

CLCN7 杂合突变常染色体显性遗传石骨症：突变与临床表型分析



何德奇¹, 尹卓娜², 李萍¹, 李婷婷¹, 徐子成¹, 金文胜^{1,*}

¹前海人寿广州总医院内分泌代谢科, 广东广州 511300

²广东省第二人民医院内分泌科, 广东广州 510220

摘要: 目的: 探讨报道常染色体显性遗传石骨症 2 型 (ADO2) 的 *CLCN7* 突变与临床表型之间的关系。方法: 描述两例患者的临床资料和基因分析结果, 结合文献复习, 绘制肽链突变位点图谱, 总结突变与表型的关系。根据临床表现分为轻型 (主要为骨关节痛和偶发骨折)、中型 (骨痛、多发骨折, 但无造血异常) 和重型 (在中型基础上出现造血异常)。结果: 两例患者一例为男性 30 岁起病轻型 ADO2, 仅仅表现为多年的关节疼痛, 无骨折; 另一例为男性 9 岁起病, 反复骨折并骨痛, 重度 X 线石骨症改变, 但没有贫血和脾肿大。基因分析发现突变分别为 c.2284C>T (E24)、p.R762W 和 c.856C>T (E10)、p.R286W。结合文献复习共有 42 个致病突变报道 (含本文新发现的 p.R762W), 临床表现为轻、中、重型各 33.3%、46.7% 和 20.0%, 先证者家系 58.8% 有单纯突变携带, 44.7% 有患病家族史。结论: *CLCN7* 杂合突变相关的 ADO2, 临床表型可覆盖单纯携带、轻型、中型和重型石骨症的广泛谱系。

关键词: 氯离子通道 7 基因; 常染色体显性石骨症; 基因突变; 基因型与表型; 突变检测

DOI: [10.57237/j.wjcm.2022.01.005](https://doi.org/10.57237/j.wjcm.2022.01.005)

Mutation and Phenotype Analysis in Patients with Osteopetrosis Caused by Loss-of-Function Mutation of *CLCN7* Single Allele

He Deqi¹, Yin Zhuona², Li Ping¹, Li Tingting¹, Xu Zicheng¹, Jin Wensheng^{1,*}

¹Department of Endocrinology and Metabolism, Foresea Insurance Guangzhou General Hospital, Guangzhou 511300, China

²Department of Endocrinology, the Second People's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou 510220, China

Abstract: Objective: To investigate the relationship between gene mutation and clinical phenotype in patients with autosomal dominant osteopetrosis type 2 (ADO2) caused by single allele mutation of *CLCN7*. Methods: The two ADO2 cases were clinically described in detail, *CLCN7* gene were screened by the next generation sequence assay, and validated by Sanger method. The hazard of mutations was evaluated on PolyPhen2 website. Literature review helped to browse and gather ADO2 cases with *CLCN7* data, accordingly all found *CLCN7* mutant loci were mapped on the peptide

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金资助 (A2021005).

*通信作者: 金文胜, Vincent301@163.com

收稿日期: 2022-09-06; 接受日期: 2022-10-17; 在线出版日期: 2022-12-15

<http://www.wjclinmed.com>

chain, and clinical presentations in each case were tentatively summarized corresponding gene mutation. Phenotype was classified as mild type, intermediate type and severe type according to the degree of clinical presentation. Mild type presents mainly with bone and/or joint pain and occasional bone fracture, intermediate type with additional multiple and recurrent bone fracture, sever type with hematopoietic dysfunction in addition to recurrent bone fractures. Results: The first case was a 30 year old man presenting as mild ADO2 with shorter stature than familial hereditary height, as well as back pain and knee joint pain for up-to nine years. The second case was a 13 year old boy who suffered from recurrent bone fractures since four years ago in addition to short stature and more severe bone pain, but had normal peripheral blood picture. His prominent bone change showed by X-Ray indicated a more typical and severe osteopetrosis than the former. Gene analysis indicated a mutation of c.2284C>T (E24), p.R762W in the first case and c.856C>T (E10), p.R286W in the second case. Literature review gathered 42 pathogenic mutations, mild, intermediate and severe clinical type account for 33.3%, 46.7% and 20.0%, respectively. Among family members of probands, 58.8% had unaffected mutation-carrier, and 44.7% had family history of the disease. Conclusions: In spite of single allele inactivation, *CLCN7* related ADO2 may cause highly various clinical phenotype of osteopetrosis, covering normal unaffected, mild, intermediate and severe conditions. The relationship between genotype and phenotype remains obscure in the disease.

Keywords: *CLCN7* Gene; Autosomal Dominant Osteopetrosis; Gene Mutation; Genotype and Phenotype; Mutation Detection

1 引言

正常骨结构的重塑对于骨骼力学支撑和骨髓腔造血功能发挥重要作用。与骨质疏松不同，骨重塑紊乱造成的硬化性骨病表现为骨量增多和骨结构紊乱，增加骨折和造血障碍的发病风险，其可以是成骨细胞功能亢进、破骨细胞功能减低或者此二种细胞的功能协调障碍引起，致使两种细胞的功能平衡发生异常。成骨细胞功能亢进疾病包括 LRP 基因活化突变导致的成年 1 型石骨症 (ADO1) 和骨硬化蛋白 (sclerostin) (在成骨细胞分化调节中对 LRP-WNT-Frizzled 蛋白复合体起阻遏调节作用) 失活突变导致的硬骨病 (sclerosteosis) 等。石骨症由破骨细胞功能低下和分化异常所致，前者相关的基因主要与破骨细胞的氯离子转运功能缺陷有关，包括 *TCIRG1*、*CLCN7*、*OSRM1*、*SNX10*、*PLEKHM1*、*CA2* 等基因的失活突变，后者相关的失活突变基因包括 *RANKL*、*RANK*、*NEMO* 等。破骨细胞分泌的组织蛋白酶 K (cathepsin K) 缺陷引起的是致密骨成骨不全 (pycnodysostosis) [1, 2]。

CLCN7 编码的氯离子通道蛋白 CLC-7 负责破骨细胞溶酶体氯离子转入，为破骨细胞局部溶骨的酸性环境形成所必须，其双等位基因突变异常引起婴儿起病的恶性型石骨症，即常染色体隐性遗传石骨症 (ARO)，单杂合突变异常则引起青年或成年起病的良性非进展性轻症石骨症，为常染色体显性遗传石骨症 2 型 (ADO2) (1 型是 LRP 活化突变导致的破骨细胞分化障碍型)

或 Albers-Schönberg 病 [1]。尚有一种临床症状处于二者之间的“中间型常染色体石骨症” (IAO)，可以是 *CLCN7* 双等位基因受损 (40%)，也可以是杂合受损 (60%) [3]。近年发现 *CLCN7* 杂合突变的 ADO2，临床表现可覆盖轻、中 (IAO) 重型 (类似 ARO)，婴儿、青少年、成年人发病、甚至老年人都可以发病 [4]。我们在此报道两例由不同 *CLCN7* 杂合失活突变导致的石骨症病例，并结合文献复习，总结 *CLCN7* 杂合突变及相应临床表现，以深化对此病的认识。

2 对象与方法

2.1 对象

2.1.1 病例 1

男性，39岁，技术军官，福建人，因四肢麻木并疼痛9年，腰痛5年，加重半年而于2015年10月10日入院。既往曾有慢性牙龈炎，无骨折史，正常婚育，自小身高生长不及兄妹，患者身高为165cm，父亲为175cm，母亲160cm，兄长178cm，妹165cm。查体：腰椎叩击痛，四肢关节伸展屈曲活动疼痛，右膝关节明显。

2.1.2 病例 2

男性，13岁，学生，广西人，因反复骨折4年，

关节疼痛 2 年余而于 2018 年 2 月 1 日入院。患者于 9 岁和 11 岁时摔倒后分别出现右肱骨和左足趾骨骨折。关节痛为持续性钝痛, 先后累及双膝和双髋, 运动受限, 休息不缓解, 当地 X 线检查考虑石骨症; 父身高 162cm, 母身高 159cm; 体型消瘦, 身高 160cm, BMI14.06, 双下肢呈 X 型。

2.2 方法

2.2.1 临床检查及随访

检测血常规、电解质、血清酶学、骨代谢指标、甲状腺激素和 25 羟维生素 D₃ 等, 对全身骨关节进行 X 线摄片, 双能 X 线骨密度仪检测骨密度, 使用 ECT 进行全身骨扫描, 并进行性骨组织活检。分别进行了 2 年和 4 个月随访。

2.2.2 二代高通量基因测序检测

在签署知情同意后收集患者白细胞 DNA, 按文献描述[5, 6]进行测序。检测的基因包括: LRP5、CLCN7、TCIRG1、TNFSF11、OSTM1、PLEKHM1、TNFRSF11A、SNX10、FAM123B、FAM20C、CA2。

2.2.3 Sanger 法测序验证

对高通量测序发现的阳性 *CLCN7* 突变位点进行 Sanger 法验证, PCR 引物如下, 前向引物: CTGCCGGGAGCTGAGAGTAAG, 逆向引物: GGCTTAGAGCTGAAGTCAAGGG, 扩增长度 330bp, PCR 产物用 ABI 3730XL 测序, 用 DNASTAR 软件分析, 与 mRNA 模版进行比较 (ATP8B1: NM_001287)。

2.2.4 突变蛋白危害性预测

使用 PolyPhen2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) 进行突变蛋白危害性检测。

2.2.5 文献复习

使用“osteopetrosis”、“*CLCN7 gene*”、“sclerosis”、“sclerotic bone disease”在 pubmed 检索英文文献, 使用“石骨症”、“*CLCN7*”、“*CLCN7 基因*”在中国医院知识总库 CHKD 和万方医学网中华医学会杂志数据库检索中文文献, 筛选 *CLCN7* 相关的 ADO2, 并通过参考

文献追踪补充检索, 删除重复报道的病例; 依据 Unipro 网站提供 *CLCN7* 编码蛋白质结构标注致病性杂合突变位点, 统计不同突变位点相应临床表现和家族史情况。轻型石骨症定义为仅有 X 线表现, 或者合并骨关节疼痛症状、一般不发生或偶发骨折 (相当于轻型 ADO2); 中型定义为多发或频发骨折, X 线表现明显, 可以有骨髓炎, 但没有造血障碍 (相当于 IAO); 重型定义为重度 X 线表现、多发骨折和骨髓炎、肝脾肿大、骨髓造血障碍或者进行过骨髓移植 (相当于恶性型 ARO)。

3 结果

3.1 临床检查及随访

3.1.1 病例 1

实验室检查血常规、钙磷镁、酸碱平衡、尿 pH 值正常, CK-MB 60~72U/L (正常<25), 余血清酶正常; 甲状腺激素 (PTH)、总 1 型胶原氨基端前肽 (TP1NP)、β 胶原降解产物 (β-CTX)、N 端骨钙素 (N-MID) 及 25 羟维生素 D₃ 多次检查正常, 血气分析未见酸中毒; 超声未见肝脾肿大; X 线显示全身广泛性骨密度升高, 骨皮质增厚、骨髓腔轻度变窄, 脊柱椎体轻度“夹心征” [图 1a、b]; 全身骨扫描显示肩、髋、膝关节对称性放射性摄取增加、代谢活跃 [图 1c][7]。双能 X 线骨密度检查显示腰椎 1 到 4 骨矿物密度 (BMD) 为 1.668, T 值为 4.9, Z 值为 5.2, 左股骨颈 BMD、T 值和 Z 值分别为 1.616、4.9、5.2, 左股骨上端分别为 1.770、6.0、6.1。骨活检显示“骨小梁软骨成分及软骨成骨样改变” [图 2]。给予间断小剂量地塞米松和骨化三醇治疗, 症状明显改善, 随访到 2017 年 11 月症状略有反复, 停用地塞米松, 予骨化三醇和氨基葡萄糖治疗, 复查骨密度无明显改善。

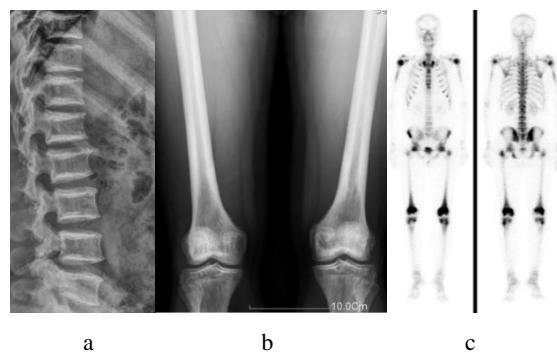


图 1 病例 1 腰椎呈轻度夹心征 (a), 病例 1 双侧股骨骨皮质增厚, 骨密度增加, 骨髓腔变窄 (b), 骨扫描显示对称性多个骨关节放射性摄取增加 (c)

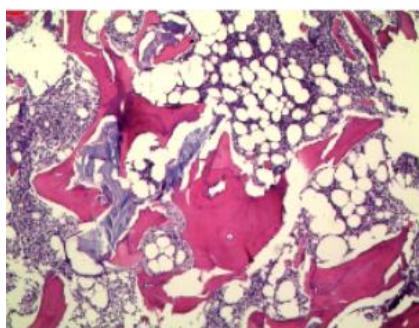


图 2 病例 1 股骨外侧髁穿刺活检：骨髓造血组织未见异常，骨小梁可见软骨成分及软骨样改变。

3.1.2 病例 2

血红蛋白 (Hb) 96g/L (小细胞低色素)，白细胞和血小板正常，红细胞脆性 50% (正常 68~100%，下同)，谷丙转氨酶 (GPT) 15U/L (0~40)，谷草转氨酶 (GOT) 96~121U/L (0~50)，碱性磷酸酶 (ALP) 191U/L (<125)，乳酸脱氢酶 (LDH) 873~972U/L (<245)，同时肌酸激酶 (CK) 684~1657U/L (0~200)，CK-MB 625~1240U/L (0~25)，LDH 同工酶 87U/L (23~72)， α -羟丁酸脱氢酶 (α -HBDH) 660~702U/L (72~182)，尿酸 543 μ mol/mol/L，肌酐 42 μ mol/L，血气分析无酸中毒，血钙 2.04~2.18mmol/L (白蛋白 42.4g/L)，血磷 1.96~2.06mmol/L (0.97~1.62)，同步 24 小时尿磷 9.0mmol (80~113)，甲状腺旁腺激素 (PTH) 15.16pmol/L (1.6~6.9)，TP1NP 1200 μ g/L (<78.2)，N-MID 和 β -CTX 正常，25 羟 D₃ 36.7nmol/L (25~200)，心电图示窦性心律不齐，ECT 肾小球滤过率 (GFR) 107.17ml/min，双侧对称。X 线显示双股骨、双膝关节、双胫、腓骨诸骨骨质密度增高，近骨端及关节面呈明显膨胀性改变，骨髓腔不清，双髂骨纹理呈同心圆改变，双侧髌骨关节及髋关节间隙模糊，双膝双踝关节间隙模糊，关节关系正常，腰椎呈“夹心椎”改变[图 3]。予布洛芬和氨基葡萄糖等治疗，随访 4 个月症状轻微改善。



图 3 病例 2 骨盆骨骨密度显著增加 (a)，膝关节上下相关骨骼干骺端骨质增生，骨量增加，骨髓腔消失，可见横行条纹 (b)，肘关节可见相关骨骼干骺端骨量增加，骨密度升高，骨髓腔消失 (c)，脊柱椎体明显的夹心征样改变 (d)

3.2 突变基因检测

二代高通量相关基因测序发现两例患者均为 *CLCN7* 突变，Sanger 法证实。病例 1 突变为 c.2284C>T (E24)，p.R762W [图 4]，未检测家系成员。病例 2 患者突变为 c.856C>T (E10)，p.R286W，母亲携带同一突变，父亲为野生型 [图 5 及图 6]。

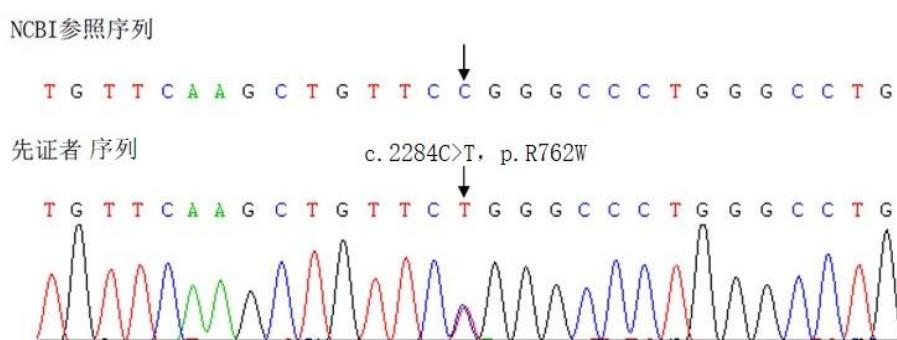


图 4 病例 1 基因突变检测结果：c.2284C>T, p.R762W，为新发现的 ADO2 致病突变

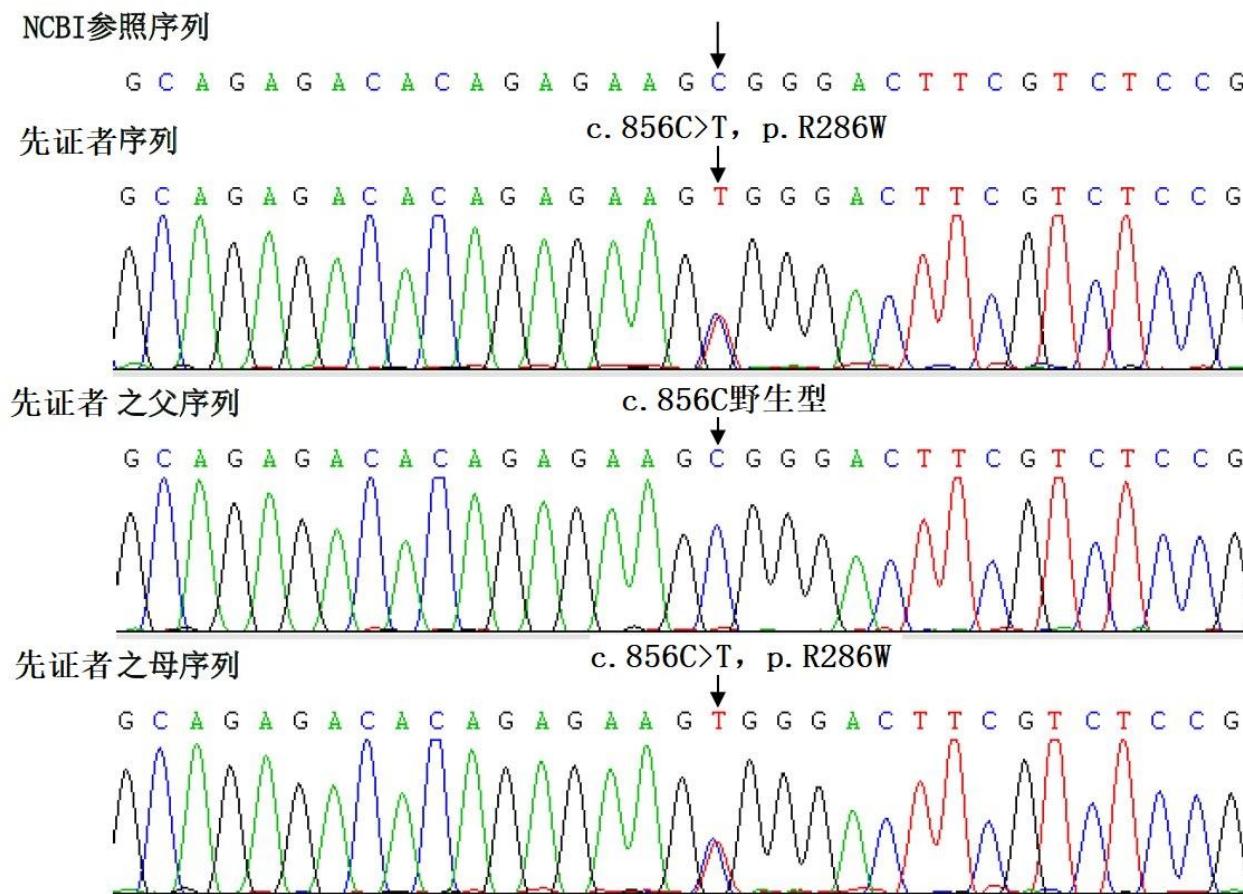


图 5 病例 2. Sanger 法测序确认结果: 先证者变异为 c. C856T, p. R286W, 其母亲携带同一变异, 而父亲为野生型。

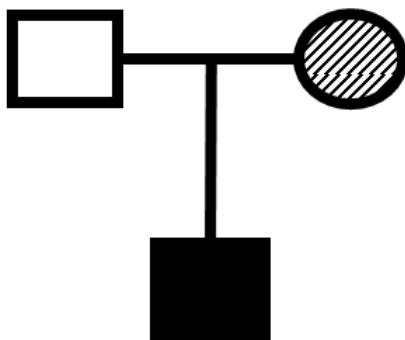


图 6 病例 2 家系, 患者母亲 p. R286W 杂合突变健康携带, 但其儿子因同一突变而患病

3.3 蛋白质危害检测

PolyPhen-2 检测 p.Arg762Trp 显示其以 0.999 的分值预测为有害, 敏感性为 0.14, 特异性为 0.99, p.Arg286Trp 的有害性预测分值为 1.0, 敏感性为 0, 特异性为 1。

3.4 文献复习

总共发现有 42 个碱基突变位点的报道, 错义突变 36 个, 终止突变 1 个, 移码突变 3 个, 剪接位点突变 2 个[9, 16-32]。本文发现的 p.R286W 既往已有报道, p.R762W 在复合杂合突变所致的 ARO 有报道, 在 ADO2 无[图 7, 表 1]。从表 1 中可以看出, 患病年龄跨度较大, 最小的 1 岁以内起病, 最大的 75 岁患病, 重症病例可以出现在各个年龄, 包括 1 例 75 岁的患者。对收集到的临床资料总结见表 2, 临床表现轻中重各占 33.3%、46.7% 和 20.0%, 此外 58.8% (20/34) 先证者家族中有一个或多个单纯突变携带个体, 44.7% (17/38) 有至少 1 例的患病家族史, 患病的轻重程度可以与先证者不一致。热点突变 G215R、R286W 都有散发病例, 而 R767W3 例均有家族患病存在。

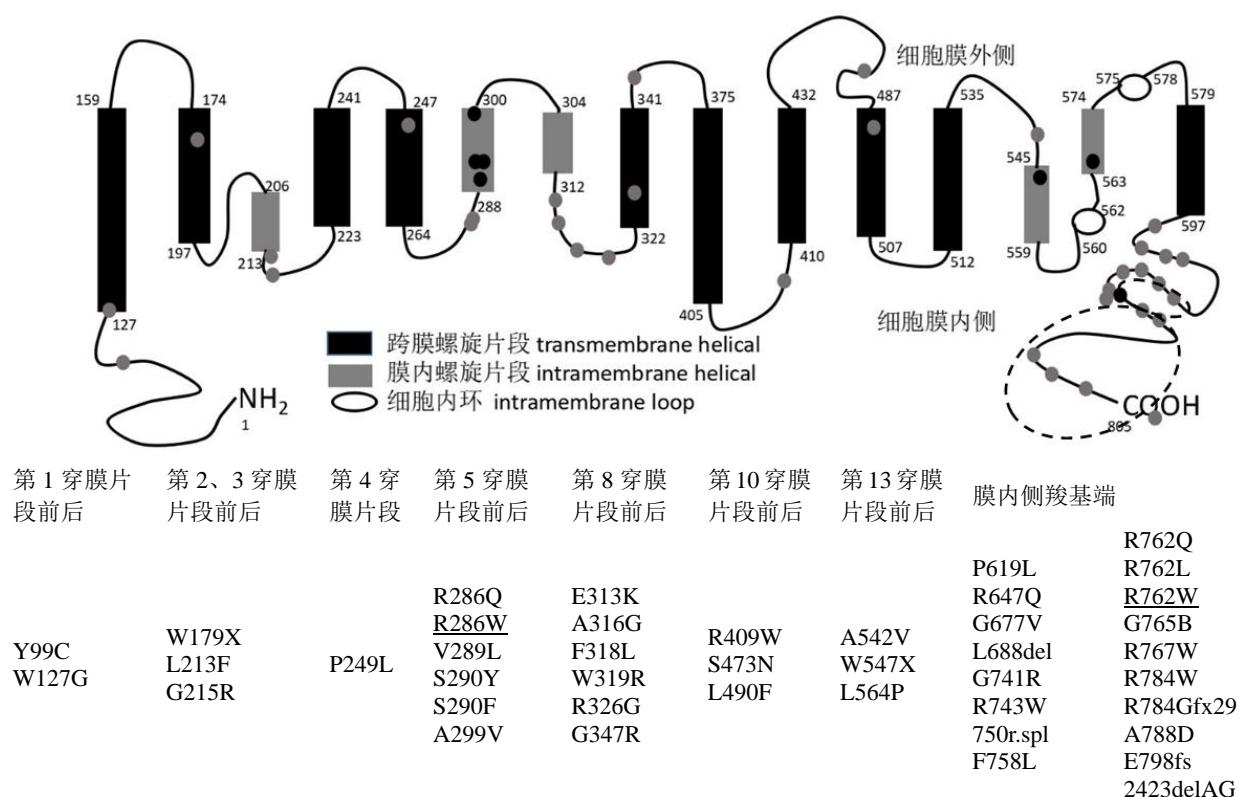


图7 致石骨症的CLCN7杂合突变总结,列出的突变置换分别对应图中的氨基酸结构(总共有15个穿膜片段)所在区域。其中R286W和R762W为本研究发现,均既往有报道。虚线椭圆为631-695的CBS1功能区和741-799的CBS2功能区。

表1 突变位点及临床表现

	氨基酸	起病或诊断年龄	病情	携带家族史	患病家族史	参考文献
1	Y99C	5	中		父	23
2	W127G	2	轻	父		18
3	W179X	<1	重	-	-	24
4	L213F	11	轻		父	25
		1例无可记载资料				
5	G215R	<1	重	-	-	24
		<1	重	祖母	父轻型	24
		2	中		+	9
		51	中			22
		49	中(并RTA)	3个	11个	9
		4例无可记载资料				
6	P249L	75	重			16
7	R286Q	8	中	-	-	24
		1例无可记载资料				
8	R286W	6	中	母	-	19
		38	中	-	-	20
		6	中			26
		2例无可记载资料				
		9	中	母	-	本文
9	V289L	35	轻	母妹	-	23
10	S290Y	33	中	-	-	19
11	S290F	8	中	-	-	18
12	A299V	12	轻	母	-	22
13	E313K	11	中	母	妹	18

	氨基酸	起病或诊断年龄	病情	携带家族史	患病家族史	参考文献
14	A316G	10	中	-	-	18
15	F318L			2 例	6 例从儿童到老年	17
16	W319R	75	重			22
17	R326G	12	中(合并佝偻病)		+	19
18	G347R	7	轻	母	-	19
19	R409W	8	重	父叔	兄轻症, 姐可疑	27
20	S473N	46	轻	-	-	19
21	P481L	31	轻	母	-	28
22	L490F	<1	重			24
23	A542V	<1	中, 骨畸形	父	-	23
24	W547X	14	中		-	15
25	L564P	24	轻	-	-	19
26	P619L	43	轻	-	-	29
27	R674Q	27	轻	母姨	子重型, 合并另一等位基因 V418M	30
28	G677V	<1	中		多个	24
29	L688del	1 例无可记载资料				16
30	G741R	11	中	父妹	-	18
31	R743W	31	重	-	-	18
		31	中	-	-	18
32	G750r.spl	1 例无可记载资料				17
33	F758L	1 例无可记载资料				17
34	R762Q			母	女重型	17
35	R762W	30	轻			本文
	R762Q	<1	重	母		17
36	R762L	1 例无可记载资料				21
37	G765B	1 例无可记载资料				16
38	R767W	33	轻	父、子	+	18
		34	中	-	子	18
				-	3 例	17
		2 例无可记载资料				16,21
39	R784W	33	轻		多个	25
	R784GfsX29	22	轻			31
40	A788D	16	轻	父、姑	姑妈之子	32
41	E798fs	17	中	父		18
42	2423delAG	1 例无可记载资料				16

注:1.轻型: 指在 X 光表现基础上, 仅有临床骨关节疼痛症状, 合并或不合并偶发骨折, 中型: 指有多发骨折、骨髓炎, 明显的 X 光改变, 可以合并有颅神经异常, 重型: 除了前述临床表现, 尚有骨髓造血不足, 三系减少, 肝脾肿大, 需要骨髓移植治疗。2.空白为资料未获得。

表 2 CLCN7 杂合突变石骨症临床表现总结

年龄	n	轻型	中型	重型
~1	7	0	2	5
1-10	11	2	8	1
11-20	8	3	5	0
21~	19	10	6	3
合计	45	15	21	9
占总数%	100	33.3	46.7	20.0

骨症即 ARO 的病例, 并利用小鼠基因消除模型验证了 CLCN7 突变与石骨症的关联。CLCN7 相关 ADO2 临床表现以跨度很大, 主要包括: 骨重塑异常引起的骨关节炎性疼痛, 颅骨过度生长对颅神经空压迫损害颅神经功能, 视网膜和视神经退变, 骨重塑异常导致生长不足, 重症患者在生长过程中颅骨不能重塑而限制脑发育的空间, 骨吸收不足致钙磷减低并继发性甲旁亢, 陈旧骨堆积出现骨密度增加和骨髓炎(特别是口腔周围骨如下颌骨和牙齿发育不良), 同时力学应变能力减低, 反复骨折, 过多陈旧骨组织挤占骨髓腔空间引起造血障碍, 髓外造血增加、肝脾肿大。严重的病例

4 讨论

2001 年 Komak 等[8]报道 12 例婴儿起病的恶性石

可以出现原发性的脑和神经功能异常，少数肾脏酸化功能受累（类似于 CAII 突变相关的石骨症）[9]。本文病例 1 具有轻型 ADO2 的典型特点，成年起病、骨性关节炎、骨密度增加、骨扫描对称性关节异常，尚有明显的生长不足，无骨髓炎、骨折、血钙减低和继发性甲旁亢，血三系细细胞和骨酶学正常。骨活检提示软骨成份增加，提示在生长过程中依赖破骨细胞对软骨细胞降解的骨转换功能障碍，导致生长板软骨内成骨不足 [10]，这可以解释身高生长不足。另一例患者症状更为明显，除了有多发性骨折和骨痛、典型的 X 线表现之外，还有酶学的显著升高，尤其是 LDH 及其同工酶、CK 及其同工酶和 α -HBDH 升高显著。CLC-7 分布广泛，除了在破骨细胞表达，还在肌肉、神经肝脏等组织表达[11]。Whyte 等[12]认为，CLC-7 缺陷导致的酶学水平的升高，不能仅仅用骨代谢异常和神经功能受损解释，而可能是多种组织出现功能异常的表现，尤其是 LDH 水平的升高，有助于与其他原因的石骨症鉴别，也就是 LDH 等酶学水平的改变是 CLC-7 缺陷石骨症的特异性表现[9]。

既往报道多为轻型，人群报道发现其可表现为中重型，对既往 ADO2 报道的统计发现，轻型只占 1/3，中型（46.7%）和重型（20.0%）占 2/3。重型其发病年龄跨度可以从早年到老年，9 例重型患者中 1 岁以内起病的 5 例，1~10 岁 1 例，21 岁或以上 3 例，最大的 75 岁。2007 年 Waguestack 等[4]在 11 个家系 311 个成员中筛选出 94 例 CLCN7 杂合突变，其中 62 例患病（18 岁以下和以上分别为 19 和 43 例），患者中患病年龄 9 个月到 79 岁，平均诊断年龄 15.2 岁（出生到 68 岁），但需要骨髓移植的重型病例只有 2 例（3%）（分别为 14 岁和 31 岁），重度骨折 27%（18 岁以下组为 16%，18 岁以上组为 33%）（大致代表中型），轻型病例 70%；6 例病人有 30 年的随访资料，1 例维持单纯携带，2 例无症状进展到轻型，2 例轻型进展到重型，1 例重型维持生存。本文的统计中重型病例较多，与统计病例对象不同有关。特别是中重型 ADO2 较多，类似两个等位基因受损。临床表型的差异可能与突变位点有关，但更多与突变体的表达产物有关，即这种突变产生了所谓的“显性负调控效应”，突变体可以在 mRNA 和/或蛋白水平对另一条染色体上的野生型基因进行负调控，如其 mRNA 发挥 miRNA 的调控作用，或者其蛋白产物负调控另一个野生型单倍体基因（这两种情况叫做跨 DNA 链调控，trans-acting），或与野生型蛋白形成二聚体，与野生型产物竞争调控下游信号分子，干扰

野生型基因的功能[13]。还有一种可能是所谓的“单倍体不足”[14]，杂合缺陷时，野生型等位基因出现代偿，由于个体的差异，当这种代偿能力不充分，从而单倍体功能下降，而代偿充分的则表现为正常。当出现严重的显性负调控效应或者严重的单倍体代偿不足时，则表现为重型，类似 ARO 的表型。统计显示，先证者家系中存在单纯携带者概率为 58.8%，至少一例患病的概率是 44.7%。家系突变人群分析[4]显示，携带致病性突变的个体中大致有三分之二患病，三分之一正常。如果存在突变体的 mRNA 和蛋白表达的对野生型基因调控的干扰效应，则截断型表达或剪接异常的临床病情或许可以更轻（剪接异常产生的 mRNA 也可能发挥 miRNA 的作用）。W547X 表现为中型[15]，14 岁骨折，X 线表现显著异常，L688del [16]和 G750r.spl[17]没有临床情况的记载，E798fs [18]表现为 17 岁起病的中型病例，患者父有健康携带。这资料显然不足以说明完整表达的突变体较不完整表达的突变体有更强的显性负调控作用。总之，单倍体不足并充分代偿表现为单纯突变携带，不充分代偿则表现为轻型 ADO2，如果出现了“显性负调控”效应，对另一个等位基因产生不完全或完全抑制，则临床表现为中重型。

意大利 Pangrazio 等[17]2010 年报告了包含 p.R762W 突变在内的复合杂合突变型婴儿 ARO，另一个为等位基因突变为 c.1617+6_1617+7delTG，提示 p.R762W 杂合缺陷可能致病，但既往未有致 ADO2 报道，故本研究 p.R762W 为新的 ADO2 致病性突变位点，病情轻型。此位点的另一个杂合突变 p.R762Q 则表现重型，患者出生后 2 个月眼球震颤，5 岁出现进行性贫血和肝脾肿大，7 岁时候因 X 线检查确诊，其母亲到 33 岁时仍然表现为同一突变健康携带[17]。病例 2 的 p.R286W 杂合突变临床表现较重，属于 IAO 型。p.R286W 在既往有多个报道[16, 19-21]，其中两例分别为 6 岁[19]和 38 岁[20]起病，临床表现均为 IAO 型，6 岁起病的病例其母亲单纯携带。提示这个位点的杂合突变目前主要是引起中度病情的石骨症，但也可以不致病。

结合文献复习发现，CLCN7 杂合突变引起的轻、中、重型 ADO2 构成分别是 33.3%、46.7% 和 20%；起病年龄横跨各个年龄段，既有出生后婴儿期患者，也有成年患者。有意思的是最大的 75 岁患者表现为重型（p.W319R）[22]。Waguestack 等[4]统计的 11 个家系中最常见的突变位点是 R286W、G215R 和 R767W，分别占到 42%、31% 和 19%。R767W 主要是轻度骨折，另二者则是多发性骨折，其中一例 G251R 进行了骨髓

移植。我们文献复习中两例 R767W 轻中型各有一例, G215R 两例中型两例重型, R286W 三例均为重型, 本文总结的突变表型与文献报道相符合。

5 结论

本研究介绍了两个严重程度明显不同的 *CLCN7* 杂合突变引起的石骨症, 文献复习发现, *CLCN7* 杂合突变石骨症或 ADO2, 既可以临床表现为单纯突变携带并具有家族遗传性, 可以表现为轻型病例, 也有相当部分表现为中型和重型病例。但目前对突变位点和突变类型与临床表型之间的关联机制并不清楚。

参考文献

- [1] Stark Z and Savarirayan R. Osteopetrosis. Orphanet Journal of Rare Diseases [J], 2009, 4:5. DOI: 10.1186/1750-1172-4-5.
- [2] Sobacchi C, Schulz A, Coxon FP, et al. Osteopetrosis: genetics, treatment and new insights into osteoclast function [J]. Nat Rev Endocrinol, 2013, 9: 522–536, DOI: 10.1038/nrendo.2013.137.
- [3] Sobacchi C, Villa A, Schulz A, et al. CLCN7-Related osteopetrosis. GeneReviews® [Internet]. Initial Posting: February 12, 2007; Last Update: June 9, 2016. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1127/>
- [4] 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.
- [5] 金文胜, 郭燕燕, 李红梅, 等. 两个新的分别来自父母的 SLC26A4 的突变导致复合杂合突变型甲状腺耳聋综合症 [J]. 中国医师杂志, 2017, 19 (6): 919-921. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2017.06.036.
- [6] 金文胜, 郭燕燕, 宋丹丹, 等. 一个新的 AVPR2 基因缺失-框移突变所致的 X 连锁肾性尿崩症家系 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2017, 33 (7): 602-604. DOI: 3760/cma.j.issn.1000-6699.2017.07.013.
- [7] Zheng LC, Ou Yang XL, Liu GC, et al. 99Tcm-MDP imaging of osteopetrosis case report [J]. Medicine, 2015, 94 (22): e929. DOI: 10.1097/MD.0000000000000929
- [8] Kormak U, Kasper D, Bosl MR, et al. Loss of the ClC-7 chloride channel Leads to osteopetrosis in mice and man [J]. Cell, 2001, 104, 205–215.
- [9] 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. DOI: 10.1002/ajmg.a.37755.
- [10] Mackie EJ, Ahmed YA, Tataczuch L, et al. Endochondral ossification: how cartilage is converted into bone in the developing skeleton [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2008, 40 (1): 46-62. DOI: 10.1016/j.biocel.2007.06.009.
- [11] Thomas J, Jentsch. Discovery of CLC transport proteins: cloning, structure, function and pathophysiology [J]. J Physiol, 2015, 593 (18): 4091–4109. DOI: 10.1113/JP270043.
- [12] Whyte MP, Kempa LG, McAlister WH, et al. Elevated serum lactate dehydrogenase isoenzymes and aspartate transaminase distinguish Albers-Schnberg disease (chloride channel 7 deficiency osteopetrosis) among the sclerosing bone disorders [J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2010, 25 (11): 2515–2526. DOI: 10.1002/jbmr.130.
- [13] Veitia RA. Exploring the molecular etiology of dominant-negative mutations [J]. Plant Cell, 2007, 19 (12): 3843–3851. DOI: 10.1105/tpc.107.055053
- [14] Seidman JG and Seidman C. Transcription factor haploinsufficiency: when half a loaf is not enough [J]. J Clin Invest, 2002, 109 (4): 451–455. DOI: 10.1172/JCI15043.
- [15] 曾好, 蒋丹华, 陈明晖, 等. 三个石骨症致病基因内的新突变及其基因型-表型 [J]. 中山大学学报(医学科学版), 2016, 37 (5): 657-665. DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ.med.sci).2016.0316
- [16] Cleiren E, Bélichou 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.
- [17] Pangrazio A, Pusch M, Caldana E, et al. Molecular and clinical heterogeneity in CLCN7-dependent osteopetrosis: report of 20 novel mutations [J]. Hum Mutat, 2010, 31 (1): E1071-80. DOI: 10.1002/humu.21167.19
- [18] 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. DOI: 10.1007/s00774-011-0319-z.
- [19] 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. DOI: 10.1007/s00198-015-3320-x.
- [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): 416-20. DOI: 10.1016/j.jcms.2011.07.014.

- [21] Waguespack SG, Koller DL, White KE, et al. Chloride channel 7 (CLCN7) gene mutations and autosomal dominant osteopetrosis, type II [J]. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(8):1513-1518.
- [22] Zheng H, Zhang Z, He JW, et al. Identification of two novel CLCN7 gene mutations in three Chinese families with autosomal dominant osteopetrosis type II [J]. *Joint Bone Spine*, 2014, 81 (2): 188-189. DOI: 10.1016/j.jbspin.2013.06.014.
- [23] Zheng H, Shao C, Zheng Y, et al. Two novel mutations of CLCN7 gene in Chinese families with autosomal dominant osteopetrosis (type II) [J]. *J Bone Miner Metab*, 2016, 34 (4): 440-446. DOI: 10.1007/s00774-015-0682-2.
- [24] 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): 1740-7. DOI:10.1359/jbm.2003.18.10.1740
- [25] Deng H, He D, Rong P, et al. Novel CLCN7 mutation identified in a Han Chinese family with autosomal dominant osteopetrosis-2 [J]. *Mol Pain*, 2016, 12:1-7. DOI: 10.1177/1744806916652628.
- [26] 赵万民, 段小红. 骨硬化症患者CLCN7基因突变的生物信息学分析 [J]. 口腔生物医学, 2017, 8 (1): 1-6. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8603.2017.01.001.
- [27] Rashid BM, Rashid NG, Schulz A, et al. A novel missense mutation in the CLCN7 gene linked to benign autosomal dominant osteopetrosis: a case series [J]. *J Med Case Rep*, 2013, 7:7. DOI: 10.1186/1752-1947-7-7.
- [28] 宋玉文, 徐晓杰, 吕芳, 等. CLCN7 基因突变致常染色体显性遗传骨硬化症: 1 例家系研究 [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志. 2017, 10 (4): 328-335.
- [29] Chen X, Zhang K, Hock J, et al. Enhanced but hypofunctional osteoclastogenesis in an autosomal dominant osteopetrosis type II case carrying a c.1856C4T mutation in CLCN7 [J]. *Bone Research*, 2016, 4: 16035. DOI: 10.1038/boneres.2016.35.
- [30] Campos-Xavier AB, Casanova JL, Doumaz Y, et al. Intrafamilial phenotypic variability of osteopetrosis due to chloride channel 7 (CLCN7) mutations [J]. *Am J Med Genet A*, 2005, 133A (2): 216-8. DOI: 10.1002/ajmg.a.3049025.
- [31] 李晓刚, 苏楠, 李灿, 等. 一例II型常染色体显性骨硬化症患者氯离子蛋白通道 7 基因突变分析 [J]. 中华医学遗传学杂志. 2014, 31 (5): 612-614.
- [32] Letizia C, Taranta A, Migliaccio S, et al. Type II benign osteopetrosis (Albers-Schönberg disease) caused by a novel mutation in CLCN7 presenting with unusual clinical manifestations [J]. *Calcif Tissue Int*, 2004, 74 (1): 42-6. DOI: 10.1007/s00223-002-1087-5.