

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.07.XXX

论著·临床研究

## POU1F1 基因变异导致联合垂体激素缺乏症 I 型 1 例的临床和遗传学特点

陈洁 张星星 吴小川 里建

(中南大学湘雅二医院儿科, 湖南长沙 410011)

**[摘要]** 该研究报道一例 I 级 POU 结构域转录因子 1 (POU1F1) 基因变异导致的联合垂体激素缺乏症 I 型 (CPHD1) 的临床及遗传学特征。患儿女, 2 岁 3 月, 主要表现为身材矮小、前额突出、眼球内陷、下颌短小的特殊面容、皮肤松弛、中枢性甲状腺功能减退症、完全性生长激素缺乏、垂体前叶发育不良。经基因分析发现垂体转录因子 POU1F1 基因新发杂合变异 c.889C>T (p.R297W), 父母该位点为野生型, 根据美国医学遗传学与基因组学学会指南分析该变异为可能致病性变异, 既往未见文献报道, 符合常染色体显性遗传。该患儿确诊为 CPHD1。经生长激素及优甲乐联合治疗 1 年, 身高增长 19.7 cm, 呈现追赶性生长趋势。

[中国当代儿科杂志, 2019, 21(7): XXX-XXX]

**[关键词]** 联合垂体激素缺乏症 I 型; I 级 POU 结构域转录因子 1 基因; 生长激素; 促甲状腺激素; 幼儿

摘要结尾  
补充一句  
该研究的  
意义或价  
值。

### Clinical and genetic characteristics of a pediatric patient with combined pituitary hormone deficiency type I caused by POU1F1 gene variation

CHEN Jie, ZHANG Xing-Xing, WU Xiao-Chuan, LI Jian. Department of Pediatrics, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410011, China (ZHANG X-X, Email: zhangxingxing@csu.edu.cn)

**Abstract:** This paper reports the clinical and genetic characteristics of a case of combined pituitary hormone deficiency type I (CPHD1) caused by POU domain, class 1, transcription factor 1 (POU1F1) gene variation. A 2 years and 3 months old girl mainly presented with short stature, special facial features of prominent forehead, enophthalmos, and short mandible, loose skin, central hypothyroidism, complete growth hormone deficiency, and anterior pituitary hypoplasia. Gene analysis identified a novel heterozygous mutation, c.889C >T (p.R297W), in the pituitary transcription factor of POU1F1, and this locus of her parents was wild-type. This mutation was analyzed as a possible pathogenic variant according to the guidelines of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), which has not been previously reported in the literature and conforms to the autosomal dominant inheritance. This child was diagnosed with CPHD1. Her height increased by 19.7 cm and showed a catch-up growth trend after one year of combined treatment with growth hormone and Euthyrox.

[Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(7): XXXXX]

**Key words:** Combined pituitary hormone deficiency type I; POU1F1 gene; Growth hormone; Thyroid-stimulating hormone; Young child

联合垂体激素缺乏症 (combined pituitary hormonal deficiency, CPHD) 是一类以生长激素缺乏伴随一种至多种垂体前叶激素缺乏为特征性疾病。CPHD 可由下丘脑-垂体区获得性病变如肿瘤、创伤等引起, 也可以是原发性的<sup>[1]</sup>。联合垂体

激素缺乏 I 型 (CPHD1, OMIM 613038) 是由位于 3p11.2 的 I 级 POU 结构域转录因子 1 (POU1F1, 亦称 PIT-1 基因, OMIM 713110) 基因纯合或复合杂合变异引起的疾病, 为常染色体隐性 (AR) 或显性遗传 (AD), 是遗传性 CPHD 中的一种, 其

该句描述  
不完整,  
请作者核  
实。

[收稿日期] 2019-01-05; [接受日期] 2019-04-30

[作者简介] 陈洁, 女, 硕士研究生, 住院医师。

[通信作者] 张星星, 女, 博士, 副教授, 副主任医师。Email: zhangxingxing@csu.edu.cn。

临床表现缺乏特异性,主要表现为生长激素(GH)、催乳素(PRL)、促甲状腺激素(TSH)的多效性缺陷<sup>[2]</sup>,可表现为身材矮小、婴儿期严重发育迟缓、前额突出、面中线发育不全、眼球内陷、短鼻、巨舌、前囟未闭、新生儿黄疸、垂体前叶或全垂体发育不全、智力障碍等。尽管POU1F1突变导致的CPHD1早已被报道,但其遗传方式、流行病学特点、治疗方案、长期预后尚不完全明确,现报道接诊的一例CPHD1患儿的临床资料及遗传特点,为该病的诊治提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

患儿女,2岁3月,因身高增长缓慢2年余入院。患儿生后3月时身长明显落后于同龄儿童,身长增长极缓慢,生后第1年身长增长约12 cm,生后第二年身长增长5 cm,语言及智力发育可,无呕吐、便秘等不适症状。此后近2年就诊于多家医院,查头颅+垂体MRI平扫增强示垂体前叶小,垂体柄细,位置略左偏,枕骨斜坡短小;甲状腺彩超示甲状腺体积偏小,血彩稀少;心脏彩超示肺动脉狭窄,卵圆孔未闭;染色体检查无异常。

患儿系第一胎第一产,孕40周因胎位不正剖宫产娩出,出生时无窒息史,出生体重3.2 kg,身长50 cm,3月会抬头,5~6月会翻身,8月会坐,1岁会喊爸爸妈妈,1岁3月会走路,父母非近亲结婚,否认家族中有类似病史。父亲身高168 cm,母亲身高155 cm。出生后1周查甲状腺功能示TSH 0.005  $\mu$ IU/mL(参考值:0.43~16.1  $\mu$ IU/mL)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)1.42 pmol/L(参考值:3.0~8.1 pmol/L)、游离甲状腺素(FT4)3.4 pmol/L(参考值:10.6~39.8 pmol/L),外院诊断考虑“先天性甲状腺功能减退症”,予口服左旋甲状腺素治疗,1月后复查TSH 0.01  $\mu$ IU/mL,FT3 5.2 pmol/L,FT4 12.24 pmol/L,此后继续左旋甲状腺素治疗,定期随访TSH低于正常参考值,FT3、FT4正常。

入院查体:身长68 cm(-5.8 SD),体重6.5 kg(-4.16 SD),头围48 cm(<-2 SD),发育迟缓,身体比例匀称,皮肤松弛,前囟未闭(0.5 cm\*0.5 cm),前额突出,眼球内陷,下颌短小,心前区无隆起,心尖搏动点位于第4肋间左锁骨

中线外0.5 cm处,心前区及各瓣膜区未触及震颤,心界无扩大,心率110次/分,律齐,胸骨左缘第2~3肋间可闻及3/6级收缩期吹风样杂音,肺腹部检查未见异常,病理征阴性。

辅助检查:血糖3.60 mmol/L(参考值:3.9~6.1 mmol/L)。甲状腺功能:TSH 0.02  $\mu$ IU/mL(参考值:0.54~4.53  $\mu$ IU/mL),FT3、FT4正常。精氨酸及左旋多巴两药GH激发试验示GH激发峰值为0.12  $\mu$ g/L(参考值:<5  $\mu$ g/L为完全缺乏),为完全性GH缺乏。PRL 0.48  $\mu$ g/L(参考值:4~21.30  $\mu$ g/L),胰岛素样生长因子-1(IGF-1)<25  $\mu$ g/L(参考值:51~303  $\mu$ g/L),胰岛素样生长因子结合蛋白-3(IGFBP-3)<0.5 mg/L(参考值:0.8~3.9 mg/L)。血常规、大小便常规、肝功能、肾功能、乙肝全套、促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质醇、微量元素、骨碱性磷酸酶、糖化血红蛋白均正常。左手腕X线示骨龄约1岁。

### 1.2 致病基因检测

在征得患儿父母知情同意后,抽取患儿及其父母的外周静脉血样各2 mL,置于EDTA抗凝管中,送智因东方转化医学研究中心行家系单基因病全外显子组测序分析,提取基因组DNA,通过Illumina公司NovaSeq 6000系列测序仪进行全外显子高通量测序,采用Illumina官方basecall分析软件BclToFastq进行基本处理和碱基信息读取,得到原始数据,使用Burrows-Wheeler Aligner(BWA)软件将测序序列与参考基因组hg19比对,得到sam格式的比对结果;依次使用samtools、picard软件,生成去重复的bam文件;使用GATK软件分析出SNP、Indel等,根据测序质量、突变质量,对检测到的SNP、Indel进行过滤和筛选,得到高质量可靠的变异。并采用Provean、Polyphen2、SIFT、MutationTaster、REVEL软件预测变异对蛋白结构的影响及致病性,在DYDF、dbSNP、千人基因组、千人南方、千人北方、ExAC正常人群数据库查找变异位点分布频率,在OMIM、HGMD、Clinvar数据库中查找变异位点导致疾病相关性收录情况。参考美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)基因变异解读指南<sup>[3]</sup>对变异位点进行致病性综合评估。

根据高通量测序检测到的POU1F1基因致

病变位点序列，采用 Oligo7 软件对目标位点的上下游区域设计引物，第 6 外显子突变位点扩增引物序列为 chr3: 87309109-87309109-F: 5'-CCCTACTTAATGCTTTCCGTGAC-3'，chr3: 87309109-87309109-R: 5'-AAAGTGGAAAAGTAAAGCTTCTGT-3'，引物由上海捷瑞生物公司合成，以基因组 DNA 为模板，使用 Taq DNA 聚合酶扩增。PCR 产物经纯化后，用 ABI 3730XL 测序仪双向测序，测序结果用 Chromas (version2.23) 软件进行分析，并与正常序列 (NM\_001122757) 比对。

## 2 结果

### 2.1 基因检测结果及致病性分析

全外显子测序发现患儿的 3 号染色体上

POU1F1 基因存在第 6 外显子区的 c.889C>T 新发杂合变异，并经 Sanger 测序证实，父母该位点为野生型，符合 AD 遗传 (图 1)。此变异在 DYDF、dbSNP、千人基因组、千人南方、千人北方，ExAC 正常人群数据库中未见收录，c.889C>T 变异导致第 297 位密码子发生 CGG>TGG 改变，编码的氨基酸由精氨酸变为色氨酸，Provean、Polyphen2、SIFT、Mutationtaster、REVEL 等软件预测为可能有害，在 OMIM、HGMD、Clinvar 疾病数据库中均无报道。经 ACMG 分级综合评估：c.889C>T 为可能致病性变异。结合患儿 GH 及 TSH 完全缺乏及 PRL 降低等临床表现，确诊为 POU1F1 基因变异所致 CPHD1。

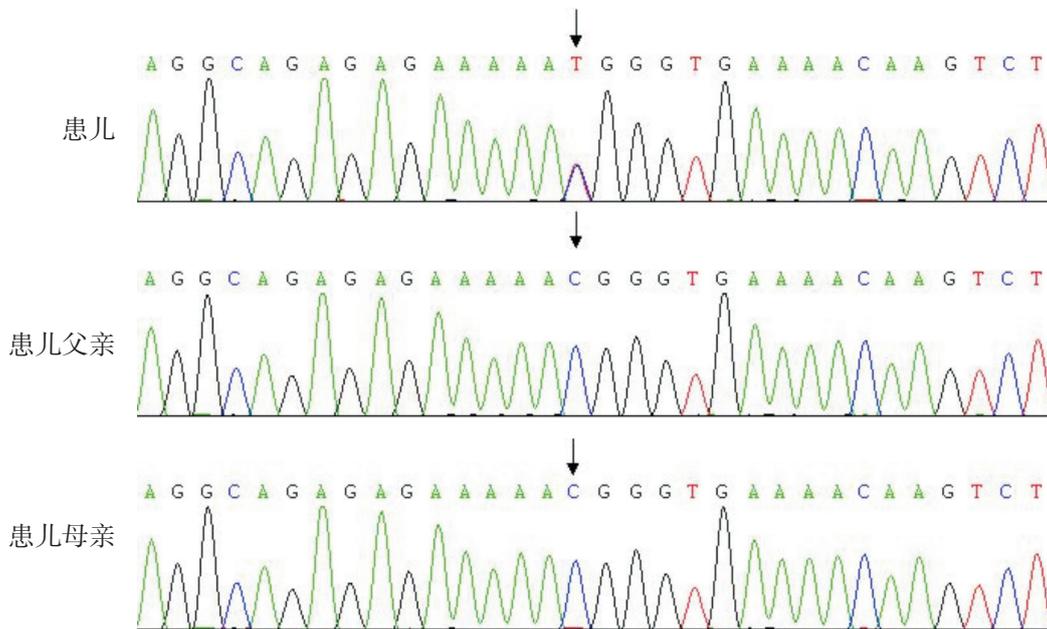


图 1 患儿及其父母 POU1F1 基因 Sanger 测序图 患儿存在 POU1F1 基因 c.889C>T 杂合突变，父母均无携带突变。突变位点如箭头所示。

### 2.2 诊治经过及结局

根据患儿病史、临床表现及实验室检查，诊断为 CPHD1。明确诊断后予聚乙二醇重组人生长激素 (Polyethylene Glycol Recombinant Human Growth Hormone, PEG-rhGH) (每次 0.14 mg/kg, 皮下注射, 每周 1 次) 及左旋甲状腺素联合治疗。出院后每 3 月随诊一次 (相关指标动态监测如表 1

所示)，治疗 1 年身高增长 19.8 cm。治疗过程中监测血糖、胰岛素 (IRI)、甲状腺激素、IGF-1、IGFBP-3 均正常。目前仍继续予 PEG-rhGH (剂量为每次 0.1~0.2 mg/kg) 及左旋甲状腺素 (剂量为每次 2.5~3.5 μg/kg) 治疗 (根据体重、疗效及监测指标调整治疗剂量)，远期疗效及 PEG-rhGH 治疗安全性有待进一步追踪。

表1 应用 PEG-rhGH 治疗前后患儿各指标及药物剂量变化

年龄	体重 (kg)	体重 SD	身高 (cm)	身高 SD	骨龄 (岁)	优甲乐 (μg/d)	PEG-rhGH (mg/(次·周))	IGF-1 (μg/L)	IGFBP-3 (mg/L)
2岁3月*	6.54.16	-	68	-5.8	1	18.75	0.9	<25	<0.5
2岁6月	8.5	-3.13	72.8	-5.14	-	25	1.125	43.7	2.85
2岁9月	10	-2.36	77.5	-3.95	-	31.25	1.4	102	3.17
3岁	12	-1.34	83	-3.5	-	37.5	1.5	61.5	2.16
3岁3月	13.5	-0.69	87.8	-2.55	2	37.5	2	56.7	2.43

注: \* 示治疗开始年龄; - 示未检测。[PEG-rhGH] 聚乙二醇重组人生长激素; [IGF-1] 胰岛素样生长因子-1 (参考值: 51~303 μg/L); [IGFBP-3] 胰岛素样生长因子结合蛋白-3 (参考值: 0.8~3.9 mg/L); [SD] 标准差。

### 3 讨论

CPHD 病因包括遗传性和非遗传性两类。据统计 CPHD 在全世界发病率约为 1/8000 (<https://ghr.nlm.nih.gov/condition/combined-pituitary-hormone-deficiency>), 大多数病例为散发, 家族遗传约占 5%~30%。遗传性 CPHD 与调控胚胎垂体前叶细胞增殖、分化的转录因子以及信号分子的复杂级联有关, 任一环节病变都可能导致孤立垂体激素缺乏症 (IPHD) 或者 CPHD<sup>[4]</sup>。Tatsumi 等<sup>[5]</sup> 在 1992 年首次报道了 1 例人类 PIT-1 基因变异 (R172X) 导致的 CPHD, 该患儿因呆小症就诊, 其父母非近亲结婚, 被发现有 TSH、GH、PRL 缺乏。迄今为止, 近 30 个与 CPHD 相关的基因被发现<sup>[6]</sup>, 其中研究较多的有 POU1F1、PROP1、GLI2、LHX3、LHX4、HESX1、PITX2、SOX2、SOX3、OTX2、TBX19 等基因<sup>[7-9]</sup>, 以及近来发现的 SLC20A1 和 SLC15A4 基因也存在关联<sup>[10]</sup>, 其中 POU1F1 和 PROP1 基因变异所致的 CPHD 约占目前已知基因的 50%。然而这些编码垂体转录因子的基因的突变频率在不同人群中有很大差异<sup>[11-12]</sup>, 国内未见相关报道, 据统计在全球范围内 POU1F1、PROP1、LHX3、LHX4、HESX1 的突变率为 12.4%, 从散发病例中的 11.2% 到家族性病例中的 63% 不等<sup>[13]</sup>, 并且明确的遗传机制尚不清楚, 这表明与 CPHD 病因相关的潜在基因仍需被识别<sup>[6]</sup>, 国内在人群中研究 CPHD 遗传因素的报道极少。

POU1F1 基因是 POU 家族 (一类与垂体相关转录因子的总称) 的成员之一, 是重要的组织特异性垂体转录因子<sup>[14-15]</sup>, 包含 6 个外显子和 5 个内含子, 编码 POU1F1 蛋白。POU1F1 蛋白包含 3 个功能区: 氨基端转录激活区 (TAD)、羧基端 POU

同源区 (POU-HD) 和 POU 特异结构区 (POU-S), TAD 负责转录激活, 可划分为 R1 和 R2 两个亚区, 分别由外显子 1 和 2 编码, 后两者是识别并结合特异性 DNA 序列的区域<sup>[16-18]</sup>, 其主要调控生长激素细胞、促甲状腺素细胞、催乳素细胞的细胞特异性基因表达, 从而影响 GH、PRL、TSH 的表达, 而垂体可表现为正常或发育不良<sup>[15]</sup>。目前在哺乳动物 (包括人类) 中已经发现 3 个 POU1F1 蛋白异构体, 1 个主要异构体 POU1F1-α (291 个氨基酸), 由于外显子 2 的选择性剪切作用, 致使在 R1 和 R2 亚区之间插入额外的氨基酸残基, 产生 2 个次要异构体 POU1F1-β (317 个氨基酸) 和 PIT-1T (305 个氨基酸), 其余编码结构无差别<sup>[17,19]</sup>, 且不同突变位点可出现不同程度垂体激素缺乏<sup>[20]</sup>。迄今为止, 在全球 CPHD 患者中已经发现超过 30 种 POU1F1 突变 (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>), 其中大多数为隐性遗传, 少数为显性遗传 (P14L、P24L、Q167K、K216E 和 R271W), 且 R271W 一直是高频突变位点, 男性发病率高于女性<sup>[21]</sup>。本例 c.889C>T(p.R297W) 为新发杂合变异, 位于外显子 6 上, 导致第 297 位氨基酸改变, 从而影响 POU1F1 蛋白的功能表达, 为可能致病性变异, 既往未见报道。结合患儿 GH、TSH、PRL 的完全缺乏, 并伴有前额突出、眼球内陷、下颌短小、皮肤松弛、前囟未闭、垂体发育不良等临床特征, 从而确诊为 CPHD1。但患儿胸骨左缘第 2~3 肋间可闻及 3/6 级收缩期吹风样杂音, 心脏彩超示肺动脉狭窄, 卵圆孔未闭, 并不包括在 CPHD 常见特征内, 既往报道 POU1F1 基因与听力损害有关, 具体机制尚不明确<sup>[22]</sup>, 因此 POU1F1 基因变异是否与心脏发育有关, 其机制也有待进一步明确。

对于 CPHD 目前尚无统一的治疗标准, 内科

治疗主要采用激素替代治疗,治疗前需排除禁忌症,如补充生长激素前需除外肿瘤、糖尿病合并视网膜病变、骨骺闭合等情况。本例患儿出生后一直予口服左旋甲状腺素片,定期复查血清甲状腺素维持在正常范围内,2岁3月开始规律皮下注射 PEG-rhGH,目前身高呈追赶性增长趋势,智力发育正常,远期预后有待进一步随访观察。

综上所述,本文报道1例 POU1F1 基因新发变异导致 CPHD1 患儿,临床主要表现为身材矮小, GH、TSH、PRL 缺乏,垂体 MRI 提示垂体发育不良,临床诊断为 CPHD。新发变异 c.889C>T (p.R297W) 的发现为确诊和家系遗传咨询提供了遗传学依据。本研究进一步丰富了 POU1F1 基因的突变谱,也对联合垂体激素缺乏的诊断与分型有重要意义,对于 CPHD 的诊断与治疗有一定的参考价值。

#### [参 考 文 献]

- [1] Otto AP, França MM, Correa FA, et al. Frequent development of combined pituitary hormone deficiency in patients initially diagnosed as isolated growth hormone deficiency: a long term follow-up of patients from a single center[J]. Pituitary, 2015, 18(4): 561-567.
- [2] Turton JP, Strom M, Langham S, et al. Two novel mutations in the POU1F1 gene generate null alleles through different mechanisms leading to combined pituitary hormone deficiency[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2012, 76(3): 387-393.
- [3] Li MM, Datto M, Duncavage EJ, et al. Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists[J]. J Mol Diagn, 2017, 19(1): 4-23.
- [4] Bertko E, Klammt J, Dusatkova P, et al. Combined pituitary hormone deficiency due to gross deletions in the POU1F1 (PIT-1) and PROPI genes[J]. J Hum Genet, 2017, 62(8): 755-762.
- [5] Tatsumi K, Miyai K, Notomi T, et al. Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the PIT1 gene[J]. Nat Genet, 1992, 1(1): 56-58.
- [6] Fang Q, George AS, Brinkmeier ML, et al. Genetics of combined pituitary hormone deficiency: roadmap into the genome era[J]. Endocr Rev, 2016, 37(6): 636-675.
- [7] Bancalari RE, Gregory LC, McCabe MJ, et al. Pituitary gland development: an update[J]. Endocr Dev, 2012, 23: 1-15.
- [8] Davis SW, Ellsworth BS, Pérez Millan MI, et al. Pituitary gland development and disease: from stem cell to hormone production[J]. Curr Top Dev Biol, 2013, 106: 1-47.
- [9] Pfäffle R, Klammt J. Pituitary transcription factors in the aetiology of combined pituitary hormone deficiency[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2011, 25(1): 43-60.
- [10] Simm F, Griesbeck A, Choukair D, et al. Identification of SLC20A1 and SLC15A4 among other genes as potential risk factors for combined pituitary hormone deficiency[J]. Genet Med, 2018, 20(7): 728-736.
- [11] Elizabeth M, Hokken-Koelega ACS, Schuilwerve J, et al. Genetic screening of regulatory regions of pituitary transcription factors in patients with idiopathic pituitary hormone deficiencies[J]. Pituitary, 2018, 21(1): 76-83.
- [12] Birla S, Khadgawat R, Jyotsna VP, et al. Identification of novel PROPI and POU1F1 mutations in patients with combined pituitary hormone deficiency[J]. Horm metab res, 2016, 48(12): 822-827.
- [13] De Rienzo F, Mellone S, Bellone S, et al. Frequency of genetic defects in combined pituitary hormone deficiency: a systematic review and analysis of a multicentre Italian cohort[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2015, 83(6): 849-860.
- [14] Kelberman D, Dattani MT. Hypopituitarism oddities: congenital causes[J]. Horm Res, 2007, 68(Suppl 5): 138-144.
- [15] Andersen B, Rosenfeld MG. POU domain factors in the neuroendocrine system: lessons from developmental biology provide insights into human disease[J]. Endocr Rev, 2001, 22(1): 2-35.
- [16] Theill LE, Hattori K, Lazzaro D, et al. Differential splicing of the GHF1 primary transcript gives rise to two functionally distinct homeodomain proteins[J]. EMBO J, 1992, 11(6): 2261-2269.
- [17] Jonsen MD, Duval DL, Gutierrez-Hartmann A. The 26-amino acid beta-motif of the Pit-1 beta transcription factor is a dominant and independent repressor domain[J]. Mol Endocrinol, 2009, 23(9): 1371-1384.
- [18] Konzak KE, Moore DD. Functional isoforms of Pit-1 generated by alternative messenger RNA splicing[J]. Mol Endocrinol, 1992, 6(2): 241-247.
- [19] Haugen BR, Gordon DF, Nelson AR, et al. The combination of Pit-1 and Pit-1T have a synergistic stimulatory effect on the thyrotropin beta-subunit promoter but not the growth hormone or prolactin promoters[J]. Mol Endocrinol, 1994, 8(11): 1574-1582.
- [20] Inoue H, Mukai T, Sakamoto Y, et al. Identification of a novel mutation in the exon 2 splice donor site of the POU1F1/PIT-1 gene in Japanese identical twins with mild combined pituitary hormone deficiency[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2012, 76(1): 78-87.
- [21] Cohen LE, Wondisford FE, Salvatoni A, et al. A "hot spot" in the the Pit-1 gene responsible for combined pituitary hormone deficiency: clinical and molecular correlates[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1995, 80(2): 679-684.
- [22] Mortensen AH, Fang Q, Fleming MT, et al. Genetic variation in thyroid folliculogenesis influences susceptibility to hypothyroidism-induced hearing impairment[J]. Mamm Genome, 2019, 30(1-2): 5-22.

( 本文编辑: 王颖 )