

核黄素反应性多酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症的临床表现与基因突变多样性

孙毅明 操基清 利婧 李欢 张成

【摘要】 **目的** 探讨核黄素反应性多酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症(MADD)的临床表现和基因突变的多样性。**方法与结果** 收集 5 例核黄素反应性 MADD 患者的临床特征、血清学指标、肌电图、肌肉组织活检和基因分析结果,对核黄素反应性 MADD 的临床特点进行回顾分析和总结。5 例患者发病年龄为 13~32 岁,平均 20.40 岁;临床表现为波动性或进行性肌无力,主要累及面部、颈部、四肢近端和呼吸肌,运动、劳累或感染后症状加重;血清肌酸激酶水平均轻至中度升高,其中 2 例血清乳酸水平于运动后明显升高;4 例呈肌源性损害,1 例在疾病早期呈神经源性损害、晚期则以肌源性损害为主;肌肉组织活检有 2 例患者肌纤维内可见大量油红 O 染色阳性脂滴沉积。基因分析显示,4 例表现为 *ETFDH* 基因纯合或复合杂合突变,分别携带 G250A 纯合突变(1 例)、G250A 和 G524A 复合杂合突变(2 例)、T1211C 和 C1454G 复合杂合突变(1 例),1 例携带 *ETFDH* 基因 G1399C 杂合突变和 *ETFB* 基因 C725T 杂合突变。**结论** 中国大陆核黄素反应性 MADD 患儿主要表现为骨骼肌受累的脂质沉积性疾病,呈进行性或波动性病程,应注意与各种类型的肌营养不良症、线粒体肌病、糖原贮积症、重症肌无力和周围神经病相鉴别;*ETFDH* 基因突变是其主要致病原因。由于核黄素反应性 MADD 患儿预后良好,对于疑似病例可以小剂量维生素 B₂ 进行诊断性治疗,同时结合尿有机酸、血酰基肉碱、肌肉组织活检和基因分析以明确诊断

【关键词】 多酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏; 核黄素; 基因; 突变

The clinical and genetical heterogeneity of riboflavin-responsive multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency

SUN Yi-ming¹, CAO Ji-qing², LI Jing², LI Huan², ZHANG Cheng²

¹Department of Health, ²Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

SUN Yi-ming and CAO Ji-qing contributed equally to the article

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

【Abstract】 **Objective** To explore the diversity of clinical manifestations and gene mutations of riboflavin-responsive multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MADD). **Methods and Results** The clinical, blood biochemical, electromyography, muscle biopsy and genetic analysis results of 5 patients with riboflavin-responsive MADD were collected, to analyze and summarize the clinical characteristics of riboflavin-responsive MADD. The age of onset of 5 patients was 13–32 years old, with an average of 20.40 years old. The main manifestation was fluctuating or progressive muscle weakness, involving facial, neck, proximal limb and respiratory muscles and often aggravated after exercise, fatigue, and infection. Serum creatine kinase (CK) increased slightly to moderately in 5 patients, and blood lactic acid increased significantly after exercise in 2 patients. The EMG of 4 patients showed myogenic damage, and the EMG of one patient showed neurogenic damage in the early stage of the disease and mainly myopathic damage in later stage. Muscle biopsy of 2 patients showed a large amount of lipid droplet deposition in muscle fibers

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2020.06.009

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:81271401);国家自然科学基金资助项目(项目编号:81771359);国家自然科学基金资助项目(项目编号:81471280)

作者单位:501180 广州,中山大学附属第一医院保健门诊(孙毅明),神经内科[操基清(现在华中科技大学同济医学院武汉中心医院神经内科,邮政编码:410034)、利婧、李欢、张成]

孙毅明与操基清对本文有同等贡献

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

positive for oil red O staining. Genetic analysis revealed that 4 patients showed homozygous or compound heterozygous mutations in the *ETFDH* gene (1 patient carried homozygous mutations of G250A; 2 patients carried compound heterozygous mutations of G250A and G524A; 1 patient carried compound heterozygous mutations of T1211C and C1454G), The remaining 1 case carried the G1399C heterozygous mutation in *ETFDH* gene and the C725T heterozygous mutation in *ETFB* gene. **Conclusions** In mainland of China, riboflavin-responsive MADD mainly presents as a lipid deposition disease involving skeletal muscle, with a progressive or fluctuating course. It is easily misdiagnosed as several types of muscular dystrophy, mitochondrial myopathy, glycogen storage disease, myasthenia gravis and peripheral neuropathy. The mutation *ETFDH* gene is its main cause. Since riboflavin-responsive MADD has a good prognosis, the vitamin B₂ diagnostic treatment should be given when the patients are suspected of riboflavin-responsive MADD, combined with urine organic acid, blood acylcarnitine, muscle biopsy and genetic analysis to confirm the diagnosis.

【Key words】 Multiple acyl coenzyme A dehydrogenase deficiency; Riboflavin; Genes; Mutation

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81271401, 81771359, 81471280).

Conflicts of interest: none declared

多酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症 (MADD) 是一种常染色体隐性遗传性脂质代谢障碍性疾病, 由编码电子转移黄素蛋白 α 亚基 (*ETFA*)、 β 亚基 (*ETFB*) 和电子转移黄素蛋白脱氢酶 (*ETFDH*) 基因突变所引起^[1]。在线粒体脂肪酸 β 氧化过程中, ETF 蛋白或 *ETFDH* 蛋白功能缺陷可使参与脂肪酸 β 氧化过程中的所有脂酰辅酶 A 脱氢酶代谢障碍, 进而导致反应底物酰基辅酶 A 在血中贮积, 衍生出戊二酸、异戊酰甘氨酸等有害代谢产物, 这些有害物质经尿液排出, 可通过气相质谱检出, 故亦称之为戊二酸血症 II 型或戊二酸尿症 II 型^[2]。MADD 在临床上共分为三型, 分别为新生儿期发病伴先天异常 (I 型)、新生儿期发病无先天异常 (II 型) 和晚发型 (III 型)。新生儿期发病的 I 型和 II 型患儿, 大多于出生后一周内迅速出现严重的无酮症或低酮症性低血糖、轻至重度高氨血症和酸中毒等代谢异常症状与体征, 且核黄素治疗无效, 患儿预后不良^[3]; III 型患者主要表现为进展性或波动性近端型肌病, 绝大多数患者对核黄素治疗反应良好, 故也称为核黄素反应性 MADD。自 1981 年 Carroll 等^[4] 报告 1 例 III 型 MADD 对核黄素治疗疗效良好以来, 对来自国内外文献报道的所有案例分析结果显示, 高达 98.46% (256/260) 的 III 型患者对核黄素治疗呈现确切疗效^[5]; 对此类患者的进一步研究发现, 其临床表现呈多样性, 包括波动性或进行性肌病、脑病、心肌病、低血糖或代谢性酸中毒^[5]。然而, 来自中国大陆的大样本数据显示, 核黄素反应性 MADD 主要表现为波动性或进行性肌病, 仅有少数病例伴有消化道症状,

如反复发作性恶心、呕吐和腹泻; 脂肪肝和心脏舒张功能障碍^[6]。国内外研究对致病基因的分析显示, 绝大多数患者携带 *ETFDH* 基因突变, 而中国几乎所有的核黄素反应性 MADD 患者至少携带 1 个 *ETFDH* 基因突变, 且中国南方患者存在 *ETFDH* 基因突变热点 G250A、北方患者存在 *ETFDH* 基因突变热点 A770G 和 A1227C^[6-10]。基于此, 本研究拟对 5 例核黄素反应性 MADD 患者的临床资料和基因学分型进行详细分析, 同时结合本研究团队的既往研究成果, 进一步丰富该病的临床和基因多样性, 以期提高同道对该病的认识。

临床资料

一、诊断依据

依据“中国脂质沉积性肌病诊治专家共识”^[11], 本组 5 例患者均符合以下情况: (1) 波动性或进行性肌无力、肌肉酸痛, 运动不耐受, 可伴反复发作的呕吐; 并存在病情诱发或加重因素, 如运动、劳累或感染。(2) 四肢近端、躯干肌、颈肌、咀嚼肌对称受累, 可伴有四肢近端或躯干肌萎缩。(3) 肌肉组织活检提示肌纤维内可见大量脂滴沉积, 且排除由于线粒体肌病和类固醇肌病等所致继发性肌纤维脂肪沉积。(4) 核黄素治疗疗效显著。(5) 基因分析呈 *ETFDH* 或 *ETFA/B* 基因突变型。

二、一般资料

所纳入的 5 例患者均为中山大学附属第一医院神经内科 2012 年 8 月至 2017 年 6 月确诊, 并在门诊接受治疗且已定期随访 6 个月以上者, 年龄 14 ~ 49

岁,平均年龄 27.60 岁;男性 4 例、女性 1 例;发病年龄 13~32 岁、平均 20.40 岁;其中广东籍 3 例、湖北和湖南籍各 1 例。临床表现为波动性或进行性肌无力,受累肌群包括四肢(4 例)、双下肢(1 例)、呼吸肌(1 例)、颈肌(3 例)、咀嚼肌(2 例)或咽喉肌(1 例);其中 4 例患者存在明显的诱发或加重因素[感染后加重并伴明显的呼吸肌受累症状(1 例)、运动或劳累诱发(3 例)],1 例无明显诱发或加重因素。本组患者血清肌酸激酶(CK)水平呈轻至中度升高(236~1366 U/L),其中 2 例运动后血清乳酸水平明显升高(10.90 mmol/L 和 9.06 mmol/L)。肌电图检查,4 例呈现肌源性损害,1 例疾病早期表现为神经源性损害,晚期则以肌源性损害为主;肌肉组织活检 2 例肌纤维内可见大量油红“O”染色阳性脂滴沉积。基因分析,4 例表现为 *ETFDH* 基因纯合或复合杂合突变,分别携带 G250A 纯合突变(1 例)、G250A 和 G524A 复合杂合突变(2 例)、T1211C 和 C1454G 复合杂合突变(1 例),余 1 例携带 *ETFDH* 基因 G1399C 杂合突变和 *ETFB* 基因 C725T 杂合突变;5 例患者携带的 *ETFDH* 基因突变均位于 FAD 结构域和泛醌结合结构域。所有患者对维生素 B₂ 治疗均反应良好。

典型病例

例 1 男性,49 岁,湖北籍。主因波动性肌无力 20 年余,伴咀嚼无力 3 个月,于 2017 年 4 月 6 日就诊。患者 20 年前劳累后(建筑工人)即出现四肢无力,休息后可缓解,症状严重时需他人搀扶拖行,当地医院考虑“重症肌无力”,予以吡啶斯的明(60 mg×3 次/d)及醋酸泼尼松(15 mg/d)口服,连续治疗 2 周后自觉症状与体征明显缓解,基本可恢复日常生活与工作;之后在门诊不规律随访并服药,多次因泼尼松不良反应自行停药,每次停药后约 6 个月即再次出现四肢无力、上楼困难,20 年间症状反复发作多次,具体不详。近 3 个月以来再次出现肢体无力,自诉上两层楼需要休息十余分钟,咀嚼较硬食物如牛肉或烧饼等咀嚼肌呈渐进性无力,每餐需不断休息-进食-再休息。外院仍按“重症肌无力”予以吡啶斯的明(60 mg×3 次/d)、醋酸泼尼松(15 mg/d)口服,持续服药 2 月余,但波动性四肢无力及咀嚼无力症状无明显改善,为求进一步诊断与治疗,遂至我院就诊。自患病以来,精神、睡眠尚可,大小便正常,体重无明显变化。个人史、既往史无特殊,家族中无类似疾病病史。门诊体格检查:脑神经检查无

明显异常;四肢近端肌力 5 级,爬楼后双下肢近端肌力 5 级,四肢肌张力正常,肌萎缩不明显,四肢腱反射无异常增强或减弱,病理征未引出;感觉系统检查未见明显异常。实验室检查:血清肌酸激酶 720 U/L(25~200 U/L);静息态血清乳酸 1.20(0.50~2.00 mmol/L)、活动后 10.90 mmol/L。肌电图提示肌源性损害。右侧股外侧肌肉组织活检,肌纤维内可见大量油红 O(ORO)染色阳性脂滴沉积(图 1)。基因检测:采集患者肘静脉血 2 ml,由北京迈基诺基因科技有限责任公司医学检验所行第二代基因测序(NGS),结果提示:*ETFDH* 基因错义突变 c.1211T>C(p.Met404Thr)和错义突变 c.1454C>G(p.Thr485Ser)复合杂合突变(图 2)。通过 PROVEAN (<http://provean.jevl.org/index.php>)、PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)、SIFT(<http://sift.jevl.org/>)、MutationTaster(<http://www.mutationtaster.org/>)和 M-CAP (<http://bejerano.stanford.edu/MCAP/>)等生物信息学软件进行蛋白质结构预测,提示两个突变蛋白质结构预测均为有害突变,且与核黄素反应性 MADD 发病有关^[6,12],临床确诊为 III 型 MADD。予维生素 B₂ 10 mg×3 次/d 口服,治疗 1 周后症状缓解,可持续咀嚼较硬食物,进餐及上三层楼均无需休息。患者每 2 周于门诊复诊 1 次,首诊 1 个月后肌力完全恢复至正常水平,可参加体力劳动;治疗 6 个月后维生素 B₂ 改为隔天口服(5 mg×3 次/d),目前已随访 1 年,至今未复发。

例 2 男性,44 岁,湖南籍。主诉进行性四肢无力 12 年,加重伴咀嚼及说话无力 1 月余,于 2017 年 6 月 4 日就诊。患者自 2005 年 6 月至 12 月无明显诱因出现渐进性行走及上楼无力,伴明显消瘦,体重下降约 5 kg,外院诊断为“格林巴利综合征?进行性肌营养不良症?”,给予营养神经及补中益气中成药(具体方案不详)治疗,症状与体征有所改善,可继续工作;至 2008 年 6 月至 12 月再次出现行走乏力现象,平地只能行走百米左右,同时伴有梳头、穿衣、抬头困难等上肢、颈部肌肉无力症状。2009 年于外院行肌肉组织活检,未发现特异性改变,肌电图提示神经源性损害,自行服用维生素 B₁(具体方案不详)等药物,症状好转,恢复正常工作。2010 年 2 月症状反复,6 个月内体重下降约 10 kg,外院(2010 年 2 月)肌电图检测提示肌源性并神经源性混合型损害。2013 年 6 月外院实验室检查,安静状态下血清乳酸 1.50 mmol/L(0.50~2.0 mmol/L),运动后 9.06

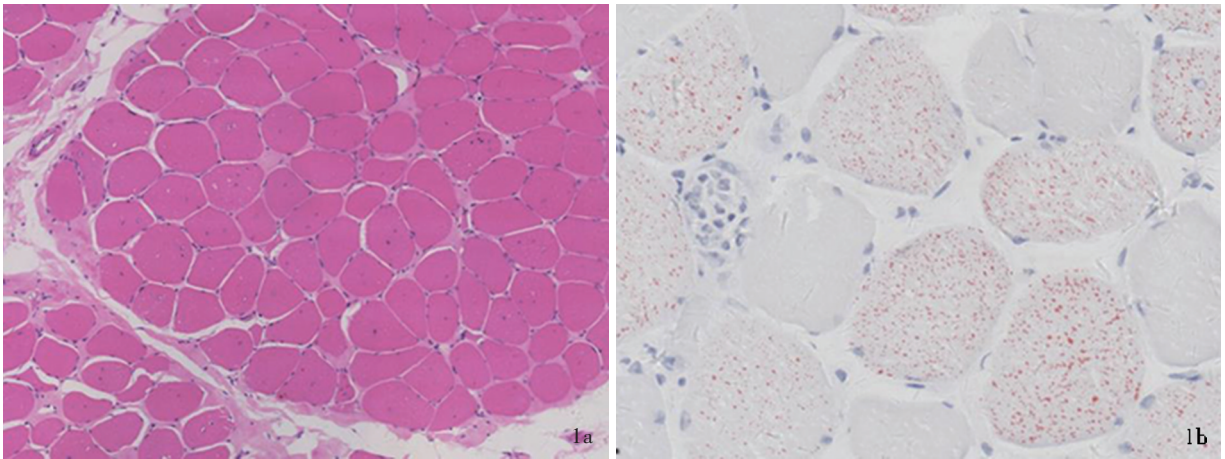


图1(例1) 肌纤维光学显微镜观察 1a 肌纤维轻度大小不一,可见小角化肌纤维,中央核可见;间质结缔组织增生及炎性细胞浸润不明显 HE染色 ×200 1b 肌纤维内可见大量脂肪滴沉积 油红O染色 ×400

Figure 1 Optical microscope observation of muscle fiber in Case 1 Muscle fibers were slightly different in size, several small keratinized muscle fibers could be seen, and the central nucleus were visible. Hyperplasia of connective tissue and inflammatory cells infiltration were not obvious (Panel 1a). HE staining ×200 Obvious lipid accumulation were seen in the muscle fibers (Panel 1b). Oil red O staining ×400

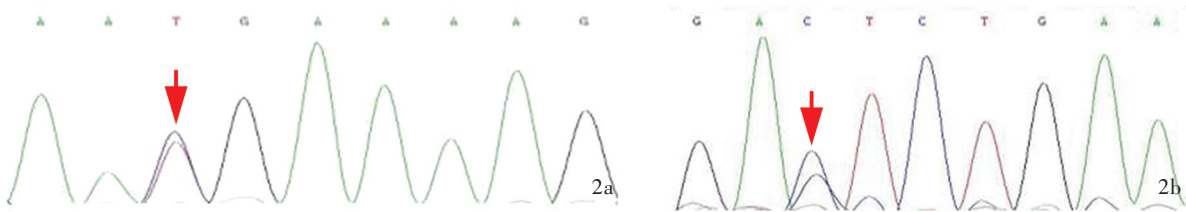
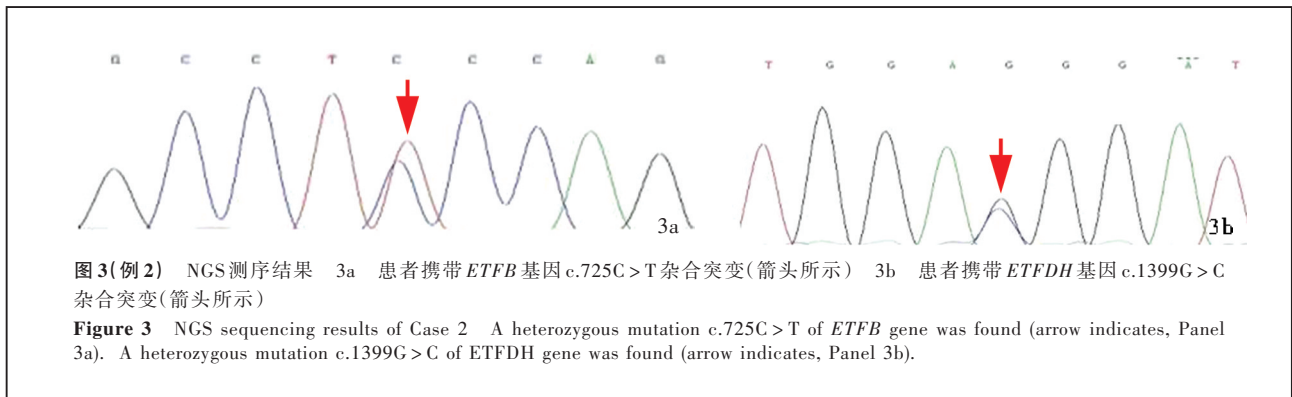


图2(例1) NGS测序结果 2a 患者携带EFTFDH基因c.1211T>C突变(箭头所示) 2b 患者携带EFTFDH基因c.1454C>G(箭头所示)突变

Figure 2 NGS sequencing results of Case 1 A heterozygous mutation c.1211T>C of EFTFDH gene was found (arrow indicates, Panel 2a). A heterozygous mutation c.1454C>G of EFTFDH gene was found (arrow indicates, Panel 2b).

mmol/L (0.50 ~ 2.0 mmol/L); 肌电图提示肌源性损害。2013至2017年四年间共发作两次,与之前肌无力症状相比无明显变化,期间未曾就诊亦未接受任何治疗。2017年5月以来四肢无力症状明显加重,不能自行抬头、穿衣、吃饭,发音困难,无力攀爬楼梯。为求进一步治疗,遂至我院就诊。自患病以来,精神睡眠一般,大小便正常,近1个月来体重下降约2.50 kg。既往史、个人史无特殊,父母身体健康,家族中无类似疾病病史。门诊体格检查:脑神经无明显异常;四肢近端肌力4级、远端肌力4级,四肢肌张力降低,消瘦,四肢腱反射减弱,病理征未引出;感觉系统未见明显异常。实验室检查:血清肌酸激酶236~727 U/L,其余各项指标均于正常值范围。心电图及超声心动图未见明显异常。患者拒绝接受肌电图检查。基因检测:采集肘静脉血2 ml,由北京迈基诺基因科技有限责任公司医学检验所进行NGS测序,结果提示:EFTFB基因c.725C>T

(p.Thr242Ile) 杂合错义突变与EFTFDH基因c.1399G>C(p.Gly457Arg)杂合错义突变(图3)。采用与例1相同的生物信息学软件进行蛋白质结构预测,表明EFTFDH基因c.1399G>C突变蛋白质结构预测为有害突变;该突变于在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <https://www.omim.org/>)、人类基因突变数据库(HGMD, <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>)和Clinvar数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>)中均无报道,为新发突变,且为国内外首次报道;在千人基因组计划(1000 Genomes Project)数据库(<https://www.genome.gov/27528684/1000-genomes-project>)及ExAC东亚人(Exome Aggregation Consortium ExAC East Asian)数据库(<http://exac.broadinstitute.org>)中正常人频率均为零。但有文献报道,由其他基因位点突变(EFTFDH基因c.1400G>C)导致相同氨基酸改变与核黄素反应性MADD发病有关^[13];根据美国医学遗传学与基



因组学学会(ACMG)遗传变异分类标准与指南^[14],该突变判定为致病性突变。*ETFB* 基因 c.725C>T 亦为新发突变,为国内外首次报道;采用与例1相同的生物信息学软件进行蛋白质结构预测,*ETFB* 基因 c.725C>T 突变为良性突变;另外在千人基因组计划数据库及 ExAC 东亚人数据库中正常人频率均为零。综合以上检测与分析结果,根据 ACMG 遗传变异分类标准与指南^[14],该突变判定为意义不明确突变,临床确诊为 III 型 MADD。予以维生素 B₂ 10 mg×3 次/d 口服,连续治疗 1 周后症状与体征明显缓解;2 周后肌力恢复至正常状态,可从事正常工作与生活。此后在我院门诊接受随访,每 2 周复诊 1 次,连续服药 4 个月后维生素 B₂ 改为隔天口服(5 mg×3 次/d),至今已随访 6 个月以上,未复发。

讨 论

核黄素反应性 MADD 是一种主要累及骨骼肌的脂质沉积性肌病,我国病例主要表现为面部、颈部、四肢近端和呼吸肌进行性或波动性肌无力,鲜有肌病以外的异常表现,与丹麦、美国、日本等国所报道的可伴有低血糖、高氨血症、发作性脑病、心脏病和代谢性酸中毒等肌病以外的表现不同^[5]。截止目前,我院共治疗 5 例典型的核黄素反应性 MADD 病例,其中 3 例已经发表^[15]。在本文中,我们对 5 例患者的临床特征及基因表型进行分析(表 1, 2)。(1)发病年龄:5 例患者发病年龄为 13~32 岁,平均 20.40 岁。(2)临床特征:以肌肉受累为主要表现,无中枢神经系统受累病例,再次证实既往我国南方和北方大样本的临床研究结果,即我国核黄素反应性 MADD 患者 98% 为 *ETFDH* 基因突变所致且罕见中枢神经系统受累的特点^[6-7, 12]。(3)血清学改变:发病方式呈多样化,血液生化检测主要表现为肌酸激酶水平轻至中度升高,常伴有血清乳酸水平增加,我

院所报告的 5 例患者肌酸激酶水平均呈轻至中度升高,其中 2 例血清乳酸水平于运动后明显升高。(4)电生理学改变:肌电图表现大多呈肌源性损害,但也可见神经源性或肌源性与神经源性混合型损害,本组 4 例呈现肌源性损害,1 例疾病早期表现为神经源性损害,后期以肌源性损害为主。(5)诊断与鉴别诊断:核黄素反应性 MADD 易与糖原贮积症、线粒体肌病、进行性肌营养不良症(PMD)、重症肌无力、周围神经病和多发性肌炎等疾病相混淆,本文两例患者曾分别被误诊为重症肌无力(例 1)、吉兰-巴雷综合征或进行性肌营养不良症(例 2)。笔者认为,对于临床表现相似且无明确证据表明为上述疾病中的一种时,应首先考虑核黄素反应性 MADD。本组 5 例中有 2 例经肌肉组织活检术确诊为核黄素反应性 MADD,但本文例 2 患者在确诊前 8 年肌肉组织活检未发现特异性肌组织异常改变,提示核黄素反应性 MADD 患者在疾病早期可呈现非特异性改变,结合既往研究结果^[5],我们的经验是,对于此类患者可进行尿有机酸和血清乙酰肉碱分析,并可在征得患者同意的情况下进一步实施目标基因检测,以避免漏诊。(6)基因表型:本组 5 例患者均携带 *ETFDH* 基因突变,与 Olsen 等^[16]提出的核黄素反应性 MADD 是 *ETFDH* 基因突变所致的结果相一致,这一观点也已经大量文献所证实^[6-7, 10, 12]。*ETFDH* 蛋白主要由 3 个结构域所组成,即黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)结构域、硫铁蛋白(4Fe4S)簇结构域和泛醌结合结构域,这 3 个区域分别与 FAD、4Fe4S 及泛醌相结合^[17]。既往研究表明,*ETFDH* 基因的 FAD 结构域和泛醌结合区域发生错义突变时可引起 FAD 与 *ETFDH* 蛋白的结合能力下降,从而影响蛋白质的催化活性、折叠及组装,使蛋白质失稳态^[7, 12]。*ETFDH* 基因突变位点位于 FAD 结构域的 MADD 患者对核黄素治疗反应良好^[8];核黄素具有补充提高线粒体

表1 5例Ⅲ型MADD患者一般资料

Table 1. Clinical data for five patients with Ⅲ type MADD

序号	性别	籍贯	年龄(岁)	发病年龄(岁)	症状与体征	病情加重或诱发因素	受累部位
1	女性	广东省	16	13	四肢近端肌无力,呼吸困难,咳痰费力	感染致高热后呼吸肌严重受累	四肢近端肌肉、呼吸肌
2	男性	广东省	15	14	运动后疲劳,颈肌无力,严重时不能抬头	运动	四肢肌肉、颈肌
3	男性	广东省	14	14	运动后疲劳	运动	双下肢肌肉、颈肌
4	男性	湖北省	49	29	波动性四肢肌无力,咀嚼、说话无力	劳累后	四肢肌肉、咀嚼肌
5	男性	湖南省	44	32	进行性四肢肌无力,咀嚼无力、说话无力,体重明显下降	无明显诱发因素	四肢肌肉、颈肌、咀嚼肌和咽喉肌

表2 5例Ⅲ型MADD患者辅助检查与治疗结果

Table 2. Results of laboratory inspection and treatment for 5 patients with Ⅲ type MADD

序号	血清CK	血清乳酸	肌电图	肌肉组织活检	ETFDH基因突变	ETFDH基因突变所在结构域	VitB ₂ 疗效	参考文献
1	发热时955 U/L; 未检测 体温正常时 28~107 U/L	未检测	肌源性损害	呈肌病表现,肌纤维 内可见较多脂肪滴	c.250G>A 纯合突变	FAD结构域	良好	[15]
2	500~1000 U/L	未检测	肌源性损害	未检测	c.250G>A 和 c.524G>A 复合杂合突变	FAD结构域	良好	[15]
3	918~1366 U/L	未检测	未检测	未检测	c.250G>A 和 c.524G>A 复合杂合突变	FAD结构域	良好	[15]
4	720 U/L	运动后明显升高 (10.90 mmol/L)	肌源性损害	呈肌病表现,肌纤维 内可见较多脂肪滴	c.1211T>C 和 c.1454C> G 复合杂合突变	FAD/泛醌结合结构域	良好	本文例1
5	236~727 U/L	运动后明显升高 (9.06 mmol/L)	早期表现为神经源性损害, 后期以肌源性损害为主	无特异性改变	c.1399G>C 杂合突变	泛醌结合结构域	良好	本文例2

FAD, flavin adenine dinucleotide, 黄素腺嘌呤二核苷酸, VitB₂, 维生素B₂

内FAD浓度的作用,在一定程度上提高了ETFDH蛋白与FAD的结合率,继而稳定因突变导致的蛋白质折叠能力的下降^[12,19]。本组5例患者ETFDH基因突变位点均主要影响FAD结构域和泛醌结合结构域,其中4例至少有一个基因突变位点位于FAD结构域,支持上述关于核黄素对MADD的作用机制。另外,结合既往研究以及本文例1患者的诊断与治疗经过,提示糖皮质激素对部分核黄素反应性MADD患者具有明显疗效^[20]。本组4例患者均于感染性高热、运动或劳累后出现症状加重,是否也为上述机制发挥的生理作用,尚不十分明确,需要进一步的基础研究加以证实。鉴于I型和II型MADD患儿预后不良,亟需明确MADD发病机制和核黄素的药理作用,以有效改善预后。本组5例患者中有3例携带中国南方人群的突变热点c.250G>A突变,证实Wang等^[7]提出的我国南方地区MADD患者存在先证者效应。本文两例患者均携带少见基因突变类型,分别为ETFDH基因c.1211T>C与c.1454C>G复合杂合突变,以及新发ETFDH基因1399G>C杂合突变,进一步丰富了我国MADD患者ETFDH基因突变谱,尤其中部地区可能存在不同于南方与北方的突变位点。本文例2患者临床诊断和

维生素B₂的治疗反应支持Ⅲ型MADD,但在NGS检测时仅发现ETFDH基因单个位点的突变,推测来自其父或其母,另一等位基因位点很可能是同源染色体位点(父或母源的染色体上)的ETFDH基因发生突变,但测序分析未发现,这种情况在常染色体隐性遗传性疾病中时有发生,例如糖原贮积症II型(Pompe病)^[21]。此外,考虑到例2患者同时存在ETFB基因单个位点的突变,是否还存在ETFB基因另一等位基因的突变,有待进一步考证。

总之,核黄素反应性MADD是一种主要由ETFDH基因突变引起的以骨骼肌受累为主的可治性遗传性疾病,临床表型和基因型存在多样性,易与多种肌病、重症肌无力和周围神经病变相混淆。诊断性维生素B₂治疗、肌肉组织活检、尿有机酸与血清酰基肉碱分析,以及目标基因检测有助于明确诊断和遗传咨询。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Vattemi G, Gellera C, Tomelleri G. Riboflavin - responsive multiple acyl - CoA dehydrogenase deficiency: delayed hypersensitivity reaction and efficacy of low - dose intermittent supplementation[J]. Eur J Neurol, 2017, 24:e41-e42.

- [2] Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Takahashi T, Purevsuren J, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Ohkubo T, Yokota T, Watanabe M, Tsunemi T, Mizusawa H, Takuma H, Shioya A, Ishii A, Tamaoka A, Shigematsu Y, Sugie H, Yamaguchi S. Clinical, biochemical and molecular investigation of adult-onset glutaric acidemia type II: characteristics in comparison with pediatric cases[J]. *Brain Dev*, 2016, 38:293-301.
- [3] van der Westhuizen FH, Smuts I, Honey E, Louw R, Schoonen M, Jonck LM, Dercksen M. A novel mutation in ETFDH manifesting as severe neonatal-onset multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. *J Neurol Sci*, 2018, 384:121-125.
- [4] Carroll JE, Shumate JB, Brooke MH, Hagberg JM. Riboflavin-responsive lipid myopathy and carnitine deficiency [J]. *Neurology*, 1981, 31:1557-1559.
- [5] Grünert SC. Clinical and genetical heterogeneity of late-onset multiple acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2014, 9:117.
- [6] Xi J, Wen B, Lin J, Zhu W, Luo S, Zhao C, Li D, Lin P, Lu J, Yan C. Clinical features and ETFDH mutation spectrum in a cohort of 90 Chinese patients with late-onset multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. *J Inher Metab Dis*, 2014, 37:399-404.
- [7] Wang ZQ, Chen XJ, Murong SX, Wang N, Wu ZY. Molecular analysis of 51 unrelated pedigrees with late-onset multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency (MADD) in southern China confirmed the most common ETFDH mutation and high carrier frequency of c.250G>A [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2011, 89:569-576.
- [8] Lan MY, Fu MH, Liu YF, Huang CC, Chang YY, Liu JS, Peng CH, Chen SS. High frequency of ETFDH c.250G>A mutation in Taiwanese patients with late-onset lipid storage myopathy[J]. *Clin Genet*, 2010, 78:565-569.
- [9] Wang ZQ, Wang N, Wu ZY. Hotspot c.250G>A mutations in electron transfer flavoprotein dehydrogenase gene of late-onset multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency (MADD) in Southern China[J]. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2011, 44:368.[王志强, 王柠, 吴志英. 中国南方晚发型多种酰基辅酶A脱氢酶缺陷的电子转移黄素蛋白脱氢酶基因存在高频热点突变c.250G>A[J]. *中华神经科杂志*, 2011, 44:368.]
- [10] Wang Y, Zhao DH, Hong DJ, Wang ZX, Yuan Y. Hot spot mutations in electron transfer flavoprotein dehydrogenase gene of riboflavin responsive lipid storage myopathy in 20 Chinese families[J]. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2011, 44:309-313.[王韵, 赵丹华, 洪道俊, 王朝霞, 袁云. 核黄素反应性脂质沉积性肌病20个家系的电子转移黄素蛋白脱氢酶基因存在热点突变[J]. *中华神经科杂志*, 2011, 44:309-313.]
- [11] Chinese Society of Neurology, Chinese Society of Neuromuscular Disease, Chinese Society of Electromyography and Clinical Neurophysiology. Expert consensus on diagnosis and treatment of lipid deposition myopathy in China [J]. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2015, 48:941-945.[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肌电图及临床神经生理学组, 中国脂质沉积性肌病诊治专家共识[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48:941-945.]
- [12] Wen B, Dai T, Li W, Zhao Y, Liu S, Zhang C, Li H, Wu J, Li D, Yan C. Riboflavin-responsive lipid-storage myopathy caused by ETFDH gene mutations [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2010, 81:231-236.
- [13] Law LK, Tang NL, Hui J, Fung SL, Ruiten J, Wanders RJ, Fok TF, Lam CW. Novel mutations in ETFDH Gene in Chinese patients with riboflavin-responsive multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. *Clin Chim Acta*, 2009, 404:95-99.
- [14] Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. *Genet Med*, 2015, 17:405-424.
- [15] Cao JQ, Zhang C, Li YQ, Yang J, Liang YY, Feng SW, Zhang X, Li J, Zhang HL, Zhu YL, Geng J, Yang LQ. Clinical characteristics and gene mutation analysis of riboflavin-responsive lipid storage myopathy: report of 3 cases in 2 families and review of literature [J]. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2014, 14:479-484.[操基清, 张成, 李亚勤, 杨娟, 梁颖茵, 冯善伟, 张旭, 利婧, 张惠丽, 朱瑜龄, 耿嘉, 杨丽卿. 核黄素反应性脂质沉积性肌病临床特征与基因突变分析: 两家系三例报告并文献复习[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2014, 14:479-484.]
- [16] Olsen RK, Olpin SE, Andresen BS, Miedzbrodzka ZH, Pourfarzam M, Merinero B, Frerman FE, Beresford MW, Dean JC, Cornelius N, Andersen O, Oldfors A, Holme E, Gregersen N, Turnbull DM, Morris AA. ETFDH mutations as a major cause of riboflavin-responsive multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency[J]. *Brain*, 2007, 130:2045-2054.
- [17] Zhang J, Frerman FE, Kim JJ. Structure of electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase and electron transfer to the mitochondrial ubiquinone pool[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103:16212-16217.
- [18] Muralidhara BK, Rathinakumar R, Wittung-Stafshede P. Folding of *Desulfobrevibacterium desulfuricans* flavodoxin is accelerated by cofactor flly-casting[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2006, 451:51-58.
- [19] Xu J, Li D, Lv J, Xu X, Wen B, Lin P, Liu F, Ji K, Shan J, Li H, Li W, Zhao Y, Zhao D, Pok JY, Yan C. ETFDH Mutations and Flavin Adenine Dinucleotide Homeostasis Disturbance Are Essential for Developing Riboflavin-Responsive Multiple Acyl-Coenzyme A Dehydrogenation Deficiency [J]. *Ann Neurol*, 2018, 84:659-673.
- [20] Liu XY, Wang ZQ, Wang DN, Lin MT, Wang N. A historical cohort study on the efficacy of glucocorticoids and riboflavin among patients with late-onset multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2016, 129:142-146.
- [21] Momosaki K, Kido J, Yoshida S, Sugawara K, Miyamoto T, Inoue T, Okumiya T, Matsumoto S, Endo F, Hirose S, Nakamura K. Newborn Screening for Pompe Disease in Japan: Report and Literature Review of Mutations in the GAA Gene in Japanese and Asian Patients [J]. *J Hum Genet*, 2019, 64:741-755.

(收稿日期:2020-06-02)