

结节性硬化症家系临床特点与基因分析

李亚勤 操基清 杨娟 张保锋 冯善伟 王艳云 张瑶 陈菲 孔杰 郑民纓 张旭 张成

【摘要】 目的 分析结节性硬化症家系患者的临床与影像学表现,以及基因突变特点,增加对其认识。方法 收集结节性硬化症三家系临床资料并进行回顾分析。应用聚合酶链反应和 DNA 直接测序法对家系 1 先证者进行 *TSC2* 基因检测及分析,明确其基因突变位点。结果 三家系先证者均以癫痫发作为首发症状,伴精神发育迟滞、自闭倾向、皮肤白斑脱失。影像学检查显示颅内结节性钙化点。脑电图呈棘慢复合波、尖波。家系 1 中三代共 5 例患病,男性 2 例、女性 3 例,均有面部皮脂腺瘤和癫痫发作症状和体征,符合常染色体显性遗传特点。先证者 *TSC2* 基因分析显示 c.1444-2A > C 基因突变。结论 对以癫痫发作为首发症状,同时伴有精神发育迟滞、自闭倾向,以及皮脂腺瘤或色素脱失斑等皮肤异常表现的婴幼儿,当影像学检查显示颅内结节性钙化点时,高度提示结节性硬化症。通过对 *TSC1* 和 *TSC2* 基因分析可明确其基因突变位点,有助于对患者家系成员进行遗传学咨询和产前诊断。

【关键词】 结节性硬化症; 基因,显性; 体层摄影术,X线计算机; 磁共振成像; 系谱

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2012.03.013

Clinical features and genetic analysis of tuberous sclerosis pedigrees

LI Ya-qin¹, CAO Ji-qing², YANG Juan², ZHANG Bao-feng³, FENG Shan-wei⁴, WANG Yan-yun¹, ZHANG Yao⁵, CHEN Fei¹, KONG Jie², ZHENG Min-ying², ZHANG Xu⁶, ZHANG Cheng²

¹Center for Stem Cell Biology and Tissue Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

²Department of Neurology, ³Department of Rehabilitation, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

⁴Population and Family Planning Research Institute of Guangzhou, Guangzhou 510410, Guangdong, China

⁵Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang, China

⁶Molecular Pathology Center, the General Hospital of the Air Force PLA, Beijing 100089, China

Corresponding author: ZHANG Cheng (Email: zhangch6@mail.sysu.edu.cn)

【Abstract】 Objective In order to understand tuberous sclerosis complex better, the clinical manifestation, imaging characteristics, and genetic characteristics of tuberous sclerosis complex from 3 pedigrees were investigated. **Methods** The clinical data of patients from 3 tuberous sclerosis families were collected. The gene mutation type of *TSC2* of proband in pedigree one was determined by PCR and direct gene sequencing. **Results** All of the 3 probands went to our clinic for the reason of epilepsy. Brain imaging examination noted intracranial nodular calcification. EEG showed comprehensive spines and slow waves, sharp waves. The pedigree 1 has family history, two male patients and 3 female patients, all had facial angiofibromas and epilepsy. Gene mutation analysis of *TSC2* demonstrated the c.1444-2A > C mutation in index patient. All the 3 index patients had mental retardation, autism and hypopigmented macule. **Conclusion** For infants and young children with epilepsy as the first symptom, accompanied by mental retardation, autism, facial angiofibromas or hypopigmented macule and other skin abnormalities, brain imaging examination noted intracranial nodular calcification are highly suggestive of tuberous sclerosis complex. *TSC1* and *TSC2* gene analysis contribute to the diagnosis of this disease, genetic counseling and

基金项目:2010 年国家自然-省部联合重点项目(项目编号:U1032004);2008 年国家自然科学基金资助项目(项目编号:30870851);广东省人口和计划生育委员会重点资助项目(项目编号:2010102);广东省人口和计划生育委员会资助项目(项目编号:2009208)

作者单位:510080 广州,中山大学干细胞与组织工程研究中心

(李亚勤、王艳云、陈菲);510080 广州,中山大学附属第一医院神经科(操基清、杨娟、孔杰、郑民纓、张成),康复科(张保锋);510410 广州市人口和计划生育科学研究所(冯善伟);150001 哈尔滨医科大学第一临床医学院神经科(张瑶);100089 北京,解放军空军航空医学院研究所分子病理中心(张旭)

通讯作者:张成(Email:zhangch6@mail.sysu.edu.cn)

prenatal diagnosis.

【Key words】 Tuberous sclerosis; Genes, dominant; Tomography, X-ray computed; Magnetic resonance imaging; Pedigree

Fund Project: Joint Fund of National Nature Science Foundation of China and Natural Science Foundation of Guangdong Province of China (No. U1032004); National Natural Science Foundation of China (No. 30870851); Key Project of Population and Family Planning Commission Foundation of Guangdong Province (No. 2010102); Population and Family Planning Commission Foundation of Guangdong Province (No. 2009208)

结节性硬化症(TS)为常染色体显性遗传性神经皮肤综合征,主要临床特征为面部皮脂腺瘤、癫痫发作和智能减退,同时还可累及其他脏器和组织,如肾脏、视网膜、心脏和肺等。该病最早由 Bourneville 命名,故亦称为 Bourneville 病。流行病学调查资料显示,结节性硬化症的发病率为 1/6000,10 岁以下儿童发病率为 1/12 000 ~ 1/14 000^[1]。结节性硬化症的致病基因为 *TSC1* 和 *TSC2* 基因^[2],分别编码错构瘤蛋白(hamartin)以及马铃薯球蛋白(tuberin),这两种蛋白质在组织中广泛表达,于体内形成 hamartin-tuberin 复合体^[3],可抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白通路(m-TOR pathway),从而调控细胞生长和增殖^[4-5]。对结节性硬化症患者的基因分析显示,80%~85%的结节性硬化症患者都有明确的基因突变,其中散发病例 *TSC2* 基因突变发生率为 *TSC1* 基因突变的 5 倍,而有家族史的患者这两种基因突变发生率相近;其余 15%~20%患者基因突变类型不明确,可能原因为生殖细胞镶嵌^[6-7]。提高对结节性硬化症的早期认识具有重要临床意义。神经影像学、脑电图、超声心动图、肾脏超声及胸部 CT 等项检查^[8]均有助于发现潜在的症状与体征,可预防严重的临床症状出现。此外,分子遗传学检测技术的发展有助于早期诊断,可对患者及家庭进行遗传咨询及产前诊断。

对象与方法

一、研究对象

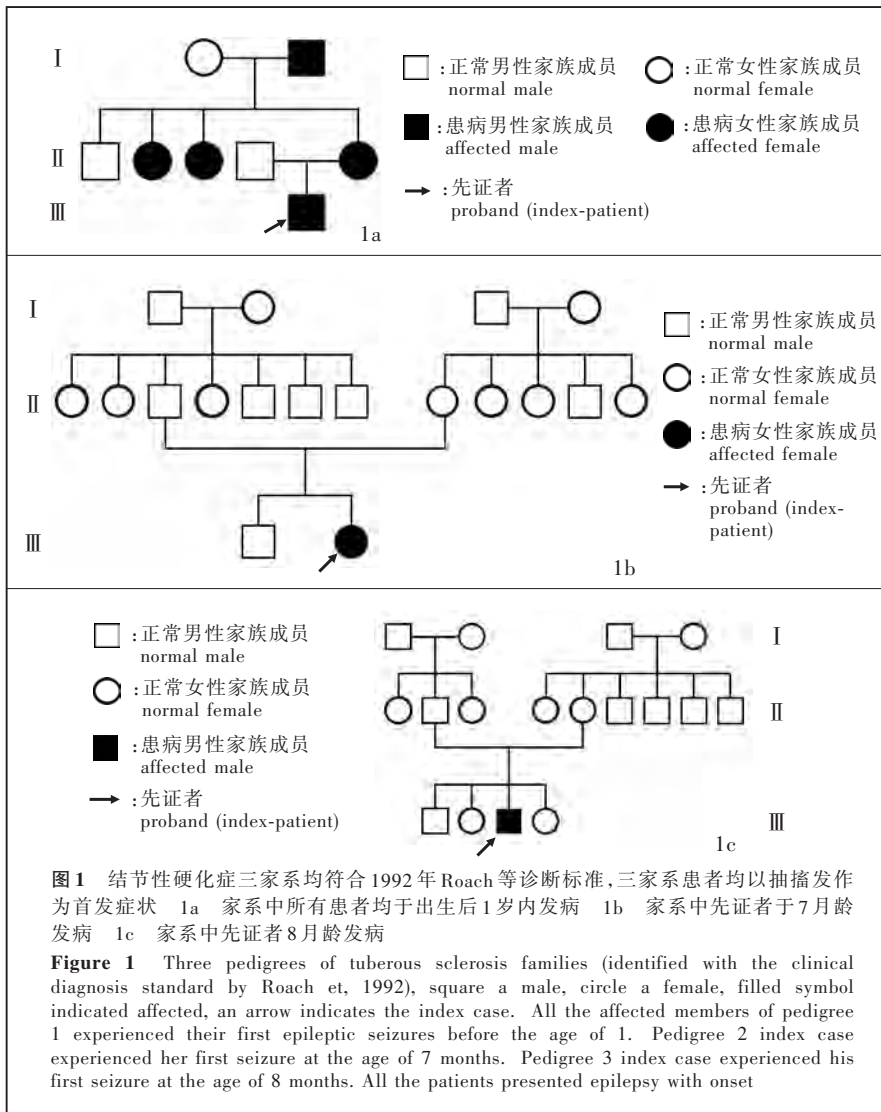
三家系中共 3 例为临床诊断明确的结节性硬化症患者,家系 1 先证者为男性,2 岁 9 个月;家系 2 先证者为女性,2 岁 4 个月;家系 3 先证者为男性,2 岁 7 个月。3 例均为 2010 年 9 月-2012 年 3 月于中山大学附属第一医院神经科门诊就诊患者。

家系 1 先证者(图 1a) 主因反复意识丧失伴抽搐 2 年余,于 2011 年 12 月 19 日至我院就诊。据患儿母亲诉该患儿于 4 月龄时开始无明显诱因出现

癫痫发作,主要表现为双眼上翻、双侧下肢先伸直后四肢抽动,口唇青紫、呼之不应,每次发作时间约持续 3 min,发作后嗜睡。此后发作逐渐频繁且症状加重,从数日 1 次至 4~5 次/d。其生长发育与同龄儿无明显差异,失语但可发音。曾在当地医院就诊,考虑“癫痫”予以卡马西平(得理多)0.05 g(2 次/d)、苯妥英钠 0.05 g(2 次/d)和丙戊酸钠 0.20 g(2 次/d)等口服抗癫痫药物联合治疗,因未严格遵医嘱服药,患儿癫痫发作控制欠佳。体格检查:精神尚可,脑神经检查无明显异常。面部可见皮脂腺瘤。四肢活动尚可。经病史询问获知该患儿有结节性硬化症家族史,其外祖父、母亲、两个姨母均有面部皮脂腺瘤,对其母进行体格检查可见肘部白斑脱失。其外祖父、母亲和两个姨母均有癫痫发作史,4 例直系亲属均为出生后 1 年内发病,癫痫持续 1~22 年,平均持续时间 14.20 年。经患儿父母知情同意进行基因检测。

家系 2 先证者(图 1b) 因抽搐、失语 1 年余,于 2012 年 3 月 1 日至我院就诊。患儿母亲诉其于 7 月龄时无明显诱因首次出现抽搐,表现为双眼上翻、呼之不应,发作持续约 5 min,未予重视;18 个月时再次出现上述症状,发作时间延长至 7~8 min。患者体格发育正常,可发音但失语,喜欢独自看电视,与家人较少交流。无家族遗传史。体格检查:神志清楚,反应一般。脑神经检查无异常。腰骶部可见两处色素脱失斑。四肢活动良好。曾于当地医院行脑电图、头部 CT 及 Gesell 发育量表等项检查;临床诊断考虑结节性硬化症,予以丙戊酸钠(德巴金)和拉莫三嗪(具体剂量不详)等抗癫痫药物治疗,症状控制良好。患儿父母为求明确诊断和遗传咨询遂来我院就诊。根据该患儿病史、体格检查和头部 CT、脑电图等辅助检查确定原有诊断,治疗方案同前,随访至今未再发作。

家系 3 先证者(图 1c) 主因抽搐 3 月余,而于 2010 年 9 月 21 日至我院就诊。患儿母亲诉其于 8 月



龄时常睡醒后无明显诱因出现发作性双眼上翻、点头屈颈, 双侧上肢张开、下肢呈伸直状, 每次发作持续 1~2 min, 约 15 d 发作 1 次, 每月发作 2~3 次。患者生长发育尚可, 能发单音节, 不喜与他人交流。曾于当地医院就诊, 行头部 CT 和脑电图检查, 考虑为结节性硬化症, 给予丙戊酸钠和拉莫三嗪治疗后症状控制良好。无家族遗传史。体格检查: 神志清楚, 反应尚可。手臂及眉毛处可见色素脱失斑。四肢活动尚可。患儿父母于我院门诊咨询, 综合患儿临床表现及辅助检查, 结节性硬化症诊断明确, 维持原有治疗, 随访 18 个月无发作。

二、研究方法

1. 资料收集 收集三家系之临床资料, 仔细询问三家系先证者病史和家族史, 并进行体格检查和各项辅助检查。对有家族史家系中的疑似患者详细了解发病及就诊情况。

2. 影像学检查 采用德国 Siemens 公司生产的 3.0T 超导型全身 MRI 扫描仪 (Siemens Magnetom Trio Tim) 进行检查, 表面头部 8 通道正交线圈, 扫描序列包括: (1) 自旋回波 T₁ 加权序列 (T₁WI), 重复时间 (TR) 400 ms、回波时间 (TE) 9.50 ms, 扫描视野 (FOV) 193 mm × 220 mm, 矩阵 202 × 256。(2) 自旋回波 T₂ 加权序列 (T₂WI), 重复时间 4000 ms、回波时间 140 ms, 扫描视野 193 mm × 220 mm、矩阵 324 × 384。(3) 短时反转恢复序列 (STIR), 重复时间 9000 ms、回波时间 112 ms、视野 220 mm × 220 mm、矩阵 232 × 256。以上各序列扫描层厚均为 6mm、间距 1.20mm, 扫描范围覆盖从颅底至颅顶全部脑组织。

3. 外周血白细胞基因组 DNA 检测 (1) 基因组 DNA 提取: 采集家系 1 先证者患儿肘静脉血 2 ml 置 EDTA 肝素抗凝管中保存。经碘酚-氯仿

提取法测定外周血基因组 DNA, 待测 DNA 浓度 > 50 ng/μl, 体积 > 100 μl; 纯度均达到 OD 值 260/280 > 1.80, OD 值 260/230 > 1.20。(2) 目的片段扩增: 根据 TSC2 基因序列设计引物 (购于上海生工生物工程有限公司), 扩增序列包括 TSC2 基因 41 个外显子及外显子和内含子交界区, ABIGold Taq 酶扩增体系为 10 × Buffer 2.50 μl、Mg²⁺ 0.50 μl 和 dNTP 2.00 μl, 上游引物 (10 p) 1.00 μl、下游引物 (10 p) 1.00 μl, DNA (50 mg/μl) 1.00 μl、Taq 酶 0.20 IU, 加入 dH₂O 补充至 25 μl。应用校准核酸扩增仪 (GeneAmp PCR System 9700 thermal cycler, 美国 ABI 公司) 进行 PCR 扩增反应 (表 1)。(3) 基因组测序: PCR 扩增产物直接于 ABI 310 型 DNA 测序仪 (美国 ABI 公司) 测序, 测序结果结合 TSC2 基因突变数据库 [www.d-lohmann.de/Rb/mutations.html (RBI gene mutation database)] 进行分析。

表 1 TSC2 基因测序引物序列及退火温度

Table 1. The primers and annealing temperature used for TSC2 gene analysis

| 扩增序列 | 引物名称 | 引物序列 | PCR 退火温度(°C) | 片段长度(bp) | 扩增序列 | 引物名称 | 引物序列 | PCR 退火温度(°C) | 片段长度(bp) |
|--------|----------|---------------------------|--------------|----------|--------|----------|-------------------------|--------------|----------|
| 外显子 1 | TSC2-1F | GAAGGTGGGCGAGGCTG | 58.40 | 399 | 外显子 22 | TSC2-22F | GGCCATGGGACCGAGAGTT | 64.70 | 394 |
| | TSC2-1R | AAGATCGCTGATTTGGAAGTCTC | | | | TSC2-22R | TGGGGACAGAATGCAACCTT | | |
| 外显子 2 | TSC2-2F | AAAAATGCAGTGGGAGTCTTT | 56.70 | 368 | 外显子 23 | TSC2-23F | AGGCTGCCGCACCTGTAC | 62.20 | 406 |
| | TSC2-2R | GCACTGAGCCAAGATTGTG | | | | TSC2-23R | TGGCCTACCGAGAGACACAG | | |
| 外显子 3 | TSC2-3F | CCTGTACGAAGCCTGTGTCAT | 64.00 | 490 | 外显子 24 | TSC2-24F | CACTGTCTGGGTGTGCTCACT | 62.80 | 362 |
| | TSC2-3R | AGGCAGTGCCTACGGTCACAC | | | | TSC2-24R | CCCCAATTCCACAAGTAGGT | | |
| 外显子 4 | TSC2-4F | GCTGATGCTGCAGACCTGTCT | 62.00 | 540 | 外显子 25 | TSC2-25F | GCATGGCTCTTTTGTGTCATC | 63.00 | 118 |
| | TSC2-4R | CCAAGCCCCAGAGACTCAC | | | | TSC2-25R | TGGGGACAGAATGCAACCTT | | |
| 外显子 5 | TSC2-5F | CCAGTGCCTGGTCTGTCTGTT | 59.60 | 474 | 外显子 26 | TSC2-26F | GAGCTTTGGCCCTTGGTGAT | 63.20 | 354 |
| | TSC2-5R | GAGACAGGGTTTACCATTGTT | | | | TSC2-26R | CACCCGCTAGGAGAACTCG | | |
| 外显子 6 | TSC2-6F | GGATGAGCCATCGGTGTT | 62.40 | 294 | 外显子 27 | TSC2-27F | GACATGATGGCTCGATACGTCTT | 63.60 | 449 |
| | TSC2-6R | CTCTGAGGCTCAGAGAGACC | | | | TSC2-27R | GCCTCCTTGGTCTGTCTCACAT | | |
| 外显子 7 | TSC2-7F | GCAGCCGAGGCTGAAG | 61.80 | 373 | 外显子 28 | TSC2-28F | ACCTGTGCGTGGGATTCT | 64.70 | 375 |
| | TSC2-7R | ACTGCCTGGGAAAATGACACT | | | | TSC2-28R | AACCCCGAGAAAACACCAG | | |
| 外显子 8 | TSC2-8F | AGAACCCTGCTGCCTCTGTCT | 63.60 | 330 | 外显子 29 | TSC2-29F | CAGGCTCGGGGGAGCAT | 64.20 | 450 |
| | TSC2-8R | CAAGGACTCTCTAAGCCAGTGTGTG | | | | TSC2-29R | CGTGGCCACAGAGCAAGACT | | |
| 外显子 9 | TSC2-9F | CCCTCTCTCTGGGAACTT | 62.20 | 294 | 外显子 30 | TSC2-30F | CGACATCGTGTCTGAGGATT | 64.60 | 490 |
| | TSC2-9R | CCCAGCTGCAAAGCAACT | | | | TSC2-30R | CCCAAACACCGGAGAAACAATG | | |
| 外显子 10 | TSC2-10F | GCAAGCAGCTCTGACCCTGT | 62.60 | 330 | 外显子 31 | TSC2-31F | GTGCTCTCTGCTCGACCTGTGT | 63.50 | 310 |
| | TSC2-10R | CCACTCGGAATCACCAGAGAAC | | | | TSC2-31R | CTGGCCAAAGCAAGCAATTCT | | |
| 外显子 11 | TSC2-11F | TGGAAGTGCAGCTGTGCATC | 61.90 | 314 | 外显子 32 | TSC2-32F | AACCCCGGGCACTAT | 64.50 | 580 |
| | TSC2-11R | CCTGCCGAGTGCAGAAAAC | | | | TSC2-32R | CACACTGCGTGAGCAGAGGT | | |
| 外显子 12 | TSC2-12F | TGCCAGGAGTGCCTTTTGTGT | 63.20 | 348 | 外显子 33 | TSC2-33F | CCCTGGGATGGAGACAGAT | 64.30 | 636 |
| | TSC2-12R | CTCATCGGGCATCCTGAGAC | | | | TSC2-33R | GCAGGAGAGGTGTCAGGAGC | | |
| 外显子 13 | TSC2-13F | TTTTCGGGGCTGCTGTGG | 65.00 | 305 | 外显子 34 | TSC2-34F | CGGGGCTCTGACACCTCT | 65.30 | 516 |
| | TSC2-13R | CCCGCCACGGAGAAAATAG | | | | TSC2-34R | CCGACCGCTCAAAGGACTGT | | |
| 外显子 14 | TSC2-14F | TGCGGGTGGTTCCTG | 63.10 | 480 | 外显子 35 | TSC2-35F | AGCTGTGTGGCTCGGGTGAAT | 65.10 | 469 |
| | TSC2-14R | CCCAGCTGTCCAGAGTGTG | | | | TSC2-35R | GGTGTCTCCACGCTAACCTGT | | |
| 外显子 15 | TSC2-15F | TGTGTAAGTCTGGCCTTCTCT | 62.00 | 291 | 外显子 36 | TSC2-36F | GCTGCTGGAATGGATGGTCTT | 64.80 | 500 |
| | TSC2-15R | GCTGCTGCTGAGACCAC | | | | TSC2-36R | CACCAGCCCCATCACTGC | | |
| 外显子 16 | TSC2-16F | TGTGTTTTGAAGCAGCACTCT | 63.10 | 453 | 外显子 37 | TSC2-37F | CCCAGAGCCCCTGGAGTAAT | 62.80 | 304 |
| | TSC2-16R | TAGAGCCACAAGCCACAGATGT | | | | TSC2-37R | CACCAACCCGGGACACAG | | |
| 外显子 17 | TSC2-17F | ACATCAGCAGTGGCCTTTTC | 63.40 | 360 | 外显子 38 | TSC2-38F | CGTGCCAGAGGGGAAAGT | 64.70 | 381 |
| | TSC2-17R | GCAGCAGGAAACGGAACAGACT | | | | TSC2-38R | CAGGTTGCGTCTCAGACACC | | |
| 外显子 18 | TSC2-18F | TGTGTTGGCGCTGTTTGC | 64.90 | 512 | 外显子 39 | TSC2-39F | GGGCAGGGCCAGTTCAACTTT | 64.70 | 443 |
| | TSC2-18R | GGGCCTTCTGACCTAGAGAC | | | | TSC2-39R | GGAGCCGGGCAATCCACT | | |
| 外显子 19 | TSC2-19F | CTCCCCGGCTGAGAAC | 62.60 | 475 | 外显子 40 | TSC2-40F | ACCAGCGTGGCCAAGATCG | 65.00 | 367 |
| | TSC2-19R | CCTTGGCTGGGACCTCT | | | | TSC2-40R | GGCGGCTTGGGCAGTAAGTC | | |
| 外显子 20 | TSC2-20F | CCGTGGGGAGAGTT | 50.10 | 305 | 外显子 41 | TSC2-41F | CGCCAGCGGGTAGGGAAT | 64.10 | 375 |
| | TSC2-20R | GGAAGCAGACCAACTCACT | | | | TSC2-41R | TGTGACTGGGTCAGGACTTT | | |
| 外显子 21 | TSC2-21F | GGATCGTGTCCGAATGCAACT | 63.60 | 493 | | | | | |
| | TSC2-21R | TCCCAAGGAGTCTGAGAGA | | | | | | | |

结 果

一、临床特征

三家系中的先证者均为出生后 1 岁内发病,首发症状为癫痫发作,表现为双眼上翻、肢体抽搐、呼之不应,每次发作持续时间 1~10 min。未曾接受治疗时癫痫发作呈频繁、逐渐加重趋势。3 例患儿生长发育程度与同龄儿无明显差异,但精神发育迟滞,能够发音但不能说话,不喜与外界交流,倾向于独自游戏。3 例患儿均有不同程度的皮肤异常表

现,如面部皮脂腺瘤(家系 1,图 2)或躯体部位色素脱失斑(家系 1~3,图 3)。

二、辅助检查

1. 影像学表现 3 例患儿头部 CT 或 MRI 检查均显示侧脑室室管膜下多发性结节状钙化影。家系 1 患儿头部 MRI 扫描双侧额叶(额上回)及双侧顶叶、右侧侧脑室额角及双侧侧脑室三角部旁白质呈斑片状异常信号影, T₁等、T₂稍高信号,双侧侧脑室室管膜下可见多个小结节状异常信号, T₁高、T₂等信号(图 4a);家系 2 患儿 CT 检查双侧额叶、颞叶及顶

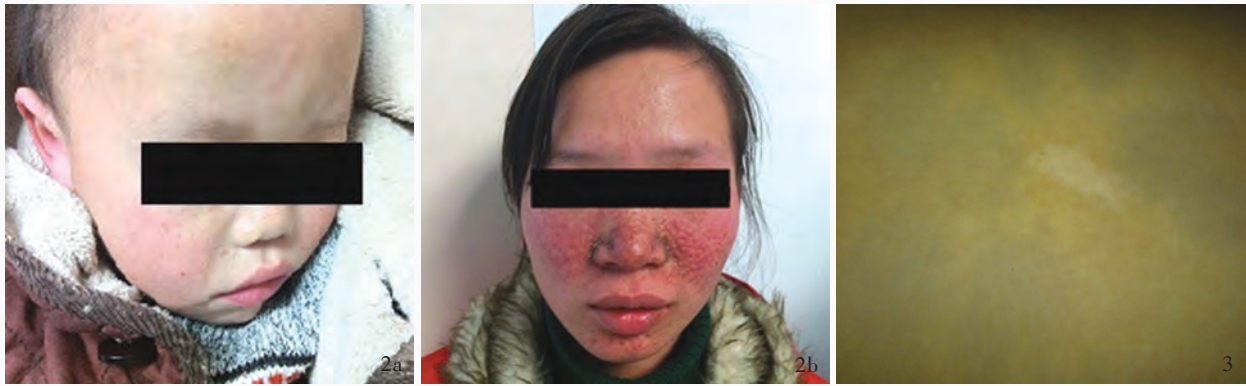


图2 家系1患者体格检查所见 2a 家系1先证者口鼻三角区可见对称、散在、针头大小的粉红蜡状丘疹 2b 家系1先证者母亲面部可见口鼻三角区、额头对称、融合成片状的粉红蜡状丘疹 图3 家系2先证者背部皮肤可见色素脱失斑

Figure 2 Physical examination findings. Facial angiofibromas in index-patient and his mother of pedigree 1. They are pink nodules with a smooth surface, symmetrically and bilaterally distributed over centofacial areas, especially on the nasolabial folds, cheeks and chin (Panel 2a, 2b) **Figure 3** Hypopigmented macule at skin of the back in index-patient of pedigree 2

叶皮质下白质区可见多发性斑片状稍低密度影,左侧侧脑室体部室管膜下可见斑片状高密度钙化灶(图4b);家系3患儿CT检查显示双侧侧脑室室管膜下多发斑点状高密度影(图4c),双侧额、顶叶可见斑片状低密度影。

2. 脑电图表现 家系2患儿脑电图扫描呈全脑2.50~3.50 Hz尖(棘、多棘)慢复合波;家系3患儿可见少量尖波。

三、生长发育情况

Gesell发育量表初始量表适用于4~60个月婴幼儿,主要包括5个领域:粗动作行为、细动作行为、语言行为、适应性行为及个人-社会行为。由此量表计算所得适应性发育商(DQ)<70分者,考虑智力发育迟缓;70~85分为边缘水平;≥86分为正常。家系2患儿8月龄时的Gesell发育量表评分为78分,在1岁2个月时为75分。

四、遗传学检测

1. 基因分析 家系1先证者患儿TSC2基因呈现c.1444-2A>C突变(图5),为剪切位点突变。检索LOVD mutation database,未见报道,考虑为一种新型基因突变方式。

2. 遗传方式 家系1中3代共5例患病,其中男性2例、女性3例,符合常染色体显性遗传。因尚未对家系2和家系3进行基因分析,故无法确定其为新发基因突变或镶嵌类型。

讨 论

一、临床表型

结节性硬化症是由于TSC1基因或TSC2基因突变所引起的以错构瘤为主要表现、累及多脏器或系统的常染色体显性遗传性疾病,中枢神经系统症状包括癫痫、精神迟滞及自闭倾向等^[9]。经研究表明,90%~96%的结节性硬化症患者表现为癫痫发作,其中85%发生于2岁前^[10]。本组3例先证者均于出生后1年内发病,首发症状即为癫痫发作,与文献报道相符。此外,40%~50%患者出现行为及认知功能障碍,包括自闭症和精神迟滞^[11],而本组患者发病后随访至2岁余,仍言语不能,不能与外界交流,神经精神症状发生概率明显高于文献报道,是否与种族或地域因素所产生的差异有关,仍需大样本分析结果加以证实。Webb等^[12]对131例英国结节性硬化症患者进行分析发现,其中126例患者存在皮肤异常,80例可见色素脱失斑,大多数出生时即有,部分于成年后消失;在14岁前有54%~55%患者出现鲨鱼皮样斑块,81%~88%患者出现面部皮脂腺瘤,且持续至青春期之后。本组3例先证者均有不同程度的皮肤异常表现,家系1先证者存在家族遗传史,其基因分析为TSC2基因突变,临床症状明显较散发型的家系2和家系3严重,因尚未对后两个家系中的患者进行基因学检测,故不能排除有家族史患者病情较散发患者严重的可能。

二、影像学表现

Chu-Shore等^[13]对173例结节性硬化症患者的头部MRI进行回顾分析,发现46%患者至少有1个囊肿样皮质下结节。本组3例患儿头部影像学检查(CT或MRI)均显示1个以上结节状钙化影,位于不

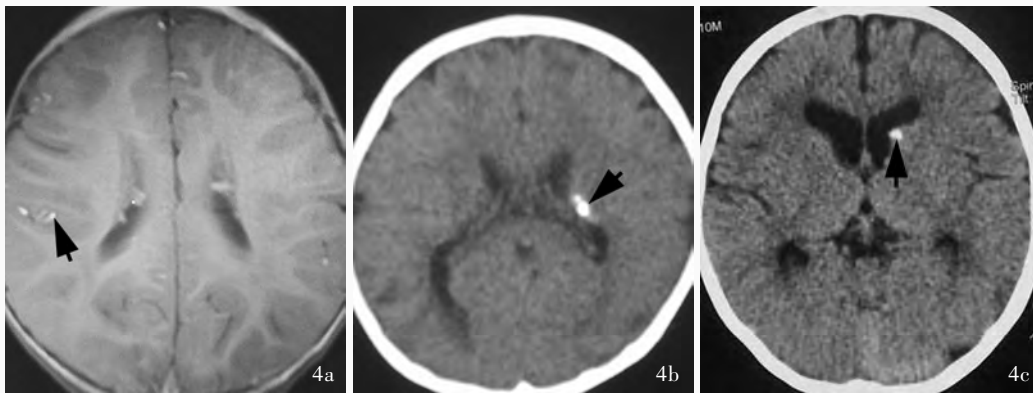


图4 三家系患儿神经影像学检查所见 4a 头部MRI(T₁WI)扫描显示侧脑室体部室管膜下结节性高信号(箭头所示) 4b 头部CT扫描显示侧脑室体部室管膜下高密度信号影(箭头所示) 4c 头部CT扫描显示侧脑室前角室管膜下高密度信号影(箭头所示)

Figure 4 Neuroimaging findings of children in 3 pedigrees. Subependymal nodules in the lateral ventricles (arrow indicates) on T₁-weighted imaging (Panel 4a). Subependymal nodules (arrows indicate) on Cranial CT scan (Panel 4b, 4c)

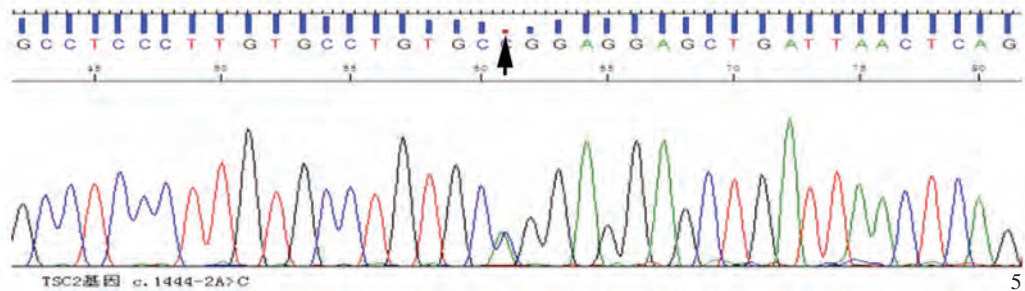


图5 TSC2基因测序图显示,家系1先证者TSC2基因突变位点于c.1444-2A>C(箭头所示)

Figure 5 TSC2 gene sequencing arrow shows c.1444-2A>C mutation in TSC2 of index patient of pedigree 1

同脑叶,尤其是额、顶叶斑片状异常信号影,但均未出现如文献所描述的囊肿样皮质下结节。Chu-Shore等^[13]认为,头部MRI检查显示1个以上囊肿样皮质下结节的患者,比无囊肿样皮质下结节的患者更容易发生婴儿痉挛($P=0.000$)、癫痫($P=0.004$)、难治性癫痫($P=0.000$);而且,囊肿样皮质下结节与TSC2基因突变和难治性癫痫发作类型存在强关联性。本研究中家系1先证者为TSC2基因突变,临床主要表现为难治性癫痫,但其头部MRI检查未发现囊肿样皮质下结节,因囊肿样皮质下结节的形成机制尚不明了,因而该患儿今后是否会出现此类结节,尚需长期随访。

三、基因分析

迄今为止,人类基因突变数据库(HGMD)共收录239种TSC1基因突变类型,包括错义/无义突变58种、剪接位点突变23种、其他小突变115种和TSC2基因突变783种[错义/无义突变232种、剪接位点突变95种和其他小突变等456种([http://www.](http://www.hgmd.org/)

[hgmd.org/](http://www.hgmd.org/))]。本研究通过采集家系1先证者外周血标本中的DNA进行PCR扩增和DNA测序,经TSC2基因分析显示为c.1444-2A>C(胞嘧啶)突变,为剪接位点突变,经对LOVD mutation database进行检索,未发现c.1444-2A>C(胞嘧啶)突变的报道,但c.1444-2A>G(鸟嘌呤)突变为结节性硬化症明确相关遗传突变位点,故TSC2基因c.1444-2A>C(胞嘧啶)序列改变可能与结节性硬化症密切相关。基因学检测有助于临床明确诊断结节性硬化症,特别是对于那些尚未出现临床症状或体征的婴幼儿;其次对于无家族史的新发病例,可先明确先证者的基因类型,进而再进一步了解家族其他成员基因突变情况。然而,值得注意的是:对于基因检测无基因突变的患儿,其父母仍不能保证下一胎不罹患结节性硬化症,因为约有2%的无基因突变的患儿父母存在生殖细胞镶嵌^[14]。基因学诊断亦应用于产前诊断,通过明确先证者或先证者之父母的基因突变类型,利用体外受精的方法,提取4~8个胚体期单个

细胞 DNA 进行植入前鉴定^[15],这将有助于患病家庭生育健康后代。

参 考 文 献

- [1] Curatolo P, Bombardieri R, Jozwiak S, et al. Tuberous sclerosis. *Lancet*, 2008, 372:657-668.
- [2] Cheadle JP, Reeve MP, Sampson JR, et al. Molecular genetic advances in tuberous sclerosis. *Hum Genet*, 2000, 107:97-114.
- [3] van Slegtenhorst M, Nellist M, Nagelkerken B, et al. Interaction between hamartin and tuberin, the TSC1 and TSC2 gene products. *Hum Mol Genet*, 1998, 7:1053-1058.
- [4] Tapon N, Ito N, Dickson BJ, et al. The Drosophila tuberous sclerosis complex gene homologs restrict cell growth and cell proliferation. *Cell*, 2001, 105:345-355.
- [5] Fingar DC, Blenis J. Target of rapamycin (TOR): an integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression. *Oncogene*, 2004, 23:3151-3171.
- [6] Jones AC, Shyamsundar MM, Thomas MW, et al. Comprehensive mutation analysis of TSC1 and TSC2-and phenotypic correlations in 150 families with tuberous sclerosis. *Am J Hum Genet*, 1999, 64:1305-1315.
- [7] Webb DW, Fryer AE, Osborne JP. Morbidity associated with tuberous sclerosis: a population study. *Dev Med Child Neurol*, 1996, 38:146-155.
- [8] Li W, Yi HM, Zhang YY, et al. Imaging manifestation and diagnostic criteria of hereditary tumor. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2007, 7:323-330.[李威, 伊慧明, 张媛媛, 等. 遗传性神经肿瘤综合征的影像学表现. *中国现代神经疾病杂志*, 2007, 7:323-330.]
- [9] Su SB, Yang XJ, Zhang JN, et al. Subependymal giant cell astrocytoma in tuberous sclerosis complex (with report of 9 cases). *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2007, 7:364-368.[苏少波, 杨学军, 张建宁, 等. 合并结节性硬化复征的室管膜下巨细胞型星形细胞瘤(附9例报告). *中国现代神经疾病杂志*, 2007, 7:364-368.]
- [10] Jozwiak S, Goodman M, Lamm SH. Poor mental development in patients with tuberous sclerosis complex: clinical risk factors. *Arch Neurol*, 1998, 55:379-384.
- [11] Józwiak S, Schwartz RA, Janniger CK, et al. Usefulness of diagnostic criteria of tuberous sclerosis complex in pediatric patients. *J Child Neurol*, 2000, 15:652-659.
- [12] Webb DW, Clarke A, Fryer A, et al. The cutaneous features of tuberous sclerosis: a population study. *Br J Dermatol*, 1996, 135:1-5.
- [13] Chu-Shore CJ, Major P, Montenegro M, et al. Cyst-like tubers are associated with TSC2 and epilepsy in tuberous sclerosis complex. *Neurology*, 2009, 72:1165-1169.
- [14] Verhoef S, Bakker L, Tempelaars AM, et al. High rate of mosaicism in tuberous sclerosis complex. *Am J Hum Genet*, 1999, 64:1632-1637.
- [15] Schwartz RA, Fernandez G, Kotulska K, et al. Tuberous sclerosis complex: advances in diagnosis, genetics, and management. *J Am Acad Dermatol*, 2007, 57:189-202.

(收稿日期:2012-04-27)

· 小 词 典 ·

中英文对照名词词汇(七)

- | | |
|---|--|
| CT血管造影术 CT angiography(CTA) | 支链氨基酸氨基转移酶 branched-chain amino acid aminotransferase(BCAA-T) |
| 野生型亨廷顿蛋白 wild-type huntingtin(wtHtt) protein | 中国仓鼠卵巢细胞 Chinese hamster ovary(CHO) |
| 液体衰减反转恢复序列 fluid attenuated inversion recovery (FLAIR) | 中国多系统萎缩研究组 Chinese Multiple System Atrophy Study Group (CNMSA-SG) |
| 胰岛素样生长因子- I insulin-like growth factor- I (IGF- I) | 中型多棘神经元 medium spiny neuron(MSN) |
| 遗传性共济失调 hereditary ataxia(HA) | 肿瘤坏死因子- α tumor necrosis factor- α (TNF- α) |
| 遗传性痉挛性共济失调 hereditary spastic ataxia(HSA) | 自发性蛛网膜下隙出血 spontaneous subarachnoid hemorrhage(SSAH) |
| 遗传性痉挛性截瘫 hereditary spastic paraplegia(HSP) | Hallervorden-Spatz综合征 Hallervorden-Spatz syndrome(HSS) |
| 乙二胺四乙酸 ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) | Kearns-Sayre综合征 Kearns-Sayre syndrom(KSS) |
| N-乙酰半胱氨酸 N-acetylcysteine(NAC) | 组蛋白甲基化转移酶 histone methyltransferase(HMT) |
| N-乙酰天门冬氨酸 N-acetyl aspartate(NAA) | 组蛋白去乙酰化酶 histone deacetylase(HDAC) |
| 有丝分裂原激活蛋白激酶 mitogen-activated protein kinase(MAPK) | 组蛋白去乙酰化酶抑制剂4b histone deacetylase inhibitor 4b(HDACi 4b) |
| RNA诱导沉默复合物 RNA-induced silencing complex(RISC) | 组蛋白乙酰转移酶 histone acetyltransferase(HAT) |
| 原发性侧索硬化 primary lateral sclerosis(PLS) | |
| 运动神经元生存 survival motor neuron(SMN) | |
| 运动单位数目估测 motor unit number estimate(MUNE) | |