

# ACAN 基因变异致矮身材家系临床和遗传学分析

洪卓青<sup>1</sup>, 李玛丽<sup>2</sup>, 汪治华<sup>2</sup>

1. 西安医学院, 陕西 西安 710000; 2. 西安市儿童医院, 内分泌遗传代谢科

**关键词:** 矮小症; ACAN 基因; 遗传学分析

中图分类号: R725.8

文献标识码: C

文章编号: 1008-6579(2024)02-0228-05

doi: 10. 11852/zgetbjzz2023-0079

矮小症是指身高处于同年龄、同性别正常健康儿童生长曲线第 3 百分位( $P_3$ )或低于平均数两个标准差, 临床上以特发性矮小(idiopathic short stature, ISS)最常见, 表现为均匀性身材矮小, 智力发育正常, 病因以遗传和环境因素占多数。随着基因检测技术的不断提高, 越来越多的矮小致病基因被发现, 最常见的是 *SHOX* 单倍体不足, 占 ISS 病例的 2%~3%<sup>[1]</sup>。一项来自中国的大型 ISS 队列研究首次证明<sup>[2]</sup>, 矮小患者和家族亚队列中 *ACAN* 基因突变的患病率分别为 1.2% 和 3.5%, 且矮小的严重程度与突变类型无关。现对 1 例 *ACAN* 基因变异导致家族性身材矮小(familial short stature, FSS)家系进行回顾分析。

## 1 对象和方法

1.1 对象 先证者, 女, 9 岁 3 个月, 发现身高偏矮 4 年。5 岁开始生长速度落后于同龄儿, 具体年增长率未测量。为 G3P1 产(第 1 胎人工流产, 第 2 胎自然流产), 足月顺产; 母亲妊娠早期服用“中成药”保胎治疗。孕晚期彩超示羊水过少、浑浊, 胎盘老化, 分娩时胎心监护异常, 产程延长。出生体重 2.7 kg, 身长 50 cm; 生后查心脏彩超示卵圆孔未闭(3 岁复查已闭合); 眼科检查示右眼角膜皮样瘤, 视力较弱, 定期随诊于西安市某医院, 2021 年 7 月行右眼角膜移植术, 术后视力好转。体格检查: 身高 111.2 cm ( $-3s$ ), 体重 26.7 kg, 坐高 62.5 cm, 指间距 110 cm, 前额隆起, 发际线偏后, 面中部发育不全, 双侧颜面不对称, 左侧面部较右侧偏大(见图 1); 右眼颞下方周边角膜可见一椭圆形白色浑浊区(见图 2); 鼻梁稍低平, 口角向右偏斜, 伸舌居中, 牙齿排列不整齐, 可见龅齿, 双耳无后旋, 双手足无短指畸形, 无宽大

趾及短拇指, 胸腰椎前凸, 双侧乳房 Tanner I 期, 外阴幼女型, 无阴毛及腋毛。



图 1 双侧颜面不对称

Fig. 1 Bilateral facial asymmetry



图 2 右眼角膜皮样瘤

Fig. 2 Corneal dermoid tumor of right eye

家族史: 先证者父母身高 150 cm/155 cm, 均体健, 否认近亲婚配。父亲自幼匀速生长; 母亲自幼生长速度较同龄儿偏慢, 初潮年龄 13 岁; 先证者祖父兄弟共 4 人, 身高均为 140~150 cm。祖父母身高 140 cm/155 cm; 姑姑身高 145 cm, 已婚未育; 叔叔身高 145 cm, 未婚。家系图见图 3。先证者父母及祖父、姑姑、叔叔均身材矮小, 无颈部缩短及腰椎前突的表现, 下肢无明显短小, 无明显面部特征(前额隆

**作者简介:** 洪卓青(1990-), 女, 山西人, 主治医师, 硕士研究生在读, 主要研究方向为内分泌遗传代谢疾病。

**通信作者:** 汪治华, E-mail: xasetyy@126.com; 李玛丽, E-mail: ygtq2008@yeah.net

起、双侧颜面不对称、扁平鼻梁等)改变;其姑姑、叔叔自幼生长速度较同龄人偏慢,但青春期发育时间均正常。

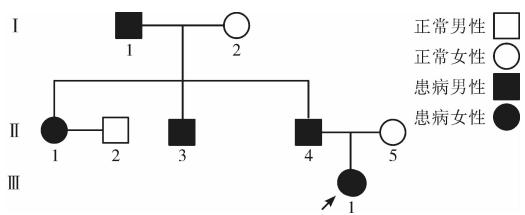


图 3 ACAN 基因变异导致家族性身材矮小的家系图

Fig. 3 Family tree chart of idiopathic short stature by ACAN genetic mutation

1.2 临床资料收集 临床资料包括现病史、既往史、生长发育史、家族史、临床表现及辅助检查等。以及先证者父母及祖父、姑姑、叔叔的身高及基因检测结果,姑姑和叔叔的生长发育情况。本研究经西安市儿童医院伦理委员会审查批准(批号:论20230037),所有检测均通过患者家属同意,并签署知情同意书。

1.3 全外显子组基因检测及 Sanger 测序 采集先证者及家系相关成员外周血各 3mL 置于 EDTA 抗凝管中,提取基因组 DNA,构建基因组文库。通过探针杂交捕获目标基因外显子及毗邻剪接区域(约 20bp),以及线粒体基因组全长,并进行富集。对其家系成员进行 Sanger 测序,并将测序结果与参考序列进行比对,寻找基因变异位点。参考美国医学遗传学和基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)遗传变异分类标准与指南,综合判断变异的致病性。

1.4 生长激素激发试验 清晨空腹状态下,给予可乐定(4ng/kg)及精氨酸(0.5g/kg),同时给药(复合刺激),每 30min 抽血 1 次,加上用药前(0min)共抽血 5 次。

2 结果

2.1 实验室检查结果 血常规、生长因子结合蛋白-3、性激素系列、胰岛素、肝肾功、电解质、甲状腺 7 项、癌胚抗原等指标均正常。生长激素激发试验结果提示为生长激素完全缺乏。见表 1。先证者 GH 试验不能完全排除假阳性的结果,除了上述提及的影响因素外,如生长激素(growth hormone, GH)激发试验不能反映生理状态下 GH 的分泌、GH 峰值

的诊断阈值是人为设定,易受性别、年龄等影响。根据儿童青少年血清胰岛素样生长因子-1 及胰岛素因子结合蛋白-3 的正常参考值研究<sup>[3]</sup>,该年龄段女童血清胰岛素样生长因子-1 (IGF-1)正常参考值为 289.46ng/mL,而先证者数值为 331.81ng/mL,处于 +1s 水平。

表 1 生长激素激发试验结果(ng/mL)

Tab. 1 Results of growth hormone stimulation test (ng/mL)

| 项目名称     | 结果   |
|----------|------|
| GH 0min  | 0.08 |
| GH 30min | 0.86 |
| GH 60min | 1.01 |
| GH90min  | 0.61 |
| GH120min | 0.36 |

2.2 影像学检查结果 骨龄判读相当于 8 岁 10 月(TW3 法),左腕关节可见 8 块腕骨,左腕及左手骨质完整,皮质连续,未见破坏,掌指骨及尺桡骨远端骨骺未闭合;无短指和掌指骨宽大。见图 4。彩超示子宫及双侧卵巢发育符合同龄儿。胸椎正侧位片及骨盆正位片未见明显异常,腰椎轻度前凸。见图 5。髌臼边缘毛糙。见图 6。垂体核磁未见异常。



图 4 X 线左腕部骨龄片

Fig. 4 X-ray of the left wrist bone age

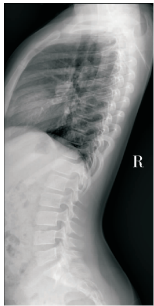


图 5 胸腰椎正侧位片

Fig. 5 Thoracolumbar frontal and lateral radiographs



图 6 骨盆正位片

Fig. 6 Orthograph of the pelvis

2.3 基因检测结果及致病性分析 图 7 显示先证者携带 *ACAN* 基因上的一个杂合移码变 *c.1463\_1464dup(p. Y489Afs \* 4)*。先证者的父亲、姑姑、叔叔、祖父均存在相同位点的杂合变异。母亲为正常野生型。*ACAN* 基因致病机制为功能缺失 (LOF)，该变异为移码变异，预测可能导致无义介导的 mRNA 降解 (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) 的发生，可能导致基因功能缺失或部分缺失 (PVS1)；该变异为罕见变异，在 gnomAD 数据库东亚普通人群中未收录 (PM2-Supporting)。参照 ACMG 指南，*c.1463\_1464dup(p. Y489Afs \* 4)* 评级为可能致病性变异。

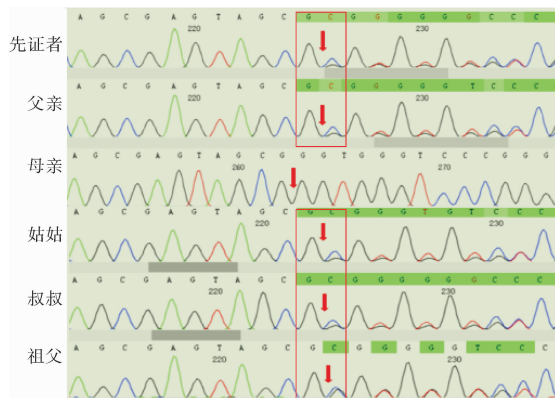


图 7 先证者及家系基因测序图

Fig. 7 Genetic sequencing map of predecessors and family lines

2.4 生长激素疗效观察 先证者身高处于  $-3s$ ，GH 试验提示生长激素缺乏，骨龄与实际年龄相差不大，结合基因重组人生长激素儿科临床规范应用的建议指南<sup>[4]</sup>，符合使用 rhGH 的适应征，综合评估后予每晚皮下注射生长激素 1.33mg，短期随访用药疗效见图 8。

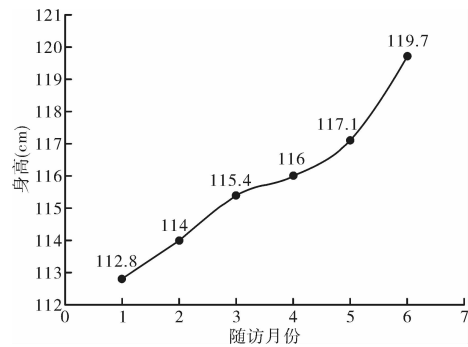


图 8 先证者身高随访情况

Fig. 8 Follow-up of height of proband

### 3 讨论

*ACAN* 基因位于染色体 15q26 区，编码聚蛋白聚糖 *Aggrecan*，在 Gleghorn 等<sup>[5]</sup>的研究中首次报道，是软骨细胞外基质的主要结构成分 (包括生长板、关节软骨和椎间盘软骨)，在软骨和骨骼的形态发育中起关键作用，可调节内分泌生长激素轴信号通路、旁分泌信号和生长因子的表达<sup>[6]</sup>。聚蛋白聚糖由 N 端的 G1 和 G2 以及 C 端的 G3 三个球状结构域和糖胺聚糖附着区组成；G1 与透明质酸和软骨连接蛋白相互作用；G2 生物学功能不明；G3 结构域通过其 C 型凝集素重复序列与不同的细胞外蛋白聚糖结合<sup>[7]</sup>。有研究发现，*ACAN* 基因上游 (1~10 号外显子) 变异主要与生长板相关，多引起 ISS；而下游 (11~18 号外显子) 变异与关节软骨及生长板相关，除矮小外，还可引起关节问题<sup>[8]</sup>。本文中先证者突变位点为第 8 号外显子，无关节方面的病史及临床表现，与文献中描述的 *ACAN* 基因上游变异相吻合。据报道，*ACAN* 基因常见的突变类型为移码、错义和无义变异，剪接和缺失突变相对罕见，先证者 *ACAN* 基因为杂合移码变异，导致该基因功能缺失或部分缺失<sup>[2]</sup>。一般纯合子突变导致的骨骼发育不良较重，称聚集蛋白聚糖型 (SEMD, OMIM # 612813)；而杂合子突变导致的骨骼发育不良较轻，称金伯利型 (SEDK, OMIM # 608361)<sup>[9]</sup>，以 FSS 较常见，考虑 *ACAN* 基因突变直接或间接影响生长板软骨细胞和软骨生成过程所致<sup>[10]</sup>，先证者家系的基因突变属于文献中 SEDK 型。一项队列研究对 FSS 患者进行全外显子组测序，结果显示在基因突变引起的矮身材中，以 *ACAN* 基因突变占比较大，并发现 7 个新的杂合位点<sup>[8]</sup>，扩充了 *ACAN* 基因突变的范围。另一项中国家系新研究也同样证实了

ACAN 基因突变导致矮身材的致病性<sup>[11]</sup>,与先证者不同的是,他们的突变位点高度保守,经过生物信息学分析才证实了致病位点为错义突变。一项外显子组测序实验发现,ACAN 基因杂合变异不但具有家族聚集性,临床表现也与先证者家系高度相似,除矮身材外无其他特征<sup>[12]</sup>。

ACAN 基因突变所致的 FSS 呈常染色体显性遗传,软骨细胞过早肥厚成熟、生长板中血管和成骨细胞的过早侵袭是出现身材矮小的原因<sup>[13]</sup>,但这类儿童出生时身长和体重往往正常,因此早期生长速率易被忽略;不同的是,在已发表的文献中<sup>[14]</sup>,受影响个体在早期阶段就停止生长,成年终身高往往受损,先证者骨龄较实际年龄稍大,骨骺线未闭合,在 2022 年 5 月来院时,较首诊时(3 月份)身高增长 1cm,生长速率偏慢但未停止。有文献报道<sup>[12]</sup>,由于杂合子 ACAN 基因影响生长板和关节软骨,故多数患儿的矮身材以下肢短小为主,因为在线性生长阶段,腿部负重生长板比手臂负重生长板受到的影响大;先证者坐高/身高为 56.2%(该年龄段儿童标准为 53.6%),下肢短小尚不明显。也有部分携带 ACAN 基因变异的患者表现为非综合征型矮小,并且骨龄加速发生在青春期前<sup>[15]</sup>。有研究认为短颈也是该病的特异表现<sup>[16]</sup>,因为聚集蛋白聚糖突变使椎间盘不能完全承受压缩载荷,颈椎间盘缩短所致;先证者无短颈表现,可能是与杂合突变引起的症状较轻相关。美国一项前瞻性研究首次描述了杂合子 ACAN 基因突变还可出现不同的肌肉骨骼表型<sup>[17]</sup>,扩大了聚集蛋白聚糖缺乏症的范围,先证者未来是否会出现肌肉骨骼症状还有待观察;研究还指出,ACAN 基因变异与骨龄进展程度的相关性一般,所以在接受促生长治疗的患者中,用骨龄预测成年身高的准确率较 ISS 儿童低。致病性 ACAN 基因变异可产生广泛的临床表型,根据现有研究显示<sup>[11,15,18-19]</sup>,基因型与临床表型之间无明显相关性。查阅相关文献,ACAN 基因变异的表型外显率目前暂无报道,以及 ACAN 变异的流行率仍有待评估<sup>[19]</sup>。随着基因检测技术的发展,越来越多与矮小相关的基因被发现,其中导致骨软骨发育不良基因缺陷占比较多,常见的包括 *FGFR3*、*GH1*、*IGF1R*、*JAK2*、*ACAN* 等<sup>[20]</sup>。本文中先证者基因检测提示 ACAN 基因变异,引起生长板功能缺陷,导致身材矮小。

目前对于 ACAN 基因突变引起的矮小症尚无规范的治疗指南,查阅知网、PubMed 数据库相关文献,多数学者对重组人生长激素(recombinant human growth hormone, rhGH)改善患者终身高均有积极评价<sup>[4]</sup>,因为 rhGH 可适当弥补生长板功能缺陷,增加细胞外基质蛋白合成,促进软骨细胞成熟和纵向骨生长。国内多个研究表明, rhGH 治疗除可有效增加患儿身高外,还观察到在 10 岁前用药不良反应较低,说明早期治疗可使患儿受益<sup>[9]</sup>。部分学者认为<sup>[21]</sup>,儿童在青春期前骨龄生长较快,为防止骨骺提前闭合,建议联用促性腺激素释放激素类似物(gonadotropin releasing hormone analogue, Gn-RHa)抑制青春期发育,部分男性性早熟患儿还可应用芳香化酶抑制剂,延缓骨龄成熟,预防生长过早停止。对于接近青春期发育的患儿,在接受 GnRHa 和 rhGH 的联合治疗后,身高增长范围约为 5~8cm。一项前瞻性研究对 rhGH 治疗 ACAN 基因变异矮小患儿进行短期疗效和安全性评估,未观察到不良事件,接受治疗的儿童身高均改善。10 名青春期前 ACAN 缺乏症患者接受 rhGH 治疗的第一年,身高增加 8.3cm,经分析具有统计学意义,为治疗提供了新见解<sup>[22]</sup>。但小于胎龄儿合并有 ACAN 基因突变的患者治疗前后身高变化差异性较小,考虑可能与样本量少及患者依从性差有关,整体生长趋势还有待进一步观察<sup>[9]</sup>。

综上所述,临床上对有家族聚集性及存在与 ACAN 基因突变相关临床表现的矮身材患者,有必要行 ACAN 基因检测,明确矮小的病因。本文中先证者使用生长激素初步显示效果良好,无不良反应,但由于样本量少及先证者还未长至成年终身高,故 rhGH 的整体疗效还有待连续观察<sup>[23]</sup>。未来还需关注剥脱性骨软骨炎、早发性骨关节炎综合征及椎间盘疾病的发生,防止患者出现疼痛和关节受限,提高生活质量,尽可能研发出直接针对致病机制的新治疗策略<sup>[24]</sup>。

#### 参考文献

- [1] Fukami M, Seki A, Ogata T, SHOX haploinsufficiency as a cause of syndromic and nonsyndromic short stature[J]. Mol Syndromol, 2016, 7(1):3-11.
- [2] Lin L, Li M, Luo J, et al. A high proportion of novel ACAN mutations and their prevalence in a large cohort of Chinese short stature children [J]. JCEM, 2021, 106(7):

- e2711-e2719.
- [3] 许珊珊,顾学范,潘慧,等. 儿童青少年血清胰岛素生长因子-1 及胰岛素因子结合蛋白-3 的正常参考值研究[J]. 临床儿科杂志, 2009, 27(12): 1105-1110.  
Xu SS, Gu Xf, Pan H, et al. Study on normal reference values of serum insulin growth factor-1 and insulin factor binding protein-3 in children and adolescents[J]. Clin Pediatr Dent, 2009, 27(12): 1105-1110. (in Chinese)
  - [4] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢组,《中华儿科杂志》编辑委员会,梁雁. 基因重组人生长激素儿科临床规范应用的建议[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(6): 426-432.
  - [5] Gleghorn L, Ramesar R, Beijhton P, et al. A mutation in the variable repeat region of the aggrecan gene (AGCL) cause a form of spondyloepiphyseal dysplasia associated with severe, premature osteoarthritis[J]. Am J Hum Genet, 2005, 77(3): 484-490.
  - [6] Yin LP, Zheng HX, Zhu H. Short stature associated with a novel mutation in the aggrecan gene: A case report and literature review[J]. World J Clin Cases, 2022, 10(9): 2811-2817.
  - [7] 王莉莉,吴海瑛,谢蓉蓉,等. 186 例矮小症患者遗传学检测结果分析[J]. 临床儿科杂志, 2022, 40(5): 349-354.  
Wang LL, Wu HY, Xie RR, et al. Analysis of genetic testing results in 186 patients with dwarfism[J]. J Clin Pediatr Dent, 2022, 40(5): 349-354. (in Chinese)
  - [8] 王晓艳,谢蓉蓉,吴海瑛,等. 五个 ACAN 基因变异致身材矮小家系的临床及遗传学分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2021, 38(10): 942-946.  
Wang XY, Xie RR, Wu HY, et al. Clinical and genetic analysis of five short stature families caused by ACAN gene mutations[J]. Chin J Med Genetics, 2021, 38(10): 942-946. (in Chinese)
  - [9] Stavber L, Hovnik T, Kotnik P, et al. High frequency of pathogenic ACAN variants including an intragenic deletion in selected individuals with short stature[J]. Eur J Endocrinol, 2020, 182(3): 243-253.
  - [10] Sun J, Jiang L, Liu G, et al. Evaluation of growth hormone therapy in seven chinese children with familial short stature caused by novel[J]. Front Pediatr, 2022, 10: 1-7.
  - [11] Dateki S. ACAN mutations as a cause of familial short stature[J]. Clinical Pediatric Endocrinology, 2017, 26(3): 119-125.
  - [12] Cao Y, Guan X, Li S, et al. Identification of variants in ACAN and PAPSS2 leading to spondyloepi (meta) physeal dysplasias in four Chinese families[J]. Mol Genet Genom Med, 2022, 10(5): e1916.
  - [13] 曾婷,廖林燕,李牛,等. ACAN 基因变异致家族性身材矮小一家系报告[J]. 临床儿科杂志, 2018, 36(6): 463-466.  
Zeng T, Liao LY, Li N, et al. A family report on familial short stature caused by ACAN gene mutation[J]. J Clin Pediatr Dent, 2018, 36(6): 463-466. (in Chinese)
  - [14] Wang Y, Ge J, Ma J, et al. Short stature with precocious puberty caused by aggrecan gene mutation: A case report [J]. Medicine, 2020, 99(34): e21635.
  - [15] Gerver WJM, Gkourogianni A, Dauber A, et al. Arm span and its relation to height in a 2-to 17-year-old reference population and heterozygous carriers of ACAN variants[J]. Horm Res Paediat, 2020, 93(3): 164-172.
  - [16] Liang MH, Hui M, Hui PM, et al. Growth-promoting therapies may be useful in short stature patients with non-specific skeletal abnormalities caused by acan heterozygous mutations: Six Chinese cases and literature review - endocr pract[J]. Endocr Pract, 2020, 26(11): 1255-1268.
  - [17] Alexandrou E, Dauber A, Tyzinski L, et al. Clinical phenotype and musculoskeletal characteristics of patients with aggrecan deficiency[J]. Am J Med Genet A, 2022, 188(4): 1193-1203.
  - [18] Mancioopi V, Prodam F, Mellone S, et al. Retrospective diagnosis of a novel ACAN pathogenic variant in a family with short stature: A case report and review of the literature[J]. Front Genet, 2021, 12: 1451.
  - [19] Wu S, Wang C, Cao Q, et al. The spectrum of ACAN gene mutations in a selected Chinese cohort of short stature: Genotype-phenotype correlation[J]. Front Genet, 2022, 13: 891040.
  - [20] Okamoto M, Hamada J, Ochi F, et al. Short stature in a child with a novel Aggrecan gene variant: A case report [J]. Pediatr Int, 2022, 64(1): e15116.
  - [21] Kim TY, Jang KM, Keum CW, et al. Identification of a heterozygous ACAN mutation in a 15-year-old boy with short stature who presented with advanced bone age: A case report and review of the literature[J]. Ann Pediatr Endocrinol Metab, 2020, 25(4): 272-276.
  - [22] Muthuvel G, Dauber A, Alexandrou E, et al. Treatment of short stature in aggrecan-deficient patients with recombinant human growth hormone: 1-year response[J]. JCEM, 2022, 107(5): e2103-e2109.
  - [23] 赵莉莉,朱一琳,袁珂,等. 重组人生长激素改善 ACAN 基因变异致家族性矮小的疗效观察及文献复习[J]. 临床儿科杂志, 2021, 39(1): 59-64.  
Zhao LL, Zhu YL, Yuan K, et al. Clinical observation and literature review of recombinant human growth hormone in improving familial dwarfism caused by ACAN gene mutation[J]. Clin Pediatr Dent, 2021, 39(1): 59-64. (in Chinese)
  - [24] Nilsson O. Aggrecanopathies highlight the need for genetic evaluation of ISS children[J]. Eur J Endocrinol, 2020, 183(2): C9-C10.

收稿日期: 2023-02-01 修回日期: 2023-05-17 本文编辑: 杨媛媛