

全基因體定序對兒童神經疾病的診斷率和治療影響

李秀芬^{1,2,3} | 遲景上^{2,3,4,5} | 蔡啟仁¹

1 台中榮民總醫院兒童醫學中心兒童神經科, 台灣省台中市, 中華民國. **2** 中山醫學大學醫學院, 台灣省台中市, 中華民國. **3** 仁德醫護管理專科學校護理科, 台灣省苗栗縣, 中華民國. **4** 童綜合醫療社團法人童綜合醫院兒童醫學部兒童神經科, 台灣省台中市, 中華民國. **5** 國立中興大學生命科學院, 台灣省台中市, 中華民國.

通訊作者: 遲景上, 童綜合醫療社團法人童綜合醫院兒童醫學部兒童神經科, 台灣省 435 台中市梧棲區台灣大道八段 699 號。電子郵件地址: chi-cs@hotmail.com
Maria de las Mercedes Ruiz Brunner, Ludwig-Maximilians-Universität München.

PUBLICATION DATA

Published online

目的 探討全基因體定序 (WGS) 對兒童神經疾病的診斷率及治療影響。

方法 從 2016 年 1 月至 2019 年 12 月, 使用全基因體定序對疑似患有遺傳性神經疾病的兒科病人進行評估。符合條件的病人依其臨床表現型分為四組: 神經發展障礙病人、癲癇病人、神經肌肉疾病病人及運動障礙病人。我們描述全基因體定序的診斷率及經全基因體定序確診後對病人治療的影響。

結果 共有 214 例病人 (男性 128 例, 女性 86 例) 接受了全基因體定序檢測, 病人平均 (SD) 發病年齡為 13.8 (27.6) 個月, 範圍為 1 天至 15 年 5 個月, 接受全基因體定序檢測的平均 (SD) 年齡為 71.7 (58.9) 個月, 範圍從 8 天到 18 歲。43.9% 的病人經由全基因體定序檢測得到診斷, 其中診斷率最高的是神經肌肉疾病病人 62.5%, 其餘依序為癲癇病人 47.5%, 神經發展障礙病人 41.1% 及運動障礙病人 15.4%。94 位經全基因體定序診斷的病人都獲得了遺傳諮詢, 並有 23.4% 的病人在接受全基因體定序確診後立即改變了治療策略。

解釋 全基因體定序使兒童神經科醫師能夠將基因體數據整合到臨床診斷, 並針對此一臨床上遺傳異質性疾病調整治療策略, 進而改善病人的臨床預後。我們的研究中, 顯著比例的病人經由全基因體定序得到診斷 (43.9%), 臨床醫師可依這些結果直接調整病人的治療方向, 進而改善病人的臨床預後 (23.4%)。

兒童神經疾病由多種疾病組成, 從常見的發展遲緩/智力障礙、自閉症譜系障礙及癲癇, 到罕見疾病的神經肌肉、神經代謝及神經退化疾病, 這些疾病的潛在病因差異很大, 其中遺傳因素扮演著關鍵角色, 因此, 基因和基因體檢測已成為診斷兒童神經疾病的主要工具。

傳統方法通常採用臨床特徵、疾病診斷標準及特殊的生化檢驗來進行遺傳檢測, 遺傳檢測方法包括染色體核型分析、螢光染色體原位雜交、多重連接探針擴增技術、染色體晶片、標靶單基因檢測或標靶基因組套檢測, 這些檢測方法對發展遲緩/智力障礙、自閉症譜系障礙、癲癇、早發性癲癇或粒線體疾病病人的診斷率大約為低於 1% 至 33%。¹⁻⁵ 但是, 許多孟德爾神經遺傳疾病具異質性, 且不同的基因變異可能導致類似的臨床表徵, 這些特點使得過去以臨床表現型來篩選進行基因檢測出現困境, 因此, 許多疑似單基因兒童神經疾病病人一直未獲得診斷。

隨著生物信息學和基因體技術的進步, 全外顯子和全基因體定序得以發展, 這是一種高通量篩選的基因定序方法, 專注於基因體蛋白質編碼區域, 進而加速發現全基因體中常見及罕見的基因變異。迄今為止, 全外顯子定序已在臨床上廣泛使用來偵測過去以傳統方法未被診斷病人的遺傳原因, 研究發現, 此檢測方法在神經疾病的診斷率, 可達 20.4% 至 37.5%。^{3,6,7} 儘管如此, 全基因體定序已被證實較全外顯子定序具有較好的基因體覆蓋度, 具有更高的基因體質量, 可檢測單核苷酸變異、拷貝數變異及微小插入/缺失 (indels) 變異。⁸ 因此, 全基因體定序被認為是值得考慮作為替代全外顯子定序的可行檢測方法。

基於上述, 我們對患有神經疾病的兒童進行全基因體定序檢測, 以研究全基因體定序的診斷率及其在基因診斷後的臨床應用。

方法 參加者

這是一個從 2016 年 1 月至 2019 年 12 月進行的前瞻性研究, 我們對疑似患有遺傳神經疾病的 18 歲以下嬰兒和兒童進行了單一全基因體定序檢測, 參與者招募過程流程圖請見線上支持信息 Figure S1。

全基因體定序檢測前, 病人需完成詳細的病史資料收集、詳細的身體診察及神經學檢查、代謝篩檢 (包括血中乳酸、血氨、尿酸、串聯質譜分析、血漿氨基酸分析或尿液有機酸分析) 或特殊酵素活性檢測。我們對具有臨床特點、特殊生化異常檢驗值、特定神經發展疾病、特定神經肌肉疾病及癲癇症的病人, 依不同疾病進行了染色體核型分析、螢光染色體原位雜交、多重連接探針擴增技術、染色體晶片、單基因檢測或遺傳性神經代謝疾病檢測, 例如: 染色體疾病; 染色體微缺失症候群; 脆性 X 染色體症候群; *ATPLA3*、*DDC*、*FOXG1*、*MECP2*、*PRRT2* 或 *TH* 基因變異相關的神經發展障礙; 肌失養蛋白或 *SMN* 基因變異相關的神經肌肉疾病; *CDKL5*、*KCNQ2*、*KCNT1*、*SCN1A*、*SCN2A* 或 *SCN8A* 基因變異相關的癲癇性腦症; *ALDH7A1* 基因變異相關的維生素 B6 依賴性癲癇; *SLC2A1* 基因變異相關的葡萄糖運輸蛋白缺乏症; 或粒線體致病基因相關的呼吸鏈疾病。本研究排除使用上述基因檢測方法得知明確分子診斷的病人。

本研究的個案納入標準如下：臨床表現型或家族史強烈提示了遺傳病因，但臨床表現型無法對應到特定疾病，例如家族性癲癇；已知由多種基因引起的臨床疾病診斷，例如發展遲緩/智力障礙；已知遺傳疾病的臨床診斷，但之前的單基因檢測結果為陰性或不確定，例如 Dravet 症候群的 *SCN1A* 基因或 Leigh 症候群的特定粒線體基因；發現罕見或特殊的臨床或生化檢查，例如非常長鏈脂肪酸檢測異常；之前分子生物診斷無法解釋的非典型臨床表徵；先前已進行廣泛實驗室檢測，但仍未診斷的未知神經疾病。

之前未被診斷且符合納入標準的病人，在徵得其父母的書面知情同意後，被連續納入單一全基因體定序檢測。

全基因體定序檢測數據處理、變異辨認、判讀及報告

由周邊血取得基因體 DNA，使用 NovaSeq 6000 系統 (Illumina, 美國聖地牙哥加利福尼亞州) 獲得定序讀數，以 Burrows-Wheeler Aligner 將過濾後的讀數與人類參考基因體序列 (b37+decoy) 進行比對，建立二進制比對圖文件，平均定序覆蓋深度為 30 倍，超過 90% 的核苷酸至少覆蓋 10 倍，使用基因體分析工具包 v4.1 (美國馬薩諸塞州劍橋布羅德學院) 檢測等位基因變異，並使用 ANNOVAR (ANNOtate VARIation) (<http://annovar.openbioinformatics.org/en/latest>) 進行註釋。

潛在的重要基因變異包括任何族群數據資料庫中都帶有註釋且推定為遺傳基因變異；與臨床表現型相關的基因變異，包括錯義、無義、移碼和 ± 1 , ± 2 剪接位點突變，且其單一核苷酸基因多型性的變異頻率於任何族群數據資料庫中小於或等於 1%；遺傳變異被認為導致功能改變，並且在任何族群數據資料庫的單一核苷酸基因多型性的變異頻率小於或等於 1%。

然後，使用疾病數據庫，例如 ClinVar (國家生物技術信息中心)、人類遺傳突變數據庫 (QIAGEN)、OMIM (國家生物技術信息中心) 和 PubMed (國家醫學圖書館)，將經過過濾的基因變異數據進行判讀。人群的數據庫，例如美國國家心臟、肺和血液研究所外顯子定序項目、1000 個基因組、單核苷酸多型性數據庫和基因體聚合數據庫，以及計算機模擬預測算法的縮放不變特徵轉換、MutationAssessor、FATHMM、MutationTaster、依賴於註釋的組合耗竭、基因體進化速率分析和 phyloP 和/或 Human Splicing Finder 來評估共有的剪接位點。

本文增加了什麼

- 在我們的研究中，符合納入條件的兒童神經疾病病人其全基因體定序診斷率為 43.9%。
- 全基因體定序可擴展我們對臨床表現型及基因型間差異的知識。

潛在致病基因變異是依據美國醫學遺傳學和基因體學學會準則而定。⁹ 全基因體定序分子診斷確診病例是指，基因變異依美國醫學遺傳學和基因體學學會分類中歸在致病或可能致病的基因變異，且此基因變異所產生的臨床症狀與病人之臨床表現型一致，如果是孟德爾遺傳模式中的體染色體隱性遺傳疾病，則需具有同一基因的兩個等位基因變異 (即雙等位基因)，病人及其雙親或家族中患病或未患病者，均須以 Sanger 定序確認所有相關基因分析結果，基因序列變異命名則依據人類基因體變異學會的建議。

資料分析

全基因體定序報告出來後，依患者的臨床表徵分為四組：神經發展組包括發展遲緩/智力障礙或自閉症譜系障礙的病人，癲癇組包括癲癇合併或不合併發展遲緩或智力障礙的病人，運動障礙組包括具有特定的神經系統症狀和徵候的病人，例如肌張力不全、共濟失調或痙攣性截癱，神經肌肉組包括周邊神經病變或肌肉疾病的病人。

我們描述全基因體定序的診斷率和確診後的治療策略，具有特定治療策略的遺傳性疾病是指依當代醫學文獻中提及之藥物治療方式，該研究得到台中榮民總醫院倫理委員會批准 (編號TCVGH IRB CE20022A)。

結果

參加者特點

本研究共有 214 例連續病例接受全基因體定序檢測，包括 128 例男性和 86 例女性，平均 (SD) 發病年齡為 13.8 (27.6) 個月，範圍為 1 天至 15 年 5 個月，接受全基因體定序檢測的平均 (SD) 年齡為 71.7 (58.9) 個月，範圍從 8 天到 18 歲。214 位患者中有 120 位 (56.1%) 被歸類為癲癇組，73 位 (34.1%) 為神經發展組，13 位 (6.1%) 為運動障礙組，8 位 (3.7%) 為神經肌肉組。

基因組分析

Table 1: Mutated genes of 94 patients with a molecular diagnosis, categorized by subgroup

Group	Number of individuals diagnosed using WGS ^a	Number of mutated genes	Mutated genes (number of individuals with the genetic mutation)
Neurodevelopmental disorders	30	26	<i>ITPR1</i> (2), <i>KIF1A</i> (2), <i>MECP2</i> (2), <i>WDR73</i> (2), <i>ATP1A3</i> (1), <i>BRAF</i> (1), <i>CACNA1A</i> (1), <i>CDK13</i> (1), <i>CTBP1</i> (1), <i>CTNNB1</i> (1), <i>CYP2U1</i> (1), <i>EMC1</i> (1), <i>NAGLU</i> (1), <i>NDUFAF5</i> (1), <i>NDUFAF6</i> (1), <i>NGLY1</i> (1), <i>NKX2-1</i> (1), <i>PDHA1</i> (1), <i>PLA2G6</i> (1), <i>PURA</i> (1), <i>SMARCB1</i> (1), <i>STXBP1</i> (1), <i>SUCLA2</i> (1), <i>TCF4</i> (1), <i>TMEM106B</i> (1), <i>UBTF</i> (1).
Epilepsy	57	34	<i>SCN1A</i> (10), <i>TBC1D24</i> (5), <i>ALDH7A1</i> (3), <i>CASK</i> (3), <i>COQ4</i> (2), <i>GAMT</i> (2), <i>KCNQ2</i> (2), <i>KCNT1</i> (2), <i>PCDH12</i> (2), <i>SCN2A</i> (2), <i>ADSL</i> (1), <i>ATP6V1B2</i> (1), <i>CACNA1A</i> (1), <i>CDKL5</i> (1), <i>CHD2</i> (1), <i>DEPDC5</i> (1), <i>DYNC1H1</i> (1), <i>EEF1A2</i> (1), <i>NFIX</i> (1), <i>GFM1</i> (1), <i>HCN1</i> (1), <i>HECW2</i> (1), <i>KCNA2</i> (1), <i>METTL23</i> (1), <i>PIGA</i> (1), <i>QDPR</i> (1), <i>SCN8A</i> (1), <i>SLC13A5</i> (1), <i>SMC1A</i> (1), <i>STXBP1</i> (1), <i>SYNGAP1</i> (1), <i>TBCD</i> (1), <i>TRIM8</i> (1), <i>ZEB2</i> (1).
Movement disorders	2	2	<i>CYP7B1</i> (1), <i>KIF1A</i> (1)
Neuromuscular disorders	5	5	<i>GDAP1</i> (1), <i>LAMA2</i> (1), <i>MFN2</i> (1), <i>RYR1</i> (1), <i>SEPN1/SELENON</i> (1)

^aAdditional information can be found in Table S1. WGS, whole-genome sequencing.

214 位病人中有 94 位經全基因體定序分析確診 (43.9%) (請見線上支持信息 Table S1)。每組病人的診斷率各不相同，最高的診斷率是神經肌肉組，8 位病人中有 5 位 (62.5%) 確診，其餘依序為癲癇組，120 位病人中有 57 位 (47.5%) 確診；神經發展組，73 位病人中有 30 位 (41.1%) 確診；運動障礙組，13 位病人中有 2 位 (15.4%) 確診。每組中均發現多樣化的基因變異：神經肌肉組，5 個診斷中有 5 個不同的基因變異；癲癇組，57 個診斷中有 34 個不同的基因變異；神經發展組，30 個診斷中有 26 個不同的基因變異；運動障礙組，2 個診斷中有 2 個不同的基因變異 (請見 Table 1)。

孟德爾模式

94 位經全基因體定序確診病人中，其遺傳模式包括 52 位 (55.3%) 具體染色體顯性遺傳，33 位 (35.1%) 具體染色體隱性遺傳，8 位 (8.5%) 具 X 染色體顯性遺傳及 1 位 (1.1%) 具 X 染色體隱性遺傳 (請見線上支持信息 Table S2)。52 位體染色體顯性遺傳病人中，50 位 (96.2%) 為自體突變造成，2 位 (3.8%) 因遺傳造成；33 位體染色體隱性遺傳病人中，20 位 (60.6%) 具有兩個不同突變位點的異型合子變異，13 位 (39.4%) 具有同型合子變異；9 位 X 染色體遺傳病人中，6 位 (66.7%) 為男性，3 位 (33.3%) 為女性，6 位 (66.7%) 屬 X 染色體自體突變造成。值得注意的是，自體突變的病人中，僅有一名 *SCN1A* 基因變異的病人其父親具有鑲嵌的基因變異。

致病基因變異

94 位經全基因體定序確診病人中，總共發現 127 個推定的致病等位基因變異，其中 52 個來自體染色體顯性遺傳疾病，66 個來自體染色體隱性遺傳疾病，9 個來自 X 染色體遺傳疾病。如線上支持信息 Table S2 所示，我們發現了 51 個 (40.2%) 之前未被報導過與疾病相關的新基因變異，其中 35 個來自體染色體顯性遺傳疾病，9 個來自體染色體隱性遺傳疾病，7 個來自 X 染色體遺傳疾病；與疾病相關的基因變異，最常見的基因變異類型是錯義突變 (127 個中有 77 個；60.6%)，其次是微小插入缺失 (127 個中有 30 個；23.6%)，無義突變 (127 個中有 15 個；11.8%) 和剪接突變 (127 個中有 5 個；3.9%)。根據美國醫學遺傳學和基因體學會分類，這 127 個突變等位基因中，71 個 (55.9%) 屬致病基因變異，56 個 (44.1%) 屬可能致病基因變異。

診斷的好處

來自 88 個家庭的 94 位病人，經全基因體定序確診後，均獲得了遺傳諮詢。此外，94 位病人中有 22 位 (23.4%) 因基因確診後立即改變了治療策略 (請見線上支持信息 Table S3)。

討論

以全基因體定序進行臨床及學術研究的文獻不多，根據不同的病人選擇標準和不同的研究設計，全基因體定序用於評估患有遺傳性疾病、智力障礙或發展癲癇性腦症兒童的診斷率為 30% 至 57%。¹⁰⁻¹² 本研究的全基因體定序於 214 位患有兒童神經疾病的診斷率為 43.9%。

全基因體定序不僅可以幫助兒童神經科醫師診斷與疾病相關之新的且極為罕見的基因變異，還可以擴展我們在這類具有廣泛差異的兒童神經疾病之臨床表現型和基因型變異的知識。我們的研究中觀察到，*STXBPI* 基因突變可引起不

同的臨床表現型，從耳熟能詳的早期嬰兒型癲癇性腦病第 4 型 (患者 056) 到以共濟失調、震顫和精神運動發展遲緩表現的神經發展障礙疾患 (患者 095)，*CACNA1A* 基因突變也是如此 (患者 066 和 209)。另一個例子是 3 位 *KIF1A* 基因錯義突變的病人，其中兩位病人 (患者 003 和 136) 有嚴重的精神運動障礙和痙攣性截癱，屬 *KIF1A* 基因變異相關的嚴重體染色體顯性智力障礙第 9 型，另一位病人 (患者 028) 的臨床症狀則相對輕微，屬 *KIF1A* 基因變異相關的體染色體顯性遺傳性痙攣性截癱。據文獻報導，與 *KIF1A* 相關的神經疾病之疾病嚴重度與基因變異部位有關。¹³ 此外，兩名具 *ITPR1* 基因突變，診斷為脊髓小腦共濟失調第 29 型患者 (患者 061 和 182)，其病情進展為非進行性惡化且於疾病過程中病人持續緩慢進步，這與脊髓小腦共濟失調是一種退化性疾病的傳統觀念不一致。這些觀察結果說明，同一基因型可以引起不同的臨床表現型，我們要強調的是，正確的臨床訊息對基因變異的正確判讀很重要，這樣也才能做出正確的臨床診斷。

我們的研究發現，每種疾病組別的確診病人具有各種不同的突變基因，包括癲癇組，57 個診斷中有 34 個不同的基因變異；神經發展組，30 個診斷中有 26 個不同的基因變異；神經肌肉組，5 個診斷中有 5 個不同的基因變異；運動障礙組，2 個診斷中有 2 個不同的基因變異。這個結果顯示兒童神經疾病具有個體間遺傳異質性及多樣性，這在臨床診斷上是相當大的挑戰，因此，在患有非特異性及非症候群神經疾病的嬰兒和兒童中進行逐步的分子診斷檢查是相當耗時且成本高昂的，這也給病人家庭帶來了長期不確定診斷的額外負擔，在這類病人中，全基因體定序可能是發現潛在遺傳病因的有力診斷工具。

我們的研究中也發現，10 位 *SCN1A* 陽性的病人中有 8 位符合 Dravet 症候群臨床診斷標準並接受推薦用於 Dravet 症候群抗癲癇藥物的病人，他們曾使用 Sanger 定序進行 *SCN1A* 單基因檢測但其結果為陰性，隨後這 8 位病人經全基因體定序分析證實具有 *SCN1A* 基因變異。之前曾有文獻報導，使用 Sanger 定序方法於偵測 *SCN1A* 基因變異時可能會有遺漏，¹⁴ 在這種情況下，全基因體定序是一種有價值的工具，可以幫助我們解決此障礙並證實基因診斷。然而，Sanger 定序可幫忙解決次世代基因定序的限制，例如覆蓋率低、重複序列、偽基因，均聚物重複序列和大片段基因插入缺失。¹⁵ Sanger 定序和全基因體定序可為互補的檢測方式，可以非常有效地結合應用。因此，重要的是，要準確知道正在定序的內容以及每種方法的限制性。

根據文獻報導，全基因體定序應用於臨床治療為 27% 至 41%，¹⁰ 我們的研究顯示 23.4% 的確診病人可直接改變治療方向，我們利用已證實的治療策略提供病人個人化醫療。¹⁶⁻²³ 藉由全基因體定序的應用，兒童神經科醫師可以根據病人的分子診斷選擇治療方式，這不僅可以提高臨床醫師診斷和治療疾病的能力，也可確保病人的健康，更重要的是，可以減少以“試錯法”來治療疾病。全基因體定序已經對臨床研究和病人照護產生了重大的影響，隨著我們對全基因體定序的了解及全基因體定序技術的不斷提升，這種影響將越來越大。

限制性

本研究存有一些限制性。首先，文獻中顯示病人及雙親三人全基因體定序有更高的診斷率，但在我們的研究中僅有單一病人全基因體定序資料，無病人及雙親三人全基因體定序資料可比較，¹⁰ 其次，依美國醫學遺傳學和基因體學會的基因

變異分類標準，我們可能因致病性/可能致病性基因變異證據不足而錯過了一些病例；第三，全基因體定序在鑑定疑似患有神經遺傳疾病有關的大片段插入缺失、三核苷酸重複、表徵遺傳學修飾和無法到達的編碼序列區域方面仍有技術上的限制²⁴；最後，全基因體定序分析可能發現某些存在人類中，但功能不確定仍需要進一步進行基礎研究的基因變異。

結論

兒童神經疾病特點為廣泛的臨床表現和多樣化的遺傳異質性，全基因體定序使兒童神經科醫師能將基因體數據整合到臨床診斷中，進而調整治療策略；盡早的基因診斷，可提早結束漫長的疾病診斷過程，這對病人醫療照護有正面的影響，也可提供個人化醫療以改善臨床預後。

REFERENCES

- Rauch A, Hoyer J, Guth S, et al. Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A* 2006; **140**: 2063–74.
- Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 2010; **86**: 749–64.
- Costain G, Cordeiro D, Matviychuk D, Mercimek-Andrews S. Clinical application of targeted next-generation sequencing panels and whole exome sequencing in childhood epilepsy. *Neuroscience* 2019; **418**: 291–310.
- Demos M, Guella I, DeGuzman C, et al. Diagnostic yield and treatment impact of targeted exome sequencing in early-onset epilepsy. *Front Neurol* 2019; **10**: 434.
- Watson E, Davis R, Sue CM. New diagnostic pathways for mitochondrial disease. *J Transl Genet Genom* 2020; **4**: 188–202.
- Yang Y, Muzny DM, Xia F, et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. *JAMA* 2014; **312**: 1870–9.
- Rexach J, Lee H, Martinez-Agosto JA, Németh AH, Fogel BL. Clinical application of next-generation sequencing to the practice of neurology. *Lancet Neurol* 2019; **18**: 492–503.
- Bick D, Jones M, Taylor SL, Taft RJ, Belmont J. Case for genome sequencing in infants and children with rare, undiagnosed or genetic diseases. *J Med Genet* 2019; **56**: 783–91.
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for molecular pathology. *Genet Med* 2015; **17**: 405–24.
- Clark MM, Stark Z, Farnaes L, et al. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genom Med* 2018; **3**: 16.
- Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature* 2014; **511**: 344–7.
- Hamdan FF, Myers CT, Cossette P, et al. High rate of recurrent de novo mutations in developmental and epileptic encephalopathies. *Am J Hum Genet* 2017; **101**: 664–85.
- Pennings M, Schouten MI, van Gaalen J, et al. *KIF1A* variants are a frequent cause of autosomal dominant hereditary spastic paraplegia. *Eur J Hum Genet* 2020; **28**: 40–9.
- Djémić T, Weckhuysen S, von Spiczak S, et al. Pitfalls in genetic testing: the story of missed *SCN1A* mutations. *Mol Genet Genomic Med* 2016; **4**: 457–64.
- Schrijver I, Aziz N, Farkas DH, et al. Opportunities and challenges associated with clinical diagnostic genome sequencing: a report of the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn* 2012; **14**: 525–40.
- Samanta D. Management of alternating hemiplegia of childhood: a review. *Pediatr Neurol* 2020; **103**: 12–20.
- Finsterer J, Bindu PS. Therapeutic strategies for mitochondrial disorders. *Pediatr Neurol* 2015; **52**: 302–13.
- Pisano T, Numis AL, Heavin SB, et al. Early and effective treatment of *KCNQ2* encephalopathy. *Epilepsia* 2015; **56**: 685–91.
- Wolff M, Brunklaus A, Zuberi SM. Phenotypic spectrum and genetics of *SCN2A*-related disorders, treatment options, and outcomes in epilepsy and beyond. *Epilepsia* 2019; **60**: S59–67.
- Gardella E, Moller RS. Phenotypic and genetic spectrum of *SCN8A*-related disorders, treatment options, and outcomes. *Epilepsia* 2019; **60**: S77–85.
- McTague A, Nair U, Malhotra S, et al. Clinical and molecular characterization of *KCNT1*-related severe early-onset epilepsy. *Neurology* 2018; **90**: e55–66.
- Stockler S, Plecko B, Gospe SM Jr, et al. Pyridoxine dependent epilepsy and antiquitin deficiency: clinical and molecular characteristics and recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Mol Genet Metab* 2011; **104**: 48–60.
- Saudubray JM, Garcia-Cazorla A. Inborn errors of metabolism overview: pathophysiology, manifestations, evaluation, and management. *Pediatr Clin North Am* 2018; **65**: 179–208.
- Barbitoff YA, Plev DE, Glotov AS, et al. Systematic dissection of biases in whole-exome and whole-genome sequencing reveals major determinants of coding sequence coverage. *Sci Rep* 2020; **10**: 2057.

ACKNOWLEDGEMENTS

Open Access Veröffentlichung ermöglicht und organisiert durch Projekt DEAL

SUPPORTING INFORMATION

The following additional material may be found online:

Figure S1: 概述參與者招募過程流程圖。

Table S1: 94 位經全基因體定序診斷病人之人口統計學、遺傳特點及其對治療的影響

Table S2: 94 位經全基因體定序診斷病人之孟德爾模式、遺傳變異及基因變異類型

Table S3: 22 位經全基因體定序確診後病人之治療影響