

文章编号 1006-8147(2022)03-0328-04

病例报告

重组人生长激素治疗 IHH 基因杂合突变 1 例

郑佳琪,姜丽红,牛乐乐,马晨,刘戈力

(天津医科大学总医院儿科,天津 300052)

关键词 印度刺猬基因;身材矮小;短指(趾)畸形 A1 型;IHH;rhGH

中图分类号 R725

文献标志码 B

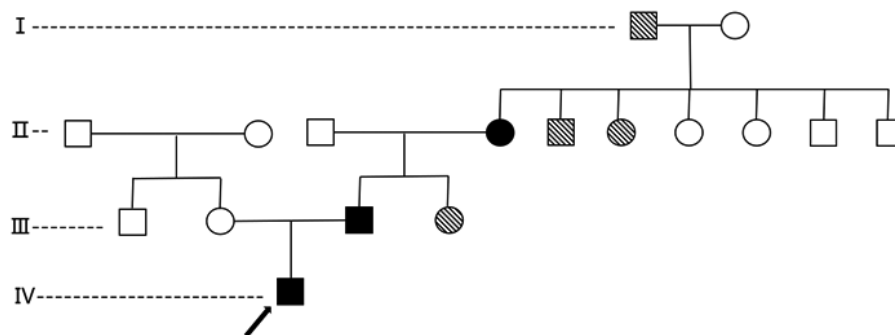
儿童纵向骨生长取决于生长板软骨形成的速率,这是一个受内分泌和旁分泌因素调节的复杂过程。任何影响生长板软骨形成的调控基因突变都可能导致身材矮小。随着高通量测序等分子生物学技术的高速发展,许多导致身材矮小的生长板调控基因不断被发现。印度刺猬(Indian hedgehog, IHH)基因编码了一个生长板重要的旁分泌调节因子——印度刺猬蛋白,该蛋白在调节软骨细胞分化、关节发育与骨形成等方面发挥重要作用^[1]。IHH 基因杂合突变可导致身材矮小伴 A1 型短指畸形(brachydactyly type A1, BDA1; OMIM 112500)^[2]。目前国内对该基因突变少有报道。本文回顾性分析 1 例以身材矮小就诊的 IHH 基因杂合突变患儿接受重组人生长激素(recombinant human growth hormone, rhGH)治疗的临床资料,并进行相关文献复习,为临床诊治此病提供理论依据。

1 临床资料

1.1 一般资料 患儿,男,2 岁 8 个月,主因“身材矮小”于 2021 年 4 月就诊于天津医科大学总医院儿科门诊。患儿系 G2P1,其母孕期行超声检查发现胎儿股骨、肱骨短小,35 周时股骨相当于 30 周+2 d,

肱骨相当于 28 周+2 d。患儿为足月顺产,出生时无产伤及窒息史,出生身长不详,出生体重 3.6 kg。母亲身高 155 cm,父亲身高 159.5 cm,患儿祖母身高<150 cm(图 1),父母非近亲婚配,否认家族遗传病史。体格检查:身高 87.2 cm(P₃),体重 12 kg(P₃₋₁₀),指距 81 cm,坐高 53.5 cm,坐高/下身长=1.58(P₅₀₋₉₇)。身材匀称,无特殊面容,皮肤无色素沉着,甲状腺无肿大,心肺腹查体无异常,睾丸容积约 2 mL,阴茎长度约 3 cm,手足小,手指短小,第 5 指中节指骨短(图 2)。辅助检查:血常规、电解质、肝肾功能、甲状腺功能未见异常。染色体 46,XY。胰岛素样生长因子 1(IGF-1)47.9 ng/mL(-1SD~M),胰岛素样生长因子结合蛋白 3(IGF-BP3)3.23 μg/mL(+1SD~+2SD)。25 羟维生素 D 36.22 nmol/L,提示维生素 D 缺乏。生长激素激发试验:峰值 10.8 μg/mL,不支持生长激素缺乏。影像学检查:左手正位片:骨龄 2.3 岁(骨龄比年龄落后 0.4 岁),远节指骨短粗,第五指中节指骨短且形态不规则,见图 3。腰骶椎正侧位:未见异常。垂体磁共振:垂体体积小,高度约 1.8 mm,信号未见异常,垂体柄居中,无增粗。

1.2 遗传学检查及生物信息学分析 患儿为家族



注:箭头所指为先证者,正方形代表男性,圆形代表女性,斜线代表身材矮小(男性成年身高<160 cm,女性成年身高<150 cm),实心黑色代表身材矮小伴手足小、短指

图 1 家系图

作者简介 郑佳琪(1996-),女,硕士在读,研究方向:小儿内分泌及遗传代谢;通信作者:姜丽红,E-mail:jianglihong73@126.com。



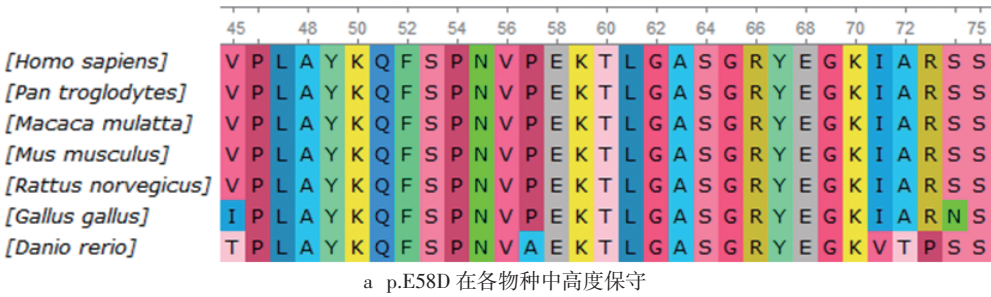
注:图 a、b 为患儿手足照片;图 c、d 为患儿父亲手足照片(手足小,手指、脚趾短粗)

图 2 患儿及患儿父亲手足照

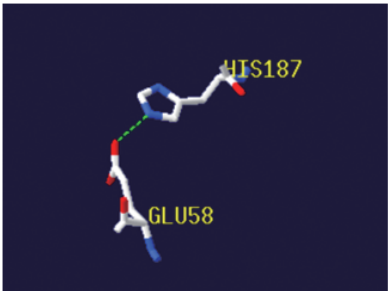
性矮小(父亲身高<160 cm),且患儿与其父亲均有手足小、指趾短粗等表现,进一步完善遗传学检查:经医学伦理审核及患儿家属知情同意,完善全外显子组检测及 Sanger 测序验证。结果提示 IHH 基因有 1 个杂合突变:c.174G>C(编码区第 174 号核苷酸由鸟嘌呤变异为胞嘧啶),导致氨基酸改变 p.E58D(第 58 号氨基酸由谷氨酸变异为天冬氨酸),为错义突变。该位点位于 Hedgehog 氨基末端信号域,在各物种中高度保守(图 4a)。c.174G>C/p.E58D

表 1 生物信息学功能预测

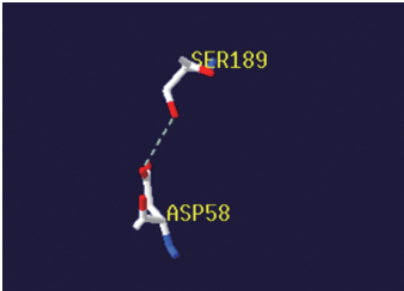
位点	REVEL	SIFT	PolyPhen_2	MutationTaster	氨基酸极性变化	ACMG 等级	ACMG 证据
IHH c.174G>C(p.E58D)	有害(0.908)	有害(0.000)	有害(0.989)	有害(1)	极性-极性	临床意义未明	PM2+PM5+PP3



a p.E58D 在各物种中高度保守



b 突变体

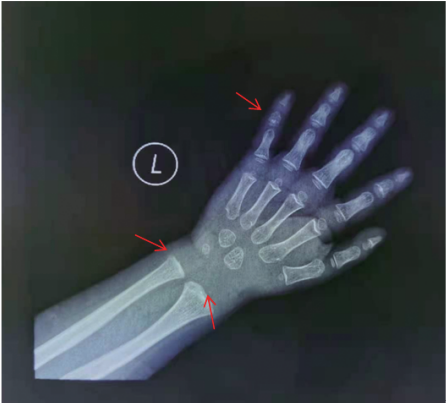


c 野生型

注:a:该突变位点在各物种中高度保守;b、c:IHH 突变体和野生型的三维蛋白结构预测,与野生型蛋白相比,突变蛋白中氢键位置发生改变,可能导致 IHH 蛋白空间构象

图 4 突变位点保守性分析及三维结构建模预测

的功能预测如下(表 1):在生物信息学蛋白功能综合性预测软件 REVEL 预测结果为有害,SIFT、PolyPhen_2、MutationTaster、GERP+ 预测结果分别为有害、有害、有害、有害。使用 SWISS MODEL 软件预测 IHH 野生型和突变体的 3D 结构(图 4b、4c)。结果表明:与野生型蛋白相比,突变蛋白中氢键位置发生改变,氢键位置由 glu58-his187,变为 asp58-ser189,可能导致 IHH 蛋白空间构象改变。



注:骨龄 2.3 岁(骨龄比年龄落后 0.4 岁),远节指骨短,第五指中节指骨短且形态不规则,尺、桡骨先期钙化带模糊、不规则,部分骨骺呈子弹头样改变

图 3 患儿左手正位片

1.3 治疗及随访 结合患儿临床特点及基因检测结果,明确诊断为 IHH 基因杂合突变致身材矮小。家属强烈要求改善患儿身高,查阅相关文献,IHH 基因杂合突变无 rhGH 治疗禁忌证,即予患儿 rhGH 0.13 IU/(kg·d)皮下注射,维生素 D 800 IU/d,并定

期随诊。现已治疗 3 个月,3 岁 2 个月身高 91.8 cm,身高增长了 3 cm,治疗期间监测血常规、肝肾功能、电解质、甲状腺功能、空腹血糖胰岛素均正常,25 羟维生素 D 较前上升,IGF-1 较前升高,未出现脊柱侧弯,见表 2。

表 2 患儿接受 rhGH 治疗随诊表

年龄	身高 (cm)	HiSDS	BA(y)(BA 与 CA 差值)	脊柱 侧弯	血常 规	肝肾 功能	电解 质	IGF-1 (ng/mL)	IGF-BP3 (μg/mL)	FT ₃ (pmol/L)	FT ₄ (pmol/L)	TSH (μIU/mL)	GLU (mmol/L)	INS (mU/L)	25(OH)D (nmol/L)
2y8m	87.2	-2.53	2.3(-0.4)	N	N	N	N	47.9(-0.50SD)	3.23(+1.27SD)	6.29	13.04	1.978	3.63	1.0	36.22
3y2m	91.8	-1.32	-	N	N	-	-	131(+1.44SD)	3.97(+1.87SD)	6.45	12.15	1.647	5.22	3.8	52.19

注:y:岁;m:月;N:正常;-:未测;HiSDS:身高标准差得分;BA:骨龄;CA:年龄;FT₃:游离三碘甲腺原氨酸;FT₄:游离甲状腺素;TSH:促甲状腺激素;GLU:血糖;INS:胰岛素;25(OH)D:25 羟维生素 D;rhGH:重组人生长激素

2 讨论

IHH 基因位于 2 号染色体 q35-q36,编码 IHH 蛋白,在软骨板、指(趾)尖和生长板中肥大前期的软骨细胞中特异性表达。该蛋白功能涉及软骨细胞分化、关节发育与骨的形成,可在发育过程中调节骨骼的生长和骨化之间的平衡,同时可诱导甲状旁腺激素相关蛋白(parathyroid hormone-related protein, PTHrP)的表达^[1]。IHH 和 PTHrP 旁分泌系统在生长板功能的调节中有重要作用,这两种旁分泌因子在生长板内形成负反馈环:IHH 增强软骨细胞的增殖和成熟,PTHrP 防止软骨细胞过早的肥大分化,IHH 和 PTHrP 之间的负反馈回路使软骨细胞保持增殖状态,保持软骨细胞柱的长度^[3],IHH 基因突变会导致生长板的过早关闭,进而导致身材矮小。此外,IHH 基因突变导致 IHH 与受体 Ptc1 和拮抗蛋白 Hip1 的结合减弱,下游转录因子 Gli1 激活减弱,从而下调刺猬蛋白信号通路^[4],导致指(趾)骨远端祖细胞的募集减少,指(趾)骨的生长受损致使指(趾)骨缩短。

除了 IHH 蛋白,刺猬蛋白家族还包括另外两个序列高度保守的 HH 同源物:Sonic HH(SHH)和 Desert HH(DHH),它们分别对神经系统和睾丸发育至关重要^[5]。IHH 基因纯合突变导致股骨头发育不良(acrocapitofemoral dysplasia,ACFD;OMIM 607778),这种疾病的特征是手部和髋部有锥形骨骺,并伴有严重不成比例的矮小^[6]。IHH 基因杂合突变可导致 BDA1^[2],典型表现是身材矮小,中节指(趾)骨明显缩短,通常表现为中节指(趾)骨发育不全或与末端指(趾)骨融合,大拇指近侧指(趾)骨缩短,部分患儿掌骨缩短。IHH 基因杂合变异具有很大的临床异质性。Lucia 等^[7]报道 16 例 IHH 杂合突变患儿中,均无 BDA1 典型表现,其中 2 例患儿仅有身材矮

小,9 例患儿身材矮小伴各种手指畸形(中节指骨缩短、远段指骨缩短、掌骨缩短、单独的指弯曲和锥形骨骺等),5 例患儿身材正常伴有指骨短缩。此外,第五指中节指骨短是常见的手部骨骼畸形,可单独存在。研究表明,IHH 突变人群中手部 X 线观察到第五指中节指骨短发生率为 64.3%,而在普通人群中的发生率为 12.1%^[8-9]。第五指是手部最后骨化的部位,第五指的骨骺发育不良可能与软骨形成障碍的易感性有关。本例患儿的表型要轻的多,仅表现为身材矮小伴有轻微的指骨短。

迄今报道的 IHH 基因突变主要包括错义突变、移码突变等。文献表明,位于氨基末端结构域的所有突变都会影响该分子的结构,从而影响其生物学功能^[10]。到目前为止,p.Glu95Lys(E58K)、p.Glu131Lys(E131K)和 p.Asn100Glu(D100E)已被功能验证,这 3 种变异均位于氨基末端区域,影响了 Hh 与 Ptc 的结合,降低其诱导细胞分化的能力^[9]。本例患儿基因提示结果显示 c.174G>C(p.E58D),编码区第 174 号核苷酸由鸟嘌呤变异为胞嘧啶,导致第 58 号氨基酸由谷氨酸变异为天冬氨酸,为错义突变。该突变位点位于氨基末端信号域,与前文相符,表明高度保守的谷氨酸对于 IHH 信号通路的重要性。本例患儿突变位点为新发位点,结合临床特点及遗传学分析可判定为致病,丰富了该疾病的基因谱,蛋白功能研究对于验证临床意义未明的突变位点很重要,未来还需在此方向努力。

针对患儿身材矮小,应用 rhGH 治疗是改善身高的重要方法。目前 IHH 基因突变患儿应用 rhGH 改善身高鲜有报道。除了本研究中描述的患儿外,国内外文献中还报告了另外 6 例患儿应用 rhGH 改善身高(表 3)^[8,11]。本例患儿治疗开始年龄为 2 岁 10 个月,为目前世界上报道应用 rhGH 治疗最小年龄患

儿。7 例患儿应用 rhGH 治疗短期身高 SDS 均有所改善。本例患儿在 rhGH 治疗期间,IGF-1 水平保持在正常范围的上限,表明对 rhGH 具有良好的敏感性。目前,越来越多的研究表明应用 rhGH 治疗可以提高生长速度,改善矮小患儿身高。应用 rhGH 治疗使 IGF-1 维持在较高水平,可对生长板软骨细胞的增殖和肥大有刺激作用,在许多情况下非特异性地加速线性生长,从而部分弥补影响生长板 IHH 信号通路的缺陷。但本例患儿应用 rhGH 治疗时间较短,是否对终身高有改善还需长期随访。

总之,本研究报道 1 例以身材矮小就诊于儿科内分泌门诊的患儿,患儿为家族性矮小同时伴有手足小,指趾短粗,左手正位 X 线提示第五指中节指骨短等表现。遗传学检查提示 IHH 基因杂合突变。IHH 杂合突变可导致具有典型表现 BDA1,还可能导致身材矮小,伴或不伴有轻微的骨骼异常,因此建议临床医师接诊家族性矮小患者时,应结合临床和影像学提示,即使症状不典型,也应及时行基因检测以进一步明确病因。此外,rhGH 可作为改善 IHH 基因杂合突变患儿身高的治疗方法,但仍需大

表 3 7 例应用 rhGH 治疗的 IHH 杂合突变患儿的基本资料

文献来源	编号	性别	突变位点	开始使用 rhGH 时 年龄(岁)	rhGH 治疗前的 身高 SDS	rhGH 治疗持续 时间(岁)	目前身高 SDS	Δ HtSDS
Gabrirla 等 ^[8]	1	M	p.Glu58Lys	6.6	-3.0	1	-2.6	0.4
	2	M	p.Glu58Lys	10	-1.5	1	-1.0	0.5
	3	F	p.Arg149His	8	-2.6	3	-1.8	0.8
	4	M	p.Val178Leu	7.1	-2.8	4.7	-0.4	2.4
	5	F	p.Gly380Val	10.4	-2.6	4	-1.5	1.1
胡旭昀等 ^[11]	6	F	p.Glu95del	5.3	-2.4	2.5	-1.4	1.0
本例	7	M	p.Glu58Asp	2.8	-2.5	0.3	-1.3	1.2

注:M:男;F:女;rhGH:重组人生长激素;SDS:身高标准差得分; Δ HtSDS:最终评估时的身高标准差-治疗开始时的身高标准差

样本长时间观察其有效性和安全性。

参考文献:

- [1] MININA E, WENZEL H M, KRESCHER C, et al. BMP and Ihh/PTHrP signaling interact to coordinate chondrocyte proliferation and differentiation[J]. Development, 2001, 128(22):4523-4534.
- [2] GAO B, GUO J, SHE C, et al. Mutations in IHH, encoding Indian hedgehog, cause brachydactyly type A-1[J]. Nat Genet, 2001, 28(4):386-388.
- [3] BARON J, SAVENDAHL L, DE LUCA F, et al. Short and tall stature: a new paradigm emerges[J]. Nat Rev Endocrinol, 2015, 11(12):735-746.
- [4] SASAI N, TORYAMA M, KONDO T. Hedgehog signal and genetic disorders[J]. Front Genet, 2019, 10:1103.
- [5] XIA T, ZHANG H, ZHANG L, et al. Comparative and evolutionary analysis of the reptilian hedgehog gene family (Shh, Dhh, and Ihh) [J]. Peer J, 2019, 7:e7613.
- [6] HELLEMANS J, COUCKE P J, GIEDION A, et al. Homozygous mutations in IHH cause acrocapitofemoral dysplasia, an autosomal recessive disorder with cone-shaped epiphyses in hands and hips[J]. Am J Hum Genet, 2003, 72(4):1040-1046.
- [7] SENTCHORDI-MONTANE L, BENITO-SANZ S, AZA-CARMONA M, et al. Clinical and molecular description of 16 families with heterozygous IHH variants[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(8):dgaa218.
- [8] VASQUES G A, FUNARI M F A, FERREIRA F M, et al. IHH gene mutations causing short stature with nonspecific skeletal abnormalities and response to growth hormone therapy[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2018, 103(2):604-614.
- [9] WILLIAMS K D, NAHHAS R W, COTTOM C R, et al. Evaluation of qualitative methods for phenotyping brachymesophalangia-V from radiographs of children[J]. Am J Hum Biol, 2012, 24(1):68-73.
- [10] BYRNES A M, RACACHO L, GRIMSEY A, et al. Brachydactyly A-1 mutations restricted to the central region of the N-terminal active fragment of Indian Hedgehog[J]. Eur J Hum Genet, 2009, 17(9):1112-1120.
- [11] 胡旭昀, 吴迪, 李孟婷, 等. 身材矮小合并短指(趾)畸形 3 例家系的基因突变与表型分析并文献复习[J]. 首都医科大学学报, 2018, 39(6):937-944.

(2021-11-29 收稿)