

· 临床研究 ·

一个遗传性痉挛性截瘫4型家系 SPAST 基因的变异分析

杜祥慧, 丁乐*, 郑帆, 张刚

南京医科大学附属儿童医院神经内科, 江苏 南京 210008

[摘要] 目的:对1个遗传性痉挛性截瘫4型家系患者的SPAST基因变异进行分析,探讨可能的分子遗传学发病机制方法。方法:抽取患儿及其家系的静脉血样,提取DNA,采用全外显子测序技术对患儿基因组DNA进行基因检测及变异位点致病性分析,对可疑致病性变异位点进行家系内Sanger验证。结果:该5代家系共有7例患者,6例成年患者临床均表现为缓慢进展的双下肢无力及痉挛性截瘫,1例男性患儿临床表现为步态异常,肌张力增高。先证者检测到SPAST基因c.1413+1G>A杂合变异,关联疾病为常染色体显性痉挛性截瘫4型。经家系验证母亲、外祖父均携带该变异。结论:患儿及家系患病成员临床特征符合典型的单纯型遗传性痉挛性截瘫特征,家系携带的SPAST基因c.1413+1G>A杂合突变为其家系致病性变异。

[关键词] 遗传性痉挛性截瘫;SPAST基因;基因突变

[中图分类号] R741.041

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2019)12-1813-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20191225

遗传性痉挛性截瘫(hereditary spastic paraplegia, HSP),又称为家族性Strumpell-Lorrain病,是一种临床及遗传高度异质性的神经系统遗传病,患病率为2.0/10万~9.6/10万,表现为缓慢进展的双下肢无力及痉挛性截瘫^[1-2]。其中SPAST基因突变所致的遗传性痉挛性截瘫4型(spastic paraplegia 4, SPG4)占AD遗传HSP的40%~45%^[3]。SPAST基因共17个外显子,跨越约90 kb,spatin蛋白由616个氨基酸组成,属于ATP酶(AAA)蛋白家族成员。SPAST基因突变可引起spatin蛋白功能异常,从而影响微管的切割及与微管相关的活动^[4]。现对1个痉挛性截瘫4型家系中患者的临床资料及SPAST基因突变类型进行分析及讨论。

1 对象和方法

1.1 对象

先证者(V1)男,2岁11个月,因“步态异常1年余”入院。主要表现为走路摇晃、易摔倒、剪刀步态,爬楼梯困难,蹲位后站立困难,现仍不能独自爬楼梯。查体:四肢活动可,下肢肌力4级,肌张力增高,双侧膝反射可引出,肌肉无压痛,无腓肠肌肥大,双侧巴氏征、克氏症阴性。辅助检查:头颅、全脊髓MRI未见异常,肌酶正常,肌电图提示轻度肌

源性损害。家系5代28名成员中,可知有7名成员患病,其中男5例,女2例(其中第一代成员患病情况无法考究,图1)。先证者外祖父30岁起病,临床表现为双下肢缓慢进展的痉挛、乏力、步态异常,不伴有认识受损、精神障碍,目前57岁,已长期卧床;外祖父的父亲及其父亲的2名弟弟及其中2名兄弟的女儿均有相同临床表现,具体严重程度不详。本研究经本院伦理委员会批准,并知情同意。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取

在征得患儿父母知情同意后,抽取患儿及其父母、外公的外周静脉血样各2 mL,置于EDTA抗凝管中。用全血基因组DNA提取试剂盒(北京凯昂医学诊断技术有限公司)提取DNA,并检测DNA的浓度及纯度。

1.2.2 患儿基因组DNA全外显子测序

取患儿2 μg基因组DNA,打断至200~300 bp,构建基因组DNA文库。对基因组DNA文库进行人类全外显子捕获。随后在北京凯昂医学诊断技术有限公司对捕获序列进行二代测序、生物信息学分析及数据库注释,并按照美国医学遗传学与基因组学会(ACMG)指南对变异位点进行致病性分析。

1.2.3 Sanger测序

对于检测到的疑似致病变异,采用软件对目标位点及所在外显子上下游区域设计引物,对先证者

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(8180051038)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:dingle1207@126.com

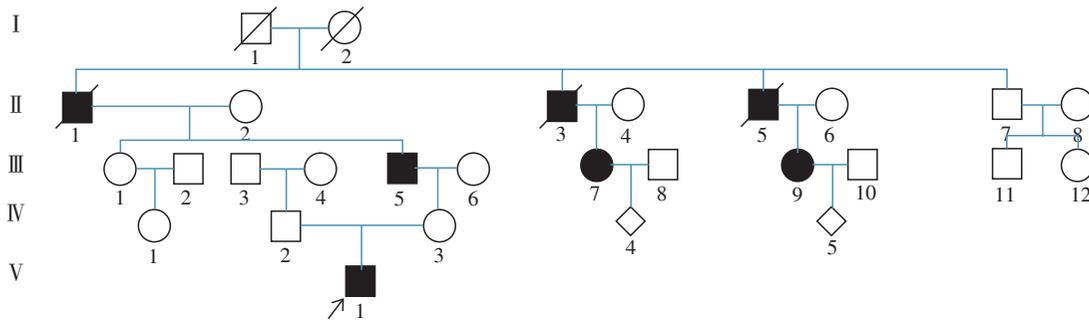


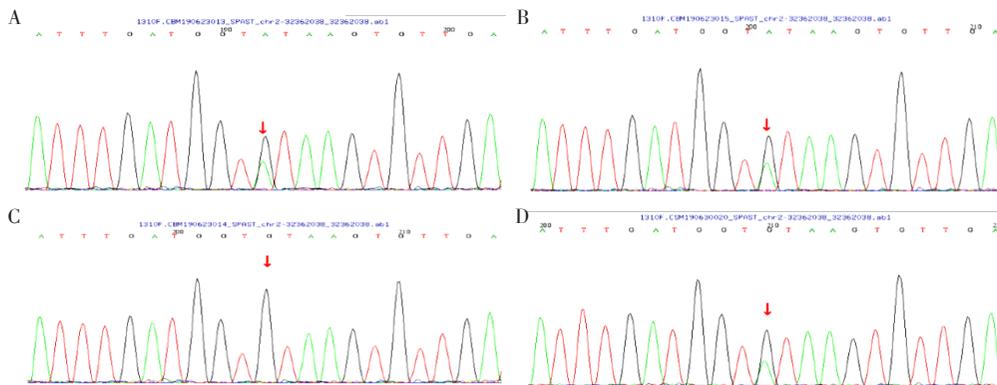
图1 该HSP家系图谱

及其家系成员进行突变检测和验证,应用软件进行突变致病性分析,并分析变异对蛋白结构和功能的影响,并根据家系患病情况对疑似致病性变异位点进行家系共分离分析。

2 结果

通过对测序结果进行分析,先证者在SPAST基因上检测到 c.1413+1G>A 杂合变异,在千人基因组数据库(1000Genome)、人类外显子组整合数据库(ExAC)等多个正常人数据库中均未见该变异。经

家系 sanger 验证,先证者 SPAST 基因 c.1413+1G>A 杂合变异,其父亲未携带该变异,其母亲杂合变异,提示该变异来源于母亲。且其外祖父杂合变异,与其家族史相吻合(母系多人存在类似症状,图2)。SPAST 基因 c.1413+1G>A 变异位点在人类基因突变数据库(HGMD)被报道与常染色体显性痉挛性截瘫4型相关,根据 ACMG 指南,该突变位点评级为 Likely pathogenic (疑似致病性变异)。患儿临床表现与痉挛性截瘫4型符合,该位点基因突变所致 SPAST 基因异常可能是导致该家系发病的原因。



A:先证者;B:先证者父亲;C:先证者母亲;D:先证者外祖父。其中先证者、其母亲、其外祖父的SPAST基因,提示存在c.1413+1G>A杂合突变(箭头),其父亲未携带该突变。

图2 该家系 SPAST 基因的外显子部分序列测试结果

3 讨论

HSP具有复杂的遗传特征,根据其遗传方式不同,可分为常染色体隐性遗传(autosomal recessive, AR)、常染色体显性遗传(autosomal dominant, AD)、X连锁隐性遗传(X-linked recessive, XR),亦可见线粒体母系遗传^[5],其中大部分为AD。根据临床症状不同,分为单纯型和复杂型。单纯型表现为双下肢痉挛、腱反射亢进、步态不稳,呈逐渐进展性,膀胱括约肌功能可出现障碍;复杂型除了上述症状外,还可伴有锥体外系症状、智力障碍、癫痫、共济失

调、视神经萎缩、白内障、视网膜变性、周围神经病及鱼鳞病等。HSP可发病于任何年龄,多见于儿童期或青春期,男女均可患病,男性略多于女性。迄今已报道70多个HSP相关的基因位点及55个致病基因。

AD-HSP患者中,由编码spastin蛋白的SPAST基因突变所致的SPG4型占40%~45%,其次SPG3A(ATL1)型和SPG31(REEP1)型基因突变分别约占10.0%和6.5%^[5]。SPG4型在各个年龄段均有,一般病程较长,进展缓慢。Spastin是一种切割微管的ATP酶^[4],使微管更具活力。迄今报道的SPAST基

因突变包括错义突变、无义突变、剪切位点突变、缺失/插入突变等形式^[6]。错义突变主要集中在 AAA-ATP 酶区域,而无义、剪切位点、缺失/插入的突变可分布于各个区域。所有的突变形式都可能通过引起 spastin 蛋白功能异常,来影响微管的切割及与微管相关的活动。Charvin 等^[7]发现 spastin 基因突变所致的神经元原发缺陷造成轴索变,因为 spastin 蛋白在神经元中大量表达,但在神经胶质细胞中不表达。不同的 SPAST 基因突变可能通过单体型不足、转录体的不稳定性、蛋白的显性负性效应或剂量效应等机制,从而损害 spastin 蛋白的功能或导致突变蛋白功能的丧失,最终导致神经元变性^[8]。

该家系患者主要表现步态异常,双下肢痉挛性截瘫,查体可见双下肢肌张力增高,腱反射亢进,剪刀步态,双上肢正常,诊断遗传性痉挛性截瘫(单纯型),为常染色体显性遗传。有研究表明,HSP 存在遗传早现现象^[6],本家系第 5 代患者的发病年龄比第 3 代、第 2 代早,但患儿年龄尚小,HSP 是一种进行性发展的疾病,随着病程的进展,疾病严重程度会逐渐增加,其疾病进展及严重程度有待进一步追踪。本家系中先证者携带 SPAST 基因 c.1413+1G>A 杂合变异,其父亲未携带该变异,其母亲杂合变异,其外祖父杂合变异,与其母系家族史吻合。然而先证者母亲携带该变异却暂无临床症状,一方面可能与前文献报道一致,部分携带者症状较轻未察觉或尚未到发病年龄所致,另一方面则可能与该基因存在外显不全现象所致。有研究表明,HSP 存在女性保护现象,即在同一家系中,女性患者少,临床症状轻^[9],本例家系包括死亡患者在内,共有男 7 例,女 2 例,支持女性保护现象,但本家系较小,需进一步扩大收集家系进行分析。

HSP 发病机制复杂,临床类型多变,需要依靠详细的临床资料、电生理检查和基因检测结果进行综合分析。基因诊断有助于早期诊断和产前诊断,对开展遗传咨询具有重要意义。尽管目前的研究成果对人们认识 HSP 的发病机制、发展及预防提供了

基础,但由于该病临床类型复杂,基因型与临床表型的关系尚不清楚,仍然有相当数量的致病基因没有被发现。因此,通过对 HSP 家系的研究来发现新的基因和新的突变,将有助于阐明 HSP 的致病机制,从而为此类疾病的防治奠定基础。

[参考文献]

- [1] de Souza PV, de Rezende Pinto WB, de Rezende Batistella GN, et al. Hereditary spastic paraplegia: clinical and genetic hallmarks[J]. *Cerebellum*, 2016, 16(2): 525-551
- [2] Ruano L, Melo C, Silva MC, et al. The global epidemiology of hereditary ataxia and spastic paraplegia: a systematic review of prevalence studies [J]. *Neuroepidemiology*, 2014, 42(3): 174-183
- [3] Solowska JM, Baas PW. Hereditary spastic paraplegia SPG4: what is known and not known about the disease [J]. *Brain*, 2015, 138(Pt 9): 2471-2484
- [4] Denton KR, Lei L, Grenier J, et al. Loss of spastin function results in diseasespecific axonal defects in human pluripotent stem cell-based models of hereditary spastic paraplegia[J]. *Stem Cells*, 2014, 32(2): 414-423
- [5] Klebe S, Stevanin G, Depienne C. Clinical and genetic heterogeneity in hereditary spastic paraplegias: from SPG1 to SPG72 and still counting[J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2015, 171(6/7): 505-530
- [6] 詹飞霞,曹立. 常染色体显性遗传性痉挛性截瘫遗传学进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2017, 31(11): 1552-1555
- [7] Charvin D, Cifuentes-Diaz C, Fonknechten N, et al. Mutations of SPG4 are responsible for a loss of function of spastin, an abundant neuronal protein localized in the nucleus [J]. *Hum Mol Genet*, 2003, 12(1): 71-78
- [8] Havlicek S, Kohl Z, Mishra HK, et al. Gene dosage-dependent rescue of HSP neurite defects in SPG4 patients' neurons[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(10): 2527-2541
- [9] Mitne-Neto M, Kok F, Beetz C, et al. A multi-exonic SPG4 duplication underlies sex-dependent penetrance of hereditary spastic paraplegia in a large Brazilian pedigree [J]. *Eur J Hum Genet*, 2007, 15(12): 1216-1279

[收稿日期] 2019-06-13