

LAMA2 基因变异致新生儿期发病的先天性肌营养不良 1 例报告

陈亿仙, 谭建强, 吕彦兴, 韦义军, 蒋永江, 韦拔

基金项目:广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题(Z20190364)

作者单位:545000 柳州,柳州市妇幼保健院、广西科技大学附属妇产医院、儿童医院新生儿科(陈亿仙,吕彦兴,韦义军,蒋永江,韦拔),儿童保健科(谭建强)

作者简介:陈亿仙(1992-),女,医学硕士,医师。研究方向:新生儿内科疾病的诊治

通讯作者:谭建强,E-mail:tjq198103@163.com

【摘要】 目的 探讨 LAMA2 基因变异致先天性肌营养不良患儿的临床表现、实验室检查及对基因检测结果进行分析。**方法** 回顾分析 1 例新生儿期发病的先天性 1A 型肌营养不良(MDC1A)患儿的临床资料,并对患儿核心家系进行 LAMA2 基因突变检测。**结果** 患儿,男性,6 个月,出生后出现肌张力下降、关节活动受限、喂养困难,实验室检查显示肌酸肌酶显著升高,高通量测序及 Sanger 测序验证发现 LAMA2 基因存在两处杂合变异,一个是来自母亲的无义突变 c.4048C>T,另一个突变是来自父亲的剪接突变 c.3556-13T>A。随访时存在生长发育落后,反复呼吸道感染。**结论** 本例患儿 LAMA2 基因 c.4048C>T 及 c.3556-13T>A 变异可能是导致发生先天性肌营养不良的致病原因。

【关键词】 先天性肌营养不良; LAMA2 基因; 高通量测序; 新生儿

doi:10.3969/j.issn.1674-3865.2023.03.009

【中图分类号】 R722.11 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3865(2023)03-0221-04

Congenital muscular dystrophy caused by LAMA2 gene mutation in neonates: a case report CHEN Yixian, TAN Jianqiang, LYU Yanxing, WEI Yijun, JIANG Yongjiang, WEI Ba. Department of Neonatology, Liuzhou Maternity and Child Health Hospital, Affiliated Maternity Hospital and Affiliated Children's Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545000, China

【Abstract】 Objective To explore the clinical manifestations, laboratory examination and genetic test results analysis of children with congenital muscular dystrophy caused by LAMA2 gene mutation. **Methods** The clinical data of a child with congenital muscular dystrophy type 1A (MDC1A) were reviewed and the familial LAMA2 mutation was analyzed. **Results** The child, male, 6 months, had decreased muscle tone, limited joint movement and feeding difficulties after birth. Laboratory examination showed a significant increase in creatine myase, and two heterozygous changes of LAMA2 gene were verified by high-throughput sequencing and Sanger sequencing; one was the nonsense mutation c.4048C>T from the mother and the other was the splicing mutation c.3556-13T>A from the father. There were backward growth and development and repeated respiratory infections at follow-up. **Conclusion** The c.4048C>T and c.3556-13T>A of the LAMA2 may be the pathogenic causes of congenital muscular dystrophy.

【Keywords】 Congenital muscular dystrophy; LAMA2 gene; High-throughput sequencing; Newborn

先天性肌营养不良(congenital muscular dystrophy, CMD)是一种常染色体隐性遗传性疾病,由 LAMA2 基因的隐性突变引起,该基因位于染色体 6q22-2 上,全长 260 kb,包括 65 个外显子。临床特征为近端肢体无力、挛缩、运动发育延迟、脑白质异常和螺旋形脊柱侧凸等^[1]。包括先天性 1A 型肌营

养不良(congenital muscular dystrophy type 1A, MDC1A)和晚发 LAMA2 型肌营养不良(LAMA2 muscular dystrophy, LAMA2-MD)^[2]。MDC1A 也称为层粘连蛋白缺陷型 CMD,由层粘连蛋白表达缺陷引起的,常生后 6 个月内发病^[3],患病率为(1~9)/100 万,在欧美人中更常见,在亚洲人群中罕见^[1],但随着基

因检测的增加,该病在中国的报道逐渐增多。本文报告 1 例新生儿期发病的 *LAMA2* 基因突变致 *MDC1A*,以加深医务人员对该病的认识。

1 临床资料

1.1 临床特征 患儿,男性,因“生后气促 1 d”入院。孕 39 周顺产出生,体质量 2 900 g,羊水、胎盘、脐带未见异常,出生时无窒息复苏史,母孕期 B 族链球菌感染。入院查体:神清,弹足 2 次哭,哭声欠佳,呼吸急促,可见吸气性三凹征,双肺呼吸音粗,可闻及密集中粗湿啰音,手指纤细,双侧肘关节屈曲受限,四肢肌张力减低,心、腹查体无异常,原始反射可引出,胎龄评估 39 周。

1.2 辅助检查 生后即完善肌酸激酶(creatine kinase,CK)90 700 U/L(参考值 40~200 U/L),肌酸激酶同工酶(creatine kinase isoenzymes,CK-MB)3 441 U/L(参考值 0~25 U/L),乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)2 224 IU/L(参考值 120~250 U/L),肌红蛋白 1 994 μg/L(本院检测参考值 0~154.9 μg/L),肌钙蛋白 I 42.3 ng/L(参考值 0~32.4 ng/L),谷丙转氨酶(alanine aminotransferase,ALT)56 U/L(参考值 0~40 U/L),谷草转氨酶(aspartate aminotransferase,AST)431 U/L(参考值 0~35 U/L),肾功能、电解质及新生儿疾病筛查(苯丙酮尿症、先天性甲状腺功能减退症、先天性肾

上腺皮质增生症、地中海贫血、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症)未见异常。胸片:新生儿肺炎;心脏彩色多普勒超声:房间隔缺损(继发型);心电图:窦性心律(92 次/分),校正后 QT 间期延长(488 ms);动态心电图:无异常;头颅声像图及双上肢正侧位未见明显异常。予维生素 C 100 mg/(kg·d),磷酸肌酸钠 250 mg/d 及抗生素等治疗。1 周后肌红蛋白 1 103.3 μg/L,肌钙蛋白 I 21.7 ng/L,治疗 2 周后复查心肌酶:CK 5 936 U/L,CK-MB 193 U/L,LDH 614 IU/L,ALT 37 U/L,AST 120 U/L,常规心电图无异常,呼吸平稳,予口服辅酶 Q10 出院。住院期间自行吃奶差,完善口腔运动评估提示吞咽-呼吸欠协调,行吞咽功能障碍训练、推拿、手指点穴治疗,出院时吃奶情况有所改善。

1.3 遗传学结果 经家属知情同意,医院伦理委员会批准(2023-002),之后委托深圳安吉康尔医学检验实验室予患儿及双亲完善高通量测序及 Sanger 测序验证。检测结果发现,患儿 *LAMA2* 基因存在两个杂合变异,一个是无义突变 c. 4048C>T,导致 1350 号氨基酸由精氨酸变成终止密码,该变异来自于母亲的杂合突变,根据 ACMG 指南,该变异为可能致病变异。另一个突变是剪接突变 c. 3556-13T>A,该变异来源于父亲的杂合突变,根据 ACMG 指南,该变异为意义不明的变异,见图 1。

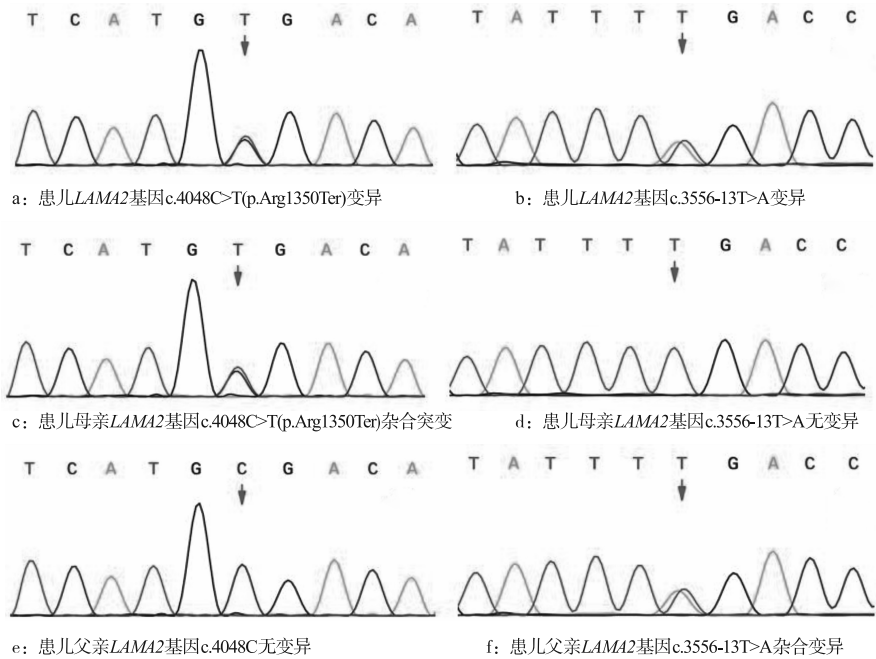


图 1 MDC1A 家系 Sanger 测序结果

1.4 随访 患儿出院后持续口服辅酶 Q10,监测 CK>2 000 U/L,CK-MB>130 U/L,肌红蛋白 291.1~611.2 μg/L,肌钙蛋白 I 25.3~89.4 ng/L,因“肺

炎”住院多次。患儿 6 月龄时,体质量 6 kg,查体:神志清,呼吸平稳;双眼睑无下垂,瞳孔对光反射灵敏,眼球活动正常,双侧鼻唇沟对称,颈软,双上肢屈曲

活动正常,双上肢肌张力减低,双下肢肌张力增高,心、肺、腹无异常。

2 讨论

MDC1A 是一种罕见的常染色体隐性遗传的神经肌肉病,占 CMD 患儿的 36.4%~48%^[4],往往起病于出生时或生后 6 个月内,表现为肌张力低下、自主活动减少、喂养困难和生长发育延迟等^[5]。研究发现这类患儿的运动延迟,获得的最大运动大多数为独坐,很少能够独立行走,从儿童期开始出现进行性脊柱侧弯,部分患儿合并有癫痫、脑白质受累和周围神经损害等,但智力多为正常^[6-8]。本研究中患儿生后即出现四肢肌张力低下、关节活动受限、吸吮-吞咽不协调、吸吮力弱等临床表现,辅助检查提示 CK、CK-MB、LDH、肌红蛋白、肌钙蛋白 I 显著升高,既往报道发现 MDC1A 患儿 CK 水平呈数倍甚至数十倍地升高(491~6 304 U/L),新生儿时期 CK 甚至百倍升高,随着疾病的进展和正常肌肉组织的损害,1 岁以后 CK 可降至正常值的 4 倍以上,6 岁以后 CK 可正常^[7]。本例患儿生后 CK 高达 90 700 U/L,经过维生素 C、磷酸肌酸钠治疗,早期心肌酶下降明显,后期长时间使用辅酶 Q10 治疗,心肌酶指标仍维持在较高水平。本例患儿还合并 ALT、AST 及 LDH 升高,与其他报道结果一致,可能与 ALT、AST 和 LDH 也存在于骨骼肌中有关^[8]。

有关 MDC1A 发病的主要机制是肌肉层粘连蛋白-211 的 $\alpha 2$ 链的完全或部分缺乏,当层粘连蛋白- $\alpha 2$ 链存在缺陷或缺失时,肌肉纤维会受到机械应力,容易撕裂和断裂,导致组织损伤和变性。MDC1A 肌肉中炎症细胞浸润和成纤维细胞激活持续存在,肌肉干细胞(称为卫星细胞)为了维持组织稳态在肌肉经历连续的变性和再生周期中不断耗竭。同时,层粘连蛋白通过与整合素 $\alpha 7\beta 1$ 的信号转导作用,上调凋亡抑制因子表达,下调促凋亡因子的表达,从而改变肌细胞的生存周期。最后,肌肉组织沉积了过量的细胞外基质成分,并被永久性瘢痕或纤维化组织所取代。除了再生受损外,蛋白质合成和蛋白质分解之间的不平衡也是导致肌肉质量损失和肌肉萎缩的另一个因素^[9]。层粘连蛋白除了存在于骨骼肌中,还可存在大脑、心脏、睾丸、肾、肺和胸腺等部位^[10],本病例在未使用致 QT 延长的药物情况下,心电图显示 QT 延长,考虑与心肌受累有关,但 Tan 等^[4]多中心研究中 63 例 MDC1A 患儿心电图表现为正常或非特异性改变。关于 MDC1A 患儿合并心脏损害的报道极少,需更多病例 MDC1A 患儿研究来证明 MDC1A 患儿与心脏损害关系。

MDC1A 的诊断包括病史、查体、实验室检查和分子遗传学检测等,早期出现的肌张力低下可能是临床医生在体检时注意到的第一个迹象,本例患儿生后即存在肌张力低下,关节活动异常。皮肤或肌肉活检可评估层粘连蛋白的表达水平和肌肉变性的特征性结果,分子遗传学检测是确诊的最准确方法。高通量测序又称为下一代测序,其全外显子组测序覆盖范围广,临床应用广泛,研究证实高通量测序在新生儿的神经系统疾病、外观异常、发育异常、代谢异常上具有可靠的诊断价值^[11]。本病例除宫内感染肺炎外,未找到其他明确引起心肌酶显著升高的因素,结合患儿手指纤细,关节屈曲受限和四肢肌张力减低的特点,初步怀疑先天性遗传病特别是骨骼肌肉相关疾病,如马方综合征、肌营养不良、线粒体脑肌病等。但无家族类似病史,即考虑患儿为肌营养不良类疾病先证者,该类疾病具有 X 连锁、常染色体显性/隐性遗传的致病基因,因此对患儿及其父母均进行了全外显子组测序,以快速检测致病变异,并减少成本和时间^[12]。到目前为止(2021 年 10 月)在人类基因突变数据库上共报道了超过 500 种不同的 LAMA2 基因致病性突变,研究发现突变形式有无义、错义、缺失、重复以及剪接位点的改变等^[13]。本例患儿经基因检测发现 LAMA2 基因存在两个杂合突变,一个是已发现的无义突变 c. 4048C>T,另一个突变是意义不明的突变 c. 3556-13T>A,但结合患儿临床表现考虑以上两个变异可能是导致患儿出现肌细胞损伤的原因。本病最常见的死亡原因为呼吸衰竭和肺炎,其他原因还包括癫痫持续状态和营养不良^[4],30% 患儿在 10 岁内死亡^[9]。本病尚无特异且有效的治疗方法,研究发现奥米加匹(omigapil)、氯沙坦和硼替佐米(bortezomib)在动物研究中显示出良好的治疗前景,但这些药物主要作用机制是抑制细胞凋亡、纤维化和肌肉萎缩的药物,不能从根本上解决层粘连蛋白- $\alpha 2$ 的缺陷,基因治疗、蛋白(替代)治疗或基于小分子水平的治疗是治愈 MDC1A 最有希望的方法^[10]。本例患儿早期心肌酶下降明显,考虑与感染控制以及营养心肌类药物减轻肌损伤有关,但由于肌肉中炎症细胞浸润和成纤维细胞激活持续存在,后续即使继续使用辅酶 Q10 也无法减轻损伤。目前该病的治疗主要为对症支持,如呼吸支持、康复训练、脊柱外科整形和营养补充等^[7]。

MDC1A 是一个起病早,进行性加重,预后差,尚未特异且有效治疗方法的罕见病。其诊断依靠临床表现、实验室检查和分子遗传学检测等,其中高通量测序有助于明确诊断。

呼出气一氧化氮、总免疫球蛋白 E 及血嗜酸性粒细胞在儿童哮喘诊断中的价值

刘开来

作者单位:411101 湖南 湘潭,湘潭市第一人民医院儿科

作者简介:刘开来(1991—),男,主治医师。研究方向:儿童呼吸系统疾病的诊治,E-mail:116975288@qq.com

【摘要】 目的 探究呼出气一氧化氮(FeNO)、总免疫球蛋白 E(IgE)、血嗜酸性粒细胞(EOS)应用于儿童哮喘诊断中的价值。**方法** 选取 2021 年 4~10 月就诊于湘潭市第一人民医院诊断为支气管哮喘的患儿 46 例为观察组,同期选择本院就诊的非支气管哮喘儿童 41 例为对照组。收集两组研究对象的 FeNO、总 IgE、血常规、肺功能检测结果。比较两组研究对象的 FeNO、总 IgE、EOS 水平和第 1 秒用力呼气容积占预计值百分比(FEV1%),并进行相关性分析。通过绘制受试者工作曲线(ROC 曲线)分析 FeNO、总 IgE、EOS 在儿童哮喘诊断中的效能。**结果** 观察组研究对象 FeNO、总 IgE、EOS 水平均高于对照组,FEV1%低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。观察组研究对象的 FeNO、总 IgE 水平与 FEV1%呈强负相关,EOS 水平与 FEV1%呈弱负相关,总 IgE 水平与 FeNO 水平呈强正相关($P<0.05$),EOS 水平与 FeNO 无相关性($P>0.05$)。FeNO、总 IgE、EOS 诊断儿童哮喘的最佳截断值分别为 19.5 ppb、89.1 IU/mL、 $0.585\times 10^9/L$ 。三者联合诊断儿童哮喘的特异度、敏感度分别为 84.8%、87.8%,均高于各指标单一检测的数值。**结论** FeNO、总 IgE、EOS 水平升高与儿童哮喘的发生密切相关,三者均可作为儿童哮喘的重要诊断依据,联合检测可提高诊断儿童哮喘的效率及准确性。

【关键词】 哮喘; 呼出气一氧化氮; 免疫球蛋白 E; 嗜酸性粒细胞; 儿童

doi:10.3969/j.issn.1674-3865.2023.03.010

【中图分类号】 R725.6 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3865(2023)03-0224-05

参考文献

- [1] Tran KT, Le VS, Vu CD, et al. A novel de novo variant of LAMA2 contributes to merosin deficient congenital muscular dystrophy type 1A: Case report[J]. Biomed Rep, 2020, 12(2): 46-50.
- [2] Oliveira J, Parente Freixo J, Santos M, et al. LAMA2 Muscular Dystrophy[A]. 2012 Jun 7 [updated 2020 Sep 17]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al. GeneReviews [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
- [3] Jayakody H, Zarei S, Nguyen H, et al. Cobblestone Malformation in LAMA2 Congenital Muscular Dystrophy (MDC1A) [J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2020, 79(9): 998-1010.
- [4] Tan D, Ge L, Fan Y, et al. Natural history and genetic study of LAMA2-related muscular dystrophy in a large Chinese cohort[J]. Orphanet J Rare Dis, 2021, 16(1): 319.
- [5] El Kadir Y, Ratbi I, Laarabi FZ, et al. Identification of a novel LAMA2 c. 2217G>A, p. (Trp739*) mutation in a Moroccan patient with congenital muscular dystrophy: a case report [J]. BMC Med Genomics, 2021, 14(1): 113.
- [6] Butterfield RJ. Congenital Muscular Dystrophy and Congenital Myopathy[J]. Continuum (Minneapolis Minn), 2019, 25(6): 1640-1661.
- [7] 葛琳,熊晖. Merosin 蛋白缺陷型先天性肌营养不良研究进展[J]. 中华儿科杂志, 2018, 56(3): 234-236.
- [8] 郭丽,汤雯敏,宋元宗. 先天性肌营养不良 1A 型患儿临床特征及 LAMA2 变异分析: 病例报告 1 例及文献复习[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(6): 608-613.
- [9] Nguyen Q, Lim KRQ, Yokota T. Current understanding and treatment of cardiac and skeletal muscle pathology in laminin- $\alpha 2$ chain-deficient congenital muscular dystrophy [J]. Appl Clin Genet, 2019, 12: 113-130.
- [10] Durbeek M. Laminin- $\alpha 2$ Chain-Deficient Congenital Muscular Dystrophy: Pathophysiology and Development of Treatment [J]. Curr Top Membr, 2015, 76: 31-60.
- [11] 王丹,滕懿群,黄蓉. 高通量测序在新生儿遗传性疾病诊治中的应用[J]. 浙江医学, 2018, 40(7): 776-781.
- [12] Nguyen NL, Ngoc CTB, Vu CD, et al. Whole Exome Sequencing as a Diagnostic Tool for Unidentified Muscular Dystrophy in a Vietnamese Family[J]. Diagnostics (Basel), 2020, 10(10): 741.
- [13] 张晓莉,牛国辉,杜开先,等. 先天性肌营养不良 1A 型颅脑磁共振成像和基因检测诊断分析: 附两例报道及文献复习[J]. 中国全科医学, 2014, 17(24): 2847-2850.

(收稿日期: 2023-02-27)

(本文编辑: 刘颖; 外审专家: 麻宏伟)