DOI:10.16016/j.1000-5404.201409110

论著

重庆地区脊髓小脑共济失调的临床特征分析与分子遗传学研究

张凤娟[1*],郭 洪[2*],陈阳美[1],宋 敏[1],白 云[2] (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院神经内科[1];400038 重庆,第三军医大学基础医学部医学遗传学教研室[2])

[摘要] **目的** 研究重庆地区遗传性脊髓小脑共济失调(spinocerebellar ataxia,SCA)的遗传学分型及临床表现。**方法** 应用聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)和琼脂糖凝胶电泳以及DNA测序技术,分析了10个常染色体显性脊髓小脑共济失调家系及9例散发小脑性共济失调患者的SCA1、SCA2、SCA3、SCA6、SCA7、SCA12、SCA17、齿状核红核苍白球路易体萎缩(dentatorubral-pallidoluysian atrophy,DRPLA)的致病基因,并结合临床资料进行分析。**结果** 其中8个家系分子遗传学检测明确为SCA3型,另外2个家系及散发患者均未明确其遗传学亚型。8个SCA3家系中,通过基因诊断确诊患者15例,CAG重复58~71次,症状前患者7例,CAG重复56~71次。SCA3临床表现以小脑共济失调及构音障碍为主,有典型的遗传早现现象,影像学表现为幕下脑萎缩。**结论** SCA3是重庆地区最常见的脊髓小脑共济失调类型,主要表现为小脑共济失调、构音障碍及幕下脑萎缩。家族性SCA患者脑萎缩程度较散发患者轻,患者脑干萎缩程度与病程相关,病程越长,脑干萎缩越严重。

[关键词] 脊髓小脑性共济失调;家系;动态突变;基因
[中图法分类号] R181.33; R394.5; R744.7 [文献标志码] A

Clinical and genetic study on a cohort of spinocerebellar ataxia patients in Chongqing

Zhang Fengjuan[1*], Guo Hong[2*], Chen Yangmei[1], Song Min[1], Bai Yun[2] ([1]Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010; [2]Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

[**Abstract**] **Objective** To undertake a clinical and genetic spectrum analysis in patients with hereditary spinocerebellar ataxia (SCA) in Chongqing district. **Methods** SCA 1, 2, 3, 6, 7, 12, 17 and dentatorubral-palliodoluysian atrophy (DRPLA) nucleotide repeat mutations were detected in 10 autosomal dominant SCA families and 9 sporadic SCA patients by PCR, agarose gel electrophoresis and DNA sequencing. The clinical data was also analyzed. **Results** There were 8 SCA3 families, the other 2 families and the sporadic cases were genetically unidentified. In the 8 SCA3 families, 15 patients were confirmed, with CAG repeat 58 to 71 times. Seven family members diagnosed to be presymptomatic patients, with CAG repeat 56 to 71 times. There was typical genetic anticipation, with cerebellar ataxia, dysarthria and tentorium brain atrophy. **Conclusion** SCA3 is substantially the most common subtype in SCA patients in Chongqing district, manifested by cerebellar ataxia, dysarthria and tentorium brain atrophy. The clinical symptoms are more serious in sporadic SCA patients than SCA patients with familly history. The degree of brain stem atrophy is associated with the course of disease, and the longer the duration, the more serious the brain stem atrophy.

[**Key words**] spinocerebellar ataxia (SCA); family; dynamic mutation; gene

Supported by the Natural Science Foundation Project of CQ CSTC (2011BB5023, CSTC2014jcyjA10074). Fengjuan Zhang and Hong Guo contributed equally to this work. Corresponding author: Song Min, E-mail:passionmin@gmail.com, Bai Yun, E-mail:geneticsby@gmail.com

[基金项目] 重庆市自然科学基金(2011BB5023,CSTC2014jcyjA10074)
* 同等贡献者
[通信作者] 宋 敏, E-mail:passionmin@gmail.com
白 云, E-mail:geneticsby@gmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150309.0826.001.html(2015-03-09)

遗传性脊髓小脑共济失调(spinocerebellar ataxias,SCA)是以一系列神经系统退行性变为主要表现的疾病,小脑以及其传出、传入纤维的进行性退化为本病的典型特征。本病具有高度的表型异质性,临床表现复杂,各亚型间存在交叉,典型临床表现以小脑性共济失调为主,并伴有构音障碍、眼球运动异常、视力障碍、面肌束颤、锥体束征、运动障碍、痴呆、癫痫、下运动神经元病以及感觉性周围神经病等。随着SCA1的致病基因被定位克隆后[1],针对本病的基因研究在全世界展开,相继发现了多种不同的致病基因。目前SCA的遗传学分类得到广泛认可,已发现有32种SCA亚型,编号为SCA1-SCA37(其中SCA9未确定,SCA15与SCA16相同,SCA19与SCA22相同,SCA24为常染色体隐性遗传的SCA,SCA33未编号)。

既往研究显示,SCAs所有亚型中以SCA1、2、3、6、7亚型发病率最高,不同地区人群中各亚型分布又有差异,SCA1在意大利、南非、波兰常见,SCA2在意大利、捷克、古巴、印度、墨西哥常见,SCA3在巴西、中国、葡萄牙、日本、德国常见,SCA6在芬兰、瑞典、南非、澳大利亚常见[2],这种差异与种族及地域有关。我国大样本流行遗传病学显示[3]中国大陆SCA患者以3型最常见,其次为1、2型,6、7、12、17、35型仅有较少报道。重庆地区亦是SCA发病率较高的地区之一,目前尚缺乏较大样本量的遗传学研究,因此我们对重庆地区10个SCA家系和9例散发SCA患者进行常见SCA亚型致病基因的遗传学筛查,并对患者临床表现和影像学特征进行分析。

1 对象与方法

1.1 研究对象

所有研究对象来自于重庆地区2011-2014年间,于重庆医科大学附属第一、第二医院诊断为脊髓小脑共济失调的患者,取得书面知情同意,获得重庆医科大学附属第二医院伦理委员会批准。10个家系均为常染色体显性遗传,共取得血液标本47例(男性22例,女性25例),其中患者19例(男性11例,女性8例)。取得散发患者血液标本9例(男性5例,女性4例),临床诊断均符合Harding标准[4]。所有受试者为汉族人群,无酒精及药物滥用、中毒、炎症、脑血管病、小脑肿瘤等可能引起小脑共济失调的其他疾病。家系及散发患者之间均无血缘关系。健康对照入选标准:同期在重庆医科大学附属第二医院体检中心进行体检的20名健康成人(男性10名,女性10名),汉族,无家族遗传病史,与上述患者间均无血缘关系。

1.2 实验方法

1.2.1 全血基因组DNA提取 采取SCA患者、家系成员及健康对照者肘正中静脉血2 mL,使用EDTA-K2抗凝,采用全血基因组DNA提取试剂盒(北京天根)提取基因组DNA。

1.2.2 PCR引物设计 利用引物设计软件Primer Premier 5.0设计了SCA1、SCA2、SCA3、SCA6、SCA7、SCA12、SCA17、DRPLA致病基因PCR扩增引物(表1),由北京华大科技有限公司合成。

表1 引物序列及退火温度

分型	致病基因	引物序列(5′→3′)	退火温度(℃)
SCA1	ATXN1	CAACATGGGCAGTCTGAG	57
		AACTGGAAATGTGGACGTA	
SCA2	ATXN2	GGGCCCCTCACCATGTCG	57
		CGGGCTTGCGGACATTGG	
SCA3	ATXN3	CCAGTGACTACTTTGATTCG	57
		CTTACCTAGATCACTCCCAA	
SCA6	CACNA1A	CACGTGTCCTATTCCCCTGTGATCC	62~57[a]
		TGGGTACCTCCGAGGGCCGCTGGTG	
SCA7	ATXN7	TGTTACATTGTAGGAGCGGAA	62~57[a]
		CACGACTGTCCCAGCATCACTT	
SCA12	PPP2R2B	TGCTGGGAAAGAGTCGTG	60
		GCCAGCGCACTCACCCTC	
SCA17	TBP	ATGCCTTATGGCACTGGACTG	60
		CTGCTGGGACGTTGACTGCTG	
DRPLA	ATN1	TCAGAGACCCCAGGGAGGGAGACAT	65
		TAGCCAACAGCAATGCCCATCCAG	

a:使用touch-down的方法进行PCR扩增

1.2.3 PCR扩增 50 μL体系进行PCR反应,反应条件:95 ℃预变性5 min,95 ℃变性30 s,退火30 s(温度见表1),72 ℃延伸40 s,30个循环,最后72 ℃延伸5 min。

1.2.4 PCR产物检测与测序 采用2%琼脂糖凝胶电泳对产物进行检测,对电泳异常条带进行切胶回收(SnaPrep柱式DNA胶回收试剂盒,北京天根),对回收后的异常条带采用反向引物直接测序(ABI 3130遗传分析仪),计数CAG三核苷酸重复次数。正常对照组所有条带进行切胶回收测序。

1.3 临床资料及影像学检查

由统一培训的医师对所有研究对象进行详细的病史采集及体格检查,对SCAs家系进行家系调查,绘制家系图。使用荷兰Philips公司生产的3.0T磁共振仪(Achieva 3.0T TX)对7例家系患者及9例散发患者进行脑部影像学检查,并对脑萎缩程度进行评分:0分为正常,1分为轻度萎缩,2分为中度萎缩,3分为重度萎缩。

2 结果

2.1 基因检测结果

10个SCA家系中8个家系为SCA3型,另2个家系和9例散发患者均未能明确其遗传分型,所有家系外健康对照未检测到SCA3异常条带。本研究未发现SCA1、SCA2、SCA6、SCA7、SCA12、SCA17及DRPLA型患者。

8个SCA3家系中,共检出患者15例(男性9例,女性6例),突变基因CAG重复次数为58~71(65.20±4.25)次;症状前患者7例(男性3例,女性4例),突变等位基因CAG重复次数为56~71(62.86±5.36)次,均为杂合子;确认正常亲属19例。正常对照组CAG重复次数为8~39次。

2.2 家系分析

10个家系均为常染色体显性遗传。15例SCA3患者中有8例遗传自父系,7例遗传自母系。8例父系传递的患者中除1例患者亲代发病年龄不详外,其余7例均出现了遗传早现现象,发病年龄提前3~22年。7例母系遗传的患者中,仅2例出现了遗传早现现象,发病年龄较亲代提前2~3年。全部7例症状前患者中,4例父系传递者CAG重复次数均较亲代增加2个;而3例母系传递者CAG重复次数较亲代相同或减少1~2次。

2.3 临床资料

经基因检测明确为SCA3型的8个家系中,参与本研究的15例患者发病年龄为41~58(49.6±5.6)岁,病程2~22年。9例散发患者发病年龄为24~67(48.4±15.2)岁,病程1~14年。所有患者有不同程度的小脑性共济失调及构音障碍,部分患者有腱反射异常、肌张力异常、眼球震颤、眼睑退缩、肌肉萎缩、眼肌麻痹、病理征阳性、肢体麻木、肌束颤动、面肌束颤、慢眼运动,未发现痴呆及癫痫的患者。患者临床资料见表2。

2.4 影像学资料

5例SCA3患者、2例未分型家系患者以及9例散发患者进行了头颅磁共振扫描,其中除1例散发患者大脑、小脑、脑干均未见萎缩外,其他患者均存在不同程度的幕下脑萎缩,而幕上脑萎缩较少见且程度轻微、部位局限。脑干萎缩以脑桥萎缩多见并程度更为严重,小脑萎缩以小脑蚓较严重,尤以上蚓部明显,部分SCA3患者小脑半球未见明显萎缩。两例病程较长的SCA3患者出现了脑干萎缩,而病程较短的SCA3患者未出现脑干萎缩。患者影像学资料及发病年龄、病程、CAG重复次数之间的关系见表3,表4显示,散发患者较SCA3患者小脑萎缩程度更严重。脑部MRI结果显示,SCA3患者小脑蚓部萎缩,上小脑蚓尤为明显,脑沟增宽、变深,脑干形态基本正常,脑桥腹侧弧度存在,第四脑室扩大。SCA患者小脑整体萎缩变小,脑沟增多增宽,脑干明显萎缩,脑桥腹侧弧度完全消失,桥脑前池、小脑上池、第四脑室、枕大池明显扩大,第四脑室与枕大池相交通(图1)。

表2 脊髓小脑共济失调患者临床资料(%)

临床症状	散发患者(n=9)	SCA3患者(n=15)
共济失调	100	100
构音障碍	100	100
腱反射异常	56	80
腱反射增高	56	60
腱反射减弱	0	20
肌张力异常	33	47
肌张力增高	11	13
肌张力减低	22	27
眼球震颤	33	67
肌肉萎缩	22	47
眼肌麻痹	56	47
病理征阳性	33	40
眼睑退缩	0	33
肢体麻木	22	33
肌束颤动	11	27
面肌束颤	0	27
慢眼运动	11	20
癫痫	0	0
痴呆	0	0

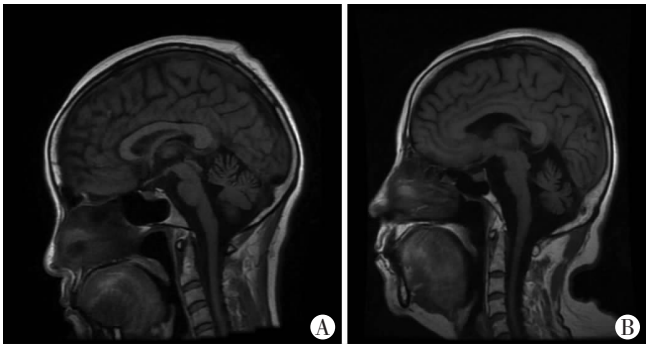
表3 脊髓小脑共济失调患者脑萎缩程度的评分结果

患者	萎缩部位					发病年龄(岁)	病程(年)	CAG重复次数
	小脑蚓部	小脑半球	中脑	脑桥	延髓			
家系1[a]	1	1	0	0	0	58	2	67
家系2[a]	2	1	0	1	1	56	11	58
家系3[a]	1	0	0	0	0	48	2	69
家系4[a]	1	1	1	3	1	44	22	64
家系5[a]	1	0	0	0	0	50	4	71
家系6[a]	1	0	0	0	1	46	2	-
家系7[a]	1	0	0	0	0	52	6	-
散发1	1	1	0	0	0	27	4	-
散发2	2	1	0	1	0	42	2	-
散发3	3	2	0	3	1	55	1	-
散发4	3	2	0	2	0	55	1	-
散发5	3	2	0	2	1	46	2	-
散发6	3	1	0	1	0	59	1	-
散发7	3	1	1	0	2	24	14	-
散发8	1	1	0	0	0	58	2	-
散发9	0	0	0	0	0	70	12	-

a:先证者

表4 脊髓小脑共济失调患者各部位脑萎缩程度的平均得分结果

患者类型	患者例数	发病年龄（岁，$\bar{x}\pm s$）	各部位脑萎缩程度平均评分（分）				
			小脑蚓部	小脑半球	中脑	脑桥	延髓
SCA3患者	5	51.2±5.8	1.2	0.5	0.2	0.8	0.4
散发患者	9	48.4±15.2	2.1	1.2	0.1	1	0.4



A:SCA3患者;B:散发患者

图1 脊髓小脑共济失调患者脑部MRI表现

3 讨论

SCA是一类由基因异常导致的神经退行性疾病，主要累及小脑及其纤维，同时累及基底节区、脑干神经核团、锥体束、脊髓的前角及后索以及周围神经。因此其临床表现相当复杂，除极少数的SCA表现出的症状或退变模式有极强的诊断价值，比如SCA7的视黄醛退变，SCA11的tau蛋白聚集，SCA20的齿状钙化，SCA31的浦肯野细胞层蛋白沉积，SCA32的无精子症，以及SCA34的皮神经表型[5]，多数SCA需要行基因检测确诊。既往研究发现中国大陆家系及散发患者均以SCA3型多见，SCA1也是较为常见的亚型之一[3,6]。本研究中发现80%的家系患者为SCA3型，未发现散发SCA3患者，提示SCA3型也是重庆地区最常见的亚型，与以往研究结果一致，未发现其他SCA亚型，可能由于其他亚型发病率较低且本研究样本量较小导致。

SCA3的致病基因为ATXN3，定位于14q32.1，是由于编码区CAG序列重复扩增所致，属于多聚谷氨酰胺疾病[7]。各地区SCA3患者CAG重复次数均有一定差异，巴西为65~89次[2]，葡萄牙为65~85次[8]，日本为61~84次[9]，国外报道的最低CAG重复次数为45次[10]。而我国SCA3患者的最低致病CAG重复次数普遍较国外偏小，广西为59~70次[11]，湖南为49~86次[3]，四川为59~81次[12]，香港地区是59~74次[13]，国内报道的SCA3患者最低CAG重复次数为43次[14]，较国外偏小。本研究中SCA3患者CAG重复次数为58~71次，症状前患者CAG重复次数为56~71次，最低致病小CAG重复次数与国内其他地区较为接近。而最高致病CAG重复次数较四川及湖南地区偏低，与香港、广西地区接近，考虑到本研究及后两个研究样本量偏小可能存在选择性偏移。以往研究报道平均发病年龄为40岁，而本研究平均发病年龄为49.6岁，存在显著性差异，可能由于本研究缺乏较大CAG重复次数的样本所致。

本病的主要临床特点为遗传早现及表型异质性，遗传早现与突变基因在减数分裂中的不稳定性复制有关。本研究中有9例SCA3患者发病年龄提前，其中7例为父系传递，且父系传递患者较母系传递患者发病年龄提前更多；4例CAG重复次数较亲代增加的症状前患者均为男性。SCA3的遗传早现，在父系传递患者中尤为突出，这与文献[15]报道一致。文献[3]报道CAG重复次数与发病年龄成负相关，而与病情严重程度成正相关。但本研究中来自不同家系的2例患者基因仅相差1个CAG重复序列，但发病年龄却相差14岁。可见来自同一地区同一民族不同家系的患者，即使具有相同或相似的CAG重复次数发病年龄却可以相差很大。导致这一现象的机制尚不明确，可能与遗传印记、修饰基因、ATXN3的基因多态性及环境因素有关[16]。尸检发现SCA患者大脑皮层、基底节区、丘脑、中脑、脑桥、延髓以及小脑出现的神经元的广泛丢失[5]。这也部分解释了本病表型异质性的病理基础，不仅在不同家系患者之间临床表现不同，同一家系不同患者临床表现也可能千差万别。从表2中可见SCA3患者及散发患者临床表现差异不大，从临床表现上完全无法区分SCA各亚型，基因诊断是唯一确诊方法。

影像学显示SCA3患者及大部分散发患者均有小脑萎缩，部分患者有脑干萎缩，大脑萎缩少见且部位局限，散发患者幕下脑萎缩程度较SCA3患者萎缩更严重。本研究中2例存在脑干萎缩的SCA3患者病程分别为11年及22年，而病程较短的3例患者尚未出现脑干萎缩。这提示SCA3患者脑干萎缩程度可能与其病程相关，病程越长，脑干萎缩越严重，而散发患者病程与脑干萎缩程度无相关性。由于本研究样本量较少，未发现SCA3患者幕下脑萎缩程度与CAG重复次数之间的关系。而其他学者在排除发病年龄及CAG重复次数的影响后，发现患者的年龄是与脑萎缩程度相关的一个独立因素，即使晚发病的老年患者也可出现严重的脑萎缩[17]。脑干萎缩以脑桥萎缩多见且程度更为严重，而小脑萎缩在小脑蚓部尤为明显，部分

SCA3患者小脑半球未见明显萎缩,提示小脑蚓部较小脑半球受损更加严重。国外有学者对SCA2患者进行脑磁共振波谱扫描(MRS)后发现小脑蚓部NAA/Cr及Cho/Cr均减低,而小脑半球NAA/Cr轻度降低,Cho/Cr正常[18]。国内学者对SCA3及SCA7患者进行了类似研究得出相同的结果[19]。这些研究从另一个角度印证了小脑蚓部受损较小脑半球更加严重的观点。

本病治疗困难,目前主要为对症治疗,尚缺乏根治性治疗的方法。国外已有学者使用小干扰RNA成功地沉默了哺乳动物模型中突变的ATXN3基因[20]。这为预防症状前患者的发病起到了极大的推动作用,但该技术目前仅限于基础研究,是否能够安全有效的应用于人类还有待进一步研究。因此产前诊断[21]及胚胎植入前基因诊断[22]变得尤为重要,是目前已成功应用于人体并能够从根本上降低本病患病率的安全、有效的方式。

参考文献:

[1] Orr H T, Chung M Y, Banfi S, *et al*. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1[J]. Nat Genet, 1993, 4(3): 221-226.

[2] de-Castilhos R M, Furtado G V, Gheno T C, *et al*. Spinocerebellar ataxias in Brazil--frequencies and modulating effects of related genes[J]. Cerebellum, 2014, 13(1): 17-28.

[3] 王俊岭, 沈璐, 雷立芳, 等. 中国大陆脊髓小脑性共济失调家系和散发病例的最新基因突变分析[J]. 中南大学学报: 医学版, 2011, 36(6): 482-489.

[4] Harding A E. Clinical features and classification of inherited ataxias[J]. Adv Neurol, 1993, 61: 1-14.

[5] Seidel K, Siswanto S, Brunt E R, *et al*. Brain pathology of spinocerebellar ataxias[J]. Acta Neuropathol, 2012, 124(1): 1-21.

[6] 刘丹, 郭洪, 王凯, 等. 脊髓小脑性共济失调一家系的遗传学研究[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(11): 1152-1154.

[7] Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, *et al*. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1[J]. Nat Genet, 1994, 8(3): 221-228.

[8] Silveira I, Miranda C, Guimaraes L, *et al*. Trinucleotide repeats in 202 families with ataxia: a small expanded (CAG)n allele at the SCA17 locus[J]. Arch Neurol, 2002, 59(4): 623-629.

[9] Maruyama H, Nakamura S, Matsuyama Z, *et al*. Molecular features of the CAG repeats and clinical manifestation of Machado-Joseph disease[J]. Hum Mol Genet, 1995, 4(5): 807-812.

[10] Padiath Q S, Srivastava A K, Roy S, *et al*. Identification of a novel 45 repeat unstable allele associated with a disease phenotype at the MJD1/SCA3 locus[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2005, 133B(1): 124-126.

[11] 谭建强, 汪萍, 胡启平, 等. 广西地区脊髓小脑性共济失调病人的基因诊断和CAG重复扩增[J]. 遗传, 2009, 31(6): 605-610.

[12] 陈朴, 马明义, 商慧芳, 等. 常染色体显性小脑性共济失调致病基因动态突变位点三核苷酸重复变异的研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2009, 26(6): 626-633.

[13] Lau K K, Lam K, Shiu K L, *et al*. Clinical features of hereditary spinocerebellar ataxia diagnosed by molecular genetic analysis[J]. Hong Kong Med J, 2004, 10(4): 255-259.

[14] 于佳, 马建华, 张小宁, 等. 一个遗传性共济失调3型家系中致病ATXN3中间类型等位基因分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2010, 27(2): 190-193.

[15] Paulson H. Machado-Joseph disease/spinocerebellar ataxia type 3[J]. Handb Clin Neurol, 2012, 103: 437-449.

[16] McGurk L, Bonini N M. Protein interacting with C kinase (PICK1) is a suppressor of spinocerebellar ataxia 3-associated neurodegeneration in Drosophila[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(1): 76-84.

[17] Onodera O, Idezuka J, Igarashi S, *et al*. Progressive atrophy of cerebellum and brainstem as a function of age and the size of the expanded CAG repeats in the MJD1 gene in Machado-Joseph disease[J]. Ann Neurol, 1998, 43(3): 288-296.

[18] Boesch S M, Wolf C, Seppi K, *et al*. Differentiation of SCA2 from MSA-C using proton magnetic resonance spectroscopic imaging[J]. J Magn Reson Imaging, 2007, 25(3): 564-569.

[19] 陈岩, 张佩兰, 程焱. 磁共振波谱、弥散张量成像检查诊断脊髓小脑性共济失调的价值[J]. 山东医药, 2012, 52(29): 23-25.

[20] Miller V M, Xia H, Marrs G L, *et al*. Allele-specific silencing of dominant disease genes[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(12): 7195-7200.

[21] Tsai H F, Liu C S, Chen G D, *et al*. Prenatal diagnosis of Machado-Joseph disease/Spinocerebellar Ataxia Type 3 in Taiwan: early detection of expanded ataxin-3[J]. J Clin Lab Anal, 2003, 17(5): 195-200.

[22] Drusedau M, Dreesen J C, De-Die-Smulders C, *et al*. Preimplantation genetic diagnosis of spinocerebellar ataxia 3 by (CAG)(n) repeat detection[J]. Mol Hum Reprod, 2004, 10(1): 71-75.

(**收稿**:2014-09-16;**修回**:2014-10-09)

(编辑 王小寒)