

2 个 Huntington 病家系临床特征及 CAG 重复性分析

曹广娜¹, 包新华^{1△}, 卢红梅², 张晶晶¹, 马一楠³, 顾卫红⁴, 熊 晖¹, 秦 炯¹, 吴希如¹

(1. 北京大学第一医院儿科, 北京 100034; 2. 江苏省淮安市妇幼保健院儿科, 淮安 223002; 3. 北京大学第一医院中心实验室, 北京 100034; 4. 卫生部中日友好医院神经内科, 北京 100029)

[摘要] **目的:** 探讨 Huntington 病(Huntington disease, HD)的临床和遗传特征。**方法:** 对收集的 2 个中国汉族 HD 家系患者的临床资料进行综合分析, 应用聚合酶链式反应及基因扫描方法对其中 9 例家系成员的 *IT15* 基因的三核苷酸重复序列进行分析。**结果:** 在两个家系中确诊了 6 例患者(男女均有发病), 患者 *IT15* 基因的基因型均为杂合子, 致病 CAG 重复拷贝数介于 40~78 次。两个家系中子代较父代发病年龄提前, 家系 2 中可见发病年龄与 CAG 重复拷贝数呈负相关。6 例患者中有 1 例为少年型 HD, 其临床表现明显不同于成人型, 以肌张力障碍为主要表现。**结论:** HD 是一种由 CAG 重复序列异常扩增所致的神经变性病, 存在遗传早现现象; 少年型 HD 的临床表现不同于成人型, CAG 重复拷贝数与发病年龄及疾病严重程度有关。

[关键词] Huntington 病; 基因; 三核苷酸重复; 早现, 遗传

[中图分类号] R742.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2011)02-0163-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-167X.2011.02.001

Clinical characteristics of Huntington disease in two pedigrees and analysis of expanded CAG trinucleotide repeat

CAO Guang-na¹, BAO Xin-hua^{1△}, LU Hong-mei², ZHANG Jing-jing¹, MA Yi-nan³, GU Wei-hong⁴, XIONG Hui¹, QIN Jiong¹, WU Xi-ru¹

(1. Department of Pediatrics, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China; 2. Department of Pediatrics, Jiang Su Pro-vince HuaiAn Women and Childrens Healthcare Hospital, HuaiAn 223002, China; 3. Central Laboratory, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China; 4. Department of Neurology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

ABSTRACT Objective: To understand the clinical and genetic features of Huntington disease (HD). **Methods:** The clinical data of HD cases from 2 Chinese families were analyzed and trinucleotide repeat in the *IT15* gene were investigated in 9 of the two families by polymerase chain reaction and GeneScan. **Results:** Among the two pedigrees, 6 cases were ascertained as HD by genetic test. Genotypes of *IT15* were heterozygous in these HD patients. CAG repeat of the patients in the HD chromosome were 40-78. In the two pedigrees, the onset age was earlier in the subsequent generations than that of their fathers. In pedigree 2, the onset age was inversely correlated with CAG repeat number. One out of the 6 cases was juvenile-onset type of Huntington disease, whose clinical symptoms were different from those of the adult-onset cases, especially the hypertonic manifestation. **Conclusion:** HD is an autosomal dominant neurodegenerative disorder with genetic anticipation caused by enlargement of CAG repeat in *IT15* gene. The clinical manifestation is different between the juvenile-onset and the adult-onset. The number of CAG repeat is inversely correlated with the onset age and clinical severity.

KEY WORDS Huntington disease; Genes; Trinucleotide repeats; Anticipation, genetic

Huntington 病(Huntington disease, HD)是一种以神经系统退行性变为主要特征的常染色体显性遗传病, 外显率高。男女均可患病, 其发病率与人种有关, 欧美白种人发病率最高(5~7/10 万), 而亚非人群最低^[1]。1872 年由 George Huntington 首次对 HD 进行了全面系统的描述并指出其具有遗传特性, 该病遂以他的名字命名。1983 年 Gusella 等^[2]利用

DNA 多态性标记技术将 HD 致病基因定位于 4p16.3; 1993 年 Huntington 舞蹈病协作研究组完成了对该基因的分离与识别^[3], 目前研究表明 HD 是由 *IT15* 基因第一外显子 CAG 重复序列的异常扩增引起。该病在临床上分为少年型(juvenile onset HD)和成人型(adult onset HD), 以成人型多见, 发病高峰年龄为 35~44 岁, 进展缓慢, 病程较长, 大约

△ Corresponding author's e-mail, zwhang@pku.edu.cn

网络出版时间: 2011-3-4 7:54:12 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20110304.0754.000.html>

15 ~ 18 年; 少年型少见, 20 岁之前发病者约占 5% ~ 7%, 10 岁之前发病者不到 1%^[4], 此型进展快, 病程短, 由于病例少见, 且与成人型临床表型存在差异, 容易误诊。本研究对两个家系中的少年型与成年型患者的临床特点进行了分析, 并对家系成员 *IT15* 基因的 (CAG)_n 重复拷贝数进行检测, 对其临床表现与 *IT15* 基因的 CAG 拷贝数之间的关系进行探讨。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本实验获得北京大学第一医院临床研究伦理委员会批准, 本文研究对象 (包括患者和健康人) 均签署知情同意书。2 个 HD 家系分别来自河南和江苏 (图 1), 对家系 1 的 I 1 与 II 1 以及家系 2 的 III 8、III 9、III 15、III 27、IV 11、IV 12、IV 13、IV 14、

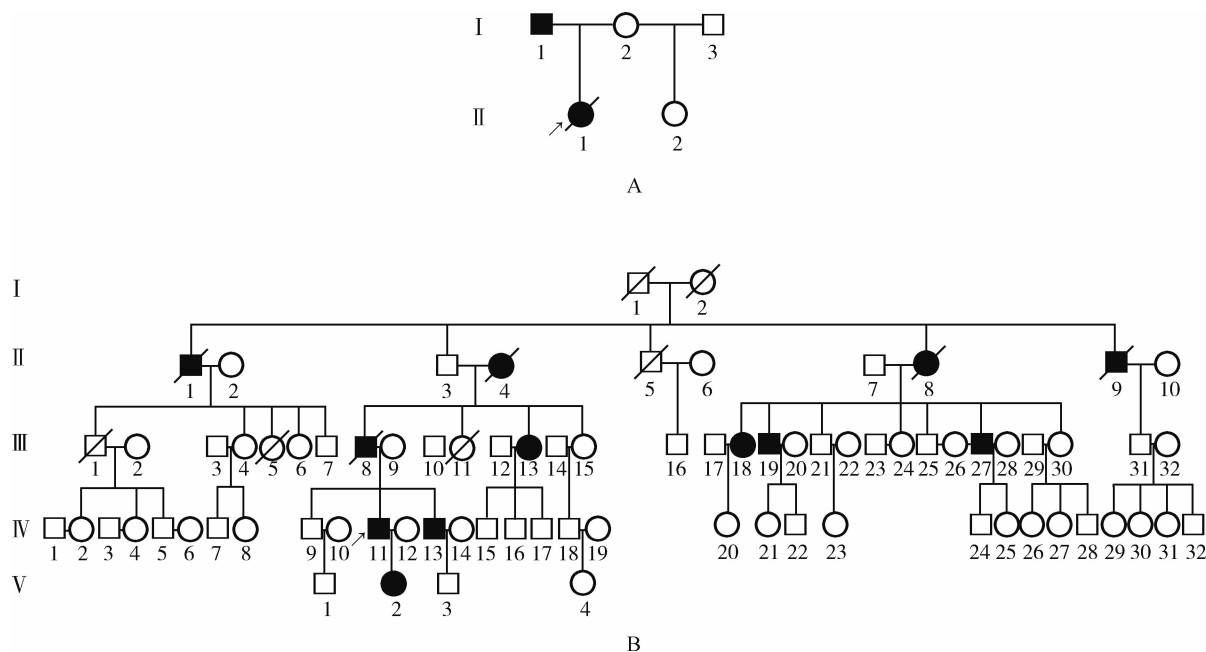
IV 18、V 2、V 3 进行了临床研究, 对家系 1 的 II 1 以及家系 2 的 III 9、III 15、III 27、IV 11、IV 13、IV 18、V 2、V 3 进行了 *IT15* 基因的 (CAG)_n 重复拷贝数进行检测。

1.2 临床分析

对两个家系进行了详细家系调查及临床资料的分析。

1.3 *IT15* 基因的 (CAG)_n 重复拷贝数检测

经知情同意后, 对 2 个家系中 9 名成员采集外周血 10 mL, 采用 Miller's 蛋白酶 K-NaCl 法提取外周血白细胞 DNA。对 *IT15* 基因含 (CAG)_n 的第一外显子进行 PCR 扩增, 上游引物序列 5'-CCT TCG AGT CCC TCA AGT CCT TC -3', 下游引物序列 5'-GCG GCG GTG GCG GCT GTT GC-3', 引物由 Invitrogen 公司合成, 扩增产物于 ABI Prism 3700 测序仪上行基因扫描, 分析产物片段长度。



○ Women; □ Man; ∅ Women dead probably not affected; ♂ Man dead probably not affected; ● Woman patient; ■ Man patient; ♂ Dead women patient; ■ Dead men patient; ↗ Proband; A, the pedigree map of family 1, the proband presented the disease at 7 years old, and died at 15 years old, her father presented the disease at 30 years old, now he is 38 years old, still alive; B, the pedigree map of family 2, there are 12 patients in the family among 4 generations.

图 1 2 个家系图谱

Figure 1 Two pedigree maps

2 结果

2.1 临床资料及家系调查

2 个家系中有 7 例患者, 男 5 例, 女 2 例。1 例少年型, 6 例为成人型。病程 7 月 ~ 11 年, 其中 2 例病人死亡, 其临床表现见表 1。

少年型患者为家系 1 中 II 1, 7 岁发病, 表现为

进行性智力、运动倒退, 发病初期走路不稳, 经常摔跤, 并出现遗尿现象, 1 年后需在别人搀扶下行走, 口齿不清, 不能准确计算, 2 ~ 3 年后不能独站, 语言更加含糊不清, 且很少与人交流, 吐舌、动作缓慢、不能将食物送入口中, 进流食时呛咳, 发病 5 年后不能自行进食。查体动作僵硬, 肌张力高, 双侧膝腱反射、跟腱反射亢进, 巴氏征阳性; 未见舞蹈样动作; 头

颅 MRI 示双侧尾状核、壳核萎缩(图 2);尿代谢筛查未见典型氨基酸、有机酸及脂肪酸代谢异常。患儿病情进展迅速,发病 8 年后(15 岁)死亡;其父 I 1 于 30 岁发病,患儿 II 1 有明显的遗传早现现象;其同父异母的妹妹正常。

成人型患者 6 例,发病年龄 30~50 岁,首发症状均为舞蹈样动作,而智能倒退、言语障碍、精神症状很常见,除患者 V 2 和 IV 13 外,见于其他 4 例患者,病情进展缓慢。家系 2 中,患者 IV 11 于 35 岁起病,11 年后尚能独自行走,但生活不能自理,头颅 CT 示脑萎缩;IV 13 于 41 岁发病,现病程 2 年,仅有在安静时有轻微的肢体抖动;III 27 于 49 岁发病,8 年后生活尚能自理;III 8 于 50 岁发病,10 年后因其他疾病死亡;V 2 在进行基因检测检查时 22 岁,尚未有临床症状,23 岁发病,现病程 7 个月,表现为走路不稳,伴有眨眼等舞蹈样动作。

家系 1 中的 I 1 病情进展相对较快,30 岁发病,2~3 年后生活即不能自理,现 38 岁尚存活,头颅 CT 示脑萎缩。

2.2 *IT15* 基因的(CAG)_n 拷贝数

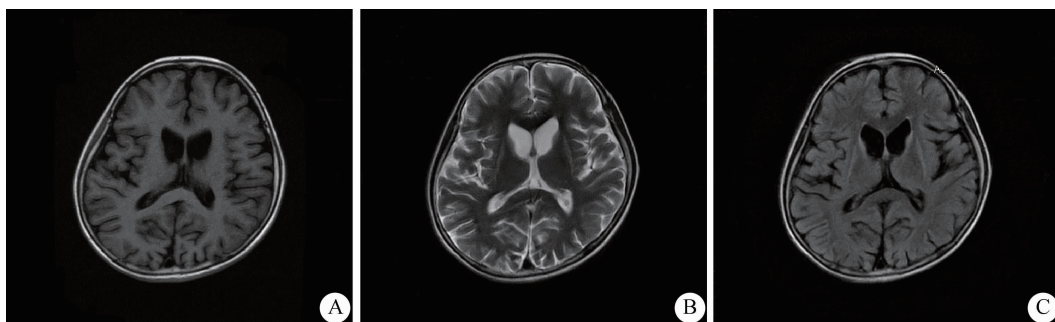
家系 1 中,II 1 的 *IT15* 基因(CAG)_n 的拷贝数为 17/78,其母 I 2 正常。家系 2 中 IV 11 的(CAG)_n 拷贝数 17/45,其女儿 V 2 为 17/57,其弟弟 IV 13 为 17/41,其表叔 III 27 为 17/40。IV 13 之子 V 3、其母 III 9、姑姑 III 15、表弟 IV 18(CAG)_n 拷贝数正常(均无临床症状)。家系 1 中患者 II 1 及家系 2 中患者 III 27、IV 11、IV 13、V 2 均携带完全外显的 HD 等位基因(CAG 重复数 ≥ 40 次),均为杂合子,既携带 Huntington 病等位基因,也携带正常等位基因(CAG 重复数目 17 次)。两个家系中女儿比父亲发病年龄明显提前,家系 2 中显示女儿的 CAG 重复数目较父亲增加。

表 1 患者的临床表现与 CAG 的重复数

Table 1 Patient's clinical manifestation and CAG trinucleotide repeat

Patient	Pedigree 1		Pedigree 2				
	I 1	II 1	IV 11	V 2	IV 13	III 27	III 8
Onset (year)	30	7	35	23	41	49	50
Sex	M	F	M	F	M	M	M
CAG repeats	None	17/78	17/45	17/57	17/41	17/40	None
Clinical manifestations							
Chorea	+	-	+	+	+	+	+
Psychiatric sympt	+	-	+	-	-	+	+
Mental retardation	+	+	+	-	-	+	+
Tone increased	-	+	-	-	-	-	-
Seizure	-	-	-	-	-	-	-
Speech disorder	+	+	+	-	-	+	+
MRI/CT	Brain atrophy	Basal ganglia atrophy	Brain atrophy	None	None	None	None

M, male; F, female; None, not done.



A, T1-weighted; B, T2-weighted; C, T2 flair; All of them shows enlargement of anterior horn of lateral ventricles and atrophy of bilateral caudate nucleus and putamen.

图 2 家系 1 中 II 1 的颅脑 MRI

Figure 2 MRI of the proband II 1 in pedigree 1

3 讨论

HD 作为一种神经变性病,其遗传方式符合常染色体显性遗传的孟德尔遗传规律,但却具有独特的分子遗传学基础,1993 年发现在其致病基因 *IT15* 的外显子 1 起始密码子下游第 17 个密码子处有一段 CAG 重复序列,而 HD 的发病与 CAG 的拷贝数的异常扩展有关。*IT15* 基因编码亨廷顿蛋白 (Huntingtin, Htt), CAG 的异常扩展,在 Htt 的氨基末端产生异常延伸的聚谷胺酰胺序列,引起 Htt 蛋白构象改变,产生神经毒性,导致神经系统退行性改变。

对欧美人群的大样本检测结果显示 CAG 重复数 ≥ 40 次时为完全外显的 HD 等位基因,携带者必将发病; CAG 重复数为 36 ~ 39 次时则为不完全外显的 HD 等位基因,仅部分携带者发病; CAG 重复数为 27 ~ 35 次时为正常等位基因,携带者不会发病,但在减数分裂过程中有突变为 HD 等位基因的倾向; 重复数目 ≤ 26 次时为完全正常等位基因,携带者既不发病也不发生减数分裂过程中的突变^[5-7]。本研究中已有临床症状的 7 例患者,其 CAG 的重复次数为 40 ~ 78 次; CAG 重复数正常的 5 例家族成员,均无临床症状,符合上述发病规律。

CAG 重复拷贝数不仅决定是否发病,而且与发病年龄和疾病严重程度也有一定关系^[8-9]。临床资料显示青少年发病者, CAG 重复数大于 50 次,而中年以后发病者重复数多在 40 多次^[10],但是 CAG 重复只能解释发病年龄变异的 47% ~ 73%, 不能作为预测 HD 发病年龄的独立因子,发病年龄受多种因素的影响,如遗传背景、父系遗传中父亲年龄,其他修饰基因、环境因素及随机过程也可影响发病的准确年龄^[11]。近年有研究认为,当重复拷贝数达到一定值(大于 50 次)时,发病年龄与 CAG 重复数之间存在明显的相关性,而当重复拷贝数介于 40 ~ 50 次之间时,两者的相关性不明显, CAG 重复数大于 50 次可作为 HD 早发的一个预测“阈值”。关于 CAG 重复数与疾病严重程度的关系存在争议,大多数学者倾向于重复数愈多疾病愈严重^[12-13]。有研究表明, CAG 重复数较低的患者,神经系统症状进展较缓慢,认知和功能障碍较轻^[14]。本研究中, 2 个家系中的 5 例成员 CAG 的重复次数由少到多依次为 40、41、45、57、78 次,相应的发病年龄分别为 49、41、35、23、7 岁,可见发病年龄与 CAG 重复次数具有明显的负相关。重复数达 78 次的患者,为少年型 HD, 7 岁即发病,且病情重,进展迅速,15 岁死亡。

HD 具有遗传早现现象,即由父系遗传的 HD 患

者发病年龄早。CAG 的重复次数是不稳定的,研究发现在减数分裂过程中,73% 的 HD 的 CAG 重复次数发生扩展,而性别可以影响 CAG 的扩展数目^[15],自母亲遗传而来的 CAG 的扩展数通常不超过 8 个,由父亲遗传而来者可有较大扩展^[16],62% 的患者在 10 个重复单位数目内变化,38% 在 9 ~ 42 个重复单位数目内变化,有的 CAG 重复数甚至是父亲的双倍,因此由父亲遗传的 HD 患者发病年龄早,且其 CAG 重复次数多。少年型 HD 多由父亲遗传而来,疾病进展较快;这种由父亲遗传的子代中,发病年龄一代早于一代的现象称为遗传早现。这一性别差异的具体机制还不清楚,有研究认为与精子形成的减数分裂过程中 DNA 的不稳定性密切相关。本研究中,家系 1 中的 II 1 由父亲 I 1 遗传而来,其发病年龄为 7 岁,较之其父的 30 岁发病,明显提前。家系 2 中有两例(III 27、III 8)由母亲遗传而来,分别 49、50 岁发病,发病年龄较晚。IV 11 和 IV 13 由父亲 III 8 遗传而来,他们的发病年龄分别是 35 岁和 41 岁,其父的发病年龄为 50 岁,也存在遗传早现现象。V 2 由其父 IV 11 遗传而来,行基因检测时尚未发病,但基因检测显示其 CAG 重复数由其父的 45 次扩展到 57 次,故预测其发病年龄会较其父提前,随访显示患者 23 岁发病,较其父 35 岁发病明显提前,符合预测结果。

HD 常常在成人发病,具有不自主运动、痴呆、精神异常“三联征”。不自主运动以舞蹈为主要表现,痴呆表现为认知功能障碍,精神异常常见的症状有淡漠、抑郁、孤僻、多疑等。由于成人具有典型的临床表现,诊断并不困难。少年型的临床表现与之差异较大^[17],其运动障碍以动作减少、肢体僵硬、肌张力增高为主要表现,舞蹈样动作少见,精神症状不突出^[18],加之临床少见,不易诊断。HD 具有高度区域选择性的脑萎缩和神经元丢失,最突出的萎缩部位为纹状体(尾状核、壳核),其次是大脑皮层。颅脑 CT/MRI 所见与尾状核、壳核萎缩的病理特征相符^[19],患者 II 1 头颅 MRI 表现为对称性尾状核萎缩,侧脑室前角尾状核区呈球形向外膨起,呈“蝴蝶征”。除尾状核(尤其是尾状核头部)萎缩性改变外,在 HD 的病情发展过程中,可以出现皮层和皮层下的萎缩^[20],少年型 HD 较成人型 HD 影像学上纹状体萎缩更为明显^[21-22]。上述影像学改变在少年型 HD 的诊断上有重要的提示作用。

由于 HD 为常染色体显性遗传性疾病,外显完全,且多在成年期发病,其子代中约有 50% 的再现风险,危害严重。对高危家族成员进行筛查,发现

HD 基因突变者,进而开展产前诊断,是阻断 HD 致病基因在家系中传递的重要措施。

参考文献

- [1] 赵育海. Huntington 舞蹈病发病机制及治疗新进展[J]. 国外医学神经病学神经外科学分册, 2001, 28(3): 191-194.
- [2] Gusella JF, Wexler N S, Conneally PM, et al. A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington's disease [J]. Nature, 1983, 306(17): 234-237.
- [3] Gusella JF, Huntington's Disease Collaborative Research Group. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes [J]. Cell, 1993, 72(6): 971-976.
- [4] Rasmussen A, Macias R, Yescas P, et al. Huntington disease in children: genotype-phenotype correlation [J]. Neuropediatrics, 2000, 31(4): 190-194.
- [5] The American College of Medical Genetics / American Society of Human Genetics Huntington Disease Genetic Testing Working Group. ACMG/ASHG statement: laboratory guidelines for Huntington disease genetic testing [J]. Am J Hum Genet, 1998, 62(5): 1243-1247.
- [6] Semaka A, Collins JA, Hayden MR. Unstable familial transmissions of Huntington disease alleles with 27-35 CAG repeats (intermediate alleles) [J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2010, 153B(1): 314-320.
- [7] Parisi V, Persi G, Varela V, et al. Huntington disease prevalence in a cohort from Argentina: analysis of normal CAG repeats in Huntington gene among HD patients and control [J]. Neurology, 2010, 74(9): 412-413.
- [8] Langbehn DR, Hayden MR, Paulsen JS. CAG-repeat length and the age of onset in Huntington disease (HD): a review and validation study of statistical approaches [J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2010, 153(2): 397-408.
- [9] Andresen JM, Gayan J, Djousse L, et al. The relationship between CAG repeat length and age of onset differs for Huntington's disease patients with juvenile onset or adult onset [J]. Ann Hum Genet, 2007, 71(3): 295-301.
- [10] Swami M, Hendricks AE, Gillis T, et al. Somatic expansion of the Huntington's disease CAG repeat in the brain is associated with an

- earlier age of disease onset. Human molecular genetics [J]. 2009, 18(16): 3039-3047.
- [11] Squitieri F, Cannella M, Giallonardo P, et al. Onset and pre-onset studies to define the Huntington's disease natural history [J]. Brain Res Bull, 2001, 56(3-4): 233-238.
 - [12] Rosenblatt A, Liang KY, Zhou H, et al. The association of CAG repeat length with clinical progression in Huntington disease [J]. Neurology, 2006, 66(7): 1016-1020.
 - [13] Aziz NA, Jurgens CK, Landwehrmeyer GB, et al. Normal and mutant HTT interact to affect clinical severity and progression in Huntington disease [J]. Neurology, 2009, 73(16): 1280-1285.
 - [14] Ravina B, Romer M, Constantinescu R, et al. The relationship between CAG repeat length and clinical progression in Huntington's disease [J]. Mov Disord, 2008, 23(9): 1223-1227.
 - [15] Ranen NG, Stine OC, Abbott MH, et al. Anticipation and instability of *IT15* (CAG)_n repeat in parent offspring pairs with Huntington disease [J]. Am J Hum Genet, 1995, 57(3): 593-602.
 - [16] Cannella M, Gellera C, Maglione V, et al. The gender effect in juvenile Huntington disease patients of Italian origin [J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2004, 125B(1): 92-98.
 - [17] Yoon G, Kramer J, Zanko A, et al. Speech and language delay are early manifestations of juvenile-onset Huntington disease [J]. Neurology, 2006, 67(7): 1265-1267.
 - [18] Riba P, Nguyen K, Hahn-Barma V, et al. Psychiatric and cognitive difficulties as indicators of juvenile Huntington disease onset in 29 patients [J]. Arch Neurol, 2007, 64(6): 813-819.
 - [19] Aylward EH, Li Q, Stine OC, et al. Longitudinal change in basal ganglia volume in patients with Huntington's disease [J]. Neurology, 1997, 48(2): 394-399.
 - [20] 田士强, 张字清. 磁共振成像在亨廷顿病诊断中的应用价值 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2002, 28(6): 430-435.
 - [21] Vandenberghe W, Demaerel P, Dom R, et al. Diffusion-weighted versus volumetric imaging of the striatum in early symptomatic Huntington disease [J]. Neurology, 2009, 256(1): 109-114.
 - [22] Henley S, Wild E, Hobbs N, et al. Relationship between CAG repeat length and brain volume in premanifest and early Huntington's disease [J]. J Neurol, 2009, 256(2): 203-212.

(2010-09-20 收稿)
(本文编辑:刘淑萍)

· 消息 ·

中国肝癌诊治标准被首届《国际肝脏超声造影指南及临床应用指导》制定会议立项应用

2010年12月3~4日,北京大学肿瘤医院(以下简称肿瘤医院)超声科首席专家陈敏华教授及杨薇医生应邀参加了在美国芝加哥召开的由世界医学与生物学超声联合会(World Federation for Ultrasound in Medicine and Biology, WFUMB)及欧洲医学与生物学超声联合会(European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology, EF-SUMB)共同组织的首届世界超声造影诊断及局部消融治疗应用指南制定会议,会议确定了各国专家在该领域的研究成果,以及在此基础上制定新的指导应用指南。来自欧美、亚洲的10多个国家的30余位代表出席,经过2天认真讨论完成该项指南。

陈敏华教授提出的中国肝硬化背景下良、恶性微小结节的诊断标准,以及超声造影对指导肝癌射频消融及穿刺活检

的应用价值被正式立项应用。大会主席的评价是“中国在超声造影领域进行了大量创新性研究,积累了宝贵经验,对此次指南的制定作出了重要贡献”。

肿瘤医院超声科自2002年开展肝、胰腺、胆系等部位的超声造影检查,并首先在国际上提出超声造影筛选肝癌射频消融适应症、指导消融治疗的应用价值等,发表了20余篇高水平的论著,引起国际该领域高度重视及认可。陈敏华教授结合中国国情,总结了肝硬化背景下肝结节的超声造影特征及早期肝癌的诊断标准,以及在射频消融治疗方面的应用价值,曾获得北京市科委重要项目培育基金及国家科技部“863”基金资助,并于2007年和2008年分别获得北京市科技进步奖二等奖。

(北京大学肿瘤医院超声科 吴薇 杨薇)