



电子、语音版

·论著·

DMD基因点突变致Becker型肌营养不良 一家系临床和基因学研究

梁春雨, 陈洁钰, 周倩, 朱杨帆, 杨兴隆
昆明医科大学第一附属医院神经内科, 云南昆明 650000

摘要:目的 探讨DMD基因错义突变导致的Becker型肌营养不良(BMD)一家系的临床和基因学特点。方法 对BMD患者一家系进行临床资料收集,对家系先证者及其母亲进行全外显子二代测序及Sanger验证。结果 家系3代中共有4例男性患者和1例女性携带者。分子遗传检测发现,先证者及其母亲携带DMD基因编码区c.503C>A(p.Ala168Asp)错义突变。结论 DMD基因c.503C>A(p.Ala168Asp)错义突变是家系中BMD患者的致病突变。

关键词:Becker型肌营养不良;Duchenne型肌营养不良;发病机制;治疗

中图分类号:R746.2

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2025.01.009

A clinical and genetic study of a family with Becker muscular dystrophy caused by point mutation of the DMD gene

LIANG Chunyu, CHEN Jieyu, ZHOU Qian, ZHU Yangfan, YANG Xinglong

Department of Neurology, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650000, China

Corresponding author: YANG Xinglong, Email: yxldoc11@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the clinical and genetic features of a family with Becker muscular dystrophy (BMD) caused by a missense mutation in the DMD gene. **Methods** Clinical data were collected from the family with BMD, and whole-exome sequencing and Sanger sequencing were performed for the proband and his mother. **Results** There were four male patients and one female carrier in the three generations of the family. Molecular genetic testing showed that the proband and his mother carried a missense mutation of c.503C>A (p.Ala168Asp) in the coding region of the DMD gene. **Conclusions** The missense mutation of c.503C>A (p.Ala168Asp) in the DMD gene is the pathogenic mutation in this family with BMD.

Keywords: Becker muscular dystrophy; Duchenne muscular dystrophy; pathogenesis; treatment

Becker型肌营养不良(Becker muscular dystrophy, BMD)和Duchenne型肌营养不良(duchenne muscular dystrophy, DMD)是由编码抗肌萎缩蛋白(dystrophin)的基因(DMD基因)缺陷引起的罕见的X连锁隐性遗传性神经肌肉疾病。DMD病情较为严重,男性新生儿的发病率为1:5 000,多在儿童早期发病,伴有慢性进行性对称性的骨骼肌无力、肌萎缩、认知功能障碍和心肌损害,DMD

患者通常于12岁前丧失行走能力,需坐轮椅,大多数患者于20~30岁时因严重肺功能受损或心力衰竭死亡。BMD在男性新生儿中的发病率为1:18 000^[1],其中50%为家族病例(DMD为38.5%),其临床表现与DMD相似,但病程进展缓慢,具有广泛的临床表现,包括最初于青少年时期起病,并在20岁以后出现丧失行动能力、无症状的血清肌酸激酶水平升高和假代谢症状、孤立性痉挛-肌

基金项目:云南省基础研究专项(202301AS070045)。

收稿日期:2024-04-17;修回日期:2024-11-18

作者简介:梁春雨(1998—),女,医学硕士,主要从事帕金森病的临床和基础研究。

通信作者:杨兴隆(1982—),男,副主任医师,研究生导师,医学博士,主要从事帕金森病的临床和基础研究。Email:yxldoc11@163.com。

痛综合征^[2]、轻度肢带无力、股四头肌肌病和扩张型心肌病等。目前BMD患者的存活期已接近正常生命年限。BMD多见于男性患者,女性多为无症状携带者,因为女性体内会发生随机的X染色体失活,而使体内呈现镶嵌型。目前,已有越来越多的文献报道,DMD和(或)BMD女性携带者发病的病例^[3-4],其症状有轻有重,但发病机制尚不明确,研究认为其与X染色体的偏斜失活有关^[5],即携带DMD突变的X染色体异常活化,使正常DMD基因弱或无表达,无法生成正常功能的抗肌萎缩蛋白,而表现为DMD和(或)BMD。

1 资料与方法

1.1 研究对象

先证者,男性,22岁,因“双下肢无力伴行走困难18年,加重3年”,至昆明医科大学第一附属医院神经内科门诊就诊。患者自述18年前无明显诱因出现对称性双下肢无力,并逐渐进展,表现为蹲下站起费力、上楼梯困难、走路易摔、足尖着地、臀中肌步态、活动后腓肠肌酸痛、右侧游离肩、骨盆带肌肉萎缩等症状,无翼状肩胛、智能障碍、胃肠功能障碍、脊柱侧弯、马蹄足等表现。因上述症状持续不缓解,为求进一步系统诊治来就诊。

患者神志清楚,精神正常,饮食尚可,二便如常,体重未见明显变化。既往史:患者7岁于玩耍时不慎跌倒致左肱骨髁上骨折,进行手术(具体术式不详)治疗后致左上肢活动受限;否认其他心脑血管、肺、肾、内分泌系统等重要脏器疾病史及传染病史。家族史:患者2名舅舅均于40岁左右离世(具体死因不详),其表哥于青少年时期死于心肌病。

体格检查:一般情况正常,内科系统检查未见异常。

专科体格检查:神清语利,精神正常。时间定向力正常,地点定向力正常,人物定向力正常,短时记忆力检查正常,远期记忆力正常,计算力正常,简易智力状态检查量表评分28分,蒙特利尔认知评估量表评分26分。右侧

游离肩,双侧腓肠肌假性肥大坚硬,骨盆带肌肉萎缩,其余肢体、面肌无萎缩及假肥大。肌张力对称,四肢肌力5级,足尖着地,行走呈典型臀中肌步态,高尔征阴性,未见不自主运动及共济失调。全身痛温觉、触觉正常;全身运动觉、位置觉、振动觉正常;定位觉、图形觉、两点辨别觉、实体觉正常。角膜反射、腹壁反射对称存在,四肢腱反射对称存在(++),霍夫曼征未引出,双侧掌颏反射(-)。髌阵挛、踝阵挛未引出,双侧病理征未引出,颈软,脑膜刺激征未引出,双侧克尼格征阴性。皮肤、毛发、指甲营养好,泌汗及大小便功能正常,皮肤划痕反应无异常。

1.2 家系基因检测方法

收集同意接受基因检测的先证者及其母亲的外周静脉血3 mL。对先证者及其母亲基因组DNA进行全外显子组捕获和测序,基于二代测序数据进行单核苷酸变异、小片段插入/缺失变异和大片段拷贝数变异等分析。

本检测由金域医学建立并进行验证。测序实验检测在Illumina测序平台上完成,二级分析主要采用GATK软件套装进行测序数据分析,测序片段通过BWA与UCSC hg19参考基因组进行比对分析。单核苷酸变异和小片段插入/缺失变异分析采用VEP软件对变异进行注释,同时基于ClinVar、OMIM、HGDM和gnomAD等遗传性疾病数据库、变异数据库及人群大规模测序数据库对变异进行筛选,同时采用多种公认计算机算法对变异可能的致病性进行预测和分类。

2 结果

2.1 家系调查

该家系3代共有4名患者(BMD家系的系谱图见图1)。先证者的大舅(II1)、二舅(II3)、表哥(III1)有类似的症状,其大舅、二舅的具体起病时间不详,且均于40余岁因心脏疾病先后离世,其表哥也于青少年时期死于心肌病,该家系中仅男性患者致病,符合X连锁隐性遗传的方式。

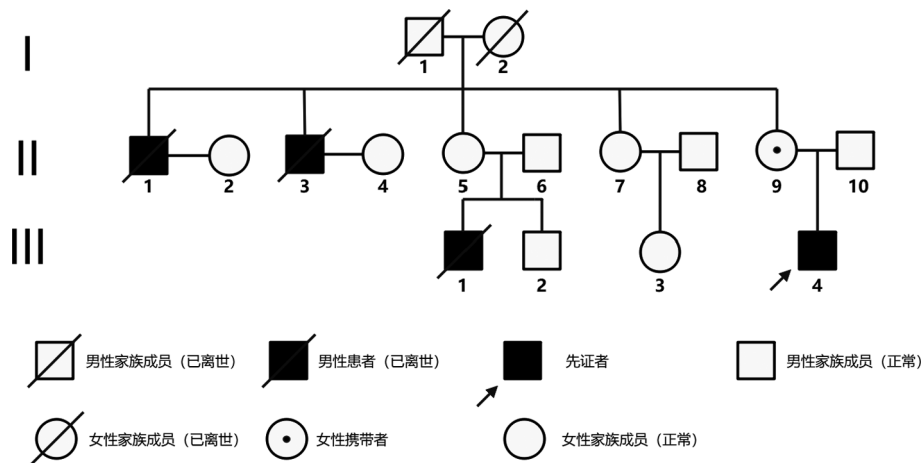


图1 BMD家系的系谱图

2.2 辅助检查

先证者血清肌酸激酶 15 780 U/L(参考值 25~200 u/L)、肌酸激酶同工酶 MB 191 u/L(参考值 0~24 u/L)、乳酸脱氢酶 1 144 u/L(参考值 114~240 u/L)、天冬氨酸氨基转移酶 233 u/L(参考值 5~40 u/L)、丙氨酸氨基转移酶 303 u/L(参考值 5~40 u/L)、肌酸激酶 MB 同工酶质量 130.10 ng/mL(参考值 0.1~7.2 ng/mL)、肌钙蛋白 0.359 ng/mL(参考值 0~0.033 ng/mL)、肌红蛋白 679.10 ng/mL(参考值 0.0~154.9 ng/mL)、 α -羟丁酸脱氢酶 201.5 u/L(参考值 72~182 u/L)均升高,其余血常规、血生化、凝血功能等指标未见明显异常。

双下肢肌电图显示:肌源性异常。

心电图显示:①窦性心律;②T波改变(V2、V3 导联 T 波高尖,I、AVL、V5、V6 导联 T 波倒置、双相)。

超声心动图显示:左心房、左心室内径增大,左心室壁运动普遍减弱,左心室收缩功能指标减低,左心室舒张

功能不全 I 级(考虑为心肌受累疾患)。

左肘关节 CT 平扫+二、三维成像显示:左肱骨滑车、鹰嘴陈旧性骨折并左肘关节脱位。

小腿(胫腓骨)MRI 平扫显示:肌肉中央高信号提示肌肉内部有脂肪组织浸润,可见先证者双侧小腿肌肉萎缩及广泛脂肪浸润,Goutallier 分级 2 级,其中双侧腓肠肌严重受累,胫骨后肌受累最轻。见图 2A~图 2D。

2.3 基因检测结果

经过全外显子基因检测,先证者的第 6 外显子存在 c.503C>A(p.Ala168Asp)的错义突变(图 3A、图 3B),编码氨基酸由丙氨酸(alanine, Ala)变为天冬氨酸(aspartic acid, Asp)。先证者的母亲也携带同样的错义突变(图 3C),因此可以确认先证者的致病基因来自其母亲。先证者姨母(II 5、II 7)拒绝行基因检测,其余患者均已经离世,无法完成基因验证。文献检索显示,c.503C>A(p.Ala168Asp)为已知致病突变^[6]。

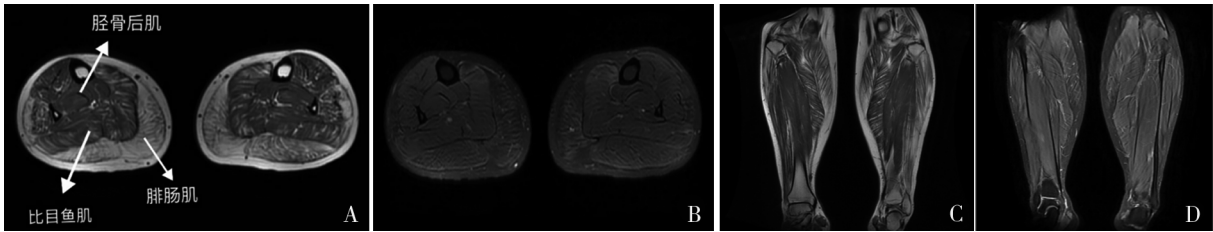


图2 BMD 先证者双侧胫腓骨 MRI 平扫图

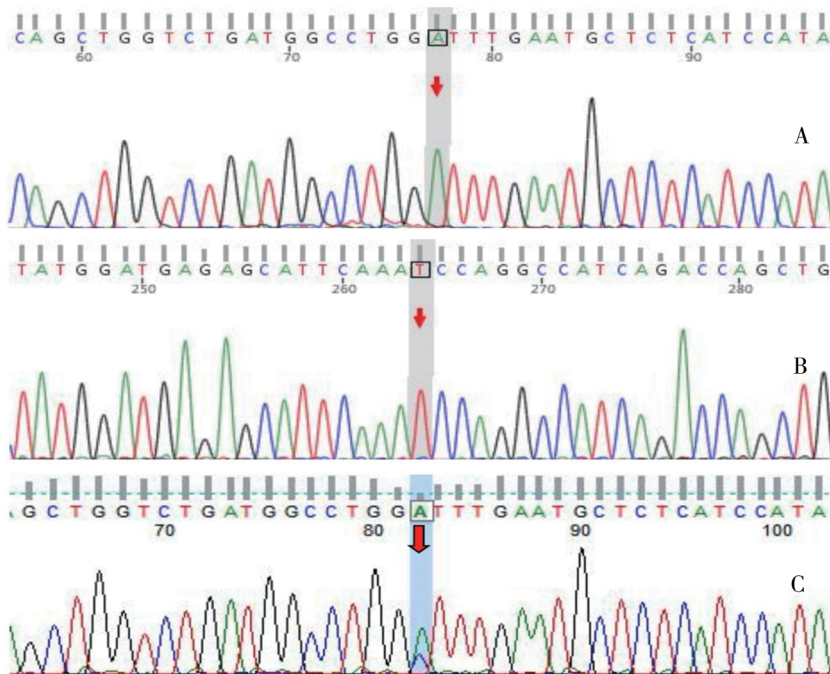


图3 *DMD* 基因全外显子二代测序结果 Sanger 测序验证图

3 讨论

BMD和DMD都属于假肥大性肌营养不良,是由编码抗肌萎缩蛋白的DMD基因突变所致的X连锁隐性遗传性神经肌肉疾病,以进行性加重的对称性肌无力和肌萎缩为临床特点,主要累及骨骼肌^[7]和心肌,发病过程中可伴有认知功能障碍。虽然二者表现相似,但是在发病年龄、临床特征、基因变异的特点以及预后方面都有较大的差异。

DMD基因编码抗肌萎缩蛋白,抗肌萎缩蛋白可稳定肌肉细胞的细胞膜,抵抗与肌肉收缩和拉伸相关的机械力^[8]。作为细胞骨架的主要成分,抗肌萎缩蛋白与肌纤维膜上的多种糖蛋白结合为抗肌萎缩蛋白相关蛋白复合体,这些复合体可与基膜层粘连蛋白连接,以维持肌纤维的稳定性,其充当了肌膜跨膜糖蛋白复合物和肌动蛋白纤维之间的纽带,结合后可保护肌动蛋白丝免遭解聚。一旦缺乏抗肌萎缩蛋白,肌膜的完整性丧失、肌膜受损,导致血清中肌酸激酶升高、钙流入肌纤维内,进而促使钙依赖性蛋白酶的激活,出现肌纤维坏死、变性和再生的循环,随着肌膜纤维化和肌肉被脂肪替代不断增加,肌肉收缩功能丧失。抗肌萎缩蛋白除了保护作用外,还可以作为细胞信号传导途径中的信号分子,例如在肌肉细胞生长、肌肉稳态和萎缩/肥大等路径中进行信息传递。在本研究中,先证者肌酶显著升高,提示肌纤维的破坏,同时该患者腓腓肌假性肥大同样显著,胫腓骨MRI提示先证者双侧小腿肌群萎缩并伴有广泛的脂肪浸润。

DMD基因定位于X染色体短臂2区1带(Xp21),cDNA长14 kb,含79个外显子,编码3685个氨基酸,组成427 kD的细胞骨架蛋白-抗肌萎缩蛋白,该基因全长约为2300 kb,相当于人类全基因组的0.1%,占整个X染色体的1.5%,是迄今为止发现的人类最大基因^[9]。约75%的DMD基因突变为基因内缺失(65%)或重复(10%),其余25%为点突变,包括无义和错义突变、小的插入/缺失或剪接改变^[10]。其中点突变导致的无义突变较为常见,错义突变较为罕见。在基因突变水平,抗肌萎缩蛋白功能缺失或部分保留之间的差异可以用“开放阅读框(open reading frame, ORF)”的概念来解释。一个完整的基因包括ORF序列以及非编码序列,ORF是指从起始密码子开始,结束于终止密码子的一段连续且可被3整除的碱基序列,其间不存在使翻译中断的终止密码子,是能翻译成氨基酸的三联体构成的阅读框。破坏ORF(或“框外”突变)的突变会导致翻译过早被终止而产生无功能且不稳定的截短蛋白,从而发生DMD。保留部分阅读框架(或“框内”突变)的基因会导致抗肌萎缩蛋白保留一定程度的功能,从而发生BMD。研究发现,超过90%的DMD基因引起的变异遵循DNA的ORF^[11]。然而重复变异在DMD和BMD中过多地出现,导致了不遵循ORF的变异,目前已有多例

文献报道^[12]。在本研究中,患者携带的c.503C>A(p.Ala168Asp)基因突变为错义突变,目前大多数DMD基因错义突变的意义不确定,且其致病性较为复杂^[13-14]。研究表明,引发该疾病的错义突变发生在N末端肌动蛋白结合域(N-terminal actin-binding domain, N-ABD或ABD1),致病的错义突变体通过降低蛋白质热力学稳定性,并增加其错误折叠来影响N-ABD结构^[15],降低功能性抗肌萎缩蛋白的浓度,从而表现为BMD表型。本研究中的致病突变Ala168Asp位于抗肌萎缩蛋白的 α 螺旋^[16],与其他氨基酸相比,Ala具有最高的螺旋倾向性,因此其突变为Asp会降低螺旋稳定性。此外,第168位的Asp与同一螺旋上第165位的Asp相差3个残基,产生的静电排斥也同样影响其螺旋稳定性。基于以上证据,支持Ala168Asp通过影响抗肌萎缩蛋白的空间结构增加其错误折叠与聚集,从而降低抗肌萎缩蛋白的浓度与功能,导致患者发病。

此外,抗肌萎缩蛋白还表达于许多与认知功能相关的大脑区域,如大脑皮质、海马体。已有研究发现,BMD患者存在认知功能障碍、神经发育障碍和情绪/行为障碍^[17]。目前尚未发现本例患者存在认知及精神行为异常,但仍需要进一步追踪随访。

BMD目前尚无治愈的方法,临床多以对症综合治疗为主,包括使用全身类固醇、改善心肺功能、脊柱侧凸矫正手术、多学科护理管理以及长期的营养咨询等^[18]。其中,口服皮质类固醇是标准治疗方法,但应考虑激素治疗的不良反应,如行为改变、体重增加、库欣样外观、骨质疏松、白内障、高血压和骨骼生长发育迟缓等。通常在使用泼尼松每日0.75 mg/kg延缓炎症的同时,需补充钙剂预防骨质疏松,补钾稳定内环境,予抗酸剂保护胃黏膜,予维生素E、辅酶Q10、艾地苯醌改善线粒体能量供应。对于BMD累及心肌所致的扩张型心肌病,其治疗宗旨与慢性心力衰竭治疗基本一致。已有多项研究证实,血管紧张素转换酶抑制剂^[19]和 β 受体阻滞剂可以作为该疾病的一线心脏保护用药,以改善BMD合并心肌损害患者的心功能、延缓心室重塑及心肌纤维化进程,进而改善心脏疾病的预后^[20]。近年来,BMD的干预性临床试验数量增加^[21],旨在通过基因治疗和细胞替代治疗纠正突变或替换功能障碍/缺陷的蛋白,包括外显子跳跃、基因转移和基因编辑试验,为BMD患者提供了有前途的治疗策略。

总之,BMD是DMD基因突变引起的假肥大性肌营养不良,该疾病较DMD预后好。BMD的精确基因诊断对于携带者检测和遗传咨询、心脏监测以及为预后和治疗提供信息具有重要意义。根据临床表现、遗传方式、起病年龄、家族史以及血清酶测定、肌电图、基因检测和肌肉活检早期明确诊断,并及早使用血管紧张素转换酶抑制剂和 β 受体阻滞剂等药物治疗,可延缓疾病进展,改善

预后。

参 考 文 献

- [1] LI M, HAN YL, WANG SY, et al. Becker muscular dystrophy: case report, review of the literature, and analysis of differentially expressed hub genes[J]. *Neurol Sci*, 2022, 43(1): 243-253.
- [2] FLANIGAN KM. Duchenne and Becker muscular dystrophies[J]. *Neurol Clin*, 2014, 32(3): 671-688.
- [3] NAGABUSHANA D, POLAVARAPU K, BARDHAN M, et al. Comparison of the carrier frequency of pathogenic variants of *DMD* gene in an Indian cohort[J]. *J Neuromuscul Dis*, 2021, 8(4): 525-535.
- [4] LIN JF, LI H, LIAO ZY, et al. Comparison of carrier and *de novo* pathogenic variants in a Chinese DMD/BMD cohort[J]. *Front Neurol*, 2021, 12: 714677.
- [5] SOLTANZADEH P, FRIEZ MJ, DUNN D, et al. Clinical and genetic characterization of manifesting carriers of *DMD* mutations[J]. *Neuromuscul Disord*, 2010, 20(8): 499-504.
- [6] ROBERTS RG, GARDNER RJ, BOBROW M. Searching for the 1 in 2 400 000: a review of dystrophin gene point mutations[J]. *Hum Mutat*, 1994, 4(1): 1-11.
- [7] RIPOLONE M, VELARDO D, MONDELLO S, et al. Muscle histological changes in a large cohort of patients affected with Becker muscular dystrophy[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2022, 10(1): 48.
- [8] ESCOBAR-HUERTAS JF, VACA-GONZÁLEZ JJ, GUEVARA JM, et al. Duchenne and Becker muscular dystrophy: cellular mechanisms, image analysis, and computational models: a review[J]. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2024, 81(6/7): 269-286.
- [9] NISHIDA A, MINEGISHI M, TAKEUCHI A, et al. Tissue- and case-specific retention of intron 40 in mature dystrophin mRNA[J]. *J Hum Genet*, 2015, 60(6): 327-333.
- [10] FRATTER C, DALGLEISH R, ALLEN SK, et al. EMQN best practice guidelines for genetic testing in dystrophinopathies[J]. *Eur J Hum Genet*, 2020, 28(9): 1141-1159.
- [11] AARTSMA-RUS A, VAN DEUTEKOM JCT, FOKKEMA IF, et al. Entries in the Leiden Duchenne muscular dystrophy mutation database: an overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule[J]. *Muscle Nerve*, 2006, 34(2): 135-144.
- [12] GANGOPADHYAY SB, SHERRATT TG, HECKMATT JZ, et al. Dystrophin in frameshift deletion patients with Becker muscular dystrophy[J]. *Am J Hum Genet*, 1992, 51(3): 562-570.
- [13] MAH JK, SELBY K, CAMPBELL C, et al. A population-based study of dystrophin mutations in Canada[J]. *Can J Neurol Sci*, 2011, 38(3): 465-474.
- [14] TOMAR S, MOORTHY V, SETHI R, et al. Mutational spectrum of dystrophinopathies in Singapore: insights for genetic diagnosis and precision therapy[J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2019, 181(2): 230-244.
- [15] SINGH SM, KONGARI N, CABELLO-VILLEGAS J, et al. Missense mutations in dystrophin that trigger muscular dystrophy decrease protein stability and lead to cross-beta aggregates[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(34): 15069-15074.
- [16] CHAKRABARTTY A, KORTEMME T, BALDWIN RL. Helix propensities of the amino acids measured in alanine-based peptides without helix-stabilizing side-chain interactions[J]. *Protein Sci*, 1994, 3(5): 843-852.
- [17] PASCUAL-MORENA C, CAVERO-REDONDO I, REINA-GUTIÉRREZ S, et al. Prevalence of neuropsychiatric disorders in Duchenne and Becker muscular dystrophies: a systematic review and meta-analysis[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2022, 103(12): 2444-2453.
- [18] MAGOT A, WAHBI K, LETURCQ F, et al. Diagnosis and management of Becker muscular dystrophy: the French guidelines[J]. *J Neurol*, 2023, 270(10): 4763-4781.
- [19] STALENS C, MOTTÉ L, BÉHIN A, et al. Improved cardiac outcomes by early treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors in Becker muscular dystrophy[J]. *J Neuromuscul Dis*, 2021, 8(4): 495-502.
- [20] ANGELINI C, MAROZZO R, PEGORARO V. Current and emerging therapies in Becker muscular dystrophy (BMD) [J]. *Acta Myol*, 2019, 38(3): 172-179.
- [21] STRAUB V, GUGLIERI M. An update on Becker muscular dystrophy[J]. *Curr Opin Neurol*, 2023, 36(5): 450-454.

责任编辑:龚学民