

亨廷顿病两家系临床及遗传学分析

陈 晶 孙中武

摘要 目的 探讨 CAG 重复序列与亨廷顿病(HD)临床症状的关系,进一步评价 CAG 年龄产物(CAP)评分在临床中的实用性。方法 收集 2 个中国汉族 HD 家系成员的临床资料,包括临床症状和体征、剑桥老年认知量表中文版(CAMCOG-C)、汉密尔顿抑郁量表,绘制遗传系谱图,对自愿者抽取外周静脉血行 IT15 基因检测,对 CAG 重复序列 >35 的成员计算 CAP 得分。结果 两家系遗传系谱图符合常染色体显性遗传;两家系共 6 人进行基因检测,其中 1 人正常,5 人 HD 基因异常扩增;按照 HD 诊断标准,5 人中 2 人为临床症状期,3 人为临床诊断前期,症状期患者具有典型 HD 三联征的临床特征,临床诊断前期的患者虽未达到临床发病诊断标准,但和正常人相比,存在轻微的运动、认知、行为、个性改变中的 1 种或多种表现。结论 HD 在临床诊断发病前可能就有轻微的临床症状;CAG 重复序列数越多提示发病越早,症状越重;CAP 得分作为一个参数,结合了 CAG 重复序列数和年龄,对预测发病年龄、指导临床试验中受试者分组、更好地理解 HD 的自然病程具有重要意义。

关键词 亨廷顿病; CAG; CAP

中图分类号 R 742.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2015)01-0033-04

亨廷顿病(huntington disease, HD)又称亨廷顿舞蹈病,是常染色体显性遗传的神经系统退行性疾病,临床上以运动障碍、认知损害、精神行为异常三联征为主要特征。该病系因 4 号染色体短臂 4p16.3 IT15 基因突变,突变基因产物三核苷酸序列 CAG 异常重复扩增产生亨廷顿蛋白致病,正常人为 11~34 个 CAG 重复序列, CAG 异常拷贝超过 35 个或更多时会发病。CAG 重复序列在 27~35 之间虽不引起疾病,但在减数分裂时容易发生扩增突变,使后代发病; CAG 在 36~39 之间呈年龄相关的不完全外显率,即在随后的时间里,携带者可能很晚发病或不发病; CAG 重复序列在 40 以上,具有完全外显

率^[1-2]。该研究拟对临床上两个 HD 家系成员进行 IT15 基因检测,结合临床症状和认知功能、精神等评价结果,探讨 HD 的临床特征和 CAG 重复序列数目对疾病进程的影响。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取安徽医科大学第一附属医院神经内科临床诊断为 HD 的两个汉族家系,对其家系成员进行详细的临床资料收集、病史调查及 IT15 基因检测,按照知情和自愿原则,家系 1 共 3 代 5 人参与,家系 2 中 1 人参与。4 名女性,2 名男性,年龄 24~80(48.00±20.54)岁。

1.2 研究方法

1.2.1 临床特征调查 详细询问病史,绘制遗传系谱图,尽可能收集受试者的临床资料,包括临床症状和体征、剑桥老年认知量表中文版(cambridge cognitive examination-Chinese version, CAMCOG-C)评分、汉密尔顿抑郁量表评分。两家系遗传系谱图见图 1。

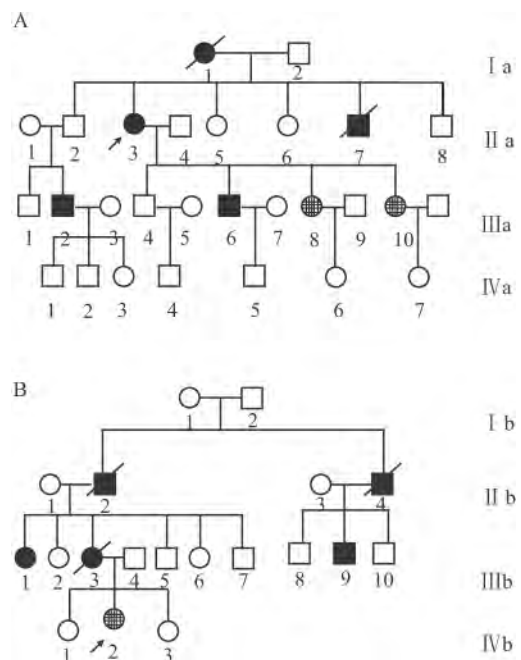


图 1 两 HD 家系遗传系谱图

A: 家系 1 遗传系谱图; B: 家系 2 遗传系谱图; 正常男性; 正常女性; 患者; 先证者; 临床发病前患者; 已死亡个体

2014-09-10 接收

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金(编号: KJ2011A170)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院神经内科, 合肥 230022

作者简介: 陈 晶, 女, 硕士研究生;

孙中武, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: sunzhwu@hotmail.com

1.2.2 IT15 基因 CAG 重复序列测定和 CAP 计算

抽取两家系 6 名成员外周静脉血 5 ml, 采用天根基因组 DNA 提取试剂盒方法, 提取标本中有核 DNA, 待测 DNA 的浓度、纯度和体积: DNA 浓度应 10 ng/μl 以上, 体积 >100 μl, 纯度均应达到: OD₂₆₀/OD₂₈₀ >1.8, OD₂₆₀/OD₂₃₀ >1.2; 使用 IT15 基因特异引物进行扩增; 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增产物进行测序分析。PCR 样品使用美国 ABI 公司遗传分析仪进行测序, 测序结果结合人类基因突变数据库 HGMD 数据进行分析。阳性突变用另一份备用样品重新检测。

根据 IT15 基因的检测结果, 对 CAG 重复序列 >35 的受试者计算 CAP 得分, 本文中的 CAP 公式来源于约翰·霍普金斯大学 Ross et al^[3] 根据几项大型 HD 数据资源汇集后的标准化 CAP 得分: $CAP = 100 \times AGE \times [(CAG - L) \div S]$, CAG 为患者 CAG 重复序列长度, AGE 是患者在检测时的年龄, L 和 S 为常数。S 是归一化常数, 使 CAP 得分在患者预测症状出现年龄时接近 100。L 是一个度量常数, 使 CAG 重复序列长度锚定在相关 HD 病理分布的低末端。公式中使用的 L 和 S 数值为 30 和 627, 由 Warner 和 Hayden 通过再分析 Langbehn et al 的数据后得到的。

2 结果

2.1 病例资料 家系 1 先证者, IIa3, 女性, 80 岁。患者在 65 岁左右开始出现身体不自主晃动, 持物稍有不稳, 大脚趾不自主扭动, 后病情缓慢进展, 渐出现性格改变, 记忆力下降, 身体晃动加重, 站立不稳, 伴四肢不自主扭动, 头部晃动, 面部肌肉主要口角四周肌肉不自主抽动, 进食困难, 无饮水呛咳, 近两年体重下降明显。曾按帕金森病予以治疗半年, 症状未见缓解反而加重。查体: 神清, 精神尚可, 对答切题, 查体部分合作, 额纹对称, 双瞳孔等大等圆, 直径为 3 mm, 光敏, 口周肌肉不自主抽动, 站立不稳, 颈部、四肢舞蹈样不自主运动, 四肢肌张力低, 腱反射对称性稍亢, 双侧病理征未引出。

IIIa6, 男性, 55 岁, 先证者儿子。50 左右开始出现走路偶有不稳, 手指偶有不自主运动, 近两年有性格改变, 脾气较前暴躁, 自诉不喜社交活动, 不爱与人交流, 工作没有积极性, 年轻时是乐观外向性格。查体: 神清, 精神可, 查体合作, 手部偶有不自主运

动, 四肢肌张力稍增高, 肌力正常, 腱反射对称, 病理征未引出。IIIa8、IIIa10、IVa5 本人及家属未发现有运动、精神等方面症状, IIIa10 自诉记忆力下降, 情绪较前低落。结合基因检测结果和临床症状, 根据目前的标准^[4], 携带 CAG 异常扩增的 IT15 等位基因患者发病的定义为: 出现无法解释但明确存在的锥体外系行动异常, 如舞蹈症、肌张力障碍、运动徐缓及肌强直。IIa3、IIIa6 已发病, 处于症状期, IIIa8、IIIa10 处于临床诊断前期, IVa5 为正常人。

家系 2 中先证者 IVb2, 女性, 24 岁。半年前因在饭店做上餐员经常打碎盘子, 无法继续工作失业在家, 家人发现性格改变, 不喜出门及与人交流、自闭, 担心有抑郁症就诊于精神科, 后精神科医师建议神经科就诊, 接诊时查体: 神清, 精神可, 对答切题, 查体合作, 额纹对称, 面部肌肉偶有不自主抽动, 四肢肌张力稍减低, 腱反射亢进, 指鼻试验阳性, 闭目难立征阴性, 双侧病理征未引出。结合基因检测结果和临床症状, IVb2 尚未达到临床诊断发病标准, 为临床诊断前期。先证者母亲 IIIb3, 据家属回忆在 25 岁左右发病, 起初因动作迟缓, 精细动作笨拙被家人发现就医, 一直未予明确诊断, 后患者病情进行性加重, 出现四肢及脸部不自主运动, 后渐渐四肢强直, 无法行走, 说话困难, 吞咽困难, 45 岁病逝。

2.2 基因检测结果 按照自愿原则抽取两家系 6 人外周血进行 IT15 基因检测, 基因检测结果见图 2。其中家系 1 先证者 IIa3 (CAG) n 拷贝数为 17/42, 其子女为 IIIa6、IIIa8、IIIa10 (CAG) n 拷贝数分别为 18/42、18/42、20/42, 其孙 IVa5 (CAG) n 拷贝数为 18/19。家系 2 先证者 IVb2 (CAG) n 拷贝数为 20/53。见表 1。

表 1 两 HD 家系受试者临床资料

项目	临床症状期患者		临床诊断前期患者		正常个体	
	IIa3	IIIa6	IIa8	IIIa10	IVb2	IVa5
性别	女	男	女	女	女	男
年龄(岁)	80	55	52	50	24	27
发病年龄(岁)/临床症状	65	50	无症状	无症状	轻微症状	无症状
病程(年)	15	5	-	-	-	-
CAG 重复序列数	17/42	18/42	18/42	20/42	20/53	18/19
CAP	165.87	105.26	99.52	95.69	88.03	0
文化程度(以年计)	9	12	9	9	9	15
MMSE 得分	20	26	30	23	19	24
COMCOG-C 总分	85	92	103	87	71	101
汉密尔顿抑郁量表得分	7	5	8	4	13	3

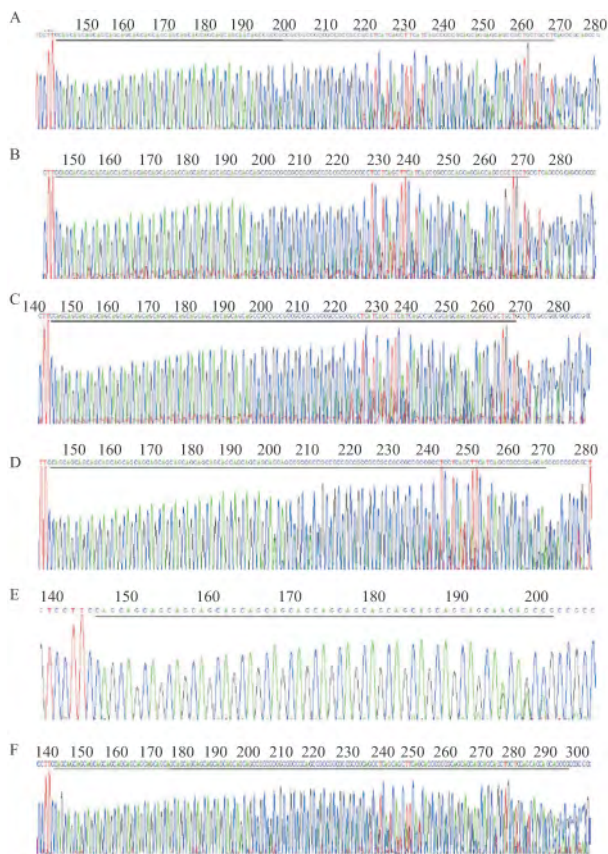


图2 两 HD 家系成员 IT15 基因(CAG) n 测序结果

A: IIa3 IT15 基因(CAG) n 测序结果; B: IIIa6 IT 15 基因(CAG) n 测序结果; C: IIIa8 IT15 基因(CAG) n 测序结果; D: IIIa10 IT 15 基因(CAG) n 测序结果; E: IVa5 IT15 基因(CAG) n 测序结果; F: IVb2 IT 15 基因(CAG) n 测序结果; 横线处示 CAG 重复

3 讨论

1 个突变 HD 基因携带者在临床诊断发病前,没有任何症状,可以像正常人一样生活,然后会经历一个明显症状前期,以轻微的运动、认知、行为、个性改变为特征^[5]。一旦开始发病,患者的运动、认知、行为等症状将稳固下降^[6],临床诊断和发病年龄根据临床典型运动症状的出现决定。

本研究家系 2 中 IVb2 年仅 24 岁, CAG 重序列数是 53, 较其他临床诊断前期患者有明显认知损害和人格改变,与文献^[7]报道的 CAG 重复序列越多,发病年龄越早且临床症状越重一致。IIIa8、IIIa10、IVb2 虽同在临床诊断前期,但 3 人表现也各不同。IIIa8 未发现任何运动、精神症状, COMCOG-C 认知评估和汉密尔顿抑郁量表评估也正常, IIIa10 有轻微认知损害和情绪改变, IVb2 运动症状不明显, CAMCOG-C 评分 71 分,有明显认知障碍,汉密尔顿

抑郁量表 13 分,提示有抑郁可能,且曾有自杀倾向,人格改变明显,这和现有研究^[8]认为患者的认知损害在运动症状出现前的数十年里就存在相符。大型的临床研究 Predict-HD study^[9] 数据显示,在典型运动症状出现前的 15 ~ 20 年间, HD 基因携带者可出现相关改变,如纹状体萎缩、认知的改变、行为异常、抑郁等。一个基于多中心 2 318 个样本 COHORT 研究也显示,亨廷顿相关改变在临床诊断之前就开始出现,和对照组相比, HD 突变基因携带者在 UHDRS 关于认知部分的评分和 MMSE 评分更低,体重下降更明显,有更多的自杀倾向^[10]。

CAG 重复序列数和年龄是两个描绘疾病进展特征的重要变量,大量的研究^[11]表明, HD 的发病年龄与 CAG 重复序列数有关。近年来很多学者在寻找疾病进展的标志物,以用来预测 HD 的发病年龄和用于以后 HD 疾病治疗的大规模临床研究。1997 年, Penney et al^[12]通过对 HD 患者进行尸检,发现了 HD 患者在死亡时纹状体的病理改变和 CAG 重复序列有关,提出纹状体功能障碍 = $AGE \times (CAG - L)$,其中 AGE 是患者目前的年龄、CAG 是基因重复序列数、L 为常数,该公式反映了基因产物的毒性积累。后来又有学者更倾向于 CAG 的年龄产物 CAP 的概念^[13]。本文中使用的 CAP 计算公式^[1]来自于几项大型 HD 数据资源汇集后的标准化 CAP 得分,使 CAP 得分在患者预测症状出现年龄时接近 100。本研究中 IIa3、IIIa6 CAP 得分大于 100,与临床已发病符合, IIIa8、IIIa10、IVb2 CAP 得分小于 100,提示在临床诊断前期,与临床结果符合。亨廷顿舞蹈病的临床表现和疾病进展与 CAG 重复序列和年龄有关, CAP 作为综合了这两个变量的指标,具有重要的临床意义,不仅可以用于评估患者发病年龄,更重要的是在大型临床研究中,根据 CAP 得分,按照不同的预测发病年龄可将人群进行分层,有助于研究者更好的了解亨廷顿病的疾病进程,为日后针对疾病治疗和干预的研究提供帮助。

HD 尚无有效的方法阻止疾病进展,目前仍以对症治疗为主^[14]。家系 2 中的先证者,现已 80 岁,病程十余年,不自主运动明显,给以氟哌啶醇治疗后症状明显得到控制,生活质量提高。家系 2 中的先证者,现 24 岁,刚开始出现症状,临床症状轻微,未予任何药物治疗,经过家庭护理和心理疏导后,情绪改善明显。由于舞蹈病有着不同的临床表现,治疗

上要求综合多方面的,包括神经科医师、精神科医师、护士、社会工作者、遗传工作者、理疗师、语言治疗师、营养师。而且随着疾病的进展,在不同的阶段患者表现不同,这就要求治疗方案随着病程进展而灵活改变,治疗是一个综合长期的过程^[15]。

参考文献

- [1] Squitieri F, Jankovic J. Huntington's disease: how intermediate are intermediate repeat lengths? [J]. *Mov Disord*, 2012, 27(14): 1714–7.
- [2] Killoran A, Biglan K M, Jankovic J, et al. Characterization of the Huntington intermediate CAG repeat expansion phenotype in PHAROS[J]. *Neurology* 2013 22(80): 2022–7.
- [3] Ross C A, Aylward E H, Wild E J, et al. Huntington disease: natural history, biomarkers and prospects for therapeutics[J]. *Nat Rev Neurol*, 2014, 10(4): 204–16.
- [4] Sturrock A, Leavitt B R. The clinical and genetic features of huntington disease[J]. *J Geriatric Psychiatry Neurol* 2010, 23(4), 243–59.
- [5] Tabrizi S J, Langbehn D R, Leavitt B R, et al. Biological and clinical manifestations of Huntington's disease in the longitudinal TRACK-HD study: cross-sectional analysis of baseline data[J]. *Lancet Neurol*, 2009 8(9): 791–801.
- [6] Dorsey E R, Beck C A, Darwin K, et al. Natural history of huntington disease[J]. *JAMA Neurol*, 2013, 70(12): 1520–30.
- [7] Shoulson I, Young A B. Milestones in huntington disease [J]. *Mov Disord* 2011 26(6): 1127–33.
- [8] Paulsen J S. Cognitive impairment in huntington disease: diagnosis and treatment [J]. *Curr Neurol Neurol Rep* 2011, 11(5): 474–83.
- [9] Paulsen J S, Long J D, Johnson H J, et al. Clinical and biomarker changes in premanifest huntington disease show trial feasibility: A decade of the PREDICT-HD study [J]. *Front Aging Neurosci*, 2014 22(6): 78.
- [10] Huntington study group COHORT investigators, Dorsey E. Characterization of a large group of individuals with huntington disease and their relatives enrolled in the COHORT study [J]. *PLoS One*, 2012 7(2): e29522.
- [11] Langbehn D R, Hayden M R, Paulsen J S, et al. 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, 153B(2): 397–408.
- [12] Penney J B Jr, Vonsattel J P, MacDonald M E, et al. CAG repeat number governs the development rate of pathology in Huntington's disease [J]. *Ann Neurol*, 1997 41(5): 689–92.
- [13] Zhang Y, Long J D, Mills J A, et al. Indexing disease progression at study entry with individuals at-risk for Huntington disease [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2011, 156B(7): 751–63.
- [14] Cummins A, Eggert J, Pruitt R, et al. Huntington disease: Implications for practice [J]. *Nurse Pract* 2011, 36(2): 41.
- [15] Singer C. Comprehensive treatment of huntington disease and other choreic disorders [J]. *Cleve Clin J Med*, 2012, 79(2): S30–4.

Clinical and genetic analysis in two families with huntington disease

Chen Jing, Sun Zhongwu

(Dept of Neurology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the relation between CAG expansion length and clinical symptoms in huntington's disease (HD) and to evaluate the value of CAG age product (CAP score) in the clinical practice. **Methods**

Two Han Chinese HD family members' clinical data, including clinical symptoms and signs, the Cambridge cognitive examination-Chinese version (CAMCOG-C) and Hamilton depression rating scale were collected, and these two families pedigree trees were drawn. Volunteers peripheral venous blood was extracted to pursue IT15 genetic test. CAP scores among members whose CAG repeat number was more than 35 were calculated. **Results** The pedigree trees indicated that HD was autosomal dominant inheritance. Among 6 participants who had pursued genetic test, 1 was normal and 5 were carrying expanded allele; according to formal clinical diagnosis criteria, 2 participants were in manifest period and 3 were in pre-manifest period. Individuals in manifest period had clinical triad, and individuals in premanifest period, though hadn't been clinically diagnosed, were characterized by subtle motor, cognitive, behavioural or personality changes. **Conclusion** HD prior to clinical diagnosis may have mild clinical symptoms; the more CAG repeats indicate earlier onset, the heavier the symptoms. CAP score as a parameter, combined with the CAG repeat number and the age, is of great significance for predicting the onset age, clinical trial subjects grouping, and give a better understanding of the natural history of HD.

Key words huntington disease; CAG; CAP