

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.01.020

NOTCH3 基因 c.520T>G 突变致 CADASIL 一家系报告及文献复习*

刘道申¹ 黄冬² 陈婧¹ 张广绒¹ 刘之荣^{1Δ}

(1 空军军医大学西京医院神经内科 陕西 西安 710032; 2 陕西省第二人民医院神经内科 陕西 西安 710005)

摘要 目的: 研究探讨一 CADASIL 家系的临床特征及基因突变情况。**方法:** 收集同一家系中 3 例 CADASIL 患者的临床资料, 并对 3 例患者及先证者之兄进行全外显子测序(Whole Exome Sequencing, WES)。**结果:** 该家系中 3 例患者临床表现多样, 女性患者均有头痛病史, 先证者及先证者之姐中年起病, 先证者临床表现缺乏特异性, 主要表现为头昏, 认知功能检查正常, 心理评估示轻度焦虑抑郁状态。先证者之姐主要表现为假性球麻痹及锥体束受损, 认知功能检查示重度痴呆。先证者之女自 4 岁起诊断为癫痫-失神发作, 认知功能检查示轻度认知功能障碍。影像学显示该家系 3 例患者均有脑白质病变, 且随着年龄增大呈进行性发展, WES 显示 3 例患者均存在 NOTCH3 基因第 4 外显子区域杂合突变: c.520T>G, 导致氨基酸改变 p.Cys174Gly。**结论:** NOTCH3 基因 c.520T>G 所致该家系的临床表现具有多样性, 且该家系中下一代起病较早, 临床表现可与父代具有较大异质性, 影像学表现可在青少年时期出现, 并呈现进行加重的趋势。WES 显示该家系中 NOTCH3 基因突变为第 4 外显子的杂合突变, 该位点突变致 CADASIL 为国内首次报道。

关键词: CADASIL; NOTCH3; 基因突变; 家系

中图分类号: Q344; R394; R596 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2020)01-93-04

CADASIL Caused by the NOTCH3 c.520T>G mutation: a Family Report*

LIU Dao-shen¹, HUANG Dong², CHEN Jing¹, ZHANG Guang-rong¹, LIU Zhi-rong^{1Δ}

(1 Department of Neurology, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Neurology, Shaanxi Second People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710005, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the clinical features and gene mutation of a CADASIL pedigree. **Methods:** Clinical data of 3 CADASIL patients from the same family were collected, and whole exon sequencing was performed on 3 patients and the elder brother of the proband. **Results:** The clinical manifestations of the 3 patients in this family were diverse, and all the female patients had a history of headache. The onset of the disease occurred in the middle age of the proband and the elder sister of the proband. The clinical manifestations of proband's patients are lack of specificity, mainly manifested as dizziness, normal cognitive function examination, and mild anxiety and depression in psychological evaluation. The elder sister of the proband mainly showed pseudobulbar paralysis and impaired pyramidal tract, and cognitive function examination showed severe dementia. The daughter of the proband had been diagnosed with epilepsy-aphasia since she was 4 years old. The head MRI showed that the white matter of the 3 members of the family fell into a pattern that gradually developed with age. WES showed that the 4 exon of the NOTCH3 gene had a heterozygous mutation: c.520T>G, which led to the amino acid change p.cys174gly. **Conclusion:** The clinical expression of this family family caused by NOTCH3 gene c.520T>G showed diversity. Moreover, the next generation of this family had earlier onset of disease, and its clinical expression could be more heterogeneous than that of its nadraden. The imaging expression of this family family could emerge in the adolescent period and show a tendency of aggravation. WES showed that the mutation of NOTCH3 gene in the family was a heterozygous mutation of exon 4, and the mutation of this site to CADASIL was first reported in China.

Key words: CADASIL; NOTCH3; Gene mutation; Family

Chinese Library Classification(CLC): Q344; R394; R596 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)01-93-04

前言

伴皮质下梗死和白质脑病的常染色体显性遗传性脑病 (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, CADASIL) 是一种临床上较罕

见的以中年起病为主的遗传性微小动脉疾病, 由 19 号染色体 NOTCH3 基因突变所致, 该病患者初期多有先兆性偏头痛, 以反复发作的缺血性卒中为特点, 常伴有情感障碍、认知功能障碍, 最终可发展成痴呆^[1-3]。头颅磁共振 (magnetic resonance imaging, MRI) 可见双侧大脑半球广泛脑白质病变, 常伴有多发

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81471197)

作者简介: 刘道申(1989-), 男, 硕士研究生, 从事脑血管及认知障碍方面研究, E-mail: neuroliu@fmmu.edu.cn

Δ 通讯作者: 刘之荣(1966-), 男, 博士, 教授, 从事脑血管及认知障碍方面研究, E-mail: liuzhir@fmmu.edu.cn

(收稿日期: 2019-04-30 接受日期: 2019-05-26)

腔隙性脑梗死。既往确诊主要依靠外周皮肤活检发现嗜铬颗粒沉积,近几年基因检测技术的广泛应用使得越来越多的CADASIL家系得以明确诊断,现将我院收治的一个CADASIL家系病例报告如下,并结合以往文献进行讨论。

1 资料与方法

1.1 临床资料

1.1.1 先证者 男,43岁,汉族。主因“间断头部不适伴记忆力减退7年余”于2018年06月06日入院。患者7年前无明显诱因感头部不适,头痛不明显,主要为头部昏沉、头闷,间断出现,不影响活动,未重视。2013年前于酒后出现左侧肢体麻木,无言语不清、意识障碍,无吞咽困难、饮水呛咳,在当地医院就按“腔隙性脑梗死”予以对症治疗,后至今渐觉记忆力减退,并出现情绪低落,不愿与人交流,经常有恍惚感,如开车时总是不能很好注意红绿灯,有时是绿灯反而停车,有时会闯红灯。为进一步治疗入住我院。既往有脑梗死病史,无高血压、糖尿病史。吸烟近30年,平均10支/日,饮酒10年,近2-3年饮酒较前量大,平均4-5次/周,平均半斤/次。查体:意识清楚,言语流利,应答切题。理解力、定向力、记忆力及计算力均未见异常。脑神经(-),四肢肌力肌张力正常,腱反射正常,右侧Hoffman征、Babinski征(+),左侧Hoffman征、Babinski征(-),未见明显深浅感觉障碍。实验室检查:血常规、肝肾功能、离子、血糖、血凝、甲功八项、术前感染四项、肌酶系列、同型半胱氨酸、自身抗体系列均正常。血脂:甘油三酯2.31 mmol/L。患者初中文化,简易精神状态检查量表(Minimum Mental State Examination, MMSE)评分30分,蒙特利尔认知评估(Montreal Cognitive Assessment, MoCA)评分25分,日常生活能力(Activities of Daily Living, ADL)评分14分,汉密尔顿焦虑量表10分,抑郁量表9分。颈动脉B超:右侧锁骨下动脉粥样硬化形成,双侧颈总动脉内膜欠光滑。头颅MRI显示双侧额顶叶、半卵圆中心、侧脑室周围基底节区多发脱髓鞘、脑梗塞,双侧侧脑室前后角旁改变,颞极白质未见明显改变,如图1A、1B、1C;磁敏感成像(SWI)未见出血病灶,如图1D所示。头颅MRA示双侧大脑前动脉水平段信号略浅淡,双侧大脑中动脉分支减少、变细,双侧大脑后动脉远端略变细,如图1E所示。

1.1.2 先证者之姐 女,65岁,10年前出现言语不流利、步态

不稳,记忆力下降,现言语含混,饮水有呛咳,表达能力严重受限,情绪低落、烦躁,强哭强笑,不能独立行走,大小便失禁,生活不能自理。其受教育程度为文盲,测MMSE6分,MoCA3分,ADL49分,头颅MRI(图4A、4B、4C)示半卵圆中心及双侧脑室旁重度脱髓鞘改变并多发脑梗塞,颞极白质异常信号。

1.1.3 先证者之女 女,18岁,于4岁时开始出现发作性意识不清,在我院诊断为:癫痫-失神发作,近5年出现大发作2次,持续约1分钟,现经常头痛,现口服丙戊酸钠片500 mg/次,2次/d,拉莫三嗪片12.5 mg/次,2次/d,维生素B6片10 mg/次,2/日治疗。其受教育程度为高中,MMSE23分,MoCA23分,ADL15分。头颅MRI(图5A、5B)示双侧脑室后角轻度脱髓鞘改变。

1.2 方法

1.2.1 家系调查 如图3所示,患者3代共34人。患者父母非近亲结婚,父亲已故,生前曾有类似症状。患者兄弟姐妹8人,1兄1姐与病故父亲有类似发病症状,余兄弟姐妹未见异常。患病兄长已故。患者育有1子1女。

1.2.2 基因检测 在签署知情同意后,采集先证者、先证者之姐、先证者之女及先证者之兄的共4例血液标本进行全外显子测序。

2 结果

2.1 基因测序结果

全外显子测序(北京智德臻和医学检验所,2018年07月19日)结果显示该家系中3例患者均存在NOTCH3基因第4外显子区域杂合突变:c.520T>G,导致氨基酸改变p.Cys174Gly,如图2A、2B、2C所示。先证者一未患病哥哥亦行基因检测,未见上述突变,如图2D所示。

2.2 治疗结果

患者入院后经询问病史、影像学检查及家系调查,临床诊断为:CADASIL。入院后给予调脂,神经保护及对症支持治疗。患者病情好转后出院。随访2个月病情稳定。

3 讨论

CADASIL作为一种常染色体显性遗传的脑小血管病,基因检测为其诊断的金标准^[4-6]。本CADASIL家系3例患者行基

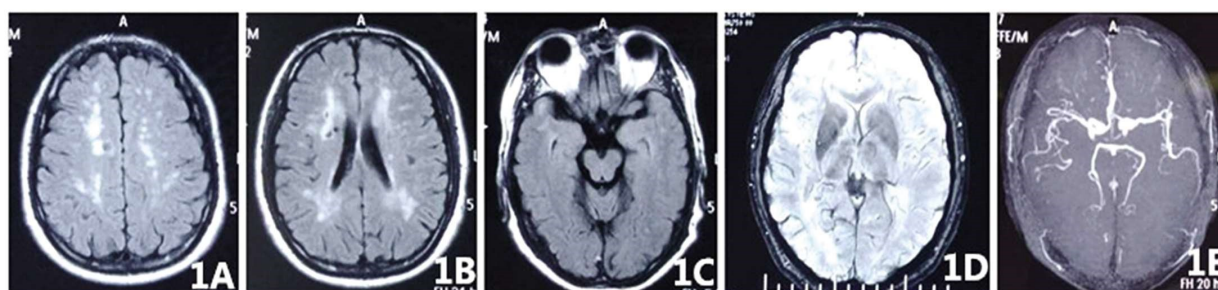


图1 先证者头颅MRI和MRA:FLAIR示半卵圆中心及双侧脑室旁中度脱髓鞘改变,多发腔隙性脑梗塞,SWI未见颅内出血改变(A、B、C、D);双侧大脑前动脉水平段信号略浅淡,双侧大脑中动脉分支减少、变细,双侧大脑后动脉远端略变细(E)

Fig. 1 The head MR and MRA of the probandus: There were moderate demyelinating changes in the center of semi oval and bilateral paraventricular, multiple lacunar infarcts in the FLAIR sequence, and no intracranial hemorrhage in the SWI sequence(A,B,C,D); Bilateral anterior cerebral artery horizontal segment signals were slightly light, bilateral middle cerebral artery branches decreased and became thinner, and bilateral posterior cerebral artery distal became slightly thinner(E)

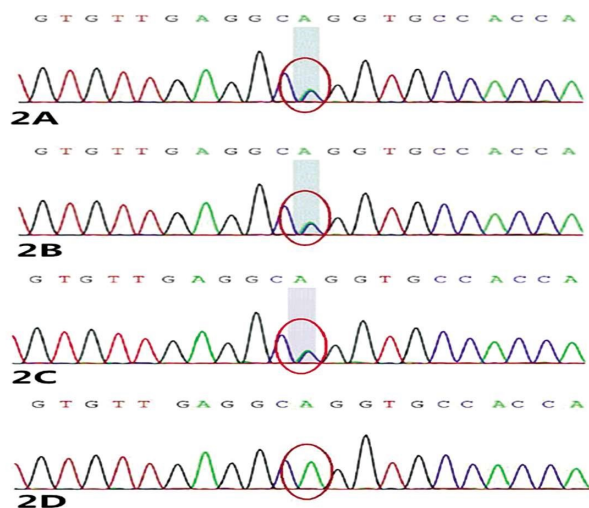


图2 基因测序结果。先证者(A);先证者之姐(B);先证者之女(C);先证者之兄基因测序未见 NOTCH3 基因突变(D)

Fig. 2 Gene sequencing results. The proband(A); Older sister of the proband(B); Daughter of the proband(C); The sequencing of the proband's brother did not reveal mutations in the NOTCH3 gene(D)

因检测均示 NOTCH3 基因第 4 外显子区域杂合突变 c.520T>G,可以明确诊断为 CADASIL。日本学者 Santa 等曾报道该位点相关突变可导致 CADASIL,但在国内尚未见该位点突变相关报道^[7,8]。

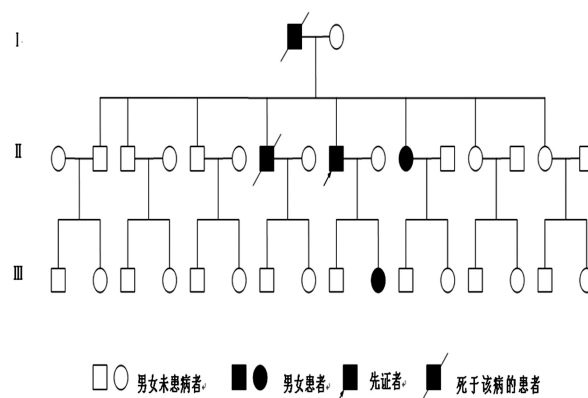


图3 CADASIL 家系图

Fig. 3 The pedigree chart of the CADASIL family

痴呆、精神异常和偏头痛等为主要特点^[4,13]。血管病变,尤其是小动脉、微小动脉病变是 CADASIL 的主要致病机制,作为一种全身系统性小血管病变,CASASIL 病理学特点为血管平滑肌细胞变性和颗粒状致密嗜银物质 (granular dense osmiophilic material, GOM)在血管壁内沉积^[7,10,14]。在基因检测技术推广应用之前,皮肤活检发现 GOM 是 CADASIL 的确诊标准。1996年,Joutel 等^[15]首次确定 NOTCH3 为 CADASIL 的致病基因。该基因共包含 33 个外显子,编码由 2321 个氨基酸组成的兼有受体和信号转导功能的跨膜蛋白 NOTCH3,主要表达于动脉血管

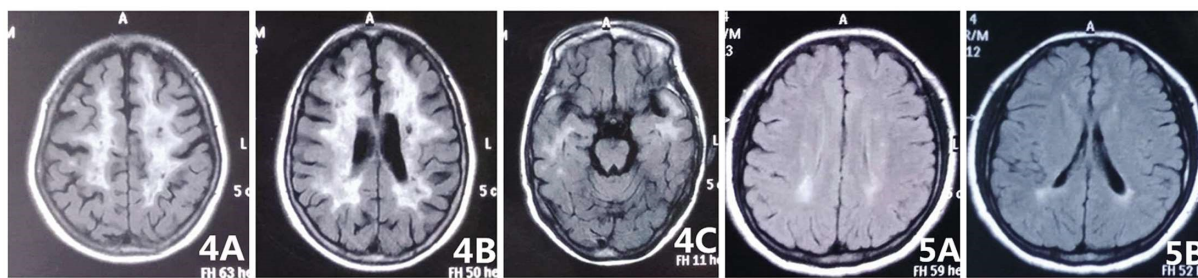


图4 先证者之姐头颅 MRI:FLAIR 示半卵圆中心及双侧脑室旁重度脱髓鞘改变(A、B),颞极白质异常信号(C)

图5 先证者之女头颅 MRI:FLAIR 示双侧脑室后角轻度脱髓鞘改变(A、B)

Fig. 4 The head MR of the sister of the proband: FLAIR sequencing shows severe demyelinating changes in the center of semi oval and bilateral paraventricular(A,B), and white matter hypertensities in the temporal pole(C)

Fig. 5 The head MR of the daughter of the proband: FLAIR sequencing shows mild demyelinating changes in the bilateral posterior ventricular horn(A, B)

该家系患者临床表现多样,先证者表现为头昏、记忆力减退和情绪低落。先证者之姐、之女均有头痛,其中先证者之姐主要表现为认知功能严重受损、假性球麻痹、情感障碍,生活自理能力丧失,已达重度血管性痴呆。先证者之女自 4 岁起被诊断为癫痫-失神发作,至今口服抗癫痫药物治疗,现经常有头痛。鉴于 CADASIL 疾病的发病特点,尚不能断定其女患癫痫与 NOTCH3 突变之间的必然联系,但既往研究表明癫痫可以是 CADASIL 的临床表现之一^[9-11]。该家系 3 例患者年龄跨度大,头颅 MRI 显示脑白质病变呈进行性发展,符合 CADASIL 脑白质病情发展特点^[4,7,12]。

CADASIL 于 1995 年被 Van Bogaert 首次报道,患者通常于成年起病,男女发病率无明显差异,一般无高血压、糖尿病、高脂血症等脑血管病的风险因素,以反复脑缺血发作、皮质下

的平滑肌细胞^[4,16,17]。NOTCH3 蛋白属于 NOTCH3 受体家族,其细胞外区域包含 34 个表皮生长因子样(EGF-like)重复序列,每个 EGF-like 重复序列长度大约为 40 个氨基酸,包含 6 个半胱氨酸残基,通过 3 个二硫键两两结合,在维持蛋白稳定性和蛋白-蛋白相互作用中起着重要作用。在已知的 CADASIL 致病突变中,超过 95%的突变会引起 NOTCH3 蛋白胞外区域 EGF-like 重复序列中的半胱氨酸残基增加或缺失,奇数半胱氨酸残基导致 NOTCH3 蛋白异常多聚化,从而引起 NOTCH3 蛋白胞外区域在血管壁的异常聚积^[18,19]。然而,仍有部分突变并不累及 NOTCH3 的胞外区域,提示 CADASIL 的致病机理可能存在于下游的 Notch 信号传导通路上^[5,20]截至 2018 年 6 月份,人类突变基因数据库中已报道了 300 多种各种形式的 NOTCH3 突变类型。

在我国,谢淑萍等^[21]2000年首次报道了1例CADASIL家系。随着基因检测技术的发展,近几年国内关于CADASIL家系的报道越来越多^[4,10,22]。研究表明,不同种族和地区中,NOTCH3基因突变的位点不尽相同,临床表现也有较大差异^[4,7,22]。我国最常见的突变位于第3和第4外显子,其次位于第11、12、13、14、18外显子^[4,23,24]。基因型和临床表现之间缺乏确切的相关性,甚至在携带相同基因突变的患者中,疾病在起病时间、临床表现、严重程度及进展速度等方面也不尽相同^[5,10]。关于我国CADASIL家系的临床特点,既往研究结果存在一定差异,但卒中和认知障碍是最主要的表现形式^[22,25]。在本研究中,先证者及其姐的头颅MRI均提示既往有卒中发生,虽然先证者的MMSE和MoCA量表提示认知功能未受损,但患者主诉记忆力下降,而其姐的认知功能已明显受损,符合中国CADASIL患者的临床特点。

总之,CADASIL是由基因突变引起的一种脑小血管疾病,多数呈家族性,少数呈散发性^[26]。患者病情呈进行性加重,晚期常因合并肺部感染、尿路感染等并发症死亡。目前对于突变基因致病的确切机制尚待进一步研究。临床上对高度怀疑CADASIL的患者及其家系成员行基因检测有助于早期明确诊断。虽然目前尚无有效的治疗方法,但早期采取合理有效的干预和治疗对患者的生活质量有非常重要的意义。

参 考 文 献(References)

- [1] Roy B, Maksemous N, Smith R A, et al. Two novel mutations and a previously unreported intronic polymorphism in the NOTCH3 gene [J]. *Mutat Res*, 2012, 732(1-2): 3-8
- [2] Ferrante E A, Cudrici C D, Boehm M. CADASIL: new advances in basic science and clinical perspectives[J]. *Curr Opin Hematol*, 2019
- [3] Tikka S, Baumann M, Siitonen M, et al. CADASIL and CARASIL[J]. *Brain Pathol*, 2014, 24(5): 525-544
- [4] 孙启英,李雯雯,周亚芳,等. 两个伴皮层下梗死和白质脑病的常染色体显性遗传性脑动脉病家系 NOTCH3 基因的突变分析[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2017(6): 816-820
- [5] Hung L Y, Ling T K, Lau N, et al. Genetic diagnosis of CADASIL in three Hong Kong Chinese patients: A novel mutation within the intracellular domain of NOTCH3[J]. *J Clin Neurosci*, 2018
- [6] Rosenberg G A, Wallin A, Wardlaw J M, et al. Consensus statement for diagnosis of subcortical small vessel disease [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36(1): 6-25
- [7] 牛媛,王建林. 常染色体显性遗传病伴皮质下梗死和白质脑病的临床研究进展[J]. *国际遗传学杂志*, 2017(3): 177-182
- [8] Santa Y, Uyama E, Chui D H, et al. Genetic, clinical and pathological studies of CADASIL in Japan: a partial contribution of Notch3 mutations and implications of smooth muscle cell degeneration for the pathogenesis[J]. *J Neurol Sci*, 2003, 212(1-2): 79-84
- [9] Oh J H, Kang B S, Choi J C. CADASIL Initially Presented with a Seizure[J]. *J Epilepsy Res*, 2016, 6(2): 104-106
- [10] 陈璇. CADASIL 的临床特点和 NOTCH3 基因突变研究 [D]. 中南大学, 2009
- [11] Oh J H, Kang B S, Choi J C. CADASIL Initially Presented with a Seizure[J]. *J Epilepsy Res*, 2016, 6(2): 104-106
- [12] Schoemaker D, Quiroz Y T, Torrico-Teave H, et al. Clinical and research applications of magnetic resonance imaging in the study of CADASIL[J]. *Neurosci Lett*, 2019, 698: 173-179
- [13] Machowska-Sempruch K, Bajer-Czajkowska A, Makarewicz K, et al. A Novel NOTCH3 Gene Mutation in a Polish CADASIL Family[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(3): 574-576
- [14] Nishida Y, Ueda A, Ando Y, et al. Skin biopsy-based diagnosis of CADASIL with atypical MRI findings [J]. *Intern Med*, 2015, 54(5): 537-538
- [15] Joutel A, Vahedi K, Corpechot C, et al. Strong clustering and stereotyped nature of Notch3 mutations in CADASIL patients [J]. *Lancet*, 1997, 350(9090): 1511-1515
- [16] Chen S, Ni W, Yin X Z, et al. Clinical features and mutation spectrum in Chinese patients with CADASIL: A multicenter retrospective study[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2017, 23(9): 707-716
- [17] Kandachar V, Roegiers F. Endocytosis and control of Notch signaling [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2012, 24(4): 534-540
- [18] Wang T, Baron M, Trump D. An overview of Notch3 function in vascular smooth muscle cells [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2008, 96(1-3): 499-509
- [19] Wang M M. CADASIL[J]. *Handb Clin Neurol*, 2018, 148: 733-743
- [20] Cramer J, White M L. Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy (CADASIL)[J]. *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jun 9
- [21] 谢淑萍,张津,卢德宏. 伴有皮层下梗死和白质脑病的常染色体显性遗传性脑动脉病 附一个家系临床、病理、影像及分子遗传学研究[J]. *中华神经科杂志*, 2000(5): 272
- [22] 任志霞,时英英,陈祖芝,等. 来自 19 个家系 37 例伴有皮质下梗死和白质脑病的常染色体显性遗传性脑动脉病的临床影像及 NOTCH3 基因突变特征分析 [J]. *中华神经科杂志*, 2017(8): 613-618
- [23] Yin X, Wu D, Wan J, et al. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: Phenotypic and mutational spectrum in patients from mainland China [J]. *Int J Neurosci*, 2015, 125(8): 585-592
- [24] Liu X, Zuo Y, Sun W, et al. The genetic spectrum and the evaluation of CADASIL screening scale in Chinese patients with NOTCH3 mutations[J]. *J Neurol Sci*, 2015, 354(1-2): 63-69
- [25] Wang Z, Yuan Y, Zhang W, et al. NOTCH3 mutations and clinical features in 33 mainland Chinese families with CADASIL[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2011, 82(5): 534-539
- [26] Pradotto L, Azan G, Doriguzzi C, et al. Sporadic vascular dementia as clinical presentation of a new missense mutation within exon 7 of NOTCH3 gene[J]. *J Neurol Sci*, 2008, 271(1-2): 207-210