

# 神经遗传性疾病的基因学研究十年进展

王柠 林宇 陈万金

【关键词】 遗传变性障碍, 神经系统; 基因; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1672-6731.2010.01.008

神经遗传性疾病是遗传性疾病中数量最多的疾病,在目前已经发现的 5000 余种单基因疾病中,累及神经系统的遗传性疾病或综合征约占 50%,而与多基因遗传有关的神经系统疾病的数量则更多。神经遗传性疾病研究进入基因学领域始于 20 世纪 50 年代,近 10 年来,神经遗传性疾病的基因学研究得到了飞速发展,随着人类基因组计划的顺利实施,目前基因学研究已进入蛋白质组学阶段<sup>[1]</sup>。

一、基因学研究技术飞速发展是神经遗传性疾病研究的重要基础

2006 年 5 月 18 日, *Nature* 发表了人类最后一条染色体 1 号染色体的基因测序结果,至此历时 16 年的人类基因组计划书写完了最后一个章节,解读人体基因密码的“生命之书”宣告完成<sup>[2]</sup>。人类基因组测序计划的提前完成得益于 10 年来基因学研究技术,特别是基因测序技术的飞速发展。10 年前,随着以集成化、自动化毛细管电泳为代表的第 2 代测序技术的建立,使自动化测序成为可能;2005 年, *Nature* 报道了高通量测序技术——焦磷酸盐化学反应加微流体技术的 DNA 测序平台<sup>[3]</sup>;2006 年 6 月,美国 Illumina 公司推出了 Solexa 测序技术,将“合成测序”化学法与“DNA 簇技术”相结合,具有高通量性、高效性、低成本及高精确性等特点<sup>[4]</sup>;于 2008 年 4 月, *Science* 又报道了一种新型测序设备——单分子 DNA 测序仪,能够“阅读”单分子 DNA 的单个碱基<sup>[5]</sup>。随着测序技术的不断创新和改良,在保证基因组测序准确无误的前提下,操作程序进一步优化,测定通量急速增加,与此同时,测试成本呈现直线下降之趋势。新的基因学检测技术业已成为神经遗传性疾病致病基因定位、克隆,以及实现基因

学诊断的重要工具。

随着后基因组学时代的到来,神经遗传性疾病基因学研究从结构基因组学转向功能基因组学,基因功能的研究也从单一基因转向大规模、批量分析。10 年来不断涌现的新的基因功能研究技术包括:蛋白质组学、微阵列分析、基因表达系列分析、基因敲除和转基因技术、RNA 干扰和生物信息学等。新兴研究技术为神经遗传性疾病发病机制和治疗研究带来了突破性的进展<sup>[6]</sup>。

二、神经遗传性疾病诊断方面的进展

近年来,神经遗传性疾病在新的基因检测技术推动下不断有新的基因被定位、克隆,根据在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)统计,10 年来被定位或克隆的神经遗传性疾病相关致病基因共 235 个。基因检测广泛应用于神经遗传性疾病的临床诊断中,在不同人群中发现神经遗传性疾病基因存在大量基因突变,可通过检测这些突变来进行疾病的基因诊断,基因检测日益成为神经遗传性单基因疾病诊断不可或缺的组成部分。例如,肝豆状核变性(WD)为一种与铜代谢障碍有关的常染色体隐性遗传性疾病,临床表现为肝肾损害、锥体外系症状并可出现角膜 K-F 环。其致病基因为 *ATP7B* 基因,编码的 *ATP7B* 蛋白参与了铜跨膜转运的代谢过程,该基因于 1993 年被克隆,根据人类基因突变数据库(HGMD)统计,10 年来新发现的 *ATP7B* 基因点突变共计 319 个,而且不同人群其基因突变热点不同。大量研究也证实,中国肝豆状核变性基因突变的热点区域位于第 8 号和第 12 号外显子,目前已根据这些基因突变位点及突变热点建立了准确的基因诊断方法并应用于临床,实现了对肝豆状核变性患者及症状前患者的快速基因学诊断<sup>[7-9]</sup>。

三、神经遗传性疾病发病机制的研究进展

基因突变仅是一种现象,更重要的是须明确突

作者单位:350005 福州,福建医科大学附属第一医院神经内科  
通信作者:王柠(Email:nwang63@yahoo.com.cn)

变所导致的 mRNA 及蛋白质功能的改变。随着人类基因组计划的完成, 现已步入后基因组时代, 蛋白质功能及发病机制的研究已成为神经分子遗传学研究的重点方向。在后基因组时代, 生物信息学日益成为核心技术之一。利用基因组编码区的信息进行蛋白质空间结构模拟和蛋白质功能预测, 有可能对蛋白质功能研究带来重要启示。通过功能基因组学方法, 10 年来许多神经遗传性疾病的发病机制也得到了进一步阐明, 下面以三核苷酸重复序列动态突变性遗传性疾病为例加以说明。

三核苷酸重复序列动态突变性遗传性疾病, 亦称为三核苷酸重复疾病 (TRD) 或三核苷酸扩展疾病 (TED), 指致病基因内三核苷酸重复序列如 CAG、CGG、CTG、GAA 等呈不稳定性异常增多而导致的遗传性疾病, 发病机制也复杂多样。10 年来发现其可能的发病机制分为以下几种。(1) 蛋白质异常磷酸化: 发生于致病基因编码区域内的 CAG 三核苷酸重复扩展突变, 导致基因编码蛋白产生多聚谷氨酰胺 (PolyQ) 扩展突变, 由其所造成的疾病统称为多聚谷氨酰胺疾病。已知多聚谷氨酰胺疾病共有 9 种, 包括亨廷顿舞蹈病、齿状红核苍白球路易小体萎缩症、脊髓延髓肌萎缩症及遗传性脊髓小脑型共济失调 1、2、3、6、7 和 17 型。对这些疾病的细胞模型或动物模型, 例如果蝇、蠕虫及小鼠等的研究表明, 蛋白质磷酸化修饰在多聚谷氨酰胺疾病的发生发展中起重要作用<sup>[10]</sup>。多数研究认为, 蛋白质磷酸化可导致携带异常扩展的谷氨酰胺残基的突变蛋白质在细胞内聚集, 并导致细胞核内包涵体 (INIs) 的形成<sup>[11]</sup>。细胞核内包涵体是导致神经变性的原因, 另有部分研究表明, 细胞核内包涵体是细胞自身保护机制发挥作用的结果; 还有一些研究表明细胞核内包涵体与发病无关。具体机制仍有待进一步研究。此外, 细胞核内包涵体的形成可能还可导致细胞基因转录异常、重新调控细胞凋亡途径及影响神经元轴突之轴浆运输<sup>[11]</sup>。(2) 蛋白质功能丢失: 蛋白质功能丢失机制系指由于基因转录障碍, 导致蛋白质功能丢失而诱发三核苷酸重复疾病, 诸如 Friedreich 共济失调 (FRDA) 和脆性 X 染色体综合征 (Fragile X Syndrome) A 型及 E 型 (即 FRAXA 及 FRAXE)。多数 Friedreich 共济失调患者是由于其致病基因 *Fratxin* 内含子区域的一段 GAA 重复序列异常扩展所形成的固定黏性 DNA 结构阻碍了 *Fratxin* 的转录而引起其所编码的、与线粒体能量

代谢有关的蛋白质功能丢失, 最终引起 Friedreich 共济失调症状, 例如共济失调、深感觉障碍、心脏损害及骨骼畸形等<sup>[12]</sup>。(3) RNA 功能受影响: 与 FRAXA 蛋白质功能丢失的发病机制不同, 与脆性 X 相关的震颤和 (或) 共济失调综合征患者, 其致病基因扩展的 CGG 序列可影响 RNA 的正常剪接而产生新的 mRNA, 由此产生的异常蛋白质能够通过错误折叠及聚集造成细胞毒性而最终导致疾病发生<sup>[13]</sup>。

#### 四、神经遗传性疾病的临床治疗进展

采用传统的药物治疗神经遗传性疾病不能完全治愈, 基因治疗有望从根本上治愈神经遗传性疾病。通过基因转染的方法将基因导入组织或细胞, 诱导基因表达其功能, 从而达到治疗或预防疾病之目的。近 10 年来, 神经遗传性疾病的基因治疗一直处于实验室研究阶段, 但其中部分实验已经取得了鼓舞人心的结果。

2004 年, *Nature* 医学版报道了肌营养不良症 (MD) 基因治疗的动物实验结果。该项研究利用血管内皮生长因子 (VEGF) 使血管透性增加, 通过腺相关病毒 (AAV) 载体将治疗性基因 *dystrophin* 释放至所有肌肉组织中<sup>[14]</sup>。经血液一次性注射小剂量 *dystrophin* 基因的腺相关病毒载体, 其骨骼和心脏肌肉组织即可获得治疗水平的 *dystrophin* 蛋白, 从而显著缓解小鼠肌营养不良症状<sup>[14]</sup>。2007 年 *Nature* 报道, 药物 PTC124 可显著改善肌营养不良小鼠的肌力, 使 *dystrophin* 基因表达水平升高, 该药物适用于 *dystrophin* 基因发生无义突变的患者, 此类患者占 Duchenne 肌营养不良 (DMD) 的 13% ~ 15%, 目前该药物正在进行 II 期临床试验<sup>[15]</sup>。近年来, 另两种药物 PRO051 和 AVI-4658 的临床试验表明, 部分 Duchenne 肌营养不良患者治疗后 *dystrophin* 蛋白表达水平升高, 显示出良好的应用前景<sup>[16, 17]</sup>。

2009 年, *Science* 报道了基因治疗 X-连锁肾上腺脑白质营养不良症 (X-ALD) 的研究。其研究结果显示, 从 2 例 X-连锁肾上腺脑白质营养不良症患者的血液中分离获得干细胞, 并在实验室中通过慢病毒载体 (HIV 载体) 将一个具有功能的 *ALD* 基因拷贝导入干细胞中以纠正其基因缺陷; 经摧毁骨髓治疗后, 将这些改良细胞重新输回患者体内, 随访 2 年, 这 2 例患者的血细胞中仍然有正常的 *ALD* 蛋白表达。令人鼓舞的是, 治疗后 2 例患者的神经系统症状有所改善, 而且该治疗方法延缓疾病进展的效果堪比骨髓移植疗法<sup>[18]</sup>。

## 五、展望

近 10 年来,神经遗传性疾病虽然在基因学研究上取得了显著的进展,但仍存在以下问题亟待解决:(1)许多神经遗传性疾病的致病基因尚未被定位、克隆,目前真正能进行基因诊断的疾病还为数不多,基因诊断不能代替临床诊断。(2)正如人类基因组测序计划只是万里长征的第一步一样,神经遗传性疾病发病机制和蛋白质功能的研究也只是刚刚起步,大部分神经遗传性疾病的发病机制尚未阐明,仍然面临着巨大的挑战。(3)目前神经遗传性疾病的治疗方法尚十分匮乏,基因治疗虽然带来了一线曙光,但仍处于实验室研究阶段,尚不能广泛应用于临床。(4)基因学研究是一把双刃剑,在给人类带来益处的同时,也可引起伦理、道德、法律等方面的社会问题,需要我们正确地认识与对待。21 世纪,神经遗传学领域面临着新的机遇和挑战,亟需神经病学、分子生物学、遗传学、信息学、社会学等各个学科相互交流、深入合作,共同开创神经遗传性疾病基因学研究的新篇章。

## 参 考 文 献

- [1] 王柠,陈万金,林宇.我国神经系统遗传性疾病的研究现状及展望.中国现代神经疾病杂志,2008,8:95-98.
- [2] Gregory SG, Barlow KF, McLay KE, et al. The DNA sequence and biological annotation of human chromosome 1. Nature, 2006, 441:315-321.
- [3] Margulies M, Egholm M, Altman WE, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. Nature, 2005, 437:376-380.
- [4] Bentley DR. Whole-genome re-sequencing. Curr Opin Genet Dev, 2006, 16:545-552.
- [5] Harris TD, Buzby PR, Babcock H, et al. Single-molecule DNA sequencing of a viral genome. Science, 2008, 320:106-109.
- [6] 杜玉梅,左正宏.基因功能研究方法的新进展.生命科学,2008,20:589-592.
- [7] 吴志英,王柠,林珉婷,等. Wilson 病基因全长外显子的突变检测和分析.中华神经科杂志,2001,34:152-155.
- [8] 梁秀龄,马少春,徐评议.肝豆状核变性病基因突变的检测及酶切诊断方法.中华神经科杂志,2000,33:159-161.
- [9] Wu ZY, Wang N, Lin MT, et al. Mutation analysis and the correlation between genotype and phenotype of Arg778Leu mutation in Chinese patients with Wilson disease. Arch Neurol, 2001, 58:971-976.
- [10] Davies SW, Turmaine M, Cozens BA, et al. Formation of neuronal intranuclear inclusions underlies the neurological dysfunction in mice transgenic for the HD mutation. Cell, 1997, 90:537-548.
- [11] DiFiglia M, Sapp E, Chase KO, et al. Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. Science, 1997, 277:1990-1993.
- [12] Saveliev A, Everett C, Sharpe T, et al. DNA triplet repeats mediate heterochromatin - protein - 1 - sensitive variegated gene silencing. Nature, 2003, 422:909-913.
- [13] Hagerman RJ, Leehey M, Heinrichs W, et al. Intention tremor, parkinsonism, and generalized brain atrophy in male carriers of fragile X. Neurology, 2001, 57:127-130.
- [14] Gregorevic P, Blankinship MJ, Allen JM, et al. Systemic delivery of genes to striated muscles using adeno-associated viral vectors. Nat Med, 2004, 10:828-834.
- [15] Welch EM, Barton ER, Zhuo J, et al. PTC124 targets genetic disorders caused by nonsense mutations. Nature, 2007, 447:87-91.
- [16] van Deutekom JC, Janson AA, Ginjaar IB, et al. Local dystrophin restoration with antisense oligonucleotide PRO051. N Engl J Med, 2007, 357:2677-2686.
- [17] Kinali M, Arechavala-Gomez V, Feng L, et al. Local restoration of dystrophin expression with the morpholino oligomer AVI-4658 in Duchenne muscular dystrophy: a single-blind, placebo-controlled, dose-escalation, proof-of-concept study. Lancet Neurol, 2009, 8:918-928.
- [18] Cartier N, Hacein-Bey-Abina S, Bartholomae CC, et al. Hematopoietic stem cell gene therapy with a lentiviral vector in X-linked adrenoleukodystrophy. Science, 2009, 326:818-823.

(收稿日期:2009-12-18)

## · 专题小词典 ·

### 中英文对照名词词汇(六)

- |                 |   |           |  |
|-----------------|---|-----------|--|
| 静息态脑连接          | resting-state connectivity  | 扩散峰态成像    | diffusional kurtosis imaging(DKI)                  |
| 巨噬细胞炎性蛋白-1      | macrophage inflammatory protein-1(MIP-1)  | 扩散谱成像     | diffusion spectrum magnetic resonance imaging(DSI) |
| $\alpha_2$ 巨球蛋白 | $\alpha_2$ -macroglobulin( $\alpha_2$ M)  | 扩散张量成像    | diffusion tensor imaging(DTI)                      |
| 聚甲基丙烯酸甲酯        | polymethyl methacrylate(PMMA)   | 扩展残疾状况评分  | Expanded Disability Status Scale(EDSS)             |
| 抗神经节苷脂抗体        | anti-ganglioside antibody(AGA)  | 酪氨酸羟化酶    | tyrosine hydroxylase(TH)                           |
| 可溶性Tie-2        | soluble Tie-2(sTie-2)   | 雷帕霉素      | rapamycin[西罗莫司 sirolimus]                          |
| 可溶性血管内皮生长因子受体-1 | soluble vascular endothelial growth factor-1(sVEGFR-1),<br>又称 soluble fms-like tyrosine kinase 1(sFlt1) | 雷帕霉素靶蛋白   | mammalian target of rapamycin(mTOR)                |
| 扩步性抑制           | cerebral spreading depression(CSD)  | X连锁凋亡抑制蛋白 | X-linked inhibitor of apoptosis protein(XIAP)      |