

湖南汉族人群遗传性脊髓小脑型共济失调患者三核苷酸突变频率分布

宋兴旺,唐北沙*,江泓,沈潞,杨茜,廖书胜,李清华,汤建光
(中南大学湘雅医院神经内科,长沙410008)

[摘要] 目的:研究湖南汉族人群中脊髓小脑型共济失调(SCAs)不同基因亚型的分布状况。方法:应用聚合酶链式反应(PCR)和变性聚丙烯酰胺凝胶电泳以及测序技术,检测分析了139个常染色体显性遗传SCA家系和61个散发SCA患者的SCA1,SCA2,SCA3,SCA6,SCA7,SCA17,齿状核红核苍白球路易体萎缩(DRPLA)三核苷酸重复序列突变。结果:在139个SCA家系中,11个家系(7.9%)有SCA1突变,9个家系(6.5%)有SCA2突变,71个SCA家系(51.1%)有SCA3突变,4个家系(2.9%)有SCA6突变,2个家系(1.4%)有SCA7突变。未检出SCA17,DRPLA亚型。在散发患者中发现1例SCA2患者,3例SCA3患者,1例SCA6患者。结论:SCA3为最常见类型;其次为SCA1,SCA2;SCA6,SCA7患者少见。

[关键词] 脊髓小脑共济失调;三核苷酸重复扩增;动态突变

[中图分类号] R744.7 [文献标识码] A [文章编号] 1672-7347(2006)05-0702-04

Frequency of different subtypes of spinocerebellar ataxia in the Han nationality of Hunan province in China

SONG Xing-wang, TANG Bei-sha*, JIANG Hong, SHENG Lu, YANG Qian, LIAO Shu-sheng, LI Qing-hua, TANG Jian-guang
(Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract: **Objective** To determine the frequency of different subtypes of spinocerebellar ataxias (SCAs) in the Han nationality of Hunan province in China. **Methods** The mutations of SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17, and dentatorubral-pallidoluysian (DRPLA) were detected with the polymerase chain reaction (PCR), denaturing polyacrylamide gel and DNA sequencing techniques in 139 autosomal dominant SCA families and 61 sporadic SCA patients. **Results** Of the 139 families, 11 (7.9%) were positive for SCA1, 9 (6.5%) were positive for SCA2, 71 (51.1%) were positive for SCA3, 4 (2.9%) were positive for SCA6, 2 (1.4%) were positive for SCA7, and none was positive for SCA17 and DRPLA. There was 1 SCA2 patient, 3 SCA3 patients, 1 SCA6 patient in the 61 sporadic SCA patients. **Conclusion** The frequency of SCA3 is substantially higher than that of SCA1 and SCA2 in the autosomal dominant SCA patients in the Han nationality of Hunan province. SCA6 and SCA7 are rare subtypes.

Key words: spinocerebellar ataxia; trinucleotide repeat expansion; dynamic mutation

[J Cent South Univ (Med Sci), 2006, 31(5):0702-04]

*收稿日期 2006-03-08

作者简介 宋兴旺(1976-)男,安徽灵璧人,医师,主要从事神经退行性疾病和遗传病研究。

*通讯作者, E-mail: bstang7398@yahoo.com.cn

基金项目 国家“863”高技术研究发展计划基金(2004AA227040);国家科技攻关计划基金(2004BA720A03);国家自然科学基金(30400262, 30740619)

遗传性脊髓小脑型共济失调(spinocerebellar ataxia, SCAs)是一类包括多种亚型共济失调在内的进行性神经系统退行性疾病,多为常染色体显性遗传。SCAs 具有高度的遗传异质性。目前已经定位了近 30 个基因位点,在已克隆的亚型中 *SCA1*, *SCA2*, *SCA3*, *SCA6*, *SCA7*, *SCA17*, 及齿状核红核苍白球路易体萎缩(dentatorubral-pallidoluysian atrophy, DRPLA)与相应基因编码区 CAG 三核苷酸异常重复有关^[1]。为了解湖南地区 SCAs 亚型的分布特点,笔者对湖南地区 139 个 SCA 家系的 180 例 SCA 患者和 61 例散发 SCA 患者进行了 *SCA1*, *SCA2*, *SCA3*, *SCA6*, *SCA7*, *SCA17* 及 *DRPLA* 三核苷酸突变检测分析,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

所有家系以及散发患者均来自湖南省,由湘雅医院神经内科及中国医学遗传学国家重点实验室的中国遗传病资源保藏中心所收集,诊断按 Harding 标准^[2]。139 个 SCA 家系中患者 180 例,“正常人”139 例。180 例 SCA 患者中男 106 例,女 74 例,发病年龄 10 ~ 60 岁,所有家系遗传形式为常染色体显性遗传;61 例散发 SCA 患者中男 39 例,女 22 例,发病年龄 18 ~ 60 岁。139 个家系内无血缘关系成员 37 例作为对照。本研究获得受试者的书面知情同意书。

1.2 实验方法

1.2.1 全血基因组 DNA 提取

抽取 SCA 患者、家系成员外周静脉血 10 mL,按常规酚/氯仿法提基因组 DNA 作为 PCR 模板。

1.2.2 (CAG)_n 重复片段检测

SCA1, *SCA2*, *SCA3*, *SCA6*, *SCA7*, *SCA17*, *DRPLA* 基因内 CAG 重复片段 PCR 扩增引物、PCR 反应体系及 PCR 反应条件参考文献[3]和[4]。

1.2.3 PCR 产物检测

取 3 ~ 5 μL PCR 扩增产物与等量 2 × 变性上样缓冲液混合,99 °C 变性 9 min,冰浴骤冷。以 8% 含 7 mol/L 尿素聚丙烯酰胺凝胶(电泳缓冲液为 0.5 × TBE)300 V 预电泳 30 min 后再 300 V 电泳 5 h,银染显色,拍照分析结果。

1.2.4 基因测序

回收纯化异常 PCR 产物后克隆入 pGEM-Teasy (美国 Promega 公司)载体,用 T7,SP6 测序引物对阳性克隆进行测序 (ABI377)。根据测序结果直接读取 CAG 重复数目。 万方数据

2 结果

2.1 *SCA1*(CAG)_n 突变检测

在 139 个 SCA 家系中共检出 *SCA1* 家系 11 个(7.9%,图 1)。共有患者 15 例,症状前患者 2 例,均为杂合子,其中突变等位基因 CAG 重复数为 49 ~ 62 次。37 例正常对照 CAG 重复数为 25 ~ 34 次(图 2A)。

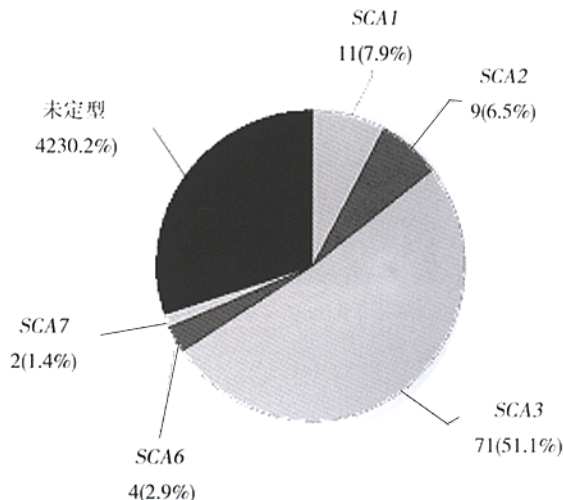


图 1 湖南 139 个常染色体显性遗传 SCA 家系各亚型的分布

Fig.1 Frequency distribution of SCA subtype in 139 autosomal dominant SCA families of Hunan province

2.2 *SCA2*(CAG)_n 突变检测

在 139 个 SCA 家系中共检出 *SCA2* 家系 9 个(6.5%)。共有患者 13 例,症状前患者 1 例,均为杂合子,其中突变等位基因 CAG 重复数为 42 ~ 50 次。37 例正常对照 CAG 重复数为 9 ~ 28 次。在 61 例散发 SCA 患者中发现 1 例 *SCA2* 患者(图 2B)。

2.3 *SCA3*(CAG)_n 突变检测

在 139 个 SCA 家系中共检出 *SCA3* 家系 71 个(51.1%)。共有患者 102 例,症状前患者 20 例,均为杂合子,其中突变等位基因 CAG 重复数为 70 ~ 83 次。37 例正常对照 CAG 重复数为 14 ~ 39 次。在 61 例散发 SCA 患者中发现 3 例 *SCA3* 患者(图 2C)。

2.4 *SCA6*(CAG)_n 突变检测

在 139 个 SCA 家系中共检出 *SCA6* 家系 4 个(2.9%)。共有患者 8 例,均为杂合子,其中突变等位基因 CAG 重复数为 22 ~ 26 次。37 例正常对照 CAG 重复数为 3 ~ 13 次。在 61 例散发 SCA 患者中发现 1 例 *SCA6* 患者(图 2D)。

2.5 *SCA7*(CAG)_n 突变检测

在 139 个 SCA 家系中共检出 *SCA7* 家系 2 个(1.4%)。共有患者 13 例,均为杂合子,其中突变等位基因 CAG 重复数为 38 ~ 71 次。37 例正常对照 CAG 重复数为

7~13次(图2E)。

2.6 SCA17和DRPLA的检测 所有标本检测到SCA17(CAG)_n为30~41次,DRPLA(CAG)_n

为5~21次,均在正常范围,未检出SCA17,DRPLA(CAG)_n异常扩增。

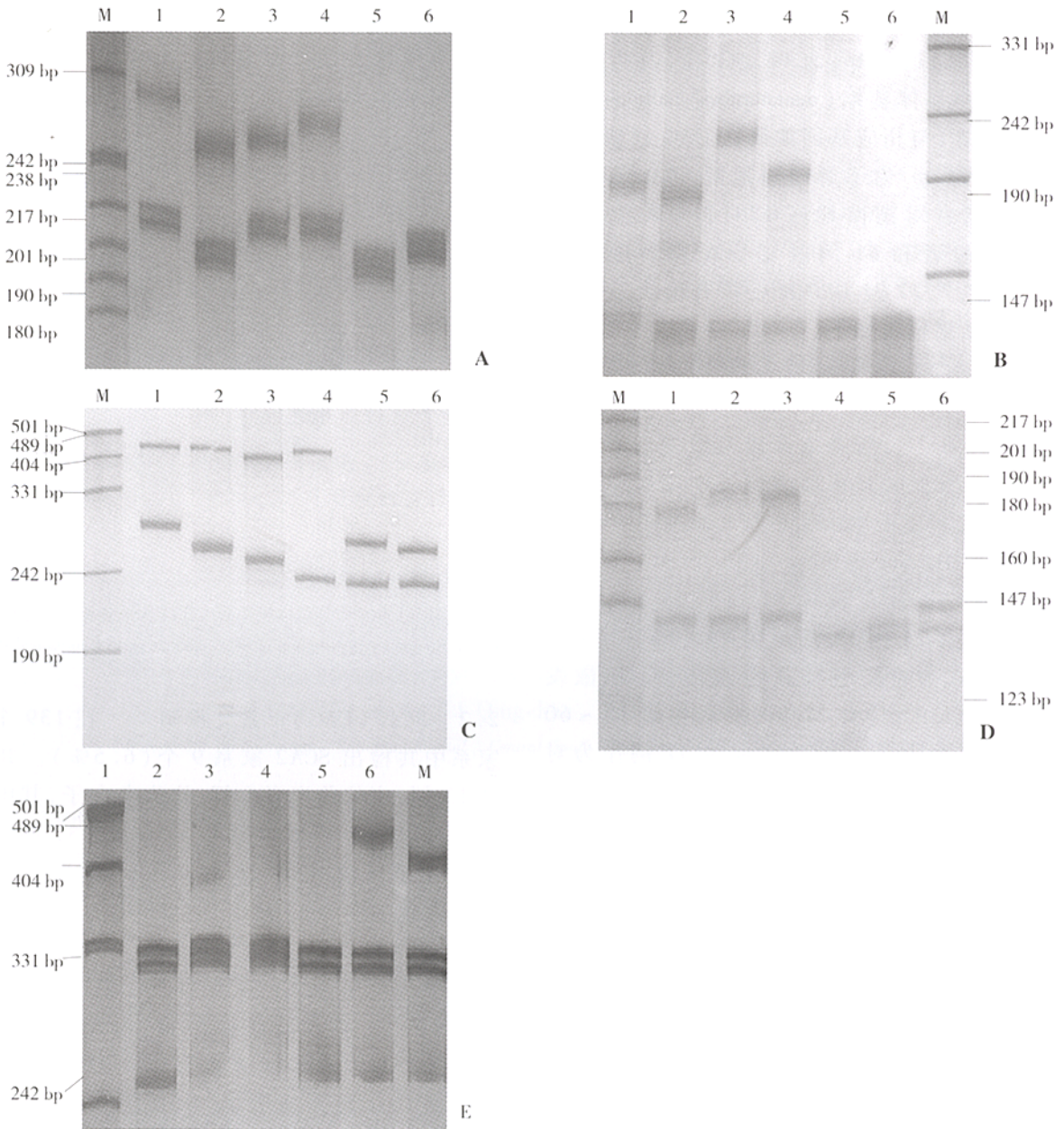


图2 SCA1, 2, 3, 6, 7基因CAG重复序列PCR产物变性聚丙烯酰胺凝胶电泳图 M:分子质量标准(A, D为pBR322 DNA/Msp I, B, C, D为pUC19DNA/Msp I); 1~4 SCA患者, 5, 6正常对照 A: SCA1患者; B: SCA2患者; C: SCA3患者; D: SCA6患者; E: SCA7患者

Fig.2 Electropherograms for PCR fragments of CAG trinucleotide repeats in the SCA1, 2, 3, 6, 7 gene M:Marker (A, D pBR322 DNA/Msp I; B, C, E pUC19DNA/Msp I); 1~4 SCA1 patients, 5, 6 normal; B: 1~4 SCA2 patients, 5, 6 normal; C: 1~4 SCA3 patients, 5, 6 normal; D: 1~3 SCA6 patients, 4~6 normal; E: 1~4 normal, 5, 6 SCA7 patients

3 讨论

SCAs是一类进行性神经系统变性疾病,病变主要累及小脑、脑干和脊髓。临床表现除了共济失调外还常常伴有帕金森综合征、肌张力障碍等。SCA有明显的临床和遗传异质性。故根据临床表

现对该病所作的分型(表型分型)未被普遍接受。SCA基因突变检测可为此类疾病建立一个诊断确切、唯一有效的分类方法(基因分型)。

流行病学研究表明不同国家、地区或种族SCA的发病率及不同亚型分布有极大的差异(表1)^[3, 5-10]。就世界范围来看,SCA3是最常见的亚

型,占常染色体显性遗传小脑性共济失调家系的29%^[1]。在意大利和印度,SCA2是最常见的亚型^[6,8],而在日本和美国SCA6也较常见^[7,9]。研究发现不同国家或种族SCA的发病率的差异可能同建立者效应(founder effect)有关。本研究对来自湖南的139个SCA家系的检测发现,SCA3是最常见的亚型,占51.1%。同以往中国大陆以及中国台湾的报道类似^[3,10]。

表1 不同国家/地区SCA亚型分布频率

国家	SCA家 系数	SCA亚型分布频率(%)					参考文献
		SCA1	SCA2	SCA3	SCA6	SCA7	
葡萄牙	106	0	3	63	1	1	[5]
意大利	116	24	47	0	2	2	[6]
美国	178	6	15	20	15	4	[7]
印度	39	8	26	5	0	0	[8]
日本	202	3	5	43	11	NT	[9]
中国大陆	85	5	6	48	0	0	[3]
中国台湾	81	1	11	32	0	1	[10]

所研究家系均为常染色体显性家系,NT代表未检测

本组家系检出2个SCA7家系,其中一个为来自湖南桃源县已遗传了五代的大家系,突变检测发现SCA7基因异常重复次数为38~57次,38次为目前国内报道的SCA7基因最小的病理性扩增,连锁分析也支持该家系致病基因同SCA7疾病位点连锁(资料未显示)。2个家系的患者除了共济失调外,突出的表现为视力下降,眼底可见视网膜色素变性,而其他家系患者无类似表现,故对于伴有视网膜色素变性的共济失调患者,建议首先进行SCA7的突变检测。

本研究对61例散发SCA患者进行了上述SCA各亚型突变检测,结果发现1例SCA2患者、3例SCA3患者、1例SCA6患者,散发SCA患者可能由于新生突变引起,也可能由于遗传早现现象导致患者发病先于亲代而表现为“散发”。既往国内也有散发的SCA1、2、3、6、7的报道^[11-12]。表明对于散发的患者也应该进行SCA的基因突变检测。

笔者已往的研究发现,在中国人群中SCA1异常患者多有腱反射亢进,而没有眼肌麻痹、锥体外系症状和痴呆表现;SCA2异常患者有痴呆、肢体肌萎缩和腱反射减弱,而慢眼活动、眼肌麻痹和锥体束征少见;SCA3/MJD异常患者多有痉挛性肌张力增高、腱反射亢进、病理征阳性等,可伴有肢体肌萎缩、眼肌麻痹、慢眼活动、眼球突出、面(或)舌肌搐颤,以上特点有助于鉴别诊断^[3]。

总之,SCA各亚型临床表现多样化,各型之间

症状重叠,单纯依据临床表现对SCA所作的诊断及分型(表型分型)并不确切,只有进行基因分析才能得出正确的SCA亚型诊断。

参考文献:

- [1] Schöls L, Bauer P, Schmidt T, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis [J]. *Lancet Neurol*, 2004, 3(5):291-304.
- [2] Harding A E. Clinical features and classification of inherited ataxias [J]. *Adv Neurol*, 1993, 61(1):1-14.
- [3] Tang B S, Liu C Y, Shen L U, et al. Frequency of SCA1, SCA2, SCA3/MJD, SCA6, SCA7 and DRPLA CAG trinucleotide repeat expansion in patients with hereditary spinocerebellar ataxia from Chinese kindreds [J]. *Arch Neurol*, 2000, 57(4):40-544.
- [4] Hiroto F, Jean-Jacques M, Peter P, et al. CAG repeat expansion in the TATA box-binding protein gene causes autosomal dominant cerebellar ataxia [J]. *Brain*, 2001, 124(10):1939-1947.
- [5] Silveira I, Miranda C, Guimaraes L, et al. Trinucleotide repeats in 202 families with ataxia: A small expanded (CAG) n allele at the SCA17 locus [J]. *Arch Neurol*, 2002, 59(4):623-629.
- [6] Pujana M A, Corral J, Gratacos M, et al. Spinocerebellar ataxias in Spanish patients: genetic analysis of familial and sporadic cases. The Ataxia Study Group [J]. *Hum Genet*, 1999, 104(6):516-522.
- [7] Moseley M L, Benzow K A, Schut L J, et al. Incidence of dominant spinocerebellar and Friedreich triplet repeats among 361 ataxia families [J]. *Neurology*, 1998, 51(6):1666-1671.
- [8] Saleem Q, Choudhry S, Mukerji M, et al. Molecular analysis of autosomal dominant hereditary ataxias in the Indian population: high frequency of SCA2 and evidence for a common founder mutation [J]. *Hum Genet*, 2000, 106(2):179-187.
- [9] Takano H, Cancel G, Ikeuchi T, et al. Close association between dominantly inherited spinocerebellar ataxias with CAG-repeat expansions and frequencies of large normal CAG alleles in Japanese and Caucasian populations [J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 63(4):1060-1066.
- [10] Tsai H F, Liu C S, Leu T M. Analysis of trinucleotide repeats in different SCA loci in spinocerebellar ataxia patients and in normal population of Taiwan [J]. *Acta Neurol Scand*, 2004, 109(5):355-360.
- [11] 黄智恒, 徐评议, 梁秀龄. 广东汉族人遗传性脊髓小脑性共济失调基因突变的研究 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2002, 28(4):248-251.
- [12] 谢秋幼, 李洵桦, 梁秀龄. 脊髓小脑性共济失调6型的分子遗传学诊断及临床特点 [J]. *临床神经病学杂志*, 2004, 17(5):321-323.