

• 论著 •

新疆地区脊髓小脑共济失调 2 型患者临床表型相关分析

白杨, 雷晶, 马建华, 张小宁

新疆医科大学第一附属医院神经内科, 新疆乌鲁木齐市 830054

摘要:目的 分析新疆地区脊髓小脑共济失调 2 型(SCA2)患者临床表型。方法 对根据 Harding 诊断标准考虑为脊髓小脑共济失调(SCAs)的患者进行神经系统查体,通过国际协作共济失调等级评分量表(ICARS)、简易智力状态量表(MMSE)进行共济失调严重程度及认知功能的初步评估。用酚氯仿法提取基因组 DNA,采用 PCR 对患者进行 SCAs 亚型分型。对 1 例 SCA2 患者进行克隆后测序。结果 发现了 9 例 SCA2 患者。1 例 SCA2 患者测序结果为 CAG 重复 47 次。该患者以震颤起病,临床表现主要为帕金森综合征,病程 6 年,ICARS 评分 10 分。4 名患者以步态失调起病,病程在 2~4 年,ICARS 评分在 15~26 分。结论 根据临床表现可初步诊断脊髓小脑共济失调,SCA2 临床表现存在异质性,故确定诊断依赖于基因诊断。以帕金森综合征表现为主的 SCA2 型患者共济失调症状发展较缓慢。

关键词: 脊髓小脑共济失调 2 型; 临床表现; 基因突变

Analysis of clinical phenotypes in patients with spinocerebellar ataxia type 2 in Xinjiang, China

BAI Yang, LEI Jing, MA Jian-Hua, ZHANG Xiao-Ning. Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Wulumuqi 830054, China

Abstract: **Objective** To analyze the clinical phenotypes of spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) in Xinjiang, China. **Methods** Physical examinations focusing on evaluating the nervous system were performed on patients considered as having SCA following Harding diagnostic criteria. The severity of ataxia and cognitive function were preliminarily evaluated by International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS) and Mini-Mental State Examination. Genomic DNA was extracted by use of phenol-chloroform method and SCA subtypes of the participants were classified by PCR. Sequencing after cloning was conducted on one patient with SCA2. **Results** Nine patients with SCA2 were identified. The result of sequencing of the patient with SCA2 revealed CAG repeated 47 times. The patient with tremor onset showed clinical manifestations of Parkinson syndrome with a disease course of 6 years and an ICARS score of 10. Four patients had gait ataxia onset with a disease course of 2-4 years and an ICARS score of 15-26. **Conclusions** SCA can be preliminarily diagnosed by clinical manifestations. Because of the heterogeneity of clinical manifestations, the diagnosis of SCA2 is confirmed by gene diagnosis. Ataxia symptom developed slowly in patients who are diagnosed with SCA2 and mainly manifested by Parkinson syndrome.

Key words: spinocerebellar ataxia type 2; clinical manifestation; gene mutation

遗传性共济失调(hereditary ataxia, HA)是神经系统遗传病,常染色体显性遗传为 HA 主要的遗传方式。HA 中较为常见类型是遗传性小脑性共济失调(hereditary cerebellar ataxias, HCA)及遗传性痉挛性截瘫。HCA 分为显性遗传及隐性遗传。以往的研究将常染色体显性遗传性小脑共济失调分为 I、II、III 型(autosomal dominant cerebellar ataxia types I、II、III, ADCA I、ADCA II、ADCA III)^[1,2]。ADCA I 型包括

脊髓小脑共济失调(spinocerebellar ataxia, SCA) 1-4、SCA8、SCA10、SCA12-23、SCA25、SCA27、SCA28 和 DRPLA,症状除共济失调外,还伴其他神经系统症状(如眼肌麻痹,认知功能障碍,锥体及锥体外系特征,延髓、脊髓及外周神经受累)。对 16 个国家 HCA 和遗传性痉挛性截瘫患者共 14539 例行系统回顾和荟萃分析显示^[3],显性 HCA 的发病率是 0.0~5.6/10 万,脊髓小脑性共济失调 3 型(spino-

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(2011211A063)

收稿日期:2015-01-14;修回日期:2015-03-24

作者简介:白杨(1989-),女,在读研究生,本科主要从事脊髓小脑共济失调的研究。E-mail: 806268550@qq.com。

通讯作者:张小宁,主任医师,博士。

cerebellar ataxia type 3, SCA3) 是最常见的显性 HCA, 其次是 SCA2 和 SCA6。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2010 年至 2013 年就诊我院, 根据 Harding 诊断标准考虑为 SCAs 的患者的外周血样 3 ml。并进行神经系统查体, 国际协作共济失调等级评分量表(International Cooperative Ataxia Rating Scale, ICARS) 在不同神经内科医生评定过程中显示了其可靠性及有效性^[4], 评分值越大, 临床症状越严重, 故研究中以 ICARS 评分来评估患者临床症状的严重程度。ICARS 评分分级: 轻度共济失调: 0~20 分; 中度共济失调: 20~50 分; 重度共济失调: 50~70 分; 特重度(生活完全不能自理): >70 分。简易智力状态量表(mini-mental state examination, MMSE) 进行认知功能的初步评估。MMSE 评分评定认知功能障碍: 文盲 ≤ 17 分、小学水平 ≤ 20、中学及以上文化程度 ≤ 24 分为认知功能障碍。

1.2 研究方法

用酚氯仿法提取基因组 DNA 作为 PCR 模版。引物序列(上海生工合成): SCA2-U: 5'-GCGT-GCGAGCCGCTG TAT-3'; SCA2-D: 5'-GGACGAG-GACGGCGA AGG-3'^[3]。PCR 反应体系: 扩增 SCA2 基因: 反应总体积 20 μl, DNA 模版 2 μl, 引物各 12 pmol, GC Buffer 1 10 μl, dNTP 终浓度 200 μmol/L, Taq 酶 1 U(天根)。反应条件: 选用 TOUCH DOWN 反应程序, 94℃ 预变性 3 min, 94℃ 变性 30 s, 71℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 退火温度以 0.5℃ 为一个单位逐个循环下降, 共 14 个循环; 94℃ 变性 30 s, 64℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 25 个循环, 最后延伸 7 min。PCR 产物电泳初步判断基因型。对 62 号异常等位基因 PCR 产物纯化回收、克隆, 送北京博迈德公司测序。

2 结果

2.1 基因检测结果

发现了 9 例 SCA2 型患者, PCR 均可扩增出 2 条特异性条带, 一条在 200 bp 处, 另一条在 250 bp 处, 均为杂合子。其中 6 人有家族史, 3 人否认家族史(图 1), 在患者家系中未发现症状前患者。其余标本 PCR 结果均为 1 条在 200 bp 处单一特异性扩增条带, 均为纯合子。对其中 1 位 SCA2 型患者(编号 62) 测序结果显示, CAG 重复次数为 47 次, 有 CCG 插入现象(图 2)。

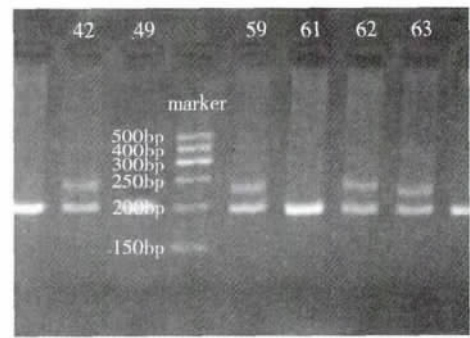


图 1 SCA2 基因 PCR 产物电泳图。marker: 50 bp Ladder DNA。编号 42、59、62、63 有异常扩增条带, 在接近 250 bp 处。

2.2 SCA2 患者的临床资料

此次发现的 9 例 SCA2 患者发病年龄在 12~48 岁, 平均发病年龄(33.3 ± 13.4) 岁。6 名患者有家族史, 3 名患者否认家族史。有家族史的患者编号为: 60、62、C01、C03、118、123。

62 号患者于 12 岁发病, 病程 6 年; 其父亲 22 岁发病, 41 岁去世, 病程 19 年, 去世前长期卧床, 有呛咳、营养差、消瘦、便血。

C01 为 C03 母亲。C01 患者 48 岁发病, 其儿子 C03 患者 27 岁发病。

118 号患者于 39 岁发病, 病程 3 年; 其母亲 40 岁发病, 61 岁去世, 病程 21 年; 二哥 13 岁发病, 不能行动、卧床 10 年, 去世前频繁呛咳明显, 于 37 岁去世, 病程 24 年。

123 号患者于 48 岁发病, 病程 10 年; 其外公 52 岁发病, 71 岁去世, 病程 19 年, 去世前长期卧床; 母亲 49 岁发病, 66 岁去世, 病程 17 年, 去世前长期卧床, 极其消瘦; 其哥哥 35 岁发病, 病程 15 年。

观察先证者所在家系各代患病成员的发病年龄, 发现每一代发病年龄较上一代提前, 符合遗传早现现象。

一名散发患者未参与系统评估, 患者为男性, 43 岁, 发病年龄 33 岁, 病程 10 年。

未参与系统评估的患者神经系统查体可见四肢腱反射减弱。余 8 名患者主要临床特点表现(见表 1), ICARS、MMSE 量表评分(见表 2)。轻度共济失调 3 例, 中度共济失调 4 例, 重度共济失调 1 例。62 号患者学历为初中, C01 号患者学历为小学, 根据上述评定标准提示 62 号患者及 C01 患者存在认知功能障碍。对认知功能障碍的患者行蒙特利尔认知评估量表(Montreal Cognitive Assessment,

MoCA) 评分: C01 患者 MoCA 量表评分: 11 分, 其中视空间与执行功能 0 分, 命名 3 分, 注意 3 分, 语言 1 分, 抽象 1 分, 延迟回忆 0 分, 定向 3 分。62 号患者 MoCA 量表评分: 19 分, 其中视空间与执行功

能 3 分, 命名 2 分, 注意 3 分, 语言 1 分, 抽象 0 分, 延迟回忆 4 分, 定向 6 分。62 号患者帕金森综合评分量表 12 分, 其中精神、行为和情绪 2 分, 日常活动 2 分, 运动功能 8 分, 治疗时的并发症 0 分。

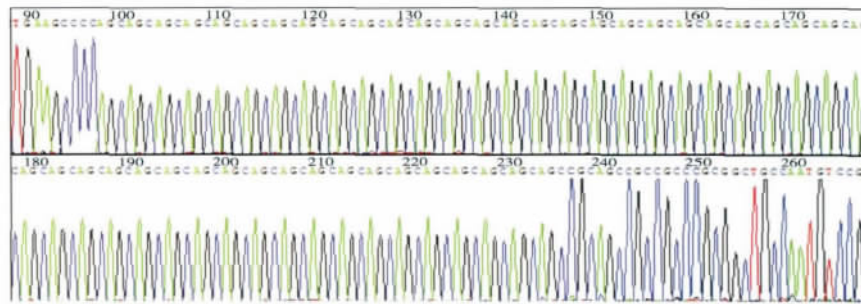


图 2 62 号患者 SCA2 异常等位基因测序图。异常基因从第 96 位起至第 240 位, CAG 重复次数为 47 次, 233 位后有 CCG 插入。

表 1 SCA2 患者临床特点

编号	42	60	62	63	C01	C03	118	123
性别	男	男	女	女	女	男	男	男
发病年龄(年)	21	27	12	44	48	27	39	48
病程(年)	3	2	6	4	10	8	2	10
步态失调(年)	3	2	2	4	10	8	2	10
站立不稳(年)	0	0.5	0	4	5	0	1	0
言语障碍(年)	2	2	0	0	3	1	1	0
声音嘶哑(年)	0.5	0	0	0	0	0	1	0
腱反射	+	+	+	+/-	+++	++	+	+
肢体震颤(年)	1	0	6	0	3	1	0.5	0
病理征	-	-	-	-	+	+	-	-
自主神经功能紊乱	无	无	无	有	有	无	无	无
慢眼扫视	无	无	无	无	有	有	无	无
下肢痛性痉挛(年)	0.5	0.5	-	-	2	3	0	0

表 2 SCA2 患者 ICARS、MMSE 评分

编号	42	60	62	63	C01	C03	118	123
性别	男	男	女	女	女	男	男	男
病程(年)	3	2	6	4	10	8	2	10
肢体震颤(年)	1	0	6	0	3	1	0.5	0
ICARS(分)	26	15	10	20	59	23	21	28
MMSE(分)	30	30	19	28	15	26	27	26

3 讨论

SCA2 的致病基因定位于染色体 12q23-24.1^[5]。该基因编码 ataxin 2 蛋白质。突变 SCA 基因的三核苷酸(CAG)重复扩增, CAG 编码谷氨酰胺, 致使突变 ataxin 蛋白中存在扩增的多聚谷氨酰胺(PolyQ)。在 PolyQ 疾病中, 突变蛋白最终形成细胞核内包涵体, 产生细胞的毒性, 致使神经系统

退行性改变。研究显示 SCA2 基因产物 ataxin-2 主要位于细胞质高尔基体。通过影响细胞质高尔基体功能导致细胞死亡^[6]。中国人群 SCA2 基因 CAG 重复次数相关研究显示正常 SCA2 等位基因 CAG 重复数为 13 ~ 30 次, 突变的 SCA2 基因 CAG 重复数为 36 ~ 41 次^[7]。

本实验发现的 SCA2 患者的临床表现主要为步态失调、腱反射减弱和言语障碍, 另外有肢体震颤、下肢痛性痉挛和认知功能障碍, 这与其他研究相同^[8,9]。SCA2 以下橄榄核、脑桥、小脑受损为主。可解释患者出现相应临床表现。SCA2 型患者腱反射一般减弱^[10], 很少出现累及锥体束而出现锥体束征。但本实验中 C01、C03 患者临床表现以锥体束受损为主, 出现腱反射活跃, 病理征阳性, 提示出现锥体束损伤。说明 SCA2 损伤也可累及锥体束, 体现了 SCA2 患者临床表现的异质性。

62 号患者的测序结果显示 CAG 重复序列为 47 次, 为异常重复次数。有研究表明, 在 CAG 重复序列中存在 CAA 片段插入, 这种患者也会发病, 但是这种患者的发病年龄晚而临床症状轻, 可能因为 CAA 也编码产生谷氨酰胺, 所以插入 CAA 的 CAG 重复序列仍然有致病性, 但 CAA 的插入影响致病基因的发卡结构, 使其翻译减少, 所以致病性减弱^[11,12]。该患者 CAG 重复序列中有 CCG 插入, 通过比较 ICARS 评分, 可见该患者共济失调临床症状最轻, 考虑为 CCG 插入重复序列至毒性蛋白翻译减少所致。但患者发病年龄早, 该患者 12 岁时以肢体不自主抖动、静止性震颤起病, 出现步态失

调2年,而其余4名患者以步态失调起病,病程在2~4年,ICARS评分在15~26分,虽然病程短,但是临床症状明显重于62号患者。有学者总结SCA2所致的帕金森病(临床症状仅表现为帕金森症状)的特点为发病年龄较晚,运动迟缓、肌肉僵直,症状进展缓慢;左旋多巴治疗有效;发病率可能与种族有关^[13]。可能是因为62号患者症状以帕金森综合征为主,而此类病人病程进展较慢。在对患者临床预后的判断时,不仅需要结合基因检测的结果,同时需要兼顾发病时的临床表现,比如以帕金森综合征表现为主的SCA2型患者疾病进展较以共济失调表现为主要的患者发展缓慢。

在各型合并帕金森综合征的SCAs中,SCA2最常见到合并帕金森综合征的病例^[14],甚至有临床表现仅为帕金森症状的患者^[15]。通过MRI、PET、SPECT等影像学检查可发现SCA2型患者黑质纹状体容易受到累及。1名伴有帕金森综合征的SCA2患者尸检报告提示脑干有路易小体形成及沉积,从病理角度解释了SCA2型患者出现帕金森综合征的原因^[16]。本实验在8例患者中有5例出现帕金森症状,出现帕金森症状的患者占多数。而Lu等^[17]学者的研究发现来自SCA2型家族的患者占帕金森患者的7.69%,他们发现SCA2型患者帕金森综合征左旋多巴治疗有效,且临床症状不易与帕金森病相鉴别。故对SCA2型的明确诊断还是依赖于基因诊断。即使像SCA7这样具有鲜明临床特点的亚型,也需要与累及视神经的其他共济失调相鉴别,可见分子遗传学的检测是非常必要的^[18]。

SCA为常染色体显性遗传病,在SCA家系中产前诊断是非常有必要的,可有助于优生优育,减轻家庭负担,提高生活质量。

参 考 文 献

- [1] Harding AE. Clinical features and classification of inherited ataxias. *Adv Neurol*, 1993, 61: 1-14.
- [2] Fujioka S, Sundal C, Wszolek ZK. Autosomal dominant cerebellar ataxia type III: a review of the phenotypic and genotypic characteristics. *Orphanet J Rare Dis*, 2013, 8: 14.
- [3] 张小宁,雷晶,马建华. 脊髓小脑共济失调2型、3型患者10例基因突变与临床表型分析. *中华神经科杂志*, 2007, 40(4): 260-263.
- [4] Storey E, Tuck K, Hester R, et al. Inter-rater reliability of the International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS). *Mov Disord*, 2004, 19(2): 190-192.
- [5] Gispert S, Twells R, Orozco G, et al. Chromosomal assignment of the second locus for autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA2) to chromosome 12q23-24.1. *Nat Genet*, 1993, 4(3): 295-299.
- [6] Huynh DP, Yang HT, Vakharia H, et al. Expansion of the polyQ repeat in ataxin-2 alters its Golgi localization, disrupts the Golgi complex and causes cell death. *Hum Mol Genet*, 2003, 12(13): 1485-1496.
- [7] 陈朴,马明义,商慧芳,等. 常染色体显性小脑性共济失调致病基因动态突变位点三核苷酸重复变异的研究. *中华医学遗传学杂志*, 2009, 26(6): 626-633.
- [8] Jhunjhunwala K, Netravathi M, Purushottam M, et al. Profile of extrapyramidal manifestations in 85 patients with spinocerebellar ataxia type 1, 2 and 3. *J Clin Neurosci*, 2014, 21(6): 1002-1006.
- [9] Velázquez-Pérez L, Rodríguez-Labrada R, Cruz-Rivas EM, et al. Comprehensive study of early features in spinocerebellar ataxia 2: delineating the prodromal stage of the disease. *Cerebellum*, 2014, 13(5): 568-579.
- [10] Boonkongchuen P, Pongpakdee S, Jindahra P, et al. Clinical analysis of adult-onset spinocerebellar ataxias in Thailand. *BMC Neurol*, 2014, 14: 75.
- [11] Sobczak K, Krzyzosiak WJ. CAG repeats containing CAA interruptions form branched hairpin structures in spinocerebellar ataxia type 2 transcripts. *J Biol Chem*, 2005, 280(5): 3898-3910.
- [12] Rozanska M, Sobczak K, Jasinska A, et al. CAG and CTG repeat polymorphism in exons of human genes shows distinct features at the expandable loci. *Hum Mutat*, 2007, 28(5): 451-458.
- [13] Sun H, Satake W, Zhang C, et al. Genetic and clinical analysis in a Chinese parkinsonism-predominant spinocerebellar ataxia type 2 family. *J Hum Genet*, 2011, 56(4): 330-334.
- [14] Wang C, Xu Y, Feng X, et al. Linkage analysis and whole-exome sequencing exclude extra mutations responsible for the parkinsonian phenotype of spinocerebellar ataxia-2. *Neurobiol Aging*, 2015, 36(1): 545; e1-e7.
- [15] Charles P, Camuzat A, Benammar N, et al. Are interrupted SCA2 CAG repeat expansions responsible for parkinsonism? *Neurology*, 2007, 69(21): 1970-1975.
- [16] Takao M, Aoyama M, Ishikawa K, et al. Spinocerebellar ataxia type 2 is associated with Parkinsonism and Lewy body pathology. *BMJ Case Rep*, 2011, 2011. pii: bcr0120113685.
- [17] Lu CS, Wu Chou YH, Yen TC, et al. Dopa-responsive parkinsonism phenotype of spinocerebellar ataxia type 2. *Mov Disord*, 2002, 17(5): 1046-1051.
- [18] 江泓,唐北沙,李清华,等. 遗传性脊髓小脑型共济失调7型一家系的临床及基因突变分析. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2005, 32(6): 495-497.