

# 1例异卵双胞胎脊髓性肌萎缩症先证者 病例分析

冯拓宇<sup>1</sup> 詹英杰<sup>2</sup> 梁成鸿<sup>1\*</sup> 林青<sup>3</sup> 徐文瑜<sup>1</sup>

(1. 湛江市妇幼保健院医学遗传检验中心, 广东 湛江 524000; 2. 湛江市妇幼保健院儿童康复科, 广东 湛江 524000; 3. 湛江市妇幼保健院产前诊断中心, 广东 湛江 524000)

**【摘要】目的** 本研究重点关注一例异卵双胞胎脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)婴幼儿, 并深入探讨了该疾病的症状、诊断、治疗和预防。**方法** 先证者与父母外周血 DNA 采用多重定量荧光 PCR 技术(quantitative fluorescent PCR, QF-PCR)、荧光定量 PCR 技术(Quantitative PCR, qPCR)、多重连接探针扩增技术(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)分别进行短串联重复序列(Short Tandem Repeats, STR)、运动神经元存活基因 1(survival motor neuron1, SMN1)第 7 外显子的拷贝数、SMN1 和 SMN2 基因的拷贝数检测。**结果** 该先证者为异卵双胞胎, 父母基因型均为 SMN1 基因第 7 外显子杂合缺失, 双胎先证者均为 SMN1 基因第 7 外显子 0 拷贝(纯合缺失), SMN2 基因 2 拷贝。此外, 本研究结合先证者出生后逐渐出现四肢无力, 哭声低, 吞咽无力, 不能抬头的临床症状将其确诊为脊髓性肌萎缩症 I 型。**结论** 本案例为临床罕见异卵双胞胎 SMA 患儿, 表明了对 SMN1 基因携带者筛查、诊断及单方携带者进行相关 SMA 知识宣教的重要性, 同时强调了在孕期进行全面的遗传咨询必要性。

**【关键词】** 脊髓性肌萎缩症; 运动神经元存活基因 1; 携带者筛查; 遗传咨询; 异卵双胞胎

**【中图分类号】** R715.5 **【文献标识码】** B

脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)是一种在国内人群携带率约为 1/83~1/56 的罕见神经肌肉常染色体隐性遗传病<sup>[1]</sup>, 其临床症状是由于脊髓前角细胞的  $\alpha$  运动神经元变性, 导致表现为具有连续性、两侧性、位于肢体近端为主的肌无力萎缩等症状<sup>[2]</sup>。SMA 临床表现多样, 起病年龄跨度大, 根据起病年龄和临床表现分为 SMA0、SMA I、SMA II、SMA III、SMA IV 等 5 型<sup>[3]</sup>。现将湛江市妇幼保健院产前诊断中心收治的 1 例异卵双胞胎脊髓性肌萎缩症 I 型先证者报道如下:

## 1 对象与方法

1.1 对象 异卵双胞胎先证者之一(YJW): 男性, 1 月 23 天, 家属主诉身体无力就诊。先证者前囟

1.8cm×1.8cm 较为平软, 正常面容。四肢情况: 双手抓物无力, 围巾征肘部达中线, 握持反射消失(图 1), 下肢负重能力欠佳, 双上肢肌张力降低, 近端上肢和下肢为 I 级, 远端上肢为 II 级, 垂腕, 肌肉松弛无力, 肌张力降低; 动作情况: 俯卧抬头不能完成, 拉坐起头后仰, 偶有对视, 追声欠佳, 吞咽无力易溢奶, 头部松软无力, 未能抬头, 哭声低, 呼吸无力, 对视追听欠佳, 无呕吐, 无抖动, 无震颤, 精神神志反应可; 异卵双胞胎先证者之二(YJC): 男性, 1 月 23 天, 症状与前者相似。孕妇孕期超声、心电图、唐氏筛查、无创产前基因、常规血液等产检未发现明显异常, 否认出生窒息缺氧及家族遗传病史, 孕妇与丈夫非近亲婚配, 孕妇孕期无不良接触史、无慢性病史。

## 1.2 方法

1.2.1 标本采集 经先证者家属知情同意及广东湛江市妇幼保健院医学伦理委员会审核批准后(批文号: 202410), 对双胎先证者分别采取外周血

EDTA 抗凝管 4ml 两管、枸橼酸钠抗凝管 4ml 一管、干燥管 5ml 一管;父母外周血 EDTA 抗凝管 4ml 各一管。

1.2.2 样本常规处理 将抽取先证者的 EDTA 抗凝、枸橼酸钠和干燥管标本分别进行血常规、凝血功能、生化检测。



图1 先证者1握持反射消失

1.2.3 标本 DNA 获取 将先证者与父母 EDTA 抗凝外周血采用亚能生物技术(深圳)有限公司核酸全血提取试剂(型号:MEB-16C)及广州凯普医药科技有限公司 HBNP-4801A 全自动核酸提取仪提取 DNA,严格按照说明书进行。

1.2.4 样本基因检测

1.2.4.1 采用 QF-PCR 对先证者与父母外周血的 STR 进行检测。STR 在人群中具有高度多态性,是由 2~7bp 高度串联重复序列组成的基因组核心序列<sup>[4]</sup>,我们通过对母亲及双胞胎外周血 STR 的检测去判断染色体片段的同源性,从而鉴别双胞胎先证者属同卵还是异卵。

1.2.4.2 采用 qPCR 对先证者与父母外周血 SMN1 基因第 7 外显子的拷贝数进行定量检测。qPCR 是利用管家基因序列作为内参实现多重实时荧光定量 PCR 反应,用于人群大规模 SMA 筛查。它通过对 SMN1 基因第 7 外显子的拷贝数进行检测,具有低成本高通量、易操作周期短等优势。

1.2.4.3 采用 MLPA 对先证者与父母外周血进行

SMN1 和 SMN2 基因的拷贝数定量检测。MLPA 的杂交探针利用 SMN1 与 SMN2 基因第 7 和第 8 外显子存在 5 个碱基的差异性,能在同一时间将 SMN1 和 SMN2 基因的拷贝数变异一次性高效识别出来,是确诊 SMA 的“金标准”<sup>[5,6]</sup>。

## 2 结果

2.1 常规血液检测:先证者 1 血液常规检查:血常规、凝血功能正常;心肌酶谱:CK(肌酸激酶)393 U/L ↑、CKMB(CK-MB 同工酶)35U/L ↑、HBDH(羟丁酸脱氢酶)194U/L ↑、LDH(乳酸脱氢酶)242U/L ↑。先证者 2 血液常规检查:血常规、凝血功能正常;心肌酶谱:CK 501 U/L ↑、CKMB 52U/L ↑、HBDH 228U/L ↑、LDH 288U/L ↑。

2.2 基因检测

2.2.1 QF-PCR 提示:STR 位点 D18S887、LFG21、ZFXV、D18S851 表明两先证者都有一条相同的染色体遗传自同一母本,另一条则是来自父本不同的染色体,我们再结合位点 D21S1435 两先证者分别遗传了母本不同的染色体,得知该双胞胎为异卵(图 2)。

2.2.2 qPCR 提示:母亲(B2)、父亲(C2)SMN1 基因第 7 外显子 RQ 值分别是 0.56 和 0.58,即 1 拷贝数表现为杂合缺失;双胞胎先证者(D2、E2)SMN1 基因第 7 外显子 RQ 值都是 0.00,即 0 拷贝数表现为纯合缺失(图 3)。

2.2.3 MLPA 确诊:母亲和父亲均为 SMN1 基因第 7 外显子 1 拷贝(杂合缺失),SMN2 基因 4 拷贝;双胞胎先证者之一(YJW)SMN1、SMN2 的 DQ 分别是 0.00、1.00,双胞胎先证者之二(YJC)SMN1、SMN2 的 DQ 分别是 0.00、1.12,即均为 SMN1 基因第 7 外显子 0 拷贝(纯合缺失),SMN2 基因 2 拷贝,与 QPCR 结果一致(图 4、图 5)。

2.3 临床诊断:SMA I 型。诊断依据:①先证者均为 SMN1 基因第 7 外显子为 0 拷贝(纯合缺失),SMN2 基因为 2 拷贝。②肌酸激酶等辅助检测异常。③先证者发病年龄小于 6 个月、具有肌肉张力下降、四肢无力、吞咽无力等典型临床症状。

2.4 治疗:在明确诊断的基础上,康复医师提供了全面的康复训练、神经发育、运动和心理评估,以期

达到最佳的治疗效果。经过双胎神经心理测验(GMs 录像评估),积极开展婴儿训练(扭动训练、纽安垫波动训练、PT 训练、视听训练等),每月接受 GMs 复评,监测是否出现异常的不安运动。

2.5 治疗结果 通过与家长沟通,建议转上级医院系统治疗,家长因经济及护理条件艰难等因素没有进一步做特殊治疗,经跟踪随访,双胎先证者病情逐渐加重最终因呼吸衰竭均死亡。

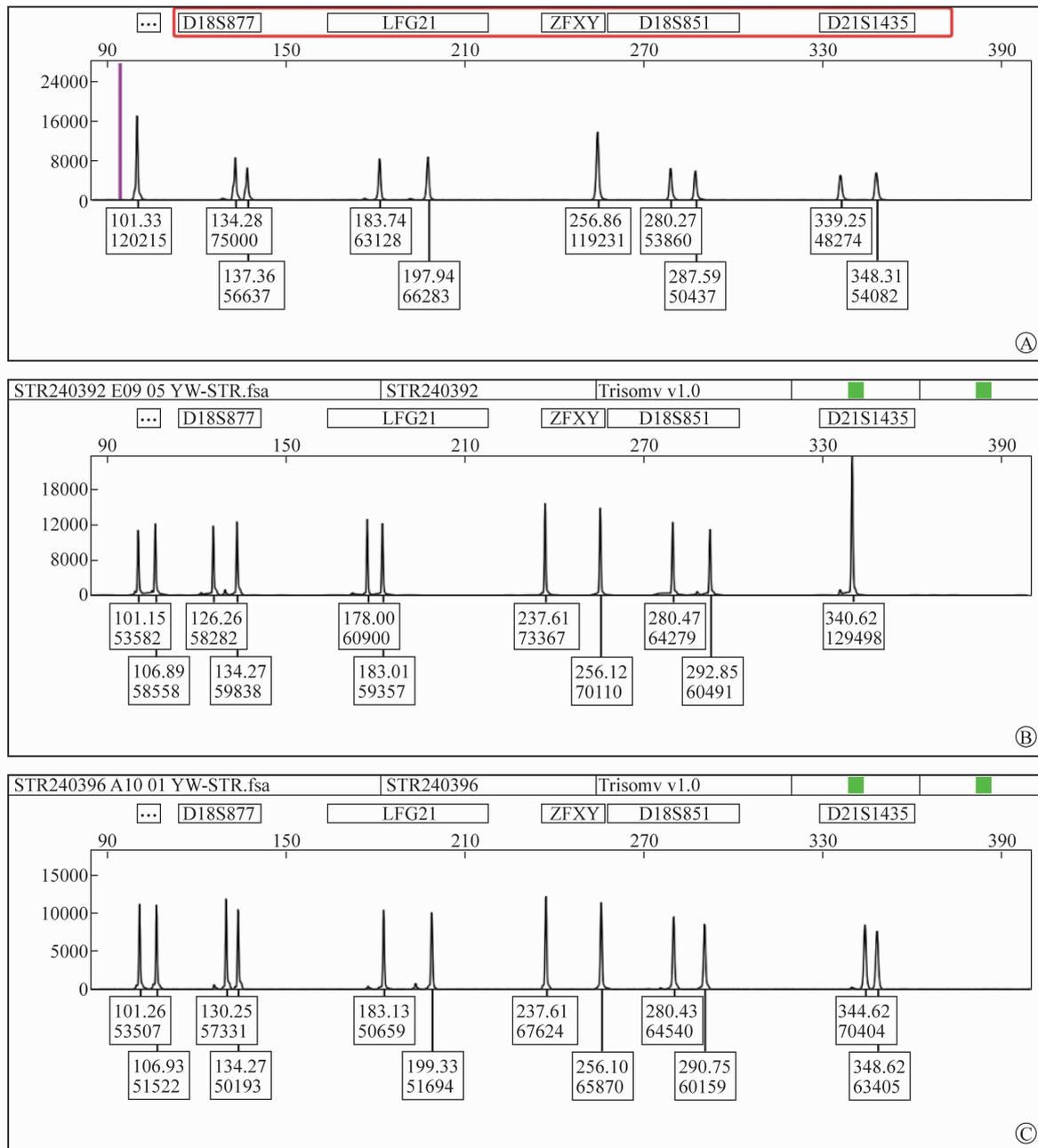


图 2 STR 检测提示先证者为异卵双胞胎

注:A、B、C 分别是母亲、双胎之一(YJW)、双胎之二(YJC)的 STR 峰值。

### 3 讨论

SMA 是一种由基因突变引起的疾病,其发病与运动神经元存在 SMN 基因的缺乏密切相关。该突

变会干扰 SMN1 基因的正常功能,进一步导致脊髓前角,特别是胸椎、腰椎和颈椎区域的运动神经元受损从而可能引发严重的神经源性肌肉功能障碍<sup>[7]</sup>,如瘫痪和痉挛等。

SMA 患者可以根据发病时间、活跃期及疾病发展速率被划分为 0 型、I 型、II 型、III 型和 IV 型五种类型。其中, I 型最为常见, 而 IV 型相对较为罕见<sup>[8]</sup>。各类型的 SMA 在临床表现和生存期限上各具特点:

0 型 SMA 通常在新生儿期即表现出严重的肌肉萎缩和肌张力下降, 反射消失。此外, 这些患者可能还伴有先天性心脏病, 且多数在出生后 6 个月内出现症状。

I 型 SMA 患者在出生后 6 个月内即出现严重

的肌肉收缩功能障碍, 表现为对称性弛缓性肌无力, 且症状在 2 岁后更加明显。

II 型 SMA 患者在 6 至 18 个月大时出现, 初期肌肉张力较弱, 但随年龄增长能逐渐发展出一定的运动能力, 可以独自站立但无法行走。这类患者的病程相对稳定, 通常在 25 岁左右达到稳定状态, 不再进一步恶化。

III 型 SMA 患者在 18 个月至青少年期早期能够独立行走, 但可能会反复跌倒, 且上下楼梯时存在困难。尽管如此, 他们的日常生活能力基本正常。

反应孔信息表												
	反应孔	管名	通道	目标	颜色	类型	属性	Ct	浓度	RQ	样本结论	唯一标识
1	B2	管1	2	SMN1	■	待测样品		27.93		0.56	杂合缺失	SM24003
2			4	ACTB	■	待测样品		24.49				
3	C2	管1	2	SMN1	■	待测样品		27.62		0.58	杂合缺失	CF24003
4			4	ACTB	■	待测样品		24.23				
5	D2	管1	2	SMN1	■	待测样品		35.85		0.00	纯合缺失	CS24003-1
6			4	ACTB	■	待测样品		24.22				
7	E2	管1	2	SMN1	■	待测样品		37.10		0.00	纯合缺失	CS24003-2
8			4	ACTB	■	待测样品		23.99				

图 3 QPCR 结果

注: B2: 先证者母亲 SMN1 第 7 外显子为杂合缺失; C2: 先证者父亲 SMN1 第 7 外显子为杂合缺失;

D2: 双胞胎之一(YJW)SMN1 第 7 外显子为纯合缺失; E2: 双胞胎二(YJC)SMN1 第 7 外显子为纯合缺失。

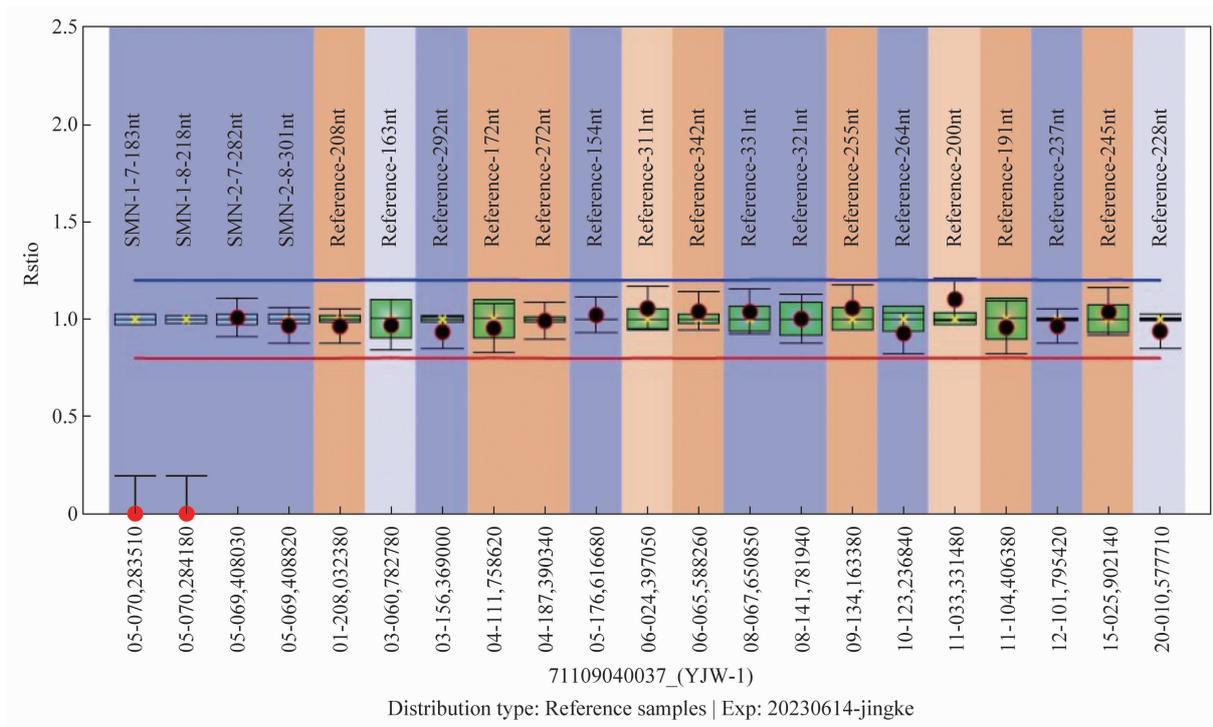


图 4 双胞胎之一(YJW)MLPA 检测提示 SMN1 的 DQ 值为 0.00, SMN2 的 DQ 值为 1.00

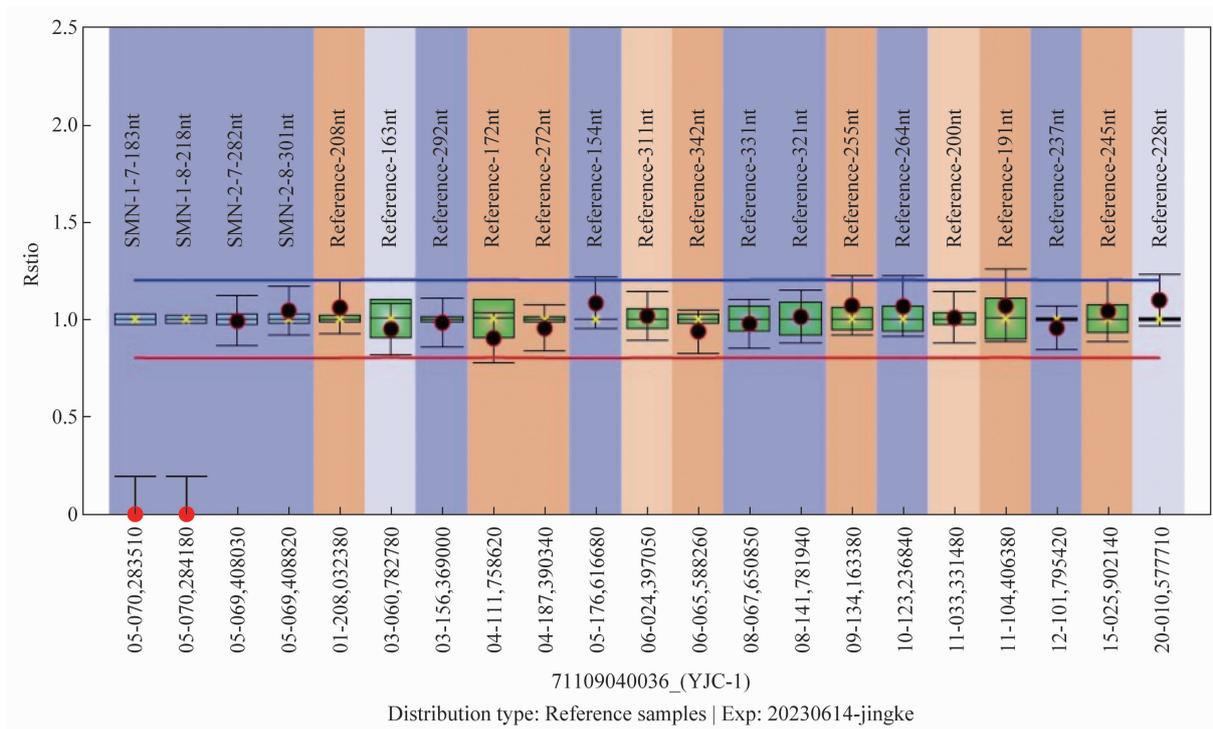


图 5 二胎之二(YJC)MLPA 检测提示 SMN1 的 DQ 值为 0.00,SMN2 的 DQ 值为 1.12

IV 型 SMA 则主要影响成人,仅导致轻微的运动障碍,且不会影响呼吸系统功能。

SMA 患者的治疗和管理是一个复杂的过程。由于患病后期患者可能因肌萎缩严重导致吞咽困难,呼吸道感染成为许多 SMA 患者死亡的主要原因之一。吸入性肺炎是 SMA 的常见并发症,在治疗过程中,抗生素的及时使用以及呼吸道管理至关重要。在必要时,需要提供机械通气、气管切开等呼吸支持措施<sup>[9]</sup>。除了医学治疗外,康复结合中医治疗也被证明对 SMA 患者的病情有一定的延缓作用。在中医理论中,SMA 属于痿证范畴,针灸和人参养荣汤等中医治疗方法被报道能够促进患者的康复进程<sup>[10]</sup>。在药物治疗方面,尽管诺西那生钠注射液、利司扑兰口服溶液等药物仅能缓解症状,无法彻底治愈该疾病<sup>[11]</sup>,但已被列为国家重点推广的治疗药物。另外,随着最新型药物索伐瑞韦在美国食品药品监督管理局获批,作为一种以腺病毒为载体的基因治疗药物,在临床上通过补充外源性 SMN1 治疗 2 岁以下儿童患者已经取得了良好的疗效<sup>[5]</sup>。然而,这些药物的高昂费用以及需要长期专人照护和康复治疗等现实问题,仍然让许多家庭难以承受。

本病例中的先证者就因费用和康复照护问题而放弃了治疗尝试。

本例异卵双胞胎 SMA I 型先证者的报道,为我们提供了宝贵的临床数据。在预防方面,这一病例提醒我们,对于有高风险的家庭,应尽早进行携带者筛查和遗传咨询,以评估生育 SMA 患儿的风险。在诊断方面,尽管产前诊断技术已取得一定进展,但如何更准确地识别双胞胎中的 SMA 患儿仍是一个挑战。因此,我们需要不断优化产前诊断流程,提高诊断准确性。此外,本例先证者的罕见性也为我们提供了对 SMA 更深入研究的契机。通过对其临床表现、基因型与疾病严重性的关系等方面的研究,我们有望为 SMA 的防治策略提供新的思路和方法。同时,这一病例也强调了临床遗传咨询在预防 SMA 中的重要性,以及产前诊断在减少 SMA 患儿出生中的关键作用。对于二胎 SMA 的产前诊断,双羊膜囊内取样是一种有效的方法。在二胎妊娠中,异卵双胞胎是最常见的类型,这类双胞胎的遗传物质和表型存在明显差异<sup>[12]</sup>。由于两个胎儿来自不同的胎盘,它们之间没有血管吻合或交流,形成双绒毛膜双羊膜囊二胎(DCDA)。在这种情况下,产前诊断

应分别对两个胎儿进行取样检查。另一方面,同卵双胞胎是由一个受精卵经过多次卵裂后形成的两个独立个体。尽管传统上认为同卵双胞胎的基因几乎完全相同,但近年来的研究表明<sup>[13,14]</sup>,当单绒毛膜双胎在基因出现差异或染色体不分离时,它们的表型可能会存在显著差异。因此,对于单绒毛膜双羊膜囊双胎的 SMA 胎儿,也建议分别对两个胎儿进行双羊膜囊内取样检查。

在遗传咨询方面,本病例中根据先证者出生后逐渐出现四肢无力、哭声低、呼吸无力、头部松软无力等典型症状及患病年龄,并结合 SMN1 基因第七外显子拷贝数为 0, SMN2 基因拷贝数为 2 的基因检测结果,最终诊断为 SMA I 型。同时,双亲也明确诊断为 SMA 基因携带者。根据孟德尔遗传规律,如果夫妇双方仅一方为携带者,则子代有 50% 的概率为携带者,50% 的概率为正常;如果夫妇双方均为携带者,则子代有 50% 的概率为携带者,25% 的概率为患者;如果夫妇一方为 SMA 患者另一方为携带者,则子代有 50% 的概率为患者,50% 的概率为携带者。因此,对于分娩过 SMA 患儿的夫妻、双方均为 SMA 基因携带者或生育过 SMA 患儿(但患儿夭折前未行基因诊断)的夫妻,在再次妊娠时建议进行家系基因分析<sup>[6]</sup>。我们通过在孕期 11~13 周、16~22 周左右进行绒毛取样或羊膜腔穿刺对胎儿 SMN1 基因进行检测,可以准确判断胎儿是否为 SMA 患者或携带者。目前, SMA 携带者筛查主要手段是采取 qPCR 对目标人群进行筛查,如果 SMN1 基因第 7 外显子拷贝数有异常则采取 MLPA 进一步确诊,二代测序(next-generation sequencing, NGS)、三代测序、变性高效液相色谱及数字 PCR 等新技术也逐渐运用于临床。值得注意的是,一方面由于目前检测技术局限,对于 2+0 型、1+1<sup>d</sup> 型的 SMA 携带者存在漏检的风险,即使 NGS 也只能检测出微小致病基因片段而不能定位该片段来源于 SMN1 还是 SMN2 基因,另一方面有极少数 SMA 患者会因存在生殖嵌合或新发致病基因的现象而漏检,建议在进行遗传咨询时充分告知受检者上述残余风险的存在<sup>[5]</sup>。

根据 SMA 中国三级预防指南<sup>[8]</sup>, 首先建议在

普通生育人群中采取扩展性携带者筛查(expanded carrier screening, ECS),以避免 SMA 患儿的出生;其次,在妊娠期间对于高风险孕妇我们既可以在通过产前诊断明确胎儿 SMN1 基因型的同时提倡对 SMN2 基因进行拷贝数检测,以降低 SMA 患儿出生的风险,也可以建议有条件的家庭通过胚胎植入前遗传学检测(preimplantation genetic testing, PGT)对胚胎进行遗传学检测筛选出健康的胚胎进行移植,以提高生育健康宝宝的机会;最后,在新生儿/儿童期通过 ECS 以及其他有效的治疗方法,尽可能地降低 SMA 的风险,提高出生人口素质。

综上所述, SMA 是一种严重的遗传性疾病,对患者及其家庭造成了巨大的负担。通过携带者筛查、产前诊断、遗传咨询以及有效的治疗方法,我们可以降低 SMA 的发生率,减轻患者的痛苦,提高患者的生活质量。同时,我们也期待未来能够有更多的研究突破,为 SMA 患者带来更加有效的治疗方案和更好的生活希望。

#### 参 考 文 献

- [1] ZHANG J, WANG Y, MA D, et al. Carrier screening and prenatal diagnosis for spinal muscular atrophy in 13069 Chinese pregnant women[J]. *Mol Diagn*, 2020, 22(6): 817-822.
- [2] VERHAART I, ROBERTSON A, WILSON I, et al. Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy literature review [J]. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2017, 4(12): 124.
- [3] 张抒扬. 罕见病诊疗指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2019.
- [4] MANN K, PETEK E, PERTL B. Prenatal detection of Chromosome Aneuploidy by Quantitative Fluorescence PCR [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1885: 139-160.
- [5] 单基因病携带者筛查共识专家组, 中华医学会医学遗传学分会遗传咨询学组. 脊髓性肌萎缩症携带者筛查遗传咨询专家共识[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2024, 41(6): 661-668.
- [6] 北京医学会医学遗传学分会, 北京罕见病诊疗与保障学会. 脊髓性肌萎缩症遗传学诊断专家共识[J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(40): 3130-3140.
- [7] 杨贇滢, 洪思琦. 儿童型脊髓性肌萎缩症诊治研究进展[J]. *儿科药理学杂志*, 2022, 28(12): 55-58.
- [8] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会神经遗传学组. 脊髓性肌萎缩症中国三级预防指南[J]. *中华神经科*

杂志,2023,6(5):476-486.

[9] 张云茜,章印红,王建林. 脊髓性肌萎缩症的研究进展[J]. 重庆医学,2014,43(12):1521-1523.

[10] 吴宝石,范兴恩,潘成峰,等. 脊髓性肌萎缩症 1 例报告并文献复习[J]. 医学伦理与实践,2022,35(12):2099-2101.

[11] 脊髓性肌萎缩症临床实践指南工作组,熊晖,王艺. 脊髓性肌萎缩症临床实践指南[J]. 中国循证儿科杂志,2023, 18(1): 1-12.

[12] 王彦林,果丽,华人意,等. 多胎妊娠产前筛查与产前诊断[J]. 实用妇产科杂志,2019,35(09):644-647.

[13] MACATANGGA M, DELA CALLE M, TORRES ML, et al. Monozygotic monochorionic twins discordant for trisomy 21;areason to evaluate both fetuses;a casereport[J]. Reprod Med, 2016, 61(3-4): 167-170.

[14] 何苗,谢红宁,雷婷,等. 单合子双胎表型差异性因素研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2015,31(10):973-976.

(收稿日期:2024-10-09)

编辑:姚红霞

· 视频导读 ·

## 国家产前筛查与产前诊断质控指标的解读

朱军

(中国出生缺陷监测中心)



全国妇幼卫生监测办公室、中国出生缺陷监测中心主任朱军教授在 2024 年的第十三届中国胎儿医学大会上为大家解读了“国家产前筛查与产前诊断质控指标”。国家卫生与健康委员会妇幼健康司在《出生缺陷防治能力提升计划(2023—2027)》中强调了提升质量管理的重要性,并颁布了《产前筛查和产前诊断质量控制指标》。该指标对血清学唐氏筛查的检出率、假阳性率、无创产前基因检测(NIPT)检测的比例及其检出率、产前筛查高风险咨询率和随访率、介入性操作胎儿丢失率、核型分析条带数比例、实验室中转时间、产前超声切面完整率、产前诊断随访率,以及产前诊断异常病例随访率等方面作出了详细规定,并强调了 AI 质控工具的优势。

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2024.04.013