

·临床研究·

临床诊断脑性瘫痪儿童的遗传学分析*

李晓捷¹ 姜志梅¹ 庞伟¹ 郭津¹ 赵会玲¹ 冯欢欢¹ 邱洪斌² 孔祥颖¹
宋虎杰³ 马丙祥⁴ 唐久来⁵ 曹建国⁶ 袁兆红⁷ 邱正庆⁸ 王滨有³

摘要

目的:对脑性瘫痪(简称脑瘫)儿童进行相关基因检测,通过研究基因致病性变异与临床表型之间的联系,分析脑瘫的遗传学病因,为脑瘫的早期防治提供新的见解及依据。

方法:研究对象为2015年1月至2016年6月期间诊断明确的1至12岁脑瘫儿童,来自黑龙江省小儿脑性瘫痪防治治疗中心等全国6家医院,对临床相关数据进行整理,并且采集儿童及其父母的静脉血,运用二代测序技术对相关基因进行检测,并对候选基因变异进行Sanger测序验证。

结果:共收集149例脑瘫儿童的DNA合格样本,男97例,女52例,其中14例儿童携带脑瘫可疑基因致病性变异,约占9.40%(14/149)。最终发现19个疑似致病性变异位点,在19个突变位点中有1例为新发突变,其余均为遗传性变异(遗传于亲代)。共涉及12个受累基因,分别为KANK1、ACADS、ATR、POLR3A、SLC2A1、SLC16A2、AP4S1、MECP2、GFAP、ALDH3A2、ALDH5A1、SPAST。其中,KANK1基因致病性变异频次最高,占31.58%(6/19)。ACADS、ATR、POLR3A基因均出现2次,各占10.53%(2/19)。其他突变基因只出现1次。

结论:单基因致病性变异是脑瘫的致病因素之一。KANK1基因致病性变异可能是我国脑瘫儿童的主要致病基因之一,其临床表型存在异质性。

关键词 脑性瘫痪;致病性变异;二代测序;KANK1

中图分类号:R742.3, R49 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2021)-01-0032-06

Genetics analysis of clinical diagnosis of cerebral palsy in children/LI Xiaojie, JIANG Zhimei, PANG Wei, et al//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2021, 36(1): 32—37

Abstract

Objective: To detect gene mutation in children with cerebral palsy (CP) in China, and to explore the relationship between genotype and clinical phenotype of CP by analyzing the etiology of congenital CP, and to develop a new method for the prevention and early diagnosis of CP.

Method: From January 2015 to June 2016, children aged 1—12 with CP were selected from Rehabilitation Center of Children with Cerebral Palsy in Heilongjiang Province and other hospitals. Clinical data were collected in detail. Peripheral venous blood of children with CP, and their parents (trios model) was collected and DNA was extracted. Next generation sequencing was used to detect the gene mutations and Sanger sequencing was used to verify the mutations.

Result: DNA samples were collected from 149 children with CP, 97 males and 52 females. Among them, 14 children carried suspicious gene mutations of CP, accounting for 9.40% (14/149). Nineteen suspicious pathogenic variations were identified for the first time. One was a de novo mutation and the others were genetic mutations. Twelve mutation genes were KANK1, ACADS, ATR, POLR3A, SLC2A1, SLC16A2, AP4S1,

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2021.01.006

*基金项目:国家卫生和计划生育委员会公益性行业科研专项资助项目(201302001)

1 黑龙江省小儿脑性瘫痪防治治疗中心,佳木斯大学附属第三医院,佳木斯大学康复医学院,黑龙江省佳木斯市,154002; 2 佳木斯大学公共卫生学院; 3 西安中医脑病医院; 4 河南中医药大学第一附属医院; 5 安徽医科大学第一附属医院; 6 深圳市儿童医院; 7 济宁医学院附属医院; 8 北京协和医院

第一作者简介:李晓捷,女,教授; 收稿日期:2019-04-23

MECP2, GFAP, ALDH3A2, ALDH5A1 and SPAST. Among them, KANK1 gene mutation exhibited the highest level, accounting for 31.58%(6/19); ACADS, ATR, POLR3A gene appeared twice respectively, accounting for 10.53%(2/19), and other mutation genes only appeared once.

Conclusion: Single gene pathogenic variation is one of the pathogenic factors of CP. KANK1 gene mutation may be one of the main pathogenic genes in children with CP in China, and its clinical phenotype is heterogeneous.

Author's address The Third Affiliated Hospital of Jiamusi University, Medical Rehabilitation College of Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang Province, 154002

Key word cerebral palsy; pathogenic variation; next generation sequencing; KANK1

脑性瘫痪(简称脑瘫, cerebral palsy, CP)是一组以中枢性运动功能障碍、活动受限为特征的症候群,是儿童致残的主要原因之一。根据2012年1月—2013年6月由李晓捷教授牵头完成的全国12个省、市、自治区,320000多例1—6岁儿童针对性的CP流行病学调研,我国CP发病率为2.48‰,患病率为2.46‰^[1]。CP的病因尚不明确,既往关于CP的病因学研究主要为早产、出生窒息、胆红素脑病等。缺氧缺血性脑病长期以来都被认为是CP最常见的高危因素之一,然而,研究表明,出生窒息所致CP占比不到10%^[2]。随着围生医学的发展和抢救技术水平的不断提高,CP发病率并没有明显下降,因此CP的病因学研究逐渐转移至遗传因素上来。越来越多的证据表明,遗传学因素可能在CP发病中发挥重要作用。据报道亚洲CP患病率较白种人低,这种种族差异不能用母亲年龄及文化程度、性别、出生体重等因素来解释^[3]。有研究发现50%的共济失调型CP由常染色体隐性遗传所致^[4]。最近的全外显子测序研究发现14%的CP携带致病性变异^[5]。

CP遗传学研究主要包括单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)、拷贝数变异(copy number variations, CNVs)及单基因致病性变异三个方面。国内外关于CP遗传多态性的研究较多,但其结果常常相互矛盾,可能与样本量不足、研究对象的种族不同、大多数研究的对照较少有关^[6]。CNVs对疾病神经生物学带来新见解,但关于CP的拷贝数变异研究甚少,且对变异的解释存在重大挑战。研究报道的大多数CNVs在一个基因组区域内包含多个基因,因此很难就单个基因产物与疾病的关系得出确切的结论^[7]。CP单基因致病性变异是目前研究的热点,共报道10个CP致病基因,分别

为GAD1、KANK1、AP4E1、AP4B1、AP4M1、AP4S1、ADD3、KCNC3、ITPR1和SPTBN2^[7-8]。lynex等^[9]于2004年报道了第一个发现的CP致病基因GAD1,患者表现为痉挛型CP、智力障碍、言语障碍。KANK1基因是肿瘤抑制基因,目前研究发现与神经发育性疾病有关,尤其在脑发育中具有重要作用^[10-11]。Lerer等^[12]在先天性CP家族中发现KANK1基因缺失突变,主要表现为痉挛型四肢瘫CP、智力障碍。其后Vanzo等^[13]报道KANK1基因缺失突变的表现为运动落后、孤独症谱系障碍、智力障碍。AP4复合物由AP4E1、AP4B1、AP4M1和AP4S1四个基因编码组成,对于培养、运输和筛选囊泡非常重要,并在发育阶段的神经元中表达,对于脑发育至关重要^[14]。AP4复合物任何一个基因致病性变异都会导致严重的“AP4缺陷综合征”,表现为常染色体隐性遗传性CP^[15]。国外研究人员先后在CP儿童中检测到AP4M1、AP4E1、AP4S1和AP4B1基因的突变^[15-18]。2013年,Kruer等^[19]报道ADD3基因纯合突变导致的痉挛型CP,伴有轻度小头畸形、智力障碍。最近,有研究报道通过二代测序技术^[20],从共济失调型CP中检测出KCNC3、ITPR1和SPTBN2基因的新发突变。

目前,国内很少对CP儿童的致病性变异进行研究,本研究利用二代测序技术基因PANEL检测了国内部分地区CP儿童的单基因致病性变异,研究致病性变异与临床表型的相关性、先天性CP的遗传学病因,为CP的早期防治提供新的见解及依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2015年1月至2016年6月于黑龙江省小儿

脑性瘫痪防治疗育中心、西安中医脑病医院、河南中医药大学第一附属医院、安徽医科大学第一附属医院、深圳市儿童医院和济宁医学院附属医院共6家医院就诊的1—12岁CP儿童的详细临床数据。研究对象的纳入标准:①符合我国2014年制定的CP诊断标准和分类标准^[21];②1—12岁;③临床数据全面;④母亲孕期存在或不存在CP高危因素;⑤获得监护人的知情同意。排除标准:①CP伴有遗传代谢病;②存在明确的出生时或生后高危因素,如出生窒息、早产、核黄疸及其他类型的脑损伤。

1.2 二代测序基因 PANEL

通过三人家系,分别采集CP儿童及其父母的静脉血,提取DNA。通过使用OMIM数据库和HGMD工具,确定156个与CP相关的基因。设计靶向捕获探针,并定制目标基因捕获试剂盒,制备目标基因捕获文库。将基因组样本杂交至捕获文库,制备链霉亲和素标记的磁珠,捕获杂交后的DNA分子。对测序文库进行PCR扩增、纯化,应用NEXTSEQ 500测序仪对扩增后的产物进行高通量测序。通过SNP分析、DIP分析,使用Polyphen-2.2.2、SIFT和MutationTaster软件对突变的致病性进行定性预测,并筛选出候选致病性变异。

1.3 Sanger测序验证

在人类基因组数据库中获得突变位置的基因序列,设计引物,PCR扩增突变位点,然后进行Sanger测序及家系验证。

2 结果

2.1 CP儿童的一般资料

本研究一共采集149例CP儿童,男女比例为1.87:1,平均年龄为 2.45 ± 1.81 岁。CP分型以痉挛型最多(其中又以痉挛型双瘫比例最高),其次为混合型、不随意运动型,共济失调型类型最少,与先前研究的CP类型分布基本一致。本研究CP儿童的合并症以智力和语言障碍最为常见,其他合并症包括小头畸形、视觉障碍、癫痫、行为异常、听力障碍和孤独症谱系障碍(表1)。

2.2 本研究发现的CP可疑致病性变异

本研究最终确定19个可疑致病性变异位点,由14例CP儿童携带,致病性变异率为9.40%(14/

149)。本研究发现的19个致病性变异位点在CP儿童中均为首次报道,其中1例(编号3—12)为新发突变,其余均为遗传性变异。变异类型包括:插入突变2个,剪切突变2个,移码突变1个,缺失突变1个,错义突变10个,无义突变3个。19个可疑致病性突变位点共涉及12个受累基因,分别为KANK1(c.1274_1275ins AGCTGT, c.2167C>T, c.3482A>G, c.2110G>A, c.3103_3105del)、ACADS(c.1031A>G, c.933 + 7G>A)、ATR(c.2078T>C, c.3151C>T)、POLR3A(c.128G>A, c.1771- 7C>T)、SLC2A1(c.668G>A)、SLC16A2(c.722del T)、AP4S1(c.289C>T)、MECP2(c.626C>T)、GFAP(c.1237C>T)、ALDH3A2(c.1157A>G)、ALDH5A1(c.154G>A)和SPAST(c.1573_1577delins T)。其中,KANK1致病性变异频率最高,占31.58%(6/19);其次为ACADS、ATR和POLR3A基因,分别占10.53%(2/19),其余致病性变异频次均为1次(见表2)。

3 讨论

本研究共发现12个CP可疑致病性基因,其中除KANK1、AP4S1基因外,其余均为首次报道。基因致病性变异致CP发生的具体机制不清,基因致病

表1 149例脑瘫儿童的一般资料

分类	例数	百分比(%)
性别		
男	97	65.10
女	52	34.90
年龄		
1—3岁	96	64.43
3—6岁	47	31.54
6—12岁	6	4.03
CP类型		
痉挛型双瘫	48	32.21
痉挛型四肢瘫	26	17.45
痉挛型偏瘫	25	16.78
不随意运动型	20	13.42
共济失调型	3	2.01
混合型	27	18.12
合并症		
智力障碍	95	63.76
语言障碍	89	59.73
小头畸形	28	18.79
视觉障碍	25	16.78
癫痫	19	12.75
行为异常	14	9.40
听力障碍	11	7.38
孤独症谱系障碍	3	2.01

表2 脑瘫儿童的临床资料及基因致病性变异信息

突变基因	编号	性别	年龄(岁)	CP类型	合并症	核苷酸变化	氨基酸变化	变异来源
KANK1	4-01	男	5	痉挛型四肢瘫	ID、LD	c.1274_1275ins AGCTGT	p.427_428ins Ala Val	父
	4-02	男	5	痉挛型四肢瘫	ID、LD	c.1274_1275ins AGCTGT	p.427_428ins Ala Val	父
	4-36	男	4	混合型	ID、VD、LD、小头畸形、行为异常、ASD	c.2167C>T	p.Arg723Cys	父
	5-09	男	2.5	痉挛型偏瘫	无	c.3482A>G	p.Asn1161Ser	父
	5-12	男	5	不随意运动型	ID、LD、小头畸形	c.2110G>A	p.Asp704Asn	父
ACADS	8-03	男	5	不随意运动型	ID、LD、小头畸形、癫痫	c.3103_3105del	p.1039del	父
	5-12	男	5	不随意运动型	ID、LD、小头畸形	c.1031A>G	p.Glu344Gly	父
	5-12	男	5	不随意运动型	ID、LD、小头畸形	c.933+7G>A	-	父
ATR	7-33	男	3	痉挛型偏瘫	无	c.2078T>C	p.Ile693Thr	母
	7-33	男	3	痉挛型偏瘫	无	c.3151C>T	p.Arg1051Cys	父
POLR3A	3-24	男	4	痉挛型偏瘫	ID、LD	c.128G>A	p.Ser43Asn	母
	3-24	男	3.5	痉挛型偏瘫	ID、LD	c.1771-7C>T	-	父
SLC2A1	5-29	男	4	痉挛型偏瘫	VD	c.668G>A	p.Arg223Gln	母
SLC16A2	7-23	男	5	痉挛型双瘫	无	c.722del T	p.Phe242Serfs Ter25	母
AP4S1	8-03	男	5	不随意运动型	ID、LD、小头畸形、癫痫	c.289C>T	p.Arg97Ter	父
MECP2	7-19	男	2	痉挛型四肢瘫	ID、VD、LD	c.626C>T	p.Thr209Met	母
GFAP	8-01	男	4	混合型	ID	c.1237C>T	p.Arg413Ter	父
ALDH3A2	3-12	男	4	痉挛型双瘫	ID、LD	c.1157A>G	p.Asn386Ser	新发突变
ALDH5A1	5-29	男	4	痉挛型偏瘫	VD	c.154G>A	p.Ala52Thr	父
SPAST	5-45	男	7	痉挛型双瘫	无	c.1573_1577delins T	p.Gln525Ter	父

注:ID:intelligence disorder,智力障碍;LD:language disorder,语言障碍;VD:visual disorder,视觉障碍

性变异对个体的影响可能因突变性质、环境因素以及个体基因组环境而异。有学者提出^[7],一方面,基因致病性变异可能会增加罹患CP的风险,在环境因素的共同作用下导致CP的发生;另一方面,严重的致病性变异可以直接导致CP的发生。

KANK1致病性变异频率最高,占31.58%(6/19),提示其可能是我国CP儿童的主要致病基因之一。KANK1基因编码的蛋白质由KN基因序列、卷曲螺旋结构域和C端的ANK构成,后两者是蛋白质相互作用的场所^[22]。KANK1抑制RHO活化,并且进一步影响细胞骨架的形成和细胞迁移运动,在脑发育过程中具有重要作用^[23]。KANK1是已发现的CP致病基因之一,本研究发现14例携带可疑致病性变异的CP儿童中,有6例均存在KANK1突变,突变率最高(42.86%,6/14),再次验证了该基因在CP发病中的作用,与先前的研究结果一致^[12]。该6例CP儿童的5种变异(1种插入突变,1种缺失突变和3种错义突变),均来源于父亲的杂合变异,该基因是已知致病基因且突变检出率高,考虑致病性变异可能性大,但尚不能排除与其他基因共同作用导致CP发生的可能性。值得注意的是,1例双胞胎均携带KANK1基因的插入突变(c.1274_1275ins AGCTGT, p.427_428ins Ala Val),证实了遗传因素在CP

发生中的作用。国外学者对CP的家族风险进行的一项研究表明^[24],双胞胎中的一人罹患CP,另一人患病的风险也大大增加。本研究结果显示携带KANK1突变的6例CP儿童,其中4例均表现为痉挛型特征,CP合并症主要为智力障碍、语言障碍、小头畸形、癫痫、孤独症谱系障碍,与先前研究结果基本一致。但本研究首次在不随意运动型CP儿童中发现KANK1致病性变异,扩充了KANK1致病性变异的临床表型。KANK1基因致病性变异的CP儿童临床表型的异质性,可能的解释是不同致病性变异位置对其表达的蛋白质功能影响不同有关。KANK1致病性变异的表型异质性表明了该基因的复杂性,临床表现不同可能与基因修饰、环境因素和表观遗传因素等存在关联性^[9]。

AP-4复合物是一种广泛表达和保守的异聚体复合物,其诱导的分子迁移在脑发育中非常重要。Abou Jamra等^[17]报告了AP4S1致病性变异的表现,为严重的智力障碍、语言障碍、害羞、痉挛型CP、小头畸形、不能走路等。本研究发现的AP4S1基因无义突变表现为痉挛型四肢瘫CP,伴有智力障碍、语言障碍、小头畸形和癫痫,类似于Abou Jamra的报道^[17]。另外,携带AP4S1无义突变的儿童同时还有KANK1致病性变异,也可能与两种突变基因的联

合效应有关。

ACADS(c.1031A>G)基因的错义突变与短链酰基辅酶脱氢酶缺陷有关,多表现为生长迟缓、发育落后、癫痫、肌张力低下、急性代谢性酸中毒^[25]。本研究发现携带ACADS基因错义突变(c.1031A>G, p.Glu344Gly)的儿童,表现为不随意运动型CP,合并智力障碍、语言障碍和小头畸形,二者临床特征不符。但该儿童还携带ACADS基因的剪切突变(c.933+7G>A),我们推测可能由于ACADS基因的错义突变和剪切突变共同作用的附加效应导致CP的发生。此外该儿童携带已知致病基因KANK1的错义变异(c.2110G>A),由于CP病因的复杂性,尚不能排除多基因突变的可能,有待于今后进一步研究。

ATR基因是Seckel综合征1型(Seckel syndrome 1)的致病基因,该致病性变异可导致全面性发育迟缓、小头畸形,为常染色体隐性遗传方式^[26]。编号07—33儿童携带ATR基因(c.2078T>C, c.3151C>T)的复杂变异分别由其父母通过杂合变异遗传,这与常染色体的隐性遗传模式相吻合,因此可能是CP的致病基因。但该患者为痉挛型偏瘫CP,智力发育正常,无合并症,与先前报道的ATR致病性变异的临床表型不一致,有可能与不同位点突变对基因的功能影响不同有关。

POLR3A是髓鞘发育不良性脑白质营养不良7型的已知致病基因,近年来,还发现POLR3A深部内含子突变是痉挛性共济失调的常见原因^[27]。本研究发现携带POLR3A基因的复合杂合突变(c.128G>A、c.1771-7C>T),分别遗传自其父母,符合常染色体隐性遗传。该儿童为痉挛型偏瘫,合并智力障碍及语言障碍,头颅MRI示右侧基底节软化灶,携带POLR3A基因内含子与外显子的复合突变。我们推测其复合突变导致新的临床表型出现,这暗示探索人类基因组的非编码序列,或许可以为CP的遗传学研究打开另一扇大门。

SLC2A1基因与葡萄糖转运1—缺陷综合征(GLUT1 DS)相关^[28]。本研究显示,在一个与IGE相关的痉挛型CP儿童中发现LC2A1基因突变(C.668G>A),GLUT1 DS主要表型为运动功能障碍、全身性癫痫性脑病和发育迟缓等。c.668G>A与已知的致病性变异(c.667C>T)位点相邻,后者与

GLUT1-DS和MAE的关联性均曾报道过^[29],表明该区域对蛋白质功能非常重要,也提示c.668G>A有CP致病性的可能。

ALDH3A2基因是Sjogren-Larsson综合征的致病基因,表现为痉挛性瘫痪、智力障碍、先天性鱼鳞癣,为常染色体隐性遗传方式^[30]。本研究中携带ALDH3A2基因的纯合变异(c.1157A>G),为新发突变,符合常染色体隐性遗传方式,临床表型为痉挛型双瘫、合并智力障碍、语言障碍,因此可能是CP的致病性变异。

综上所述,本研究对我国部分地区CP儿童进行基因检测,发现携带CP可疑致病性变异的儿童约占9.40%(14/149),与国外研究结果基本一致^[31]。本研究对单基因致病性变异致CP发生进行了初步研究,对于探讨CP的遗传学病因具有重要意义,但也存在一些局限性:本研究检测的基因有限,对于其他基因对CP的贡献尚需今后进一步研究;其次,对于发现的CP可疑致病性变异,需建立动物模型,深入研究并进一步验证其致病性。随着全外显子测序技术及全基因组测序技术的应用、测序成本的逐渐下降,充分检测与CP相关的致病性变异将是今后研究的重点。此外,由于CP病因的复杂性,除单基因致病性变异外,染色体变异、拷贝数变异,甚至多基因突变、线粒体突变也是我们今后的研究方向。随着基因检测技术的提高及研究的深入,基因致病性变异所致CP的比例可能会随之上升。总之,CP的遗传学研究正在迅速发展,可能为其筛查、诊断、治疗及产前咨询提供新的见解,进而更新我们对这一疾病的认识。

4 结论

单基因致病性变异是CP致病的重要因素之一,KANK1、ACADS、ATR、POLR3A、SLC2A1、SLC16A2、AP4S1、MECP2、GFAP、ALDH3A2、ALDH5A1、SPAST基因可能是我国CP儿童的致病基因。KANK1基因致病性变异可能是主要致病基因之一,其临床表型存在异质性。

参考文献

- [1] 李晓捷,邱洪斌,姜志梅,等.中国十二省市小儿脑性瘫痪流行病学特征[J].中华实用儿科临床杂志,2018,33(5):378—383.

- [2] Ellenberg JH, Nelson KB. The association of cerebral palsy with birth asphyxia: a definitional quagmire[J]. *Dev Med Child Neurol*, 2013, 55:210—16.
- [3] Lang TC, Fuentes-Afflick E, Uilbert WM, et al. Cerebral palsy among asian ethnic subgroups[J]. *Pediatrics*, 2012, 129(4):992—998.
- [4] Mchale DP, Jackson AP, Campbell, et al. A gene for ataxic cerebral palsy maps to chromosome 9p12-q12[J]. *Eur J Hum Genet*, 2000, 8(4):267—272.
- [5] McMichael G, Bainbridge MN, Haan E, et al. Whole-exome sequencing points to considerable genetic heterogeneity of cerebral palsy[J]. *Molecular Psychiatry*, 2015, 20(2):176—182.
- [6] O'Callaghan ME, MacLennan AH, Haan EA, et al. The genomic basis of cerebral palsy: a HuGE systematic literature review[J]. *Hum Genet*, 2009, 126:149—172.
- [7] Fahey MC, MacLennan AH, Kretzschmar D, et al. The genetic basis of cerebral palsy[J]. *Dev Med Child Neurol*, 2017, 59(5):462—469.
- [8] Moreno-De-Luca A, Ledbetter DH, Martin CL. Genetic [corrected] insights into the causes and classification of [corrected] cerebral palsies[J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(3):283—92.
- [9] Lynex CN, Carr IM, Leek JP, et al. Homozygosity for a missense mutation in the 67 kDa isoform of glutamate decarboxylase in a family with autosomal recessive spastic cerebral palsy: parallels with Stiff-Person Syndrome and other movement disorders[J]. *BMC Neurol*, 2004, 30:4—20.
- [10] Sarkar S, Roy BC, Hatano N, et al. A novel ankyrin repeat-containing gene (KANK) located at 9p24 is a growth suppressor of renal cell carcinoma[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(39):36585—36591.
- [11] Wang Y, Onishi Y, Kakinuma N, et al. Alternative splicing of the human KANK gene produces two types of KANK protein[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 330(4):1247—1253.
- [12] Lerer I, Sagi M, Meiner V, et al. Deletion of the ANKRD15 gene at 9q24.3 causes parent-of-origin-dependent inheritance of Familial cerebral palsy[J]. *Human Molec Genet*, 2005, 14(24):3911—3920.
- [13] Vanzo RJ, Martin MM, Sdano MR, et al. Familial KANK1 deletion that does not follow expected imprinting pattern[J]. *Eur J Med Genet*, 2013, 56(5):256—259.
- [14] Yap CC, Murate M, Kishigami S, et al. Adaptor protein complex-4 (AP-4) is expressed in the central nervous system neurons and interacts with glutamate receptor delta 2 [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2003, 24(2):283—295.
- [15] Verkerk AJ, Schot R, Dumee B, et al. Mutation in the AP4M1 gene provides a model for neuroaxonal injury in cerebral palsy[J]. *Am J Hum Genet*, 2009, 85:40—52.
- [16] Moreno-De-Luca A, Helmers SL, Mao H, et al. Adaptor protein complex-4 (AP-4) deficiency causes a novel autosomal recessive cerebral palsy syndrome with microcephaly and intellectual disability[J]. *J Med Genet*, 2011, 48(2):141—144.
- [17] Abou Jamra R, Philippe O, Raas-Rothschild A, et al. Adaptor protein complex 4 deficiency causes severe autosomal-recessive intellectual disability, progressive spastic paraplegia, shy character and short stature[J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 88(6):788—795.
- [18] Abdollahpour H, Alawi M, Kortum F, et al. An AP4B1 frameshift mutation in siblings with intellectual disability and spastic tetraplegia further delineates the AP-4 deficiency syndrome[J]. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23(2):256—259.
- [19] Kruer MC, Jepperson T, Dutta S, et al. Mutations in γ adducin are associated with inherited cerebral palsy[J]. *Ann Neurol*, 2013, 74(6):805—14.
- [20] Parolin Schnekenberg R, Perkins EM, Miller JW, et al. De novo point mutations in patients diagnosed with ataxic cerebral palsy[J]. *Brain*, 2015, 138:1817—32.
- [21] 李晓捷, 唐久来, 马丙祥, 等. 脑性瘫痪的定义、诊断标准及临床分型[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2014, 29(19):1520.
- [22] Zhu Y, Kakinuma N, Wang Y, et al. KANK proteins: a new family of ankyrin-repeat domain-containing proteins[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1780(2):128—133.
- [23] Kakinuma N, Roy BC, Zhu Y, et al. KANK regulates RhoA-dependent formation of actin stress fibers and cell migration via 14-3-3 in PI3K-Akt signaling[J]. *J Cell Biol*, 2008, 181(3):537—549.
- [24] Tollanes MC, Wilcox AJ, Lie RT, et al. Familial risk of cerebral palsy: population based cohort study[J]. *BMJ*, 2014, 349:g4294.
- [25] Pedersen CB, Kølvrå S, Kølvrå A, et al. The ACADS gene variation spectrum in 114 patients with short-chain acyl-CoA dehydrogenase (SCAD) deficiency is dominated by missense variations leading to protein misfolding at the cellular level[J]. *Hum Genet*, 2008, 124(1):43—56.
- [26] Ogi T, Walker S, Stiff T, et al. Identification of the first ATRIP-deficient patient and novel mutations in ATR define a clinical spectrum for ATR-ATRIP Seckel Syndrome[J]. *PLoS Genet*, 2012, 8(11):e1002945.
- [27] Minnerop M, Kurzwelly D, Waqner H, et al. Hypomorphic mutations in POLR3A are a frequent cause of sporadic and recessive spastic ataxia[J]. *Brain*, 2017, 140(6):1561—1578.
- [28] Arsov T, Mullen SA, Rogers S, et al. Glucose transporter 1 deficiency in the idiopathic generalized epilepsies[J]. *Ann Neurol*, 2012, 72(5):807—815.
- [29] Alter AS, Engelstad K, Hinton VJ, et al. Long-term clinical course of Glut1 deficiency syndrome[J]. *J Child Neurol*, 2015, 30(2):160—169.
- [30] Naganuma T, Takagi S, Kanetake T, et al. Disruption of the Sjögren-Larsson Syndrome gene Aldh3a2 in mice increases keratinocyte growth and retards skin barrier recovery [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(22):11676—88.
- [31] MacLennan AH, Thompson SC, Gecz J, et al. Cerebral palsy: causes, pathways, and the role of genetic variants [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2016, 213 (6):779—788.