

m.3303C>T突变引起线粒体心肌病一例及文献复习

叶 韵

苏州大学附属儿童医院心内科, 江苏 苏州

收稿日期: 2024年11月24日; 录用日期: 2024年12月17日; 发布日期: 2024年12月24日

摘 要

目的: 报告1例由m.3303C>T突变引起MCM的患儿的临床表现以及诊断过程, 以提高对该病的临床认识以及早期诊断。方法: 回顾分析1例于我科确诊的MCM患儿的临床资料, 通过高通量测序技术获得突变基因信息, 采用Sanger法验证突变位点, 最终确诊本病。结果: 男性患儿6个月, 发现心脏杂音就诊, 行心超提示心肌肥厚, 考虑心肌病。患儿入院后完善基因检测提示m.3303C>T纯质性变异, 为已报道的疑似致病变异。该例患儿在治疗期间心肌呈进行性增大, 心功能下降迅速, 半年后死亡。结论: 由m.3303C>T突变引起线粒体心肌病的患儿病情进展较迅速, 如不明原因心脏增大/心肌肥厚的患儿就诊, 建议完善线粒体环基因检测协助明确病因, 排除线粒体心肌病可能。

关键词

线粒体, 心肌病, m.3303C>T基因, 基因突变

m.3303C>T Mutation Caused Mitochondrial Cardiomyopathy: A Case and Literature Review

Yun Ye

Department of Cardiology, Children's Hospital of Soochow University, Suzhou Jiangsu

Received: Nov. 24th, 2024; accepted: Dec. 17th, 2024; published: Dec. 24th, 2024

Abstract

Objective: A case of mitochondrial cardiomyopathy caused by the m.3303C>T mutation was reported

to improve the clinical understanding and early diagnosis of the disease. **Methods:** Retrospective analysis of the clinical data of a child diagnosed with MCM in our department. Mutation gene information was obtained using high-throughput sequencing technology, and the mutation site was verified by the Sanger method, which ultimately confirmed the disease. **Results:** A six-month-old boy was found to have a heart murmur and was diagnosed with myocardial hypertrophy through echocardiography, suggesting cardiomyopathy. Genetic testing after admission indicated a m.3303C>T homoplasmic variation, which is a reported suspected pathogenic variant. During the treatment, the myocardium of the child was progressively enlarged, with the cardiac function decreasing rapidly. This child died six months later. **Conclusions:** Children with mitochondrial cardiomyopathy caused by the m.3303C>T mutation have rapid progression. If children present with unexplained cardiac enlargement/myocardial hypertrophy, the mitochondrial genetic examination may help us to diagnose the cause of cardiomyopathy and rule out the possibility of mitochondrial cardiomyopathy.

Keywords

Mitochondria, Cardiomyopathy, m.3303C>T Gene, Gene Mutation

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

线粒体疾病是指由于遗传缺陷致使线粒体呼吸链和线粒体氧化磷酸化障碍,影响线粒能量合成系统所引起的一组临床和遗传异质性疾病[1]。线粒体心肌病(Mitochondrial Cardiomyopathy, MCM)是由于心肌功能的氧化呼吸链基因出现缺陷引发的一种疾病,其主要表现为心肌组织结构和功能的丧失[2]。本研究通过归纳,介绍了在苏州大学附属儿童医院心内科治疗的1例MCM患者情况,并总结了该病诊断、检验及检查结果、治疗过程和预后情况等,为该病诊治及预后提供了重要依据。

2. 病例资料

本患儿,男,系6个月11天婴儿,因“发现心脏杂音1月”于2022年03月14日收入我院,患儿1月前因“生长发育落后”于外院门诊就诊,医生听诊发现心脏杂音,为进一步详细检查,建议至我院进一步诊治,门诊检查心超显示:LVEF: 72%, LVFS: 39%,左室腔偏小,余各房室内径测值属于正常范围;室间隔左室壁均匀性增厚,回声细密、稍增强;左室流出道血流速度稍增快,约2.2 m/s,心电图示窦性心律,部分导联T波改变。现为进一步完善相关检查,门诊拟“心肌病”于2022年03月14日收入我院。

个人史:患儿系G1P1,足月顺产,母孕期无殊,平素活动耐量可,生长发育落后,颈部力量弱,出生至今尚不能良好抬头,下肢肌力较弱,尚不会翻身,双手有主动抓握意识,能咿呀发音,粗大运动明显落后于认识、精细运动,体重位于第5百分位,身高位于第75百分位,现母乳喂养中,未添加辅食。

家族史:父母均体健,否认近亲结婚,否认遗传性疾病等家族史。

入院查体:体温36.6℃,脉搏102次/min,呼吸34次/min,身高66.0 cm,体重6.90 kg,脉氧98%,体重指数15.84 kg/m²,自动体位,神志精神尚可,颈软,尚不能良好抬头,颈静脉无怒张,咽稍红,呼

吸平稳，双肺未及啰音。心尖搏动位于左侧锁骨中线第5肋间外1.0 cm，未触及震颤，无心包摩擦感，心界叩诊向左扩大，心率104次/min，心律齐，心音低钝，未及杂音。腹软，肝脾肋下未及，触之无哭闹。双下肢无水肿，肌力3级，四肢末梢暖，双侧病理征阴性。

实验室检查：入院查N末端脑钠肽前体8278.0 pg/ml (0~125 pg/ml)，肌酸激酶同工酶92.5 ng/ml (0~4.87 ng/ml)，超敏肌钙蛋白T119.8 pg/ml (0~14 pg/ml)，肌钙蛋白I 0.219 (0~0.04 ng/ml)，肌红蛋白48.1 (28~72 ng/ml)，肌酸激酶491.2 U/L (25~200 U/L)，乳酸脱氢酶802.0 U/L (172~382 U/L)。动脉血气分析：酸碱度7.415，二氧化碳分压27.1 mmHg，氧分压185.0 mmHg，全血碱剩余-5.8 mmol/L，实际碳酸氢根17.3 mmol/L，标准碳酸氢根19.7 mmol/L，乳酸5.50 mmol/L (0.05~1.70 mmol/L)，血氧含量7.9 mL/dL (15.0~13.0 mL/dL)。生化全套：天门冬氨酸氨基转移酶114.2 U/L (5.0~40.0 U/L)，丙氨酸氨基转移酶46.4 U/L (5.0~40.0 U/L)，乳酸脱氢酶802.0 U/L (172~382 U/L)，尿酸515.0 μmol/L (208~428 μmol/L)，α-羟丁酸脱氢酶824.0 U/L (80.0~220.0 U/L)，肌酸激酶491.2 U/L (25.0~200.0 U/L)。抗核抗体谱、自身抗体、甲功全套、体液免疫、均未见明显异常。心电图：窦性心律，ST-T改变，左室高电压。心超提示：LVEF：72%，左室腔偏小，室间隔(IVSd：13.4 mm，Z值9.8)与左室壁(LVPWd：11.0 mm，Z值7.6)增厚，左室舒张功能下降。24小时动态心电图：平均心率114 bpm，最慢心率79 bpm，最快心率154 bpm。总共分析心搏总数165,599次，未见大于2.0秒的停搏/室性早搏有107个，占总心搏<1% (每小时4次)。室性逸搏发生1阵，共有1个心搏。房性早搏有10个，占总心搏<1%。结论：窦性心律不齐，部分时段窦性心动过速，室性早搏，偶见房性早搏。血遗传代谢筛查：本次检测C3DC + C4OH = 0.7 (C3DC + C4OH)/C4 = 2.8。线粒体环基因组检测：检测发现患儿血样中存在m.3303C>T纯质性变异，NGS测序Reads中变异比例为99.59%，为文献报道的已知疑似致病性变异。经Sanger验证，发现患儿母亲血样中亦存在m.3303C>T纯质性变异(见图1、图2)。

受检者：

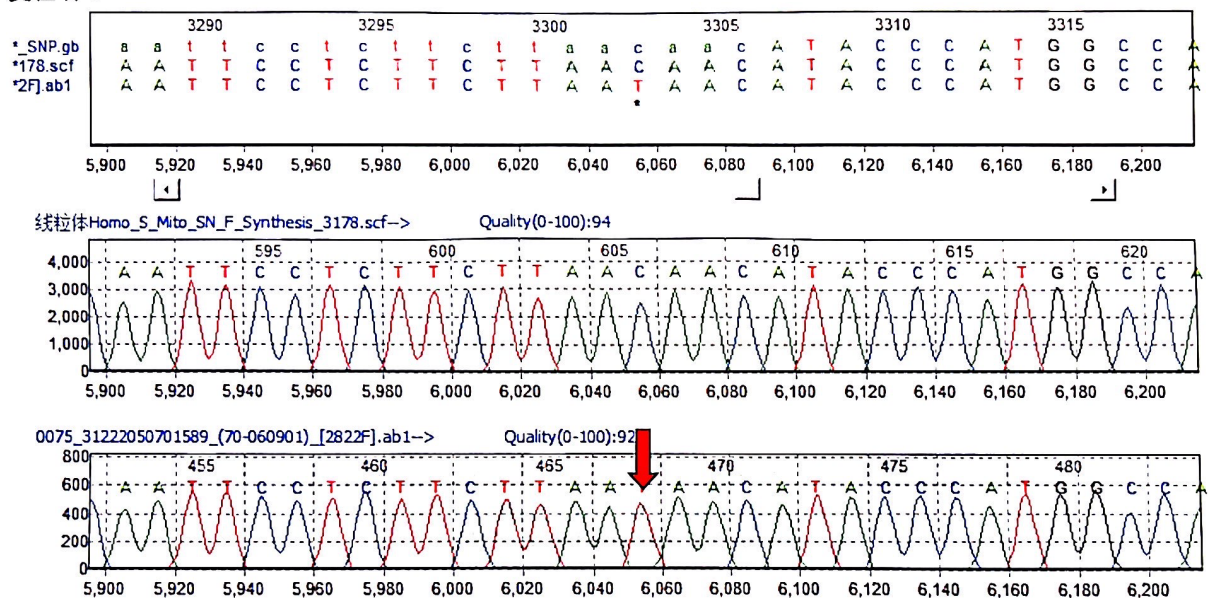


Figure 1. Sanger method validation diagram of m.3303C>T gene mutation in the child with MCM

图1. MCM患儿m.3303C>T基因突变Sanger法验证图

患儿入院后予营养心肌、控制心率、改善心室重构、营养支持等治疗，患儿营养状况及食纳一般，病情尚未平稳，家长要求出院口服药物治疗。出院5个月患儿因“鼻塞、流涕、咳嗽”于我院就诊，

予抗感染、利尿、强心、维持血压、气管插管、体外膜氧合(ECMO)支持等治疗好转后出院, 1 月余后再次因心衰于我院就诊, 家长拒绝行第二次 ECMO 支持治疗, 后经抢救无效死亡。

受检者母亲:

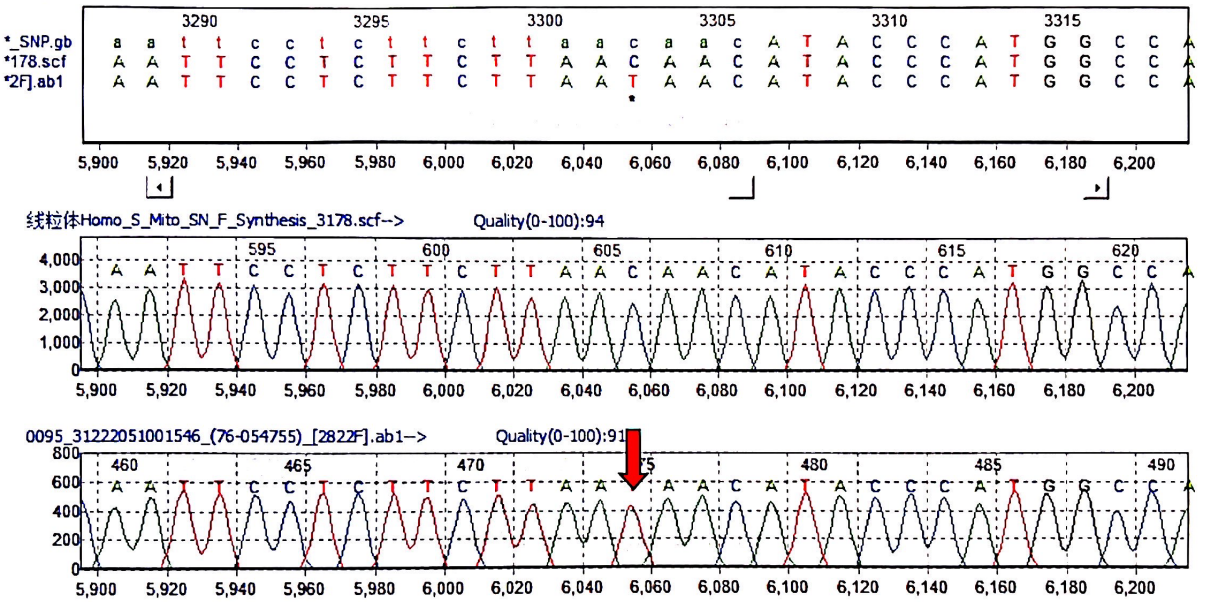


Figure 2. Sanger method validation diagram of m.3303C>T gene mutation in the mother of the child

图 2. MCM 患儿母亲 m.3303C>T 基因突变 Sanger 法验证图

3. 讨论

据估计, 新生儿中遗传性线粒体疾病的发病率已经达到 1/5000 以上[3], 且随着诊断水平的提高, 该疾病的发病率正逐渐上升。这类疾病通常会对那些需要高氧代谢的器官和组织造成较大影响, 例如脑部、心脏、骨骼肌肉以及肝脏等。虽然大多数线粒体疾病患者可能出现心脏病变, 但以心肌损害作为主要临床表现和(或)首发表现的病例报道较少, 并且此类患者常在婴幼儿时期就出现致命的心肌病。一项由 Hdmgren 等人所做的关于 101 名患有线粒体疾病的儿童的研究表明, 大约有 17% 的患者同时存在 MCM 症状, 并且这些患者的死亡风险比没有心脏问题的孩子高出许多[4]。另外, 美国的 Scaglia 团队也发现, MCM 患儿成年前生存率仅为 18%, 而相比较之下, 那些同样年龄段的、未合并心脏疾病的线粒体疾病患者却能达到 95% 的生存率[5]。然而, 中国对于 MCM 病例的确诊数量远不及全球平均水平, 这可能是因为我们国家对于这个情况尚未充分认识到或给予足够的关注。

随着分子生物学和遗传学技术的发展, 已发现超过 145 个线粒体基因组突变与遗传性神经肌肉疾病相关, 超过 90 种突变位于 tRNA 基因, 其中 tRNA^{Leu} (UUR) 基因是此类病理突变的热点[6]。1994 年, Silvestri 等首次报道了一个婴儿心肌病家系中线粒体 tRNA^{Leu} (UUR) 基因的 m.3303C>T 突变, 该家庭有 3 个孩子在婴儿期死于心肌病[7]。

m.3303C>T 突变位于 tRNA^{Leu} (UUR) 基因末端的第二个核苷酸, 是保守的碱基转变, 此突变几乎不影响氨基酰化效率, 也不会对螺旋结构产生很大影响, 但几个 tRNA 成熟步骤的减少就可以显著降低心肌功能。分子生物学研究表明, m.3303C>T 突变在心脏是同源的(> 98%), 而在肌肉是异质的(35%) [8]。然而, m.3303C>T 突变选择性影响心脏的机制仍然是未知的。Louis Levinger 等通过体外实验表明, m.3303C>T 突变主要由于 GC 碱基对被不稳定的 GU 碱基对替代, 导致 tRNA3'-端添加 CCA 的效率比野

生株降低了 5.5 倍,从而抑制转录后修饰的识别,即亮氨酸 tRNA^{Leu} 合成酶、翻译延伸因子、核糖体对 tRNA 的识别。而其他所有测试的突变体与野生型没有显著差异[6],因此,我们猜测越接近 tRNA^{3'}-端的突变对其末端成熟的影响越大,对临床表现和并发症严重程度的影响也越大。

对于 MCM 的诊断主要依靠以下几种方式:(1) 肌肉活检,目前是检测线粒体疾病的金标准,然而,大多婴幼儿及儿童的 MCM 主要表现为心内膜纤维化病变及非对称性的室间隔肥厚。(2) 临床表现,若发现有肥厚性心脏病(HCM)或扩张性心脏病(DCM)的患儿,同时合并多系统特异性症状的,有母系遗传家族史的患儿,应高度怀疑 MCM 的可能性。(3) 线粒体呼吸链酶复合物活性,这也是诊断线粒体病的一项关键技术,但目前这项研究还不适用于心肌组织。(4) 基因分析,已成为线粒体病诊断的一项重要手段,其对病因分析、遗传咨询、产前诊断等都具有重要价值。目前,我国常用的基因检测方法包括直接序列测定、限制性片段长度多态性聚合酶链反应、多重连接探针扩增技术等。

由于 MCM 存在多种表现,迄今尚没有明确的诊断标准。2004 年,Lev [9]等提出心肌病患者如果出现以下一种情况,均可考虑诊断 MCM:(1) 肌肉、成纤维细胞或者血小板中发现呼吸链酶缺陷;(2) 线粒体 DNA (mtDNA)突变或者缺失;(3) 特征性改变,如肌肉活检组织 Gomori 染色时发现破碎红纤维或者细胞色素 C 氧化酶染色降低;(4) 超微结构发现大量异常的线粒体堆积;(5) 一级亲属中已证实有线粒体病。临床实践中,MCM 主要临床表型主要为 HCM 或 DCM,其次为心力衰竭及左室心肌致密化不全,心律失常较少见。儿童易发生 HCM,而成人易发生 DCM,且随年龄增长 HCM 可转为 DCM。故鉴别诊断方面,该病需要与 Fabry 病、糖原贮积症、系统性淀粉样变等其他导致 HCM 及 DCM 的疾病相鉴别。

治疗方面,MCM 目前尚未找到特效的治疗方法,理论上,本病的根治方法是基因治疗,目前国内外也在探讨该方法的可能性及有效性,包括在细胞核中表达突变线粒体基因的野生型,及野生型线粒体基因转染受累线粒体等。对症治疗方面,临床上主要采用“线粒体鸡尾酒”疗法,包括:(1) 多食用含抗氧化剂丰富的食物;(2) 限制运动;(3) 线粒体保护剂;(4) 抗自由基药物;(5) 保护线粒体氧化功能等。近年来也有研究发现应用钙通道阻滞剂、 β 受体阻滞剂、血管扩张剂及 ACEI 类药物等可使患儿的 5 年存活率升高至 70% [10]。晚期心力衰竭的患儿也可以考虑心脏移植[11]。一些新的研究方向也受到了广泛关注,例如提取非自体骨骼肌线粒体移植到心肌细胞的细胞生物疗法,可以短期内提高心肌细胞的功能[12]。肌酸水化物可以提高患者高强度有氧及无氧活动能力,但不能改善低强度的有氧活动能力[13]。

本例患者为 6 个月 11 天的婴儿,起病早,病情变化快,早期临床表现为肌力低下、生长与发育明显迟缓,首先分析患儿出生史,该患儿为足月儿,顺产,出生体重及身长无明显异常,出生时无窒息、缺氧等,生后予母乳喂养,暂不考虑由围产期因素导致的生长发育迟缓。其次患儿完善脑部影像学均未及脑发育不良、畸形等表现,但仍需考虑脑炎、脑性瘫痪、癫痫等神经系统疾病。患儿病程后期并发严重的呼吸道感染,同时伴有心肌损伤标志物及乳酸显著升高,进一步复查心超提示:LVEF: 72%,左室腔偏小,室间隔(IVSd: 13.4 mm, Z 值 9.8)与左室壁(LVPWd: 11.0 mm, Z 值 7.6)增厚,左室舒张功能下降。这些情况可能由某些遗传性的代谢障碍所导致,如糖原贮积症、先天性高乳酸血症及线粒体疾病等问题都会引发乳酸含量上升和生长发育延迟的情况。因此,我们对这个孩子的状况进行了全面的评估,包括相关的基因测试,最后根据他的临床表现和基因分析的结果,确诊为线粒体心肌病。患儿入院后予对症支持治疗,后家长要求出院,故予卡左卡尼汀、辅酶 Q10、果糖二磷酸营养心肌,予卡托普利、美托洛尔改善心肌重构,患儿家长医嘱依从性较低,4 个月后患儿继发严重的呼吸道感染,再次入院复查心超提示:LVEF: 50%,室间隔与左室壁进行性增厚,左室收缩及舒张功能下降,可见该患儿心功能已明显下降,予 ECMO 支持治疗后多次复查心超提示心功能进一步下降,LVEF 波动在 36%~47%,心室壁及室间隔仍进行性增厚,左房、左室均进行性增大,IVSd 波动在 10.0~14.8 mm; LVPWd 波动在 10.2~13.0 mm。该患儿心功能以较快的速度降低,病情变化也十分迅速,符合 m.3303C>T 突变的特点。

4. 结论

由此,对于婴幼儿时期患有 HCM 的儿童,特别是那些伴随着全身多系统特异性症状的心衰患者,应高度警惕 MCM 的可能性。完善基因检测有助于提高诊断率,对后续治疗也有指导意义。m.3303C>T 突变的研究资料仍十分缺乏,本病例的研究对 m.3303C>T 引起的线粒体心肌病的临床治疗、遗传咨询、分子诊断等提供了新的线索和信息。

参考文献

- [1] Craven, L., Alston, C.L., Taylor, R.W. and Turnbull, D.M. (2017) Recent Advances in Mitochondrial Disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, **18**, 257-275. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-091416-035426>
- [2] Hsu, P., Chu, C., Lin, T., Lu, Y., Lee, C., Lai, W., et al. (2008) Adult-Onset Hypertrophic Cardiomyopathy Manifested as Initial Major Presentation of Mitochondrial Disease with A-to-G 3243 tRNA Leu(uur) Point Mutation. *International Journal of Cardiology*, **129**, 441-443. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.06.098>
- [3] Kisler, J.E., Whittaker, R.G. and McFarland, R. (2010) Mitochondrial Diseases in Childhood: A Clinical Approach to Investigation and Management. *Developmental Medicine & Child Neurology*, **52**, 422-433. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2009.03605.x>
- [4] Holmgren, D. (2003) Cardiomyopathy in Children with Mitochondrial Disease Clinical Course and Cardiological Findings. *European Heart Journal*, **24**, 280-288. [https://doi.org/10.1016/s0195-668x\(02\)00387-1](https://doi.org/10.1016/s0195-668x(02)00387-1)
- [5] Scaglia, F., Towbin, J.A., Craigen, W.J., Belmont, J.W., Smith, E.O., Neish, S.R., et al. (2004) Clinical Spectrum, Morbidity, and Mortality in 113 Pediatric Patients with Mitochondrial Disease. *Pediatrics*, **114**, 925-931. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-0718>
- [6] Levinger, L., Oestreich, I., Florentz, C. and Mörl, M. (2004) A Pathogenesis-Associated Mutation in Human Mitochondrial TrnaLeu(uur) Leads to Reduced 3'-End Processing and CCA Addition. *Journal of Molecular Biology*, **337**, 535-544. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.02.008>
- [7] Silvestri, G., Santorelli, F.M., Shanske, S., Whitley, C.B., Schimmenti, L.A., Smith, S.A., et al. (1994) A New mtDNA Mutation in the TrnaLeu(uur) Gene Associated with Maternally Inherited Cardiomyopathy. *Human Mutation*, **3**, 37-43. <https://doi.org/10.1002/humu.1380030107>
- [8] Bruno, C., Kirby, D.M., Koga, Y., Garavaglia, B., Duran, G., Santorelli, F.M., et al. (1999) The Mitochondrial DNA C3303T Mutation Can Cause Cardiomyopathy and/or Skeletal Myopathy. *The Journal of Pediatrics*, **135**, 197-202. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(99\)70022-3](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(99)70022-3)
- [9] Lev, D., Nissenkorn, A., Leshinsky-Silver, E., Sadeh, M., Zeharia, A., Garty, B., et al. (2004) Clinical Presentations of Mitochondrial Cardiomyopathies. *Pediatric Cardiology*, **25**, 443-450. <https://doi.org/10.1007/s00246-003-0490-7>
- [10] Assomull, R.G., Prasad, S.K., Lyne, J., Smith, G., Burman, E.D., Khan, M., et al. (2006) Cardiovascular Magnetic Resonance, Fibrosis, and Prognosis in Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, **48**, 1977-1985. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.07.049>
- [11] Meyers, D.E., Basha, H.I. and Koenig, M.K. (2013) Mitochondrial Cardiomyopathy: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *The Texas Heart Institute Journal*, **40**, 385-394.
- [12] Pompei, M. and Pompei, F. (2018) Overcoming Bioethical, Legal, and Hereditary Barriers to Mitochondrial Replacement Therapy in the Usa. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **36**, 383-393. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1370-7>
- [13] Tarnopolsky, M.A., Roy, B.D. and MacDonald, J.R. (1997) A Randomized, Controlled Trial of Creatine Monohydrate in Patients with Mitochondrial Cytopathies. *Muscle & Nerve*, **20**, 1502-1509. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4598\(199712\)20:12<1502::aid-mus4>3.0.co;2-c](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4598(199712)20:12<1502::aid-mus4>3.0.co;2-c)