

由 LHCGR 基因杂合突变(M398T)所致家族性男性限性性早熟

苏 喆, 马华梅*, 李燕虹, 杜敏联

(中山大学附属第一医院儿科, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】总结由 LHCGR 基因激活性杂合突变导致的家族性男性限性性早熟(FMPP), 提高临床医生对该病的诊治水平。【方法】报道 3 例经 LHCGR 基因突变分析确诊的 FMPP 病例, 并对相关文献进行复习。【结果】病例 1 和病例 3 均为 5 岁男童, 因外生殖器增大伴生长加速来诊。经相关检查临床诊断为外周性同性性早熟, 其中, 病例 1 有明显的家族史, 4 代中有 6 人(包括病例 1 的父亲, 即病例 2)有类似病史, 成年身高在 155 ~ 164.5 cm。LHCGR 基因检测发现 3 例均存在 LHCGR 基因第 11 外显子相同的杂合点突变:c.1193T>C, 导致第 398 位氨基酸由甲硫氨酸变为苏氨酸(M398T), 而病例 1 的母亲和病例 2 的父亲不带有此突变。病例 1 经联用来曲唑和螺内酯治疗, 症状好转。【结论】对散发型的 FMPP, LHCGR 基因突变分析可作为与其他男童同性外周性性早熟鉴别有效的工具。联用第三代芳香化酶抑制剂和抗雄激素制剂可有效缓解症状并改善成年身高。

关键词: 外周性性早熟; 家族性男性限性性早熟; LHCGR 基因; 激活性突变; 芳香化酶抑制剂

中图分类号: R72

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2012)05-0639-05

Three Chinese Cases of Familial Male-limited Precocious Puberty (FMPP) Caused by a Heterozygous Mutation (M398T) in Luteinizing Hormone/choriogonadotropin Receptor (LHCGR) Gene

SU Zhe, MA Hua-mei*, LI Yan-hong, DU Min-lian

(Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】 To provide a descriptive analysis of familial male-limited precocious puberty (FMPP), which is a rare inherited disease caused by heterozygous constitutively activating mutations of the luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor gene (LHCGR) and is not well characterized in China. 【Methods】 We reported 3 cases of FMPP who had undergone LHCGR gene analysis and made a review of the literatures. 【Results】 The patient 1 and patient 3 were both 5-year-old boys who started to develop penile enlargement and accelerated height velocity at the age of 4 years. They were diagnosed with peripheral precocious puberty. There were 6 males in 4 generations of patient 1, including patient 2 (the father of patient 1), were reported to have similar history. Their reported adult heights ranged from 155 cm to 164.5 cm. All the three patients were found to carry the same heterozygous c.1193T>C (M398T) mutation in LHCGR gene exon 11, which was not found from the mother of patient 1 and father of patient 3. Patient 1 presented stable size of penile with no erection and slowed down growth velocity with no side effect on the combined treatment of letrozole and spironolactone. 【Conclusion】 Genetic analysis can be a useful diagnostic tool especially for sporadic FMPP cases. Combined treatment with aromatase inhibitor and anti-androgen agent can relief the symptoms and improve adult height.

Key words: peripheral precocious puberty; familial male-limited precocious puberty (FMPP); LHCGR gene; activating mutation; aromatase inhibitor

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2012, 33(5):639-643;654]

家族性男性限性性早熟(familial male-limited precocious puberty, FMPP), 既往曾被称为辜酮毒

血症(testotoxicosis), 是一种罕见的外周性性早熟(OMIM: #176410)。1981年由 Schedewie 等^[1]最早

收稿日期: 2012-04-23

基金项目: 广东省科技计划项目重点引导项目(2010B031600230); 广东省卫生厅基金项目(A2011166)

作者简介: 苏喆, 医学博士, 副主任医师, 研究方向: 儿科内分泌遗传代谢性疾病, E-mail: su_zhe@126.com; * 通信作者: 马华梅, 医学博士, 副教授, 研究方向: 儿科内分泌遗传代谢性疾病, E-mail: mahuamei@tom.com

报道,表现为常染色体显性方式遗传,但仅男性成员受累的同性外周性早熟。1993年 Shenker 等^[2]首次从8个家族的多名 FMPP 患者中检测到 LHCGR 基因突变(D578G),表达该突变的 COS-7 细胞在无激动剂存在的情况下,cAMP 的合成显著增加,提示该病患者睾丸 Leydig 细胞的自发活性源于 LH 受体的自发性持续性激活。迄今,该病在全球报道不足200例,国内经基因确诊的报道仅1例^[3]。本文拟结合3例经 LHCGR 基因突变分析确诊的 FMPP 报道,总结 FMPP 的临床特征,结合文献复习,提高对该病的诊治水平。

1 材料与方法

1.1 研究对象

病例1:广东韶关人,男,5岁1个月,因“生长加速伴阴茎勃起1年”于2011年8月来诊。患儿近一年生长较前明显增快,近5个月身高增长4.9 cm(年生长速度11.8 cm),伴阴茎勃起频繁(每日数次)。无伴痤疮、体味、体毛增多、变声、头痛、视朦等。否认进补及相关药物应用史。G1P1,足月顺产,胎龄39周,出生体质量2.5 kg,身长48 cm。父亲身高160 cm,母亲身高156 cm,遗传靶身高164.5 cm(-1.3SD)。患儿为家中独子,家族中父系4代共有6人有类似病史,包括患儿的父亲(病例2)、祖父、曾祖父、曾祖父之胞弟和堂弟、患儿的表哥(姑妈的儿子),均于小学前明显高于同龄人,外生殖器大于同龄人,约10~12岁后身高无再增长,6人成年身高(转述)在155~164.5 cm。父系女性家庭成员均无早熟表现,成年身高均正常。查体:身高:115.9 cm(+1SD),体质量:17.5 kg(-1.5SD,身高别体质量),性征:乳腺 Tanner I 期;外生殖器发育 Tanner 分期 G2 期,阴茎 6.5 cm×2.0 cm,左侧睾丸容积:4.5 mL,右侧睾丸容积:4.0 mL,无腋毛、阴毛、胡须、痤疮等,皮肤无咖啡斑,余查体无特殊。

病例2:为病例1的父亲,自述幼儿园开始明显高于同龄人,外生殖器大于同龄人,约11岁后身高无再增长,现测量身高:160 cm。家族史见病例1。未查体。

病例3:广东信宜人,男,5岁6个月,因“发现阴茎增大伴生长加速1年,声音低沉2月”于2011年7月来诊。患儿近9个月身高增长6.3 cm(年生

长速度8.4 cm),体质量增加2.5 kg。无伴痤疮、体味、体毛增多、头痛、视朦等。否认进补及相关药物应用史。父亲身高160 cm,母亲身高158 cm,遗传靶身高165.5 cm(-1.2SD)。患儿为家中独子,否认家族中“性早熟”病史。查体:身高:123.7 cm(+1.8SD),体质量:24.5 kg(+0.1SD,身高别体质量),声音低沉,性征:乳腺 Tanner I 期;外生殖器发育 Tanner 分期 G2 期,阴毛发育 PH3 期,阴茎 7.0 cm×2.5 cm,双侧睾丸容积:7 mL,无腋毛、胡须、痤疮等,皮肤无咖啡斑,余查体无特殊。

1.2 实验室检查方法

性激素和促性腺激素水平的检测选用化学发光法,17 羟孕酮的检测选用酶联免疫吸附双抗体夹心法。LHCGR 基因检测方法:按照说明书(Qiagen, Hilden, 德国)从外周血提取 DNA,对 LHCGR 基因的11个外显子进行 PCR 扩增(Qiagen 公司试剂盒),用 ABI 3130xl 测序仪对扩增产物进行直接双向测序(PerkinElmer, Foster City, CA, USA)。

2 结果

2.1 实验室和辅助检查结果

2.1.1 一般检查 病例1和3两例患儿血、尿常规,肝功能,电解质,血尿素氮、肌酐等均无异常。

2.1.2 性腺轴和肾上腺轴相关检查 病例1和3两例患儿血清 β -HCG、AFP、皮质醇、ACTH、甲状腺功能均无异常。基础激素水平及 GnRHa 兴奋试验^[4-5]后促性腺激素水平见表1。

2.1.3 影像学检查 左手正位 X 线照片示:病例1骨龄7岁,骨龄超前2年,骨龄别身高:-1.7SD(落后于遗传靶身高0.4SD);病例3骨龄9.75岁,骨龄超前4年余,骨龄别身高:-2.5SD(落后于遗传靶身高1.3SD)。两例患儿的胸片,肾上腺、睾丸 B 超,垂体 MRI 检查均未见异常。

2.2 LHCGR 基因检测结果

病例1和父亲(病例2)以及病例3均存在 LHCGR 基因第11外显子相同的杂合点突变:c.1193T>C,导致第398位氨基酸由甲硫氨酸变为苏氨酸(M398T),见图1、图2。而病例1的母亲和病例3的父亲不带有此突变,病例3的母亲未行 LHCGR 基因检测。

表 1 基础激素水平及 GnRHa 兴奋试验后促性腺激素水平

Table 1 Basal serum hormone levels and gonadotropins levels response to GnRHa stimulation

		FSH/(IU/L)	LH/(IU/L)	T/(ng/mL)	E2/(pg/mL)	P/(ng/mL)	17-OH-P/(ng/mL)	DHEAS/(μmol/L)	Δ ⁴ A/(nmol/L)
Patient 1	Baseline	0.14	0.15	2.21	/	/	0.32	0.41	< 1.05
	60 min	1.99	1.81						
Patient 3	Baseline	< 0.07	< 0.07	2.39	<10	0.2	0.95	0.35	< 1.05
	60 min	0.59	0.68						

FSH: Follicle-stimulating hormone; LH: Luteinizing hormone; T: testosterone; E2:17 β estradiol; P:progesterone; 17-OH-P:17-hydroxyprogesterone; DHEAS: dehydroepiandrosterone sulfate; Δ⁴A: androstenedione

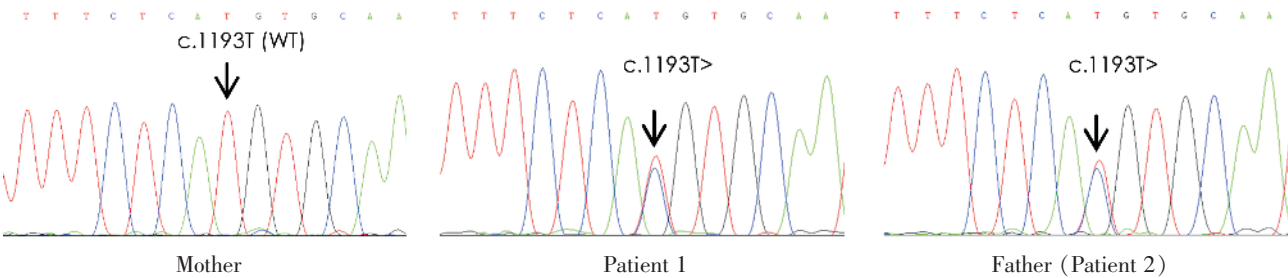


图 1 病例 1 家庭 LHCGR 基因第 11 外显子测序结果

Fig.1 Sequencing results of LHCGR gene exon 11 in the family of patient 1

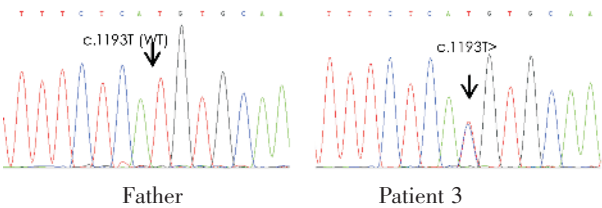


图 2 病例 2 家庭 LHCGR 基因第 11 外显子测序结果

Fig.2 Sequencing results of LHCGR gene exon 11 in the family of patient 3

3 讨 论

临床上同性性早熟的发病率男性显著低于女性,本院 21 年(1988 年 1 月至 2009 年 4 月)共诊断 78 例,其中外周性性早熟者较中枢性性早熟发病率更低,两者的比例为 23 : 55^[6]。除外源性性激素制剂的使用外,男童同性外周性性早熟需鉴别的病因包括: 睾丸源性 [家族性男性限性性早熟 (FMPP), leydig 细胞肿瘤, McCune-Albright 综合征等], 肾上腺源性 (肾上腺腺瘤、腺癌, 先天性肾上腺皮质增生症, 皮质类固醇激素抵抗综合征等) 和分泌 HCG 的肿瘤等。

FMPP 是由 LHCGR 基因杂合激活性突变所致

的男性同性外周性性早熟, 是一种常染色体显性遗传性疾病, 也有散发病例的报道。正常情况下, 促黄体激素 (luteinizing hormone, LH) 与睾丸 Leydig 细胞上的 LH 受体结合, 激活腺苷酸环化酶, 促使睾酮的合成增加。FMPP 患儿, LH 受体不需与配体 LH 的结合, 而呈持续性激活, 导致细胞内的非 LH 依赖性的 cAMP 增加, Leydig 细胞持续合成分泌睾酮。多数病例在 4 岁前 (多在 1-3 岁) 出现第二性征, 未治疗的病例由于骨骼过早闭合而导致成年矮身材。有报道提示, 此病患者成年后还可出现生育方面的问题^[7], 在成年患者睾丸活检提示曲细精管异常, 个别病例可表现为无精或少精并伴 FSH 增高。对家族性病例, 结合同性外周性性早熟和限于男性发病的显性遗传方式, 排除前述其他病因, FMPP 的诊断相对容易。对于散发病例, LHCGR 基因突变分析可作为一个有效的鉴别和早期诊断工具。

人类的 LH 受体蛋白属于 G 蛋白偶联受体家族, 由 674 个氨基酸残基组成蛋白分子骨架, 分为细胞外 N' 端结构域、7 个跨膜螺旋区和细胞内 C' 端结构域。LH 受体因可同时与 LH、HCG 结合, 因此也被称为 LH/CG 受体, 编码基因为 LHCGR。LHCGR 基因位于 2p21, 基因全长 70 kb, 包括 11

个外显子和 10 个内含子。目前发现 LHCGR 基因的突变可以是激活性的(可致男童 FMPP),也可以是失活性的(可致男性性分化障碍或女性无排卵)。

迄今,所有已知的 LHCGR 基因的激活性突变都是由单个碱基替换造成的错义突变^[8],共有 17 种,分别是 L368P、A373V、M398T、L457R、I542L、D564G、D564V、A568V、M571I、A572V、I575L、T577I、D578Y、D578G、D578E、C581R 和 2010 年由日本学者首次报道的 C617Y^[9]。在第 11 个外显子上第 1624 ~ 1741 核苷酸为 LHCGR 基因激活性点突变的热点区域,因此绝大部分突变发生在第 5 和第 6 个跨膜螺旋区或连接两者的胞浆环。其中最常见的突变是第 6 跨膜区第 578 位的天冬氨酸被甘氨酸代替(D578G),此突变最多见于美国的病例(占美国报道病例约 90%^[10]),欧洲罕有此突变的报道。LHCGR 基因的激活性点突变种类不多,而且不同的人种突变类型差异较大。一方面提示,只有在特定的区域发生突变才有致病性。同时,由于突变可以传递多代,如 D578G 在一美国家庭至少传了 9 代,使同一突变型可在某一人群传播甚广。中国的 FMPP 病例目前仅有一例经基因确诊的报道,因此本文的 3 例报道可作为中国 FMPP 病人 LHCGR 基因突变谱的补充。

本文 3 例病人均由同一突变所致,c.1193 T>C,导致 LH 受体第二个跨膜螺旋第 398 位的蛋氨酸(Met)被苏氨酸(Thr)所代替(M398T)。此突变在 1995 年由 Kraaij 等^[11]首次报道,2004 年 Fanelli 等^[12]在分子功能模型中证实。在已有的报道中并不常见,据 Reiter 在 2005 年的综述^[13],102 例 FMPP 病人中,由此突变所致的仅 8 例。迄今,此突变的报道不足 20 例,分别来自日本^[14-15]、波兰^[16]、德国^[17]、意大利^[18]、英国^[19]和中国^[3]等。患者中有家族性,也有散发病例的报道。如本文病例 1 家庭有典型的家族史,4 代中共有 7 人有类似病史。有趣的是,此突变呈不完全显性遗传,即并非所有携带此突变的男性都会发病,提示可能存在修饰基因,令此激活性突变沉默,具体机制仍需进一步研究。本文 3 例 FMPP 与此前报道的中国病例^[3]均由 LHCGR 基因 M398T 杂合突变所致,不同于美国和欧洲的热点突变。此突变是否中国 FMPP 病例的热点突变,及其与临床表型的关系如何尚需更多的病例积累。

对 FMPP 的治疗,除了缓解性早熟的症状,改善成年身高以外,还与其远期并发症的风险有关。FMPP 患者成年后除了前文提到的生育问题外,Martin 等^[20]在 1998 年报道了一例儿童期经 LHCGR 基因确诊(携带突变为 D578G)的 FMPP 病人,在 35 岁时诊断为睾丸精原细胞瘤。随后,陆续有 FMPP 病人成年期睾丸腺瘤^[21]、Leydig 细胞结节样增生^[22]等的报道,提示过早的高雄激素水平暴露可能增加睾丸肿瘤/肿瘤样疾病的风险。

治疗上,对于尚未继发中枢性性早熟的病例,既往常用的药物包括酮康唑、甲羟孕酮、环丙孕酮、螺内酯等。Soriano-Guillén 等^[23]应用酮康唑治疗 5 例 FMPP 的男孩,总疗程 5 ~ 10 年(中位数 6.2 年)。治疗期间所有病人的睾丸容积稳定,睾酮水平下降至青春前期水平。患者成年身高较治疗前预测增加 8 cm(173 cm vs 165 cm)。但由于酮康唑潜在的肝脏毒性等严重不良反应限制了其应用。甲羟孕酮、环丙孕酮也因 Cushing 样副作用和肾上腺皮质功能减退相关的疲乏、无力等症状限制了其长期用药。

新近有研究提示^[24],酮康唑和环丙孕酮疗效相近,但仅在部分病例有效,约 40% 患者最终不能达到遗传靶身高的范围。随着第三代芳香化酶抑制剂在儿科应用的成熟,目前推荐的治疗方案是联用芳香化酶抑制剂和抗雄激素制剂。由于 FMPP 患儿骨龄的加速源自睾酮在外周组织中的转化而来的雌二醇,芳香化酶抑制剂可有效的减少雌二醇的产生,进而减缓骨骼成熟和闭合,最终增加 FMPP 男童的成年身高。经过多项的随机对照研究,证实来曲唑^[25]或阿那曲唑^[26]均可有效减缓骨龄进展,从而较安慰剂组显著增加预测身高,而且临床耐受性较好。

抗雄激素制剂,以往常用螺内酯,由于其抗雄激素作用弱,因此需要较大剂量[2 ~ 5.7 mg/(kg·d)]、多次服药方能起效。同时,螺内酯具有弱的拮抗醛固酮的作用,因此长期使用可出现轻度的利尿作用,可伴有代谢性酸中毒和高钾血症。近年有学者提出试用非甾体类抗雄激素药物——比卡鲁胺^[27](Bicalutamide,商品名康士得),它没有其它激素的作用,与雄激素受体结合而使其无有效的基因表达,其半衰期长,每日只需服药 1 次。在美国已完成了联合应用比卡鲁胺和阿那曲唑治疗 FMPP 患儿的多中心 II 期临床试验^[28]($n = 14$,观

察期1年),结果提示可有效减慢生长速度且副作用少,最常见的副作用是男性乳房发育和乳房疼痛。比卡鲁胺的儿童长期应用的安全性还需更大样本和更长期的随访。

本文病例1和病例3诊断后均联用来曲唑和螺内酯治疗。病例1治疗6个月,阴茎无进一步增大,勃起消失,生长速度明显减慢至6 cm/年,未发现不良反应。值得注意的是,病例1的LH水平稍高,应注意继发中枢性性早熟(central precocious puberty, CPP)的可能,应密切随诊,确诊合并CPP后应加用促性腺激素释放激素类似物(GnRHa)治疗。病例3确定诊断后则因家长原因未能复诊。

综上所述,本文报道了3例由LHCGR基因M398T杂合突变所致的FMPP病例,可作为中国FMPP病人LHCGR基因突变谱和临床表现的补充。对散发型的FMPP, LHCGR基因突变分析可作为一个有效的鉴别工具。联用第三代芳香化酶抑制剂和抗雄激素制剂可有效缓解症状并改善成年身高。

参考文献:

- [1] Schedewie HK, Reiter EO, Beitins IZ, et al. Testicular Leydig cell hyperplasia as a cause of familial sexual precocity[J]. J Clin Endocr Metab, 1981, 52(2): 271-278.
- [2] Shenker A, Laue L, Kosugi S, et al. A constitutively activating mutation of the luteinizing hormone receptor in familial male precocious puberty[J]. Nature, 1993, 365(6447): 652-654.
- [3] 茅江峰, 伍学焱, 聂敏, 等. 生殖细胞系黄体生成素受体基因杂合突变(M398T)导致家族性男性性早熟[J]. 中华内科杂志, 2010, 49(12): 1024-1027.
- [4] Carel JC, Eugster EA, Rogol A, et al. Consensus Statement on the Use of Gonadotropin-Releasing Hormone Analogs in Children[J]. Pediatrics, 2009, 123(4): e752-e762.
- [5] 马华梅, 杜敏联, 陈红珊, 等. 促性腺激素释放激素类似物简易激发试验对性早熟诊断的评价[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2002, 18(4): 300-304.
- [6] 曾婷, 苏喆, 马华梅, 等. 男性儿童同性性早熟78例病因及临床分析[J]. 中国实用儿科杂志, 2011, 26(9): 695-698.
- [7] Reiter EO, Brown RS, Longcope C, et al. Male-limited familial precocious puberty in three generations. Apparent Leydig-cell autonomy and elevated glycoprotein hormone alpha subunit[J]. N Engl J Med, 1984, 311(8): 515-519.
- [8] 储明星, 冯涛, 狄冉, 等. 哺乳动物性早熟相关基因的研究进展[J]. 遗传, 2009, 31(1): 13-28.
- [9] Nagasaki K, Katsumata N, Ogawa Y, et al. Novel C617Y mutation in the 7th transmembrane segment of luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor in a Japanese boy with peripheral precocious puberty [J]. Endocrine J, 2010, 57(12): 1055-1060.
- [10] Laue L, Chan WY, Hsueh AJ, et al. Genetic heterogeneity of constitutively activating mutations of the human luteinizing hormone receptor in familial male-limited precocious puberty[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(6): 1906-1910.
- [11] Kraaij R, Post M, Kremer H, et al. A missense mutation in the second transmembrane segment of the luteinizing hormone receptor causes familial male-limited precocious puberty[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1995, 80(11): 3168-3172.
- [12] Fanelli F, Verhoef-Post M, Timmerman M, et al. Insight into mutation-induced activation of the luteinizing hormone receptor: molecular simulations predict the functional behavior of engineered mutants at M398[J]. Mol Endocrinol, 2004, 18(6): 1499-1508.
- [13] Reiter EO, Norjavaara E. Testotoxicosis: current viewpoint[J]. Pediatr Endocrinol Rev, 2005, 3(2): 77-86.
- [14] Shinagawa T, Katsumata N, Sato N, et al. Japanese familial patients with male-limited precocious puberty [J]. Endocr J, 2000, 47(6): 777-782.
- [15] Yano K, Kohn LD, Saji M, et al. A case of male-limited precocious puberty caused by a point mutation in the second transmembrane domain of the luteinizing hormone choriogonadotropin receptor gene[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1996, 220(3): 1036-1042.
- [16] Ignacak M, Hilczer M, Zarzycki J, et al. Substitution of M398T in the second transmembrane helix of the LH receptor in a patient with familial male-limited precocious puberty[J]. Endocr J, 2000, 47(5): 595-599.
- [17] Ignacak M, Starzyk J, Dziatkowiak H, et al. Study of the family of a patient with male-limited precocious puberty (MPP) due to T1193C transition in exon 11 of LH receptor gene[J]. J Endocrinol Invest, 2002, 25(3): 259-263.
- [18] Kremer H, Martens JW, van Reen M, et al. A limited

(下转第654页 to page 654)