

Diagnosis a Congenital Adrenal Hyperplasia Case by Genetic Testing

Bilan Ding, Yuge Huang*, Zhuguo Wu

Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang
Email: 342996189@qq.com, *kenbobozj@yahoo.com.cn, 847350979@qq.com

Received: Mar. 20th, 2013; revised: Mar. 23rd, 2013; accepted: Apr. 17th, 2013

Copyright © 2013 Bilan Ding et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Background: Congenital adrenal hyperplasia is one kind of autosomal recessive diseases, which is caused by lack of some kind of steroid hormone biosynthesis enzymes congenital. The clinical manifestation is such as salt loss, dehydration, ambiguous genitalia indistinguishable, quickly growth speed and the typical hormonal abnormalities, which lead to easily misdiagnosed. There are a variety of enzyme defect in this diseases, but 21-hydroxylase deficiency is the most common, accounting for 90% - 95%. We analyse different types relying on the hormone levels and genotype identification. At present, the diagnosis of congenital adrenal hyperplasia can be directly carried out by gene diagnosis. **Methods:** We detect the CAH-related gene of a neonate who is a typical 21-hydroxylase (salt-losing type) patient. **Results:** The neonate loses a large fragment of CYP21A2. **Conclusions:** CYP21A2 is a causative gene of salt-losing type of CAH, and deletion of CYP21A2 gene is the fundamental reason of salt-losing type of CAH in the pathogenesis.

Keywords: Congenital Adrenal Hyperplasia; Neonate; CYP21A2

基因诊断先天性肾上腺皮质增生症 1 例报道

丁碧蓝, 黄宇戈*, 吴柱国

广东医学院附属医院, 湛江
Email: 342996189@qq.com, *kenbobozj@yahoo.com.cn, 847350979@qq.com

收稿日期: 2013 年 3 月 20 日; 修回日期: 2013 年 3 月 23 日; 录用日期: 2013 年 4 月 17 日

摘要: 背景: 先天性肾上腺皮质增生症(congenital adrenal hyperplasia, CAH)是一组因类固醇激素生物合成过程中某种酶先天性缺乏引起的常染色体隐性遗传病。临床上可表现为失盐、脱水、外生殖器性别不清、生长过速和典型的激素异常, 易漏诊或误诊。常见多种酶缺陷, 其中以 21-羟化酶缺失症最常见, 占该病的 90%~95%。不同类型的鉴别依赖于激素水平测定及基因型分析。目前对先天性肾上腺皮质增生症的诊断可直接进行基因诊断。**方法:** 对临床 1 例典型的 21-羟化酶缺陷引起的失盐型 CAH 患儿进行相关基因检测。**结果:** 患儿存在 CYP21A2 大片段基因缺失。**结论:** CYP21A2 是失盐型 CAH 的致病基因, CYP21A2 基因的缺失是失盐型 CAH 发病的根本原因。

关键词: 先天性肾上腺皮质增生症; 新生儿; CYP21A2

1. 病历摘要

患儿, 男, 胎龄 38 周, 20 天, 因“拒食, 反应

*通讯作者。

差 1 天”入院。患儿出生史无特殊, 出生体重 2.5 Kg。1 天前出现拒食, 反应差, 哭声低弱。遂到我院求诊。患儿生后混合喂养, 吃奶少, 偶有吐奶, 无热, 无抽

搐,大便正常,小便偏少。入院体查:体温 36.6℃脉搏 148 次/分,呼吸 60 次/分,体重 2.02 Kg,身长 47 cm 头围 34 cm。老人貌,神志清,反应差,哭声低弱。皮肤黝黑,毛发浓密,眼眶凹陷,嘴唇干燥,皮肤干燥松弛,弹性差,皮下脂肪缺乏。头颅无畸形,骨缝未闭,前囟增宽,4 cm × 4 cm,稍凹陷。乳晕色素沉着,心肺听诊正常,腹部平坦,按之柔软,可见胃肠型,肝脾无肿大。阴囊色素沉着,四肢肌张力正常,原始反射减弱。入院急查血气分析示:PH 7.15,PCO₂ 28 mmHg,PO₂ 66 mmHg,Na⁺ 122 mmol/L,K⁺ 6.3 mmol/L,Ca²⁺ 1.05 mmol/L,GLU 0.6 mmol/L,HCO₃⁻ 9.8 mmol/L,BE -17.5 mmol/L。入院诊断为:1) 营养不良(重度);2) 中度脱水;3) 代谢性酸中毒;4) 高钾血症;5) 低钠血症;6) 低糖血症。入院后完善相关检查,首先排除消化道畸形及中枢神经系统病变,行胃肠道 B 超、全消化道造影、头颅彩超未见异常。进一步检查:CTS 5.03 μg/dl(参考值:8.7~22.4),ACTH 71.6 pg/ml(参考值:<46),17-羟基孕酮(17-OHP) > 25 ng/ml(参考值:<2.5),雄烯二酮(AD) > 8.6 ng/ml(参考值:0.1~0.9)。双肾上腺彩超检查未见明显异常。双侧腕关节 X 片未见骨化中心及骨骺形成。行分子遗传学检查,检测报告回复示:对患儿外周动脉血样本的 CYP21A2 基因外显子进行标准 PCR 扩增,结果显示其外显子区域多次实验均未扩增成功,采取双重 PCR 技术对外显子区域进行 PCR 扩增,结果显示患儿样本仅扩增出内参基因相对应片段,而其父母及对照样本均能扩增出 CYP21A2 基因及内参基因相对应的片段。因而高度怀疑患儿的 CYP21A2 基因存在大片段缺失。最后诊断:先天性肾上腺皮质增生症(失盐型)。入院后予补液扩容,纠正酸碱失衡及电解质紊乱,静脉滴注 3 天氢化可的松后,患儿精神好转,临床症状减轻,改醋酸可的松口服。住院期间定期复查生化或血气分析。住院 10 天患儿内环境紊乱已完全纠正,且一般情况好,生命体征平稳,体查无特殊,准予出院。嘱出院后继续口服醋酸可的松,并定期于我院门诊复诊。

2. 讨论

CAH 是一组因肾上腺皮质激素合成过程中酶缺陷引起的综合征。由于酶的缺乏,导致皮质醇合成不

足或者缺乏,负反馈抑制垂体释放促肾上腺皮质激素的作用减弱,致促肾上腺皮质激素分泌过多,肾上腺皮质增生和分泌过多的该酶作用前合成的激素和前体物。从而表现出一系列的临床症状。本病属于常染色体隐性遗传病,在两个携带致病的基因同时存在时(即纯合子)发病,仅有一个致病的基因存在时(即杂合子)不发病。一个家庭成员中一般只出现同一类型缺陷。据不同国家及地区的新生儿 CAH 筛查报道,该病的发病率在 1/10,000~1/20,000 并有明显的种族和地区的差别^[1,2]。由于其发病率相对较低,临床表现复杂多样,易造成误诊漏诊,甚至危及生命。目前我国以血清 17-OHP 水平作为评价指标的 CAH 新生儿筛查在临床上已作为常规的检查项目。然而,低出生体重儿、早产儿常存在假阳性结果,曾因其他疾病接受过地塞米松治疗的新生儿常存在假阴性结果,故 21-OHD 唯一致病基因 CYP21A2 的检测被推荐作为第二梯队的筛查方法。

CAH 常见的酶缺陷包括 21-羟化酶、11β-羟化酶、3β-类固醇脱氢酶、17α-羟化酶缺陷等,其中类固醇 21-羟化酶缺乏最常见,占 CAH 发病 90%~95%,男女发病率相同^[3]。而根据 21-羟化酶缺乏程度不同,可分为失盐型、单纯男性化型和非典型型三种类型。在这三种类型中,又以失盐型最严重,最经典,占 3/4 比例。该类型是由于 21-羟化酶完全缺乏所致,其皮质醇和醛固酮生物合成均存在障碍。一般在出生后 1~2 周发病,患儿除具有男性化表现外,生后不久即可有拒食、呕吐、腹泻、体重不增或下降、脱水、低血钠、高血钾、代谢性酸中毒等,伴皮肤黏膜色素沉着,若治疗不及时,可因循环衰竭而死亡。本报道病例就是属于这一种类型中的典型病例。由于这种类型最为常见,目前对它的研究已深入到分子水平。21-羟化酶基因是 CAH 的致病基因,该基因位于人类第 6 号染色体短 6p21 的人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)111 类基因区,由无活性的 CYP21A1(假基因)和有活性的 CYP21A2(真基因)组成。真假基因均有 10 个外显子,9 个内含子,外显子和内含子同源性分别达到 98%和 95%。由于真假基因序列的高度同源以及 RCCX 基序的串联重复,故在同源重组过程中容易出现非等位基因重组或不等交换。大多数研究表明,21-羟化酶的缺陷是由于功能基因 CYP21A2 缺陷所致,

已确认的功能基因缺陷包括：基因大片段缺失、基因转化和点突变^[4,5]。目前为止尚没有单个外显子缺失的报道。然而在本病例中，对患儿外周血样本的 CYP21A2 基因外显子进行标准 PCR 扩增，结果显示其外显子区域多次实验均未扩增成功，采取双重 PCR 技术对外显子区域进行 PCR 扩增，结果显示患儿样本仅扩增出内参基因相对应片段。因此我们高度怀疑患儿存在单个外显子缺失的可能。但是令人费解的是其父母的外周血样本却能扩增出 CYP21A2 基因，未提示该基因缺失，这一点理论上难以解析。考虑到 PCR 检测手段的局限性，我们有必要采用 MLPA 方法进行进一步检测。

对于 CAH 的治疗，目前主要还是激素治疗。一方面可以补充缺乏的激素，另一方面可以抑制 ACTH 过量释放。由于氢化可的松半衰期短、对生长的抑制和激素不良反应较小而作为首选药物^[6]。尽管如此，CAH 的治疗还面临着许多问题。外源性氢化可的松不能精确模拟 ACTH 脉冲分泌与皮质醇脉冲之间密切的时效性关系。另外 CAH 病人经常出现中枢对糖皮质激素反馈抑制的敏感性下降。糖皮质激素敏感性下降进一步使糖皮质激素治疗的中枢性作用下降，而外周性糖皮质激素敏感性可以保持，从而出现生长抑制等副作用。即使 CAH 病人中 ACTH 分泌可以恢复正常，雄激素合成却不能恢复正常，因为肾上腺激素合成过程中 21-羟化酶阻断后分流入雄激素通路的类固醇中间产物都要比正常时多。为了防止 CAH 中肾上腺内源性雄激素分泌过多，必须使胆固醇侧链裂解速度降到正常水平以下，这样才能避免 17-羟孕酮的过度堆积，以及分流进入雄激素通路。为了通过负反馈作用抑制胆固醇侧链裂解速度至正常水平以下，必需应用超过生理剂量的糖皮质激素。传统治疗很难在高

皮质醇血症和高雄激素血症之间保持平衡。在接受治疗的患者中经常出现糖皮质激素过多的表现，如肥胖、生长速度下降或其他库欣综合征临床特点。高雄激素血症的症状和体征包括：女性男性化、男性性早熟以及女性和男性都会出现的成人最终身高矮。儿童中的另一并发症为中枢性性早熟，CAH 诊断被延误，以及肾上腺雄激素分泌治疗欠佳的病人更易出现真性性早熟，这使肾上腺雄激素分泌过多的问题更复杂。

综上所述，CAH 失盐型多发病于新生儿期，常因高钾血症或肾上腺危象导致死亡。因此充分认识，早期诊断和治疗，能减少病死率，提高生存质量。另外针对目前激素治疗存在许多问题，我们有必要寻找新的治疗手段。CAH 作为单基因遗传，基因治疗在理论上是可行的。但是需有动物模型以验证，需有特异有效安全的载体供基因安全性和靶向性。个体化治疗是基因治疗发展趋势。

参考文献 (References)

- [1] H. K. Gleeson, et al. Two-year pilot study of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in New South Wales compared with nationwide case surveillance in Australia. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 2008, 44(10): 554-559.
- [2] L. Grunheiro-Papendieck, et al. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: Experience and results in Argentina. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 2008, 21(1): 73-78.
- [3] D. P. Merke, S. R. Bornstein. Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet*, 2005, 365(9477): 2125-2136.
- [4] G. A. Loeuille, M. David and M. G. Forest. Prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia: Report of a new case. *European Journal of Pediatrics*, 1990, 149(4): 237-240.
- [5] B. Haglund-Stengler, et al. Haplotypes of the steroid 21 hydroxylase gene region encoding mild steroid 21-hydroxylase deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 1991, 88(19): 8352-8356.
- [6] V. V. Khadilkar, A. V. Khadilkar and G. B. Maskati. Impact of availability of oral hydrocortisone on growth of children with CAH. *Indian Journal of Pediatrics*, 2005, 72(4): 301-303.