

一例家族性颅内海绵状血管瘤基因新突变位点报道及文献复习

杨琼^{1*}, 刘海英^{2*}, 郭金竹³, 刘琦³, 窦万臣³

摘要 **目的:**对一例家族性颅内海绵状血管瘤(FCCM)家系进行临床诊断、治疗及遗传学分析,并复习相关文献。**方法:**对先证者及其亲属收集临床资料及应用全外显子组测序(WES)技术进行基因分析。**结果:**先证者及其大儿子临床诊断为FCCM,且先证者合并皮肤血管畸形,其CCM1/KRIT1基因均发现c.1307_1308insT的杂合核苷酸变异,该变异导致从第436号氨基酸亮氨酸(Leu)开始的氨基酸合成发生改变,并在改变后的第6个氨基酸终止(p.Leu436PhefsTer6),为移码变异。其他无症状的家族成员,均未见该基因突变。该位点突变在之前未见报道。先证者为双侧颞叶海绵状血管瘤,治疗相对困难,经两次手术后疗效欠佳,仍需密切随访。**结论:**FCCM患者CCM1/KRIT1基因有新的突变位点;先证者临床表现除顽固性癫痫发作外,合并CCM1基因突变导致的皮肤血管畸形;先证者表现为多发海绵状血管瘤(CCMs),双侧颞叶为可疑致痫灶,经两次手术治疗后效果欠佳。

关键词 家族性颅内海绵状血管瘤;CCM1/KRIT1基因;全外显子组测序技术

中图分类号 R741;R743.4 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20200195

本文引用格式:杨琼, 刘海英, 郭金竹, 等. 一例家族性颅内海绵状血管瘤基因新突变位点报道及文献复习[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15(9): 497-500.

Case Report of Familial Cerebral Cavernous Hemangioma with New Mutation Site and Literature Review YANG Qiong¹*, LIU Hai-ying²*, GUO Jin-zhu³, LIU Qi³, DOU Wan-chen³. 1. Department of Neurology, Aviation General Hospital of China Medical University, Beijing 100012, China; 2. Department of Nursing, Shandong Weifang Municipal Hospital, Shandong 261021, China; 3. Department of Neurosurgery, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China.

*YANG Qiong and LIU Hai-ying contributed equally to this paper.

Abstract Objective: A case of familial cerebral cavernous hemangioma (FCCM) was clinically diagnosed, treated, and genetically analyzed, and relevant literature was reviewed. **Methods:** The clinical data of the index patient and her relatives were analyzed, and their DNA was sequenced by whole exome sequencing (WES). **Results:** The index patient and her elder son were clinically diagnosed with FCCM, and the proband had skin vascular malformations. They both carried the c.1307_1308insT heterozygous mutation of the CCM1/KRIT1 gene, which resulted in a frameshift mutation starting from amino acid leucine (Leu) no. 436 and terminating at the sixth amino acid (p.Leu436PhefsTer6). Other asymptomatic family members did not have this mutation. This mutation had not been previously reported. The index patient had bilateral cavernous hemangiomas of the temporal lobe which were difficult to treat. Two surgeries were performed yielding subpar results, and close clinical follow-up was still needed. **Conclusion:** A new mutation site of CCM1/KRIT1 was discovered in the FCCM patients. In addition to intractable epileptic seizures, the proband presented skin vascular malformations caused by the CCM1 gene mutation. The proband had multiple cavernous hemangioma (CCMs) and suspected epileptogenic foci located in the bilateral temporal lobes; two surgical treatments were performed but were ineffective.

Key words familial cerebral cavernous hemangioma; CCM1/KRIT1 gene; whole genome sequencing

颅内海绵状血管瘤(cerebral cavernous hemangioma, CCM)属先天性脑血管畸形的一种,CCM在普通人群中的发病率大约为0.16%~0.5%^[1,2]。其最常见的临床表现为癫痫(50%)、脑出血(25%)、局灶性神经功能缺损(25%),20%~50%无临床症状,仅在头部磁共振(magnetic resonance imaging,

MRI)检查时偶然发现。CCM可为散发性和家族性,20%患者具有多发海绵状血管瘤(CCMs),有家族遗传倾向。家族性颅内海绵状血管瘤(familial cerebral cavernous hemangioma, FCCM)多为CCMs,国内报道较少。本文报道一例FCCM家系,并对其诊断及治疗进行文献复习。

作者单位

- 1. 中国医科大学航空总医院神经内科
北京 100012
- 2. 山东潍坊市立
医院护理部
山东 潍坊 261021
- 3. 中国医学科学院
北京协和医院神经
外科
北京 100730

基金项目

中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(No. 2016-12M-1-004)

收稿日期

2020-02-29

通讯作者

窦万臣
douwanchen@126.com

注:*为共同第一作者

1 资料与方法

1.1 一般资料

先证者为女性,43岁,临床表现为顽固性癫痫发作。

1.2 方法

1.2.1 临床诊断与家系分析 收集患者家族史、临床表现、实验室检查等临床资料。

1.2.2 样本采集与DNA提取 为明确诊断并征得家属知情同意后,采集患者的外周血4 mL和其他家系成员(患者2子、患者1兄1姐)的外周血各2 mL送往北京康旭医学检验所有限公司进行基因检测。使用Qiagen FlexiGene DNA Kit的方法提取血液样本的基因组DNA。

1.2.3 全外显子测序与Sanger测序验证 数据比对及分析:采用xGen®Lockdown®探针和试剂(IDT)为目标基因制备捕获文库。采用聚合酶链反应(PCR)对目标样本扩增,使用Illumina HiSeq X Ten测序仪对扩增后的产物进行二代测序,平均测序深度为100×,获得fastq格式的数据,筛选出与患者临床表型相关的变异位点。对于二代测序中筛选出的与患者临床表型相关的变异位点,需要利用Sanger测序对患者和其他家系成员的位点进行一代验证。利用人类基因组数据库GenBank中获得上述突变位点基因序列,在引物设计网站Primer Z(<http://genepipe.ncgm.sinica.edu.tw/primerz/primerz4.do>)设计引物并合成。对突变位点进行PCR扩增后进行一代测序,与参考序列比对,得出变异结果。

2 结果

2.1 临床诊断及家系分析

先证者,女,43岁,以“发作性愣神15年”于2018年5月首次就诊于我院。临床表现:反复发作性愣神,双眼凝视,呼之不应,双手摸索,持续约0.5~3 min,可自行缓解,缓解后自觉困倦,不能交流,休息10 min可完全恢复,频繁时每日发作5~6次,有时5~6 d不发作。2005年于外院行右侧额叶海绵状血管瘤切除术,术后无缓解,且每年出现1~2次癫痫大发作。患者长期口服丙戊酸钠和卡马西平无效。既往史、个人史、家族史:患者父母已故;患者舅舅有癫痫病史(已故);1兄1姐体健;大儿子12岁因癫痫发作行双侧额叶海绵状血管瘤切除术,术后未坚持口服药物,每年发作1~2次,近2年未发作;小儿子体健,见图1A。入院查体:左手食指根部皮肤约3×4 cm隆起,青色,质软,边界清楚,见图

2A。神清语利,高级智能基本正常,颅神经阴性,四肢肌力、肌张力正常,感觉、共济正常。辅助检查:血常规、肝肾功能、心电图、胸片、超声心动图、腹部超声正常。头MRI:颅内多发海绵状血管瘤,右侧额叶切除后仍可在切除残腔部位看到病变;右侧枕叶,直径约1.3 cm;左侧额叶外侧近颞极部位,直径约1.2 cm;右侧额叶近颞极处,直径约2.5 cm,内部信号混杂,周围绕以低信号带,见图2B、图2C。头正电子发射断层-X线计算机断层组合系统(PET-CT):双侧额叶未见代谢减低。长程视频脑电图:局灶性癫痫,颞叶癫痫可能性大;发作间期脑电图印象:中度不正常;发作事件印象:复杂部分性癫痫;发作期脑电图印象,左侧额叶、右侧前头部起源可能性大。

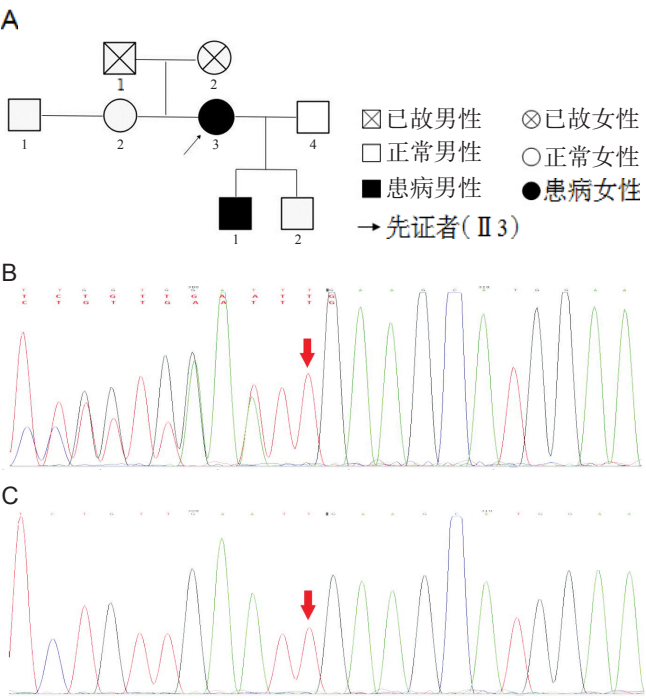
诊治经过:患者癫痫诊断明确,13年前曾经行右侧额叶病变手术治疗,术后病理明确为海绵状血管瘤,且多年口服抗癫痫药物无效,仍有手术指征。因双侧额叶海绵状血管瘤均可能为致病灶,故计划分两期进行,先行左侧额叶病变切除,数月后再行右侧额叶病变切除。2018年6月4日行全麻下行左侧前额叶海绵状血管瘤切除术,术后病理提示为海绵状血管瘤,见图2D。患者出院后继续口服丙戊酸钠500 mg Bid和卡马西平200 mg Bid,定期随访。患者病情未缓解,发作频率基本同前,发作时仍表现为发作性愣神,伴双手摸索样动作。考虑致病灶仍未切除,2018年11月行右侧额叶海绵状血管瘤切除术。手术顺利,术后病理亦支持海绵状血管瘤诊断。术后半年随访,发作性愣神时间较前减少。

2.2 全外显子组测序与Sanger测序验证结果

患者本人及其长子(图1B)的KRIT1基因发现14号外显子c.1307_1308insT的杂合核苷酸变异,该变异导致从第436号氨基酸Leu开始的氨基酸合成发生改变,并在改变后的第6个氨基酸终止(p.Leu436PhefsTer6),为移码变异。该位点突变在之前未见报道。同时检测其他家族成员,均无症状,均未见该基因突变(图1C)。

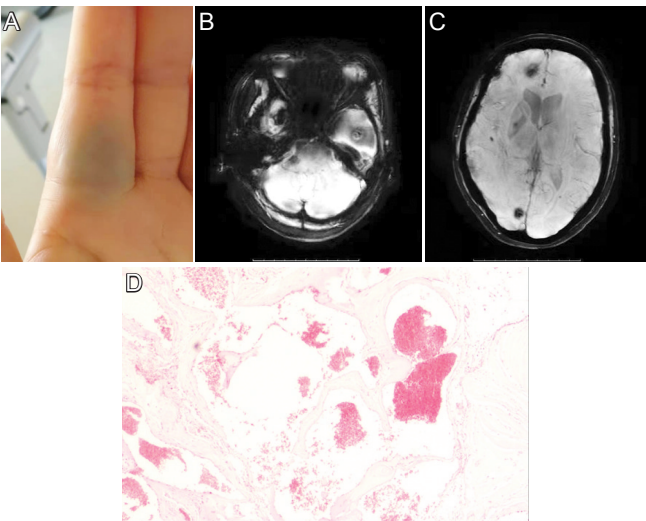
3 讨论

CCM是导致顽固性癫痫发作的常见病因之一,其自然病程目前仍不十分清楚,依据25个研究的荟萃分析,CCM在非脑干区域和脑干区域出血率为0.3%/人年和2.8%/人年,再出血率为6.3%和32.3%,再出血中位时间为10.5月。脑出血后完全恢复比例为38.8%/人年,完全恢复或轻度残疾比例为79.5%/人年,死亡率为2.2%,可见脑干区域的CCM更易出血及再出血,再出



注：A：FCCM家系图谱；B：先证者及其长子KRIT1/CCM1基因突变c.1307_1308insT(p.Leu436PhefsTer6)；C：其他无症状性的家族成员未见该基因突变

图1 先证者家系及基因测序



注：A：先证者左手皮肤血管畸形，以静脉畸形为主；B~C：头颅核磁共振T2*梯度回波序列示颅内CCMs，B为双侧额叶、C为右侧额叶及右侧枕叶；D：病理活检显示不同大小和畸形的血管，窦腔异常增大(HE染色，×200)

图2 先证者病例资料

血风险在首次出血2年后下降^[3]。因此对于症状性CCM应予以积极干预及治疗。FCCMs特点为病灶呈多发性，幕上占80%，幕下和脊髓占20%，后者多发于脑桥。20%患者具有CCMs，有家族遗传倾向^[4]，如本文报道的先证者及其大儿子。目前发现遗传性CCM与3个致病基因突变相关，为常染色体显性遗传，包括CCM1 (KRIT1)、CCM2 (MGC4607) 和 CCM3 (PDCD10)^[5]。

CCM1发病率为53%~65%，CCM2为15%~19%，CCM3为10%~16%，西班牙语系拉美裔(美国西南及墨西哥北部)CCMs多由CCM1基因突变导致，因此CCM1称为“Common Hispanic Mutation”，CCM2多发生于德语系犹太人(Ashkenazi Jewish population)^[6]。遗传性CCM发病机制可能为“二次打击”机制(two hit mechanism)，基因突变导致表达于CCM毛细血管腔内皮细胞的致病基因编码蛋白完全失去功能，从而导致广泛的血管异常和血管通透性增加^[7]。

CCM基因型和表型具有一定相关性^[8]。皮肤血管畸形是FCCM的特征性临床表现之一，依据病理可以分类为毛细血管畸形、角化过度的皮肤毛细血管静脉畸形(hyperkeratotic cutaneous venous malformation, HCCVM)，静脉畸形。其中所有HCCVM患者均有CCM1基因突变，具有高度特异性^[9]。本例患者皮肤血管病变以静脉畸形为主，同Wang等^[10]报道的一个汉族人群FCCM CCM1 14号外显子突变家系皮肤血管病变类似，由此推测静脉畸形可能为14号外显子突变的特异性临床表现，但仍需病理及其他病例研究证实。此外，视网膜海绵状血管瘤可以发生在上述三种基因突变中，5%遗传性CCM可能发生视网膜海绵状血管瘤^[11]，脊髓海绵状血管瘤在CCM1和CCM2患者中发现^[12]，肝脏海绵状血管瘤存在于CCM1中^[13]。CCM3因最后发现目前知之较少。CCM3相对于CCM1和CCM2最为严重，出血和再出血风险较大，预后最差^[14]。此外，研究环境和遗传修饰作用在CCM的疾病严重程度及病情进展中有重要作用，因为上述原因可能解释CCM显著的表型异质性。20%左右的散发性或家族性多发性CCMs未能发现CCM基因突变，提示可能存在未识别的基因^[15]。此外，CCM遗传学中存在种族差异，例如日本人的CCMs CCM2突变可能多于CCM1和CCM3^[16]。到目前为止，大部分FCCM以墨西哥/拉美裔为主，汉族人群中已报道的CCM突变多为CCM1而非CCM2或CCM3，其他人群种族特异性仍待进一步研究。

2017年5月，血管瘤联盟科学顾问委员会临床专家小组(Angioma Alliance Scientific Advisory Board Clinical Experts Panel)发布《脑海绵状血管畸形临床管理指南》^[17]，建议首次发现CCM时，应询问患者三代家族史，关注头痛、卒中、MRI异常或其他神经系统并发症。CCMs建议基因CCM1-3检测。头MRI应该包括梯度回波(gradient echo, GRE)或磁敏感加权成像(susceptibility-weighted imaging, SWI)序列，以便于明

确CCM的数量。在治疗方面不推荐外科切除无症状CCM,引起癫痫的CCM可考虑早期切除,特别是难治性癫痫以及肯定CCM致病者。脑干或深部的CCM建议保守治疗。在FCCM或CCMs患者中,怀孕前应该进行遗传方面的咨询。但是文献有关CCMs的治疗研究较少,无明确共识。Rocamora等^[18]报道在一项11例的CCMs合并顽固性癫痫患者的研究中,所有患者经过视频脑电确认一个致痫灶,58%确定的致痫灶位于颞叶,经过手术切除治疗,2年后随访,9例患者(81.8%)属于恩格尔分类(the Engel classification) I a(癫痫无发作)、1例II b(癫痫较少发作)、1例I Vc(加重);7例患者进行病灶及周围含铁血黄素部位扩大切除,3例患者予致痫灶附近的CCM同时切除,1例患者同时进行杏仁核海马切除。鉴于手术预后较好,因此Rocamora等认为在CCMs导致顽固性癫痫患者中,应尽早进行外科手术治疗。当致痫灶为多个时,应当在情况允许的情况下均以切除。且CCMs的外科手术治疗要求精确的术前评估以便明确致痫灶。Lin等^[19]同样认为在CCMs患儿中,早期切除幕上致痫性的CCMs,无论是单个或多个,均安全而有效。此外,手术预后不佳可能与患者CCM再发或病程较长时合并其他病理性改变如海马硬化有关,在双侧颞叶有多个CCM时,定位较困难,且由于扩大切除可能影响记忆功能,因此给手术造成一定的困难。本例患者CCMs位于双侧颞叶,定位困难,且扩大范围切除有可能影响患者的重要神经功能,因此手术除切除病变外,仅简略清理病变周围黄染的脑组织,没有进行扩大切除,手术预后不佳原因可能与病变周围没有扩大切除有关,另外患者右侧额叶的病变明确有残留,在T2序列上可以看到众多小的可疑病变,也可能是患者手术疗效不佳的原因。

综上,在本文FCCM家系中,先证者及其儿子CCM1/KRIT1基因存在新的突变位点,国际上未见报道。此外,FCCM基因型和表型具有一定相关性,可能合并皮肤血管畸形,CCMs导致顽固性癫痫时外科手术治疗应尽早进行。

参考文献

[1] Otten P, Pizzolato GP, Rilliet B, et al. [131 cases of cavernous angioma

(cavernomas) of the CNS, discovered by retrospective analysis of 24,535 autopsies][J]. *Neurochirurgie*, 1989, 35: 82-83, 128-131.

[2] Al-Holou WN, O'Lynnger TM, Pandey AS, et al. Natural history and imaging prevalence of cavernous malformations in children and young adults[J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2012, 9: 198-205.

[3] Taslimi S, Modabbernia A, Amin-Hanjani S, et al. Natural history of cavernous malformation: Systematic review and meta-analysis of 25 studies[J]. *Neurology*, 2016, 86: 1984-1991.

[4] Flemming KD, Link MJ, Christianson TJ, et al. Prospective hemorrhage risk of intracerebral cavernous malformations[J]. *Neurology*, 2012, 78: 632-636.

[5] Spiegler S, Rath M, Paperlein C, et al. Cerebral Cavernous Malformations: An Update on Prevalence, Molecular Genetic Analyses, and Genetic Counselling[J]. *Mol Syndromol*, 2018, 9: 60-69.

[6] Haasdijk RA, Cheng C, Maat-Kievit AJ, et al. Cerebral cavernous malformations: from molecular pathogenesis to genetic counselling and clinical management[J]. *Eur J Hum Genet*, 2012, 20: 134-140.

[7] Gault J, Shenkar R, Recksiek P, et al. Biallelic somatic and germ line CCM1 truncating mutations in a cerebral cavernous malformation lesion [J]. *Stroke*, 2005, 36: 872-874.

[8] Choquet H, Pawlikowska L, Lawton MT, et al. Genetics of cerebral cavernous malformations: current status and future prospects[J]. *J Neurosurg Sci*, 2015, 59: 211-220.

[9] Sirvente J, Enjolras O, Wassef M, et al. Frequency and phenotypes of cutaneous vascular malformations in a consecutive series of 417 patients with familial cerebral cavernous malformations[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2009, 23: 1066-1072.

[10] Wang X, Liu XW, Lee N, et al. Features of a Chinese family with cerebral cavernous malformation induced by a novel CCM1 gene mutation [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126: 3427-3432.

[11] Labauge P, Krivosic V, Denier C, et al. Frequency of retinal cavernomas in 60 patients with familial cerebral cavernomas: a clinical and genetic study[J]. *Arch Ophthalmol*, 2006, 124: 885-886.

[12] Gianfrancesco F, Cannella M, Martino T, et al. Highly variable penetrance in subjects affected with cavernous cerebral angiomas (CCM) carrying novel CCM1 and CCM2 mutations[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2007, 144B: 691-695.

[13] Lanfranchi S, Ronchi D, Ahmed N, et al. A novel CCM1 mutation associated with multiple cerebral and vertebral cavernous malformations [J]. *BMC Neurol*, 2014, 14: 158.

[14] Guclu B, Ozturk AK, Pricola KL, et al. Mutations in apoptosis-related gene, PDCD10, cause cerebral cavernous malformation 3 [J]. *Neurosurgery*, 2005, 57: 1008-1013.

[15] Denier C, Labauge P, Bergametti F, et al. Genotype-phenotype correlations in cerebral cavernous malformations patients[J]. *Ann Neurol*, 2006, 60: 550-556.

[16] Tsutsumi S, Ogino I, Miyajima M, et al. Genomic causes of multiple cerebral cavernous malformations in a Japanese population[J]. *J Clin Neurosci*, 2013, 20: 667-669.

[17] Akers A, Al-Shahi SR, Awad AI, et al. Synopsis of Guidelines for the Clinical Management of Cerebral Cavernous Malformations: Consensus Recommendations Based on Systematic Literature Review by the Angioma Alliance Scientific Advisory Board Clinical Experts Panel[J]. *Neurosurgery*, 2017, 80: 665-680.

[18] Rocamora R, Mader I, Zentner J, et al. Epilepsy surgery in patients with multiple cerebral cavernous malformations[J]. *Seizure*, 2009, 18: 241-245.

[19] Lin Q, Yang PF, Jia YZ, et al. Surgical Treatment and Long-Term Outcome of Cerebral Cavernous Malformations-Related Epilepsy in Pediatric Patients[J]. *Neuropediatrics*, 2018, 49: 173-179.

(本文编辑:王晶)