

# 偏头痛与基因测序的研究进展

刘肖 肖哲曼

【中图分类号】 R747.2    【文献标识码】 A    【文章编号】 1007-0478(2020)02-0267-05  
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2020.02.033

偏头痛是一种常见的慢性神经血管性疾病,其发病形式具有家族聚集倾向性。随着科学技术的日益普及,基因测序方法在更大范围内得到应用,基因测序方法多种多样,各具利弊。连锁分析、候选基因关联分析等方法在偏头痛基因探寻方面所产生的结果均具有局限性,这可能表明偏头痛的遗传成分是由于其他罕见的变异所导致。下一代测序技术如全外显子组 and 全基因组测序,这一更详细的测序方法,则弥补了上述方法的缺陷,而此方法也具有一定缺点,其受制于本身的高成本和技术问题的阻碍。测序方法的选择取决于实验预期的效应大小和感兴趣变量的种群发生频率。本研究现就各种基因测序方法的发展和利弊以及偏头痛不同类型候选基因相关研究进展进行综合性概述。

偏头痛是一种发作性和致残性的慢性神经血管性疾病,影响欧洲大约 14% 的人口<sup>[1]</sup>。偏头痛 2 个最普遍的发作形式是有先兆偏头痛(Migraine with aura, MA)和无先兆偏头痛(Migraine without aura, MO)<sup>[2]</sup>。偏头痛发作具有明显家族聚集性,其遗传倾向可能性为 40%~57%<sup>[3-5]</sup>。在偏头痛罕见的单基因遗传亚型中家族性偏瘫性偏头痛(Familial hemiplegic migraine, FHM)有 3 个相关致病基因已被确定<sup>[6-8]</sup>。然而,这些基因在 MO 和 MA 中无明显差别,这表明此 3 种基因与偏头痛发作是否具有先兆表现无明显的联系<sup>[9]</sup>。然而,虽然连锁基因和候选基因方法研究发现了 MO 和 MA 的致病基因,但是结论很少能通过重复验证。此后,相关研究尝试使用全基因组关联研究(Genome-wide association studies, GWAS)的方法,他们发现偏头痛发作与 4 个单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphisms, SNPs)位点明显相关。不久,另外 3 个偏头痛相关 SNPs 也得到验证<sup>[10-12]</sup>。然而,这些发现仅仅一小部分被作为后续 MO 和 MA 的遗传背景。偏头痛基因研究的局限性归因于几个因素:偏头痛不同亚型之间的异质性、缺乏 1 个可定量研究的观察表现型以及目前的技术方法可能无法捕获一些罕见的变异<sup>[13-14]</sup>。

分子遗传学领域正在迅速发展,现在可能已经到了能够克服 MO 和 MA 基因相关问题的阶段。目前,与 MO 和 MA 相关的最重要的新型方法称为下一代测序(Next-generation sequencing, NGS)。NGS 包括全外显子组测序(Whole exome sequencing, WES)和全基因组测序(Whole genome sequencing, WGS)。本综述将简要概述当前偏头痛遗传学

知识,并介绍新兴的分子遗传学技术及其在偏头痛未来基因研究中的应用。

## 1 偏头痛不同基因测序方法

### 1.1 连锁分析和候选基因关联分析研究

连锁基因研究是基于家族的,在寻找 MO 和 MA 的易感基因方面得到了广泛的应用。该方法在识别高度外显变异方面具有很高的稳定性例如在孟德尔遗传疾病中产生重要影响的基因。在多基因引起的复杂疾病中连锁研究的结果较差<sup>[15]</sup>。候选基因研究方法基于病例对照设计,不涉及大型家族谱系分析。候选基因研究依赖于一些选定基因的先验知识<sup>[16]</sup>。然而,大多数研究的证据力度不足,主要是因为未进行重复验证或者重复验证的结果在统计学上没有显著性<sup>[17-18]</sup>。其一种解释是,罕见的家系特异性变异仅在本家系的成员中具有重要影响,这些变异可能不会在其他家系或病例对照研究中得到重复验证。因此,来自不同家系的研究结果会相互矛盾,而这些变异导致的偏头痛易感性的结论可能会受到质疑<sup>[19]</sup>。

### 1.2 全基因组关联研究

全基因组关联研究(Genome-wide association studies, GWAS)是近年来的研究热点。该方法也基于病例对照设计,但与以往的方法相比,GWAS 是一种非假设性的研究方法<sup>[20]</sup>。GWAS 依赖于“常见疾病-常见变异”模型,认为常见病的遗传因素大多是由常见变异引起的<sup>[21]</sup>。第 1 个偏头痛 GWAS 研究是由国际头痛遗传学联盟在临床人群中进行的,并确定了第 1 个与偏头痛相关的 SNP。变异位点(rs1835740)位于 PGCP 及 MTDH 2 个基因之间的 8q22.1 号染色体上,二者均参与了谷氨酸的代谢<sup>[10-12]</sup>。在 Lighardt 等人的第 2 次偏头痛 GWAS 研究中将不同种群的受试者汇集在一起,使得原始实验受试者样本量和重复验证的实验受试者样本量大大提高,均可构成较大数量的偏头痛群组。尽管如此,本研究中所有被探究的 SNPs 均未达到全基因组有意义的阈值<sup>[22]</sup>。在第 3 个 GWAS 研究中另外 3 个 SNPs 被发现与偏头痛有关。这三种变异分别位于与谷氨酸稳态和疼痛机制相关的基因的 2q37.1、12q13.3 和 1p36.32 染色体上<sup>[11]</sup>。Freilinger 等报道了一项 GWAS 研究结论,其中 3 个 SNPs 与 MO 有着极强的关联,其中 2 个 SNP 位于 MEF2D 基因的 1q22 处,MEF2D 基因调控神经元分化以及限制兴奋性突触的数量。第 3 个 SNP 位于染色体 3p24 的 TGFBR2 基因附近,该基因编码一种丝氨酸苏氨酸激酶,参与细胞增殖和分化的调控以及细胞外基质的生成。研究中还发现了

另外 2 个易感基因位点。然而,这些基因的重复验证实验中证据不足,需要进一步的研究<sup>[12]</sup>。上述所有的关联基因只造成偏头痛风险很小程度的增加,产生的优势比(OR)  $\leq 1.36^{[10-12]}$ 。

Cox 等人做了一项基于血统的偏头痛 GWAS 研究。他们研究了诺福克岛 1 个孤立的人群组,发现偏头痛与血清素能系统基因内 SNPs 有关联。这种联系可能是针对这个孤立的人群组的,但可能会为将来的研究带来启发<sup>[23]</sup>。很明显,常见的变异并不能完全决定疾病的所有表型,遗传易感性将不能解释的那一部分归为罕见变异。这些罕见的变异目前不能为 GWAS 技术所捕获<sup>[13]</sup>。

GWAS 的缺点之一是后续的工作需要确定所识别的 SNP 与偏头痛存在因果关系,且需要验证 SNP 附近基因与偏头痛的发病机制有关。因此,变异位点的发现并不意味着致病基因已经被确定。相反,这种变异通常位于离基因很远的非编码区。因此,找到致病基因可能需要大量的工作,首先要对感兴趣的基因组区域进行精准的定位,然后进行功能分析<sup>[24]</sup>。

### 1.3 下一代测序

使用 600 000 个标记物的 GWAS 可以提供足够的样本量,并揭示种群频率  $\geq 5\%$  的常见变异。为了揭示种群频率  $< 5\%$  的变异,需要更多的标记和新技术。如果在大样本中使用带有 100 万个标记的 GWAS,并结合非基因型标记,则可以捕获绝大多数遗传变异,其种群频率可低至  $1\% \sim 2\%^{[25]}$ 。这将使发现新的偏头痛变异基因成为可能<sup>[25]</sup>。为了找到非常罕见的变异(通常种群频率  $< 1\%$ ),有必要执行全外显子组测序(WES)或全基因组测序(WGS)。这些方法通常称为 NGS<sup>[13]</sup>。NGS 方法成本高且分析复杂,但随着目前生物信息学的发展,它们正变得可行。

全外显子测序(WES)是对蛋白质编码区(外显子)核苷酸序列的研究。外显子约占人类基因组的  $1\%^{[26]}$ 。孟德尔遗传疾病的知识表明,在单基因疾病中大多数的致病突变都是在基因组的编码区域中发现的<sup>[27]</sup>。然而,除单基因疾病外基因组编码区域也可能是偏头痛等复杂疾病中罕见突变的来源。

由于成本问题,早期的外显子组测序工作仅限于少数特殊的个体人群。WES 通过对父母-子女 3 组测序,其中受试家系仅后代受累致病,已有效地在散发性疾病病例中发现新的突变。这种方法对单基因疾病有效,但也被用于如自闭症、智力迟缓和精神分裂症等复杂遗传疾病的检测<sup>[28-30]</sup>。虽然这些疾病在遗传学和表型上具有异质性,这可能是由多个基因突变引起的,但对散发性病例中影响较大的突变基因的知识可以用来后续指导识别偏头痛候选基因,并为进一步研究偏头痛发病机制提供启发<sup>[28, 31]</sup>。

WES 的优点在于在 1 个单一的实验中几乎所有可能包含致病突变的编码区域都可以检测出来。WES 可以识别我们感兴趣的变异,无论是单一变异基因还是多个变异基因,并能识别以前未知但可能起作用的基因。从 WES 在其他疾病中的应用所获得的经验,让我们知道如何通过这种方法获得对疾病新的认识,并指导运用于偏头痛基因检测。WES

的高昂成本并不是这项技术的唯一缺点。在 DNA 测序之前它被分为许多小片段以便读取。然而,当要找到 1 个测序片段的起源时这就会产生困难。在寻找变异基因时 WES 提供不同的外显子覆盖深度的数据可能会产生捕获偏倚。WES 研究的另一缺陷是,重复区域等结构变异很可能被遗漏,而这些结构变异可能在偏头痛发病中发挥重要作用<sup>[32]</sup>。此外,WES 还忽略了非编码区域这一部分的致病变异。为了捕获这些被遗漏的基因,更全面检测偏头痛相关变异基因,就需要对全基因组进行测序<sup>[26-27]</sup>。

除了这些测序限制之外,在非单一基因遗传疾病研究中使用 WES 的 1 个难点是,要在无直接亲属关系的大量病例中识别罕见的致病变异基因。由于其罕见性,这些变异不会出现在所有单一受试病例个体上。如何解释这些变异即为疾病的病因机制仍具有难度,而这对不同受试者进行准确偏头痛亚型诊断是非常重要的<sup>[33]</sup>。

Jiang 等<sup>[34]</sup>使用 WES 检测无先兆偏头痛(MO)可能相关的突变基因,他们选取来自同一家系的 4 例 MO 患者及 4 例与之年龄、性别相匹配的健康对照组,利用生物信息学分析筛选,并进行 PCR 验证,在此 4 例 MO 患者中共观察到 6 种新的罕见非同义突变,包括 EDA2R 基因 G170A 位点、UBE2NL 基因 T266G 位点、GBP2 基因 A907G 位点、EMR1 基因 C264G 位点、CLCNKB 基因 A1225G 位点和 ARHGAP28 基因 C413G 位点。Jiang 等认为 CLCNKB 基因编码的蛋白可能影响细胞膜电位,这与偏头痛皮层扩散抑制学说(Cortical Spreading Depression, CSD)相一致。UBE2NL 基因编码的蛋白可能调节细胞对 5-羟色胺的反应,这一结论符合三叉神经血管理论。EDA2R 基因和 UBE2NL 基因位于 X 染色体上,表明该疾病可能在遗传易感性上存在性别差异,与偏头痛女性多发的临床现象相一致。此后,NGS 技术在家族性偏瘫性偏头痛(FHM)中得到应用,研究发现 CACNA1A 基因、ATP1A2 基因及 SCN1 基因突变与 FHM 发病相关<sup>[35]</sup>,他们共发现 ATP1A2 基因 2 个突变位点(Ala606Thr、Arg383His)及 CACNA1A 基因 1 个突变位点(Thr665Met)。另一项研究指出,CACNA1A 基因 Val191Met 位点与偏头痛相关的进行性感音性神经性耳聋相关<sup>[36]</sup>。此外,Wang 等<sup>[37]</sup>通过 WES 发现 ATP1A2 基因新的变异位点 G762S,此位点与家族性偏瘫性偏头痛 2 型相关。

## 2 偏头痛不同类型的候选基因

### 2.1 离子通道基因

CACNA1A 基因位于染色体 19p13,其最常见的突变为 T666M,它参与编码 P/Q 型电压门控  $\text{Ca}^{2+}$  通道的形成。该基因突变改变了 P/Q 型  $\text{Ca}^{2+}$  通道门控特性和电流强度,引起了  $\text{Ca}^{2+}$  内流的改变<sup>[38]</sup>。对于家族性偏瘫性偏头痛来说,离子通道基因突变会使得单个  $\text{Ca}^{2+}$  通道电流增强,导致  $\text{Ca}^{2+}$  内流增多。此外,离子通道基因突变也可导致神经元中  $\text{Ca}^{2+}$  内流的密度降低<sup>[39]</sup>。这两种改变最终使得细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度调节异常,可能导致异常的神经递质释放,或影响周围其他细胞功能<sup>[39]</sup>。FHM 基因突变的病理生理机制目

前尚不明确,需要进一步研究去证实。

家族性偏瘫性偏头痛 2 型与 ATP1A2 基因密切相关<sup>[40]</sup>。ATP1A2 基因位于染色体 1q21-q23, 编码  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  转运 ATP 酶。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  转运 ATP 酶是镶嵌在细胞膜磷脂双分子层之间的一种控制  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  跨膜运输的载体蛋白, 由  $\alpha$  亚单位、 $\beta$  亚单位和辅助 FXYD 蛋白组成。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  转运 ATP 酶每水解 1 个 ATP 分子, 可将 3 个  $\text{Na}^+$  泵出细胞, 同时携带 2 个  $\text{K}^+$  进入细胞。ATP1A2 基因突变影响  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  转运 ATP 酶  $\alpha$  亚单位正常功能, 从而使得  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  转运 ATP 酶部分功能丧失,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  转运受到影响, 无法正常携带  $\text{K}^+$  进入细胞, 最终导致细胞外  $\text{K}^+$  浓度增高, 细胞内  $\text{Na}^+$  浓度增高, 产生去极化作用。

SCN1A 基因位于染色体 2q24, 其参与编码电压门控  $\text{Na}^+$  通道的形成。电压门控  $\text{Na}^+$  通道在肌肉收缩搏动、中枢神经系统调控过程、神经细胞兴奋等过程中都起到重要作用。对偏头痛患者而言, 电压门控  $\text{Na}^+$  通道参与皮层扩散抑制 (Cortical Spreading Depression, CSD), 在皮层神经元动作电位的产生和扩散过程中具有重要功能。SCN1A 基因错义突变可导致电压门控  $\text{Na}^+$  通道从快速失活状态中恢复的速度提高 2~4 倍, CSD 中神经元兴奋性增加, 参与偏头痛形成过程<sup>[41]</sup>。

## 2.2 5-HT 代谢基因

偏头痛患者对 5-HT 受体激动剂反应性良好。基于偏头痛发作的神经血管学说理论, 5-HT 受体激动剂作用于血管壁的 5-HT 受体, 使得偏头痛发作时扩张的血管产生收缩, 对偏头痛有较好的治疗效果。因此, 大量研究以 5-HT 代谢基因作为偏头痛感兴趣基因, 探究偏头痛与 5-HT 代谢基因的相关性。Marziniak 等<sup>[42]</sup>研究功能性 5-HT 转运体基因启动子多态性, 发现 5-HT 转运体基因中低活性等位基因频率在有先兆偏头痛患者中明显增加。这一现象表明 5-HT 转运体基因可能参与有先兆偏头痛的发病过程。Yilmaz 等<sup>[43]</sup>研究 5-HT 转运体基因的多态性区域 VNTR, 他们发现, 与对照组相比, VNTR Stin2.10 等位基因在偏头痛患者中频率明显增加, VNTR 的 12/12 基因型频率在无先兆偏头痛患者中显著增高<sup>[44]</sup>。Stin2.10 等位基因与偏头痛发作密切相关, 5-HT 代谢相关基因增加偏头痛发作风险。

## 2.3 多巴胺代谢基因

偏头痛是一种常见的原发性头痛类型, 头痛发作期常常伴有恶心、呕吐、畏光、畏声、畏嗅等, 恶心、呕吐等自主神经症状可能与多巴胺受体有关<sup>[45]</sup>。有研究发现偏头痛患者具有多巴胺受体高敏感性, 其细胞表面多巴胺受体明显增加。NcoIC 等位子基因参与编码多巴胺 D2 受体, 该基因与有先兆偏头痛发病有关<sup>[45]</sup>。此外, Mochi 等<sup>[46]</sup>的研究发现多巴胺 D4 受体基因的等位基因频率在无先兆偏头痛患者中明显减少, 而在有先兆偏头痛与健康对照组中无明显改变, 这表明 DRD4 基因与有先兆偏头痛具有遗传相关性。

## 2.4 心血管疾病危险因素基因

偏头痛和某些心血管疾病存在共病, 有先兆的偏头痛被视为心血管疾病的危险因素, 其可能的原因是偏头痛导致血

管易损性增加如内皮功能障碍, 从而增加心血管疾病风险<sup>[47]</sup>。此外, 有先兆偏头痛和无先兆偏头痛患者均可能合并卵圆孔未闭 (Patent Foramen Ovale, PFO), 且 PFO 大小与头痛发作频率、头痛持续时间相关<sup>[48]</sup>。基于这些理论, Lea 等<sup>[49]</sup>探究心血管疾病危险因素基因和偏头痛相关性, 发现纯合型 C677T 突变与有先兆偏头痛相关。同型半胱氨酸是体内一种兴奋性氨基酸, 可参与偏头痛痛阈调节。纯合型 C677T 突变可引发体内高同型半胱氨酸血症, 从而导致有先兆偏头痛发作。

## 2.5 炎症相关基因

炎性介质在偏头痛发病中有一定作用, 现存研究发现肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 可能参与偏头痛病理生理机制过程<sup>[50-51]</sup>。其基因多态性与偏头痛发作易感性有关, TNFB2 等位基因频率在无先兆偏头痛患者中明显增加, TNFB1 等位基因频率在无先兆偏头痛患者中却明显减少。此外, TNF B1 和 TNF B2 等位基因在有先兆偏头痛患者中未发现明显差异。这表明携带 TNFB2 等位基因与无先兆偏头痛易感性相关。

## 3 总 结

偏头痛基因研究已经显示出挑战性, 要解决偏头痛基因问题需要多种不同技术的结合。研究偏头痛基因时要考虑的 1 个重要因素是致病变异所产生的效应大小。在家族聚集性偏头痛中致病变异所产生的效应大小会较强, 但在散发性偏头痛中效应大小则会相对较低。GWAS 适合检测常见的变异, 变异产生的效应大小相对较小, 需要大量的样本病例才能获得显著的结果, 而外显子组测序和 WGS 可能更适合检测少量个体的罕见变异, 这些罕见变异产生的效应一般较强<sup>[14]</sup>。WES 和 WGS 将适用于寻找家族特异性偏头痛变异基因, 而下一代 GWAS 将是散发性偏头痛病例变异基因的最佳方法。偏头痛遗传学的未来发展有很大的潜力, 在现有偏头痛候选基因的基础上根据实验目的合理选择测序方法, 未来可能揭示偏头痛的新风险变异, 并为临床诊治偏头痛提供新的病理生理学见解。

## 参 考 文 献

- [1] Stovner LJ, Zwart JA, Hagen K, et al. Epidemiology of headache in Europe[J]. European Journal of Neurology, 2006, 13 (4): 333-345.
- [2] Mcabee GN, Morse AM, Assadi M. Pediatric aspects of headache classification in the international classification of headache disorders-3 (ICHD-3 beta version)[J]. Curr Pain Headache Rep, 2016, 20(1): 7.
- [3] Gervil M, Ulrich V, Kyvik KO, et al. Migraine without aura: a population-based twin study[J]. Ann Neurol, 1999, 46(4): 606-611.
- [4] Russell MB, Olesen J. Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine[J]. BMJ, 1995, 311(7004): 541-544.
- [5] Ulrich V, Gervil M, Kyvik KO, et al. The inheritance of migraine with aura estimated by means of structural equation modelling[J]. J Med Genet, 1999, 36(3): 225-227.

- [6] De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, et al. Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump alpha 2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2[J]. *Nat Genet*, 2003, 33(2):192-196.
- [7] Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, et al. Mutation in the neuronal voltage-gated Sodium Channel SCN1A in familial hemiplegic migraine[J]. *Lancet*, 2005, 366(9483):371-377.
- [8] Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, et al. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca<sup>2+</sup> Channel gene CACNL1A4[J]. *Cell*, 1996, 87(3):543-552.
- [9] Nyholt DR, Laforge KS, Kallela M, et al. A high-density association screen of 155 ion transport genes for involvement with common migraine[J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(21):3318-3331.
- [10] Anttila V, Stefansson H, Kallela M, et al. Genome-wide association study of migraine implicates a common susceptibility variant on 8q22.1[J]. *Nat Genet*, 2010, 42(10):869.
- [11] Chasman DI, Schuerks M, Anttila V, et al. Genome-wide association study reveals three susceptibility loci for common migraine in the general population[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(7):695-U116.
- [12] Freilinger T, Anttila V, De Vries B, et al. Genome-wide association analysis identifies susceptibility loci for migraine without aura[J]. *Nat Genet*, 2012, 44(7):777-U205.
- [13] Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases[J]. *Nature*, 2009, 461(7265):747-753.
- [14] Pearson TA, Manolio TA. How to interpret a genome-wide association study[J]. *JAMA*, 2008, 299(11):1335-1344.
- [15] Altmüller J, Palmer LJ, Fischer G, et al. Genomewide scans of complex human diseases: True linkage is hard to find[J]. *Am J Hum Genet*, 2001, 69(5):936-950.
- [16] Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations[J]. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(5):391-A396.
- [17] Kowalska M, Prendecki M, Kozubski W, et al. Molecular factors in migraine[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31):50708-50718.
- [18] Maher BH, Griffiths LR. Identification of molecular genetic factors that influence migraine[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2011, 285(6):433-446.
- [19] Anttila V, Nyholt DR, Kallela M, et al. Consistently replicating locus linked to migraine on 10q22-q23[J]. *Am J Hum Genet*, 2008, 82(5):1051-1063.
- [20] Reich DE, Lander ES. On the allelic spectrum of human disease[J]. *Trends Genet*, 2001, 17(9):502-510.
- [21] Collins FS, Guyer MS, Chakravarti A. Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation[J]. *Science*, 1997, 278(5343):1580-1581.
- [22] Ligthart L, De Vries B, Smith AV, et al. Meta-analysis of genome-wide association for migraine in six population-based European cohorts[J]. *European Journal of Human Genetics*, 2011, 19(8):901-907.
- [23] Cox HC, Lea RA, Bellis C, et al. A genome-wide analysis of 'Bounty' descendants implicates several novel variants in migraine susceptibility[J]. *Neurogenetics*, 2012, 13(3):261-266.
- [24] Cuyvers E, Sleegers K. Genetic variations underlying Alzheimer's disease: evidence from genome-wide association studies and beyond[J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(8):857-868.
- [25] Altshuler D, Durbin RM, Abecasis GR, et al. A map of human genome variation from population-scale sequencing[J]. *Nature*, 2010, 467(7319):1061-1073.
- [26] Ng SB, Turner EH, Robertson PD, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes[J]. *Nature*, 2009, 461(7261):272-276.
- [27] Choi M, Scholl UI, Ji W, et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(45):19096-19101.
- [28] Girard SL, Gauthier J, Noreau A, et al. Increased exonic de novo mutation rate in individuals with schizophrenia[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(9):U65-860.
- [29] Oroak BJ, Deriziotis P, Lee C, et al. Exome sequencing in sporadic autism spectrum disorders identifies severe de novo mutations[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(6):585-U125.
- [30] Vissers LE, De LJ, Gilissen C, et al. A de novo paradigm for mental retardation[J]. *Nat Genet*, 2010, 42(12):1109-1112.
- [31] Mamanova L, Coffey AJ, Scott CE, et al. Target-enrichment strategies for next-generation sequencing[J]. *Nat Methods*, 2010, 7(2):111-118.
- [32] Bras J, Guerreiro R, Hardy J. Use of next-generation sequencing and other whole-genome strategies to dissect neurological disease[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13(7):453-464.
- [33] Majewski J, Schwartzenruber J, Lalonde EA, et al. What can exome sequencing do for you? [J]. *J Med Genet*, 2011, 48(9):580-589.
- [34] Jiang YE, Wu R, Chen C, et al. Six novel rare non-synonymous mutations for migraine without aura identified by exome sequencing[J]. *J Neurogenet*, 2015, 29(4):188-194.
- [35] Hiekkala ME, Vuola P, Artto VA, et al. The contribution of CACNA1A, ATP1A2 and SCN1A mutations in hemiplegic migraine: A clinical and genetic study in Finnish migraine families[J]. *Cephalalgia*, 2018, 38(12):1849-1863.
- [36] Oh SK, Baek JI, Weigand KM, et al. A missense variant of the ATP1A2 gene is associated with a novel phenotype of progressive sensorineural hearing loss associated with migraine[J]. *European Journal of Human Genetics*, 2015, 23(5):639-645.
- [37] Zhao D, Meicheng Z, Wenjing T, et al. A Chinese family with familial hemiplegic migraine type 2 due to a novel missense mutation in ATP1A2[J]. *Headache*, 2018, 58(2, SI):143-144.
- [38] Bashir A, Saleem S, Wani M, et al. Association of single nucleotide polymorphisms of CACNA1A gene in migraine[J]. *Indian J Hum Genet*, 2014, 20(1):59-63.
- [39] Russell M B DA. Familial Hemiplegic Migraine: Pathophysiological Mechanisms, Clinical characteristics, diagnosis, and management[J]. *Lancet Neurol*, 2011, 10(5):457-470.
- [40] Curtain RP, Lea RA, Tajouri L, et al. Analysis of chromosome 1 microsatellite markers and the FHM2-ATP1A2 gene mutations in migraine pedigrees[J]. *Neurol Res*, 2005, 27(6):647-652.
- [41] Yan J, Dussor G. Ion channels and migraine[J]. *Headache*, 2014, 54(4):619-639.