

## 常染色体显性遗传骨硬化症 II 型的 2 例家系报道及文献复习

张迪, 聂辰宇, 刘继东, 侯新国, 陈丽

(山东大学齐鲁医院内分泌科, 山东 济南 250012)

**摘要:** **目的** 分析两例常染色体显性骨硬化症 (autosomal dominant osteopetrosis, ADO) 患者的临床特点, 对先证者及其家系的致病基因突变进行研究。 **方法** 收集两例骨硬化症患者的临床特征及实验室检查资料进行总结分析, 并复习相关文献对该病的诊治思路进行归纳总结。 **结果** 基因检测显示先证者 1 的氯离子通道蛋白 7 (chloride channel protein 7, CLCN7) 基因第 24 外显子新的错义突变, 即 p.Gly765Cys, 先证者 2 的 CLCN7 的第 10 外显子发现了一个已知的错义突变, 即 p.Arg286Trp, 两位先证者均有骨量异常增高表现, 椎体呈“夹心饼”样改变, 且两者均表现为血钙、磷和碱性磷酸酶水平正常, 而乳酸脱氢酶和肌酸激酶水平升高。 **结论** ADO 患者主要表现为骨密度异常增高、骨脆性增加及容易骨折等, 目前该疾病多采取对症治疗, 严重时可导致贫血、血小板减少伴出血、频发感染、肝脾肿大等, 通过文献复习进一步总结 ADO 的临床表现和诊疗特点。

**关键词:** 常染色体显性遗传骨硬化症; 氯离子通道蛋白 7; 错义突变; 骨折; 骨密度

中图分类号: R681

文献标志码: A

## Two family reports and literature review of autosomal dominant osteopetrosis type II

ZHANG Di, NIE Chenyu, LIU Jidong, HOU Xinguo, CHEN Li

(Department of Endocrinology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the clinical features of two patients with autosomal dominant osteopetrosis (ADO), and to explore the mutations in the causative genes in the probands and their family lines. **Methods** The clinical characteristics and laboratory examination data of the two ADO cases were collected and analyzed, and relevant literature was reviewed to summarize the diagnosis and treatment of the disease. **Results** Genetic testing revealed a new missense mutation in exon 24 of the chloride channel protein 7 (CLCN7) gene, p.Gly765Cys, in proband 1, and a known missense mutation, p.Arg286Trp, in exon 10 of the CLCN7 gene in proband 2. Both probands manifested abnormally high bone mass and "sandwich" vertebral body changes, but both had normal blood calcium, phosphorus and alkaline phosphatase levels and elevated lactate dehydrogenase and creatine kinase levels. **Conclusion** Patients with ADO mainly exhibit abnormally high bone density, increased bone fragility and susceptibility to fracture. Currently, the disease is mostly treated symptomatically. In severe cases, anemia, thrombocytopenia with hemorrhage, frequent infections, and liver and spleen enlargement may occur. Further literature review will better summarize the clinical presentation, diagnosis and therapeutic features of ADO.

**Key words:** Autosomal dominant osteopetrosis; Chloride channel protein 7; Missense mutation; Fracture; Bone mineral density

骨硬化症(又称石骨症)是一种由破骨细胞分化或功能缺陷引起的罕见遗传性疾病,其主要特点是骨吸收障碍引起的骨密度显著增加<sup>[1]</sup>。结合遗

传方式和临床表现<sup>[2]</sup>,该病可分为常染色体隐性遗传骨硬化症 (autosomal recessive osteopetrosis, ARO)、中间型骨硬化症 (intermediate osteopetrosis,

IOP)、常染色体显性遗传骨硬化症 (autosomal dominant osteopetrosis, ADO)、X 染色连锁骨硬化症。其中 ADO 病情相对较轻,患病率为 1/20 000<sup>[3]</sup>, ADO 又可分为 I ~ III 三种类型。ADO II 也称为 Albers-Schönberg 病,被认为是最具异质性和最常见的骨硬化症形式<sup>[4]</sup>, ADO II 中的骨硬化症是由负责破骨细胞分化和/或功能的基因突变引起的,最常见的是氯离子通道蛋白 7 (chloride channel protein 7, CLCN7) 基因, CLCN7 基因突变影响破骨细胞介导的细胞外酸化功能,导致骨无机基质溶解紊乱和一系列的临床特征<sup>[5]</sup>;临床表现包括非创伤性骨折 (尤其是长骨骨折)、颅神经麻痹、髌关节骨关节炎和下颌骨骨髓炎等。本文报道了两例 CLCN7 基因错义突变患者,其中有一个位点突变为首次报道的新突变。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

先证者 1,女,33 岁,2022 年 1 月因“手抖、心悸、乏力 2 个月余”就诊于山东某医院, X 线检查显示:左侧肱骨及所示肋骨,左侧胫腓骨、所示股骨下段、髌骨、颅骨及所示颈椎多发骨质改变,符合石骨症表现。促甲状腺激素 0.005 UIu/mL (参考范围:0.56~5.91 UIu/mL),游离三碘甲状腺原氨酸 7.40 pg/mL

(参考范围:23~48 pg/mL),游离甲状腺素 22.63 pg/mL (参考范围:6.2~12.4 pg/mL),抗甲状腺过氧化物酶抗体 0.50 IU/mL (参考范围:0.01~9 IU/mL),促甲状腺激素受体抗体 2.93 IU/L ( $\leq 1.7$  IU/L),血沉 11 mm/h。甲状腺超声:甲状腺弥漫性病变。当地医院诊断为“骨硬化症,甲状腺功能亢进症”。因心悸症状反复在 2023 年 8 月就诊于本院,查体:身高 153 cm,体质量 48 kg,体质量指数 20.50 神志清,精神可,体型正常,视力、听力无异常,牙列不齐,甲状腺 I° 肿大,心肺腹查体均未见异常,脊柱无侧弯及偏移,无压痛及椎旁叩击痛;四肢关节活动可,无受限。既往无骨折史,生长发育史无特殊。父母否认近亲结婚,妹妹生长发育过程中曾出现手腕及脚踝部骨折,于当地医院诊断为“骨硬化症”。

先证者 2,男,11 岁,2020 年因“双侧髌关节疼痛”就诊于当地医院, X 线检查示:多发夹椎、双侧髂骨翼年轮样改变、扫描范围内肋骨、股骨密度增高硬化,骨小梁变粗、模糊,皮质增厚,骨髓腔狭窄,初步诊断为“多骨改变,石骨症不排除”。2023 年因“摔伤后拍片见骨髓腔变窄”就诊于我院,查体:身高 155 cm,体质量 45 kg,体质量指数 18.73。神志清,精神可,体型正常,视力听力均无异常,脊柱无侧弯及偏移,无压痛及椎旁叩击痛;四肢关节活动可,无受限。生长发育中曾出现多次双侧髌关节疼痛,无骨折病史,余无特殊。父母否认近亲结婚(图 1)。

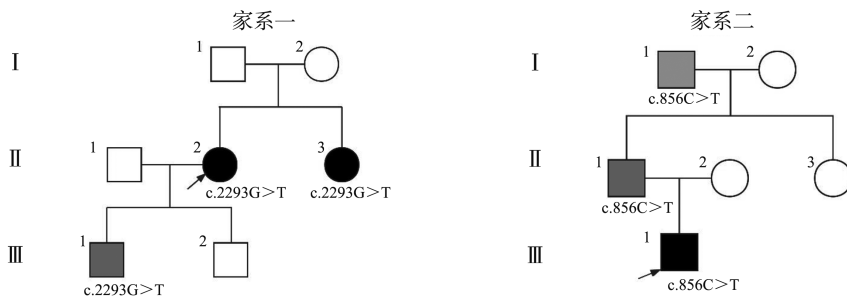


图 1 家系谱

→表示先证者。圆圈代表女性,正方形代表男性,全黑图形代表患者,灰色图形代表表型正常的携带者,其中家系一中 I-1 和 I-2 未作基因检测。

Figure 1 Genealogy

→ denoted the proband. Circles represented females, squares males. The all-black graphs indicated patients and the grey graphs phenotypically normal carriers, of which I-1 and I-2 in lineage 1 were not genetically tested.

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实验室检查

患者于山东大学齐鲁医院采集空腹外周血标本,采用全自动生化分析仪器检测红细胞 (red blood cells, RBC)、血红蛋白 (hemoglobin, HGB)、血小板 (platelet, PLT)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AKP)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate, AST)、乳酸

脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、肌酸激酶 (creatinine kinase, CK)、肌酸激酶同工酶 (creatinine kinase-mb, CK-MB)、血钙 (blood calcium, Ca)、血磷 (serum phosphorus, P)、25 羟基维生素 D (25-hydroxy vitamin D, 25-OH-vitD)、甲状旁腺激素 (parathyroid hormone, PTH)、N-端骨钙素 (n-mid osteocalcin, N-MIDOs)、β-胶原降解产物 (β-crosslaps,

$\beta$ -CROSS)和总I型胶原氨基端延长肽(total n-terminal propeptide of type I procollagen, T-PINP)水平。

### 1.2.2 影像学及其他辅助检查

患者影像学检查在山东大学齐鲁医院放射科完成,分别获取颅骨、胸椎和腰椎、股骨远端和胫骨近端以及骨盆的X线片以检测骨异常。在山东大学齐鲁医院内分泌科使用双能X线骨密度仪测量腰椎(L1~4)和左侧股骨近端(包括股骨颈和全髌部)的骨密度(bone mineral density, BMD)。心脏超声、心电图均采用当地的资料。

### 1.2.3 全外显子组检测及家系验证

分别征得先证者1和先证者2父母知情同意后,采集先证者1和先证者2外周静脉血约4~6 mL, EDTA抗凝,抽取后立即放置标本至-80℃冰箱保存,随后送到济南爱新卓尔医学检验有限公司进行全外显子组测序。经过全外显子组基因检测筛选出的基因突变位点进行测序,对相关家系成员进行相关基因突变位点的Sanger验证。变异位点根据美国医学遗传学与基因组学学会(american college of medical genetics and genomics, ACMG)分级指南进行分级。

### 1.2.4 生物信息学分析

通过检索人类基因突变数据库(Human Gene Mutation Database, HGMD)、ClinVar数据库,判断发现的基因突变类型是否为已报道的致病病变。采用生物信息蛋白综合预测软件(Rare Exome Variant Ensemble Learner, REVEL),以及在线数据库(sorting intolerant from tolerant, SIFT)、PolyPhen\_2、Mu-

tationTaster、GERP+对突变位点进行预测。采用ClustalW软件对不同物种的基因突变位点进行多序列比对分析,以确定在各物种之间的保守性。利用Swiss-model及Pymol软件对CLCN7野生型和突变型蛋白质结构模型预测和分析。

## 2 结果

### 2.1 实验室及影像学检查结果

为直观的了解表型与基因型之间的关系,先证者1和2及相关家庭成员生化指标的数据见表1。

先证者1:X线检查显示,左侧肱骨及所示肋骨、左侧胫腓骨、所示股骨下段、髌骨、颅骨及所示颈椎多发骨质改变,符合骨硬化症表现,见图2。心电图、心脏超声、腹部超声等未见明显异常,腰椎-左股骨颈-转子骨密度Z值分别为12.4、15.6和12.0(表2)。先证者1的妹妹:X线检查显示,颅骨、骨盆、双侧股骨及双侧前臂广泛骨质硬化、密度增高,双侧股骨干对称性局部增粗,骨髓腔消失;椎体上下缘增厚、致密,中间稀疏透亮,典型的“三明治状”的外观,以及髌骨翅膀上典型的“骨中骨”的外观(图3),腰椎-左股骨颈-转子骨密度Z值分别为14.8、18.5和19.8(表2)。

先证者2:X线检查显示,双髌、腰椎多发骨质密度不均匀增高(图4)。心电图、心脏超声、腹部超声等未见明显异常。腰椎-左股骨颈骨密度Z值分别为12.1、5.5(表1)。先证者2的父亲:X线及骨密度检查结果均无异常(表2)。

表1 先证者及其部分家系成员的血生化指标

Table 1 Serum biochemical marker levels in the probands and some of their family members

指标	先证者1	其妹妹	先证者2	其父亲	参考范围
RBC/( $\times 10^9/L$ )	4.17	3.63	10.89	8.19	3.50~9.50
HGB/(g/L)	122	115	123	166	115~150
PLT/( $\times 10^9/L$ )	281	254	326	364	125~350
AST/(U/L)	49	54	59	22	13-35
AKP/(U/L)	81(35~100)	56(47~119)	312(146~500)	69(45~125)	
CK/(U/L)	199	231.1	325	138	26~140
CK-MB/(ng/mL)	0.90	1.43	1.10	1.40	0~3.61
LDH/(U/L)	399	399	520	181	120~230
Ca/(mmol/L)	2.26	—	2.41	2.49	—
P/(mmol/L)	1.86	—	1.76	0.91	—
PTH/(pg/mL)	58.23	63.60	68.53	52.08	15.00~65.00
25-OH-vitD/(ng/mL)	18.18	9.86	15.36	26.40	$\geq 30$
N-MiDOs/(ng/mL)	32.68	20.77	71.54	14.44	—
$\beta$ -CROSS/(ng/mL)	0.55	0.41	1.74	0.31	—
T-PINP/(ng/mL)	271.10	612.10	689.60	35.71	—

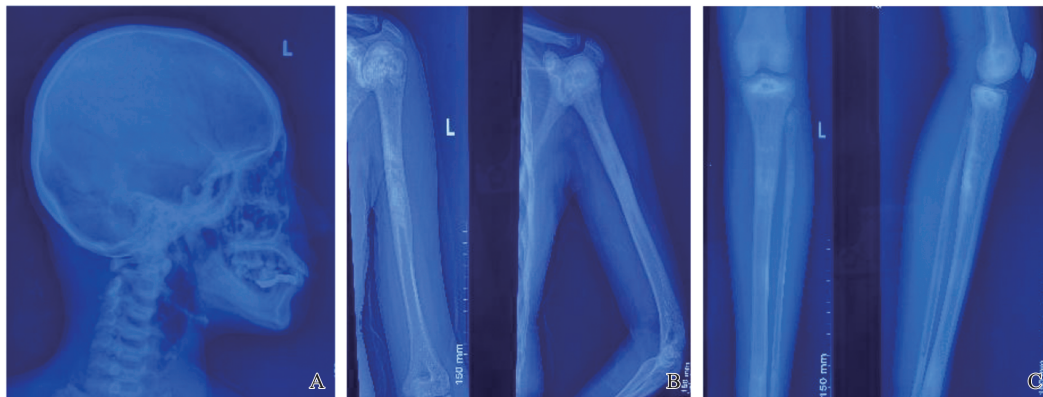


图 2 先证者 1 的影像学表现

A: 颅骨骨质密度增高; B: 左侧肱骨骨质密度增高; C: 左侧胫腓骨及股骨下段、髌骨多发骨质改变。

Figure 2 Imaging of proband 1

A: Increased cranial bone mineral density; B: Increased bone mineral density in the left humerus bone; C: Multiple bony changes in the left tibiofibular, lower femur and patella.

表 2 先证者及其部分家系成员的骨密度

Table 2 Bone mineral density in the probands and some of their family members

部位	骨密度/(g/cm <sup>2</sup> )/Z 值评分			
	先证者 1	其妹妹	先证者 2	其父亲
腰椎(L1~4)	2.409/12.4	2.662/14.8	1.684/12.1	0.942/-1.5
左侧股骨颈	2.568/15.6	2.898/18.5	1.250/5.5	0.772/-0.9
左侧股骨 wards 三角	3.303/22.0	3.620/24.7	1.351/-	0.672/-0.4
转子	1.914/12.0	2.703/19.8	1.198/-	0.614/-1.1
全部	2.064/9.2	2.622/13.8	1.503/7.8	0.901/-0.8



图 3 先证者 1 妹妹的影像学表现

A~C: 颅骨、椎体骨质密度增高; D~G: 骨盆、前臂及股骨广泛骨质硬化、密度增高。

Figure 3 Imaging of the sister of proband 1

A-C: Increased bone density in the skull and vertebrae; D-G: Extensive sclerosis and increased density in the pelvis, forearms and femur.



图4 先证者2的影像学表现

A: 双髋广泛骨质硬化、密度增高; B~D: 椎骨骨质密度不均匀增高, 呈“夹心骨”征。

Figure 4 Imaging of proband 2

A: Extensive osteosclerosis and increased density in both hips; B-D: Unevenly increased bone mineral density in the vertebrae with a "sandwich bone" sign.

## 2.2 基因检测结果

先证者1在CLCN7基因的外显子24中检测出错义突变c.2293G>T(p.Gly765Cys)(图5),该突变导致位于765号的甘氨酸变为半胱氨酸。家系中另一个ADO II患者,其妹妹也携带此Gly765Cys突变。其大儿子为Gly765Cys杂合突变的携带者,但临床表型正常。小儿子未携带此突变。先证者父母未行基因检测。HGMD、ClinVar数据库无该位点的相关报道,多种预测方法(REVEL、SIFT、PolyPhen\_2、MutationTaster、GERP+)均提示该变异有害。根据ACMG指南,p.Gly765Cys为疑似致病性变异(表3)。该突变位点甘氨酸在不同物种中高度保守。

先证者2在CLCN7基因的外显子10中发现了

一个已知的错义突变c.856C>T(p.Arg286Trp)(图6),该突变导致位于286号的精氨酸变为色氨酸,该变异位点是ADO II患者中最常见的突变位点<sup>[6-9]</sup>。其中父亲和爷爷均携带c.856C>T的杂合突变,但表型正常。母亲、奶奶和姑姑均未发现此突变。REVEL、SIFT、PolyPhen\_2、MutationTaster、GERP+等多种预测方法均提示该变异有害。根据ACMG指南,p.Arg286Trp为致病性变异(表3)。该突变位点精氨酸在不同物种中保持高度保守(图7A),进一步对CLCN7蛋白模型进行三维构建,发现此位点突变可导致CLCN7蛋白的空间构象发生改变(图7B、C),因此可能会影响蛋白的结构及功能。

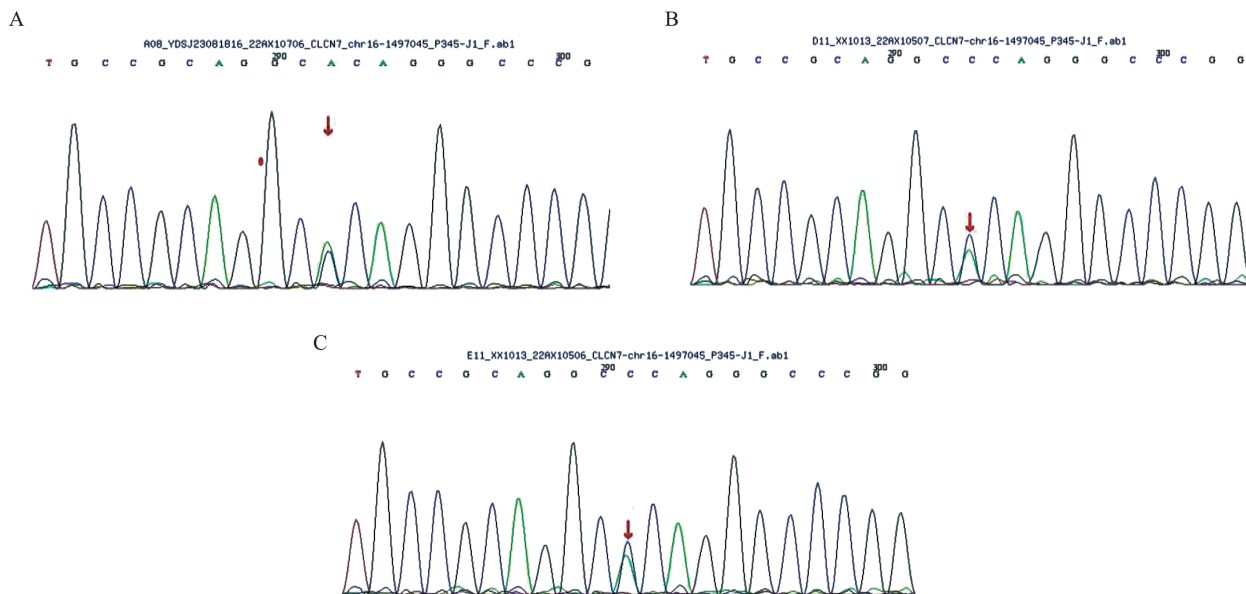


图5 家系一的CLCN7基因c.2293G>T(p.Gly765Cys)杂合变异测序图

A: 先证者1; B: 先证者1的妹妹; C: 先证者1的大儿子。

Figure 5 Sequencing of heterozygous variants of the CLCN7 gene c.2293G > T (p.Gly765Cys) in lineage I

A: Proband 1; B: Proband 1's sister; C: Proband 1's oldest son.

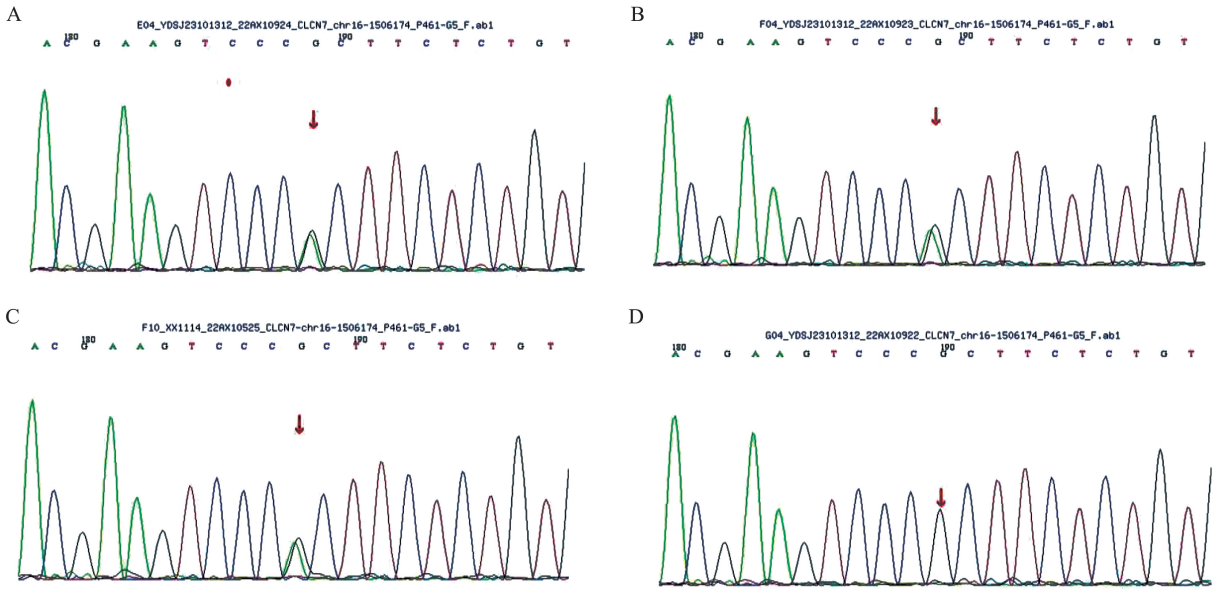


图 6 家系二 CLCN7 基因测序图

A~C: 先证者 2 及其父亲、爷爷的 CLCN7 基因 c.856C>T (p.Arg286Trp) 杂合变异 (检出); D: 先证者 2 的母亲 CLCN7 基因未检测出该位点变异。

Figure 6 Sequencing map of the CLCN7 gene in lineage II

A-C: Heterozygous variants (detected) in c.856C>T (p.Arg286Trp) in the CLCN7 gene of proband 2 and his father and grandfather; D: No variants in the CLCN7 gene of proband 2's mother were detected at this locus.

表 3 生物信息学软件功能预测

Table 3 Bioinformatics software functionality predictions

患者	突变位点	REVEL	SIFT	Poly Phen_2	Mutation Taster	GERP+	ACMG 等级	ACMG 证据
先证者 1	c.2293G>T (p.Gly765Cys)	有害	有害	有害	有害	有害	可能致病的	PM2+PM1+PM5+PP3
先证者 2	c.856C>T (p.Arg286Trp)	有害	有害	有害	有害	有害	致病的	PS4+PM2+PM5+PP3

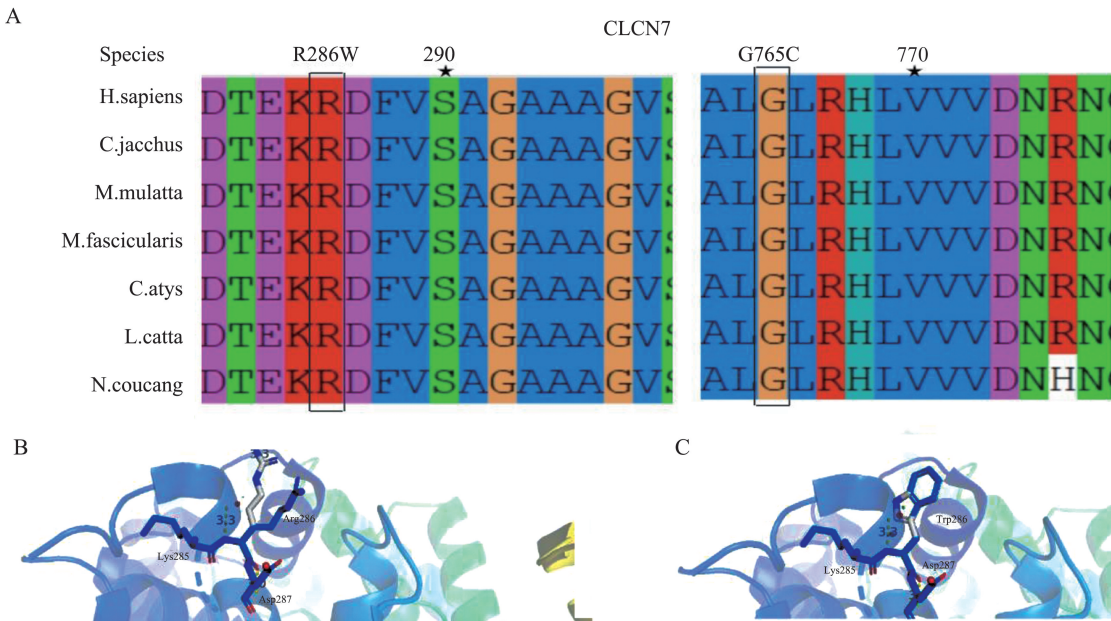


图 7 不同物种 CLCN7 蛋白氨基酸序列保守性分析及三维结构建模预测

A: CLCN7 基因 p.R286W 和 G756C 位点保守性分析; B: 野生型 CLCN7 蛋白的三维结构; C: R286W 蛋白的三维结构。

Figure 7 Conservation analysis of amino acid sequence and prediction of CLCN7 protein in different species and three-dimensional structure modelling

A: Conservation analysis of the p.R286W and G756C loci of the CLCN7 gene; B: Three-dimensional structure of the wild-type CLCN7 protein; C: Three-dimensional structure of the R286W protein.

### 3 讨论

骨硬化症是一种非常罕见的遗传性骨病,迄今为止,已发现10余种基因参与了骨硬化症的发病机制,常见的基因包括TCIRG、CLCN7、SNX10、OSTM1、PLEKHM1、CAII、FERMT、RANKL、RANK、SLC29A3,其他还包括TRAF6、LRRK1、MITF、CSF1R等新发现与骨硬化症相关的基因,其中TCERG1基因突变主要导致ARO,而CLCN7基因突变主要导致ADO II<sup>[10-11]</sup>。

ADO又称良性成人型石骨症,通常出现在儿童后期和成年期,症状通常比较轻。ADO I型通常无症状,骨折风险较小,主要表现为轻度弥漫性骨硬化、颅骨钙化、下颌骨增大、上颌骨突出等临床特点,主要由LRP5基因突变引起<sup>[12]</sup>;ADO II型是发病率最高的遗传类型,是一种临床异质性很大的疾病<sup>[13]</sup>,从无症状到严重衰弱的临床表现。最典型的临床表现是骨折(多为四肢长骨骨折),其次是骨痛、脊柱侧弯、骨关节炎、骨髓炎(尤其是下颌骨)等骨骼系统症状<sup>[1,7]</sup>。典型的影像学表现是“三明治椎骨”和髂骨翼及脊柱的“骨中骨”,主要由CLCN7基因突变引起<sup>[3,14]</sup>。ADO III型常见远端四肢、头颅硬化。ARO则在婴儿期或儿童早期出现严重的症状,全身骨骼严重矿化,累及全身各个器官,是骨硬化症中最严重的类型,临床表现及并发症包括生长迟缓、颅骨异常、脑积水、低钙血症和牙齿萌出异常、严重贫血和血小板减少症、失明、耳聋和面瘫等,如果不进行治疗,ARO的最长寿命为10年<sup>[15-16]</sup>。IOP是由于负责碳酸酐酶II蛋白(carbonic anhydrase II, CA II)的基因突变所致,除了骨硬化症的典型症状外,常伴有肾小管酸中毒和脑钙化等症状<sup>[12,17]</sup>。然而ARO和严重的ADO II的临床症状有时难以鉴别,因此,基因检测对于区分该疾病仍至关重要。

结合先证者的临床特征及影像学表现,以及基因检测结果,提示这两例患者为ADO II型。ADO II型最典型的临床表现是骨折,然而很多患者只是腰背痛前来就诊。本研究中的两例先证者均无骨折史,先证者1自诉既往有手腕疼痛史,先证者2自诉双髋关节经常性疼痛史。我国章振林团队<sup>[18]</sup>最近评估了36例中国CLCN7基因突变的ADO II型患者,发现其骨折率为55.6%,骨折通常发生在儿童期,视力下降和骨髓炎是罕见的,表明ADO II型在中国患者中呈良性趋势。

ADO II型除了骨骼系统表现外,严重时可累及

全身各组织和器官,出现骨骼系统之外的表现:①血液系统。硬化的骨骼会压迫骨髓腔引起骨髓衰竭,从而导致贫血、血小板减少伴出血、频发感染、肝脾肿大等<sup>[19]</sup>。然而两例先证者血细胞三系均正常,无肝脾肿大,但两例先证者的影像学检查提示骨髓腔狭窄,表明骨髓正常组织受压,进一步进展有发生血液系统疾病的可能。②神经系统。硬化的骨骼会压迫颅神经,导致视力、听力下降、面瘫等症状<sup>[9]</sup>。两例先证者视力、听力检查均正常,无面瘫表现,提示未出现颅神经压迫的临床症状。但两例先证者X线及骨密度检查均提示骨骼严重硬化,随着疾病的继续进展,有压迫颅神经的可能,进而出现神经系统的症状。③内分泌系统。骨硬化症患者的骨吸收异常,使钙调节异常,从而出现低钙血症,导致抽搐和癫痫发作<sup>[3]</sup>,两例先证者血钙水平正常,均无抽搐及癫痫病史,可能与两例ADO II型患者病情较轻有关。④口腔系统。薛洋等<sup>[20]</sup>报道了两例CLCN7基因突变患者,两例患者除了具有典型的临床特征外,最显著的临床特征是牙齿不萌出和牙根发育不良,症状包括轻度错合牙、牙釉质发育不良和前磨牙畸形、龋齿等。先证者1有牙列不齐、龋齿明显,并可见牙龈萎缩,建议做好口腔卫生,口腔科就诊,避免出现下颌骨骨髓炎。先证者2目前尚无口腔系统的症状。但先证者2年龄较小,因此先证者2预后相较于先证者1可能会更差。然而,Piret等<sup>[21]</sup>研究发现,一个ADO II型合并近端肾小管酸中毒、肾结石、癫痫和失明也与CLCN7基因突变有关,推断近端肾小管酸中毒可能是与CLCN7突变相关的新临床特征。

另外诊断骨硬化症可考虑生化指标,如CK-MB、LDH、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)和AST升高<sup>[1,3,22-23]</sup>。此外,ACP水平有助于预测疾病的临床严重程度并有益于预测骨折的发生<sup>[24]</sup>,尤其是破骨细胞的抗酒石酸酸性磷酸酶5b(tartrate resistant acid phosphatase 5b, TRACP-5b)<sup>[25]</sup>。据Alatalo等<sup>[24]</sup>研究发现,CLCN7基因突变的ADO II的骨降解初始步骤,即骨基质中羟磷灰石的脱矿化这个过程受阻,推断ADO II的破骨细胞在吸收腔隙酸化缺陷,导致无法吸收骨时,会释放更多的TRACP-5b。血清TRACP-5b可以对高危个体进行简单、经济高效的检测,且诊断灵敏度和特异性较高。

ADO外显率不全<sup>[9]</sup>,大约三分之一的携带突变的人没有此疾病相应的临床表现,X线片表现正常,部分患者通过基因检测才能确诊。考虑到ADO II的遗传异质性,即便是同一个家庭的成员,疾病的临

床表现及严重程度也有很大差异<sup>[26]</sup>,如先证者 2 的父亲有该位点突变,其他化验检查均无异常,提示该致病基因有外显不全的现象。有研究发现,位于膜内  $\alpha$  螺旋中的杂合突变患者的临床表型不严重,如家系 2 中的 p. Arg286Trp 位点的突变,可能与突变会产生正电势并阻碍氯离子的快速扩散转运有关<sup>[18,27]</sup>,因此在诊疗过程中更应该详细鉴别。

CLCN7 基因位于染色体 16p13.3 上,有 25 个外显子,编码一种在破骨细胞中高度表达的氯离子通道蛋白 CLCN7<sup>[28]</sup>,该蛋白属于 CLC 氯离子通道蛋白家族,它介导  $Cl^-$  和  $H^+$  的交换。CLCN7 蛋白形成具有两个同源亚基的同型二聚体,每个亚基由 18 个膜内  $\alpha$  螺旋、4 个高度保守的氯离子结合位点和 2 个胱硫醚  $\beta$  合酶 (CBS) 结构域组成 (CBS1 和 CBS2)<sup>[7,29]</sup>。CLCN7 的杂合突变与 ADO II 型相关,而纯合和复合杂合突变导致 ARO<sup>[30]</sup>。CLCN7 主要位于破骨细胞褶皱的边缘膜中及溶酶体隔室,  $Cl^-$  与  $H^+$  一起 (通过液泡  $H^+$ -ATP 酶) 被运送到吸收陷窝中,维持破骨细胞骨吸收的酸性环境,形成的盐酸在这里溶解矿物质,从而破骨细胞骨吸收功能的正常发挥,如果破骨细胞未能酸化细胞周围的吸收空间,一定程度上解释了两例先证者血清 LDH 和 AST 水平升高原因<sup>[25,31]</sup>。

目前尚无针对 ADO 疾病的治疗方法,主要采取对症治疗,有研究将补充钙和维生素 D 作为治疗骨硬化症患者低钙血症和继发性甲状旁腺功能亢进症的一线治疗方法<sup>[3]</sup>。有研究提出碳酸酐酶 II 活化剂可以作为治疗口腔骨硬化的一种潜在药物的重要性<sup>[32]</sup>。干扰素  $\gamma$ -1b 疗法已被尝试使用于一些不适宜骨髓移植的患者,帮助提升 ARO 患者的骨吸收和免疫功能<sup>[33]</sup>,严重时考虑采取造血干细胞移植以及基因和细胞疗法<sup>[19,34-35]</sup>。本研究的两例先证者都应该进行健康宣教,建议其适当运动,做好口腔卫生的护理,定期复查血常规、肝肾功、电解质、骨代谢标志物等生化指标,评估视力、听力受累情况,以便早期预防、及时治疗。先证者 1 牙列不齐、有龋齿,应该定期至口腔科就诊,以免出现下颌骨骨髓炎;先证者 2 年龄较小,应及时补充维生素 D,增强骨代谢,避免剧烈运动。

综上所述,本研究对两例 ADO II 型患者及其亲属的 CLCN7 基因进行了分析,并描述了突变类型、临床特征、实验室结果及影像学表现,以调查表型-基因型的相关性,提高临床医生对这种遗传性骨骼疾病的理解。同时本研究也发现 CLCN7 基因新位点的突变,丰富了 CLCN7 基因突变的数据库,提

高了对遗传性骨病的认识。

## 参考文献:

- [1] Wang C, Zhang H, He JW, et al. The virulence gene and clinical phenotypes of osteopetrosis in the Chinese population: six novel mutations of the CLCN7 gene in twelve osteopetrosis families[J]. *J Bone Miner Metab*, 2012, 30(3): 338-348.
- [2] 蒋洁,徐潮,赵家军. 骨硬化症的诊疗现状[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2023, 43(4): 301-304. JIANG Jie, XU Chao, ZHAO Jiajun. Diagnosis and treatment of osteosclerosis[J]. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2023, 43(4): 301-304.
- [3] Wu CC, Econs MJ, DiMeglio LA, et al. Diagnosis and management of osteopetrosis: consensus guidelines from the osteopetrosis working group[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102(9): 3111-3123.
- [4] Del Fattore A, Cappariello A, Teti A. Genetics, pathogenesis and complications of osteopetrosis [J]. *Bone*, 2008, 42(1): 19-29.
- [5] Bug DS, Barkhatov IM, Gudozhnikova YV, et al. Identification and characterization of a novel CLCN7 variant associated with osteopetrosis[J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(11): E1242.
- [6] Cleiren E, Bénichou O, Van Hul E, et al. Albers-Schönberg disease (autosomal dominant osteopetrosis, type II) results from mutations in the CLCN7 chloride channel gene[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(25): 2861-2867.
- [7] Li L, Lv SS, Wang C, et al. Novel CLCN7 mutations cause autosomal dominant osteopetrosis type II and intermediate autosomal recessive osteopetrosis[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(6): 5030-5038.
- [8] Ou M, Li C, Tang D, et al. Genotyping, generation and proteomic profiling of the first human autosomal dominant osteopetrosis type II-specific induced pluripotent stem cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 251.
- [9] Waguespack SG, Hui SL, DiMeglio LA, et al. Autosomal dominant osteopetrosis: clinical severity and natural history of 94 subjects with a chloride channel 7 gene mutation[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(3): 771-778.
- [10] Palagano E, Menale C, Sobacchi C, et al. Genetics of osteopetrosis[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2018, 16(1): 13-25.
- [11] Del Fattore A, Cappariello A, Teti A. Genetics, pathogenesis and complications of osteopetrosis [J]. *Bone*, 2008, 42(1): 19-29.
- [12] Spinnato P, Pedrini E, Petrera MR, et al. Spectrum of skeletal imaging features in osteopetrosis: inheritance

- pattern and radiological associations [J]. *Genes (Basel)*, 2022, 13(11): 1965.
- [13] Bollerslev J, Henriksen K, Nielsen MF, et al. Autosomal dominant osteopetrosis revisited; lessons from recent studies[J]. *Eur J Endocrinol*, 2013, 169(2): R39-R57.
- [14] Coudert AE, de Vernejoul MC, Muraca M, et al. Osteopetrosis and its relevance for the discovery of new functions associated with the skeleton[J]. *Int J Endocrinol*, 2015, 2015: 372156. doi:10.1155/2015/372156.
- [15] Yuan P, Yue ZH, Sun LZ, et al. Novel mutation of TCIRG1 and clinical pictures of two infantile malignant osteopetrosis patients[J]. *J Bone Miner Metab*, 2011, 29(2): 251-256.
- [16] Penna S, Villa A, Capo V. Autosomal recessive osteopetrosis: mechanisms and treatments [J]. *Dis Model Mech*, 2021, 14(5): dmm048940.
- [17] Whyte MP. Carbonic anhydrase II deficiency[J]. *Bone*, 2023, 169: 116684. doi:10.1016/j.bone.2023.116684.
- [18] Wang Z, Li X, Wang Y, et al. Natural history of type II autosomal dominant osteopetrosis: a single center retrospective study[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 819641. doi:10.3389/fendo.2022.819641.
- [19] Bollerslev J, Henriksen K, Nielsen MF, et al. Autosomal dominant osteopetrosis revisited; lessons from recent studies[J]. *Eur J Endocrinol*, 2013, 169(2): R39-R57.
- [20] Xue Y, Wang W, Mao T, et al. Report of two Chinese patients suffering from CLCN7-related osteopetrosis and root dysplasia [J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2012, 40(5): 416-420.
- [21] Piret SE, Gorvin CM, Trinh A, et al. Autosomal dominant osteopetrosis associated with renal tubular acidosis is due to a CLCN7 mutation [J]. *Am J Med Genet A*, 2016, 170(11): 2988-2992.
- [22] Whyte MP, Chines A, Silva DP, et al. Creatine kinase brain isoenzyme (BB-CK) presence in serum distinguishes osteopetrosis among the sclerosing bone disorders [J]. *J Bone Miner Res*, 1996, 11(10): 1438-1443.
- [23] Waguespack SG, Hui SL, White KE, et al. Measurement of tartrate-resistant acid phosphatase and the brain isoenzyme of creatine kinase accurately diagnoses type II autosomal dominant osteopetrosis but does not identify gene carriers [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(5): 2212-2217.
- [24] Alatalo SL, Ivaska KK, Waguespack SG, et al. Osteoclast-derived serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b in albers-schoenberg disease (type II autosomal dominant osteopetrosis) [J]. *Clin Chem*, 2004, 50(5): 883-890.
- [25] Whyte MP, Kempa LG, McAlister WH, et al. Elevated serum lactate dehydrogenase isoenzymes and aspartate transaminase distinguish Albers-Schönberg disease (Chloride Channel 7 Deficiency Osteopetrosis) among the sclerosing bone disorders [J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(11): 2515-2526.
- [26] Chu K, Koller DL, Snyder R, et al. Analysis of variation in expression of autosomal dominant osteopetrosis type 2: searching for modifier genes [J]. *Bone*, 2005, 37(5): 655-661.
- [27] Pang Q, Chi Y, Zhao Z, et al. Novel mutations of CLCN7 cause autosomal dominant osteopetrosis type II (ADO-II) and intermediate autosomal recessive osteopetrosis (IARO) in Chinese patients [J]. *Osteoporos Int*, 2016, 27(3): 1047-1055.
- [28] Bénichou O, Cleiren E, Gram J, et al. Mapping of autosomal dominant osteopetrosis type II (Albers-Schönberg disease) to chromosome 16p13.3 [J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 69(3): 647-654.
- [29] Kim SY, Lee Y, Kang YE, et al. Genetic analysis of CLCN7 in an old female patient with type II autosomal dominant osteopetrosis [J]. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2018, 33(3): 380-386.
- [30] Frattini A, Pangrazio A, Susani L, et al. Chloride channel CLCN7 mutations are responsible for severe recessive, dominant, and intermediate osteopetrosis [J]. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(10): 1740-1747.
- [31] Leisle L, Ludwig CF, Wagner FA, et al. CIC-7 is a slowly voltage-gated 2Cl(-)/1H(+)-exchanger and requires Ostm1 for transport activity [J]. *EMBO J*, 2011, 30(11): 2140-2152.
- [32] Alkhayal Z, Shinwari Z, Gaafar A, et al. Carbonic anhydrase II activators in osteopetrosis treatment: a review [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2023, 45(2): 1373-1386.
- [33] Key LL, Ries WL, Rodriguiz RM, et al. Recombinant human interferon gamma therapy for osteopetrosis [J]. *J Pediatr*, 1992, 121(1): 119-124.
- [34] Polgreen LE, Imel EA, Econs MJ. Autosomal dominant osteopetrosis [J]. *Bone*, 2023, 170: 116723. doi:10.1016/j.bone.2023.116723.
- [35] Teti A, Econs MJ. Osteopetroses, emphasizing potential approaches to treatment [J]. *Bone*, 2017, 102: 50-59. doi:10.1016/j.bone.2017.02.002.

(编辑:徐苗蓁)