

线粒体呼吸链复合物 II 缺陷所致 Leigh 综合征

马艳艳¹ 吴桐菲¹ 刘玉鹏¹ 王娇¹ 宋金青¹ 肖江喜² 姜玉武¹ 杨艳玲¹

(1. 北京大学第一医院儿科, 北京 100034; 2. 北京大学第一医院影像科, 北京 100034)

[摘要] 线粒体呼吸链复合物 II 缺陷是较为少见的氧化磷酸化障碍性疾病。本文对 1 例单纯线粒体呼吸链复合物 II 缺陷所致 Leigh 综合征患儿的诊疗进行回顾性分析。患儿, 男, 10 个月, 8 个月时出现发热, 热退后出现进行性全身无力、运动发育倒退和吞咽困难。血乳酸、丙酮酸增高, 脑 MRI 显示双侧基底节对称性损害。对患儿进行了外周白血细胞线粒体氧化磷酸化酶复合物 I-V 活性测定和线粒体基因突变位点筛查分析。线粒体呼吸链复合物 II 活性为 21.9 nmol/min · mg 线粒体总蛋白 (正常对照 47.3 ± 5.3 nmol/min · mg 线粒体总蛋白), 柠檬酸合酶活性为 22.1% (正常对照 50.9% ± 10.7%), 均显著降低。线粒体基因分析未发现异常。患儿确诊为线粒体呼吸链复合物 II 缺陷所致 Leigh 综合征。经治疗患儿运动功能明显恢复。目前患儿 22 个月, 病情稳定。

[中国当代儿科杂志, 2011, 13(7):569-572]

[关键词] Leigh 综合征; 线粒体; 线粒体呼吸链复合物 II 缺陷; 线粒体氧化磷酸化; 儿童

[中图分类号] R589 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2011)07-0569-04

Leigh syndrome due to mitochondrial respiratory chain complex II deficiency

MA Yan-Yan, WU Tong-Fei, LIU Yu-Peng, WANG Qiao, SONG Jin-Qing, XIAO Jiang-Xi, JIANG Yu-Wu, YANG Yan-Ling. Department of Pediatrics, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China (Yang Y-L, Email: organic_acid@126.com)

Abstract: Mitochondrial respiratory chain complex II deficiency is a rare documented cause of mitochondrial diseases. This study reported a case of Leigh syndrome due to isolated complex II deficiency. A boy presented with progressive weakness, motor regression and dysphagia after fever from the age of 8 months and hospitalized at the age of 10 months. Elevated blood levels of lactate and pyruvate were observed. Brain magnetic resonance image showed symmetrical lesions in the basal ganglia. Mitochondrial respiratory chain complex I-V activities in peripheral leukocytes were measured using spectrophotometric assay. Mitochondrial gene screening of common point mutations was performed. The complex II activity in the peripheral leukocytes decreased to 21.9 nmol/min per mg mitochondrial protein (control: 47.3 ± 5.3 nmol/min per mg mitochondrial protein). The ratio of complex II activity to citrate synthase activity (22.1%) also decreased (control: 50.9% ± 10.7%). No point mutation was found in mitochondrial DNA. The boy was diagnosed as Leigh syndrome due to isolated complex II deficiency. Psychomotor improvements were observed after the treatment. The patient is 22 months old and in a stable condition. [Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13(7):569-572]

Key words: Leigh syndrome; Mitochondria; Mitochondrial complex II deficiency; Oxidative phosphorylation; Child

线粒体呼吸链缺陷导致机体能量代谢障碍是婴幼儿及儿童时期致死性线粒体脑病病因之一。临床表现缺乏特异性, 可累及多个脏器, 以心、脑和骨骼肌等能量需求大的组织器官损害为著, 发病率约为活产儿的 1:5000 ~ 8000^[1-3]。国外研究显示线粒体呼吸链复合物 I 和 IV 缺陷是导致 Leigh 综合征的常见病因, 而关于线粒体呼吸链复合物 II 缺陷导致 Leigh 综合征的报道较少。通过基因检测方法, 我国相继发现了携带编码复合物 I 和 IV 基因突变的 Leigh 综合征患儿^[4-6], 但尚未见线粒体呼吸链复合物 II 缺陷的病例报道。本研究就 1 例单纯线粒体呼吸链复合物 II 缺陷导致的 Leigh 综合征进行报道, 并结合文献进行综述。

物 II 缺陷的病例报道。本研究就 1 例单纯线粒体呼吸链复合物 II 缺陷导致的 Leigh 综合征进行报道, 并结合文献进行综述。

1 概述

1.1 病因、发病机制

线粒体呼吸链复合物 II (mitochondrial respiratory chain complex II, EC1.3.5.1, 简称复合物 II) 亦称琥珀酸泛醌氧化还原酶 (SQR) 或线粒体琥珀酸

[收稿日期] 2010-12-28; [修回日期] 2011-01-10

[基金项目] “十一五” 国家科技支撑计划课题 (编号 2006BAI05A07); 国家自然科学基金 (编号 30872794)。

[作者简介] 马艳艳, 女, 博士研究生。

[通信作者] 杨艳玲, 教授。

脱氢酶(SDH),由4个亚基组成,分别为黄素蛋白、铁硫蛋白、大细胞色素结合蛋白和小细胞色素结合蛋白,分子量约125 kDa,可催化琥珀酸生成延胡索酸,并将电子传递给泛醌^[7],与线粒体呼吸链复合物I、III和IV所不同的是在电子传递过程中不伴有线粒体内膜两侧质子的电势梯度改变。复合物II是呼吸链中唯一的全部结构亚基由核基因编码的复合物,目前只报道了与本病相关的2个基因的致病突变。1995年 Bourgeron 等^[8]发现编码黄素蛋白的 *SDHA* 基因致病性突变 R554W,之后 Parfait 等^[9]和 van Coster 等^[10]相继发现了致病突变 A524V 和 G555E。2009年 Ghezzi 等^[11]发现编码复合物II组装因子的 *SDHAF1* 基因的两个突变 G57R 和 R55P 可以导致复合物II缺陷。复合物II与氧化应激有密切关联,是细胞内毒性物质以及异常代谢产物的敏感靶标^[12]。

1.2 临床表现

复合物II缺陷患者的临床表现差异大,国外研究表明临床症状的差异与致病基因的种类或突变比例无明显的相关性^[8-10]。大多数患者以神经肌肉损害为主,其中智力运动发育倒退^[13]、肌张力低下^[14]较为突出,一些患者表现为共济失调、运动不耐受、视神经萎缩^[15]和癫痫^[16]等,少数伴心肌病^[16]、发作性呕吐和先天性膝关节脱位^[17]等神经系统外症状。病程大多呈进行性,发病后出现快速的进行性智力、运动发育倒退、脑白质病往往是复合物II缺陷所致的早发型患者比较典型的临床表现^[18],Brockmann 等^[13]曾报道了3例复合物II缺陷,起病后分别在3周、4周和16个月内经历了快速而显著的智力运动倒退的过程。不同程度的代谢性酸中毒是复合物II缺陷较为常见的表现。

1.3 诊断与鉴别诊断

对于临床上无法解释的进行性脑病、多系统受累,智力运动发育落后或倒退,代谢性酸中毒,血清乳酸、丙酮酸增高,或乳酸/丙酮酸比值增高,呈进行性或间歇性加重,需考虑该病。应与氨基酸、有机酸及脂肪酸代谢障碍性疾病及溶酶体病相鉴别。头颅影像学检查有助于诊断,磁共振可呈多种不同的改变,Leigh 综合征患者丘脑、基底节、脑干、脑白质等部位长 T1 长 T2 异常信号^[9]。近年来磁共振波谱分析也逐渐被应用于线粒体呼吸链复合物缺陷的诊断。Bugiani 等^[18]采用磁共振波谱对复合物II缺陷所致的脑白质病进行分析,发现在脑白质受累区域乳酸和琥珀酸异常蓄积,乙酰天冬氨酸、肌酸和磷酸肌酸降低,并随着白质病变的加重,局部乳酸和琥珀

酸蓄积浓度就越高,而在没有受累的基底节区未发现上述物质蓄积的信号。

本病确诊有赖于复合物II相关基因分析和线粒体呼吸链酶复合物活性测定。虽然复合物II的结构亚基均由核基因编码,但迄今只报道了其中 *SDHA* 基因和一个编码组装因子的基因致病突变,基因诊断较困难,因此该病诊断首先需要依赖线粒体呼吸链酶复合物活性检测。当线粒体呼吸链复合物II活性低于正常对照值则认为酶活性缺陷。酶活性测定标本可采用骨骼肌、心脏、肝脏、皮肤成纤维细胞和外周血白细胞。

1.4 治疗

对于线粒体病的治疗目前主要方法为增加细胞的抗氧化能力和促进毒性物质的排出,改善线粒体的能量代谢。核黄素能为复合物II提供辅助因子,并可以通过提高真核起始因子 eIF2 α 的磷酸化来调节蛋白质的合成^[19],也相继有用维生素 B2 治疗复合物II缺陷病有效的报道^[18]。硫胺素可以增强丙酮酸脱氢酶活性降低乳酸、丙酮酸水平,有报道大剂量硫胺素对部分丙酮酸脱氢酶缺陷的 Leigh 综合征^[20]和 Kearns-Sayre 综合征^[21]治疗有效。泛醌类化合物(呼吸链中的重要辅酶)、抗氧化剂如维生素 C、E 及促细胞毒性产物排出药物如左旋肉碱等均已证实可以改善线粒体功能,但因复合物II缺陷病发病少,尚需积累经验。

2 病例报告

患儿,男,10个月,因发热后全身软,不能抬头1月就诊。患儿8个月之前发育正常,8个月时出现发热数日,体温波动在38.0℃左右,热退后出现烦躁、精神萎靡,眼神不灵活,很少追物,全身无力,不能抬头和独坐,随后出现四肢间断性僵硬,并伴有声音嘶哑和吞咽困难。无惊厥、恶心呕吐,食量减少,无呛咳,大小便正常。当地医院脑脊液常规、一般生化检查未见异常,诊断“脑病原因待查”,经抗感染、脱水等治疗无效,病情呈进行性加重。患儿系第2胎、第2产,足月顺产出生,出生体重4.2 kg,否认窒息史。8个月内发育正常,3个月抬头,6个月会坐,8个月能用一手抓物并能扶站;会无意识地发“爸爸”音。按时接受预防接种。父亲28岁,母亲26岁,其姐6岁,均身体健康,父亲双手六指畸形,家族中无类似疾病史。体格检查:头围47 cm,体重8 kg,营养不良貌,无表观畸形,心、肺和腹部查体无异常。神志清楚,精神欠佳。头颅、脊柱及颅神经检查无异

常体征。肌力Ⅳ级,四肢肌张力高,无肌萎缩;双侧膝腱反射活跃,Babinski征、Oppenheim征、Gordon征等病理征均阴性。

实验室检查:血清乳酸 2.5 mmol/L(参考值 0.5~2.0 mmol/L)、丙酮酸 137 μmol/L(参考值 30~100 mmol/L)、β羟丁酸 0.4 mmol/L(参考值 0.03~0.3 mmol/L);血糖、血氨、心肌酶谱、肝肾功能正常。血液氨基酸、酯酰肉碱谱分析和尿液有机酸分析未见异常,可排除典型的氨基酸、脂肪酸和有机酸代谢性疾病^[22-24],但游离肉碱和多种氨基酸降低。脑电图:慢波增多,未见癫痫样放电。头颅磁共振成像显示:两侧丘脑肿胀变形,见对称性分布片状长 T1 长 T2 异常信号,局部见长 T1 长 T2 囊变坏死区,符合 Leigh 综合征影像诊断。见图 1。

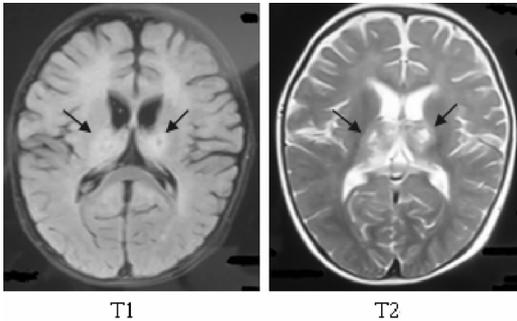


图1 患儿头颅磁共振影像 两侧丘脑肿胀变形,呈现对称性分布片状长 T1 长 T2 异常信号,并可见长 T1 长 T2 囊变坏死区(箭头所示)。

采用蛋白酶 K-盐析法提取患儿及其父母外周血白细胞 DNA,利用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析方法进行线粒体基因 3243 A > G、8993 T > G、8993 T > C 和 8344 A > G 位点筛查^[25],未发现突变。

患儿外周血白细胞线粒体复合物 II 活性为 21.9 nmol/min · mg 线粒体总蛋白,降至正常对照酶活性的 59.3% (正常对照:47.3 ± 5.3 nmol/min · mg 线粒体总蛋白);柠檬酸合酶活性为 22.1%,也低于正常对照[正常对照:(50.9 ± 10.7)%],其余呼吸链复合物 I、Ⅲ、Ⅳ 和 V 的活性均正常,患儿父母外周血白细胞线粒体呼吸链酶复合物活性正常。

该患儿主要表现为运动发育倒退,声音嘶哑和吞咽困难等神经系统症状,未见其他系统损害表现;血乳酸和丙酮酸增高;头颅磁共振符合 Leigh 综合征。线粒体呼吸链复合物活性检测显示复合物 II 活性缺陷,可诊断单纯复合物 II 缺陷。治疗上给予补充维生素 B1 每日 90~300 mg,每日维生素 B2 15 mg,左旋肉碱每日 1 g,辅酶 Q10 每日 30 mg,维

生素 C 每日 100 mg,维生素 E 每日 100 mg,治疗 2 个月后复诊,病情好转,运动功能明显恢复,抬头稳,能独坐和扶站。目前已随访治疗 1 年,病情稳定。

3 讨论

复合物 II 缺陷是一种罕见的线粒体能量代谢障碍性疾病,据国外报道复合物 II 缺陷仅占线粒体呼吸链缺陷病的 2%^[26-27]。儿童和成人均可发病,以婴儿时期发病为主,病程呈进行性,临床表现多样,以神经、肌肉受累多见,主要表现为智力运动发育落后或倒退^[13-14]。复合物 II 缺陷与部分临床综合征相关,如 Leigh 综合征^[9]、Kearns-Sayre 综合征^[28]、脑白质营养不良等^[11]。头颅 MRI 可表现出不同的影像改变,部分显示脑内深部核团丘脑、基底节、脑干等部位长 T1 长 T2 信号,呈 Leigh 综合征样的影像^[9]。复合物 II 缺陷还常累积脑白质,脑白质内可见广泛性的长 T1 信号和长 T2 信号,以额部和枕部为著^[11],脑白质病变同时合并灰质和基底节损害的病例极少见。头颅影像可随病情而进展,一些患者跟踪随访发现脑白质损害范围扩大,甚至可见囊性坏死改变^[13]。因此,对于原因不明的婴幼儿期进行性脑病,血、脑脊液乳酸和/或丙酮酸增高,应注意能量代谢障碍性疾病,进行酶复合物活性测定以协助病因诊断。

患者临床表现复杂并有较多交叉重叠现象,普通生化无特异性发现,临床诊断困难。病因诊断主要依赖于基因和呼吸链酶复合物活性分析,在对复合物 II 缺陷的研究中目前只发现了编码结构亚基的 *SDHA* 基因^[8-9]和编码组装因子的 *SDHAF1* 基因^[11]的 3 种致病突变,有许多分子机制尚未明了,因此基因诊断目前不宜作为疾病病因诊断的首选,而是首先需要呼吸链酶复合物活性分析。呼吸链酶复合物活性检测理想的标本是选用疾病受累明显的组织,例如脑、肾、心肌、肝和内分泌腺体,但是这些组织很难获得,国内外研究多选用骨骼肌或成纤维细胞培养,以获得大量线粒体蛋白进行检测。骨骼肌和皮肤成纤维组织的获取需通过创伤性操作来完成,患儿及家长较难接受,儿科临床广泛推行难度大,缺乏临床可行的线粒体呼吸链酶学诊断技术。国外有研究表明外周血白细胞也能较好地反映骨骼肌酶复合物活性^[29],但其线粒体含量较少,提取线粒体及分离线粒体蛋白难度大。本研究采用外周血白细胞进行呼吸链酶复合物活性测定为患者明确了病因诊断,更为方便、实用。

本例患儿以神经系统受累为主要表现,急性起病,感染为发病诱因,曾在当地医院诊断为脑炎,经抗感染,减轻脑细胞水肿等治疗无效,病情呈进行性加重;血乳酸和丙酮酸增高;头颅磁共振提示 Leigh 综合征,经血氨基酸、酯酰肉碱及尿有机酸分析,已排除氨基酸、脂肪酸及有机酸代谢性疾病,外周血白细胞线粒体酶复合物活性测定显示复合物 II 活性缺陷,诊断明确。经维生素 B1、B2、左旋肉碱、辅酶 Q、维生素 E 等治疗,病情好转并维持稳定。

因此,虽然复合物 II 缺陷是一种遗传性疾病,严重时可危及生命,但如果尽早诊断、治疗,同时注意避免感染、超负荷运动、劳累等疾病诱发因素,部分患者病情可能会发展缓慢,甚至长期维持稳定。

志谢:感谢北京宝路德生物技术有限公司代谢酶学研究中心谷为岳博士的技术支持与合作。

[参 考 文 献]

- [1] Skloldal D, Halliday J, Thorburn DR. Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children[J]. *Brain*, 2003, 126(Pt 8): 1905-1912.
- [2] Schaefer AM, Taylor RW, Turnbull DM, Chinnery PF. The epidemiology of mitochondrial disorders - past, present and future [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1659(2-3): 115-120.
- [3] Yang YL, Sun F, Zhang Y, Qian N, Yuan Y, Wang ZX, et al. Clinical and laboratory survey of 65 Chinese patients with Leigh syndrome[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2006, 119(5): 373-377.
- [4] Zhang Y, Yang YL, Sun F, Cai X, Qian N, Yuan Y, et al. Clinical and molecular survey in 124 Chinese patients with Leigh or Leigh-like syndrome[J]. *J Inher Metab Dis*, 2007, 30(2): 265.
- [5] 孙芳, 杨艳玲, 戚豫, 王朝霞, 袁云, 宋金青, 等. SURF1 基因 604G→C 杂合性错义突变所致 Leigh 综合征患儿的临床与分子遗传学研究[J]. *中华神经科杂志*, 2005, 38(9): 560-564.
- [6] 魏晓琼, 孔庆鹏, 张尧, 杨艳玲, 常杏芝, 戚豫, 等. 线粒体基因 13513G>A 突变导致呼吸链酶复合物 I 缺陷 Leigh 综合征[J]. *中国当代儿科杂志*, 2009, 11(5): 333-336.
- [7] Lemos RS, Fernandes AS, Pereira MM, Gomes CM, Teixeira M. Quinol: fumarate oxidoreductases and succinate: quinone oxidoreductases: phylogenetic relationships, metal centres and membrane attachment[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1553(1-2): 158-170.
- [8] Bourgeron T, Rustin P, Chretien D, Birch-Machin M, Bourgeois M, Viegas-Péquignot E, et al. Mutation of a nuclear succinate dehydrogenase gene results in mitochondrial respiratory chain deficiency[J]. *Nat Genet*, 1995, 11(2): 144-149.
- [9] Parfait B, Chretien D, Rotig A, Marsac C, Munnich A, Rustin P. Compound heterozygous mutations in the flavoprotein gene of the respiratory chain complex II in a patient with Leigh syndrome [J]. *Hum Genet*, 2000, 106(2): 236-243.
- [10] van Coster R, Seneca S, Smet J, Van Hecke R, Gerlo E, Devreese B, et al. Homozygous Gly555Glu mutation in the nuclear-encoded 70 kDa flavoprotein gene causes instability of the respiratory chain complex II[J]. *Am J Med Genet A*, 2003, 120A(1):13-18.
- [11] Ghezzi D, Goffrini P, Uziel G, Horvath R, Klopstock T, Lochmuller H, et al. SDHAF1, encoding a LYR complex-II specific assembly factor, is mutated in SDH-defective infantile leukoencephalopathy[J]. *Nat Genet*, 2009, 41(6):654-656.
- [12] Kolker S, Schwab M, Hörster F, Sauer S, Hinz A, Wolf NI, et al. Methylmalonic acid, a biochemical hallmark of methylmalonic acidurias but no inhibitor of mitochondrial respiratory chain[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(48):47388-47393.
- [13] Brockmann K, Bjornstad A, Dechent P, Korenke CG, Smeitink J, Trijbels JM, et al. Succinate in dystrophic white matter: a proton magnetic resonance spectroscopy finding characteristic for complex II deficiency[J]. *Ann Neurol*, 2002, 52(1):38-46.
- [14] Burgeois M, Goutieres F, Chretien D, Rustin P, Munnich A, Aicardi J. Deficiency in complex II of the respiratory chain, presenting as a leukodystrophy in two sisters with Leigh syndrome[J]. *Brain Dev*, 1992, 14(6):404-408.
- [15] Taylor RW, Birch-Machin MA, Schaefer J, Taylor L, Shakir R, Ackrell BA, et al. Deficiency of complex II of the mitochondrial respiratory chain in late-onset optic atrophy and ataxia[J]. *Ann Neurol*, 1996, 39(2):224-232.
- [16] Horvath R, Abicht A, Holinski-Feder E, Laner A, Gempel K, Prokisch H, et al. Leigh syndrome caused by mutations in the flavoprotein (Fp) subunit of succinate dehydrogenase (SDHA)[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2006, 77(1):74-76.
- [17] Sugimoto J, Shimohira M, Osawa Y, Matsubara M, Yamamoto H, Goto Y, et al. A patient with mitochondrial myopathy associated with isolated succinate dehydrogenase deficiency[J]. *Brain Dev*, 2000, 22(3):158-162.
- [18] Bugiani M, Lamantea E, Invernizzi F, Moroni I, Bizzi A, Zeviani M, et al. Effects of riboflavin in children with complex II deficiency[J]. *Brain Dev*, 2006, 28(9):576-581.
- [19] Manthey KC, Rodriguez-Melendez R, Hoi JT, Zemleni J. Riboflavin deficiency causes protein and DNA damage in HepG2 cells, triggering arrest in G1 phase of the cell cycle[J]. *J Nutr Biochem*, 2006, 17(4):250-256.
- [20] Di Rocco M, Lamba LD, Minniti G, Caruso U, Naito E. Outcome of thiamine treatment in a child with Leigh disease due to thiamine-responsive pyruvate dehydrogenase deficiency[J]. *Eur J Paediatr Neurol*, 2000, 4(3):115-117.
- [21] Lou HC. Correction of increased plasma pyruvate and plasma lactate levels using large doses of thiamine in patients with Kearns-Sayre syndrome[J]. *Arch Neurol*, 1981, 38(7):469.
- [22] 杨艳玲, 宋金青, 孙芳, 张月华, 包新华, 钱宁, 等. 气相色谱-质谱联用分析在有机酸尿症筛查与诊断中的应用[J]. *中国医刊*, 2006, 41(2):38-40.
- [23] 顾学范, 韩连书, 高晓岚, 杨艳玲, 叶军, 邱文娟. 串联质谱技术在遗传性代谢病高危儿童筛查中的初步应用[J]. *中华儿科杂志*, 2004, 42(06):401-404.
- [24] Kimura M, Yamamoto T, Yamaguchi S. Automated metabolic profiling and interpretation of GC/MS data for organic acidemia screening: a personal computer-based system[J]. *Tohoku J Exp Med*, 1999, 188(4):317-334.
- [25] 王朝霞, 袁云, 陈清棠, 杨艳玲, 张月华, 戚豫. Leigh 综合征的线粒体 DNA 突变分析[J]. *中华神经科杂志*, 2003, 36(1):28-31.
- [26] van den Heuvel L, Smeitink J. The oxidative phosphorylation (OXPHOS) system: nuclear genes and human genetic diseases [J]. *Bioessays*, 2001, 23(6):518-525.
- [27] Rustin P, Bourgeron T, Parfait B, Chretien D, Munnich A, Rotig A. Inborn errors of the Krebs cycle: a group of unusual mitochondrial diseases in human[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1361(2):185-197.
- [28] Rivner MH, Shamsnia M, Swift TR, Trefz J, Roesel RA, Carter AL, et al. Kearns-Sayre syndrome and complex II deficiency[J]. *Neurology*, 1989, 39(5): 693-696.
- [29] Chretien D, Rustin P, Bourgeron T, Rotig A, Saudubray JM, Munnich A. Reference charts for respiratory chain activities in human tissues[J]. *Clin Chim Acta*, 1994, 228(1): 53-70.

(本文编辑:王庆红)