

## 铜/锌超氧化物歧化物 1 突变 致肌萎缩侧索硬化一家系分析并文献复习

邓娜, 周瑾瑕, 廖迪, 廖巧, 毕方方

中南大学湘雅医院神经内科, 湖南省长沙市 410008

**摘要:**目的 探索一肌萎缩侧索硬化(ALS)家系基因突变位点并进行文献复习。方法 对已知常见的 ALS 致病基因进行检测,进而对国内铜/锌超氧化物歧化物 1(SOD1)基因突变型 ALS 进行文献复习。结果 该家系患者平均起病年龄为( $37.8 \pm 11.6$ )岁,均以肢体症状起病,平均病程约 1.3 年,死于呼吸衰竭。该家系 SOD1 基因 4 号外显子第 305 位存在 A > G 突变(D102G)。目前国内报道的 SOD1 突变基因有 26 种。起病年龄最早者 20 岁,最晚者 67 岁;病程最短者仅 1 月,最长者达 14 年。86.4% 的患者以肢体症状起病,4.5% 以延髓症状起病,7.7% 的患者以肢体和延髓症状起病。SOD1 基因可表现为完全外显或不完全外显。结论 D102G 为国内首次报道的 ALS 疾病相关突变。不同 SOD1 基因突变位点临床症状具有异质性。

**关键词:**肌萎缩侧索硬化;铜/锌超氧化物歧化物 1 基因;突变

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2017.01.011

## An analysis of a family with amyotrophic lateral sclerosis caused by Cu/Zn superoxide dismutase 1 mutation and a literature review

DENG Na, ZHOU Jin-Xia, LIAO Di, LIAO Qiao, BI Fang-Fang. Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China

Corresponding author: BI Fang-fang, Email: 119072898@qq.com

**Abstract: Objective** To investigate the gene mutation sites in a family with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and conduct a literature review. **Methods** The common causative genes of ALS were detected in this family, and a literature review was conducted for ALS with Cu/Zn superoxide dismutase 1 (SOD1) mutation. **Results** The mean age of onset in this family was  $37.8 \pm 11.6$  years with initial symptoms in the extremities. The mean course of the disease was 1.3 years and all patients died of respiratory failure. This family carried the c.305 A > G (D102G) mutation in the exon 4 of SOD1 gene. A total of 26 SOD1 mutations were reported in China. The age of onset ranged from 20 years to 67 years, and the course of the disease ranged from 1 month to 14 years. Of all patients, 86.4% had initial symptoms in the extremities, 4.5% had initial symptoms in the medulla oblongata, and 7.7% had initial symptoms in both the extremities and the medulla oblongata. SOD1 gene showed complete or incomplete penetrance. **Conclusions** D102G is the mutation associated with ALS reported for the first time in China, and patients with different SOD1 mutation sites have different clinical symptoms.

**Key words:** amyotrophic lateral sclerosis; Cu/Zn superoxide dismutase 1 gene; mutation

肌萎缩侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种成人起病的以上下运动神经元同时受损为特征的神经系统退行性疾病。大部分患者以肢体症状起病,约 20% 的患者以延髓症状起病。

多数患者于发病后的 3 ~ 5 年内死于呼吸衰竭<sup>[1]</sup>。5% ~ 10% 的 ALS 患者具有家族遗传史,被称为家族性 ALS(familial ALS, fALS),其余约 90% ~ 95% 的患者为散发性 ALS(sporadic ALS, sALS)。fALS

收稿日期:2016-11-16;修回日期:2017-01-08

作者简介:邓娜(1990-),女,在读研究生,主要从事神经肌肉疾病及神经变性疾病研究。

通信作者:毕方方(1977-),男,副主任医师,硕士生导师,主要从事神经肌肉疾病及神经变性疾病研究。E-mail:199072898@qq.com。

可为常染色体显性遗传或隐性遗传。当 fALS 患者为常染色体显性遗传而外显率较低时,可能被误诊为 sALS<sup>[2]</sup>。铜/锌超氧化物歧化物(superoxide dismutase, SOD1)是最早发现的 ALS 致病基因<sup>[3]</sup>。研究表明,约 20% 的 fALS 患者可检测到 SOD1 突变。在过去的数十年内,国内关于 SOD1 基因突变的报道较少<sup>[4,5]</sup>。近年来随着二代测序的飞速发展,国内关于 ALS 患者 SOD1 突变的报道较前明显增加。本研究报道一个 SOD1 基因 D102G 突变 ALS 家系,并复习国内 SOD1 基因突变型 ALS 相关文献。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

研究对象为来自黑龙江齐齐哈尔市的一家系(图 1),根据国际 El Escorial ALS 诊断标准该家族部分成员符合的 ALS 诊断。

### 1.2 基因检测

向患者家属交代基因检测的必要性及意义并签署知情同意书,使用 EDTA 抗凝管抽取外周血 5 ml 并提取 DNA(Ⅲ 5,Ⅳ 10,Ⅳ 11,Ⅳ 14,Ⅳ 15,Ⅳ 18,Ⅳ 21,Ⅳ 23,Ⅳ 28,V 6,V 7,V 14,V 16,V 18,V 19,V 20,V 21,V 22)。DNA 标本送公司进行 ALS 常见致病基因(SOD1、TARBP、FUS、C90RF72、OPTN、VCP 和 UBQLN2D)检测。

### 1.3 文献分析

使用知网(CNKI)和 pubmed 检索 2005 年 ~

2016 年我国报道的 SOD1 基因突变相关文献,并进行文献复习。总结国内 SOD1 基因突变的类型,临床表现和外显率等特点。

## 2 结果

### 2.1 临床资料

先证者Ⅲ 5(图 1),62 岁,男性,因“进行性四肢乏力 6 月”入院。患者 6 月前出现右上肢近端无力,逐渐向远端发展,随后累及右下肢和左侧肢体。入院查体:颅神经(-),右上肢近端肌力 3-级,远端肌力 3 级,右下肢肌力 3 级,左上肢近端肌力 4-级,远端肌力 4 级,左下肢近端肌力 4-级,远端肌力 4 级。大小鱼际肌、肱二头肌及股四头肌萎缩,四肢腱反射活跃,双侧霍夫曼征及病理征阳性,感觉正常。

肌电图示广泛神经源性损害。肌活检可见散在小角化纤维、核聚集和小群萎缩,提示神经源性损害(图 2)。

予以对症治疗后患者病情逐渐加重,起病 7 月后出现饮水呛咳、吞咽困难,8 月后因呼吸衰竭死亡。

该家系平均起病年龄为( $37.8 \pm 11.6$ )岁(30~62 岁);平均病程为 1.3 年,病程最短者 8 个月,最长者 2 年。患者临床表现类似,均以一侧肢体起病,逐渐累及对侧,死于呼吸衰竭(表 1)。其中 V16 患 Down's 综合征,死于营养不良。

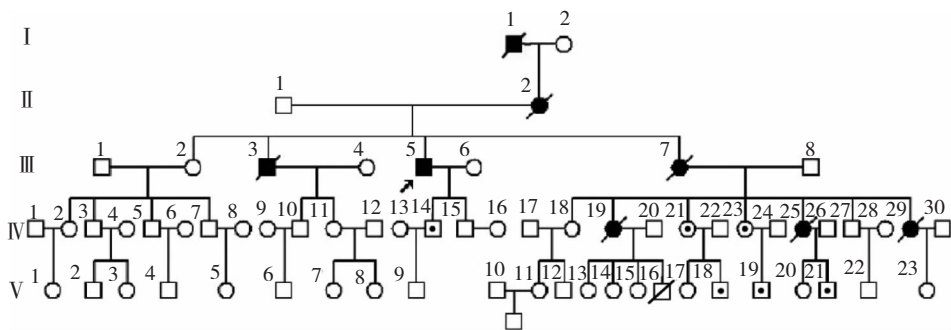


图 1 ALS 患者家系图

注:方框代表男性,圆圈代表女性。左下角箭头表示为先证者;斜线代表已去世;黑色全部填充代表患病者;方框或圆圈中一点代表突变基因携带者。

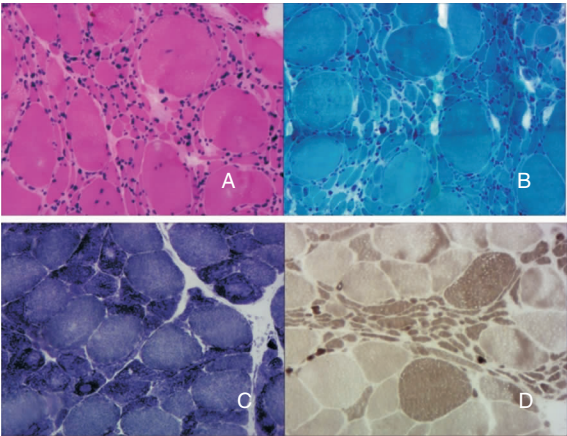


图 2 先证者Ⅲ5 肌活检所见 (×100 倍)  
注: A: ATP; B: GMT; C: NADH; D: ATP11.1。A、B、C 和 D 染色上均可见三角形的小角化纤维、核聚集和群萎缩。NADH 染色可见靶状纤维; ATP11.1 示群萎缩以Ⅱ型纤维为主。

表 1 ALS 患者临床表现						
编号	性别	起病年龄 (岁)	死亡年龄 (岁)	病程 (年)	起病部位	共患病
Ⅰ1	男	28	30	2	左上肢	无
Ⅱ2	女	31	32	1	左上肢	无
Ⅲ3	男	39	41	2	右上肢	无
Ⅲ5	男	62	62	0.7	右上肢	无
Ⅲ7	女	46	47	1	右上肢	无
Ⅳ19	女	37	38	1	左上肢	无
Ⅳ25	女	31	32	1.5	左上肢	无
Ⅳ29	女	28	30	1.5	右上肢	无

2.2 测序结果

DNA 测序结果显示家族成员Ⅲ5、Ⅳ14、Ⅳ21、Ⅳ23、Ⅴ16、Ⅴ18、Ⅴ19 及Ⅴ21 的 SOD1 基因序列 4 号外显子第 305 位点由 A 突变成 G,致 102 号的氨基酸由天冬氨酸转换为甘氨酸,即 D102G 为杂合突变 (测序图谱见图 3),而 TARBP、FUS、C90RF72、OPTN、VCP 和 UBQLN2D 基因测序未发现突变。

2.3 国内 SOD1 基因突变研究现状

目前我国报道的 ALS 患者 SOD1 基因突变共 26 种,其中错义突变 23 种,插入突变 2 种,无义突变 1 种 (表 2)。SOD1 突变型 ALS 年龄最大者为 67 岁,最年轻者仅为 20 岁。病程最短者仅 1 月,最长者达 14 年。1 例 (4.5%) 患者以延髓症状起病,2 例 (9.1%) 以肢体和延髓症状同时起病,19 例 (86.4%) 以肢体症状起病 (4 例因具体临床资料未给出除外)。患者可表现为完全外显或不完全外显。

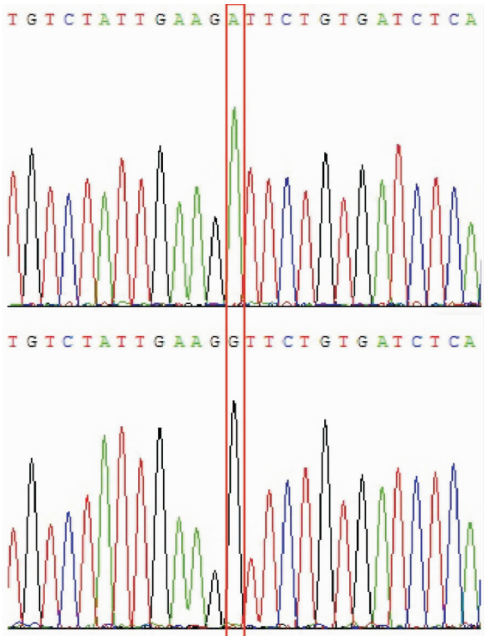


图 3 测序图谱  
注:上图为健康对照者 SOD1 基因序列 4 号外显子 305 位点为 A;下图为 ALS 患者 305 位点上为 G。

表 2 中国 ALS 患者 SOD1 基因突变类型及其特点总结						
突变位点	平均起病年龄 (岁)	平均病程 (年)	外显率	中国最先报道	起病部位	
S105L	52	2.9	不完全外显	否	肢体	
Cys146X	35.3	2.1	完全外显	是	肢体	
S134T	47	-	不完全外显	否	肢体	
N132Qfs * 5	34	2	外显	是	肢体	
Cys111Tyr	约 50	约 4	外显	否	肢体	
Gly147Asp	34	12	外显	否	肢体 + 延髓	
C7W	67	1.92	外显	是	肢体	
C6F	50.6	约 1	外显	否	肢体	
L84F	45	4.3	外显	否	肢体	
H46R	42.7	-	外显	否	肢体	
G72C	20	约 2	不完全外显	否	肢体	
E133 V	48.7	4	不完全外显	是	肢体	
I149T	39.7	1	不完全外显	否	肢体 + 延髓	
V al29insA	30.3	12.2	不完全外显	是	肢体	
F21C	63.5	2.5	不完全外显	否	肢体	
G148D	45.5	3	外显	否	肢体	
C147R	?	3 - 4	外显	否	肢体	
T137R	42.5	1.2	不完全外显	是	延髓	
G138E	41	1.5	外显	是	肢体	
G85R	-	-	外显	否	肢体	
L8 V	-	-	-	否	-	
G10A	-	-	-	否	肢体	
G16S	-	-	-	否	-	
G37R	-	-	-	否	-	
D83N	-	-	-	否	肢体	
L106F	-	-	-	否	-	

### 3 讨论

SOD1 位于 21 号染色体长臂 2 区 2 带 (21q22.11), 含有 5 个外显子, 全长约 11Kb, 其编码的 SOD1 蛋白含 153 个氨基酸<sup>[6]</sup>。生理状况下, SOD1 可拮抗超氧阴离子的毒性作用, 保护细胞免受自由基的损害, 而突变型 SOD1 不仅失去这一保护作用还可对神经细胞产生毒性作用从而导致疾病的发生<sup>[7]</sup>。SOD1 是最早发现的与 ALS 相关的基因, 国外研究表明约 20% 的 fALS 患者及 1% ~ 3% 的 sALS 与 SOD1 基因突变有关<sup>[8]</sup>。目前已报道约 160 种 SOD1 错义突变和 12 种 SOD1 截断突变 (位移突变和无义突变) 可导致 ALS 的发生<sup>[3]</sup>。近年来随着测序技术的飞速发展, 国内 ALS 患者 SOD1 基因突变的研究较前明显增多。本研究首次验证了国内 SOD1 基因 D102G 突变, 扩大了我国 ALS 患者的 SOD1 基因突变谱。

SOD1 基因 D102G 突变最早是由 De Belleruche 于 1995 年报道<sup>[9]</sup>。该突变致第 102 号密码子编码的极性、带负电荷的酸性天冬氨酸转换为极性、不带电荷的中性甘氨酸。D102G 突变不仅造成负电荷的减少, 还可改变 SOD1 蛋白的空间结构, 导致蛋白质的错误折叠和聚集, 从而对神经细胞产生毒性作用<sup>[10]</sup>。既往文献报道, D102G 突变的 ALS 患者病程进展较快, 平均生存期仅 2.4 年 (ALS 平均生存期 3 ~ 5 年)<sup>[10]</sup>。本研究家系中 ALS 患者均以肢体受累起病, 最后累及延髓, 患者的临床表现类似, 年龄跨度较大, 平均发病年龄为 (37.8 ± 11.6) 岁 (30 ~ 62 岁), 平均病程为 1.3 年, 较文献报道明显缩短, 这与地域差异和接受治疗的时间相关。此外, 102 位的天冬氨酸还可突变为天冬酰胺, 酪氨酸和组氨酸, 其中研究较多的是天冬酰胺<sup>[11]</sup>。该家系中 V16 为 Down's 综合征患者。既往有文献报道, ALS 合并 Down's 综合征的患者发病较其上一代明显提前<sup>[12]</sup>。Down's 综合征合并 ALS 患者由于有 3 条 21 号染色体, 其 SOD1 的表达更趋向于正常, 但其发病年龄较上一代提前<sup>[13]</sup>这也证实了 ALS 患者 SOD1 突变不仅可通过下调酶的活性, 还可以通过产生毒性作用导致疾病的发生。虽然此前国际上有过 D102G 突变的报道, 但是均缺乏详细的临床资料。该家系为第一例临床资料详细的 D102G 突变型 ALS, 且该突变为国内首次报道, 拓展了中国 ALS 患者 SOD1 基因突变谱, 为更深入的了解 D102G 突变提供了客观依据。

近年来, 关于 ALS 患者 SOD1 基因的研究越来越深入。目前已发现 26 种 SOD1 突变基因 (包含错义突变 23 种, 插入突变 2 种, 无义突变 1 种) 与 ALS 的发病有关, 其中 7 种为首次报道<sup>[5, 14-24]</sup>。40SOD1 致 ALS 发病年龄最年轻者仅 20 岁, 发病年龄最大者为 67 岁。我国 ALS 患者多以肢体症状起病 (86.4%), 约 4.5% 的患者以延髓症状起病, 上述临床表现与其他基因突变所致 ALS 相似, 其中以延髓症状起病者中位生存期约 1.2 年, 较文献报道的 2 年中位生存期短, 这可能与病例数较少, 接受治疗情况, 突变类型及地域差异等因素有关, 2 例 (9.1%) 以延髓症状和肢体症状同时起病, 病程跨度较大 (1 ~ 12 年)。比较不同 SOD1 基因突变位点患者, 发现其起病年龄, 临床表现和外显率等均可存在一定的差异, 如 C7W 突变发病年龄较晚为 67 岁, 病程约 1.92 年, 而 Val29insA 突变患者起病年龄较早约 30.3 岁, 病程较长约 12.2 年<sup>[18, 21]</sup>。不同突变位点, 患者临床表现可不相同, 即使同一位点突变, 患者临床表现也可以存在一定的异质性。以 I149T 为例, 同一家系中患者的病情进展不同, 最快者仅 1 月, 最慢者可达 14 年<sup>[20]</sup>。外显率是指某一基因型 (通常在杂合子状态下) 表现出相应表型的百分率。外显率为 100% 时被称为完全外显, 而其低于 100% 时则为不完全外显。部分 SOD1 基因, 如 H46R/L84F 和 Cys146X 等为完全外显, 而 S105L、S134T/G72CHE E133V 等为不完全外显。ALS 多为散发性, 仅 5% ~ 10% 的患者有家族遗传史为 fALS。当 fALS 基因不完全外显率时可被误诊为 sALS。既往认为 S134T 突变为 sALS, 国内的一项研究表明对 S134T 突变的家属行 SOD1 基因检测发现其下一代为 S134T 基因突变携带者<sup>[16]</sup>。因此, 许多临床上诊断的 sALS 可能是由于突变基因的外显率较低, 而非真正意义上的 sALS。对 ALS 患者及其亲属行基因检查有利于发现突变的基因。总之, ALS 患者 SOD1 基因突变位点不同, 患者临床表现可存在一定的差异, 即使同一位点的突变, 临床表现亦可不同, 因此对 ALS 患者进行基因检测有利于 ALS 的早期诊断。

随着精准医学这个概念的逐渐深入及测序技术的普及, ALS 患者基因检测日益成熟, 各种新发和已知突变的报道越来越多, 为国内外 ALS 基因研究提供了方向。我们应建议 ALS 患者及其直系亲属行基因检测, 为患者的病情进展、预后评估及亲属是

否会患病提供有利的指导;分析不同基因突变的临床特征,以利于针对性的个体化治疗。同时针对新发的 SOD1 基因突变,进行功能研究,更深入的了解 ALS 的发病机制,为治疗提供靶点。

# 参 考 文 献

- [1] Swinnen B, Robberecht W. The phenotypic variability of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Nat Rev Neurol*, 2014, 10 (11): 661-670.
- [2] Vucic S, Rothstein JD, Kiernan MC. Advances in treating amyotrophic lateral sclerosis: insights from pathophysiological studies [J]. *Trends Neurosci*, 2014, 37 (8): 433-442.
- [3] Radunovic A, Leigh PN. ALSO Database: database of SOD1 (and other) gene mutations in ALS on the Internet. European FALS Group and ALSOD Consortium [J]. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*, 1999, 1 (1): 45-49.
- [4] Cudkowicz ME, McKenna-Yasek D, Sapp PE, et al. Epidemiology of mutations in superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Ann Neurol*, 1997, 41 (2): 210-221.
- [5] Niu YF, Xiong HL, Wu JJ, et al. Screening of mutations in SOD1 gene and analysis of genotype-phenotype correlation in Chinese patients with amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Yi Chuan*, 2011, 33 (7): 720-724.
- [6] Bali T, Self W, Liu J, et al. Defining SOD1 ALS natural history to guide therapeutic clinical trial design [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2017, 88 (2): 99-105.
- [7] Bruijn LI, Houseweart MK, Kato S, et al. Aggregation and motor neuron toxicity of an ALS-linked SOD1 mutant independent from wild-type SOD1 [J]. *Science*, 1998, 281 (5384): 1851-1854.
- [8] Battistini S, Ricci C, Giannini F, et al. G41S SOD1 mutation: A common ancestor for six ALS Italian families with an aggressive phenotype [J]. *Amyotroph Lateral Scler*, 2010, 11 (1-2): 210-215.
- [9] Orrell RW, Habgood JJ, Malaspina A, et al. Clinical characteristics of SOD1 gene mutations in UK families with ALS [J]. *J Neurol Sci*, 1999, 169 (1-2): 56-60.
- [10] Prudencio M, Hart PJ, Borchelt DR, et al. Variation in aggregation propensities among ALS-associated variants of SOD1: correlation to human disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18 (17): 3217-3226.
- [11] Kaur SJ, McKeown SR, Rashid S. Mutant SOD1 mediated pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis [J]. *Gene*, 2016, 577 (2): 109-118.
- [12] Marucci G, Morandi L, Bartolomei I, et al. Amyotrophic lateral sclerosis with mutation of the Cu/Zn superoxide dismutase gene (SOD1) in a patient with Down syndrome [J]. *Neuromuscul Disord*, 2007, 17 (9-10): 673-676.
- [13] Schupf N, Lee A, Park N, et al. Candidate genes for Alzheimer's disease are associated with individual differences in plasma levels of beta amyloid peptides in adults with Down syndrome [J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36 (10): 2907.
- [14] Zhang H, Zhao H, Lu M, et al. A rare Cu/Zn superoxide dismutase mutation causing familial amyotrophic lateral sclerosis with variable age of onset and incomplete penetrance in China [J]. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*, 2005, 6 (4): 234-238.
- [15] Wu J, Shen E, Shi D, et al. Identification of a novel Cys146X mutation of SOD1 in familial amyotrophic lateral sclerosis by whole-exome sequencing [J]. *Genet Med*, 2012, 14 (9): 823-826.
- [16] Cui F, Cai W, Wang Z, et al. New mutation in the SOD1 (copper/zinc superoxide dismutase-1) gene in a Chinese amyotrophic lateral sclerosis (ALS) patient [J]. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2013, 14 (7-8): 635-637.
- [17] Chen S, Li M, Zhu W, et al. A novel 10-base pair insertion mutation in exon 5 of the SOD1 gene in a Chinese family with amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Neurobiol Aging*, 2016, 45: 211-212.
- [18] Wang Z, Cai W, Cui F, et al. Identification of a novel missense (C7W) mutation of SOD1 in a large familial amyotrophic lateral sclerosis pedigree [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35 (3): 711-725.
- [19] Zhao G, Yin X, Wu D, et al. Clinical features and Cu/Zn superoxide dismutase gene mutations in two mainland Chinese families with amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Int J Neurosci*, 2011, 121 (4): 191-195.
- [20] Fong GC, Kwok KH, Song YQ, et al. Clinical phenotypes of a large Chinese multigenerational kindred with autosomal dominant familial ALS due to Ile149Thr SOD1 gene mutation [J]. *Amyotroph Lateral Scler*, 2006, 7 (3): 142-149.
- [21] Hu J, Chen K, Ni B, et al. A novel SOD1 mutation in amyotrophic lateral sclerosis with a distinct clinical phenotype [J]. *Amyotroph Lateral Scler*, 2012, 13 (1): 149-154.
- [22] Liu ZJ, Li HF, Tan GH, et al. Identify mutation in amyotrophic lateral sclerosis cases using Halo Plex target enrichment system [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35 (12): 2811-2881.
- [23] Tsai CP, Soong BW, Lin KP, et al. FUS, TARDBP, and SOD1 mutations in a Taiwanese cohort with familial ALS [J]. *Neurobiol Aging*, 2011, 32 (3): 513-553.
- [24] Soong BW, Lin KP, Guo YC, et al. Extensive molecular genetic survey of Taiwanese patients with amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35 (10): 2421-2423.