

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2019.01.0014

· 论 著 ·

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患者临床表型与 *NOTCH3* 基因型的关系

翟宇, 苏敬敬*

上海交通大学医学院附属第九人民医院神经内科, 上海 200011

[摘要] **目的** 探讨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 (CADASIL) 患者 *NOTCH3* 基因不同外显子突变与临床表型间的关联。**方法** 以 2015 年 5 月至 2017 年 12 月于上海交通大学医学院附属第九人民医院就诊的有临床症状的 15 个家系 30 例 CADASIL 患者作为研究对象, 采集患者详细临床资料和基因分析结果, 并对患者 *NOTCH3* 基因不同外显子突变与发病年龄、首发临床症状、症状性缺血性脑卒中发作次数等临床表型间的关系进行分析。**结果** 15 个家系中共检出 *NOTCH3* 基因不同突变位点 12 个, 其中 7 个位于 4 号外显子, 3 个位于 11 号外显子, 另外 2 个分别位于 19 号和 20 号外显子。11 号外显子突变的患者发病年龄最晚 [(53.6±13.3) 岁, $n=7$], 其次为 4 号外显子突变的患者 [(42.7±5.7) 岁, $n=15$], 而其他外显子 (19 号和 20 号) 突变的患者发病年龄 [(33.5±7.5) 岁, $n=8$] 均早于 4 号和 11 号外显子突变的患者 ($P<0.01$, $P<0.05$)。4 号外显子突变的患者以运动、语言障碍起病占多数 (11/15, 73.3%), 而 19 号、20 号外显子突变的患者以认知障碍起病多见 (7/8, 87.5%)。4 号外显子突变的患者症状性缺血性脑卒中发作次数中位数为 3 次, 11 号外显子突变的患者为 2 次, 而 19 号、20 号外显子突变的患者均未发生症状性缺血性脑卒中。**结论** 在 CADASIL 患者中, *NOTCH3* 基因 4 号和 11 号外显子为突变热点, 不同外显子突变与发病年龄、发病症状和症状性缺血性脑卒中的发生之间存在一定关联。

[关键词] 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; *NOTCH3* 基因; 表型; 基因型

[中图分类号] R 743

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2019)01-0014-06

Relationship between clinical phenotype and *NOTCH3* genotype in patients with cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy

ZHAI Yu, SU Jing-jing*

Department of Neurology, Ninth People's Hospital of Shanghai, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between exon mutations of *NOTCH3* gene and clinical phenotype in patients with cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL). **Methods** We consecutively included 30 CADASIL patients with clinical symptoms in 15 pedigrees, who visited Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine from May 2015 to Dec. 2017, and collected the clinical data and genetic analysis results. Furthermore, we analyzed the relationship between the exon mutations of *NOTCH3* gene and clinical phenotypes, including age at onset, first clinical symptoms and frequency of symptomatic ischemic stroke. **Results** Twelve mutation sites of *NOTCH3* gene were detected in the 15 pedigrees. Seven of them were located in exon 4, 3 in exon 11, 1 in exon 19, and 1 in exon 20. The onset age of the patients carrying exon 11 mutations was the latest [(53.6±13.3) years, $n=7$], followed by the patients carrying exon 4 mutations [(42.7±5.7) years, $n=15$]. The onset age of 8 patients with mutations in other exons (exon 19 and 20) was (33.5±7.5) years, which was significantly earlier compared with the patients with exon 4 and 11 mutation ($P<0.01$ and $P<0.05$). Most of the patients with mutations of exon 4 had motor and speech disorders (11/15, 73.3%), while ones with mutations of exon 19 and 20 had cognitive impairment (7/8, 87.5%). Most of the patients (11/15, 73.3%) carrying mutations in exon 4 had motor and speech disorders at onset, while 7 of 8 patients (87.5%) with mutations in exon 19 and exon 20 had impaired cognition at onset. The times of symptomatic ischemic stroke in patients with mutations in exon 4 was 3 (median) and in patients with mutations in exon 11 was 2 (median), and no symptomatic

[收稿日期] 2018-06-04

[接受日期] 2018-11-29

[作者简介] 翟宇, 硕士, 主任医师. E-mail: diyumail@126.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-23271699, E-mail: jingjingsu2000@163.com

ischemic stroke occurred in the patients with mutations in exon 19 and 20. **Conclusion** Exon 4 and exon 11 of *NOTCH3* gene are hotspots of mutations in the cohort of CADASIL cases, and the mutations in different exons are associated with onset age, first symptoms and symptomatic ischemic stroke.

[Key words] cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy; *NOTCH3* gene; phenotype; genotype

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(1): 14-19]

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 (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, CADASIL) 是目前已知的最常见的遗传性脑小血管病, 其因位于 19 号染色体上的 *NOTCH3* 基因突变所致, 最常见的临床表现为偏头痛、反复脑卒中发作、血管性痴呆以及情绪异常等^[1]。文献报道约 95% 的突变位于 *NOTCH3* 基因 2~24 号外显子上^[2]。*NOTCH3* 基因突变后, 诱导该基因细胞外表皮生长因子样重复序列区域的半胱氨酸残基数目发生改变, 最终导致脑血管平滑肌细胞嗜银颗粒和 *NOTCH3* 蛋白沉积, 使管腔狭窄, 从而促使缺血性脑卒中中发作^[1]。目前有关 CADASIL 临床表型与 *NOTCH3* 基因型间相关性的研究甚少^[2-4]。本研究通过分析 30 例有临床症状的 CADASIL 患者的临床特征及 *NOTCH3* 基因突变谱, 初步探讨两者间的关联。

1 对象和方法

1.1 研究对象 选择 2015 年 5 月至 2017 年 12 月期间于上海交通大学医学院附属第九人民医院神经内科就诊的有临床症状的 CADASIL 患者作为研究对象, 共 15 个家系 30 例患者, 这些患者来自上海、江苏、浙江、安徽、江西、辽宁 6 个省市地区。收集患者详细的临床资料, 包括病史、体格检查资料、影像学检查资料及认知功能评分。认知功能采用简易智力状态检查 (mini-mental state examination, MMSE) 量表进行评分, 量表总分 30 分。评分标准: 27~30 分为认知正常; <27 分为认知功能障碍, 其中 21~26 分为轻度认知功能障碍, 10~20 分为中度认知功能障碍, 0~9 分为重度认知功能障碍。本研究得到上海交通大学医学院伦理委员会审批, 所有患者均签署知情同意书。

1.2 *NOTCH3* 基因测序 采集所有患者的静脉血, 用 DNA 试剂盒抽提 DNA, 根据 *NOTCH3* 基因第 2~24 号外显子序列设计引物, 将 PCR 产物行双向测序扩增, 发现的错义突变位点在

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/> 上进行核对。同时, 通过 PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)、Mutation taster (<http://www.mutationtaster.org/>) 和 SIFT (<http://sift.jcvi.org/>) 等生物信息学工具对新发突变后蛋白结构和功能改变进行分析, 并进行家系共分离分析; 通过 ExAC 数据库 (<http://exac.broadinstitute.org/>) 分析基因突变频率, 最后证实为致病突变。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 或中位数表示, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验, 检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 CADASIL 患者临床特征 15 个家系中 11 个家系 (73.3%) 的患者有家族史。30 例患者的临床资料见表 1。30 例患者的发病年龄为 (42.8±10.8) 岁, 首发症状以运动和语言障碍最常见 (13 例, 43.3%), 其次是认知障碍 (9 例, 30.0%)、头痛 (5 例, 16.7%), 晕厥、视物模糊和头晕各 1 例 (10.0%)。30 例患者中症状性缺血性脑卒中发生次数中位数为 3 次。病程中仅 1 例 (3.3%) 发生脑实质出血; 6 例 (20.0%) 发生偏头痛, 均为无先兆型偏头痛, 发生首次偏头痛时的年龄为 (35.8±10.3) 岁。在脑血管病危险因素方面, 合并高血压 2 例 (6.7%), 合并糖尿病 1 例 (3.3%), 吸烟 9 例 (30.0%)。所有患者经 MMSE 量表进行评分, 认知正常 9 例 (30.0%), 轻度认知功能障碍 10 例 (33.3%), 中度至重度认知功能障碍 11 例 (36.7%)。所有患者头颅磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) T2 加权像和 FLAIR 成像均可见皮质下白质病变。

2.2 *NOTCH3* 基因突变位点 15 个家系中共检出 12 个 *NOTCH3* 基因不同突变位点 (表 2), 典型的基因突变测序图谱见图 1。12 个突变位点均为杂合突变, 除 1 个为新发现的突变外, 其余均为已知突变。该新发现的突变为位于 20 号外显子上的 p.Arg1100His。12 个 *NOTCH3* 基因不同突

变位点中,7个(58.3%)位于4号外显子,3个(25.0%)位于11号外显子,另外2个分别位于19号和20号外显子。因此,4号外显子和11号外显子为突变热点。该12个NOTCH3基因突变位点均位于34个表皮生长因子样重复序列的细胞外区域(图2)。在12个突变位点中,有11个涉及半胱氨酸残基数目改变(11/12,91.7%)。

表1 CADASIL患者基本临床资料

Tab 1 Baseline clinical data of CADASIL patients

Clinical manifestation	Value
Male/female <i>n</i>	15/15
Age at onset (year), $\bar{x} \pm s$	42.8 ± 10.8
Clinical symptoms at onset <i>n</i> (%)	
Movement and speech impairment	13 (43.3)
Cognition impairment	9 (30.0)
Headache	5 (16.7)
Syncope, visual ambiguity and dizziness	3 (10.0)
Symptomatic ischemic stroke times <i>M</i>	3
Cerebral hemorrhage <i>n</i> (%)	1 (3.3)
Migraine	
Number of cases <i>n</i> (%)	6 (20.0)
Age at the first migraine (year), $\bar{x} \pm s$	35.8 ± 10.3
Vascular risk factor <i>n</i> (%)	
Hypertension	2 (6.7)
Diabetes	1 (3.3)
Smoking	9 (30.0)
Cognition score for MMSE <i>n</i> (%)	
Normal cognition function	9 (30.0)
Mild cognition impairment	10 (33.3)
Moderate and severe cognition impairment	11 (36.7)
Subcortical white matter lesions in MRI <i>n</i> (%)	30 (100.0)

CADASIL: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy; MMSE: Mini-mental state examination; MRI: Magnetic resonance imaging; M: Median

2.3 CADASIL患者临床表型与NOTCH3基因型的关联 对CADASIL发病年龄与NOTCH3基因不同外显子突变之间的关联进行分析发现,15例4号外显子突变的患者发病年龄为(42.7±5.7)岁,7例11号外显子突变的患者发病年龄为(53.6±13.3)岁,8例其他外显子(包括19号和20号外显子)突变的患者发病年龄为(33.5±7.5)岁,提示11号外显子突变的患者发病年龄最晚,而少见的外显子突变如19号、20号突变的患者发病年龄早于4号和11号外显子突变的患者($P < 0.01$, $P < 0.05$)。对CADASIL患者发病年龄与NOTCH3基因突变半胱氨酸是否受累之间的关联进行分析发现,23例半胱氨酸受累的患者发病年龄为(43.9±4.6)岁,而7例未受累的患者发病年龄为(33.3±8.1)岁,半胱氨酸未受累患者的发病年龄低于半胱氨酸受累的患者($P < 0.01$)。

对CADASIL首发临床症状与NOTCH3基因不同外显子突变之间的关联进行分析发现,在15例4号外显子突变的患者中,首发症状为运动和语言障碍的患者最多(11/15,73.3%),其次是头痛(2/15,13.3%),其他包括晕厥、视物模糊各1例(1/15,6.7%);在7例11号外显子突变的患者中,首发症状为头痛的患者3例(42.9%),运动和语言障碍2例(28.6%),认知障碍2例(28.6%);在8例其他外显子(19号、20号)突变患者中,首发症状以认知障碍最常见(87.5%),头晕仅有1例(12.5%)。提示NOTCH3基因4号外显子突变的患者以运动、语言障碍起病占多数,而非突变热点位点(19号、20号外显子)突变的患者以认知障碍起病更多见。

表2 CADASIL患者NOTCH3基因突变位点

Tab 2 NOTCH3 gene mutation sites in CADASIL patients

Exon	Nucleotide alteration	Protein alteration	Involvement of cysteine residues	Number of patients
4	c.397C>T	p.Arg133Cys	Yes	3
	c.401G>A	p.Cys134Tyr	Yes	1
	c.421C>T	p.Arg141Cys	Yes	3
	c.457C>T	p.Arg153Cys	Yes	2
	c.544C>T	p.Arg182Cys	Yes	4
	c.566A>G	p.Tyr189Cys	Yes	1
	c.602G>A	p.Cys201Tyr	Yes	1
11	c.1630C>T	p.Arg544Cys	Yes	1
	c.1759C>T	p.Arg587Cys	Yes	1
	c.1819C>T	p.Arg607Cys	Yes	5
19	c.3091C>T	p.Arg1031Cys	Yes	1
20	c.3299G>A	p.Arg1100His	No	7

CADASIL: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy

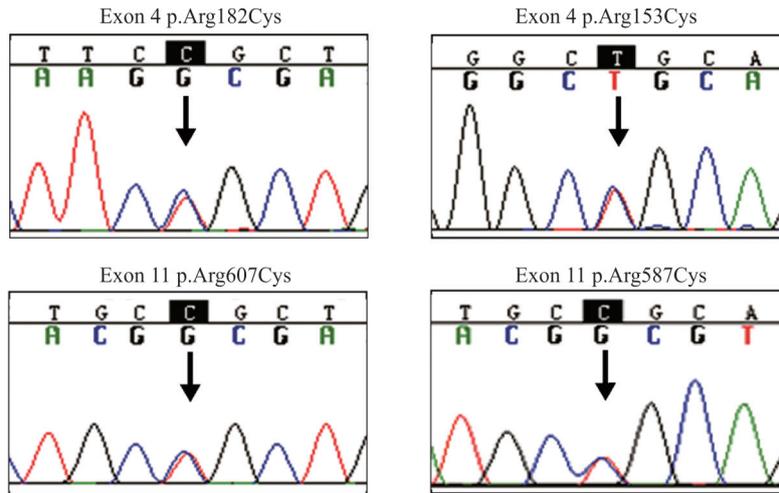


图 1 CADASIL 患者典型的 NOTCH3 基因突变测序图谱

Fig 1 Typical sequencing maps of NOTCH3 gene mutations in CADASIL patients

CADASIL: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy

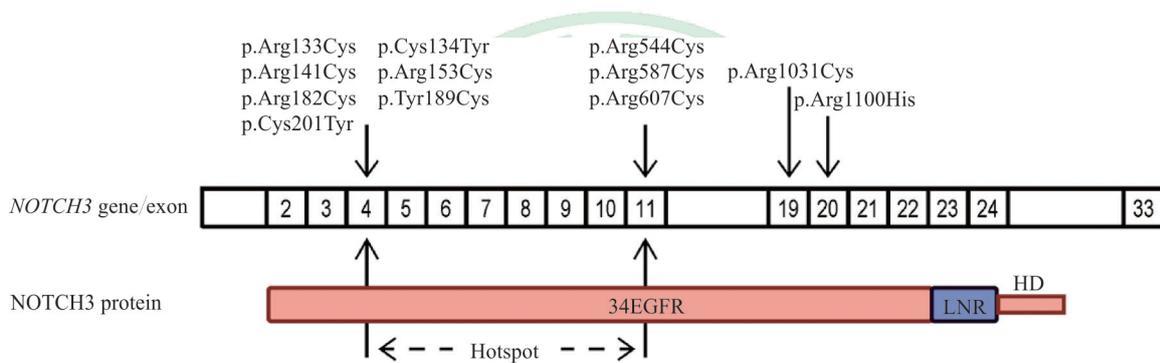


图 2 CADASIL 患者 NOTCH3 基因结构域示意图

Fig 2 Sketch map in domain of NOTCH3 gene in CADASIL patients

CADASIL: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy; EGFR: Epidermal growth factor-like repeat; LNR: Lin12-NOTCH repeat; HD: Heterodimerization domain

对 NOTCH3 基因不同外显子突变的患者与症状性缺血性脑卒中发作次数的关联进行分析发现, 4 号外显子突变的患者症状性缺血性脑卒中发作次数中位数为 3 次, 11 号外显子突变的患者为 2 次, 而其他外显子 (19 号、20 号) 突变的患者并未发生症状性缺血性脑卒中。

3 讨论

目前文献报道的 CADASIL 患者发病年龄并不一致。Liao 等^[5]报道的中国台湾 CADASIL 患者发病年龄最晚, 平均为 54 岁; 而 Adib-Samii 等^[6]报道的英国 CADASIL 患者发病年龄最低, 平均约 33 岁; Chen 等^[2]报道的中国东部、东南部 CADASIL 患者平均发病年龄介于上述两者之间, 约为 45 岁。本研究发现中国东部 CADASIL 患者平均发病年龄约 42 岁, 与 Chen 等^[2]报道相近。对于

CADASIL 患者首发临床症状的研究并不多。Liao 等^[5]发现 13.8% 的患者以步态异常起病, 17.4% 的患者以认知障碍起病, 仅有 1.8% 的患者以偏头痛起病。本研究发现, 43.3% 的患者以运动和语言障碍起病, 30.0% 的患者以认知障碍起病, 而 16.7% 的患者以偏头痛起病, 提示中国东部 CADASIL 患者以运动和语言障碍、认知障碍、偏头痛症状起病的患者比例较高。

来自中国台湾的两项研究显示 CADASIL 患者脑出血发生率较高, 分别为 16.2%^[5]和 23.8%^[7], 而中国大陆 Chen 等^[2]的研究和本研究结果均显示脑出血发生率约 3% 左右, 提示中国大陆 CADASIL 患者脑出血发生率可能较低。国外报道 CADASIL 患者偏头痛发作以有先兆型偏头痛多见, 其中白种人有先兆型偏头痛见于 20%~40% 的患者^[1]; 英国一项研究甚至发现 CADASIL 患

者有先兆型偏头痛发病率高达75%^[6]。国内Chen等^[2]报道CADASIL患者先兆型偏头痛发病率为17.2%，明显低于国外报道。本研究30例CADASIL患者中6例发生偏头痛，发病率为20.0%，与Chen等^[2]报道类似，但均为无先兆型偏头痛。提示国内偏头痛发病率偏低，发作类型可能存在多样性。

既往研究认为CADASIL患者一般无脑血管病危险因素^[1]，但近年研究认为CADASIL患者与散发性脑小血管病患者均可能存在脑血管病危险因素，如高血压、糖尿病、吸烟等，因此不能以此作为两者的鉴别点^[8]，且高血压、吸烟可能会增加CADASIL患者发生脑卒中的风险^[6]。Liao等^[5]研究显示，CADASIL患者中高血压、糖尿病、吸烟的比例分别为39.4%、14.1%、9.7%，而本研究发现CADASIL患者上述危险因素的比例分别为6.7%、3.3%、30.0%。本研究人群中合并高血压、糖尿病的比例较低，但吸烟患者比例较高，提示应加强戒烟宣教，以降低脑卒中的发生风险。

既往研究显示，CADASIL患者NOTCH3基因3、4号外显子为突变热点区域，尤其在白种人群中更常见^[9-11]，且针对中国北方CADASIL患者的研究也得到类似结果^[12]。然而，中国台湾的研究却显示11号外显子为最常见的突变区域，占47.6%；其次是4号和18号外显子，分别占19%；且11号外显子R544C为最常见的突变位点^[5]。Chen等^[2]通过分析中国东南部CADASIL患者NOTCH3基因突变情况，结果也显示11号和4号外显子为突变热点区域，分别占41.07%和33.33%。本研究通过分析中国东部地区15个CADASIL家系NOTCH3基因突变谱，发现在12个突变位点中有7个位于4号外显子，比例最高（58.3%），其次3个位于11号外显子（25.0%），因此4号和11号外显子为本组患者的突变热点区域。据此，我们推测中国不同地区NOTCH3基因突变外显子的热点区域可能存在差别，北部地区以3、4号外显子多见，东部地区以4号外显子多见、其次是11号外显子，而东南部地区包括台湾则以11号外显子更多见，考虑可能为环境与基因共同作用的结果^[13]。

NOTCH3基因细胞外区含34个表皮生长因子样重复序列，该区域由6个保守的半胱氨酸残基序列维持其结构稳定性，NOTCH3基因突变大多为位于该区域的半胱氨酸残基数目发生

改变，从而使该区域结构稳定性受到破坏，最终导致一系列病理过程的发生^[14-15]。此外，目前有少量半胱氨酸残基并未受累的CADASIL患者的病例报道，其临床、影像学表现与半胱氨酸残基受累的患者类似，但发病机制并不完全清楚^[16-19]。Matsushima等^[3]发现7例半胱氨酸残基受累的CADASIL患者颞叶前部呈现MRI高信号征，而在1例无半胱氨酸残基受累的患者中（p.Arg75Pro）并未发现颞极MRI高信号征，因此，他们将CADASIL患者分为两大类：伴颞极MRI高信号征的半胱氨酸残基受累的患者，以及不伴颞极MRI高信号征的无半胱氨酸残基受累的患者。来自日本的一项研究也得出相似的结论^[20]。这些研究使得人们对CADASIL患者临床表型与基因型的关系有了新的认识。

目前有关CADASIL患者发病年龄与基因突变型间的关联研究结果并不一致。Chen等^[2]发现携带11号外显子突变的患者发病年龄一般在50岁左右，较其他外显子突变患者晚；而Liu等^[4]的研究结果却显示，CADASIL患者发病年龄与基因突变谱之间并没有明显相关性。本研究通过分析30例患者发病年龄与突变基因型之间的关系，发现11号外显子突变的患者首发症状年龄最晚 $[(53.6 \pm 13.3)$ 岁]，其次为4号外显子突变的患者 $[(42.7 \pm 5.7)$ 岁]，而19号和20号外显子突变的患者发病年龄 $[(33.5 \pm 7.5)$ 岁]早于4号和11号外显子突变的患者（ $P < 0.01$ ， $P < 0.05$ ）。携带11号外显子突变的患者发病年龄最晚这一结果与Chen等^[2]研究结果一致；但非突变热点区域（如19号、20号外显子）突变的患者发病年龄明显提前，既往未见报道。

本研究还分析了CADASIL首发症状与NOTCH3基因外显子突变的关联，结果发现在4号外显子突变的患者中，以运动和语言障碍起病的患者占多数（11/15，73.3%），而在11号外显子突变的患者中，有较多的患者（3/7，42.9%）以头痛起病，而在非突变热点（19号、20号外显子）突变的患者中则有高达87.5%（7/8）的患者以认知障碍起病。以上结果提示携带不同外显子突变的CADASIL患者其首发临床症状可能存在差异。

综上所述，本研究纳入的CADASIL患者中，NOTCH3基因4号和11号外显子为突变热点，不同外显子突变与起病年龄、起病症状和症状性缺血性脑卒中的发生之间存在一定关联。携带11号外

显子突变的患者发病年龄最晚, 而携带非突变热点(19号和20号外显子)的患者发病年龄明显提前。携带4号外显子突变的患者多数以运动和语言障碍起病, 而携带非突变热点(19号和20号外显子)的患者绝大多数以认知障碍起病。但本研究样本量小, 未来仍需继续收集相关资料, 进一步明确CADASIL患者临床表型与*NOTCH3*基因型的关系。

[参考文献]

- [1] CHABRIAT H, JOUTEL A, DICHGANS M, TOURNIER-LASSERVE E, BOUSSER M G. CADASIL[J]. *Lancet Neurol*, 2009, 8: 643-653.
- [2] CHEN S, NI W, YIN X Z, LIU H Q, LU C, ZHENG Q J, et al. Clinical features and mutation spectrum in Chinese patients with CADASIL: a multicenter retrospective study[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2017, 23: 707-716.
- [3] MATSUSHIMA T, CONEDERA S, TANAKA R, LI Y, YOSHINO H, FUNAYAMA M, et al. Genotype-phenotype correlations of cysteine replacement in CADASIL[J/OL]. *Neurobiol Aging*, 2017, 50: 169.e7-169.e14. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.10.026.
- [4] LIU X, ZUO Y, SUN W, ZHANG W, LV H, HUANG Y, 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.
- [5] LIAO Y C, HSIAO C T, FUH J L, CHERN C M, LEE W J, GUO Y C, et al. Characterization of CADASIL among the Han Chinese in Taiwan: distinct genotypic and phenotypic profiles[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10: e0136501. doi: 10.1371/journal.pone.0136501.
- [6] ADIB-SAMII P, BRICE G, MARTIN R J, MARKUS H S. Clinical spectrum of CADASIL and the effect of cardiovascular risk factors on phenotype: study in 200 consecutively recruited individuals[J]. *Stroke*, 2010, 41: 630-634.
- [7] LEE Y C, LIU C S, CHANG M H, LIN K P, FUH J L, LU Y C, et al. Population-specific spectrum of *NOTCH3* mutations, MRI features and founder effect of CADASIL in Chinese[J]. *J Neurol*, 2009, 256: 249-255.
- [8] HE D, CHEN D, LI X, HU Z, YU Z, WANG W, et al. The comparisons of phenotype and genotype between CADASIL and CADASIL-like patients and population-specific evaluation of CADASIL scale in China[J/OL]. *J Headache Pain*, 2016, 17: 55. doi: 10.1186/s10194-016-0646-5.
- [9] BIANCHI S, ZICARI E, CARLUCCIO A, DI DONATO I, PESCHINI F, NANNUCCI S, et al. CADASIL in central Italy: a retrospective clinical and genetic study in 229 patients[J]. *J Neurol*, 2015, 262: 134-141.
- [10] RUTTEN J W, HAAN J, TERWINDT G M, VAN DUINEN S G, BOON E M, LESNIK OBERSTEIN S A. Interpretation of *NOTCH3* mutations in the diagnosis of CADASIL[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2014, 14: 593-603.
- [11] FEDERICO A, BIANCHI S, DOTTI M T. The spectrum of mutations for CADASIL diagnosis[J]. *Neurol Sci*, 2005, 26: 117-124.
- [12] WANG Z, YUAN Y, ZHANG W, LV H, HONG D, CHEN B, et al. *NOTCH3* mutations and clinical features in 33 mainland Chinese families with CADASIL[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2011, 82: 534-539.
- [13] ABOU AL-SHAAR H, QADI N, AL-HAMED M H, MEYER B F, BOHLEGA S. Phenotypic comparison of individuals with homozygous or heterozygous mutation of *NOTCH3* in a large CADASIL family[J]. *J Neurol Sci*, 2016, 367: 239-243.
- [14] RUTTEN J W, DAUWERSE H G, PETERS D J, GOLDFARB A, VENSELAAR H, HAFFNER C, et al. Therapeutic *NOTCH3* cysteine correction in CADASIL using exon skipping: *in vitro* proof of concept[J]. *Brain*, 2016, 139(Pt 4): 1123-1135.
- [15] MONET-LEPRÊTRE M, BARDOT B, LEMAIRE B, DOMENGA V, GODIN O, DICHGANS M, et al. Distinct phenotypic and functional features of CADASIL mutations in the *Notch3* ligand binding domain[J]. *Brain*, 2009, 132(Pt 6): 1601-1612.
- [16] GE W, KUANG H, WEI B, BO L, XU Z, XU X, et al. A novel cysteine-sparing *NOTCH3* mutation in a Chinese family with CADASIL[J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9: e104533. doi: 10.1371/journal.pone.0104533.
- [17] KIM Y, CHOI E J, CHOI C G, KIM G, CHOI J H, YOO H W, et al. Characteristics of CADASIL in Korea: a novel cysteine-sparing *Notch3* mutation[J]. *Neurology*, 2006, 66: 1511-1516.
- [18] WOLLENWEBER F A, HANECKER P, BAYER-KARPINSKA A, MALIK R, BÄZNER H, MORETON F, et al. Cysteine-sparing CADASIL mutations in *NOTCH3* show proaggregatory properties *in vitro*[J]. *Stroke*, 2015, 46: 786-792.
- [19] BERSANO A, RANIERI M, CIAMMOLA A, CINNANTE C, LANFRANCONI S, DOTTI M T, et al. Considerations on a mutation in the *NOTCH3* gene sparing a cysteine residue: a rare polymorphism rather than a CADASIL variant[J]. *Funct Neurol*, 2012, 27: 247-252.
- [20] UEDA A, UEDA M, NAGATOSHI A, HIRANO T, ITO T, ARAI N, et al. Genotypic and phenotypic spectrum of CADASIL in Japan: the experience at a referral center in Kumamoto University from 1997 to 2014[J]. *J Neurol*, 2015, 262: 1828-1836.