

运用高通量测序方法确定云南省 2 个家系及散发病例中的单纯型遗传性痉挛性截瘫的致病基因及发生模式

郑昆文 李伟 江瑶 任禹衡 沈涛 张雯

【摘要】 目的 运用高通量测序方法在云南省的 2 个家系和散发病例人群中探讨单纯型遗传性痉挛性截瘫(HSP)的发生模式,以期筛选出病理候选基因,探讨其遗传发生模式。**方法** 提取云南省 2 个家系和散发样本的全基因组 DNA;从家系样品中选择 3 例外送进行全外显子高通量测序;依据筛选获得的候选突变基因,借助 Sanger 测序在剩余的家系样本和散发病例中进行验证,从而整合出这些样本的单纯型 HSP 疾病的遗传发生模式。**结果** 借助全外显子高通量测序分析和 Sanger 测序技术,在 2 个家系和 2 例散发病例中验证筛选,获得了 13 个候选致病突变基因。携带突变基因的异同不但是家系成员和散发病例患单纯型 HSP 疾病的互作成因,也使得不同家系呈现出不同的遗传模式。**结论** 结合高通量测序技术可以针对遗传性痉挛性截瘫这类疾病进行最大程度的广谱测序,从而获得有指导意义的突变基因,更好地确定疾病的家族遗传模式,最终作为后续疾病诊断和治疗的有效靶点服务于临床诊疗。

【关键词】 单纯型遗传性痉挛性截瘫 家系 高通量测序 疾病发生模式

【中图分类号】 R741 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2019)06-0731-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2019.06.022

遗传性痉挛性截瘫(hereditary spastic paraplegia, HSP)又称 Troncpell-Lorrain 综合征,是一类主要由皮质脊髓束受损所引起的遗传性神经退行性疾病,具有明显的遗传异质性;其病理改变主要是脊髓中双侧皮质脊髓束的轴索变性和(或)脱髓鞘,以胸段最重;临床表现主要为进行性痉挛性步态、双下肢肌张力增高、肌腱反射亢进、踝阵挛阳性、病理征阳性、可伴有重症肌无力表现、也可能伴有膀胱直肠功能异常、踝关节振动觉减退、弓形足、脊柱侧弯等^[1]。HSP 被认为是一种世界范围内罕见的疾病,其患病率为 4.39~8/10 万,具体取决于民族的不同^[2]。

HSP 是一种遗传性疾病,其发生模式可通过常染色体显性(AD)、常染色体隐性(AR)、x 连锁或线粒体等方式传播^[3]。根据 Harding 在 1983 年的研究,依据 HSP 的临床症状将其分为两类:单纯型 HSP 和复杂型 HSP。单纯型 HSP 是指症状、体征局限于上述进展性痉挛性麻痹;当可能伴有脊柱或膀胱受累时常出现腱反射亢进、痉挛、巴宾斯基征阳

性等体征;常与括约肌功能紊乱、振动觉减弱相关^[4]。复杂型的 HSP 伴有广泛的突变组合神经或其他额外的神经系统症状^[5];常出现精神发育迟滞、小脑性共济失调、知识缺乏、癫痫、周围神经病变、视神经萎缩、视网膜色素变性等神经系统功能障碍以及其他的锥体外系特性如神经性耳聋、白质病变(WML)及薄胼胝体^[6]。

靶向下一代测序(targeted next-generation sequencing, NGS)又称为二代测序,是一种高通量、高性价比的测序技术,近年来的蓬勃发展对遗传性神经系统疾病的诊断也产生了重大影响^[7]。其中,全外显子测序技术引领了识别、筛选单基因遗传疾病致病变异的巨大革新。该方法能够从少量个体的样本中进行快速且经济有效的检测,并对广泛的临床设置均可行有效^[8]。为了提高单纯型 HSP 患者的诊断效率,本研究采用全外显子测序技术结合 Sanger 测序方法对云南省 2 个家系及散发的单纯型 HSP 病例进行遗传分析,探讨其遗传发生模式。

1 对象与方法

1.1 研究对象

家系一:在云南省第一人民医院神经内科就诊

基金项目:云南省科技厅应用基础研究计划(昆医联合专项)(编号为 2014FB086)

作者单位:650032 昆明,云南省第一人民医院神经内科(郑昆文 李伟 江瑶 任禹衡),临床基础医学研究所[沈涛 张雯(通信作者)]

患者中发现了1个患有双下肢瘫痪、步态不稳15年的典型患者,进一步问询怀疑这是个遗传患病家系。相关医生遂前往患者所在的云南省偏远村庄进行进一步检查,并招募到该患病家系。

该家系有家族四代共37人,对疑似患者进行生化检查、肌电图(EMG)、脑及胸脊髓MRI检查,依据Harding's criteria^[1]诊断为单纯型HSP。患者的具体诊断分析在之前的论文中有报道^[9]。其中就确诊的HSP患者10例,男性5例,女性5例,男女比例为1:1。这个家庭没有近亲结婚史。无出生缺陷史。第三代HSP发病年龄26~33岁。

家系二:针对另一位在云南省第一人民医院神经内科就诊的患者进行检查和问询,得知其家族中已有同辈的2例出现了类似的HSP症状,遂对该患者相关的近亲进行抽血检查。获得了1个小家系,包括患者所在的II代两姐妹及该患者的亲代、子代和孙代共四代人的6例小样本。

散发病例:在云南省第一人民医院神经内科的就诊患者中还获得了2例没有任何家系表征的散发病例样本,暂命名为“散发1号”和“散发2号”。

所有受试者或其法定监护人均提供书面知情同意书,并经云南省第一人民医院伦理委员会批准。具体检测和临床研究由云南省第一人民医院神经内科及临床基础医学研究所实施。

1.2 样本制备

招募到的家系成员和散发病例,同时采集所有受试者的血液样本。一方面送检相关临床检验,另一方面提取其基因组DNA。

即在知情同意的基础上抽取了家系一在世的30名家庭成员、家系二患者的6名近亲成员及散发病例1号、2号,共38位受试者的外周血样本。使用天根生物公司的“全基因组DNA试剂盒”从所有外周血样本中提取基因组DNA(TianGen, Cat # DP1802, China)。

在所有的家族DNA样本中选取3个样本外送进行全外显子测序。基于家系二目前只获得1例有症状患者,而散发病例仅2例,故基于遗传背景同质性的考虑,选取的3个样本均来自家系一,且都在同一代F2中。其中1例来自先证者8号,1例来自其同胞异性患者,并以1例未发病的同性同胞作为对照。

1.3 全外显子测序

把提取好的3例基因组DNA样本,送至北京

诺禾致源生物科技公司。基于Human Resequencing Library和XTenseq analysis software在Illumina HiSeq X平台(Novogene Co., Ltd, Beijing, China)上进行全外显子测序。每个样本的平均原始数据流量不小于90G和平均测序数据质量 $Q30 \geq 80\%$ 。

1.4 Sanger测序验证

参照高通量测序获得的候选基因筛选数据,借助ABI 3500xL Dx基因分析仪(Applied Biosystems, Foster City, USA)对2个家系的全部样本包括患病、正常样本以及2例散发病例均进行Sanger测序。通过对家系和散发HSP病例的测序验证,筛选出单纯型HSP的遗传致病候选基因,探讨其发病模式。

2 结果

2.1 2个家系的临床表现

家系一:本研究最初招募了1个有37个家庭成员的较大HSP家系,并获得在世者30人的血液DNA样本。招募受试者中1例先证者为II-8,共10例单纯型HSP患者,其中男5例,女5例,男女性别比1:1。然而,随着时间的推移,随着疾病的表型化发展,该家族系谱呈现出新的家系结构和疾病情况(图1)。

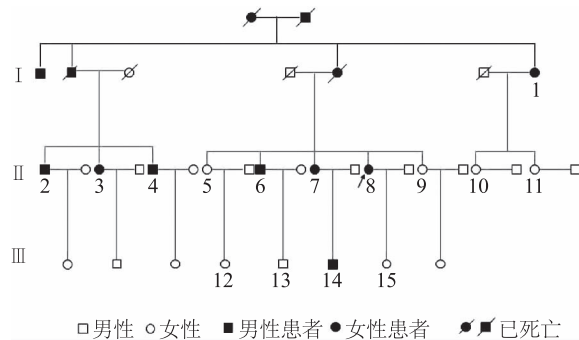


图1 家系一的家族组成及HSP患病结构

如图1可见,父母双方均为HSP患者,均已死亡(2/2);F1代中两男两女均为单纯型HSP患者,在存活的2例患者中男性发病较早,女性患者发病相对较晚(4/4);在F2代中F1代已故男性的F3后代的3名子女也都表现出轻微的HSP症状,而F1代已故女性的5个后代中有3人即为单纯型HSP患者(6/10)。其中包括女性先证者F2-8号患者,其被诊为20岁早期发病(1/8),是F2、F3代中最早发

病的先证者。F3 代总体暂时无明显变化,但在近期的随访中发现 F1 代已故女性的孙代出现了疑似 HSP 的男性患者即 F3-14 号。综合新近的疾病发展诊断情况,该家系共 37 个家庭成员中有 13 例为单纯 HSP 患者,其中男 7 例,女 6 例,表现为典型的常染色体显性遗传方式,而且发病年龄似乎有一代一代向前推进的趋势。

家系二:招募到的 HSP 小家系(图 2)。目前这个小家系共采集到 6 位家庭成员的样本。由图 2 可见,来院就诊的患者为 II-1 号,女性,来院时呈现典型的单纯型 HSP 临床表现。经过征询和招募,发现其亲代父亲 I-1 和已故母亲 I-2 均未见 HSP 临床表现,而该患者的子代 III-1 和孙代 IV-1,其同胞妹妹 II-3 及二个子代 III-3 和 III-4,目前均未见 HSP 临床表现。可能符合常染色体隐性遗传方式。

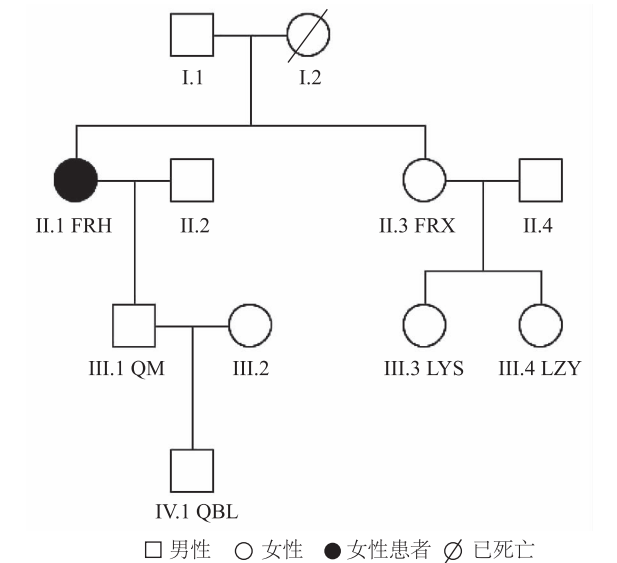


图2 家系二的患者近亲家族组成及 HSP 患病结构

2.2 全外显子测序鉴定变异

选择了家系中 2 个病例 1 个对照外送进行全外显子测序鉴定。通过对 HSP 疾病候选基因的检测和筛选,经过初级和高级分析在 3 个测序样本中鉴定出 57 个候选基因,并最终筛选出其中 13 个疑似致病候选突变基因。

2.3 用 Sanger 测序验证变异

针对这 13 个候选基因设计 13 对引物,对 2 个家系和 2 个散发病例共 38 个样本,全部进行 Sanger 测序验证,对比 2 个家系及散发病例的遗传表现,筛选其候选 HSP 致病基因,从而确定 HSP 的发病模式。设计引物如表 1 所示。

表 1 Sanger 验证所用的 13 对候选基因引物

基因	引物
SPG11	F: 5'gctctttcccaacctgtgtcttta3' R: 5'tgggaacatgagaaaattagggaa3'
SPAST	F:5' aactgcaaacaggatgatgagtgaac3' R:5'acgtcttgcaaaaggacatagc3'
ERLIN2	F: 5' gaaggaaagtcgcgtgctg 3' R:5' ctaggccaaccgcgttcag3'
CPT1C	F:5'catgaacctgagaccgcac3' R:5'ggatagggatggcatgtgttagact3'
TUBB	F:5'ggaattttgtccctggccc3' R:5'ggagcaacgagaccacaaca3'
CAPN11	F:5'agggctgttaggggtcggaagag3' R:5'gggggttttagtgggtgctctg3'
ING3	F:5'tctgctgtcctgcctctga3' R:5'cgaccaatgttataggatcca3'
DNAJC16	F:5'gtcgggattcaatttcacacca3' R:5'aaagcaaaatgagagtccttctc3'
ADAM28	F:5'cggcaactggcaaaaattaggtgta3' R:5'gcgcattttcatttctgtgtcc3'
NRG1	F:5' agtggctgatggcatttgata 3' R:5' aaagacttgactgcctcactg 3'
JAK3	F:5' aagtggcgaggcttaatga 3' R:5' gacaggctctacgtgatggg 3'
SLC1A5	F: 5' cggcctgcacggagagttttatc3' R: 5' gggcatggcagctcacacctataa3'
MYT1	F:5'ccccgtgtcctgtcttctcta3' R:5' tcacgaaaaggatggctcc 3'

2.4 家系及散发病例的候选 HSP 基因突变

为了探讨候选 HSP 基因突变在 2 个家系和散发病例中的表现方式,在参照全外显子测序数据对家系样本进行 Sanger 测序验证时,如果非血亲、非近亲家系成员本身没有表现出 HSP 症状,测序验证后的基因型也为野生型未发生突变者,将排除对这些完全正常样本的讨论。

家系一:依据对家系一中 3 个样本全外显子测序的筛选数据,借助 Sanger 测序在其余家庭成员中进行验证,最终在 15 位血亲家系成员中筛选获得 13 个候选致病基因突变。具体 15 位家系成员的 13 个候选基因突变表现如表 2 所示。

由图 1 可见,该家系 15 位血亲家系成员中 1、2、3、4、6、7、8、14 号患者已经出现典型单纯型 HSP 症状,而 5、9、10、11、12、13、15 号成员尚未出现 HSP 临床表现。在家系一共 24 名直系血亲成员中有 8 名成员已经确认为单纯型 HSP,占到了整个家系的 1/3 之多,是典型的常染色体显性遗传模式。

由表 2 可见,13 个候选基因的不同突变覆盖了整个家系的不同成员,如单个致病突变的基因 DNAJC16(7/15),SPAST(6/15),CAPN11(6/15),

表 2 家系一中 15 位血亲家系成员的 13 个候选基因突变表现

	DNAJC16 (chr1)	SPAST (chr2)	CAPN11 (chr6)	ADAM28 (chr8)		NRG1 (chr8)	SPG11 (chr15)	JAK3 (chr19)	CPT1C (chr19)	SLC1A5 (chr19)		MYT1 (chr20)	ING3 (chr7)	ERLIN2 (chr8)	TUBB (chr6)
	c. 718 C>T	c. 1510 ∅. c. 1606 C>T	g. 21334 G> T; c. 1621 G>T	c. 1709 C>G	g. 47766 G>A ∅. g. 47802 T> C; ∅. g. 47830 G>A	c. 332 ∅. c. 977 T>C	g. 6548 A> G; c. 864 A>G	c. 970 G>A	g. 17707 /c. 1541 G>T	c. 223 ∅. c. 145 ∅. c. 829 G>A	c. 144 C>T	c. 2126 C>T	c. 437-7 T>C	g. 107 G>A	c. 63_85 del
携带突 变家系 成员															
1		wt/mt						wt/mt	wt/mt	wt/mt		wt/mt	wt/mt		
2	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt
3	wt/mt				wt/mt		wt/mt		wt/mt	wt/mt		wt/mt			
4			wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt								wt/mt	wt/mt
5					mt/mt		wt/mt								
6	wt/mt	wt/mt		wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt				wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt
7					wt/mt										
8	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt		wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt
9				wt/mt	wt/mt										
10	wt/mt	wt/mt	wt/mt			mt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt		wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt
11					wt/mt						wt/mt				
12					wt/mt		wt/mt								
13					wt/mt		wt/mt	wt/mt							
14	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt	wt/mt		wt/mt	wt/mt	wt/mt		wt/mt		wt/mt	wt/mt
15	wt/mt		mt/mt	wt/mt		wt/mt	wt/mt					wt/mt		wt/mt	wt/mt

注:wt 为野生型;mt 为突变型;wt/mt 为杂合突变;mt/mt 为纯合突变。

NRG1(7/15),SPG11(9/15),JAK3(7/15),CPT1C(6/15),MYT1(9/15),ING3(5/15),ERLIN2(7/15),TUBB(7/15)及有 2 个疑似致病突变的基因 ADAM28(7/15,12/15)SLC1A5(6/15,2/15),可以推断这个家系显性遗传的单纯型 HSP 可能与这 13 个基因有关。同理,多数患者都会携带多个候选突变基因如患者 1(6/13),2(13/13),3(6/13),4(6/13),6(10/13),7(1/13),8(13/13),14(11/13),更加明确了这些突变与该家系单纯型 HSP 的关联可能。其中,先证者 F2-8 号和同代的 2 号患者携带了全部 13 个候选致病基因的相关突变,而 SLC1A5 基因的 c. 144 C>T 突变体,可能与 HSP 的早期发病关系不大。其余基因及突变体可能或多或少地参与了这个家系单纯型 HSP 的显性遗传模式以及疾病的发生时间和严重程度。

家系二及散发病例:同样借助 Sanger 测序在家系二的 6 名成员及 2 例散发病例中进行候选基因验证,13 个候选致病突变基因在这 8 个样本中有 5 个出现了基因型的表现(表 3)。

由图 2 可见,该家系现有 6 位血亲家系成员中目前仅 II-1 号被确诊为单纯型 HSP 患者,其余 5 名同胞子女尚未出现 HSP 临床表现是较为明显的隐性遗传模式。2 例散发病例分别为 1 Ⅱ-MXF 和 2

Ⅱ-ZWW,是就诊患者中被确诊为单纯型 HSP 患者,但并无家族遗传特征的散发 HSP 患者。

针对这 8 个样本进行的 13 个候选基因测序验证,发现其中 5 个基因在部分样本中表现出突变,它们是 DNAJC16(家系 2/6,散发 0/2),SPAST(家系 4/6,散发 2/2),ADAM28(家系 3/6,散发 1/2),SLC1A5(家系 4/6,散发 1/2),TUBB(家系 1/6,散发 0/2)。家系二中的临床患者 II-1 仅携带 ADAM28 和 SLC1A5 的基因突变,提示这 2 个基因突变可能与该家系隐性遗传单纯型 HSP 的发生有较大关联,而家系成员 III-1 虽然尚未出现 HSP 临床表现,却携带了与这个家系相关的全 5 个候选突变基因,因此是 1 个值得密切关注的个体。2 例散发病例均携带 SPAST 突变基因,而仅有散发病例 2 Ⅱ携带 ADAM28 和 SLC1A5 突变基因。

2.5 家系及散发病例的 HSP 发生模式

依据家系图谱的患病图示,结合测序验证获得的候选基因突变表现情况,可以发现在家系一中典型的单纯型 HSP 是以常染色体显性遗传的模式传递给后代的,因此患者的直系血亲后代患病人数较多;其中 13 个基因在各个家庭成员中均有所分布,其中 SPG11(家族 9/15,患者 4/8),MYT1(家族 9/15,患者 7/8)及 ADAM28(家族 7/15&12/15,患者

表 3 家系二的 6 位血亲家系成员及 2 例散发病例中 13 个候选基因突变表现

	DNAJC16 (chr1)	SPAST (chr2)	CAPN11 (chr6)	ADAM28 (chr8)	NRG1 (chr8)	JAK3 (chr19)	CPT1C (chr19)	SLC1A5 (chr19)	MYT1 (chr20)	ING3 (chr7)	ERLIN2 (chr8)	TUBB (chr6)
携带突 变成员	g. 18103 &.delA	g. 79307 G>T	g. 21334 G>T; c. 1621 G>T	g. 47766 G>A &. g. 47802 T>C; &. g. 47830 G>A	c. 332 &. c. 977 T>C	c. 970 G>A	g. 17707/ c. 1541 G>T	c. 144 C>T	c. 2126 C>T	c. 437-7 T>C	g. 107 G>A	g. 2124 T>A
Ⅱ-1				wt/mt				wt/mt				
Ⅱ-3												
Ⅲ-1	wt/mt	wt/mt		wt/mt				wt/mt				wt/mt
Ⅲ-3		wt/mt		wt/mt				wt/mt				
Ⅲ-4		wt/mt										
Ⅳ-1	wt/mt	wt/mt						wt/mt				
散发 1 号		wt/mt										
散发 2 号		wt/mt		wt/mt				wt/mt				

备注:wt 为野生型;mt 为突变型;wt/mt 为杂合突变;mt/mt 为纯合突变

5/8&.7/8)基因在绝大多数家庭成员和患者中都有所表达,表明它们可能是该家系单纯型 HSP 显性遗传最主要的功能基因。其他基因也或多或少地参与了疾病的发生与传递;在家系二中单纯型 HSP 很可能是以常染色体隐性遗传的模式传递给后代的。确诊患者Ⅱ-1 所携带的 ADAM28 和 SLC1A5 的基因突变可能与该家系单纯型 HSP 的隐性遗传相关;2 例散发病例均携带 SPAST 突变基因,提示 SPAST 基因的突变是散发病例中最可能的突变诱发因素,是否与家系遗传存在隐性相关还需后续持续随访和信息搜集。

3 讨 论

到目前为止,遗传性痉挛性截瘫(HSP)已鉴定出 71 种不同的遗传性痉挛性截瘫病变位点,并已克隆出 54 种痉挛性截瘫基因。大多数 HSP 病例(约 80%)表现为常染色体显性遗传^[10]。到目前为止,已经绘制了 10 个常染色体显性 HSP 位点,其中 5 个基因 SPG3A (atlastin),SPG4 (spastin),SPG6 (NIPA1),SPG10 (KIF5A)和 SPG13 (Hsp60)发生突变^[11]。同时在 2 个基因中发现了 6 个 ARHSP 位点和致病突变;编码截瘫蛋白的 SPG7 和编码蛋白 spartin 的 SPG20^[12]。

本研究借助高通量测序技术筛选分析,在 2 个家系和 2 例散发病例测序验证,获得了 13 个候选致病突变基因。虽然基于不同的遗传模式,13 个基因在 2 个家系中表现出的遗传覆盖有所差异,但是至少有 5 个候选突变基因可能参与了单纯型 HSP 的发生。虽然在不同家系或散发个体中也会出现不同

的候选基因突变体及携带比率,但是这些候选突变基因无论在显性 HSP 家系、隐性 HSP 家系,还是在散发个体中都有所体现,表明本研究筛选出的候选突变基因可能基于单个或多个基因互作的方式参与了单纯型 HSP 的患病可能、发病早晚及病情严重程度等方面的调控。

家系一呈现典型的常染色体显性遗传模式,13 个基因也在其中有不同分布;SPG11, MYT1 及 ADAM28 基因在绝大多数家庭成员和患者中都有突变体,推测可能是该家系单纯型 HSP 显性遗传最主要的致病突变基因;先证者 F2-8 号和同代的 2 号患者携带了全部 13 个候选致病基因的相关突变,而先证者没有携带的 SLC1A5 基因的c. 144 C>T突变体可能与 HSP 的早期发病关系不大。其中,SPG11 基因是已被确认与 HSP 相关的重要基因之一,它编码一种 2443 个氨基酸的蛋白 spatacsin,但功能未知^[13]。染色体 15q15-21 上 SPG11 基因突变是常染色体隐性遗传(AR)痉挛性截瘫最常见的形式,伴有薄胼胝体(HSP-TCC)^[14]。然而,SPG11 基因在家系一中呈现出常染色体显性遗传方式的主要作用,其突变体 864 A>G 可能是 1 个新突变。

从家系二目前仅 6 名成员的基因表现来看,HSP 的遗传模式是常染色体隐性遗传;患者Ⅱ-1 所携带的 ADAM28 和 SLC1A5 的基因突变可能与该家系单纯型 HSP 的隐性遗传模式有关;其余成员如Ⅲ-1 虽然尚未出现 HSP 临床表现,却携带了与这个家系相关的全 5 个候选突变基因,因此是 1 个值得密切关注的个体。目前本研究尚未看到有针对 HSP 患者中 ADAM28 和 SLC1A5 基因的相关报

道^[15],提示这 2 个基因的突变也是本研究的新发现,后续将以一系列分子实验进行具体验证。

而在 2 例散发病例中均携带有 SPAST 突变基因,虽然由此推测 SPAST 基因的突变是散发病例中最可能的突变诱发因素,但是对其是否与家系遗传存在隐性相关,或是日常生活中一个需要密切关注的单基因致病突变,还有待后续的持续随访和信息搜集以及扩大散发病例样本量的进一步验证。SPAST 基因又称痉挛性截瘫 4 型(SPG4)基因,已被定位于染色体 2p21-p22,是常染色体显性遗传性痉挛性截瘫(ADHSP)最常见的致病基因^[16]。SPAST 约占 AD 谱系的 40%和散发病例的 6%~15%^[17]。本研究证实了 SPAST 作为常染色体显性基因与其他报道一致,并在散发病例中找到携带,表明 SPAST 基因可能也参与了常染色体隐性遗传或直接作为散发的随机突变导致 HSP 疾病的发生。

此外,值得注意的一个区别是家系一是回族人,而家系二是汉族人群。因此,本研究中候选突变基因在 2 个家系中的表现差异可能也与民族、人群的不同,而基于遗传异质性出现差异。然而,本研究在 2 个家系和 2 例散发病例中获得的 13 个候选突变基因,即使所参与的单纯型 HSP 的遗传模式有所差别,但是对于 HSP 疾病发生可能性、携带个体发病早晚、及病情严重程度都是具有参考分析价值和指导性意义。高通量测序的技术方法对 HSP 疾病候选基因及其突变的筛选分析将有助于进一步的探索^[18]。本研究将在后续更多的样本量、更深入的实验验证中确认在不同的遗传模式下起关键作用的候选基因和新发突变,希望借此对单纯型 HSP 的诊断和治疗提供有效标志物。

参 考 文 献

- [1] Harding AE. Hereditary "pure" spastic paraplegia: a clinical and genetic study of 22 families[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1981, 44(10): 871-883.
- [2] Tesson C, Koht J, Stevanin G. Delving into the complexity of hereditary spastic paraplegias: how unexpected phenotypes and inheritance modes are revolutionizing their nosology[J]. Hum Genet, 2015, 134(6): 511-538.
- [3] Blackstone C. Cellular pathways of hereditary spastic paraplegia[J]. Annu Rev Neurosci, 2012, 35: 25-47.
- [4] Polo JM, Calleja J, Combarros O, et al. Hereditary 'pure' spastic paraplegia: a study of nine families[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1993, 56(2): 175-181.
- [5] McDermott CJ, Shaw PJ. Hereditary spastic paraplegia[J]. Int Rev Neurobiol, 2002, 53: 91-204.
- [6] McDermott CJ, Burness CE, Kirby J, et al. Clinical features of hereditary spastic paraplegia due to spastin mutation[J]. Neurology, 2006, 67(1): 45-51.
- [7] Cong Lu, Li-Xi Li, Hai-Lin Dong, et al. Targeted next-generation sequencing improves diagnosis of hereditary spastic paraplegia in Chinese patients[J]. Journal of Molecular Medicine, 2018, 96(7): 701-712.
- [8] Hossein Darvish, Luis J Azcona, Abbas Tafakhori, et al. Whole genome sequencing identifies a novel homozygous exon deletion in the NT5C2 gene in a family with intellectual disability and spastic paraplegia[J]. Genomic Medicine, 2017, 2: 20.
- [9] Kunwen Zheng, Tao Shen, Tao Shou, et al. Clinical analysis of pure Hereditary Spastic Paraplegia with 10 case reports from a pedigree[J]. Chin J Clin Neurosci, 2012, 20(6): 672-674.
- [10] N Zhao, Y Sui, XF Li, et al. Mutation analysis of four Chinese families with pure hereditary spastic paraplegia—pseudo-X-linked dominant inheritance and male lethality due to a novel ATL1 mutation[J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(4): 14690-14697.
- [11] Lo Giudice T, Lombardi F, Santorelli FM, et al. Hereditary spastic paraplegia: Clinical-genetic characteristics and evolving molecular mechanisms[J]. Exp Neurol, 2014, 261: 518-539.
- [12] Philip A W, Andrew H C, Christopher Turner, et al. A clinical, genetic and biochemical study of SPG7 mutations in hereditary spastic paraplegia[J]. Brain, 2004, 127(Pt5): 973-980.
- [13] Hussein Daouda, Sirui Zhou, Anne Noreau, et al. Exome sequencing reveals SPG11 mutations causing juvenile ALS[J]. Neurobiology of Aging, 2012, 33(4): e5-9.
- [14] Rajakulendran S, Paisan-Ruiz C, Houlden H. Thinning of the corpus callosum and cerebellar atrophy is correlated with phenotypic severity in a family with spastic paraplegia type 11[J]. Clin Neurol, 2011, 7(2): 102-104.
- [15] de Souza PV, de Rezende Pinto WB, de Rezende Batistella GN, et al. Hereditary spastic paraplegia: clinical and genetic hallmarks[J]. Cerebellum, 2017, 16(2): 525-551.
- [16] Yapei Feng, Xin Ke, Meng Zhai, et al. Novel deletion of SPAST in a Chinese family with hereditary spastic paraplegia[J]. Singapore Med J, 2013, 54(5): 251-254.
- [17] Alvarez V, Sánchez-Ferrero E, Beetz C, et al. Mutational spectrum of the SPG4 (SPAST) and SPG3A (ATL1) genes in Spanish patients with hereditary spastic paraplegia[J]. BMC Neurol, 2010, 10: 89.
- [18] Burguez D, Polese-Bonatto M, Scudero LAJ, et al. Clinical and molecular characterization of hereditary spastic paraplegias: A next-generation sequencing panel approach[J]. J Neurol Sci, 2017, 383: 18-25.

(2019-02-21 收稿)