

· 病例报告 ·

CPT1A 基因外显子纯合缺失变异导致的肉碱棕榈酰转移酶 1A 缺乏症 1 例

张志华¹, 王 兰¹, 周霄颖¹, 郑必霞², 林 谦^{1*}

¹南京医科大学附属儿童医院消化科, ²儿科学重点实验室, 江苏 南京 210029

[关键词] 肉碱棕榈酰转移酶 1A 缺乏症; CPT1A 基因; 外显子缺失

[中图分类号] R722.11

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2021)11-1707-03

doi:10.7655/NYDXBNS20211125

肉碱棕榈酰转移酶 1A (carnitine palmitoyltransferase 1A, CPT1A) 缺乏症 (OMIM#255120) 是一种长链脂肪酸氧化障碍的常染色体隐性遗传疾病, 由 CPT1A 基因 (OMIM#600528) 变异导致。CPT1A 是长链脂肪酸进入线粒体进行 β 氧化的限速酶。当 CPT1A 缺乏症患者长期禁食或处于病理状态时, 糖原储备不足, 肝脏线粒体脂肪酸 β 氧化提供能量被抑制, 出现低血糖、肝性脑病等多系统症状^[1]。该疾病罕见, 到目前为止, 人类基因组突变数据库 (Human Genome Mutation Database, HGMD) 仅收录了 41 种突变 (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=CPT1A>), 多为点突变, 本文首次报道了中国人人群中 1 例外显子 4~5 纯合缺失的变异类型, 丰富了该基因变异谱, 并结合 qPCR 进行了验证。

1 病例资料

患儿, 男, 2 岁 10 个月。因“肝功能异常 3 周”入院。患儿 3 周前因“低血糖晕厥”于当地医院治疗, 查丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 173.0 U/L, 予美能、谷胱甘肽保肝治疗 3 周, 复查肝功能, ALT 250 U/L, 遂来就诊。入院查体: 肝脏右肋下 3 cm, 质中。余查体无异常。父母体健, 否认家族史。入院诊断: 肝功能损害。

基因测序: 采集患儿及其父母静脉血 3 mL (EDTA 抗凝) 送至北京全谱医学检验实验室, 进行全外显子组测序, 外周血标本 DNA 抽提前, 患儿监

护人填写知情同意书, 本研究获南京儿童医院医学伦理委员会批准。本实验将正常对照样本与先证者及父母样本进行同组荧光定量 PCR 检测, 以 ALB 基因为内参基因, 对目标基因 CPT1A 的 4~5 外显子的拷贝数进行相对定量检测 (用荧光定量 PCR 法)。计算公式为 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 。qPCR 所用引物序列见表 1。

入院后辅助检查结果: ALT 206 U/L, 天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 154 U/L, 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 348 U/L, 血糖 4.11 mmol/L; 凝血功能无异常; 血氨、铜蓝蛋白、噬肝病毒、传染病 4 项无异常。彩超示肝脏右肋下 38 mm, 肝脏形态增大, 腹部 CT 示肝脏实质密度弥漫性减低。肝组织光镜病理: 肝细胞肿胀、胞质空亮, 广泛脂肪变性, 汇管区纤维组织中度增生伴少量淋巴细胞浸润 (图 1); 肝组织电镜病理: 肝细胞胞质内可见大量脂滴沉积, 细胞质内线粒体增多, 线粒体局灶可见肿胀及空泡变性等改变, 糖原颗粒轻度增多。遗传代谢血液筛查示游离肉碱 (C0) 显著升高, 多种酰基肉碱 (C16、C18) 降低, C0/(C16+C18) 为 2 609.78 (正常值 2.50~54.00)。以上检查结果高度提示患儿为遗传代谢性疾病, 进一步采用全外显子组测序进行基因检测以明确诊断。

基因诊断: 全外显子组测序结果提示患儿 CPT1A 基因外显子 4~5 纯合缺失, 患儿父亲、母亲为该突变杂合携带者。CPT1A 基因的纯合或复合杂合型突变可以导致 CPT1A 缺乏症。进一步采用 qPCR 的方法验证该患儿 CPT1A 基因外显子 4~5 纯合缺失变异。

将正常对照样本与先证者及父母样本进行同

[基金项目] 国家自然科学基金 (81600405)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: j_inc@126.com

表1 CPT1A基因外显子4-5 qPCR扩增引物设计

引物名称	碱基序列(5'→3')	退火温度(°C)	片段大小(bp)
ALB-QF 上游	AGTGCACTTGTGAGCTCGTG	60	128
ALB-QR 下游	GCAAAGCAGGTCTCCTTATCG		
CPT1A-4Q 上游	ATCCAGATCTTGGTGGCACG	60	162
CPT1A-4Q 下游	GTCCAGCCAGACGAAGAACG		
CPT1A-5Q 上游	AAGCCTTAATCCACAGATGGCT	60	130
CPT1A-5Q 下游	AAACCCATGTTGTACAGCTTCC		

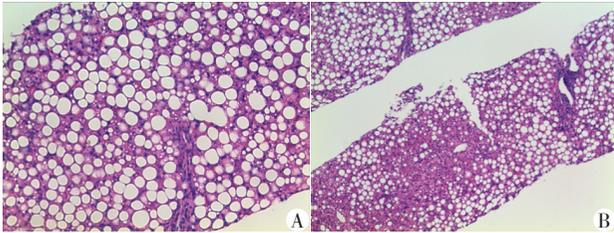


图1 先证者肝脏穿刺活检组织光镜病理
A: 肝细胞肿胀, 胞质空亮, 广泛脂肪变性($\times 200$); B: 汇管区纤维组织中度增生伴少量淋巴细胞浸润($\times 100$)。

图1 先证者肝脏穿刺活检组织光镜病理

组 qPCR 检测, 以 ALB 基因为内参基因, 对目标基因 CPT1A 4~5 外显子的拷贝数进行检测。由图 2 结果可见, 先证者 CPT1A 基因 4~5 外显子的拷贝数与正常对照的比值约为 0, 提示先证者 CPT1A 基因 4~5 外显子存在纯合缺失, 先证者父母 CPT1A 基因 4~5 外显子的拷贝数与正常对照的比值约为 0.5, 提示先证者父母 CPT1A 基因 4~5 外显子存在杂合缺失。qPCR 检测结果与全外显子组测序结果一致。

2 讨论

CPT1A 缺乏症是一种常染色体隐性遗传代谢性疾病, 属于长链脂肪酸氧化代谢紊乱类疾病, 由 11q13 染色体上的 CPT1A 基因上的纯合或复合杂合型突变所致。该疾病由 Bougnères 等^[2]于 1981 年首

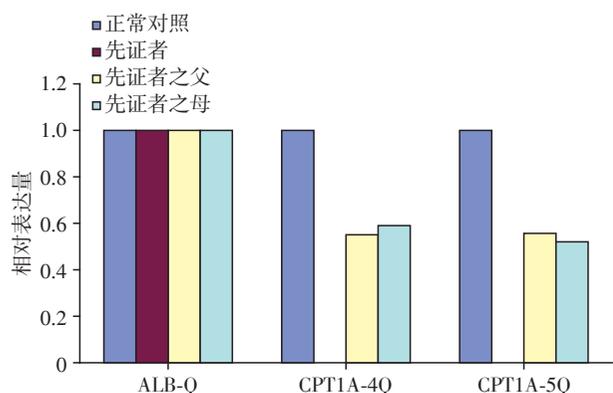


图2 CPT1A基因外显子4-5纯合缺失突变qPCR验证结果
ALB-Q: 内参基因; CPT1A-4Q: CPT1A基因外显子4; CPT1A-5Q: CPT1A基因外显子5。

图2 CPT1A基因外显子4-5纯合缺失突变qPCR验证结果

次报道, 具有种族特异性, 在阿拉斯加、加拿大、格陵兰岛和西伯利亚东北地区发病率较高^[3-5], 其他地区较罕见, 目前中国人群的患病率未知。

CPT1A 缺陷患者临床表现差异较大, 在正常生理情况下没有明显的临床表现, 当糖原储备显著减少时, 出现低血糖、呕吐、腹泻、抽搐、肝肿大、肝性脑病等典型的临床特征^[6], 一些个体可出现肾小管性酸中毒表型^[7-8]。也有个案报道以黄疸为首发症状^[9]。心脏或骨骼肌受累并不常见^[1]。实验室检查可显示低酮型低血糖、肝酶升高、高血氨等, 实验室诊断的重要依据是脂酰肉碱的合成显著减少, C0水平升高。本例患儿2岁10个月时因低血糖晕厥起病, 肝功能持续异常, 肝脏肿大, C0/(C16+C18)约为正常上限值的50倍, 肝细胞胞质内存在大量脂滴沉积, 线粒体增多且线粒体局灶可见肿胀及空泡变性等改变, 临床表现及实验室检查支持 CPT1A 缺乏症, 我们采用全外显子组测序进行基因检测以进一步明确诊断。

CPT1A 缺乏症的致病基因 CPT1A 位于 11q13 染色体上, 包含 20 个外显子, 编码大小为 773 个氨基酸残基的 CPT1A^[10-11]。目前 HGMD 数据库中收录了 41 种 CPT1A 基因突变, 多为错义突变、无义突变、剪切突变及插入缺失突变, 以点突变为主。全外显子检测显示本例患儿 CPT1A 基因 4~5 外显子存在纯合缺失, 父母为该杂合突变携带者, qPCR 结果与基因测序结果一致。在正常人群数据库中未发现该变异, 未见相关文献报道。CPT1A 基因的 4~5 外显子连续缺失属于基因水平中型变异, 造成开放阅读框大片段缺失, 从而影响蛋白功能, 结合该患儿的临床表现, CPT1A 基因外显子缺失变异是本例患儿发病的分子机制。

CPT1A 缺乏症患者出现急性低血糖症时, 应尽快提供足量 10% 葡萄糖注射液以纠正低血糖, 并防止脂肪分解和随后脂肪酸向线粒体的动员。血糖浓度正常后应继续葡萄糖输注, 为糖原合成提供足够底物。CPT1A 缺乏症患者在应激状态下存在神

经系统损伤、肝功能衰竭、癫痫发作、昏迷及猝死风险,预防急性发病可明显改善预后。CPT1A 缺乏症患者应经常进食,婴儿夜间可予玉米淀粉喂养提供缓慢释放碳水化合物的恒定来源,以防睡眠期低血糖症;因为中链脂肪酸不需CPT1A 协助即可进入线粒体内转化为能量,应采用高碳水化合物、减少长链脂肪酸摄入、增加中链甘油三酯的饮食结构^[1]。本例患儿在采取合理饮食结构后,肝转氨酶较前下降,未再出现低血糖等临床表现。

预防CPT1A 缺乏症急性发作、及时采取干预措施可明显改善患者预后,串联质谱技术联合基因检测有助于早期诊断。本例患者是国内首例外显子4~5 纯合缺失的CPT1A 缺乏症患者,丰富了该基因变异谱。近年来全外显子测序技术临床应用进展很快,可以检出外显子缺失和重复的中型变异,结合qPCR 或者多重连接探针扩增技术验证,可以为这类变异的患儿提供精准的分子诊断。

[参考文献]

- [1] KNOTTNERUS S J G, BLEEKER J C, WÜST R C I, et al. Disorders of mitochondrial long-chain fatty acid oxidation and the carnitine shuttle [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2018, 19(1):93-106
- [2] BOUGNÈRES P F, SAUDUBRAY J M, MARSAC C, et al. Fasting hypoglycemia resulting from hepatic carnitine palmitoyl transferase deficiency [J]. *J Pediatr*, 1981, 98(5): 742-746
- [3] SKOTTE L, KOCH A, YAKIMOV V, et al. CPT1A missense mutation associated with fatty acid metabolism and reduced height in Greenlanders [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2017, 10(3):e001618
- [4] PRASAD C, JOHNSON J P, BONNEFONT J P, et al. Hepatic carnitine palmitoyl transferase I (CPT1 A) deficiency in North American Hutterites (Canadian and American): evidence for a founder effect and results of a pilot study on a DNA-based newborn screening program [J]. *Mol Genet Metab*, 2001, 73(1):55-63
- [5] FOHNER A E, GARRISON N A, AUSTIN M A, et al. Carnitine palmitoyltransferase 1A P479L and infant death: policy implications of emerging data [J]. *Genet Med*, 2017, 19(8):851-857
- [6] DYKEMA D M. Carnitine palmitoyltransferase - 1A deficiency: a look at classic and arctic variants [J]. *Adv Neonatal Care*, 2012, 12(1):23-27
- [7] FALIK-BORENSTEIN Z C, JORDAN S C, SAUDUBRAY J M, et al. Brief report: renal tubular acidosis in carnitine palmitoyltransferase type 1 deficiency [J]. *N Engl J Med*, 1992, 327(1):24-27
- [8] BERGMAN A J, DONCKERWOLCKE R A, DURAN M, et al. Rate - dependent distal renal tubular acidosis and carnitine palmitoyltransferase I deficiency [J]. *Pediatr Res*, 1994, 36(5):582-588
- [9] CHOI J S, YOO H W, LEE K J, et al. Novel mutations in the CPT1A gene identified in the patient presenting jaundice as the first manifestation of carnitine palmitoyltransferase 1A deficiency [J]. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, 2016, 19(1):76-81
- [10] BRITTON C H, MACKEY D W, ESSER V, et al. Fine chromosome mapping of the genes for human liver and muscle carnitine palmitoyltransferase I (CPT1A and CPT1B) [J]. *Genomics*, 1997, 40(1):209-211
- [11] GOBIN S, BONNEFONT J P, PRIP-BUUS C, et al. Organization of the human liver carnitine palmitoyltransferase 1 gene (CPT1A) and identification of novel mutations in hypoketotic hypoglycaemia [J]. *Hum Genet*, 2002, 111(2):179-189

[收稿日期] 2020-08-10