· 病例报告 ·

串联质谱法检测结果阴性的甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症cblX型患儿一例

沈亚平, 胡真真, 杨建滨, 杨茹莱, 黄新文

浙江大学医学院附属儿童医院遗传与代谢科 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心
国家儿童区域医疗中心, 浙江 杭州 310052

[摘要] 一例甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症cblX型患儿在婴儿早期出现局灶性癫痫发作和癫痫性痉挛发作, 多种抗癫痫药物治疗效果不佳, 患儿于4月龄时死亡。新生儿筛查和急性发作期串联质谱法检测均未见明显异常, 超高效液相色谱-串联质谱法检测提示血甲基丙二酸和同型半胱氨酸增高, 全外显子组测序显示HCFC1基因存在c. 202C>G(p. Q68E)半合子突变, 遗传自其母亲。

[关键词] 代谢缺陷, 先天性; 甲基丙二酸血症; 同型半胱氨酸血症cblX型; 诊断; 超高效液相色谱法; 串联质谱法; 病例报告

[中图分类号] R725.8; R596 **[文献标志码]** A

A case of methylmalonic acidemia and homocysteinemia cblX type with negative tandem mass spectrometry testing

SHEN Yaping, HU Zhenzhen, YANG Jianbin, YANG Rulai, HUANG Xinwen
(Department of Genetics and Metabolism, Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, National Clinical Research Center for Child Health, National Children's Regional Medical Center, Hangzhou 310052, China)

Corresponding author: HUANG Xinwen, E-mail: 6305022@zju.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0002-2799-9155>

[Abstract] A child with methylmalonic acidemia and homocysteinemia cblX type presented focal seizures and epileptic spasms in early infancy, but the tandem mass spectrometry tests showed negative results during neonatal screening or acute attack. Despite treated with a variety of antiepileptic drugs, the child died at age of 4 months. The blood spot sample of the patient was retrospectively tested with ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and the increased levels of

收稿日期: 2021-04-09 接受日期: 2021-06-10

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1002204)

第一作者: 沈亚平, 主管技师, 主要从事儿童遗传代谢病基因检测与分析; E-mail: 6517066@zju.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0002-1600-2081>

通信作者: 黄新文, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事儿童遗传代谢病筛查和诊治研究; E-mail: 6305022@zju.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0002-2799-9155>

methylmalonic acid and homocysteine were revealed. Whole exome sequencing showed that the proband had a c.202C>G(p.Q68E) hemizygous mutation in *HCFC1* gene, which was inherited from his mother.

[**Key words**] Metabolism, inborn errors; Methylmalonic acidemia; Homocysteinemia cblX type; Diagnosis; Ultrahigh performance liquid chromatography; Tandem mass spectrometry; Case reports

[**缩略语**] 丙酰基肉碱(propionyl carnitine, C3); 乙酰基肉碱(acetylcarnitine, C2); 游离肉碱(carnitine, C0); 宿主细胞因子C1(host cell factor C1, HCFC1); 人类基因突变数据库(Human Gene Mutation Database, HGMD); 钴胺素代谢相关C(metabolism of cobalamin associated C, MMACHC)

甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症cblX型是一种罕见的有机酸代谢障碍性疾病,临床特征以钴胺素代谢紊乱和严重的神经系统症状为主。多数患儿表现为难治性癫痫和不同程度的智力发育落后,伴或不伴小头畸形和特殊面容,起病早,病程进展快,临床诊断缺乏特异性,维生素B12治疗无效^[1-3]。不同于其他甲基丙二酸血症合并类型,采用串联质谱法检测cblX型患者血C3、C3/C2、C3/C0等指标可显示轻度增高甚至正常,易造成漏筛。现回顾性分析1例甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症cblX型病例的临床资料,以期提高临床医生对该疾病的认识,能够尽早明确诊断。研究通过浙江大学医学院附属儿童医院伦理委员会临床研究审批(2018-IRB-077)。

1 病例摘要

患儿男性,3个月22 d,因“反复抽搐半月余”于2017年4月15日收治入浙江大学医学院附属儿童医院。患儿母亲系孕二产二,孕38周剖宫产,患儿出生体重为3500 g,阿普加评分为10分。患儿出生后3 d新生儿筛查串联质谱法检测结果:C3为4.09 $\mu\text{mol/L}$ (正常值0.43~3.80 $\mu\text{mol/L}$),C3/C2为0.22(正常值小于0.27),C3/C0为0.19(正常值小于0.15)。召回行串联质谱法检测,C3为1.56 $\mu\text{mol/L}$,C3/C2为0.26、C3/C0为0.07,均在正常范围,遂未进行干预治疗和临床随访。患儿于3个月6 d时出现抽搐1次,表现为双眼一侧凝视,四肢不对称强直抖动,持续1~2 min,当地医院查头颅CT未见明显异常,未予特殊处理。后抽搐

频繁发作,每日1~5次,就诊于本院门诊。视频脑电图检查结果提示患儿发作间期多灶性痫样放电,发作期局灶性发作。头颅磁共振成像检查未见明显异常,予奥卡西平抗癫痫治疗,患儿发作有所减少,但未完全控制。患儿3个月22 d时出现癫痫性痉挛发作,再次来本院就诊时收住入院。入院后检查血尿、粪便常规、生化、血气分析和甲状腺功能均正常,串联质谱法检测结果仍无明显异常。视频脑电图检查结果提示发作间期脑电图高度失律特征,发作期成串痉挛发作,脑电图诊断为婴儿痉挛症(韦斯特综合征),加用左乙拉西坦、托吡酯、丙戊酸抗癫痫治疗,患儿发作仍未控制,且病程进展迅速,需人工呼吸机辅助呼吸。患儿4个月19 d时家长放弃治疗,1周后死于家中,死因未明。

先证者父母表型正常,否认近亲婚配,有1个姐姐,3岁,体健,否认家族史。三年后因家长再生育需求,为明确病因指导产前诊断,采用先证者原新生儿筛查干血斑行全外显子组测序和桑格-库森法验证,显示先证者携带*HCFC1*基因第2号外显子c.202C>G(p.Q68E)半合子突变,为HGMD数据库(Professional 2020.4)记录的已知致病突变位点。桑格-库森法验证显示其母亲携带*HCFC1*基因c.202C>G(p.Q68E)杂合突变,父亲和姐姐均未携带该位点突变(图1)。同时采用超高效液相色谱-串联质谱法对原新生儿筛查干血斑检测甲基丙二酸、甲基枸橼酸和同型半胱氨酸,结果显示先证者血甲基丙二酸8.92 $\mu\text{mol/L}$ (正常值小于2.30 $\mu\text{mol/L}$),同型半胱氨酸13.21 $\mu\text{mol/L}$ (正常

值小于10.20 $\mu\text{mol/L}$), 甲基枸橼酸0.40 $\mu\text{mol/L}$ (正常值小于0.70 $\mu\text{mol/L}$), 结合基因检测结果及临床病史, 确诊为甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症cblX型。

图1 本例患儿家系HCFC1基因测序图
Figure 1 Sequencing diagram of the *HCFC1* gene in this pedigree

2 讨论

甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症cblX型是一种X连锁隐性遗传性疾病,由编码转录调控因子HCFC1的*HCFC1*基因突变引起。HCFC1作为辅助转录调节因子,在钴胺素代谢途径中能够与含THAP结构域的THAP11因子相互作用,调节钴胺素代谢途径中*MMACHC*基因的表达。当*HCFC1*基因发生突变时,这种相互作用会被破坏,*MMACHC*基因编码的氰钴胺素还原酶水平降低^[4],引起钴胺素代谢中间产物甲基钴胺素和腺苷钴胺素水平降低、甲基丙二酰辅酶A变位酶和5-甲基四氢叶酸-同型半胱氨酸甲基转移酶(又称蛋氨酸合成酶)活性降低,从而导致甲基丙二酸、3-羟基丙酸及甲基枸橼酸等代谢物异常蓄积,同型半胱氨酸增高,蛋氨酸降低。

*HCFC1*基因定位于X染色体q28,迄今HGMD数据库已报道24个突变,包括23个错义突变和1个调节突变,其中12个错义突变均为“致病性突变”,提示*HCFC1*基因的主要致病突变方式为错义突变。研究表明,*HCFC1*基因突变位置的不

同可导致不同的临床表型^[1-3,5-10],可能与其编码的HCFC1蛋白的结构域有关。HCFC1蛋白包含1个kelch重复区域、宿主细胞因子水解重复区域、纤维连接蛋白区域、碱性区域和酸性区域。体外研究表明,kelch结构域和钴胺素代谢最为相关,发生在该区域的突变可导致HCFC1功能几乎完全丧失而引起钴胺素代谢障碍,而其他结构域发生的突变对蛋白功能和钴胺素代谢的影响较小^[1,5]。Yu等^[1]报道14例携带位于HCFC1蛋白kelch重复区域突变的男性患者,9例为c.344C>T(p. Ala115Val)突变,均表现为钴胺素代谢障碍(血液和尿液甲基丙二酸均升高,同型半胱氨酸部分升高)和严重的神经系统表现(难治性癫痫、发育迟缓、小头畸形、运动障碍等),起病时间从胚胎期至出生后4月龄之间。Gérard等^[3]报道1个携带c.307T>C(p. Y103H)突变的家系,患儿表现为尿甲基丙二酸和同型半胱氨酸均升高,蛋氨酸降低,生长发育严重迟缓,小头畸形,多发畸形(唇腭裂、小阴茎、睾丸异位),肌张力低,胼胝体和髓鞘发育不良,并于6月龄死亡。本例患儿携带c.202C>G(p. Q68E)半合子突变也位于kelch重复区域,超高效液相色谱-串联质谱法检测显示血甲基丙二酸和同型半胱氨酸均升高,出生后3月龄即出现反复抽搐,并呈逐渐加重,多种抗癫痫药物治疗无效于4月龄死亡。

截至目前,国内外已报道的甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症cblX型患儿仅17例,均为男性,钴胺素代谢障碍程度不一^[2-3,11]。Yu等^[1]报道14例患儿血甲基丙二酸均增高(5.5~23.0 $\mu\text{mol/L}$),尿甲基丙二酸均增高(62.6~650.0 mmol/mol肌酐),其中9例血同型半胱氨酸增高(61~141 $\mu\text{mol/L}$)。Gérard等^[3]报道2例患儿尿甲基丙二酸增高(379和1485 mmol/mol肌酐),同型半胱氨酸增高(65.0 $\mu\text{mol/L}$),蛋氨酸降低(12.0 $\mu\text{mol/L}$)。李东晓等^[11]报道1个cblX型家系患儿C3增高(5.00和9.76 $\mu\text{mol/L}$),C3/C2增高(0.23和0.34),尿甲基丙二酸增高(34.45 mmol/mol肌酐),血同型半胱氨酸增高(43.12 $\mu\text{mol/L}$)。因此,甲基丙二酸血症合并同型半胱氨酸血症cblX型患者钴胺素代谢特点主要为血液和尿液甲基丙二酸增高,伴或不伴同型半胱氨酸及丙酰肌肉碱增高。但本例患儿无论是新生儿遗传代谢病筛查还是癫痫发作期的串联质谱法检测C3、C3/C2、

C3/C0和蛋氨酸均未见明显异常。因此,对于婴儿早期不明原因出现的顽固性癫痫,在进行串联质谱法氨基酸及酰基肉碱检测的同时,有必要进行超高效液相色谱-串联质谱法检测、尿有机酸分析、血同型半胱氨酸检测和基因检测,有助于尽早明确诊断,提高诊疗效率。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] YU H C, SLOAN J L, SCHARER G, et al. An X-linked cobalamin disorder caused by mutations in transcriptional coregulator HCFC1[J]. *Am J Hum Genet*, 2013, 93(3): 506-514.
- [2] CASTRO V L, QUINTANA A M. The role of HCFC1 in syndromic and non-syndromic intellectual disability[J]. *Med Res Arch*, 2020, 8(6): 10.18103/mra.v8i6.2122.
- [3] GÉRARD M, MORIN G, BOURILLON A, et al. Multiple congenital anomalies in two boys with mutation in HCFC1 and cobalamin disorder[J]. *Eur J Med Genet*, 2015, 58(3): 148-153.
- [4] QUINTANA A M, YU H C, BREBNER A, et al. Mutations in THAP11 cause an inborn error of cobalamin metabolism and developmental abnormalities[J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(15): 2838-2849.
- [5] JOLLY L A, NGUYEN L S, DOMINGO D, et al. HCFC1 loss-of-function mutations disrupt neuronal and neural progenitor cells of the developing brain[J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(12): 3335-3347.
- [6] KOUFARIS C, ALEXANDROU A, TANTELES G A, et al. A novel HCFC1 variant in male siblings with intellectual disability and microcephaly in the absence of cobalamin. *BioMed Rep*, 2016, 4(2): 215-218.
- [7] HUANG L, JOLLY L A, WILLIS-OWEN S, et al. A noncoding, regulatory mutation implicates HCFC1 in nonsyndromic intellectual disability[J]. *Am J Hum Genet*, 2012, 91(4): 694-702.
- [8] SCALAIS E, OSTERHELD E, WEITZEL C, et al. X-linked cobalamin disorder (HCFC1) mimicking non-ketotic hyperglycinemia with increased both cerebrospinal fluid glycine and methylmalonic acid[J]. *Pediatr Neurol*, 2017, 71: 65-69.
- [9] PITON A, GAUTHIER J, HAMDAN F F, et al. Systematic resequencing of X-chromosome synaptic genes in autism spectrum disorder and schizophrenia[J]. *Mol Psychiatry*, 2011, 16(8): 867-880.
- [10] TARPEY P S, SMITH R, PLEASANCE E, et al. A systematic, large-scale resequencing screen of X-chromosome coding exons in mental retardation[J]. *Nat Genet*, 2009, 41(5): 535-543.
- [11] 李东晓, 刘玉鹏, 丁 圆, 等. 转录辅助调节因子 HCFC1突变致罕见X连锁甲基丙二酸尿症CblX型一家系报告[J]. *临床儿科杂志*, 2016, 34(3): 212-216. LI Dongxiao, LIU Yupeng, DING Yuan, et al. A pedigree of a rare CblX type X-linked methylmalonic acidemia due to transcriptional co-regulator HCFC1 mutation[J]. *Journal of Clinical Pediatrics*, 2016, 212-216. (in Chinese)

[本文编辑 余 方 刘丽娜]

· 学术动态 ·

徐素宏研究员团队成果揭示氧化还原敏感的细胞分裂周期蛋白42聚集促进线虫表皮伤口愈合的机制

2021年11月23日,《细胞报告》(*Cell Reports*)在线发表了浙江大学医学院徐素宏研究员最新研究成果“Redox-sensitive CDC-42 clustering promotes wound closure in *C. elegans*”(DOI: 10.1016/j.celrep.2021.110040)。

研究人员首先构建转基因线虫,发现损伤后细胞分裂周期蛋白42(CDC-42)能够在伤口周围发生点状聚集;随后发现损伤诱导的CDC-42聚集可招募硫化氢荧光探针WSP-1以促进肌动蛋白聚合的伤口愈合。研究人员通过构建与过氧化氢合成及分解相关的突变体线虫,发现低浓度的过氧化氢可促进CDC-42聚集,此外低浓度的过氧化氢也会促进肌动蛋白依赖性的伤口愈合。研究发现,异戊二烯化介导的CDC-42膜附着是聚集形成所必需的,并且CDC-42 C端多元区域可促进CAAX结构域介导的膜附着和聚集。

许静秀博士、孟曦男博士为论文第一作者。研究得到国家重点研发计划、国家自然科学基金、浙江省自然科学基金等支持。