

·论著·

86例癫痫性脑病患儿的遗传特征研究

王海侠, 刘晓鸣, 岳璇, 陈娇

作者单位
徐州医科大学附属
徐州市儿童医院神
经内科
江苏 徐州 221002
收稿日期
2021-04-17
通讯作者
刘晓鸣
xzlrlxm@163.com

摘要 目的:探讨癫痫性脑病(EE)患儿的遗传特征,明确分子水平病因。方法:以86例不明原因EE患儿为研究对象,对其进行家系全外显子组测序(WES)及基因组拷贝数变异(CNV)分析。结果:86例EE患儿中,具有明确致病意义的遗传变异51例(59.30%),包括基因突变46例(53.49%),CNV 5例(5.81%);其中新生突变44例,占总致病变异的86.27%。86例EE患儿中,新生儿期发病11例,婴儿期发病52例,幼儿期发病18例,学龄前期发病5例。结论:儿童EE基因突变率高,以新生突变为主,发病年龄以婴幼儿期为主。

关键词 基因突变;癫痫性脑病;儿童;临床

中图分类号 R741;R741.02;R742.1 文献标识码 A DOI 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20200174

本文引用格式:王海侠, 刘晓鸣, 岳璇, 陈娇. 86例癫痫性脑病患儿的遗传特征研究[J]. 神经损伤与功能重建, 2021, 16(12): 702-705, 713.

Genetic Characteristics of 86 Children with Epileptic Encephalopathy WANG Hai-xia, LIU Xiao-ming, YUE Xuan, CHEN Jiao. Neurology Department, Children's Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu Xuzhou 221002, China

Abstract Objective: To explore the genetic characteristics of children with epilepsy encephalopathy (EE), and to determine the molecular level etiology. **Methods:** A total of 86 children with unexplained EE were recruited. Whole exon sequencing (WES) and genomic copy number variant (CNV) analysis were performed. **Results:** Among the 86 children with EE, there were 51 cases (59.30%) of genetic variation with definite pathogenicity, including 46 (53.49%) with gene mutation and 5 (5.81%) with CNV mutation; among these 51 cases, 44 (86.27%) had de novo variants. Of the 86 children with EE, 11 experienced disease onset during the neonatal period, 52 during infancy, 18 during early childhood, and 5 during preschool age. **Conclusion:** The gene mutation rate in childhood EE is high. Mutation is mainly de novo, and onset occurs primarily during infancy and early childhood.

Key words gene mutation; epileptic encephalopathy; children; clinic

癫痫全球发病率约为0.5%~0.8%,病因复杂,除结构性、遗传性、感染性、代谢性、免疫性,仍有60%的患者病因不明^[1-3]。随着癫痫遗传学研究的进展,发现50%以上的癫痫发病有遗传因素参与^[4],并且很多癫痫性脑病(epilepsy encephalopathy, EE)伴有发育性问题,而发育性问题又常见于遗传性疾病,有着一定的遗传基础。2017年国际抗癫痫联盟(International League Against Epilepsy, ILAE)对EE概念进行修正,提出“发育性和癫痫性脑病”这一概念,发育性脑病用于仅有发育障碍,而没有与发育落后和进一步的发育迟缓相关的频繁癫痫活动;EE用于在癫痫发生前没有发育落后,而且基因突变本身也不会导致发育迟缓;发育性和癫痫性脑病是发挥作用的两个因素^[5]。

因此,通过遗传学诊断策略尽早明确病因,对于指导EE的治疗及遗传咨询极其重要。近年国内癫痫相关基因的研究多为个案报道或对新生儿或小婴儿的报道,对儿童

群体尚无完整的系统的研究报道。本课题组运用基于高通量测序技术原理的WES及全基因组CMA测序,对EE患儿进行遗传检测,研究儿童EE患儿的遗传特征,明确EE的分子水平病因,为临床精准治疗提供依据及提供遗传咨询。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2017年1月至2019年7月就诊于徐州医科大学附属徐州市儿童医院神经内科门诊的86例病因不明的EE患儿为研究对象。本研究经我院伦理道德委员会审核批准。所有家长均签署知情同意书。

纳入标准:①年龄:出生后~7岁、汉族儿童;②符合2017年ILAE修正EE定义,有频繁的癫痫发作或者脑电图示发作间期频繁的癫痫样放电且精神运动发育停滞或倒退;③病因不明确;④患儿家长同意并签署知情同意书;⑤临床资料完整。

排除标准:①围产期脑损伤、缺血缺氧性脑病、中枢神经系统感染、免疫性脑损伤、脑外伤后等继发性癫痫;②遗传代谢病;③表型明确的单基因病: Rett综合征、Angelman综合征、结节性硬化等;④病例资料不完善及不配合治疗者。

1.2 方法

1.2.1 病例资料收集 通过门诊就诊、住院病历查询及电话询问等方式系统收集患儿资料,建立患儿资料卡,包括:出生史、个人史、家族史、起病年龄、发作形式、血生化(包括肝肾功能、电解质、血氨、血乳酸、肌酶、血糖等)、遗传代谢筛查、神经影像学及脑电图检查、发育评估及治疗转归情况。

1.2.2 全外显子测序(whole exon sequencing, WES) 采集患儿及其父母血液标本,使用高通量测序(Illumina $\times 10$)技术进行全外显子组测序。通过千人基因组计划(1000 Genomes)数据库、单核苷酸多态性(dbSNP)数据库等进行突变频率注释,使用SIFT、PolyPhen2等工具进行突变预测。通过频率及变异类别的筛选及与疾病的相关关系,筛出候选突变,然后用Sanger测序法验证。

1.2.3 染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA) 将待测样本的全基因组DNA与固定在介质的上的已知的、特异性核酸探针进行杂交,通过荧光信号强弱,检出待测样本染色体的重复和缺失。检索 OMIM、DECIPHER、ClinGen、DGV、CAGdb、Orphanet等数据库进行分析。

1.2.4 新发突变和拷贝数变异(copy number variation, CNV)评价为致病性的标准 根据美国医学遗传学与基因组学学会基因突变解读指南,评判标准为致病性或可疑致病性、符合遗传模式且临床特征与患儿相匹配的新发突变判断为致病性突变;CNV中包含致病性基因或数据库收录小于该区域片段即致病且临床特征与患儿相匹配的新发CNV判断为致病性CNV。

1.3 统计学处理

采用SPSS 20.0软件处理数据,进行描述性统计分析,计数资料以率表示。

2 结果

2.1 遗传变异与临床

86例EE患儿中,男50例,女36例,男:女为1.39:1;其中新生儿期起病11例,婴儿期起病52例,幼儿期起病18例,学龄前期起病5例,起病中位年龄5月26天(生后3天~4岁10月)。病种包括大田原综合征(Ohtahara

syndrome, OS)5例,婴儿痉挛症(infantile spasms, IS)、Dravet综合征(Dravet syndrome, DS)各17例,Lennox-Gastaut Syndrome (LGS)、Landau-Kleffner Syndrome (LKS)各2例及非癫痫综合征EE 43例。一级亲属中有癫痫史者4例,其中3例与先证者存在同一位点突变,临床表型相似,另1例家系基因检测呈阴性;一级亲属中有热性惊厥史者1例,家系基因检测呈阴性。所有患儿血串联质谱分析及尿有机酸分析均未见典型代谢病改变。血生化除1例患儿呈现反复低血糖外,余均未见明显异常。头颅影像学异常30例,以脑外间隙增宽最常见,共15例(50.0%),其次为脑发育不全或畸形,共11例(36.7%)。脑电图背景正常21例,慢波性异常42例,暴发-抑制5例,高度失律18例,发作间期以广泛性、局灶性或多灶性尖波、尖慢波、棘慢波发放为主。发作类型包括局灶、痉挛、全面阵挛、肌阵挛、失神、失张力等。所有患儿均使用2种或以上抗癫痫药物,其中添加生酮治疗15例,行促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)治疗7例及迷走神经刺激术(vagus nerve stimulation, VNS)治疗1例。3例死亡,19例控制6个月以上未发作,余均不能达到临床控制。

2.2 遗传变异特点

86例EE患儿中,具有明确致病意义的基因突变46例(53.49%),CNV 5例(5.81%),总遗传变异51例(59.30%),见表1、表2。

46例突变阳性基因中含SCN1A突变17例,PCDH19突变4例,SCN2A、STXBP1、KCNQ2突变各3例,EIF2S3、TBC1D24、MEF2C、GRIN2A突变各2例,DNM1、PPP2R5D、KCNA2、KCNB1、CDKL5、CACNA1A、MTOR、CHD2突变各1例。其中新生突变39例(84.78%),父亲或母亲存在杂合突变7例(15.6%)。突变类型以错义突变为主,共33例(71.74%),其它类型包括移码突变7例,无义突变3例,框移突变1例,功能丧失型突变1例及基因整体缺失1例。

86例EE患儿中共检测出CNV 16例,其中明确致病性CNV 5例,良性变异3例,意义不明变异7例,同时存在良性变异及意义不明变异1例。

3 讨论

近年来,随着基因检测技术的普遍应用和提高,越来越多与癫痫有关的基因得到鉴定。本研究以86例不明原因EE患儿为研究对象,对其进行家系WES及

CNV检测,分析其遗传及临床特征。结果发现,存在基因突变或CNV 5例(59.30%),其中新生突变44例(86.27%),提示儿童EE遗传变异率高,且以新生突变为主;1岁前发病63例(73.3%),3岁前发病8例(94.2%),提示EE主要于婴幼儿期起病,病种以IS、DS及不能分类的非癫痫综合征EE为主。

86例EE患儿中有46例致病基因检测阳性,突变率为53.49%,较既往研究报道10%~25%明显增高^[6,7],考虑一方面与既往基因检测多采取小Panel的检测方式或仅对父母进行位点验证而未进行家系基因测序从而导致假阴性有关,另一方面与EE定义修正有关,发育性EE可能与遗传关系更为密切。由于本研究病例量较少,未根据遗传变异情况进一步分组及进行发育评估等方面的统计学分析,尚需进一步研究明确发育性因素在儿童EE发病中的作用。致病性CNV 5例,阳性率为5.81%,低于既往报道10%左右^[8,9]。

既往报道70%~80%DS是由致病性钠通道基因

SCN1A突变引起,少数女性患儿可由PCDH19基因突变引起^[10]。本研究收录的4例PCDH19基因突变患儿,临床均表现为早期起病,多种发作类型,具有热敏性,与DS临床表型存在重叠,但患儿为局灶性发作及阵挛、强直阵挛发作,无肌阵挛、癫痫持续状态,无光敏感性,不能纳入至DS。86例EE患儿中共检测出精神发育迟滞相关基因3例,包括2例MEF2C,1例PPP2R5D,患儿在癫痫发作前可仅表现为发育落后、异常面容,提示我们临床对于不明原因发育落后患儿应积极进行基因检测。TBC1D24基因突变可致家族性婴儿肌阵挛性癫痫、进行性肌阵挛癫痫、EOEE 16等多种表型^[11,12]。本研究2例TBC1D24基因突变患儿中的1例表现为家族性致死性EE,先证者及其双胞胎弟弟、妹妹为同一位点复合杂合突变,婴儿早期即出现频繁肌阵挛发作,渐出现肌阵挛状态、癫痫持续状态等多种发作形式,合并重度发育落后,多种抗癫痫药物控制不佳,先证者弟弟妹妹均于1岁龄左右死亡^[13]。提示我们

表1 46例基因检测阳性EE患儿基因突变特点

基因	编号	性别	发病年龄	核苷酸变化	氨基酸变化	突变来源	新发突变
SCN1A	1	女	6月5天	c.882G>C	p.K294N	母	+
	2	男	4月25天	c.702_c.721delAACCA TTGTGGGAGCCCT- GAinsGAAAGCCT- GAAAGACTT	p.K234_ I241delinsKA X,1696	新生	+
	3	男	5月	c.4066delA	p.I1356Yfs*4	新生	+
	4	男	8月	c.5075T>A	p.F1692Y	父	+
	5	男	2月16天	c.5348C>T	p.A1783V	新生	+
	6	女	6月20天	c.1624C>T	p.R542X	新生	-
	7	女	4月	c.5010_c.5013delGTTT	p.L1670Lfs*9	新生	-
	8	男	3月	c.4934G>A	p.R1645Q	新生	-
	9	女	10月	c.3733C>T	p.R1245X	新生	-
	10	女	8月5天	c.2748C>A	p.Y916X,1094	新生	+
	11	女	3月6天	c.4901G>A	p.R1634Q	新生	-
	12	男	4月	c.4331_4334del	p.1444fs	新生	-
	13	男	9月25天	c.4267C>T	p.P1423S	新生	-
	14	女	4月	c.4762T>C	p.C1588R	新生	-
	15	男	3月26天	c.5348C>T	P.A1783V	新生	-
	16	男	5月14天	c.2021A>G	p.D674G	新生	+
	17	男	7月	C.4393-3T>C	-	新生	+
GRIN2A	18	女	3岁10月	c.3619T>C	p.Y1207H	母	-
	19	男	3岁8月	c.2107C>T	p.703Q	新生	+
SCN2A	19	男	25天	c.4913G>A	p.R1638H	新生	+
	20	男	5天	c.408G>A	p.M136I	新生	-
	21	男	3天	c.2783T>G	p.F928C	新生	-
MEF2C	22	男	3天	c.1091G>A	P.S364N	新生	+
	23	男	7月	c.107G>A	p.S36N	新生	-

表1 46例基因检测阳性EE患儿基因突变特点(续)

基因	编号	性别	发病年龄	核苷酸变化	氨基酸变化	突变来源	新发突变
STXBP1	24	男	1月5天	c.314_c.325+23del TCTTCACTGACTGT- GAGTACAAC- CAAGAGCTGTCC	p.F105_S109d elinsS	新生	+
	25	男	3天	c.416C>T	p.P139L	新生	-
	26	女	9天	c.430G>T	p.V144F	新生	+
KCNQ2	27	男	12天	c.794C>T	p.A265V	新生	-
	28	男	2月18天	c.1149-1(IVS9)G>C	-	新生	+
	29	女	7天	c.1747A>G	p.K583E	新生	+
EIF2S3	30	男	1岁6月	c.137C>T	p.T46I	新生	+
	31	男	3月	c.1391_c.1394delCAAT	p.T464Tfs*5	母	-
PCDH19	32	女	8月	c.964G>C	P.G322R	新生	+
	33	女	2岁	整体缺失	-	新生	-
	34	女	1岁3月	c.1264-1276del	p.T422Afs*143	父	+
	35	女	2岁5月	c.1609G>C	P.D537N	新生	+
CACNA1A	36	男	1岁6月	c.4518A>T	p.F1506L	新生	+
TBC1D24	37	男	7月26天	c.556C>G c.1499C>T	p.L186V p.A500V	复合 杂合	-
	38	女	1月20天	c.76G>T c.1612C>T	P.E26T P.L538V	复合 杂合	-
	39	女	1岁6月	c.890G>A	p.R297Q	新生	-
CDKL5	40	女	20天	c.607G>A	P.E203L	新生	+
KCNB1	41	女	3月27天	c.1106G>T	p.W369L	新生	+
PPP2R5D	42	男	1岁	c.752A>C	p.D251A	新生	-
CHD2	43	男	4岁10月	c.3454C>T	p.R1152W	新生	+
DNMI	44	女	2月	c.1075G>C	p.G359R	新生	-
MTOR	45	男	10月	c.5930C>T	p.T197I	新生	-

注:新发突变(未见文献报道):+表示新发突变,-表示不是新发突变

表2 5例EE患儿致病性CNV特点

编号	性别	起病年龄	诊断	CNV	异常类型
1	女	1岁2月	EE	4p16.3(68,345-2,078,093)	缺失
2	女	2月9天	EE	1p36.22-1p36.33 (chr1:745081-9625072)	杂合缺失
3	女	8月4天	EE	21q22.13q22.2(38429425-41001744)	杂合缺失
4	女	20天	EE	20q13.33-q13.33(61678370-62908370)	杂合缺失
5	男	5月16	IS	14q12q13.3(28,614,448-37,453,985)×3	重复

积极进行遗传检测有助于有效指导再生育。另本研究检测出2例EIF2S3基因突变,国内暂无相关报道。该基因突变引起的MEHMO综合征是一种X连锁综合征,患儿以严重的智力障碍、癫痫、性腺功能低下、肥胖、小头畸形为主要表现,部分患儿表现为葡萄糖调节障碍,表型具有异质性^[14,15]。本研究2例均表现为发育落后、小头畸形、隐睾/小阴茎、癫痫,其中1例伴反复低血糖,与既往报道相符。

总之,儿童EE病因复杂,遗传变异在其发病中占重要地位,早期对EE患儿进行遗传变异检测,明确其

分子水平病因,可为EE患儿的精准治疗、判断预后及相应的遗传咨询提供有力依据。

参考文献

[1] Banerjee PN, Filippi D, Allen Hauser W. The descriptive epidemiology of epilepsy-a review[J]. *Epilepsy Res*, 2009, 85: 31-45.
 [2] Camfield P, Camfield C. Incidence, prevalence and aetiology of seizures and epilepsy in children[J]. *Epileptic Disord*, 2015, 17: 117-123.
 [3] Beghi E. The Epidemiology of Epilepsy[J]. *Neuroepidemiology*, 2020, 54: 185-191.
 [4] Wang J, Lin ZJ, Liu L, et al. Epilepsy-associated genes[J]. *Seizure*, 2017, 44: 11-20.
 [5] Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, et al. ILAE classification of the

有助于减少患者的焦虑,提高认知水平。

本研究显示,有效的影像学评估CSVD总体负担可作为评估发生认知及抑郁障碍的手段;改善抑郁情绪,可能会提高患者的认知水平,提高患者生活质量。本研究尚存在不足之处:①入组患者的病情相对较轻。②随访时未进行颅脑核磁复查。③样本较小,选择有偏倚,没有能够进行长期随访,对入选样本中认知障碍合并抑郁患者应进行抗抑郁治疗后进一步认知评估,除外抑郁所致假性认知障碍。故临床结果具有一定的局限性。

参考文献

- [1] Russo E, Leo A, Scicchitano F, et al. Cerebral small vessel disease predisposes to temporal lobe epilepsy in spontaneously hypertensive rats[J]. *Brain Res Bull*, 2017, 130: 245-250.
- [2] Staals J, Makin SD, Doubal FN, et al. Stroke subtype, vascular risk factors, and total MRI brain small-vessel disease burden[J]. *Neurology*, 2014, 83: 1228-1234.
- [3] World Health Organization. International statistical classification of diseases and related health problems, Tenth Revision (ICD-10). *Encyclopedia of Clinical Neuropsychology*[M]. Springer, 2009: 107-110.
- [4] Longstreth WT Jr, Arnold AM, Kuller LH, et al. Progression of magnetic resonance imaging-defined brain vascular disease predicts vascular events in elderly: the Cardiovascular Health Study[J]. *Stroke*, 2011, 42: 2970-2972.
- [5] Cuadrado-Godia E, Dwivedi P, Sharma S, et al. Cerebral small vessel disease: A review focusing on pathophysiology, biomarkers, and machine learning strategies[J]. *J Stroke*, 2018, 20: 302-320.
- [6] Wardlaw JM, Smith C, Dichgans M. Small vessel disease: mechanisms and clinical implications[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18: 684-696.
- [7] Kandiah N, Wiryasaputra L, Narasimhalu K, et al. Frontal subcortical ischemia is crucial for post stroke cognitive impairment[J]. *J Neuro Sci*, 2011, 309: 92-95.
- [8] Baune BT, Roesler A, Knecht S, et al. Single and combined effects of cerebral white matter lesions and lacunar infarctions on cognitive function in an elderly population[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2009, 64: 118-124.
- [9] Staals J, Booth T, Morris Z, et al. Total MRI load of cerebral small vessel disease and cognitive ability in older people[J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36: 2806-2811.
- [10] Uiterwijk R, van Oostenbrugge RJ, Huijts M, et al. Total Cerebral Small Vessel Disease MRI Score Is Associated with Cognitive Decline in Executive Function in Patients with Hypertension[J]. *Front Aging Neurosci*, 2016, 8: 301.
- [11] Zi W, Duan D, Zheng J. Cognitive impairments associated with periventricular white matter hyperintensities are mediated by cortical atrophy[J]. *Acta Neurol Scand*, 2014, 130: 178-187.
- [12] Gregoire SM, Scheffler G, Jager HR, et al. Strictly lobar microbleeds are associated with executive impairment in patients with ischemic stroke or transient ischemic attack[J]. *Stroke*, 2013, 44: 1267-1272.
- [13] Arba F, Quinn TJ, Hankey GJ, et al. Enlarged perivascular spaces and cognitive impairment after stroke and transient ischemic attack[J]. *Int J Stroke*, 2018, 13: 47-56.
- [14] Liang Y, Chen YK, Mok VC, et al. Cerebral Small Vessel Disease Burden Is Associated With Poststroke Depressive Symptoms: A 15-Month Prospective Study[J]. *Front Aging Neurosci*, 2018, 10: 46.
- [15] 杜娟, 陈念东, 张雪玲, 等. 急性缺血性脑卒中后抑郁与脑小血管病负荷的相关性研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2017, 12: 1287-1290.
- [16] Zhang X, Tang Y, Xie Y, et al. Total magnetic resonance imaging burden of cerebral small-vessel disease is associated with post-stroke depression in patients with acute lacunar stroke[J]. *Eur J Neurol*, 2017, 24: 374-380.
- [17] Rock P L, Roiser J P, Riedel W J, et al. Cognitive impairment in depression: a systematic review and meta-analysis[J]. *Psychol Med*, 2014, 44: 2029-2040.
- [18] Dieguez S, Staub F, Bruggemann L, et al. Is post stroke depression a vascular depression[J]. *J Neuro Sci*, 2004, 226: 53-58.
- [19] 杨明明. 510例脑卒中患者的抑郁、焦虑及其相关因素分析[J]. *中国康复理论与实践*, 2006, 6: 498-500.

(本文编辑:唐颖馨)

(上接第705页)

- epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology[J]. *Epilepsia*, 2017, 58: 512-521.
- [6] Martin HC, Kim GE, Pagnamenta AT, et al. Clinical whole-genome sequencing in severe early-onset epilepsy reveals new genes and improves molecular diagnosis[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23: 3200-3211.
 - [7] Schnekenberg RP, Németh AH. Next-generation sequencing in childhood disorders[J]. *Arch Dis Child*, 2014, 99: 284-290.
 - [8] Helbig I, Swinkels ME, Aten E, et al. Structural genomic variation in childhood epilepsies with complex phenotypes[J]. *Eur J Hum Genet*, 2014, 22: 896-901.
 - [9] Wincent J, Kolbjørn S, Martin D, et al. Copy number variations in children with brain malformations and refractory epilepsy[J]. *Am J Med Genet A*, 2015, 167: 512-523.
 - [10] Cetica V, Chiari S, Mei D, et al. Clinical and genetic factors predicting Dravet syndrome in infants with SCN1A mutations[J]. *Neurology*, 2017, 88: 1037-1044.

- [11] Appavu B, Guido-Estrada N, Lindstrom K, et al. Electroclinical phenotypes and outcomes in TBC1D24-related epilepsy[J]. *Epileptic Disord*, 2016, 18: 324-328.
- [12] Balestrini S, Milh M, Castiglioni C, et al. TBC1D24 genotype-phenotype correlation: Epilepsies and other neurologic features[J]. *Neurology*, 2016, 87: 77-85.
- [13] 刘娜, 刘晓鸣. TBC1D24 基因突变引起的致死性癫痫性脑病一家系报道[J]. *国际儿科学杂志*, 2018, 45: 560.
- [14] Young-Baird SK, Shin BS, Dever TE. MEHMO syndrome mutation EIF2S3-I259M impairs initiator Met-tRNAiMet binding to eukaryotic translation initiation factor eIF2[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 855-867.
- [15] Gregory LC, Ferreira CB, Young-Baird SK, et al. Impaired EIF2S3 function associated with a novel phenotype of X-linked hypopituitarism with glucose dysregulation[J]. *EBioMedicine*, 2019, 42: 470-480.

(本文编辑:唐颖馨)