

常染色体隐性遗传性肢带型肌营养不良症研究进展

王明秋 肖兴军 朱冬梅

【中图分类号】 R746.2 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2017)05-0481-03
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2017.05.029

肢带型肌营养不良症(Limb girdle muscular dystrophy, LGMD)是目前第四大最常见的遗传性肌肉疾病,其发病率约为1/20 000^[1],据统计 LGMD2 型的基因携带率为 1/72^[2]。其作为一大组肌肉疾病,根据遗传方式的不同可分为常染色体显性遗传性肢带型肌营养不良症(LGMD 1 型)和常染色体隐性遗传性肢带型肌营养不良症(LGMD 2 型),其中 LGMD2 型更为常见,占 LGMD 的 90%,目前可分为 25 个亚型(2A~2Y)^[3-5]。由于其临床表现和遗传模式具有高度异质性,二者之间的关系仍是世界范围内的一大难题。本研究就近几年其各种亚型及分子生物学等方面的研究进展做一综述。

1 LGMD2 型分子生物学

目前,已有数百个 LGMDs 相关的基因变异作为致病基因而被报道,然而并非所有的基因变异都真正具有致病性,目前所报道的部分致病基因研究证据尚不充分,大多数情况下其致病性的确定通过他们未在健康对照组和/或在小家庭的隔离研究中出现来确定。为进一步明确 LGMDs 基因变异的致病性以及低频变异率,Giuseppina 等人通过在 Leiden Open Variation Database (LOVD)和 Human Gene Mutation Database (HGMD)这 2 个数据库中搜索所有 LGMD2A-2P 相关致病基因的变异,并在 NHLBI GO Exome Sequencing Project(ESP)中搜索他们的变异频率,共获得 85 个 LGMD2 型相关的基因变异,其中有害变异 59 个,良性变异 18 个,致病性未明变异 8 个,并应用生物信息技术以及统计学方法,最终得出 ESP 中包括约 9%的既往所报道 LGMD2 型的变异。此外,基于普通人群的 LGMDs 患病率(1:20 000),进一步得出 LGMD2 型的等位基因频率为 0.0063,即所公认的疾病等位基因频率比所估计的疾病患病率要高,并指出确定基因变异的致病性,需进一步行复合杂合性分析以及功能验证。最终,研究者提出了一些疾病相关的变异是非致病性的,并且另有一部分基因变异虽然影响了蛋白的功能但仍不具有外显性,从而验证了 LGMD2 型这种异质性疾病有着更复杂的遗传机制。因此,实际中对于 LGMD 患者基因变异的错误分类将会给其家人的诊断带来极大的误导,确定 LG-

MD 各个基因变异的致病性至关重要^[2]。

LGMD2 型相关蛋白的致病作用机制各异。目前人们的研究重点已从识别结构蛋白以及其在肌营养不良进展中的意义转向研究蛋白在肌纤维重复损伤后的维护(dysferlin、caveolin 3 和 anoctamin 5)和应激条件下的纤维重塑(calpain 3)中的作用以及此过程中所涉及的蛋白与酶在翻译修饰中的意义(POMT1, POMT2, POMTGnT1)。尽管先进的分子生物学技术不断发展与应用,目前仍有部分蛋白的功能尚未确定^[6]。LGMD2 型中 SGCG、SGCA、SGCB、SGCD(LGMD2C-2F 统称为肌聚糖病)共同编码了肌聚糖复合物,编码的产物 γ 、 α 、 β 、 δ -sarcoglycan 共同组成 1 个跨肌膜的异四聚体,为连接细胞骨架和细胞外结构的跨膜蛋白,发挥稳定肌膜的作用;TRIM32 (LGMD2H), Myotilin (LGMD1A)以及 DNAJB6 (LGMD1D)三者均定位于肌节的 Z 盘,而 Myotilin 和 DNAJB6 均与蛋白聚集有关,TRIM32 的功能至今尚未明确^[7-8]。Desmin (LGMD2R 和 LGMD1E)是肌肉特异性参与蛋白聚集的中间丝蛋白家族成员之一;Plectin(LGMD2Q)是一种可与抗肌萎缩蛋白和 β -肌营养不良蛋白聚糖相互作用的膜蛋白;Titin(LGMD2J)是一种巨型肌节蛋白(从 Z 线到 M 线跨越半个肌节,调节肌凝蛋白组装,作为粗肌丝末端到 Z 线之间的弹性连接蛋白);POMT1 (LGMD2K)、POMT2 (LGMD2N)、POMGnT1 (LGMD2O)和 FKTN (LGMD2M)分别编码了定位于内质网(POMT1 和 POMT2)以及高尔基体(POMGnT1 and FKTN)上的糖基转移酶,并参与细胞外基质中蛋白的糖基化,这些糖基化转移酶对细胞外基质细胞骨架的连接至关重要^[7]。

LGMD2A 作为世界范围内 LGMD 中最常见的亚型,其临床表现、致病基因、肌肉病理特点等方面已研究较透彻,该型由编码肌肉特异性钙激活中性蛋白酶-3 (calpain-3, CAPN3)的基因突变引起,突变位点在染色体 15q15.1~q21.1 上。calpain-3 并非骨架蛋白,这种酶存在胞浆及胞核中,它通过肌肉特异性的序列 IS2 与肌联蛋白(titin)相连,其功能可能与转录因子的调节有关^[9]。目前为止,已有>500 个突变位点被报道。Calpain 是一种 Ca^{2+} 依赖的半胱氨酸蛋白酶,其分布于人体全身各处;钙激活蛋白酶家族中任何一个成员的功能缺失都将会导致不同的病变,例如胚胎致死、胃病、肌营养不良或血小板功能障碍。在人体基因组织中共发现 15 个钙激活蛋白酶家族成员(CAPN1-CAPN15),其中 CAPN3 仅表达于骨骼肌中,且仅需要较低的钙离子浓度(生理状态下)便可激活。NCX3 为钠钙交换体家族成员

基金项目:黑龙江省科学技术厅资助肢带型肌营养不良相关基因的克隆和功能研究(D2007-24)

单位名称:150081 黑龙江省哈尔滨医科大学附属第二医院神经内科[王明秋 肖兴军(通信作者)];中航工业哈尔滨 242 医院(朱冬梅)

之一,也表达于骨骼肌的三联管中,且多项研究已证明其参与了肌质网中钙离子的回收。2016年 Lauriane 等人提出 calpain-3 为作用于肌肉的新靶点,CAPN3 基因对肌肉有较强的敏感性,而该敏感性被认为仅由骨骼肌中 NCX3-AC 这一突变型产生;该种基因的直接裂解突变可导致 CAPN1 和 CAPN3 的转换,进而干扰继发于兴奋收缩解耦联的肌质网中钙离子的释放以及与其他离子的转运,从而导致 LGMD2A 型疾病的发生。由此,CAPN3 所介导的钠钙交换体 NCX3 的功能失调会导致诸如 LGMD2A 型等多种肌肉病变^[10]。

2014年 Ana Cotta 等人研究报道发现,同一家族中的3例患者同为 calpain-3 基因突变,其中2例突变位点相同,但3例患者的肌肉病理均呈现为不同类型、不同程度的肌营养不良性改变。由此可见,LGMD 基因型与表型之间的关系错综复杂,还有待于进一步研究^[9]。

LGMD2C 是最严重的亚型之一,多于儿童起病,其进展常比较迅速,多数患者在起病10年后丧失行走能力,并于29岁前死亡。2014年 Samiah 等人对4个西班牙无血缘关系家系中的4例 LGMD2C 患者的 SGCG 突变基因进行微卫星标记的遗传多态性分析,其中2例患者表现为儿童起病,但病程进展缓慢,于40岁左右丧失活动能力。在这4例患者中使用6种多态性微卫星标记物分别在 SGCG 基因的内部(D13S232)和两侧(D13S175, D13S292, D13S787, D13S1243, D13S283)进行标记,其中 D13S232 和 D13S292 两种标记物高度提示了4个家系的 LGMD2C 患者均为单倍体型的 SGCG 等位基因突变。有研究显示,SGCG 基因的 c. 787G>A (p. E263K)位点的错义突变为西班牙 LGMD2C 患者中的一种原始基因突变,并且该种突变的患者可相对长时间保留活动能力,且进展缓慢,并进一步证明了 LGMD 患者突变基因型的多态性^[11]。

2015年 Claudio Semplicini 等人对25个 LGMD2E 型家系中的32例患者(16例男性和16例女性)进行临床表型、基因型、蛋白表达的回顾性分析,并从患者外周血或肌肉组织中提取基因组 DNA 进行单链构象多态性测序分析或直接测序分析,最终得出 LGMD2E 型患者 SGCB 基因突变谱,共发现了17个突变位点,其中有5个为新发现的突变位点即 c. 518_519insC、c. 543C>G、c. 754_957del、c. 36_37delinsG、c. 1A>G,并进一步扩展了 LGMD2E 的表型范围,由轻到重各不相同,因此仅依靠临床表现进行肌聚糖病(LGMD2C、2D、2E、2F)4个亚型之间的鉴别诊断是不可行的,只有通过编码4种肌聚糖蛋白的基因进行分子生物学分析,才能准确地做出鉴别诊断。此外,还可通过 SGCB 基因突变类型以及肌聚糖蛋白的表达来预测患者临床症状的严重程度。报道统计,LGMD2E 型患者中约50%以上伴有心肌受累,并且其可独立于肌无力在病程中的任何阶段出现,甚至出现在骨骼肌受累之前^[12]。

LGMD2X 最先发现于1个阿尔巴尼亚的家系中,共4例患者,该亚型是由6q21染色体上的编码 POPDC1 蛋白的基因突变所致,其突变位点为 c. 602C>T、p. S201F,POPDC1 编码的 BVES 蛋白存在于细胞膜、肌纤维的 T-小管以

及核膜上,是一种环磷酸腺苷结合蛋白,可在骨骼肌和心肌细胞中表达,并参与上皮细胞间紧密连接的通透性屏障的形成与调控以及囊泡运输,并与小窝蛋白3(Caveolin-3)和 TREK-1 钾离子通道蛋白相互作用。临床上主要于30~50岁起病,表现为对称性近端肢体无力,可伴有心肌受累,主要表现为心源性晕厥以及房室传导阻滞;实验室检查主要为血清 CK 增高(700~8 000 U/L)肌肉病理可见肌纤维大小不一,核内移,肌纤维坏死与再生^[4]。

LGMD2Y 报道于1个土耳其家系中,共3例患者。该亚型是由1q25.2染色体上编码 TOR1ATP1 蛋白的 LAP1B 基因突变所致,即 c. 186delG 位点的纯合子移码突变。LAP1B 蛋白定位于核内膜,是一种 A 型和 B 型核纤层蛋白结合蛋白,可调节 ATP 酶的活性。临床起病年龄为10岁左右,主要表现为关节挛缩,主要表现为脊柱强直以及远端或近端的指间关节的挛缩,且主要为肢带肌的无力,目前只有1例患者被报道伴有心肌受累(扩张型心肌病)。实验室检查为血清 CK 可增高(80~500 U/L),肌肉病理可见肌纤维大小不一,核内移,轻度的坏死,肌内膜结缔组织增多,蛋白印记可见 TOR1AIP1 蛋白的缺失,肌纤维的亚显微结构可见核膜异常改变^[5]。

2 LGMD 的基因治疗

关于 LGMD 治疗方面的进展大多数来自于动物模型试验中,常通过对可诱发疾病药物的逆转或者通过破坏缺陷基因下游中的某些步骤来获得。越来越多的证据表明 CAPN3 基因转移和应用基因突变的肌肉生长抑制素前肽是 calpainopathy 小鼠模型治疗的有效手段,然而肌肉中基因的持久性相对较差(9 d),利用肌内的基因转移还不足以改善生活质量,并且用于评估改善程度的参数较难获得,例如收缩力,这需要在体外测得。因此,该治疗方法是否有效还有待于进一步研究。

据报道,一些新的治疗策略已试行于治疗 DYSF 基因缺陷性肌病中。最具特点的研究是 Han 等人提出补体成分 C3 的裂解可作为 LGMD2B 型的治疗靶点,但由于动物模型中肌肉收缩力测定的限制,其具体疗效还无法做以详细的评估。此外,其还提出膜攻击复合物(MAC)并不能作为治疗的靶点,因为在该研究中同时发现 C5 消融(1个 MAC 的通路终端组件)对疾病的影响很小。这个问题应该还需在未来的试验中利用炎症和非炎症模型进一步验证。此外,Lerario 等人还提出利用淋巴细胞的灭减治疗方法来治疗 dysferlin 肌病(Dysferlin 突变的3种类型如 LGMD2B、Miyoshi 肌病以及早期累及胫前肌群的肌病统称为 dysferlin 肌病)^[13-14]。

在 sarcoglycanopathies(肌聚糖蛋白病)患者中基因转移、干细胞移植、肌肉生长抑制素的阻断以及钙通道阻滞剂已在体内、外研究中应用。值得庆幸的是,肌聚糖蛋白病由于其基因较小,因此比其他类型的 LGMD 更容易取得基因治疗的成果。

尽管在动物模型试验中已经证明许多的治疗方法是安全有效的,但鉴于2个物种之间大小、寿命、遗传变异和免疫

复杂性之间的明显差异,仍需谨慎这些治疗方法对于人类的适用性。

3 LGMD2 型各个亚型之间鉴别诊断的重要性

LGMD 诊断过程中除了注意与其他类型肌肉疾病鉴别外,近年来所提出的另一个重要并且具有挑战性的方面是 LGMD 各个亚型之间的鉴别,这对于遗传咨询、心肺疾病危险因素评估、判断预后以及未来的靶向治疗的研究进展至关重要。其主要通过临床检查和肌肉 MRI 筛查出首先受累的具体肌群。此外,还需进一步评估肌营养不良的类型、肌肉组织活检形态学检查、免疫组化和蛋白印记以及基因检测^[14]。

肌聚糖病 (LGMD2C, LGMD2D, LGMD2E 和 LGMD2F)、Telethonin 蛋白病 (LGMD2G) 以及 fukutin 相关蛋白病 (LGMD2I) 都具有较高的心肌病变的风险,其中 LGMD2I 患者可能在具有活动能力的疾病早期时便出现呼吸系统的受累^[9],而 calpainopathy (LGMD2A) 和 dysferlinopathy (LGMD2B) 型患者心肌受累的风险可与普通人群相似。LGMD2I 和 LGMD2K 型患者中枢神经系统受累以及精神发育迟滞均较少出现^[14]。LGMD2B 和 LGMD2G 型患者的病程进展通常较缓慢;LGMD2A 和 LGMD2I 型患者病程进展速度适中,而肌聚糖病 (LGMD2C-2F) 进展迅速^[7]。

LGMD 各个亚型肌肉的受累特点各不相同。据报道, LGMD2A 和 2I 型患者的肌肉 MRI 显示为大腿后群肌肉的受累;LGMD2B 和 2G 型患者主要为整个大腿肌群的受累; LGMD2C-2F 型患者常为股四头肌受累,而无腓肠肌的受累^[15]。LGMD2L 型患者的肌肉 MRI 可表现为骨薄肌、缝匠肌、股二头肌短头以及胫骨前肌均受累^[16]。由此可见, MRI 检查有望在少部分 LGMD 患者中替代创伤性肌肉活检而直接进行相关基因检测^[6]。

4 结束语

LGMD 所包含的疾病谱系较广,随着新家系和缺陷基因的发现会对其不断修正和补充。近几年分子生物学领域的迅速发展为完善 LGMD 的诊断、分类、发病机制和治疗开辟了新的途径。然而,我们对 LGMD 各个亚型致病机制的认识还处于起步阶段,因此对于 LGMD2 型的研究还需进一步细化深入,这对于疾病的治疗、转归以及预后有着重要的意义^[6]。

参 考 文 献

[1] Wicklund P, Kissel T. The limb-girdle muscular dystrophies [J]. Neurol Clin, 2014, 32(3): 729-749, ix.
[2] Di Fruscio Giuseppina, Garofalo Arcomaria, Mutarelli Margherita, et al. Are all the previously reported genetic variants in

limb girdle muscular dystrophy genes pathogenic? [J]. Eur J Hum Genet, 2016, 24(1): 73-77.
[3] Nigro V, Savarese M. Genetic basis of limb-girdle muscular dystrophies; the 2014 update [J]. Acta Myol, 2014, 33(1): 1-12.
[4] Schindler F, Scotton Chiara, Zhang Jianguo, et al. POPDC1 (S201F) causes muscular dystrophy and arrhythmia by affecting protein trafficking [J]. J Clin Invest, 2016, 126(1): 239-253.
[5] Rebelo Sandra, Da Cruz E Silva F, Da Cruz E Silva A. Genetic mutations strengthen functional association of LAP1 with DYT1 dystonia and muscular dystrophy [J]. Mutation research. Reviews in mutation research, 2015, 766(4): 42-47.
[6] Mahmood A, Jiang Mei. Limb-girdle muscular dystrophies: where next after six decades from the first proposal (Review) [J]. Mol Med Rep, 2014, 9(5): 1515-1532.
[7] Mitsuhashi Satomi, Kang B. Update on the genetics of limb girdle muscular dystrophy [J]. Semin Pediatr Neurol, 2012, 19(4): 211-218.
[8] Kaplan JC, Hamroun D. The 2014 version of the gene table of monogenic neuromuscular disorders (nuclear genome) [J]. Neuromuscul Disord, 2013, 23(12): 1081-1111.
[9] Cotta Ana, Carvalho Elmano, Da-Cunha-Júnior Lopes, et al. Common recessive limb girdle muscular dystrophies differential diagnosis: why and how? [J]. Arq Neuropsiquiatr, 2014, 72(9): 721-734.
[10] Michel Y, Hoenderop G, Bindels J. Calpain-3-mediated regulation of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger isoform 3 [J]. Pflugers Arch, 2016, 468(2): 243-255.
[11] Al-Zaidy A, Malik Vinod, Kneile Kelley, et al. A slowly progressive form of limb-girdle muscular dystrophy type 2C associated with founder mutation in the SGCG gene in Puerto Rican Hispanics [J]. Mol Genet Genomic Med, 2015, 3(2): 92-98.
[12] Semplicini Claudio, Vissing John, Dahlqvist R, et al. Clinical and genetic spectrum in limb-girdle muscular dystrophy type 2E [J]. Neurology, 2015, 84(17): 1772-1781.
[13] Lerario A, Cogiamanian F, Marchesi C, et al. Effects of rituximab in two patients with dysferlin-deficient muscular dystrophy [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2010, 11(1): 157.
[14] Bastian Alexandra, Mageriu V, Micu Gianina, et al. The growing family of Limb-Girdle muscular dystrophies: old and newly identified members [J]. Rom J Intern Med, 2015, 53(1): 13-24.
[15] Wattjes P, Kley A, Fischer Dirk. Neuromuscular imaging in inherited muscle diseases [J]. Eur Radiol, 2010, 20(10): 2447-2460.
[16] Sarkozy Anna, Deschauer Marcus, Carlier Yves, et al. Muscle MRI findings in limb girdle muscular dystrophy type 2L [J]. Neuromuscul Disord, 2012, 22(Suppl 2): S122-S129.

(2016-10-23 收稿)