

一例青少年期发病的脊髓小脑性共济失调3型的临床及基因检测分析

张 维¹, 马伯年¹, 陈桂生^{2*}

¹宁夏医科大学临床医学院, 宁夏 银川

²宁夏医科大学总医院神经内科, 宁夏 银川

收稿日期: 2024年11月20日; 录用日期: 2024年12月13日; 发布日期: 2024年12月23日

摘 要

目的: 本研究旨在通过详细报道1例经PCR + 毛细管电泳基因检测确诊的青少年期发病的脊髓小脑性共济失调3型, 以增强临床医师对该疾病的诊断认识。方法: 分析1例青少年期发病的脊髓小脑性共济失调3型患者的临床资料及两次不同的基因检测结果。结果: 先证者为15岁女性, 其在15岁时出现共济失调、腱反射亢进等症状。对患者应用高通量测序技术揭示, 患者ZFYVE26基因具有c.7487G>A p.Arg2496Gln的杂合突变; 此外, 通过PCR + 毛细管电泳进行基因检测, 发现患者ATXN3基因中CAG重复数目分别是32和80次。结论: 本例脊髓小脑型共济失调3型与遗传性痉挛性截瘫表现出一些交叉症状, 但PCR + 毛细管电泳基因检测对两种疾病的鉴别诊断具有重要意义。

关键词

脊髓小脑性共济失调3型, 遗传性痉挛性截瘫, 毛细管电泳, 高通量测序

Clinical and Genetic Testing Analysis of Spinocerebellar Ataxia Type 3 with Onset in Adolescence

Wei Zhang¹, Bonian Ma¹, Guisheng Chen^{2*}

¹School of Clinical Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan Ningxia

²Department of Neurology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan Ningxia

Received: Nov. 20th, 2024; accepted: Dec. 13th, 2024; published: Dec. 23rd, 2024

*通讯作者。

文章引用: 张维, 马伯年, 陈桂生. 一例青少年期发病的脊髓小脑性共济失调 3 型的临床及基因检测分析[J]. 临床医学进展, 2024, 14(12): 986-991. DOI: 10.12677/acm.2024.14123176

Abstract

Objective: The purpose of this study was to report in detail a case of spinocerebellar ataxia type 3 diagnosed by PCR + capillary electrophoresis gene detection, so as to enhance the diagnostic understanding of clinicians. **Methods:** The clinical data of one adolescent patient with spinocerebellar ataxia type 3 and the results of two different gene tests were analyzed. **Results:** The proband was a 15-year-old female with ataxia, tendon hyperreflexia and other clinical symptoms. High-throughput sequencing revealed that the ZFYVE26 gene of the patient had A heterozygous mutation of c.7487G>A p.Arg2496Gln. In addition, genetic detection by PCR + capillary electrophoresis showed that the number of CAG repeats in ATXN3 gene was 32 and 80, respectively. **Conclusion:** There are some cross-symptoms between spinocerebellar ataxia type 3 and hereditary spastic paraplegia in this case, but PCR + capillary electrophoresis is of great significance in the differential diagnosis of the two diseases.

Keywords

Spinocerebellar Ataxia Type 3, Hereditary Spastic Paraplegia, Capillary Electrophoresis, High-Throughput Sequencing

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

脊髓小脑性共济失调(Spinocerebellar ataxias, SCAs)是一类具有异质性、遗传性的神经系统疾病,多呈常染色体显性遗传,临床主要表现为进行性共济失调、构音障碍、眼球运动障碍等[1],脊髓小脑性共济失调3型(Spinocerebellar ataxia type 3, SCA3)是其最常见的类型。SCA3呈常染色体显性遗传,发病年龄差异大,多在20~40岁出现临床症状[2],且根据临床症状和影像学资料常不易确诊,因此对SCA3患者进行基因检测是明确诊断的重要操作。我们将报道一例15岁发病的SCA3患者的临床资料并分析该患者两次不同的基因检测结果,来进一步提高临床医师对该疾病的认识。

2. 临床资料

2.1. 先证者

患者,女,15岁,因“走路不稳3月余”入院。患者3月前(具体日期不详)无明显诱因自觉走路不稳,患者及家属未予重视。近期患者走路不稳明显加重,无胸闷气短,无头晕头痛,无咳嗽咳痰,无肢体无力、无耳鸣、耳闷感,无饮水呛咳、吞咽困难,无意识丧失、肢体抽搐等不适。2022年7月21日就诊我院门诊,后以“共济失调待查”收住入院。

病程中,患者神志清楚,饮食、睡眠正常,智力、记忆力无明显受损,大小便正常,近期体重未见明显增减。

既往史及家族史:足月顺产,孕期胎动正常,羊水正常,出生时无缺氧史,1岁会说,6个月会坐,1岁半会走,15岁前精神运动发育均无明显异常。14岁来潮,平素月经规律,无痛经史。患者母亲自述其12岁时曾诊断“系统性红斑狼疮”(具体不详),当时予以药膏涂抹后自述痊愈,后未随诊。家族中奶奶、二叔有走路不稳症状(见图1)。

体格检查：身高 156 cm，体重 50 kg。心肺体格检查未见明显异常。神经系统体格检查：患者意识清楚，言语清晰、流利，记忆力、计算力、定向力、判断力正常。视力正常，双侧眼睑无下垂，双侧眼球各向运动到位，双眼水平眼震，双耳听力粗测正常。四肢肌力及肌张力正常，四肢肌肉无萎缩。右侧肱二头肌反射减弱，双侧膝反射、踝反射亢进。髌阵挛阴性，踝阵挛阳性。双侧巴氏征(-)，双侧上、中、下腹壁反射正常，双侧足跖反射存在。双侧指鼻试验有顿挫感，双侧轮替实验协调，双侧跟膝胫试验稳准，双侧痛温觉及深感觉无明显异常。双足下垂，一字步不稳，跨域步态，步基宽。余神经系统查体未见明显异常。

实验室检查：患者血常规、尿常规、甲功五项、乙肝五项、丙肝肝炎抗体、D2 聚体、维生素 B12、叶酸、电解质均无明显异常。狼疮抗凝物、抗心磷脂抗体、抗双链脱氧核糖核苷酸未见特殊异常。神经元特异性烯醇化酶、细胞角质蛋白 19 片段、糖类抗原 125、糖类抗原 153、糖类抗原 199、甲胎蛋白、癌胚抗原未见异常。头颅磁共振平扫 + 弥散(MRI)：颅脑 MRI 平扫 + DWI 未见明显异常(见图 2)。颈椎磁共振平扫(MRI)：1) 颈 6 椎体水平脊髓中央管轻度扩张。2) 颈椎生理曲度变直。颈椎磁共振增强：颈椎 MR 增强扫描未见明显异常。胸椎磁共振平扫(MRI)：胸椎 MR 扫描未见明确异常。肌电图(套)：左拇短展肌、右拇短展肌、左小指外展肌、右小指外展肌静息时均未见自发电位，轻用力 MU 平均时限均分别增宽约 48%，58%，63%，54%，平均电压增高约 1~2 倍，最大用力呈单纯相，双上肢神经源性损伤(累及 C8、T1 节段肌)。体感诱发电位(双肢)：双下肢 SEP 正常。

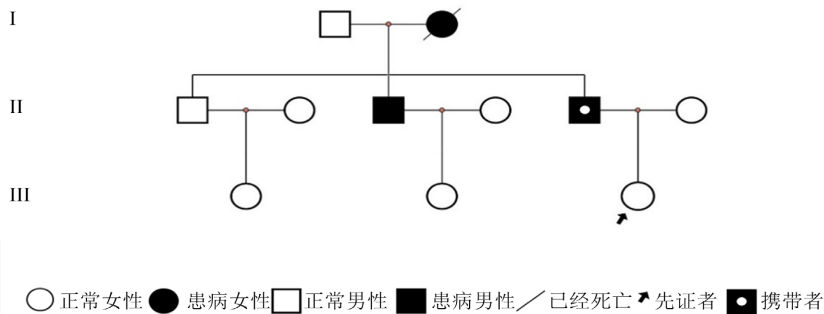


Figure 1. Family diagram of the proband
图 1. 先证者家系图谱

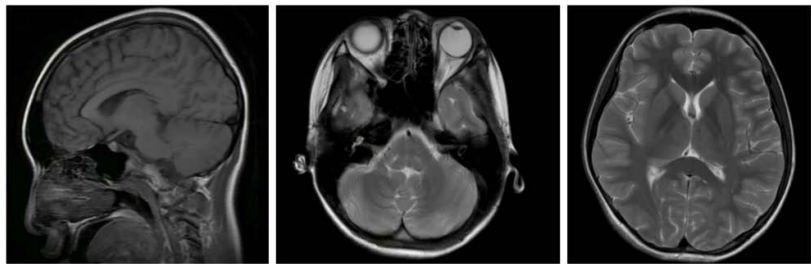


Figure 2. Magnetic resonance examination of the proband's skull
图 2. 先证者头颅磁共振检查

2.2. 基因检测

采集患者及患者父母的外周全血标本，EDTA 抗凝，进行全外显子组测序，用靶向捕获 - 高通量测序方法，测序数据经 Illumina Sequence Control Software (SCS)评估合格后，进行数据读取和生物信息学分析。基因检测结果示：患者及其母亲 ZFYVE26 基因具有 c.7487G>A p.Arg2496Gln 的杂合突变，且患者 c.7487G>A p.Arg2496Gln 来自表型正常的母亲(见图 3、表 1)。患者父亲 ZFYVE26 基因未见突变(见表 1)。

患者外周血全外显子区经靶向捕获 - 高通量测序后的基因检测结果示常染色体隐性遗传痉挛性截瘫 15 型(SPG15) (见图 4)。

采集患者及其父亲 EDTA 全血，经 PCR + 毛细管电泳方法行动态突变-SCA 核苷酸重复(12 亚型)检测，检测结果显示患者 SCA3 致病基因 ATXN3 的(CAG)重复数分别为 32 次及 80 次，符合 SCA3 的基因突变特征。SCA1、2、6、7、8、10、12、17、36、DRPLA、FRDA 相关基因的 CAG 重复数均属于正常范围。父亲基因检测：ATXN3 基因阳性，CAG 重复次数分别为 25 和 71 次(见图 5)。

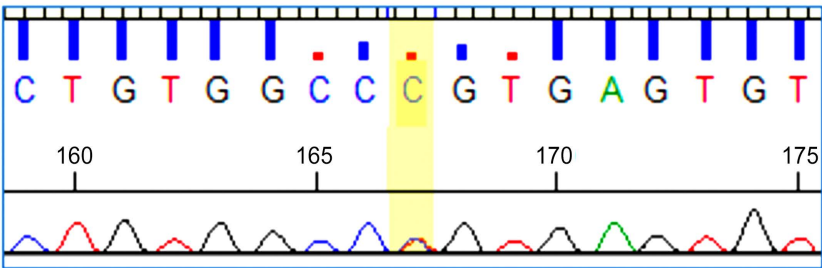


Figure 3. Whole exon sequencing by targeted capture and high throughput revealed A heterozygous mutation (antisense chain) of c.7487G>A (cytosine > thymine) in the exon region of ZFYVE26, resulting in amino acid alteration p.Arg2496Gln (arginine > glutamine)
图 3. 患者经靶向捕获 - 高通量行全外显子测序，发现 ZFYVE26 外显子区域存在一处 c.7487G>A (胞嘧啶 > 胸腺嘧啶)的杂合变异(反义链)，导致氨基酸改变 p.Arg2496Gln (精氨酸 > 谷氨酰胺)

Table 1. The proband father and mother were tested by targeted capture-high throughput peripheral blood whole exon sequencing
表 1. 先证者父亲及母亲经靶向捕获 - 高通量行外周血全外显子测序的基因检测

基因		突变点		先证者父亲		先证者母亲	
ZFYVE26		c.7487G>A.		无突变		杂合突变	

序号	基因	转录本	染色体位置 (GRCh37/hg19)	核苷酸改变	氨基酸改变	基因型	相关疾病 (遗传方式*)	来源	ACMG 变异评级
1	ZFYVE26	NM_015346	chr14:68215286	c.7487G>A	p.Arg2496Gln	杂合	1、常染色体隐性痉挛性截瘫15型(AR)	未知	临床意义未明

Figure 4. Gene detection results from whole-exome sequencing of peripheral blood from the patient
图 4. 患者外周血全外显子测序的基因检测结果

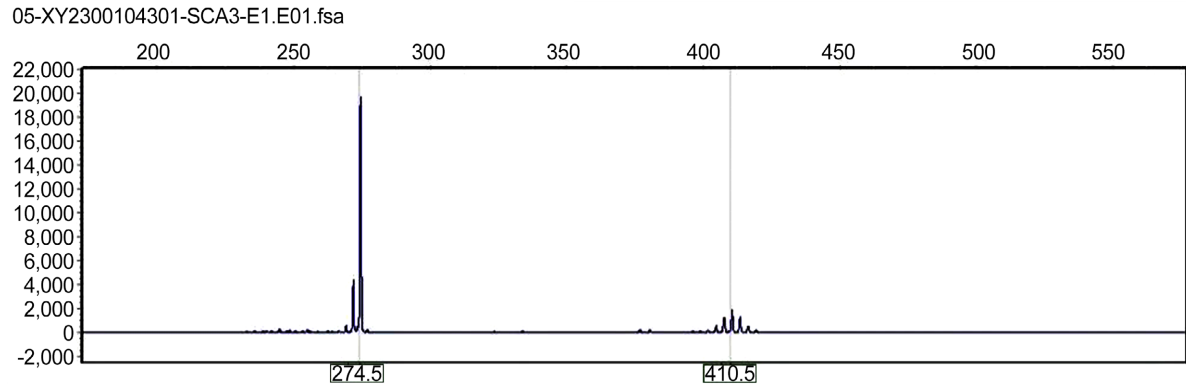


Figure 5. Detection results of the SCA3 gene in the father of the proband using PCR combined with capillary electrophoresis
图 5. 先证者父亲经 PCR + 毛细管电泳检测 SCA3 基因的检测结果

3. 讨论

脊髓小脑性共济失调(Spinocerebellar ataxias, SCAs)是一种病变部位主要在脊髓、小脑、脑干的神经系统遗传性退行性疾病[1]。根据致病基因所在染色体的定位不同,将 SCAs 可分为 SCA1-SCA40 等 40 种亚型;SCAs 的全球患病率约为 3/10 万,其中 SCA3 (也称为 Machado-Joseph disease, MJD)是全球最常见的脊髓小脑性共济失调亚型,且具有鲜明的地域特点,在中国所有 SCA 中的发生率为 50%~72.5% [3] [4]。

SCA3 基因突变位于染色体 14q32.1,主要因外显子 CAG 三核苷酸的重复扩增异常,而导致 ATXN3 基因编码的 ataxin-3 蛋白质羧基端的聚谷氨酰胺(polyQ)肽链的异常而引起的疾病,因此 SCA3 可称为聚谷氨酰胺重复病,也属于三核苷酸重复序列疾病[5] [6]。SCA3 主要临床特征是进行性小脑性共济失调,另外可合并锥体外系症状、锥体束征、眼震、构音障碍等,结合患者临床特征,可以将 SCA3 患者分为 5 个亚型:共济失调型、肌张力障碍型、周围神经病变型、帕金森病样表现型、痉挛性截瘫型[7],而在患者临床病程中,可能会共存几个亚型或出现几个亚型互相转换,并且部分患者临床表现可与遗传性痉挛性截瘫(Hereditary spastic paraplegia, HSP)存在重叠,而易被误诊为 HSP [6] [8] [9]。该患者临床体征主要是腱反射亢进,双侧指鼻试验有顿挫感,双足下垂,步基宽,而其影像学上无小脑萎缩,行靶向捕获-高通量测序结果为遗传性痉挛性截瘫 15 型,捕获到的为来源于其母亲的单一杂合突变,其父亲无突变基因,但 HSP15 为常染色体隐性遗传,考虑该单一杂合变异不存在致病可能。患者完善 SCA 核苷酸重复检测结果显示 SCA3 致病基因 ATXN3 的(CAG)重复数分别为 32 次及 80 次,而正常人该序列的重复次数是 10~44 次,考虑 SCA3 且查看患者家系图符合 SCA3 常染色体显性遗传方式;并且患者父亲的 CAG 重复次数为 71 次,但目前尚未出现相关临床表现,而患者 CAG 重复次数增多,且于 15 岁就出现临床症状,也符合 SCA3 在子代中 CAG 重复序列表现出越来越长的趋势,发病年龄也将逐渐提前的遗传早先特点[2] [10]。

随着人们对物种序列信息的深入了解和对人类基因组的探索,测序技术得到不断发展,其中高通量测序技术常被用于基因检测以协助临床医生进一步诊断和筛查相关疾病。高通量测序技术被称为二代测序或下一代测序,它可以对整个基因组、所有编码蛋白的基因或其他特定类型的 RNA 或 DNA 进行大规模并行测序,其中最常见的一种测序方法是全基因组测序、全外显子组测序和靶向高通量测序。靶向高通量测序是高通量测序的一个子集,主要是将预先确定的靶基因或基因区域富集后通过捕获试剂盒进行测序,最常用的靶点富集技术是基于 PCR 技术和杂交技术,但我们发现这两种靶点富集技术方法对于捕获重复扩增区域存在一些困难,并且二代测序序列的读长降低,尤其对于使用 Illumina 测序技术测序[11]。患者第一次基因检测是将基因外显子区域 DNA 捕获富集后,采用高通量测序进行分析;第二次基因检测是通过 PCR + 毛细管电泳进行动态突变-SCA 核苷酸重复分析,结合患者两次基因检测结果,我们发现靶向高通量测序技术通常不能发现 SCA3 与 Iqbal Z 等[12]所描述对于三核苷酸扩增障碍疾病高通量测序技术通常不能发现一致性。PCR + 毛细管电泳的测序可通过扩增特定基因片段,并运用毛细管电泳方法根据其大小来计算重复次数,其中常规 PCR 能扩展 2~3 kb 的片段,并且毛细管电泳拥有高分辨率,故 PCR + 毛细管电泳可以识别出正常与异常扩增的重复序列,用来明确诊断 SCA3 患者[13];但若应用 PCR + 毛细管电泳测序去诊断具有纯合等位基因疾病和部分有更长重复扩增区域的疾病可能会存在一些局限[14] [15]。

综上所述,靶向高通量测序与 PCR + 毛细管电泳的测序在诊断疾病过程中常被选择,但从本例患者的诊断过程中,我们能够知道 PCR + 毛细管电泳基因检测对 SCA3 诊断具有重要价值,且在诊断过程中需有清晰的诊断思路并选择恰当的基因检测技术,为临床诊断提供支持性依据。在今后的临床工作中,我们应对患者进行更加详细的病史以及家族史询问,收集其临床症状及体征和影像学等资料,并选择更

高效的基因检测方法，来提高疾病的诊断效率，以便尽早作出治疗措施。

声 明

该病例报道已获得病人的知情同意。

参考文献

- [1] Wu, F., Wang, X., Li, X., Teng, H., Tian, T. and Bai, J. (2020) Spinocerebellar Ataxia Type 23 (SCA23): A Review. *Journal of Neurology*, **268**, 4630-4645. <https://doi.org/10.1007/s00415-020-10297-5>
- [2] Li, Q., Cheng, H., Yang, L., Ma, Y., Zhao, J., Dong, Y., et al. (2020) Clinical Features and Genetic Characteristics of Homozygous Spinocerebellar Ataxia Type 3. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, **8**, e1314. <https://doi.org/10.1002/mgg3.1314>
- [3] Sullivan, R., Yau, W.Y., O'Connor, E. and Houlden, H. (2018) Spinocerebellar Ataxia: An Update. *Journal of Neurology*, **266**, 533-544. <https://doi.org/10.1007/s00415-018-9076-4>
- [4] Chen, Z., Wang, P., Wang, C., Peng, Y., Hou, X., Zhou, X., et al. (2018) Updated Frequency Analysis of Spinocerebellar Ataxia in China. *Brain*, **141**, e22. <https://doi.org/10.1093/brain/aww016>
- [5] McLoughlin, H.S., Moore, L.R. and Paulson, H.L. (2020) Pathogenesis of SCA3 and Implications for Other Polyglutamine Diseases. *Neurobiology of Disease*, **134**, Article 104635. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104635>
- [6] Coarelli, G., Wirth, T., Tranchant, C., Koenig, M., Durr, A. and Anheim, M. (2022) The Inherited Cerebellar Ataxias: An Update. *Journal of Neurology*, **270**, 208-222. <https://doi.org/10.1007/s00415-022-11383-6>
- [7] Lin, H., Chang, Y., Chang, K., Chen, Y. and Lan, M. (2018) Spastic Paraparesis as the First Manifestation of Machado-Joseph Disease: A Case Report and Review of the Literature. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, **172**, 137-140. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2018.06.037>
- [8] Meyyazhagan, A. and Orlacchio, A. (2022) Hereditary Spastic Paraplegia: An Update. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 1697. <https://doi.org/10.3390/ijms23031697>
- [9] Shi, Y., Wang, A., Chen, B., Wang, X., Niu, S., Li, W., et al. (2022) Clinical Features and Genetic Spectrum of Patients with Clinically Suspected Hereditary Progressive Spastic Paraplegia. *Frontiers in Neurology*, **13**, Article 875927. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.872927>
- [10] Leotti, V.B., de Vries, J.J., Oliveira, C.M., de Mattos, E.P., Te Meerman, G.J., Brunt, E.R., et al. (2020) CAG Repeat Size Influences the Progression Rate of Spinocerebellar Ataxia Type 3. *Annals of Neurology*, **89**, 66-73. <https://doi.org/10.1002/ana.25919>
- [11] Xuan, J., Yu, Y., Qing, T., Guo, L. and Shi, L. (2013) Next-Generation Sequencing in the Clinic: Promises and Challenges. *Cancer Letters*, **340**, 284-295. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.11.025>
- [12] Iqbal, Z., Rydning, S.L., Wedding, I.M., Koht, J., Pihlstrøm, L., Rengmark, A.H., et al. (2017) Targeted High Throughput Sequencing in Hereditary Ataxia and Spastic Paraplegia. *PLOS ONE*, **12**, e0174667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174667>
- [13] Chen, C., Zhao, X. and Kong, X. (2020) Detection and Analysis of Dynamic Variant in a Pedigree Affected with Spinocerebellar Ataxia Type 3. *Chinese Journal of Medical Genetics*, **37**, 1364-1367.
- [14] Liu, Q., Zhang, P., Wang, D., Gu, W. and Wang, K. (2017) Interrogating the "Unsequenceable" Genomic Trinucleotide Repeat Disorders by Long-Read Sequencing. *Genome Medicine*, **9**, Article No. 65. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0456-7>
- [15] Cagnoli, C., Brussino, A., Mancini, C., Ferrone, M., Orsi, L., Salmin, P., et al. (2018) Spinocerebellar Ataxia Tethering PCR: A Rapid Genetic Test for the Diagnosis of Spinocerebellar Ataxia Types 1, 2, 3, 6, and 7 by PCR and Capillary Electrophoresis. *The Journal of Molecular Diagnostics*, **20**, 289-297. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2017.12.006>