

## • 病例报告 •

## 遗传性无纤维蛋白原血症 1 例并文献复习\*

陆美荣<sup>1</sup> 焦蓓蓓<sup>1</sup> 韦红英<sup>1</sup>

[关键词] 遗传性无纤维蛋白原血症;基因突变;临床特点

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2018.11.015

[中图分类号] R554.5 [文献标志码] D

## A case of congenital afibrinogenemia and literature review

**Summary** The clinical data of a family with congenital afibrinogenemia were collected and analyzed respectively. Laboratory tests including APTT, PT, TT and the activities of AT : C were detected in one pedigrees. The activity and antigen of plasma fibrinogen (Fg) were analyzed by Clauss and immunoturbidimetry methods, respectively. The sequences of all the exons and exon-intron boundaries of the three Fg genes FGA, FGB and FGG were amplified by PCR and the Sanger dideoxy chain-termination method. The proband presented frequently with episodes of subcutaneous bleeding, gum bleeding and epistaxis from a child. The proband's parents were all asymptomatic, never had any bleeding tendency or experience of thrombotic complications, and their coagulation routine tests were either normal. The proband had normal FVIII, FIX, FXI, FXIII activity, but prolonged APTT, PT and TT. No Fg was detected in the plasma of the proband. A homozygous C to T mutation was found in the two cases at nucleotide 448 in exon 4 of FGA gene, resulting in a null mutation which encoded severely truncated alpha-chains owing to its premature termination at the Gln 150 codon. The proband's father and mother were heterozygous. The Gln (CAG)-150 stop (TAG) nonsense mutation in FGA gene is a novel genetic defect of congenital afibrinogenemia in the family.

**Key words** congenital afibrinogenemia; gene mutations; clinical feature

遗传性无纤维蛋白原血症是一组罕见的因纤维蛋白原(fibrinogen, Fg)低下导致的遗传性出血性疾病,为常染色体隐性遗传,发病率为1/100万,约50%的患者发生于近亲婚配家系,男女均可罹患<sup>[1-2]</sup>。自1920年首次报道以来,至今共有250余例报道<sup>[3]</sup>。遗传性无纤维蛋白原血症临床上出血表现异质性大,部分患者可无症状,有症状者约85%表现为新生儿期脐带残端出血<sup>[4]</sup>,出血可以发生在皮肤、消化道、泌尿道或中枢神经系统,颅内出血是死亡的重要原因。与重型血友病患者相比,在无纤维蛋白原血症患者中关节腔自发性出血较少见,部分患者有自发性脾出血的易感性<sup>[5-6]</sup>。同时,约20%的无纤维蛋白原血症患者由于缺乏Fg(也称抗凝血酶I)的抗凝血酶作用,常矛盾地观察到动静脉血栓形成的倾向,并常发生在伴随有其他风险因素存在的患者中,如共遗传有血栓的危险因子或在替代治疗后。实验室检查以血浆Fg水平 $\leq 0.1$  g/L, APTT、PT及TT同时无限延长,但均可被血浆或纤维蛋白原纠正为特征。目前临床上尚无根治手段,主要是以替代治疗为主。

## 1 资料与方法

## 1.1 家系资料

先证者,女,12岁,因“右侧面颊部肿胀1周,加重伴牙龈出血4d”于2017年1月4日门诊入院。临床特点:①自幼有碰撞后瘀斑史,瘀斑时间较长,抽血时难止血,临床表现以皮肤黏膜及牙龈出血为主,无关节肿痛史,新生儿期无脐带断端出血史。曾外院非规范诊治,未能确诊。②此次因“右侧面颊部肿痛1周”在当地医院行前庭沟穿刺抽液后渗血不止,凝血功能明显异常,考虑血友病,建议上级医院就诊,于1月2日至我院急诊查APTT、PT、TT均 $>120$  s, Fg无法测出, D-二聚体、血小板均正常,先后予以输注人凝血酶原复合物800 IU,牙龈渗血症状无好转,复查凝血功能无改善。入院后复查APTT、PT、TT均 $>120$  s, Fg无法测出, AT、FDP、血小板、D-二聚体均正常,凝血因子VIII、IX、XI、XII活性分别为117.7%、113.4%、104.2%、78.4%,经补充冷沉淀9 IU后复查Fg升至0.29 g/L,患儿出血症状停止,予以输注纤维蛋白原浓缩物0.5 g后出院。该家系无近亲婚配史,除先证者外家系成员均无出血史。

## 1.2 实验室检测

抽取先证者及其家系成员的外周静脉血2管各2 ml, EDTA抗凝,其中一份样品送检凝血功能

\* 基金项目:广西自然科学基金项目(No:2016GXNSFAA380161)

<sup>1</sup> 广西医科大学第一附属医院儿科(南宁, 530021)  
通信作者:韦红英, E-mail: whylhr@qq.com

及凝血因子活性检测(ACL Advance 全自动血凝仪,美国 Beckman coulter 公司),另一份样品用于提取基因组 DNA(TIANGEN 血液基因组 DNA 提取盒),-20℃保存备用。

1.3 PCR 及基因测序

应用 PCR 技术扩增先证者及其家系成员 FGA、FGB、FGG 基因所有外显子及其侧翼序列后进行 DNA 测序。纤维蛋白原基因 PCR 扩增引物序列参照文献[7],引物合成及基因测序由上海生物工程技术有限公司完成;将测序结果结合 Chromas 软件及 BLAST 与 GenBank 中参考序列进行比对,寻找变异基因,确定本文家系 FGA 基因突变的具体位置,对所发现的基因突变进行文献查阅并排除多态性。

2 结果

2.1 临床特征

先证者生后无脐带出血史,平素碰撞后易出现瘀斑,较长时间不能消退,伤口愈合时间延长,临床表现以皮肤黏膜及牙龈出血为主,外伤及穿刺后难以止血,无自发性出血病史。实验室检查 APTT、PT、TT 均明显延长,Fg 无法测出,用冷沉淀或纤维蛋白原浓缩剂纠正后患者 APTT、PT、TT 可恢复正常,可确诊为遗传性无纤维蛋白原血症,而其父母临床上均无出血表现。

2.2 实验室检测结果

先证者(II)实验室检查 APTT、PT、TT 均>120 s,明显延长,Fg 无法测出,D-二聚体 10 ng/ml、AT 93%、凝血因子 VIII、IX、XI、XII 活性均在正常范围内。先证者父亲(I-1)及其母亲(I-2)检测 APTT、PT、TT 及 Fg 值均在正常范围内(表 1)。

2.3 FGA 基因分析结果

测序结果显示,先证者 FGA 基因外显子 4 的编码区第 448 号核苷酸有 C→T 的纯合子突变(c. 448C>T),并经反向测序证实。先证者父母均发现该位点的杂合突变,临床上无明显出血或血栓表现。经查阅文献及 Fg 突变数据库(http://www.geht.org/databaseang/fibrinogen/)检索,查找到基因突变类型相同的报道 1 例。本文家系中先证者 FGA 基因突变位于 4 号外显子,与已知的 FGA 基因序列 NM-00058 比对得出基因突变类型,为 c. 448C>T(p. Gln150Ter)。家系中 I-1、I-2 为相同位点的杂合突变,突变类型见表 2,基因突变序列见图 1。

3 讨论

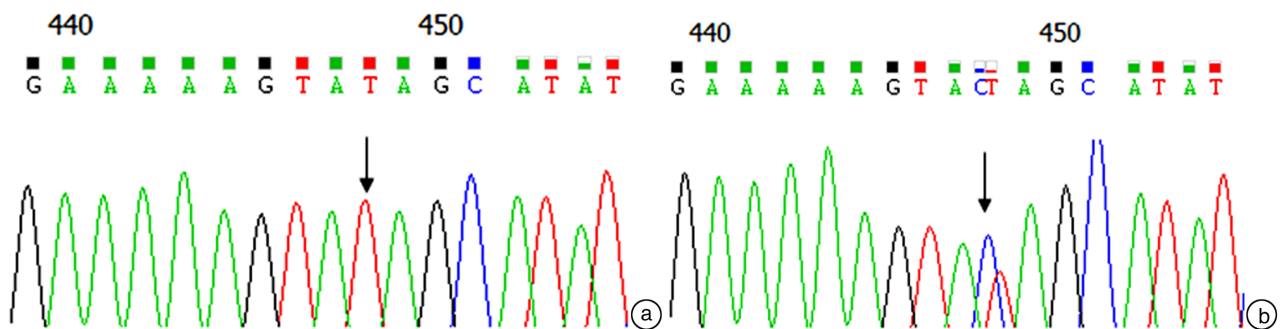
Fg 是一种大小为 340 KDa 的糖蛋白,在肝细胞合成,经正确装配后才能够分泌至肝外,异常者则直接被降解,或形成细胞内包涵物滞留在粗面内质网内<sup>[8]</sup>,血浆浓度为 1.5~3.5 g/L(4~

表 1 先证者及其家系成员表型实验室检测结果

家系成员	APTT/s	PT/s	TT/s	Fg/(g·L <sup>-1</sup> )	AT/%
II	>120	>120	>120	无法测出	93
I-1	34.6	11.4	11.7	3.14	—
I-2	38.9	11.3	11.7	2.43	—
正常对照	23~40	9~15	9~15	2~5	80~120

表 2 先证者及其携带者 FGA 基因突变结果

家系成员	突变位置	突变位点	氨基酸改变	变异类型
II	外显子 4	c. 448C>T	p. Gln150Ter	纯合
I-1	外显子 4	c. 448C>T	p. Gln150Ter	杂合
I-2	外显子 4	c. 448C>T	p. Gln150Ter	杂合



a:先证者系 FGA 基因 c. 448C>T(p. Gln150Ter)纯合子突变;b:先证者父母系 FGA 基因相应位点存在杂合缺失。

图 1 先证者及其父母 FGA 基因测序图

10  $\mu\text{mol/L}$ 。Fg 分子是由 3 对二硫键连接的多肽链(A $\alpha$ 、B $\beta$ 、 $\gamma$ )组成对称性异六聚体,3 条多肽链分别由 3 个独立的基因 FGA、FGB、FGG 编码,从着丝粒到端粒依次排列于人类 4 号染色体 q28-31 约 50 kb 的区域内<sup>[9]</sup>。自 1999 年 Neerman-Arbez 等<sup>[10]</sup>首次报道了 FGA 基因 11 kb 缺失所导致先天性无纤维蛋白原血症,至今已发现 110 余种基因突变可发生无纤维蛋白原血症,包括大片段缺失、错义突变、无义突变和移码突变等,其中大部分发生在 FGA 基因,多数为无义突变,而在已被鉴定出的突变中,皆为纯合子或复合杂合子突变,且多数为欧洲血统,在国内仅有 6 例相关报道。

FGA 基因长约 5.4 kb,含 5 个外显子,编码 19 个信号肽和由 610 个氨基酸组成的成熟 A $\alpha$  链。本文先证者 FGA 基因外显子 4 发生 c.448C>T (编码区第 448 号核苷酸由 C 变为 T)的纯合变异,导致编译第 150 号氨基酸 Gln 的密码子变为终止密码子(p.Gln150Ter),为无义突变。由于肽链合成提前终止,A $\alpha$  链缺乏 Fg 装配和稳定存在的必需区域,使其表现出遗传性无纤维蛋白原血症典型的临床和实验室检查特征。与吴淑燕等(2005)首次报道的 FGA 基因外显子 4 (p.Gln150Ter)纯合突变患者相比,两者基因突变位点相同,实验室检测 APTT、PT 及 TT 均明显延长,但本文先证者出血严重程度较轻,多表现为皮肤黏膜及牙龈出血。该基因突变类型目前在国外尚未见报道。查阅文献发现,即使患者有相同的基因突变类型,但他们出血的严重程度有高度差异性,同样,与血栓形成的风险之间也没有明显的相关性。例如,同样为 FGA 2 号内含子剪接位点复合杂合突变,先证者表现为孕期出血史,其妹妹则伴血栓形成,而其弟弟无任何出血及血栓表现<sup>[11]</sup>。目前认为,临床症状高度差异性的原因可能与修饰基因/等位基因的存在有关,也可能与环境因素以及遗传多态性相关,有些变异可能会增加出血的严重性,有些则会改变表型,其具体机制还有待进一步研究证实。

遗传性无纤维蛋白原血症是最严重类型的 Fg 缺陷,呈常染色体隐性遗传,相对于其他常染色体隐性遗传性疾病,其发病率呈上升趋势<sup>[12]</sup>。目前尚无根治方法,现有的治疗模式是以替代治疗为主。英国指南指出<sup>[13]</sup>,一旦出血发作,应尽快输注新鲜血浆、冷沉淀或纤维蛋白原浓缩物,使 Fg 水平提高到 1.0 g/L 以上直至出血停止,并维持在 0.5 g/L 以上直至伤口愈合。然而,在纤维蛋白原替代治疗后,也随之带来血栓栓塞事件的发生,特别是使用冷沉淀后,目前还没有一个安全、有效的方案以防止出血和血栓形成。通过对患病家系的基因检测,可为患病家系进行产前诊断以降低新生患儿出生,开展临床表型与基因型分析研究,探讨基因突变类型、Fg

水平与临床表现的关系,以评估不同基因型的临床风险,同时也为基因治疗提供科学的理论依据。

#### 参考文献

- [1] Acharya SS, Dimichele DM. Rare inherited disorders of fibrinogen[J]. Haemophilia, 2008, 14: 1151-1158.
- [2] Bornikova L, Peyvandi F, Allen G, et al. Fibrinogen replacement therapy for congenital fibrinogen deficiency [J]. J Thromb Haemost, 2011, 9: 1687-1704.
- [3] Abolghasemi H, Shahverdi E. Umbilical bleeding: a presenting feature for congenital afibrinogenemia[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2015, 26: 834-835.
- [4] Lak M, Keihani M, Elahi F, et al. Bleeding and thrombosis in 55 patients with inherited afibrinogenemia [J]. Br J Haematol, 1999, 107: 204-206.
- [5] Casini A, de Moerloose P, Neerman-Arbez M. Clinical features and management of congenital fibrinogen deficiencies[J]. Semin Thromb Hemost, 2016, 42: 366-374.
- [6] Aubrey-Bassler FK, Sowers N. 613 cases of splenic rupture without risk factors or previously diagnosed disease: a systematic review [J]. BMC Emerg Med, 2012, 12: 11.
- [7] 方怡, 王学锋, 傅启华, 等. 一个纤维蛋白原  $\gamma$  链 Arg275His 突变导致的遗传性异常纤维蛋白原血症家系[J]. 中华医学遗传学杂志, 2005, 22(2): 201-203.
- [8] Tennent GA, Brennan SO, Stangou AJ, et al. Human plasma fibrinogen is synthesized in the liver [J]. Blood, 2007, 109: 1971-1974.
- [9] Kant JA, Fornace AJ Jr, Saxe D, et al. Evolution and organization of the fibrinogen locus on chromosome 4: gene duplication accompanied by transposition and inversion [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1985, 82: 2344-2348.
- [10] Neerman-Arbez M, Honsberger A, Antonarakis SE, et al. Deletion of the fibrinogen [correction of fibrogen] alpha-chain gene (FGA) causes congenital afibrinogenemia [J]. J Clin Invest, 1999, 103: 215-218.
- [11] Vorjohann S, Fish RJ, Biron-Andreani C, et al. Hypodysfibrinogenemia due to production of mutant fibrinogen alpha-chains lacking fibrinopeptide A and polymerisation knob 'A' [J]. Thromb Haemost, 2010, 104: 990-997.
- [12] Asselta R, Duga S, Tenchini ML. The molecular basis of quantitative fibrinogen disorders [J]. J Thromb Haemost, 2006, 4: 2115-2129.
- [13] Bolton-Maggs PH, Perry DJ, Chalmers EA, et al. The rare coagulation disorders—review with guidelines for management from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation [J]. Haemophilia, 2004, 10: 593-628.

(收稿日期: 2017-04-30)