

# 假肥大型肌营养不良一家系三代基因分析并文献复习

李玲艳<sup>1,2\*</sup>, 宋爱琴<sup>3#</sup>

<sup>1</sup>青岛大学, 山东 青岛

<sup>2</sup>淄博市妇幼保健院儿科, 山东 淄博

<sup>3</sup>青岛大学附属医院儿童重症医学科, 山东 青岛

收稿日期: 2022年9月24日; 录用日期: 2022年10月17日; 发布日期: 2022年10月26日

## 摘要

目的: 探讨假肥大型肌营养不良的临床特点和基因变异情况。方法: 回顾性分析2021年6月收治假肥大型肌营养不良双胞胎兄弟一家系三代的临床资料, 应用多重连接酶探针依赖扩增(MPLA)技术, 对先证者进行DMD外显子大片段缺失/重复的检测, 结合先证者表型对先证者哥哥、母亲及其他家系成员进行变异位点验证。查阅相关文献数据库, 收集已报道病例并进行文献复习。结果: 先证者, 男, 4岁, 系双胞胎之小。因发现肝酶、肌酸激酶异常升高入院, 查体发现患儿腓肠肌稍肥大。先证者哥哥有类似体征及实验室检查异常。对先证者行DMD-MPLA检测发现DMD外显子3~5半合子缺失; 先证者哥哥、母亲及外祖父以相同技术进行验证, 发现先证者哥哥及外祖父均有DMD外显子3~5半合子缺失, 先证者母亲DMD外显子3~5杂合缺失。结论: 本研究有助于对假肥大型肌营养不良临床、遗传特征进一步认识, 为临床早期干预和遗传咨询提供重要依据。

## 关键词

假肥大型肌营养不良, DMD基因, 肌酸激酶, 多重连接酶探针依赖扩增(MPLA)技术

## Gene Analysis of Three Generations with Pseudohypertrophy Muscular Dystrophy Family and Literature Review

Lingyan Li<sup>1,2\*</sup>, Aiqin Song<sup>3#</sup>

<sup>1</sup>Qingdao University, Qingdao Shandong

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Zibo Maternal and Child Health Hospital, Zibo Shandong

<sup>3</sup>Department of Pediatric Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

\*第一作者。

#通讯作者 Email: 18661807987@163.com

## Abstract

**Objective:** Discussion on the clinical features and genetic variation of pseudohypertrophy muscular dystrophy. **Methods:** Retrospective analysis of the clinical data of the twin brothers diagnosed pseudohypertrophy muscular dystrophy in June 2021, to detect DMD exon large fragment deletion/repetition of the proband with the application of multiple ligase probe-dependent amplification (MPLA) technology. According to the proband's genotyping to conduct mutation site validation of the proband's brother, mother and other family members. Consult relevant literature databases to collect reported cases and review literatures. **Results:** The male with proband, 4 years old, the smaller of the twin. He visited our hospital because of the abnormal elevation of liver enzymes and myocardial enzymes. The examination found that the gastrocnemius muscle of the child was slightly hypertrophied. The brother of the proband had similar signs and symptoms. DMD-MPLA technology of the proband found that exons 3~5 of DMD were missing. His brother and grandfather were verified by the same technique and found that their exons 3~5 of DMD were all missing. His mother's exons 3~5 of DMD were heterozygous deletion. **Conclusion:** This study is helpful for further understanding of the clinical and genetic characteristics of pseudohypertrophy muscular dystrophy and provides an important basis for clinical treatment and genetic counseling.

## Keywords

Pseudohypertrophy Muscular Dystrophy, DMD Gene, Creatine Kinase, Multiplex Ligase Probe-Dependent Amplification (MPLA) Technique

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

## 1. 引言

假肥大型肌营养不良症(Pseudohypertrophy muscular dystrophy, PMD)是一种 X 连锁隐性遗传病,包括 Duchenne 型肌营养不良(Duchenne muscular dystrophy, DMD)和 Becker 型肌营养不良(Becker muscular dystrophy, BMD),临床上以进行性加重的对称性肌无力、肌萎缩、血清肌酸激酶水平增高和小腿腓肠肌假性肥大为主要特征。由于本病起病隐匿,进展缓慢且目前尚缺乏有效治疗方法,故高效、精准的基因检测有助于携带者的检出、产前诊断及遗传咨询,成为预防本病的关键[1]。

本研究回顾分析 2021 年 6 月份淄博市妇幼保健院收治的假肥大型肌营养不良同卵双胞胎兄弟一家系三代的临床资料及基因谱特点,同时复习已报道病例文献,探讨假肥大型肌营养不良的临床特点和基因变异情况,旨在了解假肥大型肌营养不良的早期诊断,提高对本病的认识,为早期干预和遗传咨询提供重要依据。

## 2. 临床资料

先证者临床资料:先证者(见图 1),男,4 岁,因“急性上呼吸道感染”就诊于当地医院,生化检验示谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)、肌酸激酶(Creatine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶(Creatine kinase isoenzyme, CK-MB)均升高。先证者哥哥:与先证者系同卵双胞胎,因先证者实验室检查异常,遂于

当地医院行生化检查 ALT、CK、CK-MB 亦异常。当地医院保肝、营养心肌等治疗, 1 周后复查上述指标未降反升, 于 2021 年 6 月转入我科诊治。先证者及哥哥系第 1 胎, 孕 37 周剖宫产, 其母无流产史, 孕期健康, 无患病及服药史, 生后智力、运动发育大致同同龄儿。调查家系, 先证者父母、祖父母、外祖父母、姨妈及表哥, 先证者外祖父自 12 岁后运动能力渐下降, 30 岁左右靠拐杖行走, 50 岁左右瘫痪、丧失运动能力, 余家庭成员身体健康、运动能力正常, 均未行心肌酶谱检查。

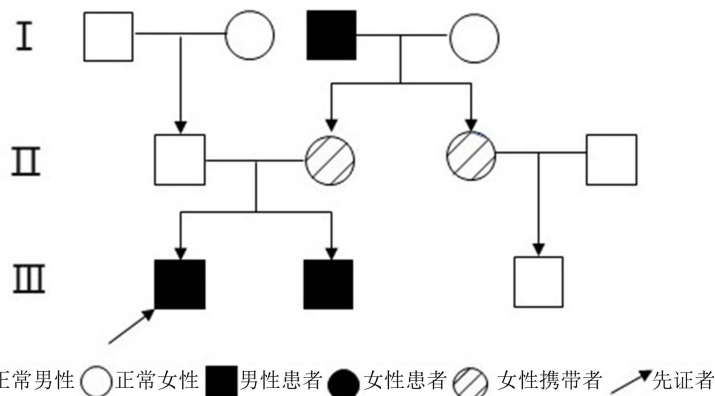


Figure 1. Family diagram of pseudohypertrophic muscular dystrophy  
图 1. 假肥大型肌营养不良家系图

先证者、先证者哥哥查体: 神志清, 精神好, 皮肤黏膜无黄染及皮疹, 全身浅表淋巴结未触及肿大。心、肺、腹查体未见异常。四肢张力、肌力正常, 腓肠肌稍肥大, Gower 征阴性。

辅助检查: 先证者: 大生化: 肌酸激酶 27,436 U/L, 肌酸激酶同工酶 381.4 U/L, 乳酸脱氢酶 1123 U/L,

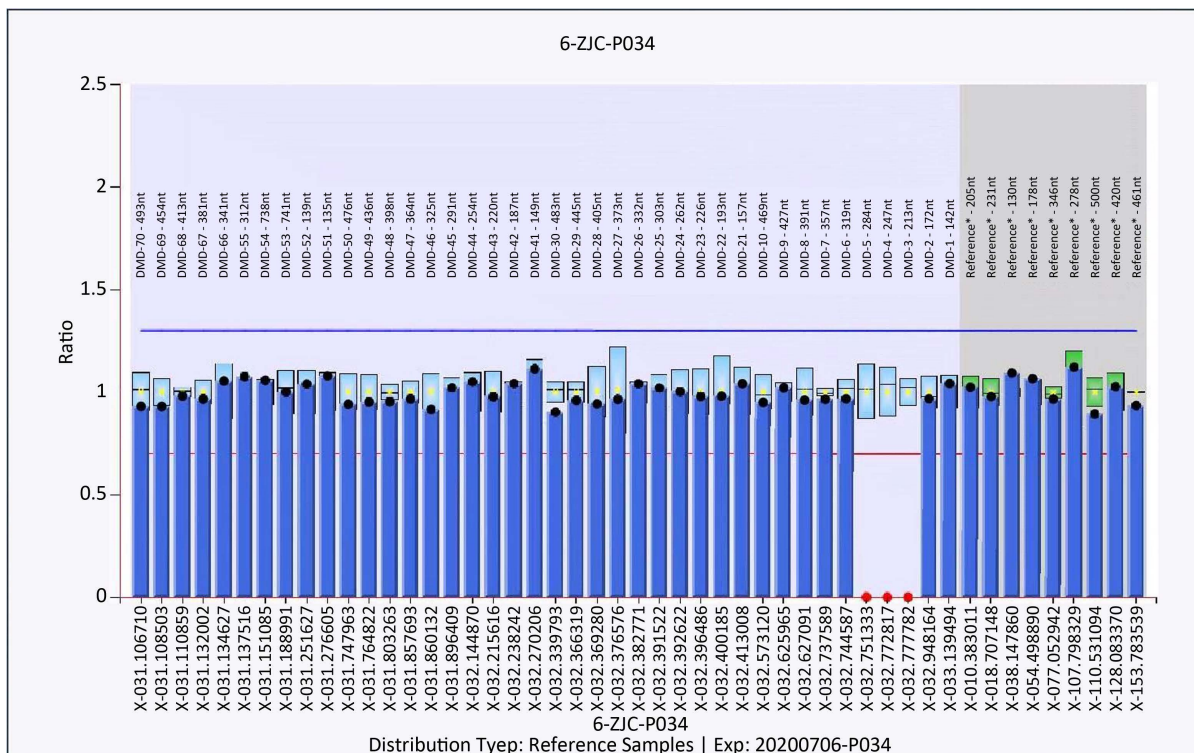
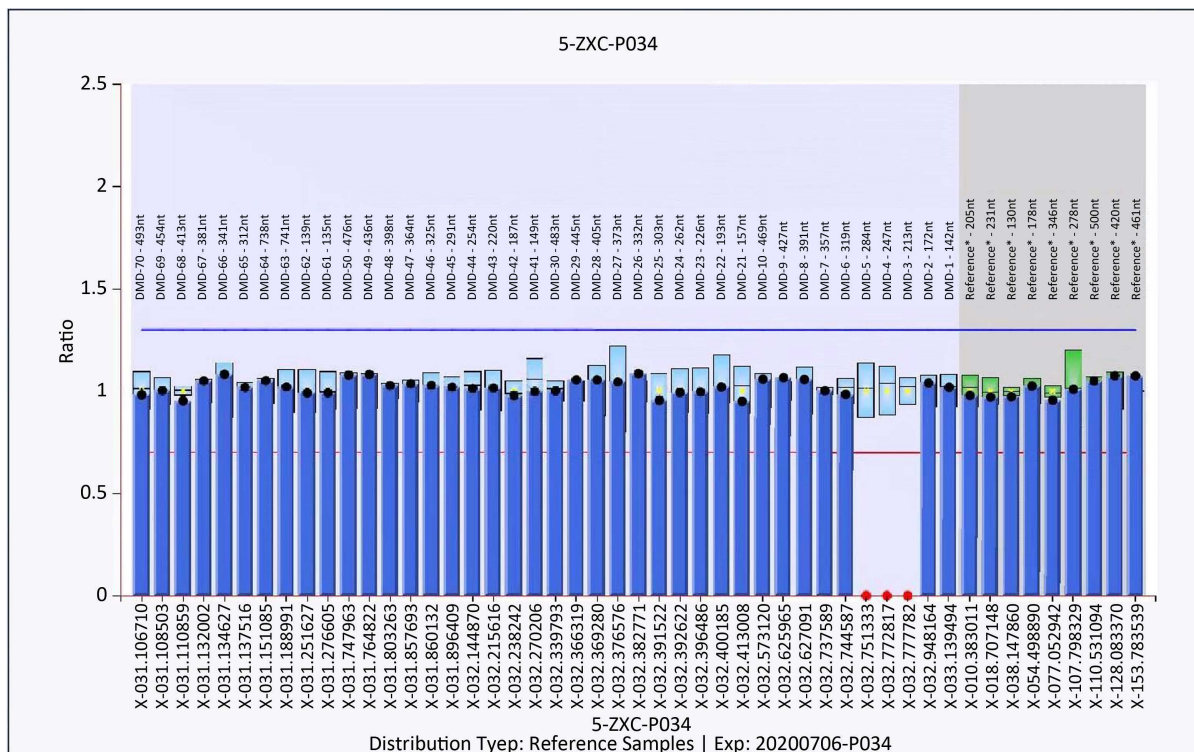
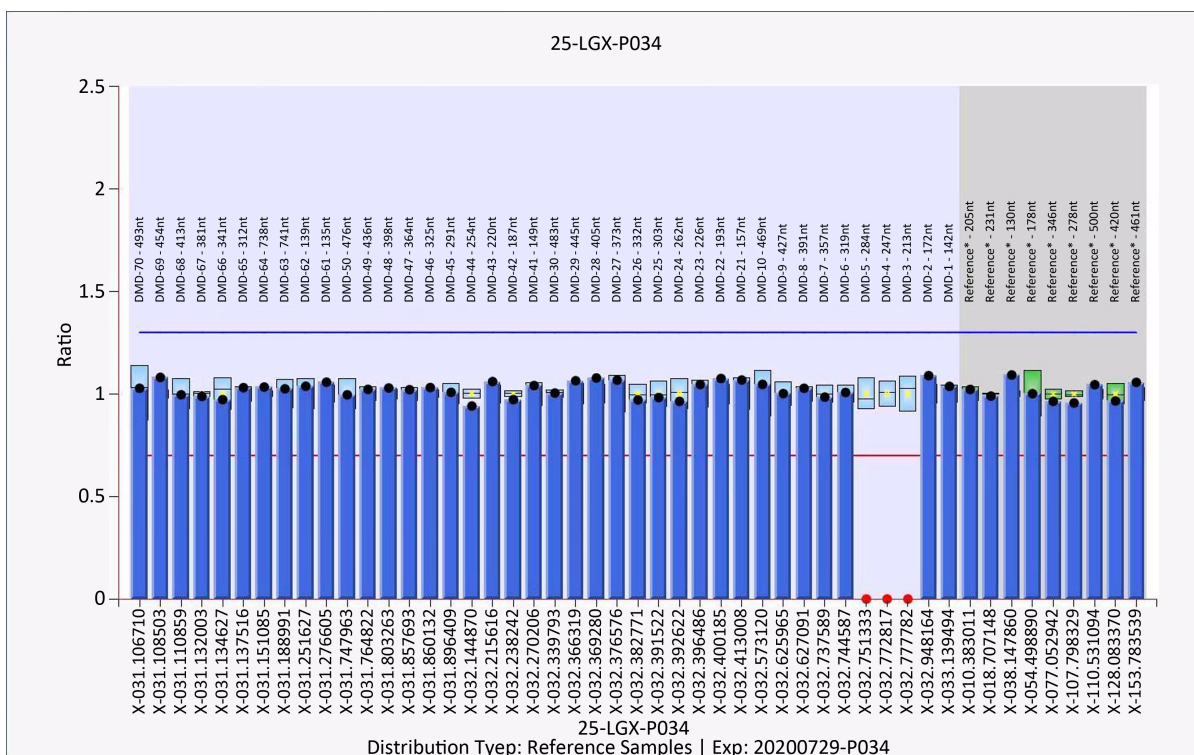


Figure 2. Large fragments of hemizygote deletions in the exon 3~5 region of the DMD gene in the proband  
图 2. 先证者 DMD 基因外显子 3~5 区域存在大片段半合子缺失

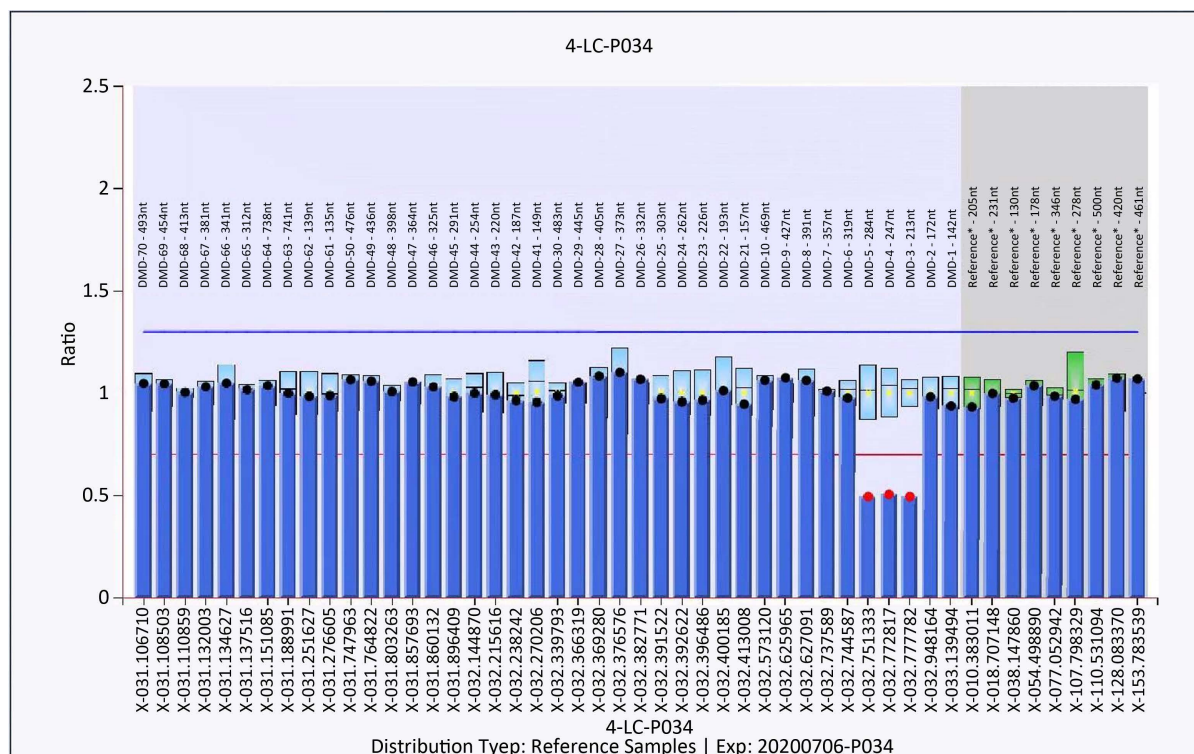


**Figure 3.** Large fragments of hemizygote deletions in the exon 3~5 region of the DMD gene in the proband's brother  
**图 3.** 先证者哥哥 DMD 基因外显子 3~5 区域存在大片段半合子缺失



**Figure 4.** Large fragments of hemizygote deletions in the exon 3~5 region of the DMD gene in the proband's maternal grandfather  
**图 4.** 先证者外祖父 DMD 基因外显子 3~5 区域存在大片段半合子缺失





**Figure 5.** Large fragments of heterozygous deletions in the exon 3~5 region of the DMD gene in the proband's mother  
**图 5.** 先证者母亲 DMD 基因外显子 3~5 区域存在大片段杂合缺失

$\alpha$ -羟丁酸脱氢酶 730 U/L, 谷丙转氨酶 246.0 U/L, 谷草转氨酶 360.9 U/L, 余值正常。先证者哥哥: 肌酸激酶 11,966 U/L, 肌酸激酶同工酶 202.7 U/L, 乳酸脱氢酶 730 U/L,  $\alpha$ -羟丁酸脱氢酶 541 U/L, 谷丙转氨酶 173.0 U/L, 谷草转氨酶 173.3 U/L, 余值正常。先证者及哥哥心脏彩超均正常。

入院后给予磷酸肌酸钠、维生素 C 营养治疗 1 周, 复查生化 ALT、CK、CK-MB 无好转。住院期间完善基因学检查。

经父母知情同意, 抽取先证者、先证者哥哥、母亲、外祖父、外祖母外周血行多重连接酶探针依赖扩增(MLPA)基因分析, 结果显示, 先证者 DMD 基因外显子 3~5 区域存在大片段半合子缺失(见图 2), 先证者哥哥及外祖父 DMD 基因外显子 3~5 区域均存在大片段半合子缺失(见图 3、图 4)。对其母进行基因分析, 结果示 DMD 基因外显子 3~5 区域存在大片段杂合缺失(见图 5)。

### 3. 讨论

假肥大型肌营养不良(PMD)是一种 X 连锁隐性遗传病, 包括 Duchenne 型肌营养不良(Duchenne muscular dystrophy, DMD)和 Becker 型肌营养不良(Becker muscular dystrophy, BMD), 在活产男婴中的发生率分别为 1/3500 和 1/20,000 [2], 主要由 X 染色体上编码 dystrophin 蛋白的 DMD 基因缺陷所致, 该基因是已知的最大的人类基因之一, 定位于 X 染色体短臂 2 区 1 带(Xp21), 基因编码区共有 79 个外显子, 全长跨越约 2500 kb, 编码 3685 个氨基酸, 由于该基因结构庞大、复杂, 具有极高的突变频率[3] [4], 基因变异形式主要包括片段缺失(69%~88.6%)、无义突变(10%~11.9%)、重复突变(8.8%~11%)、点突变和小的插入突变(1.3%~7%)、内含子区突变和其他类型突变等(3%) [5] [6] [7]。DMD 基因存在 2 个缺失热区, 第 1 个缺失热区在外显子 2~19 之间; 第 2 个缺失热区在外显子 45~54 之间[7]。PMD 患儿由于 dystrophin 蛋白缺乏, 导致骨骼肌细胞膜缺陷, 细胞内的肌酸激酶等外漏, 肌细胞坏死、纤维结缔组织及脂肪组织

增生, 其特征性临床表现为双侧腓肠肌肥大[8]。

Monaco 等[9]于 1988 年提出阅读框架原则, 认为若突变造成阅读框移码, 则产生截短且无功能的 dystrophin 蛋白, 表现为 DMD; 若基因缺失时, 临近的外显子保持阅读框不变, 表现为 BMD。DMD 早期起病隐匿, 婴幼儿期通常不会出现明显肌无力症状, 3~4 岁后才逐渐出现鸭步、爬楼梯受限、蹲下起立障碍等肌无力特征, 多数患儿 10 岁左右丧失独走功能, 20 岁左右死于严重的心肺功能不全[10] [11]。与 DMD 相比, BMD 发病年龄相对较晚, 常在青春期左右发病, 病情较轻、进展慢, 心脏受累通常是其主要表现, 独立运动能力可维持到 60 岁[12], 生活质量相对较高。

PMD 迄今为止缺乏有效的治疗措施[13], 主要采取激素和多学科综合管理以对症治疗为主[14], 糖皮质激素类药物是国际上得到肯定的治疗药物[15]。对于 DMD 基因第 51 号外显子突变的患者, 美国 Sarepta 公司发明了一种称作“Eteplirsen (磷酸二胺吗啉代寡聚物, PMO)”的靶向药物, 但疗效需进一步研究证实[16]。基因治疗和干细胞治疗目前主要有质粒 DNA 肌内给药及腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)为载体的替代疗法、骨髓间质干细胞(BMSCs)和脐血间质干细胞(CMSCs)移植[17], 目前仍处于基础和临床研究阶段。

由于本病起病隐匿, 因此在未出现肌无力症状前早期识别 PMD 患儿显得尤为重要, 研究表明在疾病早期或进展期, 肌酶谱均显著同步升高, 尤以 CK 和 CKMB 最为显著, 血清 CK 可高达正常上限值的 50~200 倍以上[18] [19] [20], 本研究中先证者及哥哥血清 CK 水平高达正常上限值得 548 和 239 倍。婴幼儿血清转氨酶升高尤其同时伴有心肌酶谱增高是早期筛查 PMD 的重要线索[21], 目前临床绝大部分患者可通过基因检测结合临床特点以确诊, 而不需进一步肌肉活检, 因此在未出现肌无力症状前早期识别, 及时基因检查以尽快确诊, 对指导治疗、改善预后、提高生活质量尤为重要。

精准医疗给单基因遗传病的诊断与治疗带来了机遇[22], 多重连接依赖探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)作为一种高通量、针对基因序列进行定位和半定量分析的技术, 可以作为 DMD 基因初步筛查外显子缺失和重复突变的一种方法。MLPA 技术是检测 DMD 基因缺失/重复突变的主要方法, 具有快速、高通量、敏感度与特异度高的特点[23] [24] [25]。60%~70%的患者可通过此方法, 另外 30%的患者为由 DMD 基因点突变(无义突变、引起移码的突变、内含子与外显子剪接接头突变)导致的, 则应用二代测序技术(next generation sequencing, NGS)检测[26] [27], 本报道中先证者及哥哥血清 CK、CK-MB 及 ALT 水平升高, 结合家族史, 疑似 PMD, 以 MPLA 技术对先证者进行大片段缺失/重复检测, 发现致病基因: DMD 基因 3~5 号外显子缺失, 先证者哥哥及外祖父存在相同位点缺失变异, 该变异发生于 DMD 基因缺失热区, 通过在 Edystrophin 网站(<http://edystrophin.genouest.org/>)查询不同国家提交的 DMD 基因与临床表型的相关资料, 先证者及其哥哥、外祖父诊断为 BMD。先证者姨妈及表哥于 2022 年 7 月以同技术行基因检测, 先证者姨妈同其母亲均系 DMD 基因携带者, 表哥未检出致病基因。电话随访, 两患儿自确诊至今未行治疗, 目前活动耐力较同龄儿稍差, 未发现明显进行性加重。外祖父于 2022 年 2 月份因“心力衰竭”去世, 享年 63 岁。

本病起病隐匿、早期不易被识别, 无有效治疗方法, 因此对 DMD 致病基因携带者检出是降低 PMD 患儿出生率的关键。本报道对该病的遗传、临床特征进行总结, 指导医师在临床工作中发现有可疑症状及家族史病例, 尤其是血清心肌酶谱增高且疗效欠佳时, 应及时行基因诊断。本报道先证者母亲因产前未行专业的产前遗传咨询与基因诊断而生育双胞胎患儿, 若有再生育要求须行孕期产前基因诊断, 或经体外人工授精检测囊胚中一个细胞[28], 以确定该囊胚的 DMD 基因是否正常, 对正常囊胚进行移植, 可以生育健康后代, 以避免悲剧重演。

本研究未对研究者进行干预治疗及长期随访, 无法评估早期干预治疗对延长存活时间及提高生活质量的意义。

## 参考文献

- [1] Mendell, J.R., Shilling, C., Leslie, N.D., *et al.* (2012) Evidence-Based Path to Newborn Screening for Duchenne Muscular Dystrophy. *Annals of Neurology*, **71**, 304-313. <https://doi.org/10.1002/ana.23528>
- [2] Emery, A.E. (1991) Population Frequencies of Inherited Neuromuscular Diseases—A World Survey. *Neuromuscular Disorders*, **1**, 19-29. [https://doi.org/10.1016/0960-8966\(91\)90039-U](https://doi.org/10.1016/0960-8966(91)90039-U)
- [3] Chakkalakal, J.V., Thompson, J., Parks, R.J. and Jasmin, B.J. (2005) Molecular, Cellular, and Pharmacological Therapies for Duchenne/Becker Muscular Dystrophies. *The FASEB Journal*, **19**, 880-891. <https://doi.org/10.1096/fj.04-1956rev>
- [4] 牛焕红, 陶东英, 成胜权. Becker/Duchenne 肌营养不良患儿临床表型与基因关联性预测分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(6): 602-607.
- [5] Bladen, C.L., Salgado, D., Monges, S., *et al.* (2015) The TREAT-NMD DMD Global Database: Analysis of More than 7,000 Duchenne Muscular Dystrophy Mutations. *Human Mutation*, **36**, 395-402. <https://doi.org/10.1002/humu.22758>
- [6] Ma, P., Zhang, S., Zhang, H., *et al.* (2018) Comprehensive Genetic Characteristics of Dystrophinopathies in China. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **13**, Article No. 109. <https://doi.org/10.1186/s13023-018-0853-z>
- [7] Tong, Y.R., Geng, C., Guan, Y.Z., *et al.* (2020) A Comprehensive Analysis of 2013 Dystrophinopathies in China: A Report from National Rare Disease Center. *Frontiers in Neurology*, **11**, Article ID: 572006. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.572006>
- [8] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会神经肌肉病学组, 中华医学会神经病学分会心电图与临床神经生理学组. 中国假肥大型肌营养不良症诊治指南[J]. 中华神经科杂志, 2016, 49(1): 17-20.
- [9] Monaco, A.P., Bertelson, C.J., Liechti-Gallati, S., Moser, H. and Kunkel, L.M. (1988) An Explanation for the Phenotypic Differences between Patients Bearing Partial Deletions of the DMD Locus. *Genomics*, **2**, 90-95. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(88\)90113-9](https://doi.org/10.1016/0888-7543(88)90113-9)
- [10] 张淑, 吴士文. 杜氏型肌营养不良症治疗进展[J]. 实用药物与临床, 2019, 22(9): 897-903.
- [11] 杨一娴, 李昌盛, 王蓓蕾, 党素英. 杜氏肌营养不良症治疗研究进展[J]. 中国医药导报, 2019, 16(31): 56-59.
- [12] Yazawa, M., Ikeda, S., Owa, M., *et al.* (1987) A Family of Becker's Progressive Muscular Dystrophy with Severe Cardiomyopathy. *European Neurology*, **27**, 13-19. <https://doi.org/10.1159/000116122>
- [13] Arora, H. (2019) Duchenne Muscular Dystrophy: Still an Incurable Disease. *Neurol India*, **67**, 717-723.
- [14] 北京医学会罕见病分会, 北京医学会神经内科分会神经肌肉病学组, 中国肌营养不良协作组. Duchenne 型肌营养不良多学科管理专家共识[J]. 中华医学杂志, 2018, 98(35): 2803-2814.
- [15] 杨书婷. 进行性肌营养不良的最新诊疗与评估进展[J]. 国际儿科学杂志, 2020, 47(2): 87-90.
- [16] McDonald, C.M., Campbell, C., Torricelli, R.E., *et al.* (2017) Ataluren in Patients with Nonsense Mutation Duchenne Muscular Dystrophy (ACT DMD): A Multicentre, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial. *Lancet*, **390**, 1489-1498. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31611-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31611-2)
- [17] Yiu, E.M. and Kornberg, A.J. (2015) Duchenne Muscular Dystrophy. *Journal of Paediatrics and Child Health*, **51**, 759-764. <https://doi.org/10.1111/jpc.12868>
- [18] 罗智强, 韩春锡, 廖建湘. 婴幼儿期 Duchenne 肌营养不良就诊原因及肌酶谱特点分析[J]. 海南医学, 2021, 32(3): 329-331.
- [19] 王丽波, 麻宏伟, 王琳, 胡曼, 任爽, 谭迎花. Duchenne 肌营养不良患儿血清心肌酶谱变化规律探讨[J]. 中国实用儿科杂志, 2011, 26(11): 843-845.
- [20] 陆盈, 孙顺昌. MLPA 技术对 Duchenne 肌营养不良症患者基因外显子缺失和重复的诊断价值[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(4): 12-15.
- [21] 曾兴颖, 吴华平, 曾苗, 虞雄鹰, 刘志强. 症状前期进行性肌营养不良患儿 24 例病例系列报告[J]. 中国循证儿科杂志, 2021, 16(5): 391-394.
- [22] 王妍. 精准医疗背景下假肥大型肌营养不良的诊断学研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2020, 47(5): 330-334.
- [23] Saxena, S., Gowdhaman, K., Kkani, P., *et al.* (2015) Improved Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (i-MLPA) for Rapid Copy Number Variant (CNV) Detection. *Clinica Chimica Acta*, **450**, 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.07.028>
- [24] Kong, X., Zhong, X., Liu, L., Cui, S., Yang, Y. and Kong, L. (2019) Genetic Analysis of 1051 Chinese Families with Duchenne/Becker Muscular Dystrophy. *BMC Medical Genetics*, **20**, Article No. 139. <https://doi.org/10.1186/s12881-019-0873-0>

- 
- [25] Aartsma-Rus, A., Ginjaar, I.B. and Bushby, K. (2016) The Importance of Genetic Diagnosis for Duchenne Muscular Dystrophy. *Journal of Medical Genetics*, **53**, 145-151. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103387>
- [26] Niba, E.T., Tran, V.K., Tuan-Pham L.A., *et al.* (2014) Validation of Ambiguous MLPA Results by Targeted Next-Generation Sequencing Discloses a Nonsense Mutation in the *DMD* Gene. *Clinica Chimica Acta*, **436**, 155-159. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.05.018>
- [27] 陆静, 姚如恩, 朱佳谊, 王纪文, 王剑. 高通量检测技术对假肥大型肌营养不良分子诊断的研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2017, 9(5): 308-312+324.
- [28] Ren, Z., Zeng, H.T., Xu, Y.W., *et al.* (2009) Preimplantation Genetic Diagnosis for Duchenne Muscular Dystrophy by Multiple Displacement Amplification. *Fertility and Sterility*, **91**, 359-364. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.11.044>