

PANK2 基因纯合突变所致的 PKAN 病 1 例报道

黄志宏 唐震宇 陈珍珍 黎敏

【中图分类号】 R742 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2021)04-0445-03
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2021.04.014

泛酸激酶相关性神经变性疾病(Pantothenate kinase-associated neurodegeneration,PKAN),曾被称为 Hallervorden-Spatz 综合征,是一种常染色体隐性遗传病(在线人类孟德尔遗传数据库 OMIM:234200),该病在 1992 年首次被 Hallervorden 和 Spatz 报道,发病率为 1~3/10万,与铁离子代谢无关的基底神经节异常铁沉积疾病,大约占脑铁离子沉积病的 50%,PKAN 通常分为经典型和非典型型,主要临床表现包括肌张力障碍、构音障碍和吞咽困难,颅脑磁共振成像(Magnetic resonance imaging,MRI)上表现为“虎眼征”。本研究现报道 PANK2 基因纯合突变所致的 PKAN 病 1 例如下。

1 临床资料

1.1 病例

患者,3 岁,女,足月自然分娩,出生时体重 3.2 kg,身长 50 cm,父母为近亲结婚(图 1),就诊时患者身体发育在正常水平。临床表现见表 1。神经系统查体:言语不清,宽基底步态,颅神经(-),角膜 K-F 环(-),四肢肌力对称 5 级,四肢肌张力稍减弱,腱反射对称引出,病理征(-),四肢深浅感觉正常,脑膜刺激征(-),心肺腹查体(-)。血液生化、肌酶谱、甲状腺功能、降钙素、血清 HIV 抗体、梅毒抗体和自身免疫抗体水平均在正常范围内。肝豆状核变性相关基因正常。颅脑 MRI 表现出特征的“虎眼”和敏感性加权成像(Susceptibility weighted imaging,SWI)显示双侧苍白球对称的铁离子沉积(图 2)。

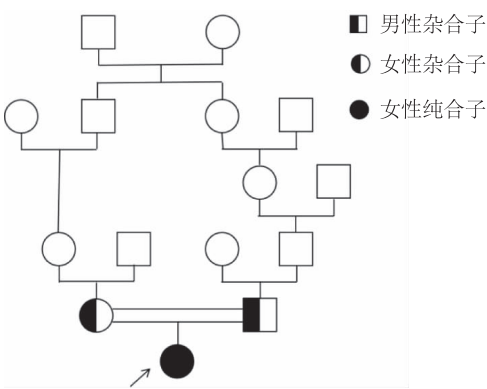


图 1 图 1 家庭遗传系谱

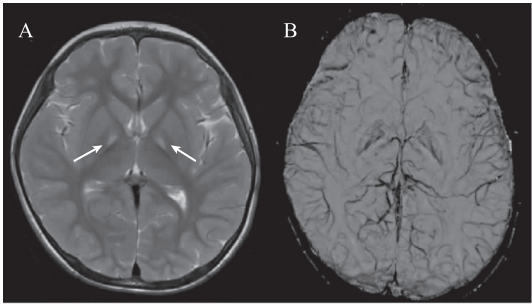


图 2 A 为 T₂ 像显示“虎眼征”(白色箭头所示);B 为 SWI 双侧苍白球低信号,提示铁离子沉积

表 1 临床表现

年龄	临床表现	特征
10 月	能爬行	—
1 岁	能站立,仅能叫爸爸、妈妈、爷爷、奶奶等叠词称呼	
1 岁 3 个月	能叫其他亲属称呼及常见小动物名字如猫、狗等	智力发育推迟
1 岁 5 个月	使用少量日常用语如吃饭、勺子、汽车等	
1 岁 10 个月	独立行走,但是很容易跌倒,经常出现右足内翻	肌张力障碍
2 岁 6 个月	能小跑,易跌倒,可独立蹲下、起立,小跑时能躲避危险物品,能独立上下楼梯,偶有双手持物不稳	肌张力障碍
3 岁(目前)	走路仍不稳;仍不能成句说话,仅能说出 2 个字的词语;小便有时失禁;能粗略使用日常用品,能独自使用勺子吃饭,但不能正确持握,不能使用复杂工具如用笔画画、使用筷子吃饭等,发音欠清晰	肌张力障碍、构音障碍、智力发育异常

1.2 基因检测

1.2.1 材料

患者在参与基因检测之前获得了患者父母的知情同意,并取得了南昌大学第二附属医院伦理委员会的批准。用EDTA管采集患者和患者父母的外周静脉血各 3mL。使用干冰运送至中国重庆迈基诺医学检验所。

1.2.2 DNA 的提取和基因组文库的构建

使用 QIAamp 全血 DNA 提取试剂盒(Qiagen,德国)提取基因组 DNA。对基因组 DNA 采用 Covaris S2 超声仪(Covaris,美国)进行超声片段化,用 NEBNextDNA 文库制备试剂盒-Illumina(New england biolabs,美国)制备全基因组文库。

1.2.3 目的基因的捕获和高通量测序

使用 ABI 3130-PCR 扩增仪(美国 Applied Biosystems)对全基因组文库进行链接介导的聚合酶链式反应(Ligation-mediated polymerase chain reaction,LM-PCR)扩增纯化后得到 DNA 文库,PCR 引物利用 Primer 3.0在线软件([http://primer3. ut. ee/](http://primer3.ut. ee/))设计,PCR 扩增条件为先 98 ℃变性 4 min,随后进入 98 ℃变性 30 s,65 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 30 s,此步骤重复 8 个循环,最后 72 ℃延伸 5 min,将上述 PCR 产物与目标区域捕获芯片(MyGenositics,GenCap)进行杂交以富集目标区域序列,借助 Illumina Next 500 测序平台对捕获的序列进行测序。

1.2.4 生物信息学分析

用 BWA 软件(<http://bio-bwa. sourceforge. net/>)将序列比对到 NCBI 数据库人类基因组参考序列上,利用 GATK 软件(<https://software. broadinstitute. org/gatk/>)分析得出 SNV(single nucleotide variation);然后通过 ANNOVAR 软件(<http://annovar. openbioinformatics. org/en/latest/>)对 SNP(single nucleotide polymorphism)进行注释;最后查找

SNPs 在千人基因组计划(<http://www. 1000genomes. or/>)、Exome Variant Server (<http://evs. gs. washington. edu/EVS/>)和 EXAC(<http://exac. broadinstitute. org/>)数据库中频率,筛选掉频率<0.05的突变位点。

1.2.5 Sanger 测序验证

先用 PCR 扩增仪扩增患者父母的基因片段,再用 ABI Prism 3130 基因分析仪(美国 Applied Biosystems)对患者父母的基因片段进行 Sanger 验证,测序表现与目的基因测序的表现进行比较。

1.2.6 测序表现

基因检测到患者 PANK2 基因中的外显子 1 的纯合突变:c. 445G>T(编码区第 445 号核苷酸由鸟嘌呤变异为胸腺嘧啶),导致氨基酸改变 p. E149X,为无义突变,患者近亲结婚的父母双方均为 c. 445G>T 突变的杂合子(图 3)。该突变先前已有报道,但既往报告为该位点的杂合突变。

2 讨论

PKAN 是一种罕见的神经系统退行性疾病,2001 年 Zhou 等首先发现该疾病与 20 号染色体上的泛酸激酶 2(PANK2)的突变密切相关。PANK2 基因存在于线粒体中,该基因突变会导致泛酸激酶活性丧失,而泛酸激酶的活性是辅酶 A6 生物合成中的关键酶,因为辅酶 A 在脂肪酸合成中必不可少,该基因突变会导致脂肪代谢异常,因此在脂肪代谢途径中的半胱氨酸和其中间产物发生聚集,而铁离子参与了这一聚集的过程。此外,游离的半胱氨酸被氧化并产生活性氧(Reactive oxygen species,Ros),并通过脂质过氧化作用导致广泛的氧化损伤和细胞死亡。由于其双侧苍白球中心组织坏死及坏死周边的铁沉积,这种病理变化在影像学上表

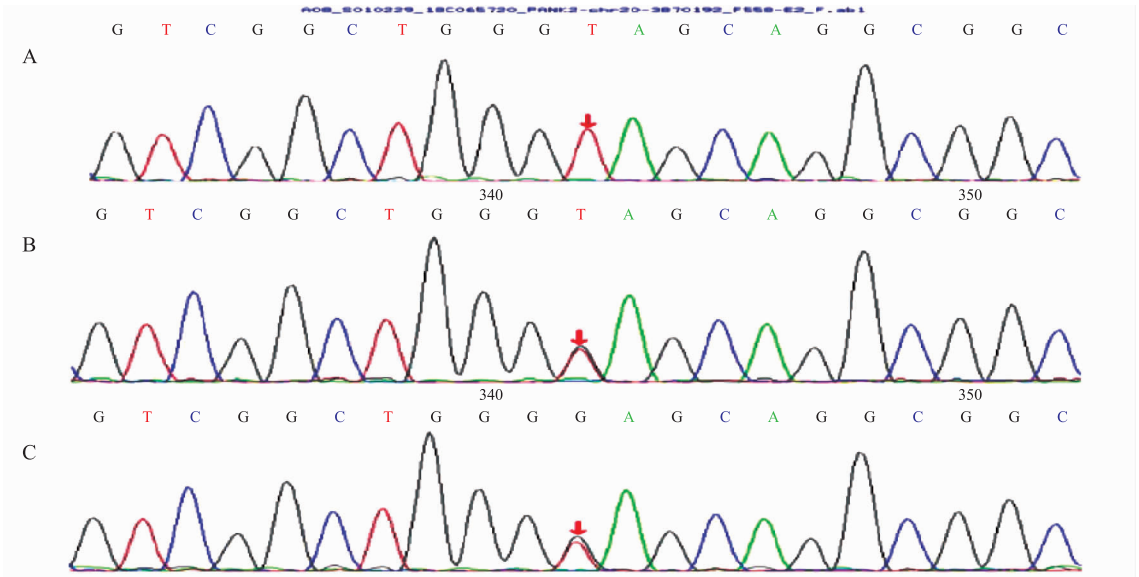


图3 A 示先证者为 c. 445G>T 的纯合突变;B 示先证者的父亲为该位点的杂合突变;C 示先证者的母亲为该位点的杂合突变