

Case Report of Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome Children Caused by Mutations in NPHS1

Dan Li, Yi Lin, Cui Bai, Dahai Wang, Qiuye Zhang*

Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong
Email: qyzh9816@163.com

Received: Aug. 11th, 2019; accepted: Aug. 25th, 2019; published: Sep. 5th, 2019

Abstract

This study reported a case of steroid-resistant nephrotic syndrome child, by summarizing the child symptoms, signs, auxiliary examination results and treatment response, through pathological examination and kidney related pathogenic gene detection. The pathological result is focal segmental glomerulosclerosis, and the gene test indicated the presence of complex heterozygous mutation of NPHS1 (c.803G>A, c.1339G>A, c.1802G>C), c.1339G>A and c.1802G>C which are disease genes, and c.803G>A has not been reported at home and abroad.

Keywords

Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome, Gene Mutation, NPHS1, Children

NPHS1基因突变致儿童激素耐药型肾病综合征1例报道

李丹, 林毅, 柏翠, 王大海, 张秋业*

青岛大学附属医院儿科, 山东 青岛
Email: qyzh9816@163.com

收稿日期: 2019年8月11日; 录用日期: 2019年8月25日; 发布日期: 2019年9月5日

摘要

本研究报道了1例激素耐药型肾病综合征(steroid-resistant nephrotic syndrome, SRNS)患儿, 总结了患

*通讯作者。

儿的症状、体征、主要辅助检查结果及治疗反应，并对其进行病理检查及肾脏相关致病基因检测。病理结果为局灶节段性肾小球硬化症，基因检测提示患儿NPHS1基因存在复合杂合突变(c.803G>A、c.1339G>A、c.1802G>C)，其中c.1339>A、c.1802G>C为致病突变，c.803G>A国内外未见报道。

关键词

激素耐药型肾病综合征，基因突变，NPHS1，儿童

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

遗传性肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)由足细胞或基底膜相关分子基因突变所引起，多表现对激素耐药，属于SRNS范畴，且对免疫抑制剂治疗反应亦欠佳。Nephrin是足细胞裂孔隔膜(slit diaphragm, SD)结构的重要组成分子，于1998年首次发现。Nephrin由NPHS1基因编码，是SD的重要结构蛋白，同时，也参与足细胞内的分子信号传递[1]。NPHS1突变可引起芬兰型先天性肾病综合征1型。青岛大学附属医院在2017年收治1例SRNS患儿，进行了相关致病基因检测，在NPHS1基因发现了3个复合杂合突变。本研究旨在说明对足量激素治疗4~8周后尿蛋白仍未转阴的肾病综合征患儿，需进一步行基因检测明确。

2. 临床资料

患儿，女，6岁，因发现颜面部水肿2天，加重伴尿量减少半天于2017年入住青岛大学附属医院。入院查体：呼吸24次/分，心率105次/分，血压93/58 mmHg。面部及双眼睑水肿，双肺呼吸音清，未闻及干湿性啰音，心音有力，律齐，各瓣膜区未闻及杂音，腹软，无压痛及反跳痛，肝脾肋下未及，双下肢无浮肿。实验室检查：尿液分析：蛋白3+，白细胞2+，白细胞计数284.7/ul，潜血1+，红细胞-，肝功：白蛋白15.7 g/L，补体测定：补体C4 0.12 g/L，补体C3 0.76 g/L，血脂分析：总胆固醇6.85 mmol/L，低密度脂蛋白胆固醇3.24 mmol/L，肝炎全套、抗核抗体、ENA抗体谱、抗链球菌溶血素O测定未见明显异常，血常规+CRP示白细胞计数 $11.73 \times 10^9/L$ ，中性粒细胞计数 $8.76 \times 10^9/L$ ，血红蛋白131 g/L，血小板计数 $383 \times 10^9/L$ ，CRP < 0.50 mg/l，免疫球蛋白(血)、结核感染T细胞(T-SPOT)检测、尿培养未见明显异常，血凝常规：抗凝血酶III 40%，活化部分凝血活酶时间(APTT) 39.80sec，APTT比值1.59 R，调节性淋巴细胞亚群：自然杀伤细胞4.56%，活化B细胞+NK细胞15.28%，泌尿系统超声未见异常，心肌酶未见异常，肾功：尿酸490.9 umol/L，尿素14.64 mmol/L，电解质：碳酸氢盐20.0 mmol/L，钠132.9 mmol/L。初步诊断：肾病综合征(肾炎型)、泌尿道感染、肝功能异常。

入院后予抗感染、扩容、利尿及抗凝治疗，予泼尼松2 mg/(kg.d)治疗3周后尿蛋白未转阴。行肾脏穿刺，结果示FSGS，行肾脏相关致病基因检测，结果示：NPHS1基因有3个杂合突变，分别为：c.803G>A、c.1339G>A、c.1802G>C，经家系验证分析，其父c.803G>A位点杂合变异，其母c.1339G>A、c.1802G>C位点杂合变异，见图1。确诊诊断：肾病综合征伴局灶节段性肾小球硬化性肾小球肾炎。治疗上继续予泼尼2 mg/(kg.d)治疗5周，出院后定期复查尿常规尿蛋白仍未转阴，发病2个月后加用他克莫司治疗，效果不佳。发病16个月后出现肾功能不全。目前持续随访中。

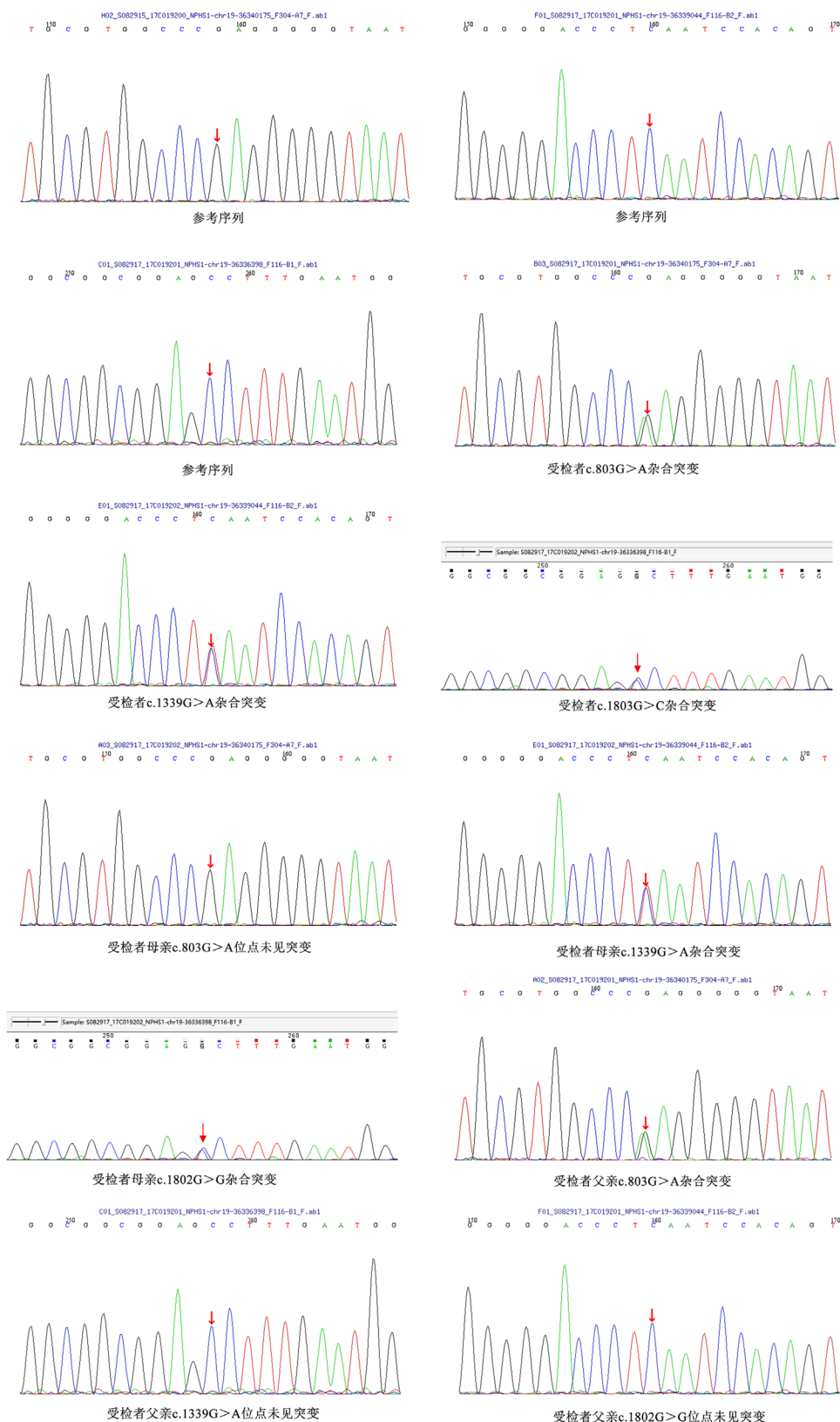


Figure 1. The map of genetic mutations in child with SRNS and his parents
图 1. SRNS 患儿及其父母的基因突变图

3. 讨论

NS 是儿童最常见的肾小球疾病。临床症状包括大量蛋白尿、低白蛋白血症、水肿和高脂血症。儿童 NS 根据对激素治疗的初始反应分为激素敏感性肾病综合征(steroid-sensitive nephrotic syndrome, SSNS)和 SRNS。根据 2009 年中华医学会儿科分会肾脏病学组制定的《儿童常见肾脏病关于激素耐药型肾病综合征诊治指南》，儿童 SRNS 诊断标准为：泼尼松 1.5~2.0 mg/(kg.d) (最大不超过 60 mg)治疗 4~8 周，或相应剂量的其他类型的肾上腺皮质激素治疗 4~8 周，尿蛋白不能转阴[2] [3]。SRNS 的确诊依据病史、典型临床表现和实验室检查等。本例患儿出现眼睑浮肿、蛋白尿、低蛋白血症、血脂升高，符合 NS 诊断，泼尼松 2 mg/(kg.d)治疗 8 周尿蛋白未转阴，符合 SRNS 的诊断。

近十几年肾脏病遗传学研究表明，一部分 SRNS 是肾小球滤过屏障遗传性结构缺陷所致[4] [5] [6]。肾小球滤过屏障由三层结构组成，自内而外分别为毛细血管内皮细胞、肾小球基底膜以及足细胞层[7]，足细胞足突之间形成 SD 是阻止蛋白渗漏进入尿液的最后一道屏障[8]。目前大约有 50 个基因突变导致了 SRNS，它们可分别作用于 SD、足细胞细胞骨架、肾小球基底膜及线粒体蛋白等，相关的编码蛋白构成相互作用的网络，其中 NPHS1 基因突变是引起 SRNS 的一个常见原因。NPHS1 基因定位于人染色体 19q13.1，基因全长 26 kb，含有 29 个外显子，转录产物 mRNA 含有 5024 bp 核苷酸，其中第 157~3726 位核苷酸为编码区，编码蛋白为 nephrin 分子，nephrin 含有 1214 个氨基酸，属于黏附分子免疫球蛋白超家族成员，特异性表达于足细胞。Nephrin 的细胞外段相互呈拉链状交错连接，是足细胞裂孔隔膜分子筛的结构基础，nephrin 与 CD2AP 等分子结合，参与足细胞内外信号传递，保持足细胞形态和功能的完整性。本例患儿 NPHS1 基因检测异常，考虑为遗传性肾病综合征。

NPHS1 突变可分为缺失突变、插入突变、无义突变、错义突变、剪切体/位点突变和启动子突变等多种类型，本例患儿 NPHS1 基因有 3 个突变，分别位于两个等位基因，属复合杂合突变。3 个突变分别为：c.803G>A、c.1339G>A、c.1802G>C。经家系验证分析，c.803G>A 突变来源于父亲，c.1339G>A、c.1802G>C 突变均来源于母亲。

从临床表型上看，患儿母亲无肾脏疾病；患儿父亲 2016 年诊断为肾病综合征，根据孟德尔遗传定律得出突变基因为隐性基因，患儿临床确诊为 SRNS，同时遗传了父母各自突变的隐性基因，为复杂杂合突变，表现出肾病综合征的一系列症状及体征。c.1339G>A 导致第 447 号氨基酸由谷氨酸变异为赖氨酸，c.1802G>C 导致第 601 号氨基酸由甘氨酸变异为丙氨酸，两者均为错义突变，均有致病性，其中 c.1339G>A 已报道与芬兰型先天性肾病综合征(CNF)有关[9]，c.1802G>C 已报道与激素抵抗性肾病综合征有关[10]，c.803G>A 突变后引起 NPHS1 基因异常未见报道。通过应用蛋白质功能预测软件 Phast Cons、SIFT、PolyPhen2 及 Mutation Taster 对单个碱基变异进行分析，c.803G>A 突变位于 NPHS1 chr19-36340175 第 7 外显子上，致氨基酸改变 p.R268Q，该变异不具有多态性。c.1339G>A、c.1802G>C、c.803G>A 突变位点的转录本编号为 NM_001009944。c.803G>A 突变来自患儿父亲，结合患儿临床表现，考虑该位点可能是 FSGS 相关的致病基因的新变异。从文献分析看，在高加索人群及非洲裔美国人群中所发现的 FSGS 致病性突变，均未在我国 FSGS 患者中得到很好重复，提示可能在我国 FSGS 患者存在不同的遗传变异，该基因位点突变有可能是中国汉族人群 FSGS 患者的致病基因变异。

本研究仅诊断单一病例进行讨论分析，不能代表 SRNS 患者的整体水平，且缺乏基础研究支持。结合国内外文献，目前尚无该新发突变位点的体外研究。下一步本课题组将进行大样本量的研究，并通过细胞、动物实验进行功能验证，明确该突变位点的生物学意义。

遗传性 NS 患儿对激素及免疫抑制剂均耐药，给予糖皮质激素或免疫抑制剂不但无效，还使患儿需承受药物的不良反应与副作用，故治疗的主要方向是减轻蛋白尿和保护肾功能，延缓疾病进展。单基因

SRNS 预示着一个非常不利的长期预后, 约 50% 的患者将在诊断后的 10 年内的发展成 ESKD, 需要透析和肾移植[11], 伴有 NPHS1 纯合或复合杂合突变的 SRNS 患者在肾移植中有较低的复发风险[12] [13]。对 SRNS 患儿进行 NPHS1 基因突变分析不仅有助于临床医生对 SRNS 患儿明确病因诊断、指导治疗和判断预后, 还有助于临床医生为 NPHS1 基因突变的高危家庭提供遗传咨询和产前诊断, 一旦产前明确诊断即应终止妊娠。

参考文献

- [1] Wickelgren, I. (1999) First Components Found for Key Kidney Filter. *Science*, **286**, 225-226. <https://doi.org/10.1126/science.286.5438.225>
- [2] The Subspecialty Group of Nephrology, Society of Pediatrics, Chinese Medical Association (2009) Evidence-Based Guidelines on Diagnosis and Treatment of Childhood Common Renal Diseases (I) Evidence-Based Guidelines on Diagnosis and Treatment of Steroid-Sensitive, Relapsing/Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome (for Trial Implementation). *Chinese Journal of Pediatrics*, **47**, 167-169.
- [3] Lombel, R.M., Gipson, D.S. and Hodson, E.M. (2013) Treatment of Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome: New Guidelines from KDIGO. *Pediatric Nephrology*, **28**, 415-426. <https://doi.org/10.1007/s00467-012-2310-x>
- [4] Benoit, G., Machuca, E. and Antignac, C. (2010) Hereditary Nephrotic Syndrome: A Systematic Approach for Genetic Testing and a Review of Associated Podocyte. *Pediatric Nephrology*, **25**, 1621-1632. <https://doi.org/10.1007/s00467-010-1495-0>
- [5] Gbadegesin, R., Lavin, P., Foreman, J. and Winn, M. (2011) Pathogenesis and Therapy of Focal Segmental Glomerulosclerosis: An Update. *Pediatric Nephrology*, **26**, 1001-1015. <https://doi.org/10.1007/s00467-010-1692-x>
- [6] Löwik, M.M., Groenen, P.J., Levchenko, E.N., *et al.* (2009) Molecular Genetic Analysis of Podocyte Genes in Focal Segmental Glomerulosclerosis: A Review. *European Journal of Pediatrics*, **168**, 1291-1304. <https://doi.org/10.1007/s00431-009-1017-x>
- [7] Machuca, E., Benoit, G. and Antignac, C. (2009) Genetics of Nephrotic Syndrome: Connecting Molecular Genetics to Podocyte Physiology. *Human Molecular Genetics*, **18**, R185-R194. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp328>
- [8] Pavenstädt, H., Kriz, W. and Kretzler, M. (2003) Cell Biology of the Glomerular Podocyte. *Physiological Reviews*, **83**, 253-307. <https://doi.org/10.1152/physrev.00020.2002>
- [9] Aya, K., Tanaka, H. and Seino, Y. (2000) Novel Mutation in the Nephrin Gene of a Japanese Patient with Congenital Nephrotic Syndrome of the Finnish Type. *Kidney International*, **57**, 401-404. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00859.x>
- [10] Sadowski, C.E., Lovric, S., Ashraf, S., *et al.* (2015) A Single-Gene Cause in 29.5% of Cases of Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, **26**, 1279-1289. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014050489>
- [11] Trautmann, A., Schnaidt, S., Lipska-Zietkiewicz, B.S., Bodria, M., Ozaltin, F., Emma, F., Anarat, A., Melk, A., Azocar, M., Oh, J., Saeed, B., Gheisari, A., Caliskan, S., Gellermann, J., Higueta, L.M.S., Jankauskiene, A., Drozd, D., Mir, S., Balat, A., Szczepanska, M., Paripovic, D., Zurowska, A., Bogdanovic, R., Yilmaz, A., Ranchin, B., Baskin, E., Erdogan, O., Remuzzi, G., Firszt-Adamczyk, A., Kuzma-Mroczkowska, E., Litwin, M., Murer, L., Tkaczyk, M., Jardim, H., Wasilewska, A., Printza, N., Fidan, K., Simkova, E., Borzecka, H., Staude, H., Hees, K., Schaefer, F. and PodoNet Consortium (2017) Long-Term Outcome of Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome in Children. *Journal of the American Society of Nephrology*, **28**, 3055-3065. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016101121>
- [12] Wada, T. and Nangaku, M. (2015) A Circulating Permeability Factor in Focal Segmental Glomerulosclerosis: The Hunt Continues. *Clinical Kidney Journal*, **8**, 708-715. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfv090>
- [13] Königshausen, E. and Sellin, L. (2016) Circulating Permeability Factors in Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis: A Review of Proposed Candidates. *BioMed Research International*, **2016**, Article ID: 3765608. <https://doi.org/10.1155/2016/3765608>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网首页: <http://cnki.net/>, 点击页面中“外文资源总库 CNKI SCHOLAR”, 跳转至: <http://scholar.cnki.net/new>, 搜索框内直接输入文章标题, 即可查询;
或点击“高级检索”, 下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2161-8712, 即可查询。
2. 通过知网首页 <http://cnki.net/>顶部“旧版入口”进入知网旧版: <http://www.cnki.net/old/>, 左侧选择“国际文献总库”进入, 搜索框直接输入文章标题, 即可查询。

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: acm@hanspub.org