHD 后代的概率为 25%,故若患儿父母有再生育要求,建

议其孕早期一定要进行产前基因诊断,避免类似患儿的再次出生。

综上所述,本研究通过基因分析发现 CYP21A2 基因 c. 518T>A(p. I173N)和 c. 740delA(p. E247Gfs * 11)复合杂合突变,分别遗传自患儿父亲和母亲,其中,框移突变 c. 740delA (p. E247Gfs * 11)数据库未见报道,为新突变,生物信息学分析提示可能致病。基因检测明确了患儿发病的遗传学病因,为后续精准治疗打下了坚实的基础。本研究结果提示,临床工作中对存在难以解释的过早出现性早熟的患儿,应谨慎诊断,必要时完善基因检测,避免误诊。

参考文献

[1] CLAAHSEN-VAN DER GRINTEN H L, STIKKEL-BROECK N, FALHAMMAR H, et al. Management of endocrine disease: gonadal dysfunction in congenital adrenal hyperplasia (CAH)[J]. *Eur J Endocrinol*, 2021, 184 (3): R85-R97.

[2] GIDLÖF S, WEDELL A, GUTHENBERG C, et al. Nationwide neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in sweden: a 26-year longitudinal prospective population-based study[J]. *JAMA Pediatr*, 2014, 168(6): 567-574.

[3] PRENTICE P. Guideline review: congenital adrenal hyperplasia clinical practice guideline 2018 [J/OL]. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*, [2020-12-25]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33272921/>.

[4] TÖRÖK D. Congenital Adrenal Hyperplasia[J]. *Exp Suppl*, 2019, 111: 245-260.

[5] MERKE D P, AUCHUS R J. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(13): 1248-1261.

[6] PIGNATELLI D, CARVALHO B L, PALMEIRO A, et al. The complexities in genotyping of congenital adrenal hyperplasia: 21-hydroxylase deficiency[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10: 432-435.

[7] 杜敏联. 先天性肾上腺皮质增生症 21-羟化酶缺陷诊治共

(上接第 2591 页)

[14] ANIRBAN C, SHAMITA C. Deep invasive fungal infection of the hand in a child mimicking a local gigantism[J]. *J Hand Microsurg*, 2018, 10(1): 41-45.

[15] 廖雄宇, 邱坤银, 吴若豪, 等. 儿童血液病合并侵袭性真菌病 164 例临床分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(5): 332-337.

[16] 黄松花, 陈敏洁, 陈丽秀. GM 试验联合肺部 CT 检查对肺部真菌感染的诊断价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41 (18): 2264-2267.

[17] MOTSWALEDI H M, PILLAY R T. An unusual deep fun-

gal infection with *Nigrospora sphaerica* in HIV positive patient[J]. *Int J Dermatol*, 2019, 7(6): 84-87.

[8] YOON J Y, CHEON C K. Genotype and clinical outcomes in children with congenital adrenal hyperplasia [J]. *Pediatr Int*, 2020, 23: 100-104.

[9] NEEMAN B, BELLO R, LAZAR L, et al. Central precocious puberty as a presenting sign of nonclassical congenital adrenal hyperplasia: clinical characteristics[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(7): 2695-2700.

[10] MAHESHWARI A, KHADILKAR V, GANGODKAR P, et al. Long-term growth in congenital adrenal hyperplasia[J]. *Indian J Pediatr*, 2019, 86(2): 154-158.

[11] HATAYA Y, OBA A, YAMASHITA T, et al. Hyponatremia in an elderly patient due to isolated hypoaldosteronism occurring after licorice withdrawal[J]. *Intern Med*, 2017, 56 (2): 175-179.

[12] 邹亮燕, 曾丽春, 蒋思远, 等. 多脏器型假性醛固酮减少症 I 型 1 例并文献复习[J]. *中国循证儿科杂志*, 2017, 12 (5): 378-382.

[13] CHOUDHURY S, MEERAN K. Glucocorticoid replacement in Addison disease[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(9): 562-568.

[14] 杜红伟, 邱文娟, 顾学范, 等. 先天性肾上腺皮质增生症合并中枢性性早熟临床分析[J]. *临床儿科杂志*, 2006, 24 (3): 207-209.

[15] HONG G, PARK H D, CHOI R, et al. CYP21A2 mutation analysis in Korean patients with congenital adrenal hyperplasia using complementary methods: sequencing after long-range PCR and restriction fragment length polymorphism analysis with multiple ligation-dependent probe amplification assay[J]. *Ann Lab Med*, 2015, 35(5): 535-539.

[16] FOROUZANFAR K, SEIFI M, HASHEMI-GORJI F, et al. Mutation analysis of the CYP21A2 gene in congenital adrenal hyperplasia[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2015, 61(4): 51-55.

(收稿日期: 2021-01-19 修回日期: 2021-08-17)

gal infection with *Nigrospora sphaerica* in HIV positive patient[J]. *Int J Dermatol*, 2019, 7(6): 84-87.

[18] 潘冰婷, 瞿跃, 朱敏丽, 等. 新生儿侵袭性真菌感染 90 例的临床分析[J]. *中华传染病杂志*, 2020, 38(11): 735-739.

[19] 张渝, 朱小石, 李运璧, 等. 儿童重症监护室侵袭性真菌感染的特点及血浆 1,3-B-D 葡聚糖检测的临床价值[J]. *实用医院临床杂志*, 2018, 9(12): 115-118.

[20] LAM J M. Opportunistic fungal infection in children and management[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2018, 30(4): 514-519.

(收稿日期: 2021-01-19 修回日期: 2021-08-20)