

1 例产前胎儿 *MT-TL1* 基因 m.3243A>G 变异病例分析

孔祥天 蒋鸿儒 王婧 曹娴 郁卫群 崔爱民*

南通大学附属妇幼保健院(南通市妇幼保健院) 医学遗传与产前诊断科,江苏 南通 226018

【摘要】 对 1 例孕中期宫内生长受限(fetal growth restriction, FGR)的胎儿进行了羊水产前家系全外显子组测序分析,发现胎儿 *MT-TL1* 基因 m.3243A>G 变异,变异比例为 70.92%,而孕母的变异比例为 6.95%。在孕晚期胎儿病情进展,出现颅内出血、心包积液、肠管扩张及长骨发育异常,进一步扩展了该线粒体疾病的产前表型谱,强调了 m.3243A>G 相关疾病的表型变异性。该病例首次揭示了 *MT-TL1* 基因突变与 FGR 之间的关联,为临床提供了新的基因检测位点,并明确了潜在的干预靶点,未来可通过基因筛查和干预方法来预防出生缺陷。

【关键词】 胎儿生长受限;线粒体病;产前诊断;胎儿颅内出血

【中图分类号】 R714.53 **【文献标识码】** B

1 研究背景

胎儿生长受限(fetal growth restriction, FGR)是一种严重影响胎儿正常发育的疾病,可能导致低出生体重、早产以及长期健康问题。FGR 不仅对患者造成显著危害,还增加了新生儿死亡率及后续健康问题的风险,进而加重了经济负担^[1]。目前,FGR 的诊治手段主要包括定期超声监测和营养干预,但现有方法在早期检测及有效干预方面仍存在局限性^[2]。已有研究表明多种遗传因素可能与 FGR 的发生有关。线粒体 tRNA Leu (*MT-TL1*) 突变 m.3243A>G 是目前广泛报道的致病性线粒体基因组(mitochondrionDNA, mtDNA)突变之一,其临床表现因个体差异而异,范围从严重的线粒体脑病、乳酸性酸中毒及脑卒中样发作(mitochondrial encephalomyopathy/lactic acidosis and stroke-like episodes, MELAS),到无明显症状的携带者状态^[3-5]。功能实验的结果表明,该突变会导致基因功能受损^[6],引发包括脑卒中样发作、伴发癫痫及(或)

痴呆的脑病、肌肉无力、运动不耐受、反复头痛和呕吐、听力障碍、周围神经病变、学习障碍及身材矮小等一系列症状。*MT-TL1* 基因与线粒体功能障碍密切相关,研究发现该基因突变与多种线粒体疾病及生长障碍显著关联,提示基因突变可能是导致 FGR 的重要因素^[2,7]。此外,孕妇的高龄、肥胖及糖尿病等因素显著增加胎儿 FGR 的风险^[1]。母系遗传的 *MT-TL1* 突变可能在胎儿发育过程中引发多种生理和发育问题,增加了胎儿出生缺陷的风险^[5,8],研究显示 *MT-TL1* 基因突变可能成为 FGR 的又一遗传因素,并为个体化医疗的发展提供了新的思路。

2 对象及方法

2.1 对象 病例为 1 例 34 岁的经产妇,BMI 为 26.78,曾足月剖宫产一女婴,体健。有 3 年糖尿病胰岛素治疗史,此次为自然受孕。孕早期超声筛查未见异常,NIPT 结果为低风险。孕 23⁺3 周超声结构筛查显示头围 198mm (5.9%),腹围 175mm (8.4%),股骨长 37mm (9.4%),体重评估为 476g (4.4%),单脐动脉,可能存在轮状胎盘。孕 26⁺3 周胎儿超声提示头围 228mm (3%),腹围 192mm

(0.4%), 股骨长 40mm (0.1%), 体重评估 620g (-3.3SD), 单脐动脉。胎儿心脏超声显示心尖圆顿, 卵圆孔略宽, 卵圆瓣开放幅度偏小, 右肺动脉内径偏细。依据《胎儿生长受限专家共识(2019 版)》推荐中国人群采用 NICHD 的亚裔人群建立的曲线^[9]评估该胎儿符合生长受限诊断, 行羊膜腔穿刺进行胎儿染色体微阵列分析联合家系全外显子组测序。孕 28⁺⁵ 周胎儿超声提示头围约 251mm (3.8%), 腹围约 230mm (13%), 股骨长约 43mm (-3.89SD), 体重评估 910g (0.3%) (如图 1~图 4); 胎儿左侧侧脑室前角探及宽约 18mm×11mm×10mm 的混合回声区, 部分为高回声, 部分为无回声区, 内未见血流信息(如图 5); 胎儿肠管增宽, 最宽处约 20.2mm (如图 6); 心包腔内探及宽约 3.6mm 的无回声区(如图 7); 三尖瓣探及反流, 反流速度为 156.0cm/s。胎儿头颅磁共振提示左侧生发基质区出血(如图 8), 右侧腹部肠管扩张, 胎盘呈球拍状, 单脐动脉。胎儿染色体微阵列分析未见异常。家系全外显子组测序结果显示胎儿 *MT-TL1* 基因 m.3243A>G 变异(如图 9), 属于母系遗传, 变异比例为 70.92%, 孕母变异比例为 6.95%。由于孕母

并发 HELLP 综合征, 于孕 31⁺³ 周急诊剖宫产, 患儿出生体重 1270g, Apgar 评分为 1min 1 分; 5min 1 分; 10min 1 分, 重度窒息, 最终放弃抢救。本研究通过医院伦理委员会的审查, 院伦理审批号 (Y2025021), 诊疗过程患者已签署知情同意书。

2.2 方法 本案例中通过羊膜腔穿刺获取胎儿细胞, 应用试剂盒(货号: DP-304-02, 北京天根生化科技有限公司)提取基因组 DNA。采用 SureSelect 人类全外显子组序列捕获试剂盒(货号: 5190-8863, 美国 Agilent 公司), 应用打断法构建文库, 扩增后进行杂交捕获。捕获、纯化 DNA 产物并进行 PCR 扩增, 构建完成靶向富集的测序文库后使用高通量测序仪器 BGI2000(深圳华大基因股份有限公司)进行双向测序。样本数据不低于 10 Gb, 外显子组测序 30 覆盖度 ≥ 90%, 数据质量平均 Q30 ≥ 90%。应用 Trimmomatic v0.39 软件去除测序原始数据里的接头和低质量序列, BWA v0.7.17 软件将测序数据比对至 GRCh37/hg19 参考基因组。GATK v4 软件进行重复序列标记、质量分数重校正和变异识别。根据测序深度和变异质量, 对单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 变异和插入

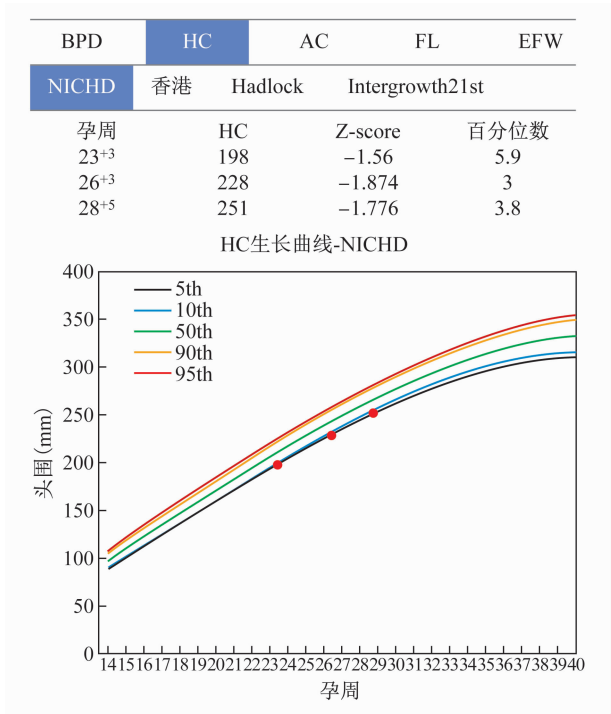


图 1 胎儿头围生长曲线

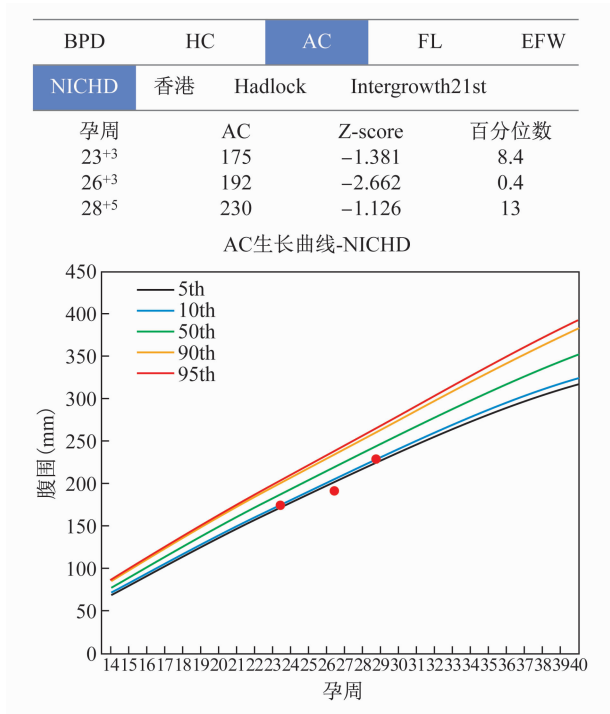


图 2 胎儿腹围生长曲线

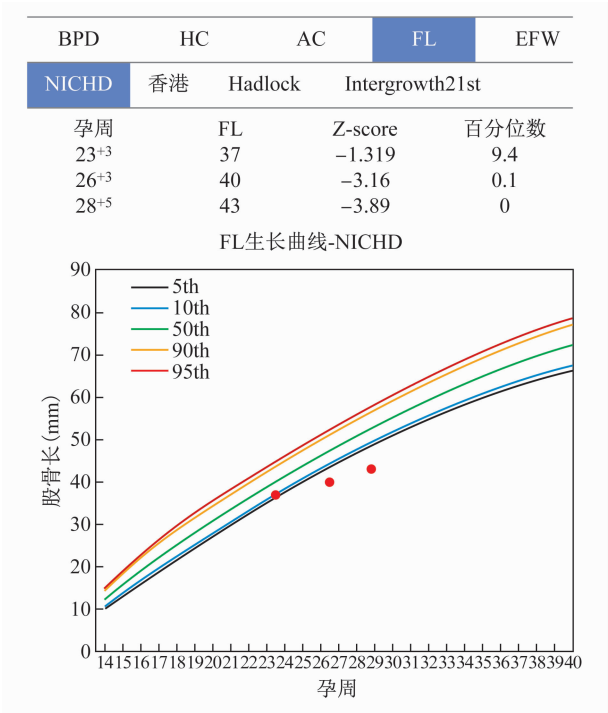


图 3 胎儿股骨生长曲线

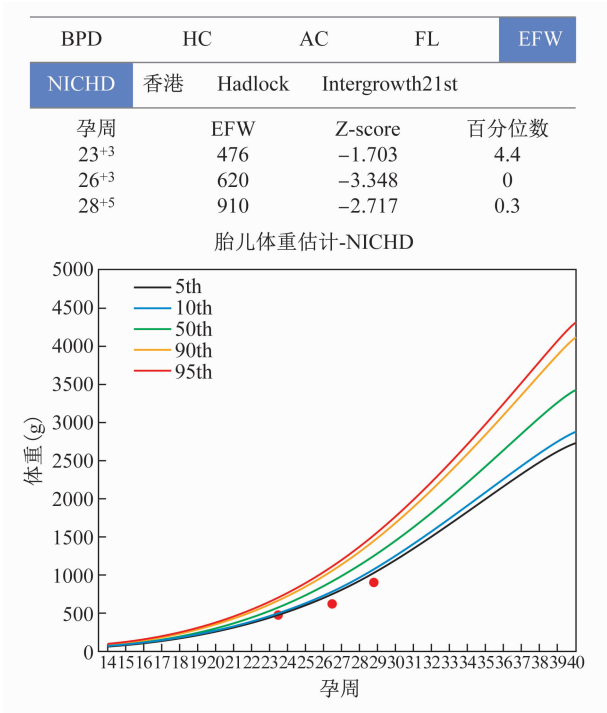


图 4 胎儿体重评估曲线

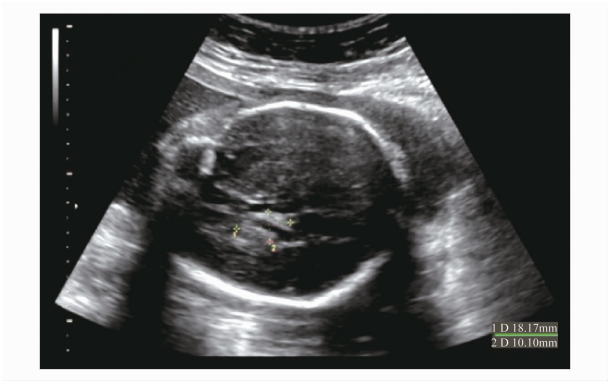


图 5 胎儿颅内出血灶

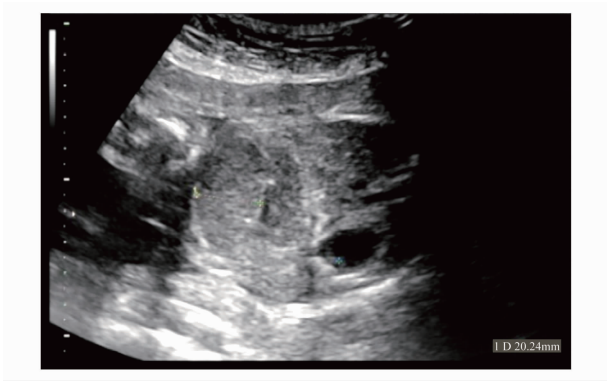


图 6 胎儿腹部肠管扩张

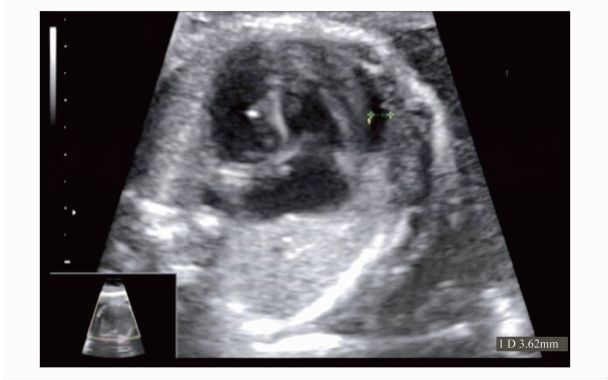


图 7 胎儿心包腔积液

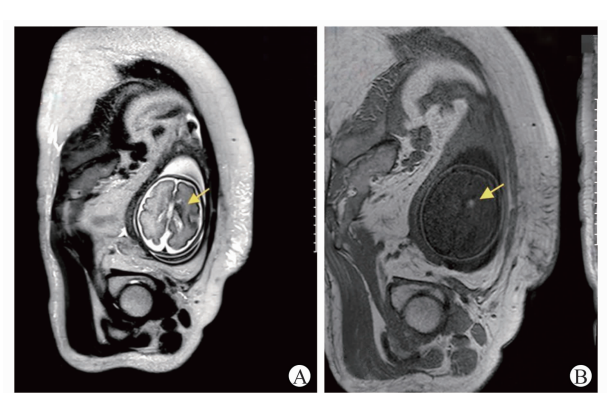


图 8 胎儿冠状颅内出血图。A: T2WI 序列;B: T1WI 序列

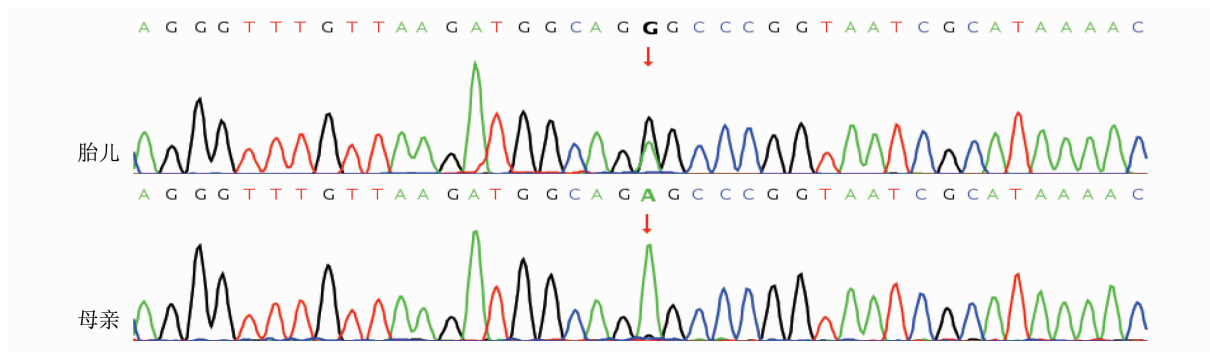


图9 胎儿 *MT-TL1* 基因 m.3243A>G 变异 Sanger 测序验证

缺失(insertion-deletion, InDel)变异进行过滤和筛选。ANNOVAR v2019-10-24 用于变异的注释。查询人类基因突变数据库(HGMD, <https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>)和美国国家生物技术信息中心临床突变数据库(ClinVar, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>)对变异位点的致病性进行评估。查询国际千人基因组计划数据库(1000 Genomes, <https://www.internationalgenome.org>)、基因组聚合数据库(gnomAD, <https://gnomad.broadinstitute.org/>)、外显子测序项目 6500 (ESP6500, <https://evs.gs.washington.edu/EVS/>)等人群频率数据库对变异位点的人群频率进行分析。应用 SIFT (<http://sift.jcvi.org/>)、PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)、Mutation Taster (<https://www.mutationtaster.org/>)等在线软件对变异位点进行蛋白质生物学功能预测。根据 2015 年美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)颁布的指南^[12]对变异进行致病性评估。在羊水样本中,*MT-TL1* 基因 m.3243A>G 变异所在位置测序深度为 53515, 支持变异等位基因的测序 reads 数为 37955, 变异比例为 70.92%; 在母亲样本中, 该变异所在位置测序深度为 1835, 支持变异等位基因的测序 reads 数为 26402, 计算变异比例为 6.95%。通过限制性片段长度多态性分析鉴定的点突变经过靶向 Sanger 测序确认变异来源。

3 讨论

胎儿生长受限(FGR)是一种严重的妊娠并发

症,影响约 5%~12%的孕妇,尤其在高风险人群中更为常见^[10]。FGR 不仅会导致低出生体重、早产等短期并发症,还与长期健康问题的风险增加密切相关,包括代谢综合征、心血管疾病和认知功能障碍等^[2,11]。由于这种疾病的病因复杂,目前的监测与干预手段在早期识别和有效治疗方面仍存在局限性,因此深入探讨其病因及机制,尤其是遗传因素的作用,显得尤为重要^[1,7]。FGR 中,染色体异常占比 15%~20%,以三倍体和非整倍体多见;当合并结构异常时,利用染色体微阵列分析可额外检出 10%的致病性拷贝数变异(CNV);此外也与某些罕见单基因病及表观遗传性异常相关^[12]。

以往研究主要集中于 FGR 的环境和母体因素,而对遗传因素,尤其是线粒体基因突变的深入探讨则相对缺乏。*MT-TL1* 基因突变与胎儿生长受限存在显著关联^[5,13],此病例的基因检测结果与已有文献一致,支持了 *MT-TL1* 基因在多种线粒体疾病和生长障碍中的重要作用^[5,6]。A3243G 突变在成肌细胞中引发严重的复合呼吸链缺陷——表现为几乎完全缺失复合物 I、IV 和 V 的组装,以及复合物 III 组装的轻微减少,导致线粒体蛋白质严重的组装缺陷,某些多肽的翻译过程出现了不成比例的减少,同时在其他多肽中明显存在氨基酸错误掺入现象。这表明该突变同时导致了功能缺失性和功能获得性两种生化表型^[6]。Chin 等(2014)发现 *MT-TL1* m.3243A>G 突变的变异表型广泛且复杂,35 例 *MT-TL1* m.3243A>G 突变患者中最常见的临床特征是听力损失(62.8%),其次是糖尿病(51.4%),近端肢体无力(31.4%)、头痛/偏头痛(28.6%)、身

材矮小(22.9%)、血乳酸升高(22.9%)、中风(20%)、癫痫发作(20%)以及恶心呕吐(17.1%)。MT-TL1 基因 m.3243A>G 突变的检出率相对较低,有研究表明血液样本中的异质性水平会随年龄增长而下降,检测到的 MT-TL1 m.3243A>G 异质性水平范围分别为:2%~36%(外周血)、25%~45%(骨骼肌)、11%~56%(毛囊)和 15%~84%(尿液沉淀物),建议优先检测尿液^[5,13]。羊水在孕中期后大部分来源于胎儿尿液,这也解释了本案例胎儿突变异质率远大于母体的原因。Chin 等回顾了 11 年间的线粒体基因筛查数据发现,大多数携带该突变的患者并不符合 MELAS 综合征(线粒体脑肌病伴乳酸血症和卒中样发作)的典型诊断标准。某些患者多为孤立性或单一症状表现,仅符合母系遗传/家族史伴一个以上典型标准(无卒中)的特征。值得注意的是,仅表现为耳聋或肌痉挛的单一症状患者,更能代表 MT-TL1 m.3243A>G 突变相关的表型谱系,这与本案例中孕母仅表现为糖尿病症状一致^[13]。以往研究多针对成年患者,偶有婴幼儿病例报道^[14,15],鲜有文献对该突变的产前表型进行研究,本案例进一步明确了这种突变对胎儿发育的影响,拓展了疾病表型谱,并为早期筛查提供了新的思路。

由于 MT-TL1 m.3243A>G 突变导致呼吸链酶缺陷,细胞外精氨酸水平减低,组织内皮功能障碍,在受累组织(以脑组织、心肌细胞及平滑肌组织为主)中呈现高表达水平,导致本案例胎儿在孕晚期出现颅内出血、心包积液及肠管扩张^[5,6,16]。同时 FGR 胎儿对宫内缺氧耐受差,与母体子痫前期全身小动脉痉挛亦有相关。本病例的研究结果进一步拓展了临床实践思路。MT-TL1 m.3243A>G 突变可考虑作为 FGR 的又一遗传相关变异,对 FGR 胎儿进行包含线粒体测序在内的全外显子组测序可以帮助临床医生对高风险孕妇进行更早期的产前筛查与诊断,从而降低出生缺陷^[2]。此外,该病例还涉及孕妇的高龄、肥胖、糖尿病及高血压等风险因素,这些发现为临床制定有效的预防和干预措施提供了依据^[1,7]。然而,现有研究仍存在一定空白,特别是针对胎儿期 MT-TL1 突变的早期筛查和干预方法的

探讨。尽管已有研究确定了 MT-TL1 基因突变的致病性及其与胎儿健康的潜在关联,但关于如何在临床实践中应用这些发现的研究依旧不足^[17]。因此,开展针对 MT-TL1 基因突变的系统研究,对于推动产前诊断和干预策略的制定具有重要意义。

未来,我们需增加研究病例数,通过如长片段 PCR 联合 NGS 检测等方法进行变异验证,同时延长随访时间,以进一步阐明 MT-TL1 基因突变对 FGR 胎儿的影响及其他可在产前发现的影像学异常^[10,18]。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会围产医学分会胎儿医学学组,中华医学会妇产科学分会产科学组. 胎儿生长受限专家共识(2019 版)[J]. 中华围产医学杂志, 2019, 6, 22(6):361-380.
- [2] PHAN DUY A, EI KHABBAZ F, RENOLLEAU C, et al. Intrauterine growth retardation and the developing brain[J]. Arch Pediatr, 2013, 20(9):1034-1038.
- [3] EDOARDO Malfatti, PASCAL Laforêt, CLAUDE Jarrel, et al. High risk of severe cardiac adverse events inpatients with mitochondrial m.3243A>G mutation [J]. American Academy of Neurology, 2013, 80(1):100-105.
- [4] LUIS RODRIGO CATALDO, PABLO OLMOS, SUSAN VALERIE SMALLEY, et al. Mitochondrial DNA heteroplasmy of the m.3243A>G mutation in maternally inherited diabetes and deafness[J]. Rev Med Chil, 2013, 141(3):305-312.
- [5] KRISTIN NVARHAUG, OMARHIKMAT, LAURENCE ABINDOFF. Mitochondrial disease caused by the m.3243A>G mutation[J]. Tidsskr Nor Laegeforen, 2022, 27, 142(10).
- [6] FLORIN SASARMAN, HANA ANTONICKA, ERIC A SHOUBRIDGE. The A3243G tRNA^{Leu} (UUR) MELAS mutation causes amino acid misincorporation and a combined respiratory chain assembly defect partially suppressed by overexpression of EFTu and EFG2[J]. Hum Mol Genet, 2008, 17(23):3697-3707.
- [7] RIZZO G, ARDUINI D. Intrauterine growth restriction: diagnosis and management. A review[J]. Minerva Ginecol, 2009, 61(5):411-420.
- [8] GIANNESE D, MONTANO V, LOPRIORE P, et al. A multisystem mitochondrial disease caused by a novel MT-TL1 mtDNA variant: a case report[J]. Neuromuscul Dis, 2023, 10

- (1):119-123.
- [9] BUCK LOUIS GM, GREWAL J, ALBERT PS, et al. Racial/ethnic standards for fetal growth: the NICHD Fetal Growth Studies [J]. *Am J ObstetGynecol*, 2015, 213(4): 449. e1-e449. e41.
- [10] GULCZYŃSKA E, PETERSON E, RADZIK T, et al. Biomarkers of intrauterine growth restriction[J]. *Wiad Lek*, 2019, 72(3):436-441.
- [11] AYRES C, AGRANONIK M, PORTELLA AK, et al. Intrauterine growth restriction and the fetal programming of the hedonic response to sweet taste in newborn infants[J]. *Int J Pediatr*, 2012, 2012:657379.
- [12] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. *Genet Med*, 2015, 17(5):405-424.
- [13] CHIN J, MAROTTA R, CHIOTIS M, et al. Detection rates and phenotypic spectrum of m. 3243A>G in the MT-TL1 gene: a molecular diagnostic laboratory perspective [J]. *Mitochondrion*, 2014, 17:34-41.
- [14] MORDAUNT DA, MCINTYRE LC, SALVEMINI H, et al. Presentation of m. 3243A>G (MT-TL1; tRNA^{Leu}) variant with focal neurology in infancy[J]. *Am J Med Genet*, 2015, 167A(11):2697-2701.
- [15] XIN CHU, JIE DAI, HENGXIANG CUI, et al. A patient with MELAS syndrome carried an M. 3243A>G mutation in mitochondrial DNA and multiple nuclear genetic variants: A case report[J]. *Iran J Public Health*, 2022, 51(12):2817-2825.
- [16] JULIANA GAMBA, LUANA T GAMBA, GABRIELA S RODRIGUESINT, et al. Nitric Oxide Synthesis Is Increased in Cybrid Cells with m. 3243A>G Mutation[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14:394-410.
- [17] CHIARATTI MR, MACABELLI CH, AUGUSTO NETO JD, et al. Maternal transmission of mitochondrial diseases [J]. *Genet Mol Biol*, 2020, 43:e20190095.
- [18] GURUGUBELLI KRISHNAR, VISHNU BHAT B. Molecular mechanisms of intrauterine growth restriction[J]. *Matern Fetal Neonatal Med*, 2018, 31(19):2634-2640.

(收稿日期:2025-05-23)

编辑:姚红霞