

最常見的家族遺傳智能障礙 X 染色體脆折症

文、圖 / 鄒佳蓉、卓偉誠、吳孟貞、曾慶誠

奇美醫療財團法人奇美醫學中心 分子病理科

前言

智能障礙 (mental retardation, 以下簡稱智障或 MR) 是指病人智商 (IQ) 低於 70 的狀況；群眾中之盛行率約為 3%，狀況嚴重以致無法獨立生活者約佔 1%。已知許多先天和後天性因素會造成智障，但病因不明的情況仍高達 30-50%。部份智障病人是與染色體或 DNA 異常有關；其中最廣為人知的，當屬具有三套 21 號染色體的唐氏症，其發生率約為 1:800。曾孕育有唐氏症胎兒的婦女，除了年齡因素外，也與本身的平衡性染色體結構異常有關，日後再次發生的機率不高，也不會有「家族聚集」遺傳特徵⁽¹⁾。

隨著分子診斷快速進展，越來越多的「突變基因」被證實與智障有關，有些具有遺傳性的「家族聚集」特徵，其中因其盛行率較高，而倍受西方國家重視的，當屬 X 染色體脆折症 (fragile X syndrome, FXS)。除智障外，病人其他特徵可能包括：耳大、長臉龐、過動現象、不易專注、語言障礙、害羞、不願和他人有目光對視和類似自閉症等，以及男性病人在青春期後，其睪丸體積可能較其他同齡者顯著為大。由於 FXS 迄今仍無有效治療，但可有效加以防範，因此在西方先進國家中，FXS 的認知推廣與各類研究，長期以來為各界人士所重視，也包括檢驗技術的研發和改進，期能以準確、快速又便宜之方式，提供廣泛性的篩檢，來提高防範措施之效益⁽²⁾。

歷史演進

最早 Martin 和 Bell 於 1943 年報導，某大家族中有許多人患有智障，其中 11 名為男性，然其父母親正常，似乎是隱性性聯遺傳；但因有 2 名女性也具智障，又似乎是非完全的隱性⁽³⁾。1969 年 Lubs 進一步發現，在另一同樣具有多名智障病人家族中，有 4 名男性病人及兩名看來正常的女性，他們的 X 染色體長臂末端，會顯現一小段的狹窄處，也就是「脆折性 X 染色體 (fragile X)」名稱的由來⁽⁴⁾。但因其他專家無法在類似病患中，重複觀察到相同結果，而使這項重要發現並未受到重視。

直到 1977 年，Southernland 發現在特殊細胞培養狀況下，X 染色體長臂末端小段的狹窄處，的確可以重複觀察到，同時指出此脆折現象是在 X 染色體 q27.3

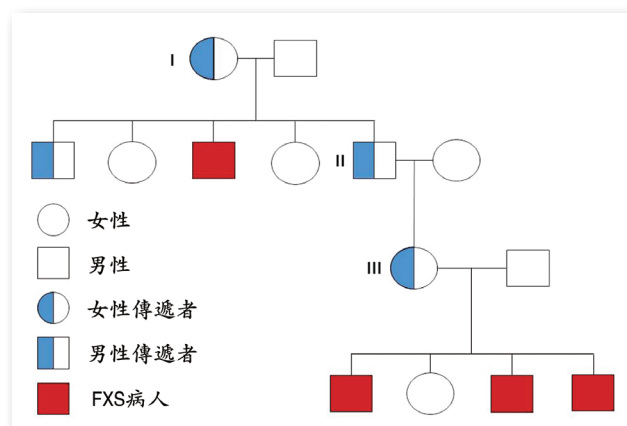


圖 1 依 Sherman 悖論觀察而提出的兩個階段動態式突變：第一階段先產生準突變 (premutation)，不會導致子女罹患 FXS；到第二階段傳遞時，才會經由女性將 PM 變成全突變 (full mutation)，而使子女罹患 FXS⁽⁷⁾。

處⁽⁵⁾。隨後被大家採用作 FXS 的檢驗診斷依據，但以此分析羊水細胞時，其可靠性似乎並不理想⁽⁶⁾。此外，對於 FXS「非典型」的隱性性聯遺傳特徵，並未能因此檢驗的運用而得到合理的解釋，這個「謎」一直到 1991 年，致病基因及其特殊突變機制被釐清後，才獲得解答。

此期間，Sherman 等學者分析 206 個 FXS 家族後，於 1985 年歸納出一些簡明但極重要的結論，由於無法以當時的遺傳學知識做合理解釋，因此稱之為「Sherman 悖論 (paradox)」⁽⁷⁾。如圖 1 所示，他們發現在 FXS 家族中，其子孫會出現 FXS 病徵與否，與其在族譜中的位置，有密切關聯。據此提出相當獨特的「動態式 (dynamic)」突變概念；並依此模式來解釋，為何此類家族子孫患 FXS 的機率，會在繁衍過程中逐漸增加。當時所提出的「假說 (hypothesis)」認為，此動態式突變分為兩個階段，第一階段產生「準突變 (premutation, PM)」基因，它不會導致子女出現 FXS 的症狀；到第二階段的傳遞時，才會將 PM 變成「全突變 (full mutation, FM)」基因，而使子女罹患 FXS；此外，還指出第二階段傳遞都發生在「女性」身上。

1991 年國際合作研究下，終於找出導致 FXS 的致病基因，即 *FMRI* (fragile X mental retardation 1)，也首次證實一種全新的突變機制，即 *FMRI* 基因序列裡，有段 CGG 三核苷酸的重複序列，在 FXS 家族某些族人中，此重複序列會以動態機制，在遺傳過程中

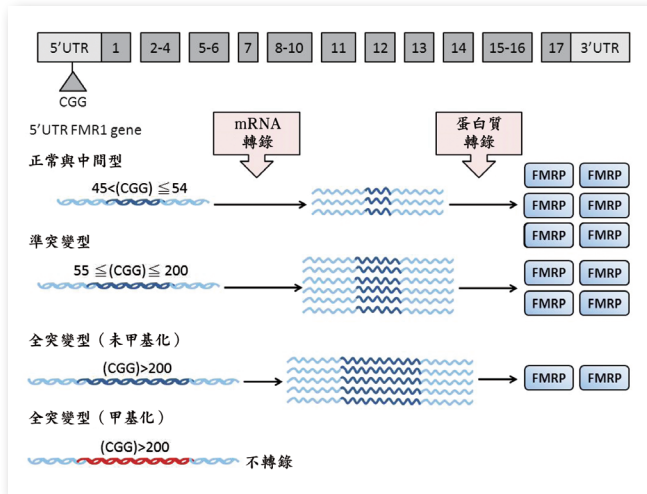


圖2 *FMR1* 基因有 17 個外顯子 (exon)；位於在 5' 端不參與轉譯區段 (5'-UTR) 的 CGG 重複序列，依其在親子遺傳過程中的穩定度可分為四類，正常型的 CGG 重複次數小於 45 次；當此重複數在準突變 (PM) 和全突變 (FM) 型時，會分別因其長度或甲基化，會對其蛋白 (FMRP) 產製有不同的影響⁽²⁰⁾。

逐步擴增，完全吻合前述對 Sherman 悖論的推斷。此外，隨後數年間，將近 20 種遺傳性神經精神類疾病包括：杭廷頓舞蹈病 (Huntington disease)、強直性肌營養不良 (myotonic dystrophy) 等，也被證實具此突變機制⁽²⁾。

致病基因

FMR1 基因位於 Xq27.3 上，如圖 2 所示，它有 17 個外顯子 (exon)；CGG 重複序列位於在 5' 端不參與轉譯區段 (5'-untranslated region, 5'-UTR) 區；其蛋白 (fragile X mental retardation protein, FMRP) 在不同組織中，經選擇性剪接後，共有 12 種亞型 (isoform)，分子量介於 70-80 kDa。目前認為 FXS 係因缺乏 FMRP 所致，超過 99% 的 FXS 病人 FMRP 缺乏的原因，是因其 CGG 次數超過 200，在此狀況下其中 CG 雙核苷酸 (dinucleotide) 的胞嘧啶 (cytosine) 會呈現甲基化 (methylation)，同時，在其上游 250 個鹼基 (base pair) 的 CpG 核苷酸小島 (CpG island)，包括 *FMR1* 基因的啟動子 (promoter)，也呈現甲基化，進而導致 FMRP 的轉譯功能喪失。其他少數 FXS 病人，則與 *FMR1* 基因片段遺失 (deletion) 或因有會終止轉譯功能的點突

變 (inactivation mutation) 有關，文獻報導的病例可自美國臨床遺傳學院 (The American College of Medical Genetics, ACMG) 網站查閱。至於 *FMR1* 基因的 CGG 次數，在人群中可分為以下四種型態⁽²⁾：

一、正常 (normal) 型：CGG 的重複次數小於 45 次，大多數人為 29 或 30 次；在 9-10 次 CGG 重複後，往往會見有 AGG 阻斷其連續性，其結構因此相當穩定，所以在遺傳至子女時，重複次數通常不會有所改變。

二、中間 (intermediate 或 gray zone) 型：次數介於 45-54 之間，不會有任何 FXS 相關表徵，當遺傳至子女時，可能會有少許重複次數的增加，不會大幅暴增。

三、準突變 (premutation, PM) 型：次數介於 55-200 之間，其間被 AGG 阻斷之處亦顯著減少。攜帶者雖沒有 FXS 的相關表徵，但在遺傳給其子女的過程中並不穩；經由「父親」傳給女兒時，改變幅度往往不大，甚至還會減少，其女兒所承接的 PM 基因，在她成年懷孕時，會有後述之困擾；亦即經由「母親」傳給兒子或女兒時，容易發生較大幅度的擴增，甚至會立即暴增到下述「全突變 (full mutation, FM)」的範圍，而導致該子女罹患 FXS。此風險評估是遺傳諮詢上的重要議題。根據文獻報導，以及我們曾診斷的案例 (圖 3) 所見，會致胎兒成 FM 基因狀況，其母親所攜帶 PM 基因的其最小 CGG 重複為 56 次⁽⁸⁾。基本上，此類風險是與母親 CGG 重複次數呈正比關係，當次數介於 55-69 時，其風險機率為 5%，70-79 時為 30%，80-89 時為 60%，90-99 時為 80%，當大於 100 時，其風險達 100%⁽⁹⁾。此外，部份具 PM 突變者，在邁入老年後，約 30% 男性及 8% 女性可能出現震顫及運動失調症 (fragile X-associated tremor/ataxia syndrome, FXTAS)；女性攜帶者其 CGG 次數高於 80 時，約有 20% 婦女會出現早期卵巢機能不全 (fragile X-associated premature ovarian insufficiency, FXPOI) 現象⁽²⁾。

四、全突變 (full mutation, FM) 型：其 CGG 重複次數會大於 200，甚至高達幾千次；這類型突變基因在結構上非常不穩定，因此往往可在病人身上，看到多種不同 CGG 重複次數的等位基因 (allele)，雖然它們大多數仍在 FM 範圍裡，但也可能變短而落到 PM 甚至正常範圍中，因而呈現鑲嵌型 (mosaicism) 變化。

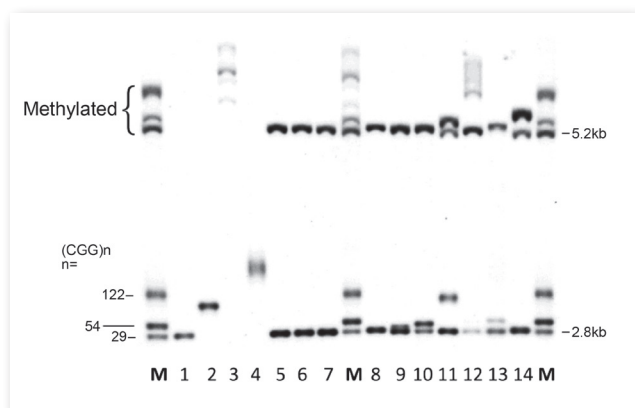


圖3 以南方墨點轉漬(Southern blot hybridization)分析*FMR1*基因。(1—4)為男性檢體：(1)正常型；(2)CGG重複為98次之PM型；(3)具甲基化之FM型；(4)未被甲基化之FM型，其CGG重複數範圍208—362次。(5-14)為女性檢體：(5-9)正常型，其中(9)之CGG重複為29和36次；(10)CGG重複為30和48次的中間型；(11)CGG重複為102次之母親PM等位基因(allele)，傳給女兒(12)後變成具甲基化之FM；(13)母親PM等位基因(allele)雖CGG重複只有56次，但傳給女兒(14)後卻將CGG重複暴增至FM範圍，且呈現甲基化態。前述之CGG重複次數係Asuragen AmplideXTM *FMR1* PCR分析所得。

當此CGG重複擴增到FM範圍時，絕大多數的案例會同時呈現甲基化，進而導致FMRP轉譯功能的喪失。青春前期FXS男性的平均IQ約為50，到成年後多在中度或重度，平均智商約為40；但仍有少數男性，其CGG重複雖超過200次卻沒有甲基化，其FMRP的轉譯功能也未受影響，智商可達70以上⁽¹⁰⁾。女性病人的狀況通常較輕，彼此間差異也較大，甚至少數病人沒有智能不足的現象⁽¹¹⁾。

檢驗方法

基於突變機制及臨床運用所需，在檢驗*FMR1*基因時，必須告知的內容包括：受檢者的*FMR1*基因是否為PM或FM型？突變基因是否具甲基化⁽²⁾？理論上，用聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)方式，應可快速得知CGG重複的次數，而判斷是否有PM或FM突變；必要時再以其他檢驗，來確認是否有甲基化。然而，當檢體屬於較大的PM或FM時，會因其中CG含量極高，往往導致PCR擴增失敗，也就無法完成這類檢體的區分。

上述PCR卻不失為一種簡易快速的方式，可廣泛用來篩檢疑似FXS的「男性」，絕大多數檢體經判定為正常或中間型、甚至小的PM型後，即可排除罹患FXS的可能性；只剩下極少數屬於大型PM或FM突變檢體，才需要用其他檢驗來確認^(12,13)。但此PCR特性卻不適於「女性」檢體，因她們具有兩支X染色體，當只見單一PCR產物時，仍無法確定是因二支*FMR1*等位基因(allele)的CGG次數相同，還是其中一支*FMR1*等位基因的CGG次數太大，而致PCR擴增失敗。這種PCR困境在將近20年之後才獲得突破，並已開發成商品化的PCR套裝試劑⁽¹⁴⁾。

若欲同時檢測*FMR1*基因的CGG約略範圍，以及大型突變基因的CGG是否甲基化，目前公認的標準檢驗仍是南方墨點轉漬(Southern blot hybridization, SBH)分析。圖3是我們經不斷改良後的SBH結果，特別提高的解析度，除可偵測所有CGG次數大於50次之檢體外；還具有相當低的背景干擾，由於容許長時間的壓片，因此對CGG次數分佈甚廣的FM檢體，也不致遺漏其微弱的訊號而造成誤診⁽¹⁵⁾。

然而在遇到CGG次數介於54—58檢體時，以我們SBH的解析度並無法確定，它們究竟是否超過55次，屬於PM突變基因？當母親攜帶的PM等位基因，其CGG重複數在56或以上時，會有導致胎兒罹患FXS的可能，因此需建議胎兒接受*FMR1*基因分析⁽⁸⁾。所幸少數這類案件，可轉請國內其他機構，以前述商品化PCR分析來釐清。目前資料顯示，快速的商品化PCR分析，在*FMR1*基因類型研判上，大致均與SBH結果相符⁽¹⁶⁻¹⁷⁾；然而，根據文獻報導，以及我們所做過的比對測試，仍然有一些FM案例會被判讀成PM；因此，建議這類狀況應搭配SBH來避免誤診⁽¹⁸⁾。

防範策略

在以白人族群為主的西方國家，多年研究資料的共識認為，FXS的盛行率在男性約為1：4,000，而女性約為1：8,000；至於本身雖無FXS症狀，但帶有PM或FM突變基因的「傳遞者」，其盛行率在男性約為1：885；而女性因具有兩支X染色體，其盛行率約為1：291⁽²⁾。

同期間，來自亞洲先進國家的報告卻很少，根據零星的小型研究及臨床經驗，似乎顯示在亞洲國家

中，FXS盛行狀況可能低於西方國家。在國內許多醫師多年合作下，2005年美國醫學遺傳雜誌刊載一篇台灣的大型研究報告，除證實FXS盛行率偏低外，還根據其他分析資料，推測亞洲國家FXS盛行率，或許只有西方國家的三分之一⁽¹⁹⁾。此外，曾針對一般孕婦所進行的突變基因篩檢⁽¹⁵⁾，以及陸續累積的篩檢案件，均顯示我國婦女的*FMR1*突變基因攜帶率，確實低於西方國家。

然而，*FMR1*突變基因存在於我國人民，是不容忽視的事實；更需強調的是FXS雖無法治療，但可以有效防範。從過往診斷案件中，常可見到以下現象：(1)許多家庭有兩位以上的FXS病人；(2)因病人都是遺傳自「母親」突變基因所造成，往往帶給這些女性極沉重的內疚感與壓力；(3)不少已獲FXS確診的家庭，不願將此診斷與相關風險，讓其他亦可能涉及的家族成員知道，進而錯失極重要的防範性篩檢。因此，如何有效解決以上困境，仍需各界的重視與努力。

除推廣民眾相關認知外，還需為民眾提供易於接受的篩檢和確認診斷，隨後的諮詢服務也很重要。一般會主動尋求協助的民眾，通常是家人具有原因不明的智障和自閉症病人，或是幼童的發展有遲緩的現象。十多年來，在政府支持下，奇美醫院為「男性」疑似病人，提供免自費的篩檢服務，在主治醫師寄來帶血點濾紙後，先初步以PCR進行篩檢，針對反應失敗的案件，會再進行SBH確定診斷。至於「女性」因有前已詳述之顧慮，均直接以SBH進行篩檢與確認診斷。

結語

最後，針對已懷孕或計劃生育的婦女，若家族成員中有以下狀況，包括：已知攜帶有*FMR1*突變基因、原因不明之智障、發展遲緩或有自閉傾向，請「務必」提早接受*FMR1*突變基因篩檢，以確認或排除相關風險。此外，雖沒有上述狀況，但在經濟狀況許可下，也不妨考慮一生只需做一次的*FMR1*突變基因篩檢；畢竟，還是有一些婦女，似乎沒有任何相關的風險，但在懷孕後所接受的篩檢中，卻意外發現帶有突變型*FMR1*基因，進而能在產前階段，經由基因檢查來確認胎兒*FMR1*基因的狀況。

參考文獻

1. Shin M, Besser LM, Kucik JE, et al.: Prevalence of Down syndrome among children and adolescents in 10 regions of the United States. *Pediatrics* 2009; 124: 1565-1571.
2. Monaghan KG, Lyon E, Spector EB, et al.: ACMG standards and guidelines for fragile X testing: a revision to the disease-specific supplements to the standards and guidelines for clinical genetics laboratories of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 2013; 15: 575-586.
3. Martin JP, Bell J: A pedigree of mental defect showing sex-linkage. *J Neurol Psychiatry* 1943; 6: 154-157.
4. Lubs HA: A marker X chromosome. *Am J Hum Genet* 1969; 21: 231-244.
5. Sutherland GR: Fragile sites on human chromosomes: demonstration of their dependence on the type of tissue culture medium. *Science* 1977; 197: 265-266.
6. Jenkins EC, Brown WT, Krawczun MS, et al.: Recent experience in prenatal fra(X) detection. *Am J Med Genet* 1988; 30: 329-336.
7. Sherman SL, Jacobs PA, Morton NE, et al.: Further segregation analysis of the fragile X syndrome with special reference to transmitting males. *Hum Genet* 1985; 69: 289-299.
8. Fernandez-Carvajal I, Lopez Posadas B, Pan R, et al.: Expansion of an *FMR1* grey-zone allele to a full mutation in two generations. *J Mol Diagn* 2009; 11: 306-310.
9. Nolin SL, Brown WT, Glicksman A, et al.: Expansion of the fragile X CGG repeat in females with premutation or intermediate alleles. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 454-464.
10. McConkie-Rosell A, Lachiewicz AM, Spiridigliozzi GA, et al.: Evidence that methylation of the *FMR1* locus is responsible for variable phenotypic expression of the fragile X syndrome. *Am J Hum Genet* 1993; 53:800-809.
11. Hartley SL, Seltzer MM, Raspa M, et al.: Exploring the adult life of men and women with fragile X syndrome: results from a national survey. *Am J Intellect Dev Disabil* 2011; 116:16-35.
12. Tzeng CC, Tzeng PY, Sun HS, et al.: Implication of screening for *FMR1* and *FMR2* gene mutation in individuals with nonspecific mental retardation in Taiwan. *Diagn Mol Pathol* 2000; 9:75-80.
13. Tzeng CC, Lin SJ, Chen YJ, et al.: An effective strategy of using molecular testing to screen mentally retarded individuals for fragile X syndrome. *Diagn Mol Pathol* 2001;

- 10:34-40.
14. Chen L, Hadd A, Sah S, et al.: An information-rich CGG repeat primed PCR that detects the full range of fragile X expanded alleles and minimizes the need for southern blot analysis. *J Mol Diagn* 2010; 12: 589-600.
 15. Huang KF, Chen WY, Tsai YC, et al.: Pilot screening for fragile X carrier in pregnant women of southern Taiwan. *J Chin Med Assoc* 2003; 66: 204-209.
 16. Juusola JS, Anderson P, Sabato F, et al.: Performance evaluation of two methods using commercially available reagents for PCR-based detection of FMR1 mutation. *J Mol Diagn* 2012; 14: 476-486.
 17. Seneca S, Lissens W, Endels K, et al.: Reliable and sensitive detection of fragile X (expanded) alleles in clinical prenatal DNA samples with a fast turnaround time. *J Mol Diagn* 2012; 14: 560-508.
 18. Esposito G, Ruggiero R, Savarese G, et al.: A 15-year case-mix experience for fragile X syndrome molecular diagnosis and comparison between conventional and alternative techniques leading to a novel diagnostic procedure. *Clin Chim Acta* 2013; 417: 85-89.
 19. Tzeng CC, Tsai LP, Hwu WL, et al.: Prevalence of the FMR1 mutation in Taiwan assessed by large-scale screening of newborn boys and analysis of DXS548-FRAXAC1 haplotype. *Am J Med Genet A* 2005; 133A:37-43.
 20. Bagni C, Tassone F, Neri G, et al.: Fragile X syndrome: causes, diagnosis, mechanisms, and therapeutics. *J Clin Invest* 2012; 122:4314-4322.