临床研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001223

2例 ACADM 基因复合杂合突变所致的中链酰基辅酶 A脱氢酶缺乏症

鄢 力，杨 凡
（四川大学华西第二医院儿科，成都 610041）

【摘 要】**目的**：对 2 例生后串联质谱遗传代谢病检测发现疑似中链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症的患儿进行临床和基因检测，并进行随访，以明确诊断。**方法**：采集患儿外周血检测遗传代谢病代谢产物、肝功、采集尿检测尿有机酸，采集患儿及其父母的外周血进行高通量测序和 Sanger 测序验证中链酰基辅酶 A 脱氢酶基因 ACADM，并对基因异常进行分析。**结果**：①外周血串联质谱 LC-MS 检测发现患儿中链脂酰肉碱(C6~C10)升高；②肝功能均出现异常；③尿有机酸检测其中一例患者甘油和双羧酸略有升高，另一例未见异常；④基因检测显示患儿均为 ACADM 基因复合杂合子，基因异常分别来至无症状的单突变携带者父亲和母亲，复合杂合突变导致合成的中链酰基辅酶 A 脱氢酶活性异常。**结论**：ACADM 基因复合突变导致合成中链酰基辅酶 A 脱氢酶活性降低，患儿分解中链脂肪酸能力下降，导致代谢产物异常和肝功能异常。

【关键词】中链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症；中链酰基辅酶 A 脱氢酶基因；复合杂合突变
【中图分类号】R596.2 【文献标志码】A 【收稿日期】2017-03-15

Two cases of medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency caused by ACADM gene compound heterozygous mutations

Yan Li, Yang Fan
(*Department of Pediatric, West China 2nd University Hospital Sichuan University*)

【Abstract】***Objective***: To perform clinical and genetic testing and follow-up on two neonates to confirm the diagnosis of suspected medium chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency(MCADD) by newborn screening using tandem mass spectrometry(MS/MS). ***Methods***: Acylcarnitine profile was measured by liquid chromatography tandem mass spectrometry(LC-MS/MS) in peripheral blood and liver function. Urinary organic acid was tested by gas chromatography/mass spectrometry(GS/MS). Medium chain acyl-CoA dehydrogenase gene(ACADM) of both patients and their parents was tested by high-throughput sequencing and Sanger sequencing. ***Results***: ①Both children's acyl carnitine(C6-C10) was elevated. ②Liver function was abnormal. ③One patient's glycerin and carboxy acid increased slightly, while the other's showed normal. ④Both children's ACADM gene was compound heterozygotes. The genetic abnormality was inherited from the father and mother respectively, who were asymptomatic single mutant carriers. The compound heterozygous mutations resulted in abnormal activity of ACADM. ***Conclusion***: The compound mutations of ACADM gene cause the decrease of MCAD activity and the patients' abilities of decomposing the medium-chain fatty acid and then the abnormality of metabolites and liver fuction.

【Key words】medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency; medium chain acyl-CoA dehydrogenase gene; compound heterozygous mutations

中链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症(medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency, MCADD)是最常见的脂肪酸氧化缺陷症，在欧洲北部、澳大利亚和美国的发病率为 1:14 600[1]，中国的发病率尚无明确报道，我院 2013 至 2016 年筛查总人数 63 848，确诊 2 例，检出率为 1:31 924。该病病因明确，是由于催化中链脂肪酸(C4~C12)β 氧化反应第一步的中链酰基辅酶 A 脱氢酶活性异常，编码中链酰基辅酶 A 脱氢酶的基因为 ACADM(acyl-coenzyme A dehydrogenase)，已有的 ACADM 基因单核苷酸多态性已经超过 100 个，部分单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)已经明确与疾病有关，如 985A>G 的基因突变[2]。

作者介绍：鄢 力，Email：14234580@qq.com，
研究方向：小儿内分泌腺疾病及代谢病的诊疗。
通信作者：杨 凡，Email：506742295@qq.com。
优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170418.1627.002.html
(2017-04-18)

中链酰基辅酶 A 脱氢酶在脂肪酸氧化速度快、能量需要量多的器官、组织，如肝脏、心脏、肾脏、棕色脂肪组织表达较高。机体在长时间饥饿或者感染等应激状态下通过脂肪酸氧化反应供能。而 MCADD 患者大多具有一定的酶活性，因此该病患儿的发病年龄大多在出生后 3 个月至 3 岁之间，在某些诱因下发作，临床表现多样，从无症状到雷特综合征（Rett syndrome）[3]。该病易被漏诊或误诊，该病未及时诊治后果严重，15%~20%的患者第一次发作即导致猝死[4]，存活者可遗留癫痫、智力障碍、发育迟缓、心理行为问题等后遗症[5]。

随着新生儿遗传代谢病串联质谱筛查的推广以及基因检测技术的普及，使得作为常染色体隐性遗传病的 MCADD 越来越受到医师和患者家属的关注。我们对 2 例通过新生儿筛查发现的疑似MCADD 患者进行了临床和基因检测，发现了 2 例复合杂合基因突变的患儿。

1 对象与方法

1.1 对象

患儿均为足月产，母孕期未见异常，生后 3 d 采集足跟血干血斑经 LC-MS 检测发现中链脂肪酸异常，见表 1。门诊咨询，并分别于生后 13 d 和 140 d 进行患儿肝功、尿有机酸检测，发现肝功能异常，结果见表 2。其中 1 例患者尿 GC-MS 行有机酸发现表甘油和双羧酸略有升高，另一例未见异常。两患儿父母为非近亲结婚，无家族遗传病史及不良孕产史。患儿 A 在 4 月龄时出现身高体质量低于 P25。患儿 B 目前已 6⁺月，暂未发现生长发育异常。

1.2 方法

取患儿及其父母外周血 3 mL，EDTA 抗凝，对患儿样本进行遗传代谢病基因的二代测序，根据二代测序发现的异常，再使用 Sanger 一代测序对患儿及其父母的血样进行测序验证。

表 1 MCADD 患儿 LC-MS 检测异常（μmol/L）

Tab.1 The abnormal LC-MS test data in the MCADD patients (μmol/L)

患者	游离肉碱	乙酰肉碱	辛酰肉碱	癸酰肉碱
患儿 A	20.49	0.83	2.47	0.50
患儿 B	25.60	0.15	0.32	3.59
正常范围	8.28 ~ 58.00	0.01 ~ 0.17	0.02 ~ 0.19	0.03 ~ 0.26

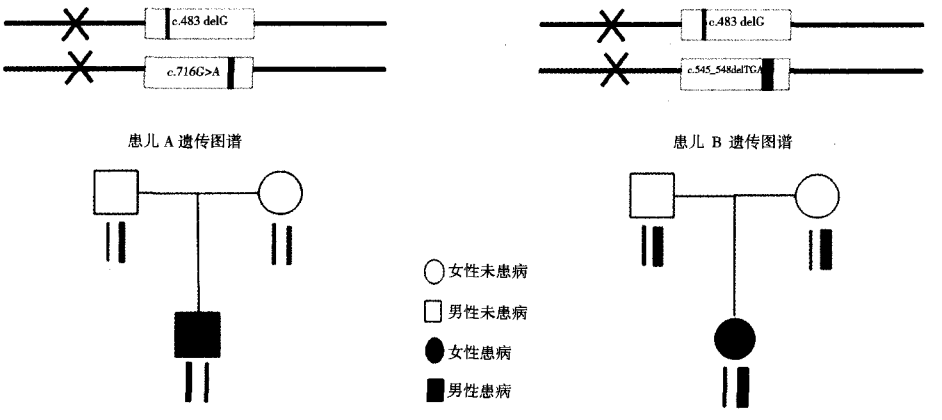
表 2 MCADD 患儿肝功检测结果

Tab.2 The liver function data in the MCADD patients

生化指标（正常参考值）	患儿 A	患儿 B
谷草转氨酶（0~45.0 U/L）	63.8	31.7
谷丙转氨酶（0~75.0 U/L）	76.0	48.3
谷氨酰转肽酶（5.0~75.0 U/L）	25.0	84.0
碱性磷酸酶（42.0~179.0 U/L）	298.1	217.1
总胆红素（0~25.0 μmol/L）	5.7	94.2
直接胆红素（0~6.8 μmol/L）	1.4	27.1
间接胆红素（0~25.0 μmol/L）	4.3	67.1
血糖（3.36~6.11 μmol/L）	4.39	4.17

2 结 果

测序结果（表 3）显示患儿均为 ACADM 基因复合杂合突变，患儿 A 为第 5 外显子 c.483 delG 和第 8 外显子 c.716G>A 的复合杂合突变，患儿 B 为第 5 外显子 c.483 delG 和第 6 外显子 c.545_548delTGAC 的复合杂合突变；2 个患儿的复合杂合突变均分别来自无症状的杂合突变携带者父亲和母亲。2 个患儿的遗传图谱如图 1 所示，二代测序的结果如图 2、图 3所示，患儿及父母的 Sanger 一代测序的结果如图 4、图 5 所示。



患儿 A 遗传图谱：图中红色代表杂合突变，第 5 外显子 c.483 delG 的杂合突变来自母亲，第 8 外显子 c.716G>A 的杂合突变来自父亲；患儿 B 遗传图谱：第 5 外显子 c.483 delG 的杂合突变来自父亲，第 6 外显子 c.545_548delTGAC 杂合突变来自母亲

图 1 患儿遗传图谱

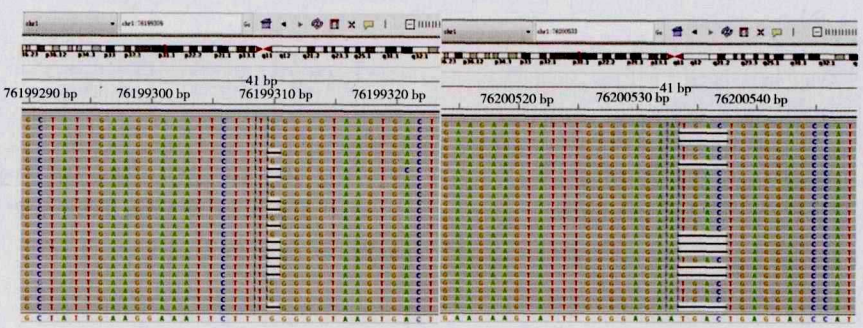
Fig.1 the genetic maps in two patients



左侧红色标示 c.483 delG，右侧红色标示 c.716G>A

图 2　患儿 A 的 ACADM 基因二代测序结果

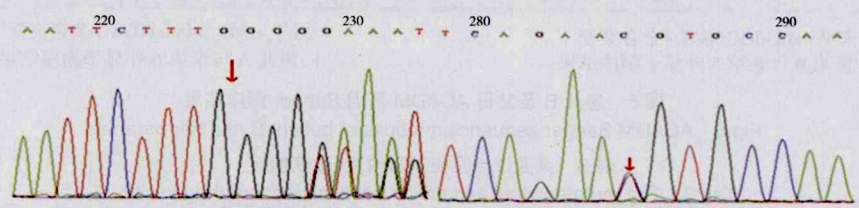
Fig.2　ACADM second-generation gene sequencing results of patient A



左侧红色标示 c.483 delG，右侧红色标示 c.545_548delTGAC

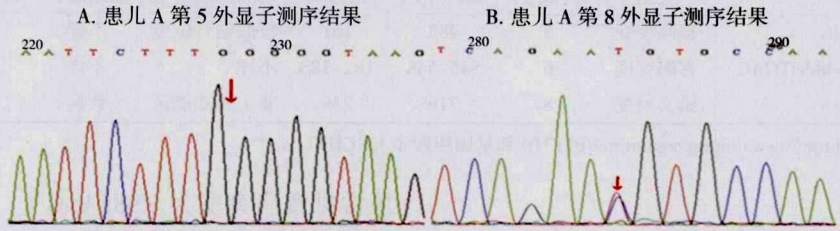
图 3　患儿 B 的 ACADM 基因二代测序结果

Fig.3　ACADM second-generation gene sequencing results of patient B



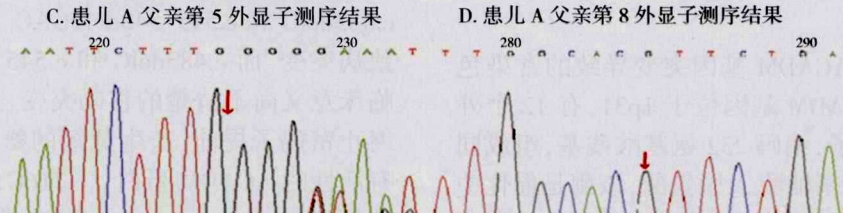
可见 c.483delG（箭头）杂合突变
A. 患儿 A 第 5 外显子测序结果

可见 c.716G>A（箭头）杂合突变
B. 患儿 A 第 8 外显子测序结果



未见 c.483delG（箭头）杂合突变
C. 患儿 A 父亲第 5 外显子测序结果

可见 c. 716G>A（箭头）杂合突变
D. 患儿 A 父亲第 8 外显子测序结果

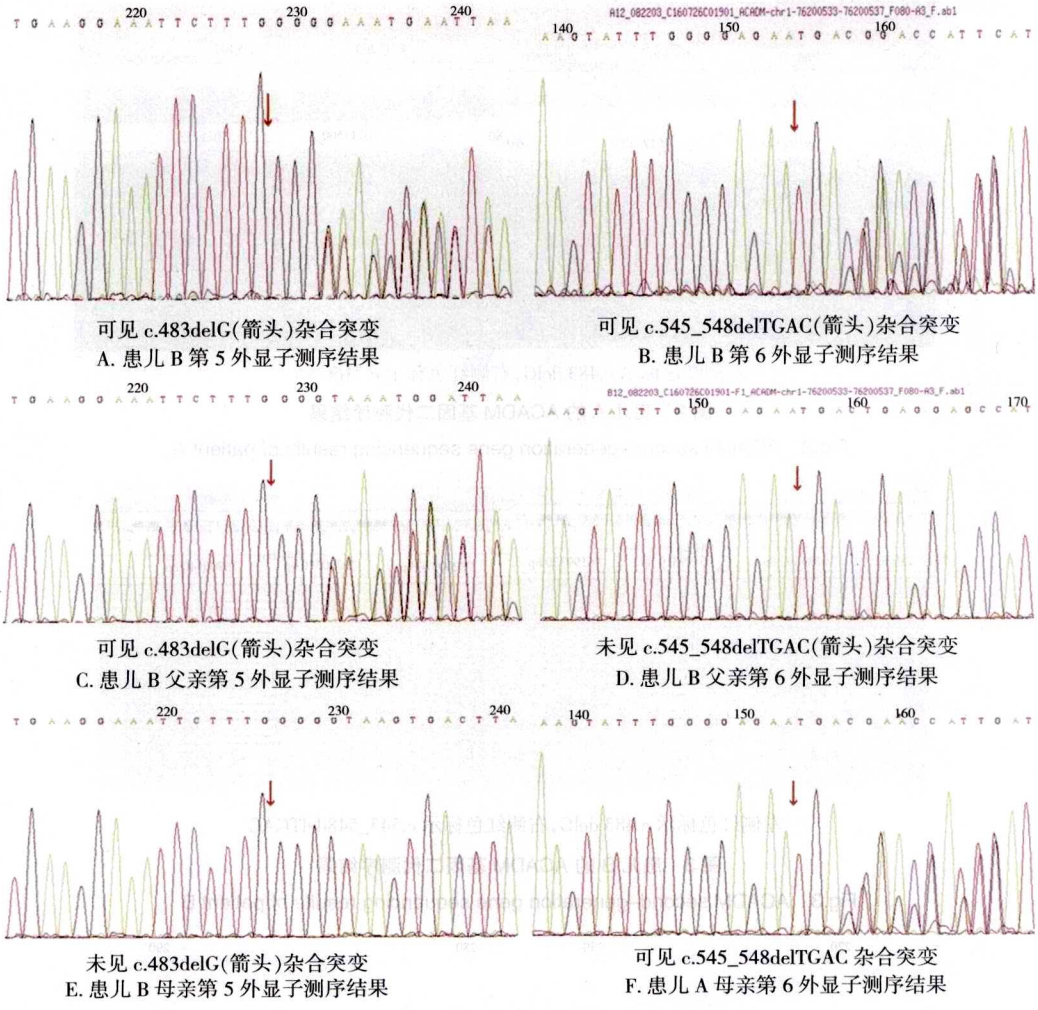


可见 c.483delG（箭头）杂合突变
E. 患儿 A 母亲第 5 外显子测序结果

未见 c.716G>A 杂合突变
F. 患儿 A 母亲第 8 外显子

图 4　患儿 A 及父母 ACADM 基因 Sanger 测序结果

Fig.4　ACADM Sanger sequencing results of patient A and him paranets



可见 c.483delG(箭头)杂合突变
A. 患儿 B 第 5 外显子测序结果

可见 c.545_548delTGAC(箭头)杂合突变
B. 患儿 B 第 6 外显子测序结果

可见 c.483delG(箭头)杂合突变
C. 患儿 B 父亲第 5 外显子测序结果

未见 c.545_548delTGAC(箭头)杂合突变
D. 患儿 B 父亲第 6 外显子测序结果

未见 c.483delG(箭头)杂合突变
E. 患儿 B 母亲第 5 外显子测序结果

可见 c.545_548delTGAC 杂合突变
F. 患儿 A 母亲第 6 外显子测序结果

图 5　患儿 B 及父母 ACADM 基因 Sanger 测序结果

Fig.5　ACADM Sanger sequencing results of patient B and her paranets

表 3　突变位点及氨基酸改变、致病情况

Tab.3　The mutated sites and amino acids change, pathogenicity

OMIM	类型	外显子	编码序列	蛋白质	功能描述	临床意义	氨基酸变化	相关 SNP
NM_001286043.1:c.483delG	移码突变	5	483	161	核酸结合位点	不详	L/X	rs754904305
NM_001286043.1:c.545_548delTGAC	移码突变	6	545-548	182-183	不详	不详	MT/X	rs757500332
NM_001286043.1:c.716G>A	错义突变	8	716	239	非主要功能区	致病	R/H	rs200724875

注：基因功能结构域参考 http://www.uniprot.org/uniprot/P11310 和基因组版本 GRCH37

3　讨　论

MCADD是由 ACADM 基因突变导致的常染色体隐性遗传病，ACADM 基因位于 1p31，有 12 个外显子和 11 个内含子，编码 232 氨基酸残基，组成同源四聚体的中链酰基辅酶 A 脱氢酶，该酶是催化中链脂肪酸（C6~C12）β 氧化反应的第一步。当编码此酶的 2 个等位基因均发生突变时，酶活性降低或无活性[6]，导致中链脂肪酸氧化代谢障碍。ACADM 基因目前已发现上百种 SNP，其中 34 种为致病突变，最常见致病突变为 c.985A>G[7]。本次检测发现了 2 种致病性的复合杂合突变：c.483delG 和 c.716G>A，c.483delG 和 c.545_548delTGAC。c.716G>A 为已知致病突变，而 c.483delG 和 c.545_548delTGAC 均为临床意义尚不清楚的移码突变，造成 ACADM 蛋白终止密码子提前，产生截短的氨基酸链，无法产生有活性的 ACADM 蛋白。c.716G>A 为错义突变，是美国 Emory Genetics Lab 发现的致病突变（http://geneticslab.emory.edu/emvclass/CSVArchives/EmVClass.2015-1b.csv）。在本次临床表现为 MCADD 的新生儿中均发现了 c.483delG 的移码突变。也许在

中国人中 c.483delG 是一个较为常见的突变，但是该突变的杂合子无 MACDD 的临床表现，如本检测中患儿 A 和 B 的母亲，但 c.483delG 与其他已知致病或临床意义不详的突变形成复合杂合突变则可显著影响 MCAD 的酶活性；c.716G>A 的杂合突变携带者，如本检测中患儿 A 的父亲，由于尚存的 MCAD 的酶活性足以支持饥饿或者应激状态对脂肪酸代谢的需求，故携带者并不会出现临床症状。但 c.483delG 复合杂合 c.716G>A 或 c.545_548delTGAC 则严重影响 MCAD 的酶活性，以致在新生儿期就会出现无临床表现的代谢产物的异常和肝功能异常，此类异常如未能发现而代谢产物逐渐累积、饥饿或者应激状况下脂肪代谢不足，则可能会出现临床症状。

MCADD 是一种常见的脂肪酸代谢障碍，主要表现为线粒体脂肪酸 β 氧化异常，并出现一系列中链脂肪酸（C4~C12）代谢指标异常。急性发病时，可出现低酮性低血糖、肌张力减退和呕吐，严重时可出癫痫、脑病，甚至猝死。MCADD 在欧洲新生儿发病率为 1/23 000~1/10 000 [8]，出生 72 h 死亡率约 4%，6 岁前死亡率为 5%~7%，MCADD 无特异性的临床表现，确诊需要结合实验室检测。生化检测定量血浆酰基肉碱、游离脂肪酸、尿有机酸，但对无症状 MCADD，尿中双羧酸水平与正常人无明显区别，如患儿 B，因此尿检不适合新生儿筛查。串联质谱能检测到无症状 MCADD 新生儿血中升高的中链酰基水平，兼具高灵敏度和特异性，甚至能够将无临床症状的杂合子检出[9]，适合于新生儿代谢疾病的普筛。发达国家和地区由于串联质谱在新生儿代谢病的广泛使用，使得该病的检出率得到极大的提高，提前预防和及时诊断将该病死亡率降到极低[10-11]。

MCADD 是否发病与环境因素密切相关，新生儿、婴儿和儿童期均可发病。发病多有诱发因素导致临床病症，其中最常见的诱因为饥饿状态。临床症状轻重不一。3 月龄前婴儿为按需喂养，进食频率高，抑制了脂质分解[9]；随着月龄增加，大多数婴儿夜间为空腹状态，可易诱发该病。患儿 A 在 4 月龄时，身高增加缓慢，可能为 MCADD 造成。其他应激（感染、疫苗接种）也会诱发该病，需特别注意。后续喂养中，应注意适量降低饮食中的脂肪摄入，增加碳水化合物和蛋白质的摄入，避免饥饿造成不可逆的神经损伤。

4 结 论

MCADD 是一种常见的脂肪酸代谢障碍，新生儿期无诱发因素存在时，MCADD 无特异性的临床表现，确诊需要结合实验室检测。串联质谱能检测到无症状的 MCADD 新生儿血中升高的中链酰基。随访监测可以避免漏掉阳性患者；基因检测可对无症状的串联质谱检测出的可疑患者进行确诊。新发现的 c.483delG 与 c.716G>A 或 c.545_548delTGAC 的复合杂合突变导致 MCAD 酶活性异常，影响中链脂肪酸代谢，导致新生儿中链脂肪酸在体内累积，并影响肝脏功能，该类复合杂合突变可能导致患儿较早出现临床异常。对此类患儿应该避免饥饿并减少中链脂肪酸的摄入，以其他脂肪酸代替，以供给患儿生长所需的足够能量。

参 考 文 献

[1] Rhead WJ. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: a global perspective[J]. J Inherit Metab Dis, 2006, 29(2-3): 370-377.

[2] Aksglaede L, Christensen M, Olesen JH, et al. Abnormal newborn screening in a healthy infant of a mother with undiagnosed medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency[J]. JIMD Rep, 2015, 23: 67-70.

[3] Leydiker KB, Neidich JA, Lorey F, et al. Maternal medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency identified by newborn screening[J]. Mol Genet Metab, 2011, 103(1): 92-95.

[4] Yusupov R, Finegold DN, Naylor EW, et al. Sudden death in medium chain acyl-coenzyme a dehydrogenase deficiency (MCADD) despite newborn screening[J]. Mol Genet Metab, 2010, 101(1): 33-39.

[5] Gartner V, McGuire PJ, Lee PR. Child Neurology: Medium-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency[J]. Neurology, 2015, 85(4): e37-40.

[6] Maier EM, Gersting SW, Kemter KF, et al. Protein misfolding is the molecular mechanism underlying MCADD identified in newborn screening[J]. Hum Mol Genet, 2009, 18(9): 1612-1623.

[7] Waddell L, Wiley V, Carpenter K, et al. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: genotype-biochemical phenotype correlations [J]. Mol Genet Metab, 2006, 87(1): 32-39.

[8] Moore D. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: a case presentation[J]. Neonatal Netw, 2005, 24(5): 7-13.

[9] Grunert SC, Wehrle A, Villavicencio-Lorini P, et al. Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency associated with a novel splice mutation in the ACADM gene missed by newborn screening[J]. BMC Med Genet, 2015, 16: 56.

[10] Wilcken B. Fatty acid oxidation disorders: outcome and long-term prognosis[J]. J Inherit Metab Dis, 2010, 33(5): 501-506.

[11] Couce ML, Sánchez-Pintos P, Diogo L, et al. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: regional experience and high incidence of carnitine deficiency[J]. Orphanet J Rare Dis, 2013, 8: 102.

（责任编辑：方 济）