

脊髓性肌萎缩症 *SMN1* 基因 2+0 基因型携带者的家系研究

曹延延, 程苗苗, 宋昉, 瞿宇晋, 白晋丽, 金煜炜, 王红

首都儿科研究所遗传室, 北京 100020

摘要: 脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)是一种儿童时期较为常见的神经肌肉病,属于常染色体隐性遗传。绝大多数 SMA 由运动神经元存活基因 1 (survival motor neuron 1, *SMN1*)的纯合缺失突变所致。而 *SMN1* 的 2+0 基因型个体作为一种特殊的 SMA 携带者,给携带者筛查以及家系的遗传咨询带来了巨大的挑战。已有研究表明, g.27134T>G 和 g.27706_27707delAT 多态位点变异对于 Ashkenazi 犹太人群中的 2+0 基因型个体具有提示作用。为进一步探究这两个多态位点是否在中国人群也具有特异性,本研究纳入了 44 例家系成员和 204 例已知 *SMN1* 基因拷贝数的对照样本。44 例家系成员来自于 9 个无关的 *SMN1* 基因纯合缺失的 SMA 家系,先证者双亲之一疑似为 2+0 基因型携带者。利用多重连接探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)和短串联重复(short tandem repeat, STR)连锁分析进行基因型的鉴定以及多态位点的筛查,最终通过对家系三代成员或多子女家系两代成员的分析确定了 9 个家系中的 10 例个体为 2+0 基因型携带者,多态位点筛查显示 1 例携带 3 拷贝 *SMN1* 基因的个体同时存在 g.27134T>G 和 g.27706_27707delAT 多态位点的变异。因此,本研究通过对 2+0 基因型携带者的鉴定,为家系遗传病的诊断提供了精准的遗传咨询。g.27134T>G 和 g.27706_27707delAT 多态位点可能与中国人 2+0 基因型个体的关联度较低,尚需寻找中国人特异的位点以提高 2+0 基因型携带者的检出率。

关键词: 脊髓性肌萎缩; *SMN1* 基因; 2+0 基因型; STR 连锁分析; 多态位点

Familial study of spinal muscular atrophy carriers with *SMN1* (2+0) genotype

Yanyan Cao, Miaomiao Cheng, Fang Song, Yujin Qu, Jinli Bai, Yuwei Jin, Hong Wang

Department of Medical Genetics, Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China

Abstract: Spinal muscular atrophy (SMA) is a common childhood neuromuscular disease inherited in an autosomal

收稿日期: 2020-10-17; 修回日期: 2020-12-11

基金项目: 国家重点研发计划项目(编号: 2016YFC0901505), 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(编号: 2016-I2M-1-008), 中国博士后科学基金项目(编号: 2018M630108), 国家自然科学基金项目(编号: 81500979)和北京市自然科学基金项目(编号: 5163028)资助[Supported by the National Key Research and Development Program of China (No.2016YFC0901505), and CAMS Initiative for Innovative Medicine (No. 2016-I2M- 1-008), the China Postdoctoral Science Foundation (No.2018M630108), National Natural Science Foundation of China (No. 81500979), and Beijing Natural Science Foundation (No. 5163028)]

作者简介: 曹延延, 博士, 副研究员, 研究方向: 儿童罕见病的遗传基础。E-mail: caoyanyan@bjmu.edu.cn

通讯作者: 宋昉, 硕士, 研究员, 研究方向: 儿童罕见病机制研究。E-mail: songf_558@263.net

DOI: 10.16288/j.ycz.20-319

网络出版时间: 2020/12/28 16:51:11

URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20201225.1802.004.html>

recessive pattern. The majority of SMA patients have a homozygous deletion of survival motor neuron 1 (*SMN1*) gene. As a special SMA carrier, the (2+0) genotype of *SMN1* poses a great challenge for carrier screening and family genetic counseling. A previous study showed that polymorphisms of g.27134 T>G and g.27706_27707delAT had a predictive effect on (2+0) carriers in the Ashkenazi Jewish population. To further explore whether these two polymorphisms are specific to the Chinese population, the present study recruited 44 family members and 204 controls with known *SMN1* copy number. These 44 family members were from nine unrelated SMA families with *SMN1* homozygous deletion, and one of the proband parents was suspected to be a (2+0) carrier. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) and short tandem repeat (STR) linkage analyses were used to determine the (2+0) genotype and polymorphism screening. Finally, by analyzing the *SMN* copies and haplotype from three generations of family members and two generations of multi-child families, ten individuals in nine families were confirmed as (2+0) carriers. Moreover, only one individual with three copies of *SMN1* carried the two polymorphisms of g.27134 T>G and g.27706_27707delAT. Therefore, we provided precise genetic counseling for these SMA families after confirming the (2+0) carriers. The association between the polymorphisms of g.27134T>G and g.27706_27707delAT and Chinese (2+0) carriers might be weak. Hence, it is necessary to find specific polymorphisms in the Chinese population to improve the detection rate of (2+0) carriers.

Keywords: spinal muscular atrophy; *SMN1*; (2+0) genotype; STR linkage analysis; polymorphism

脊髓性肌萎缩症(spinal muscular atrophy, SMA)是儿童时期较为常见的神经肌肉病,呈常染色体隐性遗传。运动神经元存活基因 1 (survival motor neuron 1, *SMN1*)是 SMA 的致病基因,绝大部分的 SMA 患儿是由于 *SMN1* 基因的纯合缺失突变所致。*SMN2* 基因与 *SMN1* 基因高度同源,是 SMA 的表型修饰基因。此外, *SMN1* 基因和 *SMN2* 基因均定位于 5q13.2, *SMN1* 基因靠近端粒,而 *SMN2* 基因靠近着丝粒,二者成镜像排列。这些特征使得 *SMN1* 基因易于发生缺失、重复以及与 *SMN2* 之间的基因转换,造成人群中 *SMN1* 基因拷贝数变异较大^[1]。

正常情况下,每条染色体携带 1 拷贝 *SMN1* 基因和 1 拷贝 *SMN2* 基因,即每个个体的 *SMN1* 基因和 *SMN2* 基因的拷贝数均为 2。对于 *SMN1* 基因纯合缺失的先证者(拷贝数为 0),其双亲 *SMN1* 基因的拷贝数通常为 1,也就是一条染色体上的 *SMN1* 基因丢失,即经典的 SMA 携带者。但是 SMA 还有一种特殊类型的携带者,这类携带者的 *SMN1* 基因拷贝数虽然为 2,但是却位于同一条染色体(in cis),而另一条染色体上的 *SMN1* 基因丢失,即 2+0 型携带者。有效识别 2+0 型携带者对于提高 SMA 携带者检出率以及为家庭提供精准的遗传咨询至关重要。

已有研究显示在 Ashkenazi 犹太人群^[2],大部分携带有 *SMN1* 重复等位基因的个体(*SMN1* 拷贝数大

于等于 3)可存在一种由 g.27134T>G 和 g.27706_27707delAT 多态位点构成的 *SMN1* 单倍型。由此推测在特定人群中,这两个多态变异的存在对于 2+0 基因型携带者具有提示作用。

本研究纳入 9 个无关的中国 SMA 家系,先证者双亲之一疑似 2+0 型携带者。通过 *SMN* 基因(*SMN1* 和 *SMN2* 基因)剂量分析结合短串联重复(short tandem repeat, STR)连锁分析明确疑似 2+0 携带者的基因型,并初步探讨 g.27134T>G 和 g.27706-27707delAT 多态位点是否适于中国人群 2+0 基因型的预测。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究纳入了 9 个 *SMN1* 基因纯合缺失的 SMA 家系,共 44 例家系成员。其中, SMA 先证者 9 例,先证者同胞 2 例,先证者双亲 18 例,先证者祖父母/外祖父母 15 例。所有先证者均为在首都儿科研究所遗传室加入“中国罕见病注册登记研究—SMA 注册登记”项目(编号: 2016YFC0901505)的患者,且所有参与家庭均签署知情同意书。本研究经首都儿科研究所伦理委员会批准(批准号: SHERLL2017007)。此外,另加入 204 例已知 *SMN1* 基因拷贝数的本研

究室贮存 DNA 对照样本用于多态位点的筛查。

1.2 拷贝数分析

先证者及家系成员留取 EDTA 抗凝血 3 mL, 采用 EasyPure®Blood Genomic DNA Kit (北京全式金生物技术有限公司)提取基因组 DNA。应用多重连接探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)技术(MRC, 荷兰)进行基因拷贝数和多态位点的分析。其中, P060-B2 SMA Kit 用于测定 *SMN1* 基因和 *SMN2* 基因的拷贝数, P460-A1 SMA Kit 用于多态位点 g.27134T>G 和 g.27706-27707delAT 的检测。

1.3 STR 连锁分析

选取 12 个 STR 位点应用毛细管电泳的方法进行连锁分析,其中 6 个位点(UHM2、UHM3、UHM4、UHM5、UHM7 和 UHM8)位于 *SMN2* 基因上游 2 Mb 范围内,其余 6 个位点(DHM1、DHM2、DHM4、DHM6、DHM7 和 DHM8)位于 *SMN1* 基因下游 2Mb 范围内。家系的 STR 连锁分析实验及数据处理由上海五色石医学研究股份有限公司完成。

2 结果与分析

2.1 *SMN1* 基因拷贝数分布

9 例 SMA 先证者的 *SMN1* 基因拷贝数均为 0, 即为 *SMN1* 基因纯合缺失。先证者的双亲之一均携带 2 拷贝 *SMN1* 基因(3 例父亲; 6 例母亲), 其配偶 *SMN1* 基因的拷贝数均为 1, 即为 *SMN1* 基因杂合缺失。先证者的 15 例祖父母或外祖父母中, 8 例个体携带 3 拷贝 *SMN1* 基因, 除 1 例仅有单方样本外,

其余 7 例的配偶均为 *SMN1* 基因杂合缺失。最后, 在 2 例 SMA 先证者的同胞中 *SMN1* 基因拷贝数分别为 2 和 3 (表 1)。

2.2 *SMN1* 基因型的分布

通常情况下, 正常个体每条染色体携带 1 拷贝 *SMN1* 基因, 即 1+1 基因型。0+0 基因型表示两条染色体上的 *SMN1* 基因均丢失, 即纯合缺失突变, 为 SMA 患者。1+0 基因型表示一条染色体上 *SMN1* 基因拷贝数为 1, 另一条染色体上的 *SMN1* 基因丢失, 即经典的 SMA 携带者; 2+0 基因型表示 2 拷贝的 *SMN1* 基因位于同一条染色体, 另一条染色体上 *SMN1* 基因丢失, 即为特殊类型的 SMA 携带者。2+1 基因型表示一条染色体携带 2 拷贝的 *SMN1* 基因, 而另一条染色体上携带 1 拷贝的 *SMN1* 基因, *SMN1* 基因的总拷贝数为 3。2+0 基因型和 2+1 基因型个体为 *SMN1* 重复等位基因的携带者, 二者表型正常。

进一步分析 *SMN1* 基因的基因型分布(表 1), 9 例先证者均为 0+0 基因型, 即 *SMN1* 基因纯合缺失。先证者的双亲中, 50%(9/18)为经典型 SMA 携带者(1+0 基因型), 同时另一方(50%, 9/18)均为疑似 2+0 型的携带者。同样, 在 3 对祖父母和 4 对外祖父母中, 一方(50%, 7/14)为经典 1+0 携带者, 另一方(50%, 7/14)为 2+1 基因型。另有 1 例外祖父(仅有单方样本)为 2+1 基因型。2 例先证者同胞中, *SMN1* 基因型分别为 2+0 和 2+1。

2.3 *SMN1* 基因拷贝数的家系分布

9 个家系均进行了包括先证者、同胞、父母、祖父母或外祖父母在内的 *SMN1* 和 *SMN2* 基因拷贝数检测以及 STR 连锁分析, 以明确先证者携带 2 拷贝 *SMN1* 基因双亲的基因型(表 2)。

表 1 *SMN1* 拷贝数和基因型的分布

Table 1 the distribution of copies and genotypes in *SMN1*

<i>SMN1</i> 拷贝数	<i>SMN1</i> 基因型	先证者(%)	先证者父亲(%)	先证者母亲(%)	先证者祖父/母(%)	先证者外祖父/母(%)	先证者同胞(%)
0	0+0	9 (100)	0	0	0	0	0
1	1+0	0	6 (66.7)	3 (33.3)	3 (50)	4 (44.4)	0
2	2+0	0	3(33.3)	6 (66.7)	0	0	1 (50)
3	2+1	0	0	0	3 (50)	5 (55.6) ^a	1 (50)
合计	—	9	9	9	6	9	2

a: 仅单方样本, 其配偶离世。

表 2 *SMN1* 基因拷贝数在家系中的分布

Table 2 The distribution of *SMN1*copies in SMA families

家系	I (祖父/祖母或 外祖父/外祖母)	II (父亲/母亲)	III (先证者/同胞)
#1	1/3	2/1	0
#2	3/1	1/2	0
#3	1/3	1/2	0
#4	3/1	2/1	0
#5	1/3	1/2	0
#6	1/3	1/2	0
#7	1/3	2/1	0
#8	3/NA	1/2	0/2
#9	NA	1/2	0/3
合计	8	9	9

NA: 无法获得样本; I, II 和 III: 代系。

以#7 号家系为例,先证者 *SMN1* 基因纯合缺失, 母亲为 *SMN1* 基因的杂合缺失, 父亲 *SMN1* 基因的拷贝数为 2 (图 1)。因此, 先证者父亲疑似为 2+0 基因型。此外, 先证者的祖父和祖母 *SMN1* 基因的拷贝数分别为 1 和 3。结合 STR 连锁分析显示, 父亲携带黑色 0 拷贝的 *SMN1* 基因遗传自祖父, 携带绿色 2 拷贝的 *SMN1* 基因遗传自祖母。随后父亲将黑色 0 拷贝的 *SMN1* 基因传递给先证者, 同时母亲也将橙色 0 拷贝的 *SMN1* 基因传递给先证者, 导致先证者发生 SMA。因此, 该家系通过三代 *SMN1* 基因拷贝数结合 STR 连锁分析, 基本确定了先证者父亲 *SMN1* 基因为 2+0 型。同时也基本排除了先证者 *SMN1* 基因的新生变异。

此外, 值得注意的是#8 和#9 家系。#8 家系中先证者的外祖母由于过世没有获得样本, 该家系有两个孩子。如图 2 所示, 先证者母亲为 2+0 基因型, 其蓝色的 2 拷贝 *SMN1* 基因遗传自先证者的外祖父, 推测橙色的 0 拷贝 *SMN1* 基因可能遗传自先证者的外祖母。随后母亲将橙色的 0 拷贝 *SMN1* 基因传递给先证者, 加之另一个遗传自先证者父亲的黑色 0 拷贝 *SMN1* 基因, 先证者发病。但是, 先证者母亲将蓝色的 2 拷贝 *SMN1* 基因传递给了先证者的姐姐, 而姐姐也同时继承了父亲黑色 0 拷贝 *SMN1* 基因。因此, 姐姐的 *SMN1* 基因拷贝数虽然为 2, 但是她实际与母亲一样, 为 2+0 携带者。

#9 家系, 该家系中先证者的外祖父母均已过世, 家中有两个孩子。如图 3 所示, 先证者为 *SMN1* 基因纯合缺失, 父亲为 *SMN1* 基因杂合缺失, 母亲的 *SMN1* 基因拷贝数为 2。因为无法得到先证者外祖父和外祖母的样本, 因而不能通过三代连锁分析确定母亲的基因型。母亲 *SMN1* 基因为 2 拷贝主要有两种可能: 2+0 基因型携带者或母亲为正常的 1+1 基因型。鉴于先证者哥哥 *SMN1* 基因的拷贝数为 3, STR 连锁分析显示, 哥哥的绿色 1 拷贝 *SMN1* 基因遗传自父亲, 另 2 拷贝的 *SMN1* 基因只能来自母亲, 故而推测出另 2 拷贝的 *SMN1* 基因位于同一条染色体。因此, 通过家系中的多子女连锁分析也可确定先证者母亲为 2+0 基因型。

2.4 多态位点分析

为明确多态位点 g.27134T>G 和 g.27706_27707delAT 是否可用于中国人群 2+0 基因型的预测, 本研究筛查了 44 例家系成员以及 204 例携带不同 *SMN1* 基因拷贝数的对照样本。

本研究中的 44 例家系成员, *SMN1* 基因型为 0+0 的有 9 例, 1+0 基因型 16 例, 经实验确定的 2+0 基因型 10 例, 还有 2+1 基因型 9 例。这些样本中均未发现 g.27134T>G 和 g.27706_27707delAT 多态位点变异。考虑到这些家系成员间存在亲缘关系, 我们在 204 例无亲缘关系且已知 *SMN1* 基因拷贝数的对照样本中对这两个多态位点进行了筛查。对照样本中, 187 例携带 2 拷贝 *SMN1* 基因, 其中包括 18 例疑似 2+0 基因型个体。这 18 例个体的子代均为 *SMN1* 基因纯合缺失的 SMA 患儿, 配偶均为 *SMN1* 基因杂合缺失的 SMA 携带者。此外, 对照样本中还包括 16 例携带 3 拷贝 *SMN1* 基因个体和 1 例携带 4 拷贝 *SMN1* 基因的个体。结果显示, 有 1 例 *SMN1* 基因拷贝数为 3 的个体同时存在 g.27134T>G 和 g.27706_27707delAT 多态位点变异, 而其余样本未发现携带有这两个位点的多态性改变。(表 3)。

3 讨论

对于纯合缺失突变的 SMA 家系来说, 当双亲一方为经典 1+0 携带者, 而另一方 *SMN1* 基因拷贝数

为 2 时,明确双亲的基因型对于家庭 SMA 再发风险的评估至关重要。若携带 2 拷贝 *SMN1* 基因的双亲一方为 2+0 基因型,那么他们再次生育,子代 SMA 的再发风险为 25%;若为正常的 1+1 基因型,那么

先证者可能发生了新生变异抑或是双亲之一为生殖腺嵌合体,因而该家系 SMA 的再发风险很低。本研究通过对家系三代成员,或多子女家系的两代成员进行 *SMN* 基因拷贝数检测,并结合 *SMN* 基因上下

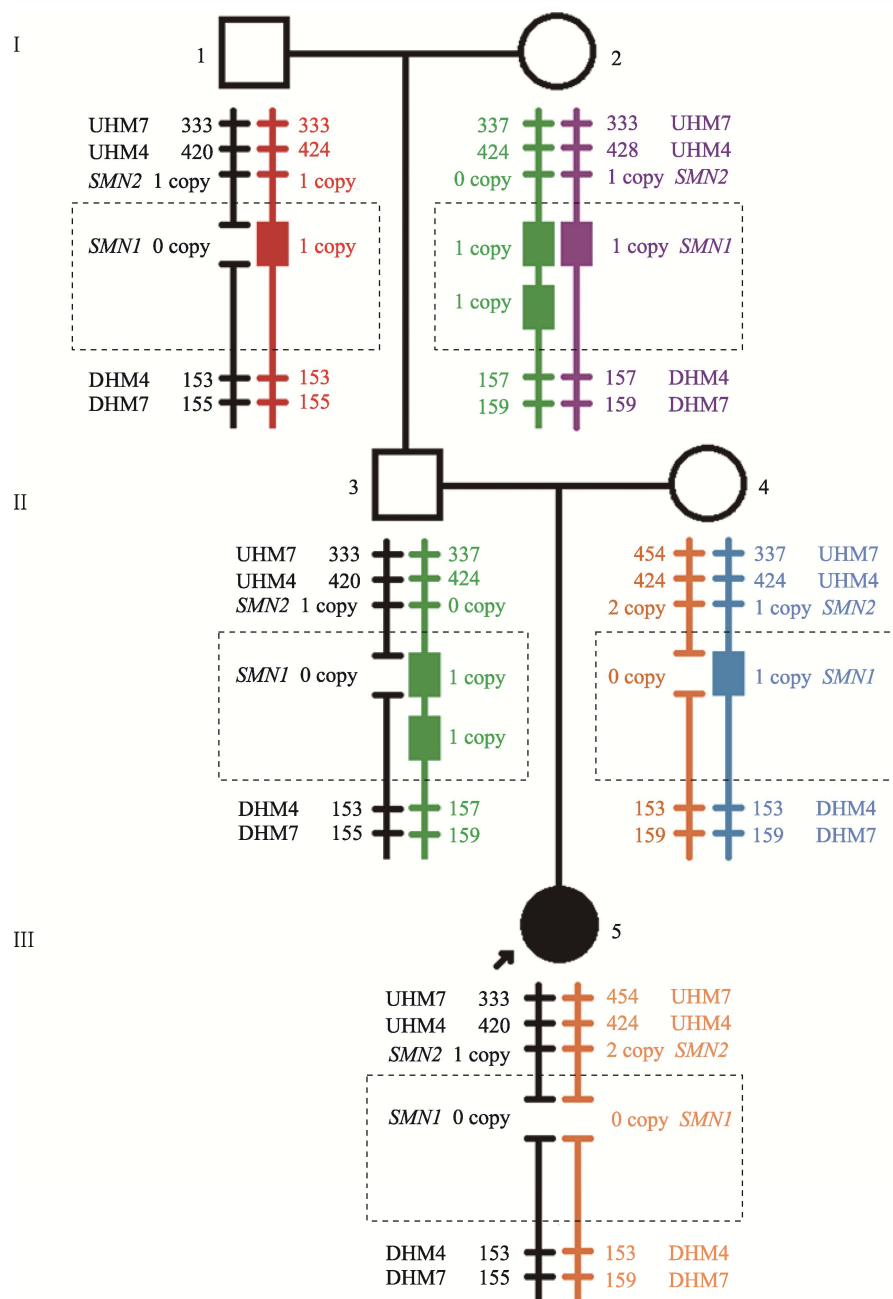


图 1 #7 家系 *SMN* 基因拷贝数与 STR 连锁分析模式图

Fig. 1 Pattern graph for *SMN* copies and STR linkage analysis in #7 family

I: 祖父/祖母; II: 父亲/母亲; III: 先证者; 正方形: 男性; 圆形: 女性; 黑色圆形: 女性先证者; 不同颜色的竖线: 不同来源的染色体; 短横线及数字: STR 位点及其片段长度; 实心长方形: 1 拷贝的 *SMN1* 基因; 两短横线间空白: 0 拷贝的 *SMN1* 基因; 虚线框: *SMN1* 基因的总拷贝数; UHM7: 上游单倍型标记 7; UHM4: 上游单倍型标记 4; DHM4: 下游单倍型标记 4; DHM7: 下游单倍型标记 7。

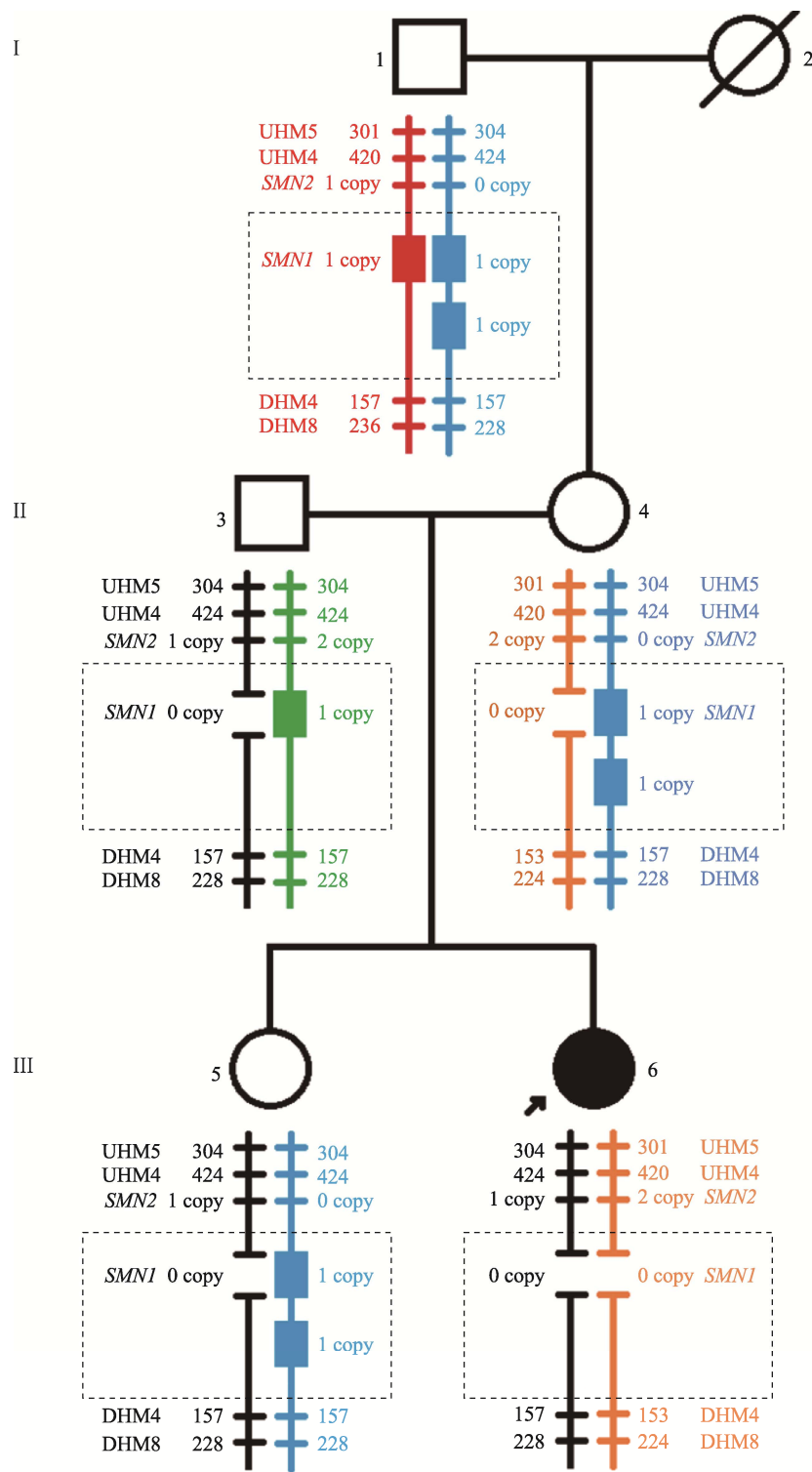


图 2 #8 家系 *SMN* 基因拷贝数与 STR 连锁分析模式图

Fig. 2 Pattern graph for *SMN* copies and STR linkage analysis in #8 family

I: 外祖父/外祖母(外祖母已去世); II: 父亲/母亲; III: 先证者/同胞; 正方形: 男性; 圆形: 女性; 黑色圆形: 女性先证者; 不同颜色的竖线: 不同来源的染色体; 短横线及数字: STR 位点及其片段长度; 实心长方形: 1 拷贝的 *SMN1* 基因; 两短横线间空白: 0 拷贝的 *SMN1* 基因; 虚线框: *SMN1* 基因的总拷贝数; UHM5: 上游单倍型标记 5; UHM4: 上游单倍型标记 4; DHM4: 下游单倍型标记 4; DHM8: 下游单倍型标记 8。

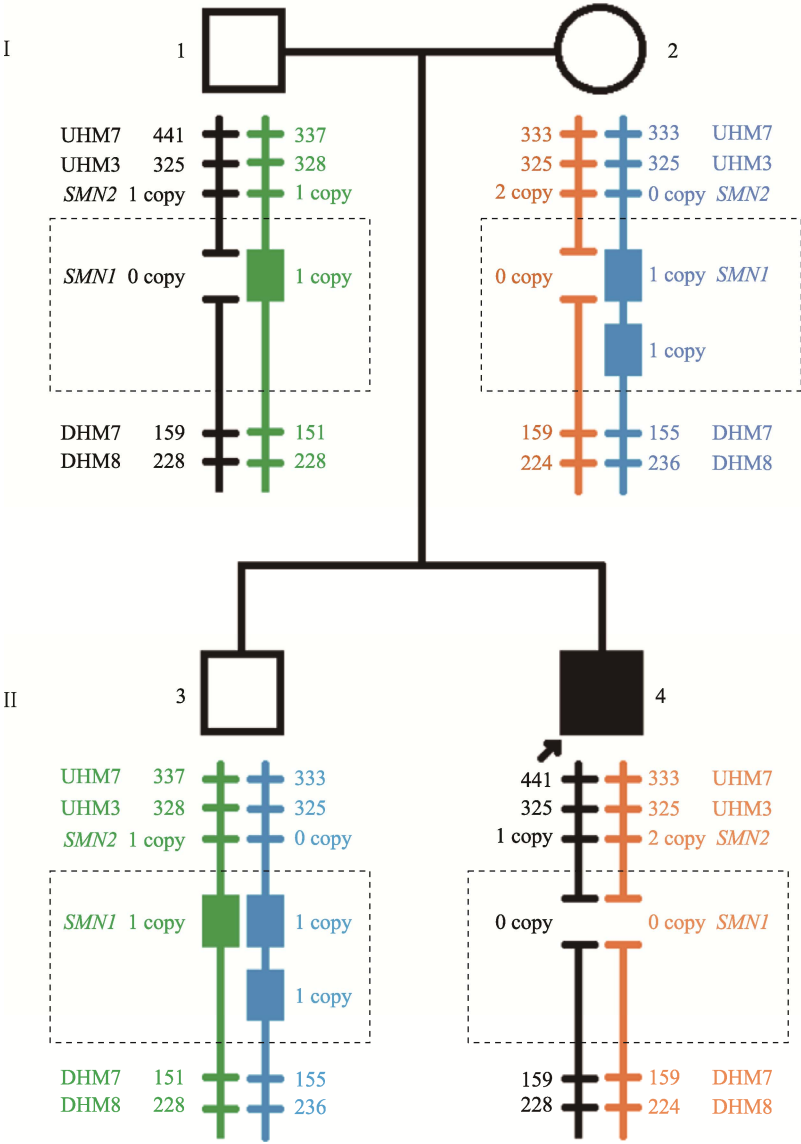


图 3 #9 家系 SMN 基因拷贝数与 STR 连锁分析模式图

Fig. 3 Pattern graph for SMN copies and STR linkage analysis in #9 family

I: 父亲/母亲; II: 先证者/同胞; 正方形: 男性; 黑色正方形: 男性先证者; 圆形: 女性; 不同颜色的竖线: 不同来源的染色体; 短横线及数字: STR 位点及其片段长度; 实心长方形: 1 拷贝的 SMN1 基因; 两短横线间空白: 0 拷贝的 SMN1 基因; 虚线框: SMN1 基因的总拷贝数; UHM7: 上游单倍型标记 7; UHM3: 上游单倍型标记 3; DHM7: 下游单倍型标记 7; DHM8: 下游单倍型标记 8。

表 3 多态位点的分布

Table 3 The distribution of polymorphism

多态位点	SMA 家系成员 (SMN1 基因型)				对照组 (SMN1 拷贝数)		
	0+0	1+0	2+0	2+1	2 拷贝 ^a	3 拷贝	4 拷贝
g.27134T>G	0	0	0	0	0	1 (6.3%)	0
g.27706_27707delAT	0	0	0	0	0	1 (6.3%)	0
筛查例数	9	16	10	9	187	16	1

a: 包含 18 例疑似 2+0 基因型个体, 即先证者为 SMN1 基因纯合缺失, 双亲之一为杂合缺失, 另一方 SMN1 基因拷贝数为 2 (为疑似 2+0 基因型)。

游 STR 位点的家系连锁分析最终确定了来自 9 个家系的 10 例个体为 *SMN1* 基因的 2+0 携带者。同时,也明确了这 9 个家系中的先证者非 *SMN1* 基因的新生变异所致,为该家系提供精准的遗传咨询奠定了基础。

作为特殊类型的携带者,2+0 基因型在一般人群中的携带率约为 5%~8%^[3],在肯定携带者中约占 4%^[4]。以 MLPA、Real-time PCR 为代表的基因定量检测技术虽然可以明确 *SMN1* 和 *SMN2* 基因的拷贝数,但是无法区分 2+0 基因型和正常的 1+1 基因型,需要辅以其他检测技术综合分析。Chen 等^[5]早在 1999 年就利用 *SMN1* 基因荧光定量结合单倍型分析的方法证实了 2+0 基因型的存在。2000 年,Yan 等^[6]通过将人类细胞与小鼠细胞融合后进行选择性培养,可以分离出单个人类染色体。2001 年 Mailman 等^[7]利用上述技术成功检测出了 2+0 基因型,但是这项技术耗时且费力。近来也有报道利用单精子测序的方法辅助明确男性个体 2+0 基因型,但不适于女性个体^[8]。因此,就目前而言,基因定量技术已经成熟,对于疑似 2+0 基因型个体,可以优先检测其双亲 *SMN1* 基因的拷贝数。当双亲一方为 1+0 携带者,另一方 *SMN1* 基因的拷贝数大于等于 3 则高度提示疑似个体为 2+0 基因型。

因为 *SMN1* 基因和 *SMN2* 基因的拷贝数变异很大程度上源自亲代遗传,并可以稳定地传递下去^[9],所以 2+0 基因型携带者在人群中也会稳定存在(8 家系先证者姐姐)。而常规的检测方法不能直接确定 2+0 基因型,那么发现与 *SMN1* 重复等位基因连锁的单倍型可以有效提示 2+0 基因型的存在。Luo 等^[2]报道了在 Ashkenazi 犹太人,由多态位点 g.27134T>G 和 g.27706-27707delAT 构成的单倍型仅存在于携带 *SMN1* 重复等位基因的个体中(*SMN1* 拷贝数大于等于 3),而不存在于对照个体(*SMN1* 拷贝数为 2)。提示这两个多态位点可能与 *SMN1* 重复等位基因呈现连锁不平衡。那么在一个 *SMN1* 基因拷贝数为 2 的个体中检测到这两个多态变异时,则高度提示这 2 个拷贝的 *SMN1* 基因位于同一条染色体,该个体为 2+0 携带者的风险增加。这一发现使得 Ashkenazi 犹太人群中 SMA 携带者检出率由 90% 提升至 94%。但也并不是所有的 2+0 基因型个体都可以检测到这

两个多态变异的存在。因此在特定人群中,当携带 2 拷贝 *SMN1* 基因的个体不存在 g.27134T>G 或 g.27706-27707delAT 多态变异中的任何一个,尚不能排除 2+0 携带者的可能,但是可以降低该个体为携带者的风险。

最近研究显示,非洲人群中携带 3 拷贝和 4 拷贝 *SMN1* 基因的个体所占比例分别为 41.4%(373/902) 和 13.4% (121/902),显著高于东亚人群的 5.6%(33/593)和 0% (0/593)^[10]。而在 *SMN1* 拷贝数同样为 3 或 4 的个体中,非洲人群 g.27134T>G 的检出率为 86.4% (427/494),显著高于东亚人群的 3.0% (1/33)。以上结果提示,*SMN1* 基因拷贝数的分布以及 g.27134T>G 多态位点变异具有种族特异性。中国人群中携带 3 拷贝和 4 拷贝 *SMN1* 基因的个体所占比例分别为 7.0% (1434/20403)和 0.3% (60/20403)^[11],尚无多态位点 g.27134T>G 和 g.27706-27707delAT 的相关数据。

本研究筛查了 44 例家系成员和 204 例携带不同 *SMN1* 基因拷贝数的对照样本,仅在对照组中发现 1 例 *SMN1* 基因拷贝数为 3 的个体同时携带 g.27134T>G 和 g.27706-27707delAT 多态变异。因此,g.27134T>G 和 g.27706-27707delAT 在携带 3 拷贝 *SMN1* 基因个体中的检出率均为 6.3% (1/16),g.27134T>G 的检出率显著低于非洲人群(84.5%)^[10]和西班牙人群(11.8%)^[12],略高于东亚人群(3.0%)^[10],g.27706-27707delAT 的检出率显著低于西班牙人群(11.8%)^[12]。而本研究在 10 例确定 2+0 基因型和 18 例疑似 2+0 基因型个体中均未发现这两个多态变异。以上结果提示多态位点 g.27134T>G 和 g.27706-27707delAT 在中国人群中的比例可能相对较低,对于 2+0 基因型的提示作用尚需进一步扩大样本进行验证。同时,也需要寻找中国人群特异性的单倍型或多态位点,以提升 2+0 携带者的检出率。但是,鉴于我国为多民族国家,是否存在普适的单倍型或多态位点还有待考究。

综上所述,本研究通过多代系 *SMN1* 基因定量结合 STR 连锁分析确定了纯合缺失 SMA 家系中 10 例 2+0 基因型个体,为家系遗传病的诊断提供了更为精准的遗传咨询。对于疑似 2+0 基因型个体,首先推荐检测其双亲 *SMN1* 基因的拷贝数。此外,本

研究结果也表明 g.27134T>G 和 g.27706_27707delAT 多态位点可能与中国人群 2+0 基因型个体的关联度较低, 尚需进一步探寻中国人群特异性的分子标记以提高 2+0 基因型携带者的检出率。

参考文献(References):

- [1] Zhu SY, Xiong F, Chen YJ, Yan TZ, Zeng J, Li L, Zhang YN, Chen WQ, Bao XH, Zhang C, Xu XM. Molecular characterization of SMN copy number derived from carrier screening and from core families with SMA in a Chinese population. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18: 978–984.
- [2] Luo MJ, Liu L, Peter I, Zhu J, Scott SA, Zhao GP, Eversley C, Kornreich R, Desnick RJ, Edelman L. An Ashkenazi Jewish SMN1 haplotype specific to duplication alleles improves pan-ethnic carrier screening for spinal muscular atrophy. *Genet Med*, 2014, 16(2): 149–156.
- [3] Verhaart IEC, Robertson A, Wilson IJ, Aartsma-Rus A, Cameron S, Jones CC, Cook SF, Lochmüller H. Prevalence, incidence and carrier frequency of 5q-linked spinal muscular atrophy - a literature review. *Orphanet J Rare Dis*, 2017, 12(1): 124.
- [4] McAndrew PE, Parsons DW, Simard LR, Rochette C, Ray PN, Mendell JR, Prior TW, Burghes AH. Identification of proximal spinal muscular atrophy carriers and patients by analysis of SMN1 and SMN2 gene copy number. *Am J Hum Genet*, 1997, 60(6): 1411–1422.
- [5] Chen KL, Wang YL, Rennett H, Joshi I, Mills JK, Leonard DG, Wilson RB. Duplications and de novo deletions of the SMN1 gene demonstrated by fluorescence-based carrier testing for spinal muscular atrophy. *Am J Med Genet*, 1999, 85(5): 463–469.
- [6] Yan H, Papadopoulos N, Marra G, Perrera C, Jiricny J, Boland CR, Lynch HT, Chadwick RB, de la Chapelle A, Berg K, Eshleman JR, Yuan W, Markowitz S, Laken SJ, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Conversion of diploidy to haploidy. *Nature*, 2000, 403(6771): 723–724.
- [7] Mailman MD, Hemingway T, Darsey RL, Glasure CE, Huang Y, Chadwick RB, Heinz JW, Papp AC, Snyder PJ, Sedra MS, Schafer RW, Abuelo DN, Reich EW, Theil KS, Burghes AH, de la Chapelle A, Prior TW. Hybrids monosomal for human chromosome 5 reveal the presence of a spinal muscular atrophy (SMA) carrier with two SMN1 copies on one chromosome. *Hum Genet*, 2001, 108(2): 109–115.
- [8] Burlet P, Gigarel N, Magen M, Drunat S, Benachi A, Hesters L, Munnich A, Bonnefont JP, Steffann J. Single-sperm analysis for recurrence risk assessment of spinal muscular atrophy. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18(4): 505–508.
- [9] Cao YY, Qu YJ, Bai JL, Cheng MM, Jin YW, Wang H, Song F. Transmission characteristics of SMN from 227 spinal muscular atrophy core families in China. *J Hum Genet*, 2020, 65(5): 469–473.
- [10] Chen X, Sanchis-Juan A, French CE, Connell AJ, Delon I, Kingsbury Z, Chawla A, Halpern AL, Taft RJ, BioResource N, Bentley DR, Butchbach MER, Raymond FL, Eberle MA. Spinal muscular atrophy diagnosis and carrier screening from genome sequencing data. *Genet Med*, 2020, 22(5): 945–953.
- [11] Zhao SM, Wang WY, Wang YS, Han R, Fan CN, Ni PX, Guo FY, Zeng FW, Yang QN, Yang Y, Sun Y, Zhang XH, Chen Y, Zhu BS, Cai WW, Chen S, Cai R, Guo XL, Zhang CL, Zhou YQ, Huang SD, Liu YH, Chen BY, Yan SH, Chen YJ, Ding HM, Shang X, Xu XM, Sun J, Peng ZY. NGS-based spinal muscular atrophy carrier screening of 10,585 diverse couples in China: a pan-ethnic study. *Eur J Hum Genet*, 2020, doi: 10.1038/s41431-020-00714-8.
- [12] Alfás L, Bernal S, Calucho M, Martínez E, March F, Gallano P, Fuentes-Prior P, Abuli A, Serra-Juhe C, Tizzano EF. Utility of two SMN1 variants to improve spinal muscular atrophy carrier diagnosis and genetic counselling. *Eur J Hum Genet*, 2018, 26(10): 1554–1557.

(责任编辑: 夏昆)