

· 论 著 ·

遗传性痉挛性截瘫家系的临床表现
与致病基因分析[☆]张钊^{*} 惠玲^{*} 周秉博^{*} 郑雷^{*} 王玉佩^{*} 田芯瑗^{*} 马盼盼^{*} 郝胜菊^{*} 达振强^{*◎}

【摘要】目的 对3个遗传性痉挛性截瘫(hereditary spastic paraplegia, HSP)患者家系的临床表现及致病基因进行分析。方法 对甘肃省妇幼保健院(甘肃省中心医院)收集的3个HSP患者家系进行基因分析。结果 家系1中先证者为FA2H c.159_176delGGCGGGCCAGGACATCAG (p.Arg53_Ser59delinsSer)纯合变异导致的常染色体隐性痉挛性截瘫35型,家系2中的先证者为AP4B1 c.1399G>T(p.Glu467Ter)纯合变异导致的常染色体隐性痉挛性截瘫47型,家系3中先证者为SPG11 c.7023C>G(p.Tyr2341Ter)的纯合变异导致的常染色体隐性痉挛性截瘫11型。其中,AP4B1 c.1399G>T(p.Glu467Ter)位点为尚未报告的变异。根据美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)指南,该变异的致病性评级为致病性变异。结论 本研究丰富了HSP致病基因AP4B1的变异谱,为提高临床对HSP患者的认识与诊断能力提供了基础性数据。

【关键词】遗传性痉挛性截瘫 基因变异 基因诊断 干预治疗 临床诊断 常染色体隐性 FA2H基因 AP4B1基因 SPG11基因

【中图分类号】R745.4

【文献标识码】A

Clinical manifestation and genetics analysis of hereditary spastic paraplegia families. ZHANG Chuan, HUI Ling, ZHOU Bingbo, ZHENG Lei, WANG Yupei, TIAN Xinyuan, MA Panpan, HAO Shengju, DA Zhenqiang. Gansu Provincial Maternity and Child-care Hospital (Central Hospital of Gansu Province), Medical Genetics Center, Gansu Provincial Clinical Medical Research Center of Default Defects and Rare Diseases, Lanzhou 730050, China. Tel: 0931-6968161.

【Abstract】Objective To analyze the clinical manifestations and genetic etiology of three families with hereditary spastic paraplegia (HSP). Methods Gene analysis was performed on patients of the three HSP families from the Gansu Provincial Maternity and Child-care Hospital. Results The proband of family 1 was autosomal recessive spastic paraplegia type 35 caused by homozygous variant c.159_176delGGCGGGCCAGGACATCAG (p.Arg53_Ser59delinsSer) in FA2H. The proband in family 2 was autosomal recessive spastic paraplegia type 47 caused by homozygous variant c.1399G>T(p.Glu467Ter) in AP4B1, and the proband in family 3 was autosomal recessive spastic paraplegia type 11 caused by homozygous variation c.7023C>G(p.Tyr2341Ter) in SPG11. Among them, the variant c.1399G>T(p.Glu467Ter) of AP4B1 is a novel variant, that has not been reported before, according to the ACMG guidelines, the pathogenicity of this variant is pathogenic. Conclusion This study has expanded the variant spectrum of AP4B1 which provides basic data to improve clinical understanding and diagnostic capabilities of HSP patients.

【Keywords】Hereditary spastic paraplegia Genetic variation Genetic diagnosis Intervention therapy Clinical diagnosis Autosomal recessive FA2H gene AP4B1 gene SPG11 gene

doi:10.3969/j.issn.1002-0152.2025.03.001

[☆] 甘肃省科技计划资助项目(编号:22YF7FA094);兰州市科技计划项目(编号:2021-1-182);甘肃省卫生行业计划项目(编号:GSWSKY2022-33);甘肃省科技厅创新基地及人才计划(编号:21JR7RA680);医院科研基金项目资助(编号:GMCCH2024-2-2);甘肃省自然科学基金(编号:23JRR1378, 23JRR1752)

^{*} 甘肃省妇幼保健院(甘肃省中心医院),医学遗传中心,甘肃省出生缺陷与罕见病临床医学研究中心(兰州 730050)

[◎] 通信作者(E-mail:362404897@qq.com)

遗传性痉挛性截瘫(hereditary spastic paraplegia, HSP)是一类罕见的神经退行性疾病^[1]。HSP患者可能表现出广泛的症状,从非常轻微的下肢痉挛到严重的神经和非神经表现。这些症状经常与其他疾病重叠,这可能导致错误的诊断^[2-3]。因此,需要进行基因检测来进行分型诊断,与多种具有表型和基因型的重叠遗传性疾病进行鉴别诊断。目前,已明确的致病基因超过90个,遗传方式包括常染色体显性遗传(autosomal dominant, AD)、常染色体隐性遗传(autosomal recessive, AR)、X染色体连锁遗传(X-linked inheritance, XL)以及线粒体遗传^[4]。本研究通过对3个HSP患者家系的临床表现及致病基因进行分析,以提高临床对HSP患者的认识与诊断能力。

1 对象与方法

1.1 研究对象 家系1:患儿,男,10岁,足月顺产,行走不稳4年余。0~5岁未见显著异常;5岁一次意外(摔伤),半年后出现行为特殊,运动能力全面下降,逐渐出现行走不稳,且进行性加重,表现为行走不稳,呈慌张步态,脚后跟不着地,走路严重不协调,双下肢及张力增高明显,同时伴有右手握力弱等症状。爱笑,智力尚可,精神状态差,久坐后易瘫倒。反应慢,晚上睡觉蜷缩状;外院MRI提示:未见明显异常(未见报告),建议先证者行头颅MRI检查,家属拒绝,父母为表兄妹(图1A),因母亲再婚拟生育二胎前来就诊。

家系2:先证者,男,18岁,足月顺产,1岁发现脑瘫。2岁不会站,不会走,不会说话;脑电图提示不正常脑电图;外院头颅MRI平扫提示胼胝体发育不良,右侧乳突炎,脑室扩大,交通性脑积水。父母为表兄妹(图1B),因父母拟生育二胎前来就诊。

家系3:患者,女,24岁,15岁时发现行走异常,渐渐加重,外院脑部MRI检查提示:脑桥后不对称性点状稍长T₂信号;双侧额颞顶部脑外间隙增宽;双侧海马体积稍缩小;胼胝体发育不良。行康复治疗,尚可缓慢行走,孕期行动较困难,可扶行,说话

吐字不清。父母离异(图1C),患者因怀孕前来进行基因诊断,明确胎儿患病风险。

本研究通过了甘肃省妇幼保健院伦理委员会审查[(2021)GSFY伦审65号],家系成员均签署了临床研究知情同意书。

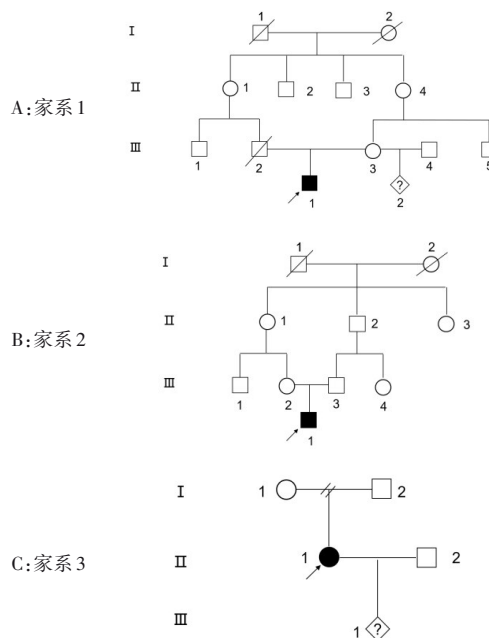


Fig.1 Pedigree of the patients

图1 患者家系图

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA提取 采集患者及其父母外周静脉血2~3 mL, EDTA抗凝。应用天根生化科技(北京)有限公司生产的血液基因组DNA提取试剂盒(货号:DP348)提取基因组DNA。

1.2.2 高通量测序分析 采用目标区域捕获-WES检测技术进行检测,目标区域20×以上覆盖度达到95%。检测区域包括外显子区和剪接区、部分内含子区;可检测突变类型包括非重复区域的单碱基突变(single-nucleotide variant, SNV)、小片段插入/缺失(≤20 bp)(insertion/deletion, INDEL)以及部分外显子缺失重复和CNV检测。

1.2.3 数据分析 高通量测序得到的结果与参考基因组(GRCh37/hg19)比对得到所有变异的SNP_INDEL文件,对检测到的碱基改变进行筛选,

应用 PolyPhen2(<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) 和 PROVEAN(<http://provean.jcvi.org/index.php>) 软件对新变异进行蛋白功能预测,最后依据美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical genetics and Genomics, ACMG)指南^[5]判读新变异的致病性。

1.2.4 Sanger 测序验证 可疑基因致病变异采用 Sanger 测序验证,基因外显子扩增引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 扩增体系为 25 μ L:其中 2 $\times$ Taq PCR Mastermix[天根生化科技(北京)有限公司]12.5 μ L,基因组 DNA 模板 1.5 μ L(浓度 20~50 ng/ μ L),上下游引物(10 μ mol/L)各 0.5 μ L,ddH₂O 10 μ L。PCR 扩增产物经琼脂电泳鉴定后对目的条带单一的产物采用 PCR 产物纯化试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]纯化后,由 ABI 3500 型(ABI,美国)测序仪进行测序,使用 SeqMan 软件与标准序列对测序结果进行比对分析。

2 结果

2.1 基因分析结果 家系 1:先证者检测到 *FA2H* c.159_176delGGCGGCCAGGACATCAG (p.Arg53_Ser59delinsSer)纯合变异,关联疾病为常染色体隐性痉挛性截瘫 35 型(OMIM:612319)。根据 ACMG 变异评级指南,该变异评级为疑似致病变异,致病证据为:PS3+PM2+PM4(表 1),即已有文献报告体内、体外功能实验已明确会导致基因功能受损(PS3)^[6],所有正常人群数据库频率小于 0.0005(PM2),非重复区框内插入/缺失或终止密码子丧失导致的蛋白质长度变化(PM4)。

家系 2:先证者检测到 *AP4B1* c.1399G>T(p.Glu467Ter)纯合变异,为未报告过的新变异,关联疾病为常染色体隐性痉挛性截瘫 47 型(OMIM:614066)。根据 ACMG 变异评级指南,该变异评级为致病变异,致病证据为:PVS1+PM3_Supporting+PM2(表 1),即该变异为无义变异(PVS1),在隐性遗传病中,在反式位置上检测到致病变异(PM3_Supporting),所有正常人群数据库频率小于

0.0005(PM2)。

家系 3:先证者检测到 *SPG11* c.7023C>G(p.Tyr2341Ter)的纯合变异,关联疾病为常染色体隐性痉挛性截瘫 11 型(OMIM:604360)。根据 ACMG 变异评级指南,该变异评级为致病变异,致病证据为:PVS1+PM3_Supporting+PM2(表 1),即该变异为无义变异(PVS1),在隐性遗传病中,在反式位置上检测到致病变异(PM3_Supporting),所有正常人群数据库频率小于 0.0005(PM2)。

2.2 遗传咨询 家系 1 中先证者诊断为 *FA2H* 纯合变异导致常染色体隐性痉挛性截瘫 35 型,母亲为杂合变异携带者,建议母亲新配偶进行 *FA2H* 致病变异位点的筛查,母亲新配偶经单人全外显子组测序,未发现 *FA2H* 疑似致病及致病性变异,告知患者母亲,可正常妊娠,但由于是高龄,孕中期需做产前诊断来避免非整倍体的发生。

家系 2 中先证者诊断为 *AP4B1* c.1399G>T 纯合变异导致的常染色体隐性痉挛性截瘫 47 型,父母均为杂合变异携带者,告知夫妇可通过自然受孕后孕中期进行产前诊断或者通过三代试管助孕阻断该疾病后,该夫妇决定采用三代试管助孕。

家系 3 中先证者诊断为 *SPG11* 纯合变异导致的常染色体隐性痉挛性截瘫 11 型,先证者为孕妇,建议对其配偶进行 *SPG11* 的致病性变异位点的筛查,其配偶经单人全外显子组测序,未发现 *SPG11* 疑似致病及致病性变异。告知患者家属,孕妇的孩子 50% 的概率是 *SPG11* 正常的,50% 的概率是 *SPG11* c.7023C>G(p.Tyr2341Ter)位点的杂合携带者,患病的风险小,可进行常规的产前检查即可。

3 讨论

3.1 HSP 的临床特点与临床诊断 HSP 患病率约为 0.1/10 万~9.6/10 万,起病多隐匿,以进行性加重的双下肢痉挛无力、步态异常为核心临床特点^[7]。HSP 可起病于婴儿期、儿童期、青春期和成年期等不同年龄段,根据发病年龄,可分为早发型(<35 岁, I 型)和晚发型($\geq$ 35 岁, II 型)。根据临床特

Tab.1 Clinical and disease diagnosis information of the patients
表 1 患者临床及疾病诊断信息表

ID	性别	诊断年龄	表型	基因	变异位点	正常人频率	致病性	致病性证据	疾病诊断	鉴别诊断
1	男	10岁	运动衰退,姿势异常,瘫痪	<i>FA2H</i> (NM_024306.5)	c.159_c.176delGGC-GGGCCAGGACATCAG (p.R53_S59delinsS)	0.0001	疑似致病	PS3+ PM2+PM4	遗传性痉挛性截瘫 35型(OMIM:612319),AR	/
2	男	18岁	上颌窦异常,交通性脑积水,癫痫发作,站立不能,筛查异常,胼胝体发育不良,脑室异常,脑瘫,行走不能,语言障碍	<i>AP4B1</i> (NM_006594.3)	c.1399G>T (p.Glu467Ter) ¹⁾	0	致病	PVS1+PM3_Sup- porting+ PM2	常染色体隐性痉挛性截瘫 47型 (OMIM:614066)/AR	/
3	女	24岁	胼胝体发育不良/脑桥异常,行走困难,语言障碍	<i>SPG11</i> (NM_025137.3)	c.7023C>G (p.Tyr2341Ter)	0	致病	PVS1+PM3_Sup- porting+ PM2	常染色体隐性痉挛性截瘫 11型 (OMIM:604360)/AR	幼年肌萎缩性侧索硬化症-5型 (OMIM:602099)/AR; Charcot Maire Tooth 症 (OMIM: 616668)/AR

注:1)未报道的新变异。

点,HSP可分为“单纯型”和“复杂型”两大类,“单纯型”只有运动功能障碍,以双下肢进行性痉挛无力、僵硬、步态异常为核心特点,或可能伴随泌尿障碍、深感觉障碍等;“复杂型”除了具有上述特点,还可叠加包括智力发育迟滞、构音障碍、视听觉障碍、鱼鳞病、吞咽障碍、癫痫发作、共济失调、周围神经病变、胼胝体异常、脑白质病变以及小脑萎缩等异常症状^[8-9]。

HSP的临床诊断主要根据患者是否存在进行性双下肢痉挛无力的临床表现,包括双下肢腱反射亢进、踝阵挛和髌阵挛阳性、Babinski征阳性,以及起病年龄、起病方式、既往病史、家族史等^[4]。此外,需与继发因素所引起的慢性脊髓病变进行鉴别诊断,如脊髓外伤、脊髓空洞症、脊髓压迫症、多发性硬化、中枢神经系统感染、微量元素缺乏等。还应与其他与HSP有类似临床表现的脑白质营养不良、脊髓小脑性共济失调、肌萎缩侧索硬化症、及生物素酶缺乏症等遗传病进行鉴别^[10]。

3.2 基因诊断可为HSP明确分型 HSP发病机制复杂、遗传方式多样,致病基因与临床表型高度异质,根据患者表型,进行HSP和其他与痉挛相关遗传疾病的鉴别诊断十分困难,基因检测有助于疾病的诊

断。本研究中,家系1中的先证者为*FA2H* c.159_176delGGCGGGCCAGGACATCAG(p.Arg53_Ser59delinsSer)纯合变异所指的常染色体隐性痉挛性截瘫 35型,该位点在一个巴基斯坦家庭患者家系中被报告过^[11],该患者家庭先证者最初症状明显出现在3~4岁,后来在5~6岁时患者逐渐不能行走。虽然给患者补充维生素和定期按摩橄榄油来缓解肌肉无力,但并没有缓解症状。这与本研究中患者5岁之前未见明显异常,5岁发病以后逐渐发展为不能行走的临床表型类似(表1)。该基因的致病性变异会损害髓鞘形成,从而导致痉挛性截瘫,本研究结果也为*FA2H* c.159_176delGGCGGGCCAGGACATCAG(p.Arg53_Ser59delinsSer)位点在痉挛性截瘫病因学中的致病作用提供了额外的证据。

本研究家系2中的先证者为*AP4B1* c.1399G>T (p.Glu467Ter)纯合变异导致的常染色体隐性痉挛性截瘫 47型,根据ACMG变异评级指南,该变异评级为致病变异(PVS1+PM3_Supporting+PM2)。该位点为未报道过的新变异,截至2025年3月,ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>)数据库收录的*AP4B1*可能致病/致病性变异位点为58个,其中移码变异28个,无义变异22个,剪接变异6个,错

义变异 2 个。*AP4B1* 有 adaptin_N 与 B2-adapt-app_C 两个功能域,已发现的致病性变异位点均集中于 adaptin_N 结构域,本研究发现 c.1399G>T(p.Glu467Ter)位点也位于这个结构域(图 2),提示该位点可能会对 *AP4B1* 有重要影响。本研究扩大了 *AP4B1* 致病变异谱,为今后常染色体隐性痉挛性截瘫 47 型患者的基因诊断提供了一定的参考。

本研究中,家系 3 的先证者为 *SPG11* c.7023C>G(p.Tyr2341Ter)纯合变异导致的常染色体隐性痉挛性截瘫 11 型。*SPG11* 导致的痉挛性截瘫 11 型是最常见的 HSP^[12],葡萄牙与突尼斯斯法克斯地区该基因导致的 HSP 占比分别达到了 15% 与 21%^[12-13],在中国,*SPG11* 导致的痉挛性截瘫 11 型也是最常见的^[14],其中薄胼胝体是最常见亚型^[15]。患者常常有儿童期轻度智力障碍伴学习困难和进行性认知减退、周围神经病变、上肢反射增加、假性延髓受累等症状,少数患者伴有小脑症状、视网膜变性、弓形足、脊柱侧凸、帕金森症等。患者主要在婴儿期或青少年期(1~31 岁)发病,多数患者在发病 10 年或 20 年后丧失独立行走能力,需依赖于轮椅。本研究中的患者表型与以往报道的患者表型相似,经行康复治疗,24 岁尚可缓慢行走,可扶行,说话吐字不清,说明康复治疗科改善患者症状。

3.3 基因诊断可有利于 HSP 的干预与治疗 目前尚无针对 HSP 病因有效的治疗方法,多以多学科联合的康复治疗为主,主要通过缓解痉挛及减轻痉挛

相关的不适、改善平衡、改善关节活动度、预防和改善异常姿势、延缓肌力下降、提高社会参与能力等来改善生活质量。

基因检测有助于对疑似有 HSP 患者家族史家庭明确诊断,通过产前诊断或者辅助生殖技术可以预防 HSP 患者的出生,本研究中的家系 2 下次妊娠时计划采取辅助生殖助孕来避免患儿的出生,家系 1 中母亲再婚时配偶与母亲未携带相同致病基因,家系 3 中孕妇患者的配也未携带与孕妇相同的致病基因,这两个家庭生育与先证者一样的 HSP 的概率小,可以常规受孕与产检。本研究家系 1 与家系 2 的父母均为近亲婚配,由于近亲婚配可能会增加后代遗传病的风险,对于近亲婚配的家庭,一定要做好遗传咨询,可以通过携带者筛查来明确是否为遗传病的高风险夫妇,如果携带同一种遗传病的致病基因或者女方为 X 连锁隐性遗传病的携带者,一定要做好生育指导,可通过产前诊断或者辅助生殖来避免遗传病患儿的出生。

对已确诊的患者进行全面评估有利于疾病的治疗,随着基因治疗的发展,对 HSP 各亚型发病机制研究的不断深入,将有希望为 HSP 患者提供精准的个性化康复治疗方案^[16-17]。

3.4 局限性 *AP4B1* 编码适配器相关蛋白复合体 4 的 $\beta 1$ 亚基,这个复合体参与细胞内蛋白质的运输和分选。*AP4B1* c.1399G>T(p.Glu467Ter)为无义变异,无义变异致病的原理主要涉及基因突变导致蛋

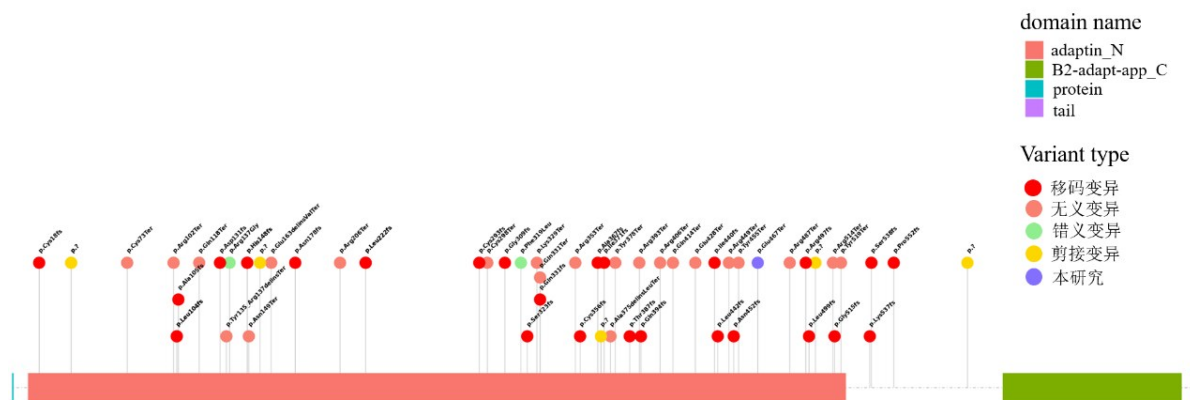


Fig.2 Distribution of pathogenic variants of *AP4B1* recorded in the ClinVar database.

图 2 ClinVar 数据库已收录 *AP4B1* 致病变异位点分布 紫色为本研究发现的 c.1399G>T(p.Glu467Ter)。

白质合成提前终止,进而引发功能异常或缺失。由于*AP4B1*主要在肾上腺、心脏、肾脏、肺及胃部组织中表达,在外周血中几乎不表达,本研究尚未进行相关功能研究,今后尚需进一步通过体外实验明确该变异位点的潜在致病机制。

综上,本研究发现了一个*AP4B1*未被报告过的新变异,扩大了*AP4B1*致病变异谱。本研究通过对3个HSP患者家系的临床表现及致病基因进行分析,为这3个家庭进行了疾病精准诊断与遗传咨询,为HSP的分子遗传学诊断、干预治疗、生育指导及遗传咨询提供了理论依据与技术支持。

参 考 文 献

- [1] ESTIAR M A, YU E, HAJ S I, et al. Evidence for Non-Mendelian Inheritance in Spastic Paraplegia 7[J]. *Mov Disord*, 2021, 36(7): 1664–1675.
- [2] DIOMEDI M, GAN-OR Z, PLACIDI F, et al. A 23 years follow-up study identifies GLUT1 deficiency syndrome initially diagnosed as complicated hereditary spastic paraplegia[J]. *Eur J Med Genet*, 2016, 59(11): 564–568.
- [3] LEVEILLE E, GONORAZKY H D, RIOUX M F, et al. Triple A syndrome presenting as complicated hereditary spastic paraplegia[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2018, 6(6): 1134–1139.
- [4] 姚莉,田沃土,曹立.遗传性痉挛性截瘫诊断策略[J].*中国神经精神疾病杂志*, 2023, 49(2): 112–119.
- [5] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. *Genet Med*, 2015, 17(5): 405–424.
- [6] DICK K J, ECKHARDT M, PAISAN-RUIZ C, et al. Mutation of FA2H underlies a complicated form of hereditary spastic paraplegia (SPG35)[J]. *Hum Mutat*, 2010, 31(4): E1251–1260.
- [7] FINK J K. Hereditary spastic paraplegia: clinico-pathologic features and emerging molecular mechanisms[J]. *Acta Neuropathol*, 2013, 126(3): 307–328.
- [8] HARDING A E. Classification of the hereditary ataxias and paraplegias[J]. *Lancet*, 1983, 1(8334): 1151–1155.
- [9] BOUTRY M, MORAIS S, STEVANIN G. Update on the Genetics of Spastic Paraplegias[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2019, 19(4): 18.
- [10] SHRIBMAN S, REID E, CROSBY A H, et al. Hereditary spastic paraplegia: from diagnosis to emerging therapeutic approaches[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(12): 1136–1146.
- [11] ABBAS S, BRUGGER B, ZUBAIR M, et al. Exome sequencing of a Pakistani family with spastic paraplegia identified an 18 bp deletion in the cytochrome B5 domain of FA2H[J]. *Neurol Res*, 2021, 43(2): 133–140.
- [12] RUANO L, MELO C, SILVA MC, et al. The global epidemiology of hereditary ataxia and spastic paraplegia: a systematic review of prevalence studies[J]. *Neuroepidemiology*, 2014, 42(3): 174–183.
- [13] COUTINHO P, RUANO L, LOUREIRO J L, et al. Hereditary ataxia and spastic paraplegia in Portugal: a population-based prevalence study[J]. *JAMA Neurol*, 2013, 70(6): 746–755.
- [14] DONG E L, WANG C, WU S, et al. Clinical spectrum and genetic landscape for hereditary spastic paraplegias in China[J]. *Mol Neurodegener*, 2018, 13(1): 36.
- [15] KARA E, TUCCI A, MANZONI C, et al. Genetic and phenotypic characterization of complex hereditary spastic paraplegia[J]. *Brain*, 2016, 139(Pt 7): 1904–1918.
- [16] 姜红芳,余永林,阮雯聪,等.儿童遗传性痉挛性截瘫临床与康复进展[J].*中国实用儿科杂志*, 2023, 38(1): 19–23.
- [17] 张钊,惠玲,周秉博,等.甘肃地区遗传代谢病疾病谱及致病基因分析[J].*中国当代儿科杂志*, 2024, 26(1): 67–71.

(收稿日期:2024-10-31 录用日期:2025-03-27)

(责任编辑:李 立)