

引用本文:江黎晨,孙莉,刘安诺,等.先天性副肌强直1例临床报告及基因检测分析[J].安徽医药,2022,26(1):103-106.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.01.024.

◇临床医学◇



先天性副肌强直1例临床报告及基因检测分析

江黎晨¹,孙莉¹,刘安诺²,章秋¹,胡红琳¹

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院内分泌科,安徽 合肥 230000;

²安徽医科大学护理学院,安徽 合肥 230000

通信作者:胡红琳,女,主任医师,硕士生导师,研究方向为内分泌与代谢病;Email:hhlin1994@sina.com

基金项目:安徽省科技厅公益性联动基金(1704F0804026);国家级大学生创新创业训练计划创新训练项目(S202010366042)

摘要: **目的** 报道1例先天性副肌强直(PMC)病人的临床资料和基因检测结果(包括病人及其父母、姐姐),并文献复习。**方法** 分析安徽医科大学第一附属医院内分泌科于2019年12月22日收治的1例反复发作低钾血症伴横纹肌溶解综合征病人的临床资料(包括病史、体格检查、实验室辅助检查结果),并完善基因全外显子组测序,同时检测该病人父母及姐姐的相关基因。查阅国内外先天性副肌强直的相关文献,总结该病的临床特点及突变基因类型。**结果** 病人编码钠通道 α 亚单位的骨骼肌钠通道基因(SCN4A基因)存在c.3318+10(内含子17)C>T的杂合突变,结合该病人的临床资料及基因检测结果诊断为先天性副肌强直。其父母和姐姐均不存在该致病基因的突变,说明该病人为散发性先天性副肌强直。**结论** 对临床上难以解释的反复发作的严重低钾血症病人要考虑到罕见疾病的可能,尽早对病人及其家庭成员进行基因检测分析,以明确诊断和精准治疗。**关键词:** 肌强直失调症; 骨骼肌钠通道基因(SCN4A基因); 低钾血症; 肌无力; 诊断

A case of paramyotonia congenita: clinical report and genetic analysis

JIANG Lichen¹, SUN Li¹, LIU Annuo², ZHANG Qiu¹, HU Honglin¹

Author Affiliations:¹Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230000, China; ²College of Nursing, Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230000, China

Abstract: **Objective** To report the clinical data and genetic test results (including the patient and his parents and sister) of a paramyotonia congenita(PMC) patient and review the literature. **Methods** The clinical data (including medical history, physical examination, and laboratory auxiliary examination results) of a patient with recurrent hypokalemia and rhabdomyolysis syndrome admitted to the Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University on December 22, 2019 were analyzed. Gene whole-exome sequencing was performed, and related genes of the patient's parents and sisters were detected. Relevant domestic and foreign works on paramyotonia congenita were consulted, and the clinical characteristics and mutation gene types of the disease were summarized. **Results** The patient's skeletal muscle sodium channel gene (SCN4A gene) encoding sodium channel alpha subunit had a heterozygous mutation of c.3318+10 (intron 17) C>T. Combined with the patient's clinical data and genetic testing results, the patient was diagnosed with paramyotonia congenita. Neither his parents nor sister had mutations in the pathogenic gene, indicating that the patient had sporadic paramyotonia congenita. **Conclusion** For patients with recurrent severe hypokalemia that are difficult to explain clinically, the possibility of rare diseases should be considered, and genetic testing and analysis of the patients and their family members should be performed as soon as possible to confirm the diagnosis and precise treatment.

Key words: Myotonic disorders; SCN4A gene; Hypokalemia; Muscle weakness; Diagnosis

先天性副肌强直(paramyotonia congenita, PMC)是一种寒冷环境下或运动易诱发的以反复发作的肌强直或肌无力为特点的非营养性离子通道病。遗传学上该病是常染色体显性遗传^[1-2]。国内报道的先天性副肌强直较为罕见。现将我院诊断的1例PMC的诊断(包括临床诊断、基因诊断)和治疗过程进行回顾和相关文献复习,以期对PMC的研究提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 男,22岁,因“反复全身无力4年,再发加重伴肌肉酸痛11 d”于2019年12月22日就诊于安徽医科大学第一附属医院内分泌科。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 现病史 病人4年前出现运动后全身乏力软瘫的表现,症状较轻,就诊当地诊所,服用口服药物后症状好转(具体药物不详),后再次出现全身无力

3~4次,症状均较轻,以四肢无力为主,并且遇冷或运动后易出现,休息后症状明显改善。1 d前病人爬楼梯后再次出现全身无力,症状较重,以右侧肢体无力为主,伴全身肌肉酸痛。今日上午就诊当地诊所,予补钾治疗后,至当日下午全身无力的症状仍未完全缓解,遂就诊我院,急查血钾 2.46 mmol/L,及时予补钾、补液等处理。

1.3 体格检查 病人身高 178 cm,体质量 78 kg;体质量指数(BMI) 24.62 kg/m²;体温 36.2 ℃;心率 103 次/分,律齐;呼吸 22 次/分;血压 126/72 mmHg。病人神志清楚,智力正常,高中学历。体格检查示颈部、胸部、腹部均无异常体征。肌力检查示双下肢肌力 IV 级,双上肢肌力 V 级,肌张力正常。双足针刺觉、触压觉、温度觉、震动觉均无异常。双侧膝反射正常,生理反射存在。双侧巴宾斯基征(-),且无其他病理反射。

1.4 实验室检查数据 2019年12月22日入院查血钾 2.46 mmol/L;2019年12月23日进行血电解质检查,钾 4.07 mmol/L,钠 138.2 mmol/L,氯 103.9 mmol/L,钙 1.07 mmol/L;肝功能检查, γ -谷氨酰转氨酶 80 U/L,乳酸脱氢酶 247 U/L,碱性磷酸酶 79 U/L;皮质醇(8 am) 347.21 mmol/L,皮质醇(12 am) 117.12 mmol/L。ANCA 全套检查:p-ANCA、c-ANCA、MPO、PR3 均为阴性;抗核抗体为阴性。ACTH、血糖、血脂、血气分析等均正常;2019年12月24日进行肾酸化功能测定,pH 值为 6.65,碳酸氢根 6.00 mmol/L,可滴定酸 14.00 mmol/L,铵离子 12.00 mmol/L。甲状腺功能以及肾素血管紧张素醛固酮均正常;2019年12月25日检查,肌红蛋白大于 1 000.00 ng/mL,肌钙蛋白小于 0.010 ng/mL,肌酸激酶 15 890 U/L,肌酸激酶同工酶 190 U/L,谷草转氨酶 180 U/L,乳酸脱氢酶 1 820 U/L;2019年12月26日 24 h 尿钾为 120.70 mmol/L;2020年1月1日检查肌酸激酶 316 U/L,肌红蛋白、肌钙蛋白、肝功能均恢复正常。发作期间病人辅助检查:12 导联心电图提示窦性心律,正常范围心电图;肾上腺 CT、双肾 B 超、输尿管 B 超、膀胱 B 超、头颅 CT 平扫均未见明显异常。

1.5 家族史 病人足月顺产,既往否认慢性病史。病人父亲 55 岁,母亲 53 岁,姐姐 26 岁,三位家庭成员身体健康,无四肢软瘫、肌无力等临床表现。父母非近亲婚配。自诉无家族性遗传病史。

2 结果

病人诊断为“低钾血症、横纹肌溶解综合征”,与病人及其近亲属充分沟通并签订知情同意书后,2020年1月1日,对病人及其父母、姐姐均用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管抽取静脉血各 3.0 mL,后提取 DNA。先通过生信数据分析判定亲缘关系:父子

(女)和母子(女)关系。而后进行基因全外显子组测序检测,联合运用遗传学、分子生物学注释、生物学等技术进行基因分析筛选,对目标序列进行 PCR 扩增后,最后得到病人骨骼肌钠通道基因(SCN4A)基因存在一个杂合突变:c.3318+10(内含子 17)C>T。该变异位于第 17 号内含子区域,为该基因第 17 号外显子后的第 10 个碱基上发生的碱基改变,碱基 C 突变为碱基 T,该变异位于剪接位点附近。该变异同先天性副肌强直(OMIM:168300)相符合。其父母及姐姐经检测均为该基因的野生型(见图 1)。先证者杂合 denovo 突变,遵循常染色体显性遗传(AD)的遗传规律,先证者及其家庭成员的表型及基因型符合共分离。根据 ACMG 评级,SCN4A 基因 c.3318+10 (IVS17)C>T 突变归类为“可能致病 Likely pathogenic” PS2+PM2。

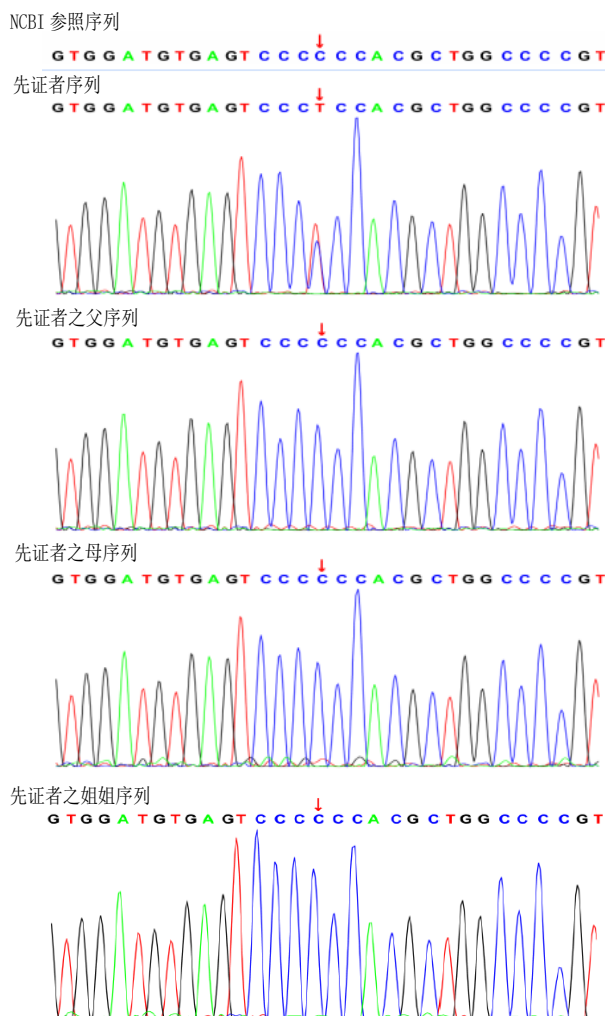


图1 先天性副肌强直先证者及其父母、姐姐 SCN4 基因突变序列

3 讨论

病人近 4 年来多次出现全身乏力症状,最近一次症状加重,入我院后急诊检查,血钾 2.64 mmol/L,提示为低钾血症。且该病人心肌酶谱检查示肌酸

激酶、肌酸激酶同工酶、肌钙蛋白均明显增高,考虑合并横纹肌溶解。该病人的肾上腺CT、皮质醇及促肾上腺皮质激素(ACTH)昼夜节律、甲状腺功能、肾酸化功能等相关检查均未见明显异常,排除了肾小管酸中毒、甲状腺功能亢进等疾病。根据前期诊断,适量补钾,口服10%氯化钾20 mL。病人在补钾1 d后,血钾很快恢复正常,而后停止补钾。因肌酸激酶仍处较高水平,继续补液促排。数日后,肌酸激酶等指标也逐渐下降直至恢复正常,肌无力症状也明显缓解。基因检测结果显示SCN4A基因:c.3318+10(内含子17)C>T突变,其父母及姐姐SCN4A基因均为野生型。病人此次发作当日气温较低,发作前有运动及考前紧张等诱发因素,结合病人以往反复出现的遇冷或疲劳后肌无力的临床症状和基因检测结果,诊断为SCN4A基因突变导致的先天性副肌强直。

PMC是一种临床上较为罕见的常染色体显性遗传的骨骼肌离子通道病。最早由Enlenburg于1886年首次报道^[3]。近年来,研究表明PMC是由编码骨骼肌钠离子通道Nav1.4的 α 亚基的SCN4A基因发生错义突变导致的遗传性疾病^[4]。电压敏感钠离子通道有很多种,其中仅有Nav1.4这一种电压敏感钠离子通道亚型位于骨骼肌上,其由 α 亚基和调控性的 β 亚基组成,SCN4A基因编码 α 亚基,其包括D1-D4 4型结构域,每个结构域由S1-S6 6个 α 螺旋线疏水结构域组成^[5]。SCN4A基因发生错义突变会导致电压门控钠离子通道的构象改变,进而钠离子通道的功能出现异常,常常表现为Nav1.4的快速失活过程异常,钠离子通道持续开放,由此导致骨骼肌持续收缩^[6]。导致PMC的基因突变体产生的通道性功能损伤通常具有温度依赖性^[7]。SCN4A基因的突变可导致多种骨骼肌疾病,如高钾型周期性瘫痪,先天性肌强直症,钠通道肌强直等^[8-9]。临床上可根据病人的临床症状、实验室辅助检查、肌电图、肌肉活检结果等加以鉴别。本病例病人有低温、运动诱发的四肢肌无力,反复发作,基因检测结果显示SCN4A基因:c.3318+10(内含子17)C>T突变,该突变未见HGMD、OMIM、Clinvar数据库收录,且无人群分布率信息,为罕见变异。病人父母及姐姐并无该基因的突变,可诊断为新发突变导致的先天性副肌强直。

PMC病人多于2~31岁发病,典型临床表现为寒冷或运动诱发的肌强直,伴或不伴反复发作性肌无力症状,部分伴有肌肥大^[10],大多数病人累及的肌肉有面部肌肉和上肢肌肉,少数病例累及下肢肌肉^[11]。病人常表现为肌无力、肌痛、肌肉僵硬、骨骼肌肥大、握手肌强直、面部表情僵硬等。持续运动

可加重症状,休息或转移至温暖环境可使症状缓解^[12]。PMC的临床症状有明显的异质性,不同的病人甚至是同一遗传家系里的不同个体的病人临床表现也存在差异,因此为确诊该病需要结合临床症状、实验室检查、电生理检查、肌肉活检和遗传分析等多方面因素综合考虑^[13]。PMC病人的血钾水平可正常、偏低或偏高^[14-15]。本病例病人发作期血钾浓度为2.46 mmol/L(正常参考值3.5~5.5 mmol/L),伴有低钾血症,病程中补钾治疗有效。国外曾报道过PMC伴低钾血症的病例,但较为罕见^[16]。本病例病人病程中查肌酸激酶(CK)>10 000 U/L(正常参考值55~170 U/L),CK显著升高,说明病人伴有横纹肌溶解综合征,积极补液促排。有文献报道过一个PMC家系的先证者伴有横纹肌溶解综合征的病例^[17]。临床上应加强对病人及其家属的宣教,积极开展基因检测工作以明确诊断。PMC大多数病人的肌电图示肌强直电位以及肌源性损害。遗憾的是,本病例病人未进行肌电图检查及肌肉活检。

治疗上可予钠离子通道抑制剂,如美西律和拉莫三嗪治疗。近年有研究表明,增强钠通道的缓慢失活药物,如雷诺嗪也可用于治疗PMC^[18]。I类抗心律失常药物(抑制钠离子通透性为主的膜抑制性药物)中的IC类抗心律失常药物,如氟卡尼被证实可缓解SCN4A基因突变导致的功能障碍^[19]。日常于发作间歇期时应注意避免诱发因素,如寒冷季节注意保暖,避免剧烈运动等。临床上应多与病人交流,缓解病人因肌强直或肌无力产生的焦虑情绪。肌强直和肌无力症状均可影响病人的日常生活,降低病人的生活质量,给病人带来消极情绪。目前尚无有效的根治性的治疗方法,并且国内文献报道的PMC病例较少,因此为系统性深入研究该病,完善诊断策略和治疗方法,仍需要更大样本的研究,本病例以期为同行的相关研究提供参考。

综上所述,低钾血症是临床上常见的电解质紊乱,必须重视病因的诊断与鉴别诊断。该例病人合并横纹肌溶解,在排除常见病因后考虑到先天性疾病可能,故需及时完善基因检测,明确诊断。先天性副肌强直暂时并无有效的根治性治疗方法,而且已被证实的致病的突变基因仍然较少,因此扩大样本量,继续对本病更深入更系统的研究将是我们今后的研究方向。

参考文献

- [1] JARECKI BW, PIEKARZ AD, JACKSON JO, et al. Human voltage-gated sodium channel mutations that cause inherited neuronal and muscle channelopathies increase resurgent sodium currents [J]. J Clin Invest, 2010, 120(1): 369-378.

- [2] YOSHINAGA H, SAKODA S, GOOD JM, et al. A novel mutation in SCN4A causes severe myotonia and school-age-onset paralytic episodes[J]. *Neurol Sci*, 2012;315(1/2):15-19.
- [3] TRIVEDI JR, BUNDY B, STATLAND J, et al. Non-dystrophic myotonia: prospective study of objective and patient reported outcomes[J]. *Brain*, 2013, 136(7): 2189-2200.
- [4] CIBULCIK F, SPALEK P, MARTINKA I, et al. Paramyotonia congenita in a Slovak population: genetic and pedigree analysis of 3 families[J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2019, 163(4):362-365.
- [5] ZHAO J, DUPRÈ N, PUYMIRAT J, et al. Biophysical characterization of M1476I, a sodium channel founder mutation associated with cold-induced myotonia in French Canadians [J]. *Physiol*, 2012;590(11):2629-2644.
- [6] 曹望龙, 卢光琇, 谭跃球. SCN4A 基因突变导致的一个先天性副肌强直家系研究[J]. *临床检验杂志*, 2015, 33(5):364-367.
- [7] KE Q, YE J, TANG S, et al. N1366S mutation of human skeletal muscle sodium channel causes paramyotonia congenita [J]. *J Physiol*, 2017, 595(22):6837-6850.
- [8] CANNON SC. Sodium channelopathies of skeletal muscle [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2018, 246:309-330.
- [9] 李务荣, 王朝霞, 张巍, 等. 骨骼肌钠离子通道病 17 例患者的临床病理和基因分析[J]. *中华神经科杂志*, 2014, 47(1): 711.
- [10] 张淑, 吴士文. 一先天性副肌强直家系的临床特征及基因检测研究[J]. *中华神经医学杂志*, 2017, 16(6):630-632.
- [11] 侯志刚, 宋学琴, 吴红然. 肌强直性综合征的研究进展[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2016, 42(10):636-640.
- [12] 潘学琪, 张炜, 畅雪丽, 等. SCN4A 基因 p.R1448H 突变致先天性副肌强直合并低钾性周期性麻痹一家系报道[J]. *中华神经科杂志*, 2019(6):457-462.
- [13] HUANG S, ZHANG W, CHANG X, et al. Overlap of periodic paralysis and paramyotonia congenita caused by SCN4A gene mutations two family reports and literature review [J]. *Channels (Austin)*, 2019, 13(1): 110-119.
- [14] BEDNARZ M, STUNNENBERG BC, KUSTERS B, et al. A novel Ile1455Thr variant in the skeletal muscle sodium channel α -subunit in a patient with a severe adult-onset proximal myopathy with electrical myotonia and a patient with mild paramyotonia phenotype[J]. *Neuromuscul Disord*, 2017, 27(2): 175182.
- [15] POULIN H, GOSSELINBADAROUNDINE P, VICART S, et al. Substitutions of the S4DIV R2 residue (R1451) in Nav1.4 lead to complex forms of paramyotonia congenita and periodic paralyses [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2041.
- [16] OSCH TVAN, STUNNENBERG BC, STERNBERG D, et al. Prolonged attacks of weakness with hypokalemia in SCN4A-related paramyotonia congenita [J/OL]. *Muscle Nerve*, 2018, 58(4): e27-e28. DOI: 10.1002/mus.26190.
- [17] 宋佳, 张杰文, 付俊, 等. 先天性副肌强直两个家系的临床、病理及基因改变特点[J]. *中华内科杂志*, 2020, 59(7):535-539.
- [18] LORUSSO S, KLINE D, BARTLETT A, et al. Open-label trial of ranolazine for the treatment of paramyotonia congenita [J]. *Muscle Nerve*, 2019, 59(2):240-243.
- [19] TERRACCIANO C, FARINA O, ESPOSITO T, et al. Successful long-term therapy with flecainide in a family with paramyotonia congenita[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2018, 89(11):1232-1234.

(收稿日期:2020-09-25, 修回日期:2020-11-02)

引用本文:李鑫,孙茂苍,崔山龙.微小RNA-195降低寡聚态 β 样淀粉蛋白1-42诱导大鼠肾上腺嗜铬细胞炎症反应和凋亡作用机制[J].安徽医药,2022,26(1):106-111.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.01.025.

◇临床医学◇



微小RNA-195降低寡聚态 β 样淀粉蛋白1-42诱导大鼠肾上腺嗜铬细胞炎症反应和凋亡作用机制

李鑫,孙茂苍,崔山龙

作者单位:聊城市第四人民医院神经内科,山东 聊城 252000

通信作者:崔山龙,男,副主任医师,研究方向为脑血管病及神经系统变性病,Email:1545782053@qq.com

摘要: 目的 探讨微小RNA-195(miR-195)对寡聚态 β 样淀粉蛋白(A β)1-42诱导大鼠肾上腺嗜铬细胞(PC12细胞)炎症反应和凋亡的作用机制。方法 本研究起止时间为2018年3—11月。PC12细胞购自美国模式培养物保藏中心。运用25 μ mol/mL的A β 1-42处理PC12细胞建立神经细胞损伤模型;将PC12细胞分为A β 1-42+miR-con组、A β 1-42+miR-195组、A β 1-42+si-con组、A β 1-42+ATP酶阳离子转运13A2小干扰RNA(si-ATP13A2)组、miR-con组、miR-195组、A β 1-42+miR-195+pcDNA组、A β 1-42+miR-195+ATP13A2过表达质粒(pcDNA-ATP13A2)组。实时定量PCR检测细胞中miR-195、ATP13A2的mRNA的表达;Western blotting检测细胞中ATP13A2的蛋白表达;酶联免疫吸附实验检测细胞中白细胞介素1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的含量;噻唑蓝法、流式细胞术检测细胞的增殖和凋亡;双荧光素酶报告基因检测实验检测细胞中miR-195与ATP13A2的结合力。结果 与对照组相比,A β 1-42可显著下调PC12细胞中miR-195的表达[(0.22 $\pm$ 0.04)比(1.01 $\pm$ 0.06)],上调ATP13A2的表达[(0.78 $\pm$ 0.08)比(0.41 $\pm$ 0.05)];过表达miR-195可促进PC12细胞的增殖[(76.59 $\pm$ 8.44)%比(52.73 $\pm$ 5.82)%],