

DYSF 基因突变相关肢带型肌营养不良病例 1 例

李君^{1,2*} 桑艺祯^{1*} 刘威¹ 崔晓萌¹ 陆毅康¹ 李伟¹ 马骊¹ 刘欣颖¹

1 上海市第十人民医院风湿免疫科 2 上海市老年医学中心老年病科

DOI:10.32629/bmtr.v8i1.18549

[摘要] 肢带型肌营养不良2型是一种以进行性的肌肉无力和萎缩为特征的肌营养不良的一种疾病。本例患者为28岁年轻男性,因“双下肢后侧肌肉疼痛6月余”为主诉入院。患者6月前查ALT、AST、磷酸肌酸激酶升高,随访期间肝功能及肌酸激酶均超过正常范围。追问病史,患者自述10年前体检时发现肝功能异常,曾至华山医院行肝炎病毒及肝穿刺检查,结果均未见异常。入院时四肢肌力V级,四肢肌张力正常,四肢活动无明显受限。肌肉MRI提示两侧大腿多组肌肉水肿样表现,两侧腓肠肌内侧头、外侧头及比目鱼肌异常信号灶。肌肉活检结果:肌纤维变性,小灶血管周围少量淋巴细胞浸润。基因检测提示DYSF基因(NM-003494.4)第47外显子存在c.5231G>A变异,第48外显子存在c.5385_5393del变异。

[关键词] 肢带型肌营养不良; DYSF基因突变; 基因检测

中图分类号: R596.2 文献标识码: A

A Case Report of Limb-Girdle Muscular Dystrophy Linked to DYSF Gene Mutation

Jun Li^{1,2*} Yizhen Sang^{1*} Wei Liu¹ Xiaomeng Cui¹ Yikang Lu¹ Wei Li¹ Li Ma¹ Xinying Liu¹

1 Department of Rheumatology and Immunology, Shanghai Tenth People's Hospital

2 Department of Geriatrics, Shanghai Geriatric Medical Center

[Abstract] Limb-Girdle Muscular Dystrophy Type 2 is a form of muscular dystrophy characterized by progressive muscle weakness and atrophy. This case involves a 28-year-old male admitted with the chief complaint of "bilateral posterior thigh muscle pain for over 6 months." Six months prior, laboratory tests revealed elevated ALT, AST, and creatine phosphokinase (CPK) levels. During follow-up, his liver function tests and CPK remained persistently above normal ranges. Further history-taking revealed that the patient had been diagnosed with abnormal liver function during a routine examination 10 years earlier. At that time, he underwent hepatitis virus testing and liver biopsy at Huashan Hospital, both of which showed no significant abnormalities. On admission, physical examination demonstrated that muscle strength showed Grade V in all limbs, muscle tone and Range of motion were normal. Muscle MRI findings showed that edema-like changes in multiple muscle groups of Bilateral thigh muscles, abnormal signal foci of Medial/lateral gastrocnemius and soleus muscles. Muscle biopsy results showed that focal myofiber degeneration and minor perivascular lymphocytic infiltration. Genetic testing identified two pathogenic variants in the DYSF gene (NM_003494.4). One is c.5231G>A (missense variant) in Exon 47, another is c.5385_5393del (in-frame deletion) in Exon 48.

[Key words] limb-girdle muscular dystrophy type 2B; mutation of DYSF; genetic test

Dysferlin (DYSF) 基因突变, 是肢带型肌营养不良2型 (limb-girdle muscular dystrophy 2B, LGMD2B) 的最常见病因。DYSF 基因编码蛋白质为dysferlin, 该蛋白在肌肉细胞膜完整性的维持及肌肉细胞膜的修复损伤方面, 发挥着非常重要的作用。DYSF 基因发生突变后, 可导致dysferlin蛋白的功能缺陷, 从而会影响肌肉细胞的正常结构和功能^[1-6]。LGMD2B是一种以进行性的肌肉无力和萎缩为特征的肌营养不良的一种疾病, 主要表现为肩

胛带和骨盆带肌不同程度的无力和萎缩。多数患者在19-27岁期间发病, 早期可以单纯表现为无症状的高肌酸激酶血症, 中后期绝大多数的患者病情进展, 出现小腿后群肌肉萎缩及血肌酸激酶水平明显升高^[7,8]。本文报道了1例DYSF基因的突变位点基因检测结果和遗传学特征, 以期提高临床医师对LGMD2B型临床表型和DYSF基因新突变的认识。

1 临床资料

1.1 一般资料

患者,男,28岁,主因“双下肢后侧肌肉疼痛6月余”于2023年2月14日入住我院风湿免疫科。患者2022年8月剧烈运动后,出现双侧腿部后侧肌肉胀痛,小腿为著,较剧烈,休息后无缓解,尚可行动。2022.09.16查丙氨酸氨基转移酶(ALT)177.8u/l,天门冬氨酸氨基转移酶(AST)165.1u/l,乳酸脱氢酶(LDH)602u/l,磷酸肌酸激酶(CK)11200.0u/l,考虑“横纹肌溶解”,予维生素C 0.1g qd po治疗。腿部胀痛较前缓解,后定期随访结果如下:22.10.14复查ALT 139u/l,AST 99.6u/l,LDH 573.0u/l,CK>4267u/l。22.11.12复查ALT 187.2u/l,AST 155u/l,LDH 586u/l,CK>8000.0u/l,予碳酸氢钠片2g tid治疗,两周后患者自行停药。23.01.14复查ALT 92.6u/l,AST 113.4u/l,LDH 672u/l,CK>4267u/l,予碳酸氢钠片2g tid治疗。23.02.02复查ALT 47.4u/l,AST 85.4u/l,LDH 526u/l,CK>4267u/l。为明确诊治,2023-02-13门诊拟“肌炎待查”收入住院。

既往史:2013年体检发现肝功能异常,自述当时查肝炎指标未见异常、肝穿未见明显异常(未见报告),予以多烯磷脂酰胆碱、谷胱甘肽片等护肝药物治疗后ALT、AST仍高,改为口服垂盆草颗粒1片 tid 治疗后ALT降至正常范围,AST维持在轻度升高范围内。有鼻炎病史数年,现口服鼻渊舒口服液10ml tid、蒲地蓝消炎口服液10ml tid对症治疗。个人史无殊,父母非近亲婚配。

入院体格检查:生命体征平稳,双下肢后侧肌肉明显压痛,余无殊。

1.2 辅助检查

入院后查【肝功能】ALT 58.1U/L ↑,AST 91.7U/L ↑,LDH 514U/L,CK>4267U/L,抗肌炎抗体谱26项阴性,血常规、自身抗体、感染指标、甲功均阴性。双侧颈部淋巴结结果:双侧淋巴结肿大,左侧最大:14*5mm,右侧最大:16*6mm。肌电图结果:双下肢慢性神经源性损害,累及L4神经根。肝胆超声结果:脂肪肝,肝右叶稍高回声区,局灶性脂肪浸润可能;胆囊壁稍毛糙。股骨MRI结果:(1)两侧大腿多组肌肉水肿样表现,肌炎?(2)两侧股骨上段骨髓腔内信号异常,红黄骨髓分布不均?胫腓骨MRI结果:两侧腓肠肌内侧头、外侧头及比目鱼肌异常信号灶(图1)。肌肉活检结果:肌纤维变性,小灶血管周围少量淋巴细胞浸润。免疫组化结果:desmin(+),lca(-),cd68(-),sma(-),h-caldesmon(-),nse(-),cd4(-),cd8(-),cd20(-),ck-p(-),ki67(-)。特殊染色结果:pas(-),刚果红(-)(图2A,B)。电镜报告示肌原纤维大部分排列基本规则,偶见萎缩肌细胞,局部肌间质偶见炎症细胞浸润,余未见特异超微结构病理改变(图2C,D)。肌肉组织病理染色示Dysferlin着色明显减弱相较于阳性对照(图3)。基因检测结果:DYSF基因(NM-003494.4)第47外显子存在c.5231G>A(p.Gly1744Asp)变异,第48外显子存在c.5385_5393del(p.Arg1796_Gly1798del)变异(图3)。肺CT、【肾、膀胱、前列腺、胰脾、甲状腺、双侧腋下淋巴结、双下肢动静脉、双侧腹股沟淋巴结】超声、心电图、心超结果均未见明显异常。

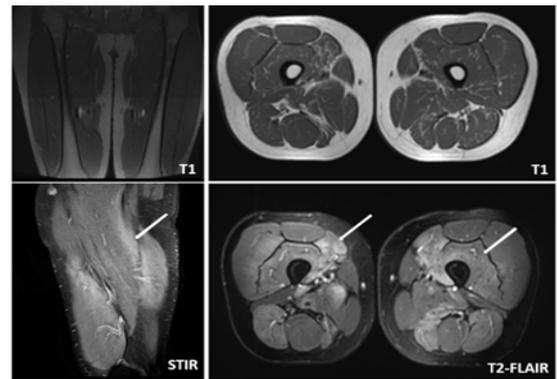


图1 大腿肌肉MRI(T1)和小腿肌肉MRI(STIR和T2-FLAIR)

T1示两侧大腿多组肌肉水肿样表现;STIR和T2-FLAIR示两侧腓肠肌内侧头、外侧头及比目鱼肌异常信号灶。

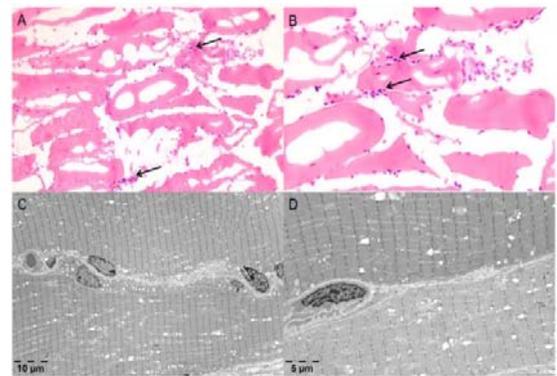


图2 肌肉活检病理及电镜图

病理示肌纤维变性,小灶血管周围少量淋巴细胞浸润(A,B);电镜报告示肌原纤维大部分排列基本规则,偶见萎缩肌细胞,局部肌间质偶见炎症细胞浸润(C,D),箭头示淋巴细胞浸润。

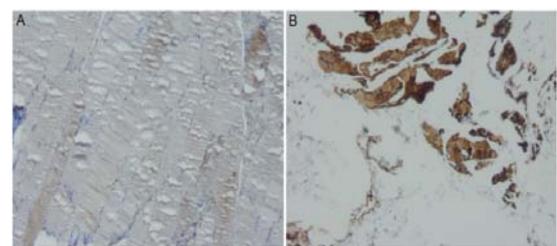


图3 Dysferlin着色明显减弱(A)和Dysferlin阳性对照(B)

2 治疗

患者入院后予以甲泼尼龙片8mg bid,5%葡萄糖500ml+维生素C 1g qd、0.9%氯化钠500ml qd水化,碳酸氢钠125ml qd碱化尿液,垂盆草颗粒、多烯磷脂酰胆碱、谷胱甘肽护肝治疗,入院3周后复查ALT 19.1u/l,AST 36.1u/l,LDH 261u/l,CK 2537u/l,双下肢后侧肌肉疼痛明显好转。

2.1 分子遗传学检查及变异分析

患者基因检测结果见表1。患者其中一个位点位于DYSF基因(NM-003494.4)第48外显子存在缺失变异,c.5385_5393del

(p. Arg1796_Gly1798del) 来源于父亲, 该突变为杂合框内缺失突变, Clinvar数据库尚未收录该变异位点, 该位点在普通东亚人群中的频率未见报道, 综合判定为临床意义未明变异。另一位点位于DYSF基因(NM-003494.4)第47外显子存在杂合变异, c. 5231G>A(p. Gly1744Asp) 来源于母亲(图4), 该突变为杂合错义突变, Clinvar数据库尚未收录该变异位点, 该位点在普通东亚人群中的频率未见报道, REVEL、SIFT及Poly Phen-2软件对蛋白功能预测均为有害, 综合判定为临床意义未明变异。结合患者的临床表现及辅助检查结果, 判定这两个位点的突变具有致病性(表1)。

表1 先证者及其父母DYSF基因测序结果

基因	染色体位置	转录本编号	外显子	核苷酸改变	合子性	ACMG分类	变异来源
DYSF	Chr2:71894536	NM_003494.4	Exon48	c. 5385_5393del (p. Arg1796_Gly1798del)	杂合	临床意义未明变异	父亲
DYSF	Chr2:7189592-71895934	NM_003494.4	Exon47	c. 5231G>A (p. Gly1744Asp)	杂合	临床意义未明变异	母亲

注: exon: 外显子; c. 5231G>A: 编码区第5231号核苷酸由鸟嘌呤变异为腺嘌呤; c. 5385_5393del: 编码区第5385至5393号核苷酸发生框内缺失。

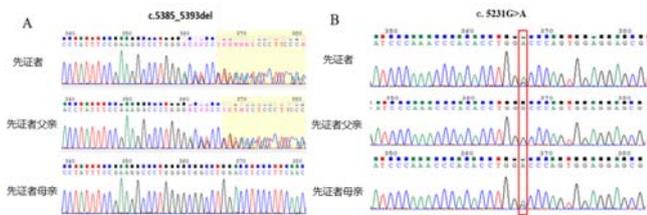


图4 先证者及其父母DYSF基因测序结果

(A) DYSF基因第48外显子存在c. 5385_5393del (p. Arg1796_Gly1798del) 变异; (B) DYSF基因第47外显子存在c. 5231G>A (p. Gly1744Asp) 变异。

3 讨论

本例患者的主要临床特征表现为患者多年无相关临床症状, 体检时发现肝酶升高, 10年之后出现了双下肢后侧肌肉疼痛, 化验提示血清CK水平升高, 糖皮质激素短期内可缓解肌肉疼痛, 长期疗效不佳。感染指标、自身抗体及特殊肌炎抗体检测均阴性, 双下肢慢性神经源性损害, 累及L4神经根, 股骨MRI提示两侧大腿多组肌肉水肿样表现, 两侧股骨上段骨髓腔内信号异常, 胫腓骨MRI提示两侧腓肠肌内侧头、外侧头及比目鱼肌异常信号灶, 肌肉活检结果显示肌纤维变性, 小灶血管周围少量淋巴细胞浸润。免疫组化示desmin(+), lca(-), cd68(-), sma(-), h-caldesmon(-), nse(-), cd4(-), cd8(-), cd20(-), ck-p(-), ki67(-)。特殊染色示pas(-), 刚果红(-)。电镜报告示肌原纤维大部分排列基本规则, 偶见萎缩肌细胞, 局部肌间质偶见炎症细胞浸润, 余未见特异超微结构病理改变。综合分析患者的临床表现及各项检查结果, 不考虑肌炎。结合患者10年前已出现无症状性肝酶升高, 基因测序提示存在DYSF基因杂合突变, ACMG(American College of Medical Genetics)分类提示临床意义未明变异, 软件预测该突变为有害性, 我们认为本例患者的临床表现与DYSF基因相

关, DYSF基因变异相关疾病表型主要有: 常染色体隐性肢带型肌营养不良2型、胫前起病远端型肌病、Miyoshi肌营养不良1型。本例患者存在两个突变位点, 其中一个位点c. 5385_5393del (p. Arg1796_Gly1798del) 来源于父亲, 另一位点c. 5231G>A (p. Gly1744Asp) 来源于母亲, 这两个位点目前均未见致病性报道, 但患者病情进展缓慢, 主要累及下肢肌肉, 心电图可见肌病变化, 肌肉活检可见肌肉营养不良性改变。结合REVEL、SIFT及PolyPhen-2软件对蛋白功能预测均为有害, 故综合分析该位点为致病性突变。目前尚未见文献报道本文中DYSF基因突变相关的肢带型肌营养不良的病例, 另外, 本例患者的心电图存在神经源性损害, 也未见报道。

LGMD2B型与染色体2p13上的DYSF基因突变相关, DYSF基因共包含有55个外显子, 其突变类型包括错义突变、无义突变和缺失突变。DYSF编码的蛋白dysferlin位于肌细胞膜上, 肌细胞膜损伤后, 会引起细胞内钙及氧化还原失衡, 导致ATP及炎症因子的异常释放, 从而引起肌肉组织损伤。

LGMD2B早期可单纯出现高肌酸激酶血症, 血肌酸激酶可升高至20000U/L, 影响近端肌肉, 以下肢为著, 发病年龄多在19-27岁之间, 进程相对缓慢。绝大多数患者在病程的中期, 开始出现起立及上楼困难, 1-16年内可逐步进展, 累及上肢近端肌群^[7]。肌肉MRI检查多提示腓绳肌、比目鱼肌和腓肠肌内侧头明显受累。肌肉组织的病理改变表现各异, 轻度可见仅肌肉纤维大小不一, 肌内膜缔结组织轻度增生; 重度则可见大量的脂肪组织和变性的纤维组织。有研究报道表明约50%的患者肌肉病理可见肌内膜和血管周围出现CD4+T细胞和巨噬细胞浸润, 激素治疗后, 临床症状可以得到部分缓解, 说明免疫介导的炎症反应, 在某种程度上可能参与了LGMD2B的发病。这也解释了本例患者在给予激素治疗后, 肌肉疼痛明显好转的现象。LGMD2B易被误诊为多发性肌炎, 但与多发性肌炎相比, LGMD2B的炎性细胞, 在坏死性病变的肌纤维组织中较少出现^[9-12]。目前确诊依赖于蛋白免疫印迹或基因检测。

目前尚未见由DYSF基因突变所致肌病直接引起神经源性损害的报道, 由于肌肉和神经系统之间密切的相互作用, DYSF基因突变可能间接地影响了神经系统, 从而可以解释本例患者的心电图所见的神经源性损害表现。但如本例患者表现出来的DYSF基因突变所致的神经源性损伤, 属于基因突变直接作用还是间接作用, 需要进一步的基因功能研究加以证明。

综上所述, 随着基因检测技术水平的不断提高, 将补充DYSF基因突变相关的疾病谱, 本例的报道补充了无症状高肌酸激酶血症、起病缓慢、心电图提示存在神经源性损害LGMD2B型病例, 希望为今后的临床工作提供一定的指导意义。

【参考文献】

[1] Bashir R., Britton S., Strachan T., et al. A gene related to Caenorhabditis elegans spermatogenesis factor fer-1 is mutated in limb-girdle muscular dystrophy type 2B. Nat Genet. [J]. 1998,20(1):37-42.

- [2]Liu J.,Aoki M.,Illa I.,et al. A novel skeletal muscle gene, is mutated in Miyoshi myopathy and limb girdle muscular dystrophy. *Nat Genet*[J].1998,20(1):31–36.
- [3]Mercuri E.,Bönnemann G.G. and Muntoni F..Muscular dystrophies. *Lancet*[J].2019,394(10213):2025–2038.
- [4]Bansal D.,Miyake K.,Vogel S.S.,et al.Defective membrane repair in dysferlin-deficient muscular dystrophy. *Nature* [J].2003,423(6936):168–172.
- [5]Jaiswal J.K., Marlow G., Summerill G.,et al. Patients with a non-dysferlin Miyoshi myopathy have a novel membrane repair defect. *Traffic*[J].2007,8(1):77–88.
- [6]Ono H.,Suzuki N.,Kanno S.,et al.AMPK complex activation promotes sarcolemmal repair in dysferlinopathy. *Mol Ther*[J].2020,28(4):1133–1153.
- [7]Harris E.,Bladen, C.L.,Mayhew A.,et al.The Clinical Outcome Study for dysferlinopathy: An international multicenter study. *Neurol Genet*[J].2016,2(4):e89.
- [8]Dominov J.A.,Uyan Ö.,McKenna-Yasek D.,et al.Correction of pseudoexon splicing caused by a novel intronic dysferlin mutation. *Ann Clin Transl Neurol*[J].2019,6(4):642–654.
- [9]Jethwa h.,Jacques T.S.,Gunny R.,et al.Limb girdle muscular dystrophy type 2B masquerading as inflammatory myopathy:case report. *Pediatr Rheumatol Online J*[J].2013,11(1):19.
- [10]Diaz-Manera J., Roberto Fernandez-Torron r., Jaime LLauger J., et al. Muscle MRI in patients with dysferlinopathy: pattern recognition and implications for clinical trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*[J].2018,89(10):1071–1081.
- [11]Nagaraju K.,Rawat R., Veszelovszky E., et al. Dysferlin deficiency enhances monocyte phagocytosis: a model for the inflammatory onset of limb-girdle muscular dystrophy 2B. *Am J Pathol*[J].2008,172(3):774–785.
- [12]Kim M.J.,Yoon-Jeong O., Hong Y.H.,et al. A Patient With Late-onset Limb-girdle Muscular Dystrophy Type 2B Mimicking Dermatomyositis: A Case Report and Review. *J Rheum Dis* [J].2021,28(2):101–106.

作者简介:

李君(1988—),女,上海市人,博士,主治医师,研究方向:自身免疫疾病。

*通讯作者:

刘欣颖(1971—),女,上海市人,博士,主任医师,研究方向:自身免疫疾病。