

# MTMR13/SBF2 基因复合杂合突变致腓骨肌萎缩症 4B2 型一家系临床表型及基因突变分析

朱瑜龄 李欢 潘志良 梁颖茵 利婧 王惊 何若洁 林金福 张成

**【摘要】** 目的 探讨腓骨肌萎缩症 4B2 型(CMT4B2 型)的临床表型和分子遗传学特征。方法 一家系 3 例 CMT4B2 型患儿,采用目标区域捕获测序技术检测 *MTMR13/SBF2* 基因突变类型。结果 例 1 (先证者)6 年前出现双下肢无力,行走向前跨步,跑步速度较同班同学明显缓慢,随后症状逐渐加重,出现双手大小鱼际肌和骨间肌萎缩,双侧指关节不能伸直,双侧小腿肌萎缩,双侧马蹄内翻足和四肢腱反射减弱。例 2(先证者之大弟)2 年前出现双下肢无力,行走不稳,跑步和上楼梯较前明显缓慢,步态异常逐渐加重,足跟行走不能,双手大小鱼际肌萎缩,双侧小腿轻度肌萎缩,四肢腱反射减弱。例 3(先证者之二弟)足跟行走困难,双手大小鱼际肌轻度肌萎缩,四肢腱反射减弱。基因检测显示,例 1 存在 *MTMR13/SBF2* 基因 c.230G > A(p.Gln77Arg)和 c.1537C > T(p.Gln513\*)复合杂合突变,其父携带 c.230G > A(p.Gln77Arg)杂合突变,其母携带 c.1537C > T(p.Gln513\*)杂合突变,例 2 和例 3 均存在与先证者相同的 c.230G > A(p.Gln77Arg)和 c.1537C > T(p.Gln513\*)复合杂合突变。3 例患儿诊断明确为 CMT4B2 型,该家系明确诊断为 CMT4B2 型家系。予甲钴胺对症治疗,先证者马蹄内翻足明显,予石膏固定疗法予以纠正。结论 CMT4B2 型是罕见且严重的进展型腓骨肌萎缩症,目前尚无有效治疗方法,对患者进行及时的基因检测以明确诊断,同时对患病家系积极开展遗传咨询,对于有生育要求的致病基因携带者还应结合产前基因诊断以避免患病胎儿的出生。对于家系中携带致病基因尚未出现临床症状或处于疾病早期的患者,应密切随访,采取积极治疗以尽可能延迟发病时间或指导患者进行正确的康复训练以预防弓形足、脊柱侧弯等畸形,从而提高生活质量。

**【关键词】** 夏科-马里-图斯病; 表型; 基因; 突变; 系谱

## Clinical characteristics and *MTMR13/SBF2* gene mutation analysis of a Charcot-Marie-Tooth disease type 4B2 Chinese family

ZHU Yu-ling<sup>1</sup>, LI Huan<sup>1</sup>, PAN Zhi-liang<sup>2</sup>, LIANG Ying-yin<sup>1</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, WANG Liang<sup>1</sup>, HE Ruo-jie<sup>1</sup>, LIN Jin-fu<sup>1</sup>, ZHANG Cheng<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, Sun Yat - sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

<sup>2</sup>Department of Rehabilitation Medicine, Guangzhou City Social Welfare Institute Rehabilitation Hospital, Guangzhou 510520, Guangdong, China

Corresponding author: ZHANG Cheng (Email: zhangch6@mail.sysu.edu.cn)

**【Abstract】 Objective** To explore the clinical features and genetic characteristics of Charcot-Marie-Tooth disease type 4B2 (CMT4B2) patients. **Methods** *MTMR13/SBF2* gene mutations were screened by target region capture sequencing among a CMT4B2 Chinese family which included 3 patients. **Results** Case 1 (the proband) showed weakness in both lower limbs 6 years ago, running significantly slower than her classmates. The symptoms then became gradually worsened. Then the patient suffered from

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2018.08.005

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:81471280);国家自然科学基金资助项目(项目编号:81771359);国家自然科学基金青年科学基金资助项目(项目编号:81601087);广东省广州市 2015 年产学研专项项目(项目编号:1561000153)

作者单位:510080 广州,中山大学附属第一医院神经科(朱瑜龄,李欢,梁颖茵,利婧,王惊,何若洁,林金福,张成); 510520 广东省广州市社会福利院康复医院康复医学科(潘志良)

通讯作者:张成(Email:zhangch6@mail.sysu.edu.cn)

amyotrophy of thenar and hypothenar eminences and interosseus of her hands, bilateral finger joints could not be straightened, atrophy of bilateral leg muscles, talipes equinovarus appearance, and weakened tendon reflexes of limbs. Case 2 (the proband's younger brother) had weakness in both lower limbs and walked unsteadily 2 years ago, with running and going upstairs significantly slower than before. His abnormal walking gait got worsening in recent and he could not bend his feet upward in the stand or on the walk. He also presented amyotrophy of thenar and hypothenar eminences of his hands, mild atrophy of bilateral leg muscles, talipes equinovarus appearance, and weakened tendon reflex of limbs. Case 3 (the proband's another younger brother) also had difficulty in walking with the heel, and thenar and hypothenar eminences of his hands were mildly atrophic and the tendon reflexes were weakened. The result of proband's *MTMR13/SBF2* gene test showed c.230G > A (p.Gln77Arg) and c.1537C > T (p.Gln513\*) compound heterozygous mutations, her father carried c.230G > A (p.Gln77Arg) heterozygous mutation and her mother carried c.1537C > T (p.Gln513\*) heterozygous mutation. Case 2 and Case 3 had the same compound heterozygous mutation as the proband. The 3 patients were diagnosed as CMT4B2, and their family was diagnosed as CMT4B2 pedigree. All patients were treated by mecobalamin. The proband was also treated by plaster immobilization to correct her talipes equinovarus. **Conclusions** CMT4B2 is a very rare and serious progressive type of CMT. Since there is no effective treatment of CMT4B2, we should carry out gene test as early as possible to make a clear diagnosis on patients and also take hereditary inquiry on the patient's family. For disease-causing gene carriers who want to have a baby, prenatal genetic diagnosis should be done to avoid the birth of CMT4B2 baby. For carriers of the gene without clinical symptoms or in early stage, close follow-up and active treatment should be taken to delay the onset and prevent talipes equinovarus or scoliosis, so as to improve the life quality of patients.

**【Key words】** Charcot-Marie-Tooth disease; Phenotype; Genes; Mutation; Pedigree

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81471280, 81771359), the National Natural Science Foundation for Young Scientists of China (No. 81601087), and 2015 Production, Study and Research Special Project of Guangzhou, Guangdong Province, China (No. 1561000153).

腓骨肌萎缩症(CMT)亦称遗传性运动感觉神经病(HMSN),是具有高度临床和遗传异质性的单基因周围神经病,由 Charcot、Marie 和 Tooth 于 1886 年首次提出,发病率约 1/2500<sup>[1]</sup>。常见遗传方式包括常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传、X 连锁显性遗传、X 连锁隐性遗传。迄今已有 40 余个遗传位点被定位和 40 余种致病基因被克隆。临床分型包括 CMT1 型、CMT2 型、CMT3 型、CMT4 型、CMTDI 型、CMTRI 型和 CMTX 型,又可以根据不同致病基因突变进一步分为多种亚型<sup>[2]</sup>。根据电生理学和病理学特征可以分为脱髓鞘型(包括 CMT1 型、CMT3 型、CMT4 型)和轴索型(CMT2 型)。临床主要表现为儿童期或青少年期发病,四肢远端进行性肌无力和肌萎缩,伴感觉障碍,尤以下肢显著<sup>[3]</sup>。其中,CMT4B2 型是腓骨肌萎缩症中的罕见类型,是严重进展型腓骨肌萎缩症,呈常染色体隐性遗传,于 1999 年定位于染色体 11p15.4<sup>[4]</sup>,随后其致病基因 *MTMR13/SBF2* 被克隆<sup>[5]</sup>。目前国内尚未见病例报道,国外也仅见数例报道。中山大学附属第一医院神经科诊断与治疗 CMT4B2 型家系计 3 例患者,通过收集整理其临床资料、采集血液标本,对先证

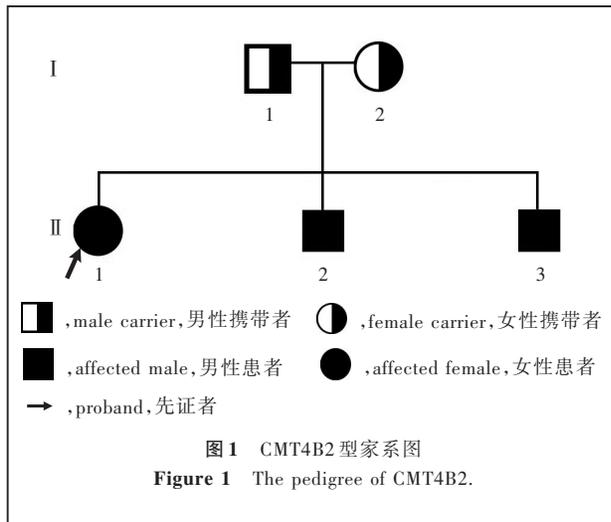
者及该家系其他成员进行基因检测,证实为 *MTMR13/SBF2* 基因复合杂合突变,现总结该家系临床表型和基因突变特点,以提高临床对 CMT4B2 型的诊断与鉴别诊断能力。

## 对象与方法

### 一、研究对象

本研究 CMT4B2 型患者均至中山大学附属第一医院神经科就诊,其家系 2 代共 5 名成员,包括 3 例患儿(图 1)。

**例 1** 先证者,女性,13 岁,因步态异常 6 年,于 2016 年 4 月 21 日至我院神经科门诊就诊。患儿 6 年前无明显诱因开始出现双下肢无力,行走向前跨步,跑步速度较同班同学明显缓慢,症状进行性加重,双手大小鱼际肌和双侧小腿肌萎缩。患儿头胎首产,足月顺产,胎儿期正常,无窒息史、产伤史和围生期特殊疾病病史,约 1 岁学习走路、说话;父母非近亲婚配,均身体健康,有 2 弟,均有类似病史。门诊体格检查:一般情况可,脑神经检查未见明显异常,四肢肌力和肌张力正常,双手大小鱼际肌和骨间肌萎缩,双侧指关节无法伸直,尤以右手显著,



双侧小腿肌萎缩,踝关节僵硬和畸形,双侧马蹄内翻足,四肢感觉基本对称正常,共济运动未见明显异常,四肢腱反射减弱,病理征阴性。影像学检查:脊椎 X 线显示,轻度“S”形侧弯。神经电生理学检查:肌电图显示,双下肢多发周围性损害(运动和感觉纤维受累,重度脱髓鞘改变,伴继发性轴索损害),神经传导速度(NCV)明显减慢。

**例 2** 先证者之大弟,男性,11 岁,主因行走不稳 2 年余,于 2017 年 7 月 27 日 至 我 院 神 经 科 门 诊 就 诊。患儿 2 年余前无明显诱因开始出现双下肢无力、行走不稳,无其他伴随症状,未予重视,由于其姊约 2 年前在我院神经科门诊明确诊断为腓骨肌萎缩症,家属开始注意到该例患儿也存在步态异常,行走不稳,跑步和上楼梯较前明显缓慢,近 1 年步态异常加重,足跟行走不能。患儿第 2 胎第 2 产,足月顺产,胎后期正常,无窒息史、产伤史和围生期特殊疾病病史,约 1 岁学习走路、说话。门诊体格检查:一般情况可,脑神经检查未见明显异常,四肢肌力和肌张力正常,双手大小鱼际肌萎缩,双侧小腿轻度肌萎缩,四肢感觉基本对称正常,共济运动未见明显异常,四肢腱反射减弱,病理征阴性。

**例 3** 先证者之二弟,男性,7 岁,主因其姊和兄均明确诊断为腓骨肌萎缩症,于 2017 年 8 月 11 日 至 我 院 神 经 科 门 诊 就 诊。患儿目前步态和姿势尚正常,追问病史发现跑步和上楼梯较同龄儿童缓慢。门诊体格检查:一般情况尚可,脑神经检查未见明显异常,四肢肌力和肌张力均正常,足跟行走困难,双手大小鱼际肌轻度萎缩,四肢感觉基本对称正常,共济运动未见明显异常,四肢腱反射减弱,病理征阴性。

## 二、研究方法

1. 基因组 DNA 提取和文库制备 分别采集先证者及其家系成员外周静脉血各 2 ml,置于含乙二胺四乙酸(EDTA)或枸橼酸钠的抗凝试管中,采用 QIAmp DNA blood kit 试剂盒(德国 Qiagen 公司)提取外周静脉血 DNA,严格按照试剂盒说明书进行操作。提取 DNA 样品 3  $\mu\text{g}$ ,以 Tris-EDTA 缓冲液稀释至 30  $\text{ng}/\mu\text{l}$ 。Covaris S2 超声仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)超声片段化为长度约 150 bp 的片段, EpiNext™ DNA 全基因组文库制备试剂盒(美国 Illumina 公司)制备全基因组文库,对 DNA 片段进行末端修复、连接测序接头和产物纯化。纯化后的 DNA 片段高保真酶进行聚合酶链反应(PCR),反应体系共 100  $\mu\text{l}$ ,包括蒸馏水 40  $\mu\text{l}$ ,HF 缓冲液 20  $\mu\text{l}$ ,dNTP 2  $\mu\text{l}$ ,上下游引物各 1  $\mu\text{l}$ (稀释至 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ),100%二甲亚砜(DMSO)5  $\mu\text{l}$ ,热启动高保真 DNA 聚合酶 1  $\mu\text{l}$ ,模板 DNA 30  $\mu\text{l}$ ;反应条件为:98  $^{\circ}\text{C}$  预变性 1 min;98  $^{\circ}\text{C}$  变性 20 s、65  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s、72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s,共 9 个循环。PCR 扩增产物以纯化磁珠纯化, NanoDrop2000 型超微量分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)对文库样品进行定量分析,琼脂糖凝胶电泳检测文库片段。

2. 目标区域捕获测序 采用 GenCap 液相捕获目标基因技术对 *MTMR13/SBF2* 基因进行探针捕获,针对 *MTMR13/SBF2* 基因 40 个外显子非重复区设计生物素标记的单链捕获探针。提取基因组文库 DNA 30  $\mu\text{l}$ (1  $\mu\text{g}$ ),与 13  $\mu\text{l}$  BL 富集缓冲液和 5  $\mu\text{l}$  含致病基因的生物素标记的单链捕获探针混合进行文库样品的富集,将富集后的样品置于含 50  $\mu\text{l}$  文库富集磁珠的 1.50 ml 离心管中,漩涡震荡至少 5 s,使磁珠充分悬浮,离心半径 15 cm、转速 3000 r/min 离心 1 min 后置于磁力架上 1 min,磁力架吸附携带目的基因的磁珠,将离心管置于磁力架上保持静止,弃上清液。加入 50  $\mu\text{l}$  文库富集结合缓冲液,漩涡震荡至少 5 s,离心半径 15 cm、转速 3000 r/min 离心 1 min,磁力架吸附携带目的基因的磁珠,弃上清液,洗涤 3 次。加入 50  $\mu\text{l}$  文库富集结合缓冲液,漩涡震荡至少 5 s,混匀后转入新离心管。向上述富集产物中加入 75  $\mu\text{l}$  文库富集结合缓冲液,混合均匀后转入含 80  $\mu\text{l}$  纯化磁珠的 200  $\mu\text{l}$  离心管,漩涡震荡至少 5 s,旋转混匀 1 h。WB1 缓冲液于室温清洗磁珠 15 min,WB3 缓冲液 65  $^{\circ}\text{C}$  清洗磁珠 15 min( $\times 3$  次)。洗脱缓冲液洗脱结合的 DNA,进行 PCR 反应,反应

体系共 100  $\mu$ l, 反应条件: 98  $^{\circ}$ C 预变性 30 s; 98  $^{\circ}$ C 变性 25 s、65  $^{\circ}$ C 退火 30 s、72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 15 个循环; 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min。按照 SPRI 磁珠试剂盒 (美国 Beckman Coulter 公司) 说明书纯化 PCR 产物。富集的文库以 HiSeq2000 型测序仪 (美国 Illumina 公司) 进行双端测序, 读取长度为 90 bp。

3. 数据分析 目标区域捕获测序后经 Trim Galore 程序 ([http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim\\_galore/](http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/trim_galore/)) 过滤低质量序列 (< 40 bp), 保留读取长度 > 80 bp 的序列。读取序列采用 BWA 程序 (<http://bio-bwa.sourceforge.net/>) 匹配到 hg19 人类基因组数据库 (<http://hgdownload.cse.ucsc.edu/>), 再采用 gatk 软件 (<https://www.broadinstitute.org/gatk/>) 进行校准。获得单核苷酸多态性 (SNP)、插入/缺失突变等结果。同时进行测序深度、覆盖度和均一性等有效数据统计。剔除 dbSNP137 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>)、千人基因组数据库 ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000\\_genomes/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000_genomes/)) 中的单核苷酸多态性和插入/缺失突变, 通过 SIFT 软件 (<http://sift.jcvi.org/>)、MutationTaster 软件 (<http://www.mutationtaster.org/>)、PolyPhen - 2 软件 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) 等软件预测所检出突变位点对蛋白功能有无影响, 最后获得疾病相关突变位点。

4. Sanger 测序验证 根据检出的突变位点设计上下游引物, 进行 Sanger 测序进一步验证结果, 引物由赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司合成。验证 c.230G > A 突变位点的上游引物序列为 5' - AAACCAATTCAAGGATGCACT - 3', 下游引物序列为 5' - GGAATTTGTTAAAATGGGCAAA - 3'; 验证 c.1537C > T 突变位点的上游引物序列为 5' - CCTTTTGGGTCTTACATCCTT - 3', 下游引物序列为 5' - CATGTTTTATGGCGTATATATGAATG - 3'。PCR 反应体系共 25  $\mu$ l, 反应条件为: 95  $^{\circ}$ C 10 min; 94  $^{\circ}$ C 30 s、62  $^{\circ}$ C 30 s、72  $^{\circ}$ C 45 s, 共 3 个循环; 94  $^{\circ}$ C 30 s、60  $^{\circ}$ C 30 s、72  $^{\circ}$ C 45 s, 共 5 个循环; 94  $^{\circ}$ C 30 s、58  $^{\circ}$ C 30s、72  $^{\circ}$ C 45 s, 共 10 个循环; 94  $^{\circ}$ C 30 s、56  $^{\circ}$ C 30 s、72  $^{\circ}$ C 45 s, 共 17 个循环; 最终 72  $^{\circ}$ C 5 min; 4  $^{\circ}$ C 冷却备用。采用 ABI3730xl 测序仪 (美国 ABI 公司) 将 PCR 扩增产物进行毛细管电泳, 测序结果与目标区域捕获测序后的结果进行对比, 并在 LOVD 数据库 (<http://www.lovd.nl/>) 中检索测序结果, 获得基因突变位点的详细信息。

## 结 果

### 一、临床特征

该家系共 2 代 5 名成员, 男性 3 名, 女性 2 名; 包括 3 例患儿, 男性 2 例, 女性 1 例。先证者 (例 1) 7 岁时发病, 病程 6 年, 临床表现为四肢远端进行性肌无力和肌萎缩、四肢腱反射减弱、马蹄内翻足、爪形手等典型特征, 伴轻度脊柱轻弯; 肌电图提示神经传导速度明显减慢。先证者之大弟 (例 2) 9 岁发病, 病程 2 年余, 临床表现为双下肢无力、行走不稳、足跟行走不能。先证者之二弟 (例 3) 7 岁, 病程 6 个月, 临床表现为足跟行走困难, 双手大小鱼际肌轻度肌萎缩, 其他症状尚不明显。

### 二、基因检测

先证者 (例 1) 存在 *MTMR13/SBF2* 基因复合杂合突变, 包括 c.230G > A (p.Gln77Arg) 错义突变和 c.1537C > T (p.Gln513\*) 无义突变 (图 2a, 2b), 其中, c.1537C > T (p.Gln513\*) 是已知的致病性突变; c.230G > A (p.Gln77Arg) 尚未见报道, 由于该突变区域为 *MTMR13/SBF2* 蛋白重要组成部分, 该突变可能影响 *MTMR13/SBF2* 蛋白结构和功能。先证者之父携带 *MTMR13/SBF2* 基因 c.230G > A (p.Gln77Arg) 杂合突变 (图 2c), 其母携带 *MTMR13/SBF2* 基因 c.1537C > T (p.Gln513\*) 杂合突变 (图 2d), 但临床表型均正常。先证者之弟 (例 2 和例 3) 均存在 *MTMR13/SBF2* 基因 c.230G > A (p.Gln77Arg) 和 c.1537C > T (p.Gln513\*) 复合杂合突变 (图 2e ~ 2h)。

### 三、治疗

3 例患儿明确诊断为 CMT4B2 型, 均予甲钴胺 0.50 mg/次、3 次/d 口服对症治疗。先证者 (例 1) 马蹄内翻足明显, 严重影响行走能力, 建议至广东省广州市社会福利院康复医院康复医学科进行石膏固定, 共 10 个疗程, 10 d 为 1 个疗程, 1 个疗程结束后即来复诊拆除旧石膏, 并根据矫正结果重新修改调整进行新的石膏固定, 目前已完成 5 个疗程, 马蹄内翻足明显好转, 行走较前平稳。

## 讨 论

本研究 CMT4B2 型家系中先证者 (例 1) 首次就诊时, 其弟 (例 2 和例 3) 均未出现任何临床症状, 但根据其典型临床症状与体征结合 *MTMR13/SBF2* 基因检测结果, 明确诊断为 CMT4B2 型, 再根据该家系基因检测结果以及随后其弟先后出现相似临床症

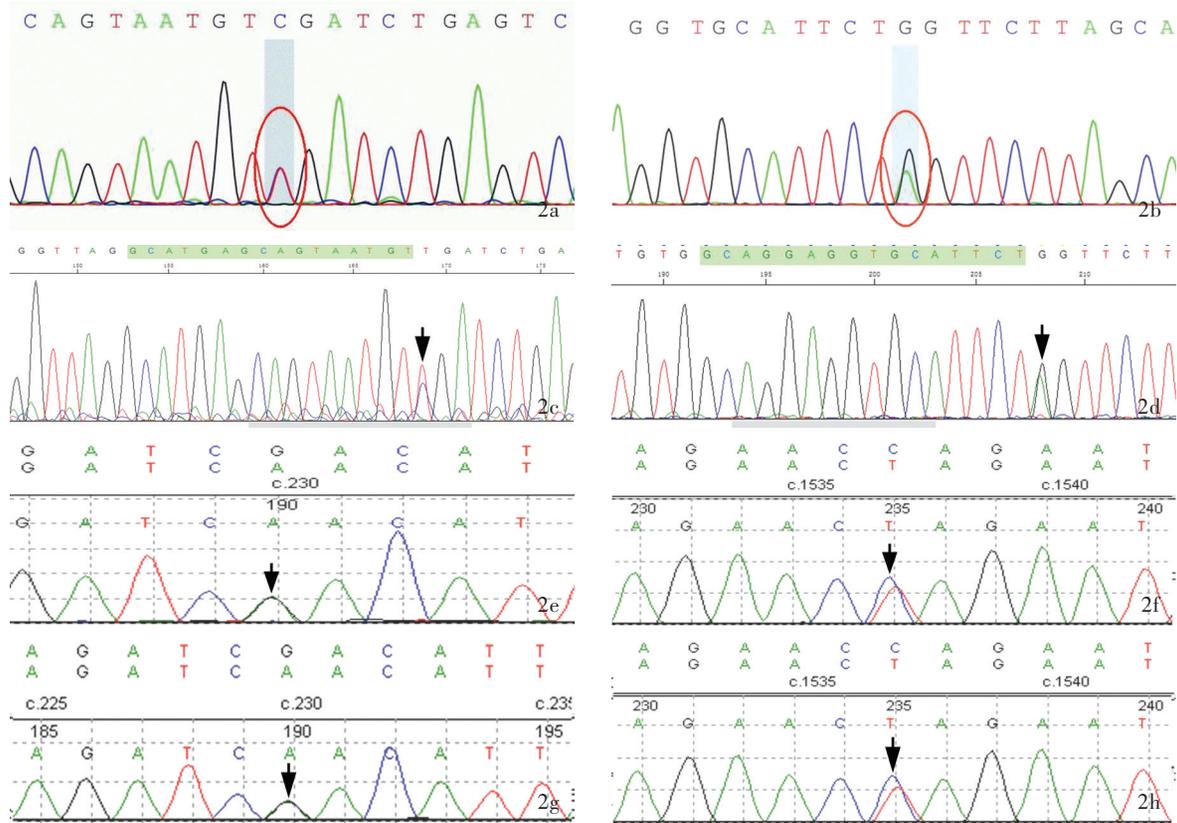


图 2 *MTMR13/SBF2* 基因检测所见 2a, 2b 先证者(例 1)存在 c.230G > A (p.Gln77Arg) 和 c.1537C > T (p.Gln513\*) 复合杂合突变(红色圆圈所示) 2c 先证者之父携带 c.230G > A (p.Gln77Arg) 杂合突变(箭头所示) 2d 先证者之母携带 c.1537C > T (p.Gln513\*) 杂合突变(箭头所示) 2e, 2f 先证者之弟(例 2)存在 c.230G > A (p.Gln77Arg) 和 c.1537C > T (p.Gln513\*) 复合杂合突变(箭头所示) 2g, 2h 先证者之弟(例 3)存在 c.230G > A (p.Gln77Arg) 和 c.1537C > T (p.Gln513\*) 复合杂合突变(箭头所示)

Figure 2 Analysis of *MTMR13/SBF2* gene test The proband (Case 1) had c.230G > A (p.Gln77Arg) and c.1537C > T (p.Gln513\*) compound heterozygous mutations (red circles indicate; Panel 2a, 2b). Proband's father carried c.230G > A (p.Gln77Arg) heterozygous mutation (arrow indicates, Panel 2c). Proband's mother carried c.1537C > T (p.Gln513\*) heterozygous mutation (arrow indicates, Panel 2d). The proband's younger brother (Case 2) had the same compound heterozygous mutations as proband (arrows indicate; Panel 2e, 2f). The proband's another younger brother (Case 3) had the same compound heterozygous mutations as proband (arrows indicate; Panel 2g, 2h).

状与体征,明确诊断为 CMT4B2 型家系。总结该家系 3 例患儿的临床特征,主要有以下特点:(1)均于儿童期(6~9 岁)发病。(2)均出现对称性双下肢远端进行性肌无力和肌萎缩,逐渐累及上肢。(3)四肢腱反射减弱或消失。(4)逐渐出现双侧弓形足、马蹄内翻足等畸形,并随疾病进展而逐渐加重。(5)肌电图提示神经传导速度明显减慢。(6)脊柱 X 线显示脊柱轻度“S”形侧弯。既往文献报道,CMT4B2 型患者多于儿童期或青少年期发病,高峰发病年龄为 1~13 岁,临床主要表现为严重的四肢远端进行性肌无力和肌萎缩,以及马蹄内翻足、脊柱侧弯等畸形,肌电图提示运动神经传导速度(MNCV)明显减慢(< 38 m/s),肌肉病理学显示有髓纤维数目减少,髓鞘脱失,施万细胞节段性再生,轴突形成“洋葱球”样

结构<sup>[4-7]</sup>,与该家系的临床特征较为一致。亦有文献报道以青光眼为首发症状的病例,可能是由于 *MTMR13/SBF2* 基因突变致 *MTMR13/SBF2* 蛋白功能完全失效所致<sup>[8-9]</sup>。本研究先证者(例 1)存在 *MTMR13/SBF2* 基因 c.230G > A (p.Gln77Arg) 和 c.1537C > T (p.Gln513\*) 复合杂合突变,进一步行其父母和弟 *MTMR13/SBF2* 基因检测,结果显示,其父携带 *MTMR13/SBF2* 基因 c.230G > A (p.Gln77Arg) 杂合突变,其母携带 *MTMR13/SBF2* 基因 c.1537C > T (p.Gln513\*) 杂合突变,其弟(例 2 和例 3)均存在 *MTMR13/SBF2* 基因 c.230G > A (p.Gln77Arg) 和 c.1537C > T (p.Gln513\*) 复合杂合突变。其中 c.1537C > T (p.Gln513\*) 为无义突变,业已在一土耳其 CMT4B2 型家系中报道,仅 1 例患儿,基因检测显

示 *MTMR13/SBF2* 基因 c.1537C > T(p.Gln513\*) 纯合突变, 该例患儿不足 1 岁发病, 临床表现为运动发育落后, 2 岁 6 个月至 3 岁方会独立行走并时常摔跤, 症状进行性加重, 逐渐出现四肢远端进行性肌无力和肌萎缩, 同时伴感觉障碍和弓形足等<sup>[10]</sup>。c.230G > A (p.Gln77Arg) 突变尚未见诸报道, 在 dbSNP137 数据库中检索发现其频率极低, 但该突变区域是 *MTMR13/SBF2* 蛋白重要组成部分, 推测该突变可能影响 *MTMR13/SBF2* 蛋白结构和功能。在本研究中, 先证者父母各携带 1 个 *MTMR13/SBF2* 基因突变位点, 但临床表型均正常; 3 例患儿均同时存在 2 个 *MTMR13/SBF2* 基因突变位点 [c.230G > A (p.Gln77Arg) 和 c.1537C > T(p.Gln513\*)] 且发病过程相似, 因此认为, *MTMR13/SBF2* 基因 c.230G > A (p.Gln77Arg) 和 c.1537C > T(p.Gln513\*) 复合杂合突变是该家系的致病性突变, 故 3 例患儿明确诊断为 CMT4B2 型, 该家系明确诊断为 CMT4B2 型家系。

CMT4B 型是严重而罕见的腓骨肌萎缩症, 呈常染色体隐性遗传, 根据受累基因进一步分为 3 种亚型, 即 *MTMR2* 基因突变导致的 CMT4B1 型<sup>[11]</sup>、*MTMR13/SBF2* 基因突变导致的 CMT4B2 型和 *SBF1* 基因突变导致的 CMT4B3 型<sup>[12]</sup>, 其共同的临床特点为, 儿童期或青少年期发病; 肌电图提示神经传导速度明显减慢 (3 ~ 35 m/s); 肌肉病理学显示周围神经脱髓鞘改变和髓鞘局部形成折叠。*MTMR13/SBF2* 蛋白是一种由 1848 个氨基酸组成的磷酸酶, 有 > 36% 的氨基酸序列与 *MRMR2* 蛋白相同, 有 > 59% 的氨基酸序列与 *SBF1* 蛋白相同<sup>[5]</sup>。*MTMR2* 蛋白和 *MTMR13/SBF2* 蛋白均为肌微管素蛋白家族成员, 目前已知该家族有 14 个成员<sup>[13-14]</sup>。*MTMR13/SBF2* 蛋白无催化活性, 但可与作为磷酸肌醇维生素 D<sub>3</sub>-磷酸酶 (PIs) 的 *MTMR2* 蛋白结合形成四聚体复合物, 显著增强 *MTMR2* 蛋白对磷脂酰肌醇 3-磷酸和磷脂酰肌醇 3, 5-二磷酸 [PI(3, 5)P<sub>2</sub>] 的催化作用, 以调节后两者在溶酶体途径中的膜流量<sup>[15]</sup>。因此, *MTMR13/SBF2* 蛋白功能缺失可以导致 *MTMR2* 蛋白催化作用显著降低, 使磷脂酰肌醇 3-磷酸和 PI(3, 5)P<sub>2</sub> 蓄积, 从而使膜运输途径失调, 影响施万细胞间的相互作用<sup>[16]</sup>。Robinson 等<sup>[17]</sup>通过在 *MTMR13/SBF2* 基因内含子 16 和外显子 17 之间缺失 1 段长度为 3564 bp 的序列, 制备 CMT4B2 型 *Mtmr13*<sup>-/-</sup> 模型小鼠 (*MTMR* 基因敲除小鼠), 该模型用于模拟 CMT4B2 型的周围神经病变, 表现为神经传导速度

减慢、髓磷脂外翻和内折、进行性髓鞘脱失, 并随年龄的增长而病情加重; 同时, *Mtmr13*<sup>-/-</sup> 模型小鼠坐骨神经 *MTMR2* 蛋白水平下降约 50%, 提示 *MTMR2* 蛋白与 *MTMR13/SBF2* 蛋白之间可能存在相互调节关系。

腓骨肌萎缩症是具有高度临床和遗传异质性的神经肌肉病, 迄今已有 40 余个遗传位点被定位和 40 余种致病基因被克隆, 因此分型诊断存在较大难度。最可靠且简便的方法是, 对根据临床症状与体征初步诊断的患者首先进行神经传导速度特别是正中神经传导速度测定, < 38 m/s 通常为 CMT1 型、CMT3 型或 CMT4 型, 正常或者接近正常通常为 CMT2 型, 再结合遗传方式、发病年龄、疾病进展速度以及选择适宜的目的基因进行检测以明确分型诊断。

目前, 腓骨肌萎缩症尚无有效治疗方法, 尤其是 CMT4B2 型进展较迅速, 除营养神经以及矫正马蹄内翻足以恢复足部功能等对症治疗外, 还应同时对家系中其他成员进行致病基因检测, 并积极开展遗传咨询。对于有生育要求的致病基因携带者还应进行产前基因诊断以避免患病胎儿的出生, 从而有效中断致病基因在该家系中的传递。对于家系中检出携带致病基因但尚未出现临床症状或处于疾病早期的患者, 应进行随访, 采取积极治疗以尽可能延缓发病时间, 指导患者进行正确的康复训练以预防弓形足、脊柱侧弯等畸形, 从而提高患者生活质量。

## 参 考 文 献

- [1] Lupski JR, Reid JG, Gonzaga-Jauregui C, Rio Deiros D, Chen DC, Nazareth L, Bainbridge M, Dinh H, Jing C, Wheeler DA, McGuire AL, Zhang F, Stankiewicz P, Halperin JJ, Yang C, Gehman C, Guo D, Irikat RK, Tom W, Fantin NJ, Muzny DM, Gibbs RA. Whole-genome sequencing in a patient with Charcot-Marie-Tooth neuropathy [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362:1181-1191.
- [2] Rossor AM, Polke JM, Houlden H, Reilly MM. Clinical implications of genetic advances in Charcot-Marie-Tooth disease [J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9:562-571.
- [3] Saifi GM, Szigeti K, Snipes GJ, Garcia CA, Lupski JR. Molecular mechanisms, diagnosis, and rational approaches to management of and therapy for Charcot-Marie-Tooth disease and related peripheral neuropathies [J]. *J Invest Med*, 2003, 51: 261-283.
- [4] Othmane KB, Johnson E, Menold M, Graham FL, Hamida MB, Hasegawa O, Rogala AD, Ohnishi A, Pericak-Vance M, Hentati F, Vance JM. Identification of a new locus for autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth disease with focally folded myelin on chromosome 11p15 [J]. *Genomics*, 1999, 62:344-349.

- [5] Senderek J, Bergmann C, Weber S, Ketelsen UP, Schorle H, Rudnik - Schöneborn S, Büttner R, Buchheim E, Zerres K. Mutation of the SBF2 gene, encoding a novel member of the myotubularin family, in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 4B2/11p15[J]. Hum Mol Genet, 2003, 12:349-356.
- [6] Gambardella A, Bolino A, Muglia M, Valentino P, Bono F, Oliveri RL, Sabatelli M, Brancolini V, Van Broeckhoven C, Romeo G, Devoto M, Quattrone A. Genetic heterogeneity in autosomal recessive hereditary motor and sensory neuropathy with focally folded myelin sheaths (CMT4B) [J]. Neurology, 1998, 50:799-801.
- [7] Negrão L, Almendra L, Ribeiro J, Matos A, Geraldo A, Pinto-Basto J. Charcot-Marie-Tooth 4B2 caused by a novel mutation in the MTMR13/SBF2 gene in two related Portuguese families [J]. Acta Myol, 2014, 33:144-148.
- [8] Kiwaki T, Umehara F, Takashima H, Nakagawa M, Kamimura K, Kashio N, Sakamoto Y, Unoki K, Nobuhara Y, Michizono K, Watanabe O, Arimura H, Osame M. Hereditary motor and sensory neuropathy with myelin folding and juvenile onset glaucoma[J]. Neurology, 2000, 55:392-397.
- [9] Azzedine H, Bolino A, Taieb T, Birouk N, Di Duca M, Bouhouche A, Benamou S, Mrabet A, Hammadouche T, Chkili T, Gouider R, Ravazzolo R, Brice A, Laporte J, LeGuern E. Mutations in MTMR13, a new pseudophosphatase homologue of MTMR2 and Sbf1, in two families with an autosomal recessive demyelinating form of Charcot-Marie-Tooth disease associated with early-onset glaucoma[J]. Am J Hum Genet, 2003, 72:1141-1153.
- [10] Baets J, Deconinck T, De Vriendt E, Zimoń M, Yperzele L, Van Hoorenbeeck K, Peeters K, Spiegel R, Parman Y, Ceulemans B, Van Bogaert P, Pou - Serradell A, Bernert G, Dinopoulos A, Auer - Grumbach M, Sallinen SL, Fabrizi GM, Pauly F, Van den Bergh P, Bilir B, Battaloglu E, Madrid RE, Kabzińska D, Kochanski A, Topaloglu H, Miller G, Jordanova A, Timmerman V, De Jonghe P. Genetic spectrum of hereditary neuropathies with onset in the first year of life[J]. Brain, 2011, 134(Pt 9):2664-2676.
- [11] Tazir M, Bellatache M, Nouioua S, Vallat JM. Autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth disease: from genes to phenotypes [J]. J Peripher Nerv Syst, 2013, 18:113-129.
- [12] Nakhro K, Park JM, Hong YB, Park JH, Nam SH, Yoon BR, Yoo JH, Koo H, Jung SC, Kim HL, Kim JY, Choi KG, Choi BO, Chung KW. SET binding factor 1 (SBF1) mutation causes Charcot-Marie-Tooth disease type 4B3[J]. Neurology, 2013, 81: 165-173.
- [13] Laporte J, Bedez F, Bolino A, Mandel JL. Myotubularins, a large disease - associated family of cooperating catalytically active and inactive phosphoinositides phosphatases [J]. Hum Mol Genet, 2003, 12:285-292.
- [14] Bolis A, Zordan P, Coviello S, Bolino A. Myotubularin-related (MTMR) phospholipid phosphatase proteins in the peripheral nervous system[J]. Mol Neurobiol, 2007, 35:308-316.
- [15] Berger P, Berger I, Schafftzel C, Tersar K, Volkmer B, Suter U. Multi - level regulation of myotubularin - related protein - 2 phosphatase activity by myotubularin - related protein - 13/set-binding factor-2[J]. Hum Mol Genet, 2006, 15:569-579.
- [16] Robinson FL, Dixon JE. The phosphoinositide - 3 - phosphatase MTMR2 associates with MTMR13, a membrane - associated pseudophosphatase also mutated in type 4B Charcot - Marie - Tooth disease[J]. J Biol Chem, 2005, 280:31699-31707.
- [17] Robinson FL, Niesman IR, Beiswenger KK, Dixon JE. Loss of the inactive myotubularin-related phosphatase Mtmr13 leads to a Charcot-Marie-Tooth 4B2-like peripheral neuropathy in mice [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105:4916-4921.

(收稿日期:2018-06-14)

## · 小词典 ·

## 中英文对照名词词汇(四)

- 气相色谱-串联质谱  
gas chromatography tandem mass spectrometry  
(GC-MS/MS)
- 5-羟色胺 5-hydroxytryptamine(5-HT)
- 强直性肌营养不良症 myotonic dystrophy(DM)
- 丘脑底核 subthalamic nucleus(STN)
- 丘脑腹中间核 ventral intermediate nucleus(Vim)
- 全面性强直-阵挛发作  
generalized tonic-clonic seizure(GTCS)
- 全外显子测序 whole exome sequencing(WES)
- 缺氧缺血性脑病 hypoxic-ischemic encephalopathy(HIE)
- 人类免疫缺陷病毒 human immunodeficiency virus(HIV)
- 噻唑蓝 methyl thiazolyl tetrazolium(MTT)
- 散发性包涵体肌炎 sporadic inclusion body myositis(sIBM)
- 上皮膜抗原 epithelial membrane antigen(EMA)
- 神经传导速度 nerve conduction velocity(NCV)
- 神经纤维瘤病 neurofibromatosis(NF)
- 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳  
sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis  
(SDS-PAGE)
- 视觉诱发电位 visual-evoked potential(VEP)
- 视频脑电图 video electroencephalogram(VEEG)
- Epworth嗜睡量表 Epworth Sleepiness Scale(ESS)
- 双水平气道正压通气  
bi-level positive airway pressure(BiPAP)
- 水痘-带状疱疹病毒 varicella-zoster virus(VZV)
- 酸性磷酸酶 acid phosphatase(ACP)
- 酸性 $\alpha$ -葡萄糖苷酶 acid  $\alpha$ -glucosidase(GAA)
- 髓鞘碱性蛋白 myelin basic protein(MBP)
- 胎牛血清 fetal bovine serum(FBS)
- 探索性肌肉组织活检评价研究  
Exploratory Muscle Biopsy Assessment (EMBASSY) study
- 糖原贮积病 II 型 glycogen storage disease type II (GSD II)
- 特发性震颤 essential tremor(ET)
- 体重指数 body mass index(BMI)
- 同型半胱氨酸 homocysteine(Hcy)