

# Dravet 综合征 2 个家系的致病基因筛查和早期用药分析

吴光声 朱亚非 李珊 杨琳 葛萍萍

**【摘要】** 目的 分析 Dravet 综合征患儿临床表现和治疗情况并筛查其致病基因, 以便早期诊断和合理用药。方法 收集先证者及其家系成员临床资料及外周血 DNA, 对家系先证者临床表现和治疗情况进行分析, 并采用二代测序的方法进行致病基因突变筛查。结果 本研究共收集 Dravet 综合征 2 个家系, 2 例先证者在病程中或起病阶段都出现部分性发作形式, 均选用了奥卡西平、卡马西平等钠通道药物, 其中 1 例病情加重, 1 例无明显疗效, 2 个家系中基因筛查都检测出 SCN1A 基因突变, 包括 p.V1767L 和 p.A905D。结论 本研究发现 2 个错义突变, SCN1A 是 Dravet 综合征重要致病基因, 早期致病基因筛查有利于早期诊断和早期合理用药。

**【关键词】** 基因 Dravet 综合征 SCN1A 二代测序

Dravet 综合征是一种严重的癫痫性脑病, 法国医师 Dravet 1978 年首次报道, 早期又称婴儿严重肌阵挛性癫痫, 由于少数患儿病程中始终不出现肌阵挛, 故 1989 年国际抗癫痫联盟重新将本病命名为 Dravet 综合征, 其占 3 岁以内婴幼儿癫痫的 7%。具有发病年龄早, 发作类型多样, 发作频率高, 智能损害严重, 药物治疗效果差等特点。因早期表现为单纯或复杂性热性惊厥(CFS), 其脑电图、头颅 MRI 等常规检查早期缺乏特异性, 故容易引起漏诊、误诊和早期不合理用药, 基因检测二代测序的发展为 Dravet 综合征早期诊断和早期合理用药提供了有利的基因参考依据。本文旨在分析 Dravet 综合征患儿临床表现和治疗情况并筛查其致病基因, 以便早期诊断和合理用药。

## 1 对象和方法

**1.1 研究对象** 2013 年 3 月至 2016 年 8 月本院收住 Dravet 综合征患儿 2 例, 根据 ILAE 2010 年癫痫发作与癫痫综合征分类标准<sup>[1]</sup>和 Dravet 综合征具体临床诊断标准<sup>[2-3]</sup>, 对每个家系受累成员均建立临床登记表, 登记表的内容包括姓名、性别、出生日期、民族、发病年龄、发作表现、围生期情况、既往史、家族史、用药史及辅助检查结果。

**1.2 致病基因筛查方法** 从患儿血液中提取 3~5 μg DNA, 并将其打断, 扩增, 从而构建患儿的全基因组文库, 利用相关致病基因捕获试剂盒进行捕获, 然后利用新一代测序仪 Illumina HiSeq 2000 进行高通量测序, 进而分析, 找出这些疾病相关基因的所有突变信息, 从而找到患儿的致病基因, 并对家系成员进行突变位点的一代测序验证。选择的 V2-panel 基因捕获试剂盒, 包含 PRRT2、SCN1A、SCN1B、GABRG2、GPR98 等 150 多个常见癫痫致病基因, 以上基因筛查及测序工作委托北京迈基诺有限公司完成。

## 2 结果

**2.1 家系 1 分析结果** 家系图见图 1, 先证者, 男, 5 岁 2 个月。患儿 9 月龄发病, 发病前生长发育正常, 发病后出现智力及运动发育落后, 高热惊厥起病, 2 岁 10 个月时开始出现无热抽搐, 抽搐具有热敏性, 出现 24h 热程内抽搐 2 次或 2 次以上, 抽搐最长时间达 1h, 疗程中使用多种抗癫痫药物治疗(奥卡西平、拉莫三嗪、丙戊酸钠、硝西洋、左乙拉西坦), 抽搐仍有发作, 目前 2~3 个月抽搐 1 次, 病初脑电图正常, MRI 正常, 2 岁 10 个月后脑电图检查为右枕区放电, 家长否认家族其他成员有癫痫类疾病。基因突变筛查显示, SCN1A 基因 Exon26 发现杂合突变 c.5299G>C, 氨基酸改变 p.V1767L, 患儿(II-1)有突变, 而未受累父母未发现该位点突变。

**2.2 家系 2 分析结果** 家系图见图 2。先证者, 男, 3 岁 1 个月。患儿 9 月龄发病, 发病前生长发育正常, 高热惊厥起病, 2h 内抽搐 2 次, 1 岁时开始出现无热抽搐, 肌阵挛发作时间不确定, 病程中抽搐具有热敏特征, 由洗热

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.4.2018-1875

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2016KYB232), 杭州市科技发展计划项目(20150633B04)

作者单位: 310015 杭州师范大学附属医院儿科

通信作者: 吴光声, E-mail: wuguangsheng1983@126.com

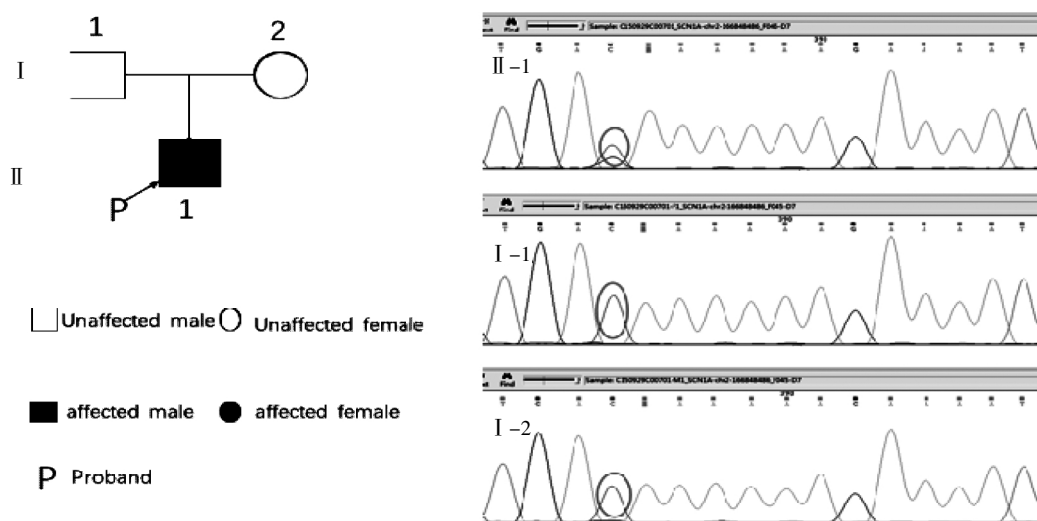


图 1 家系 1 的家系图及基因测序结果

水澡诱发,出现 24h 热程内抽搐 2 次或 2 次以上,未发生抽搐时间 > 10min,疗程中使用多种抗癫痫药物治疗(奥卡西平、丙戊酸钠、左乙拉西坦),癫痫控制效果欠佳,1 岁前视频脑电图正常,2 岁后视频脑电图异常,MRI 提示髓鞘化偏慢,后复查正常。患儿母亲有热性惊厥病

史,否认家族其他成员有癫痫类疾病。基因突变筛查显示,SCN1A 基因 Exon15 发现杂合突变 c.2714C>A,氨基酸改变 p.A905D,患儿(II-1)有突变,受累者母亲和先证者有同一位点突变,而未受累父亲未发现该位点突变。

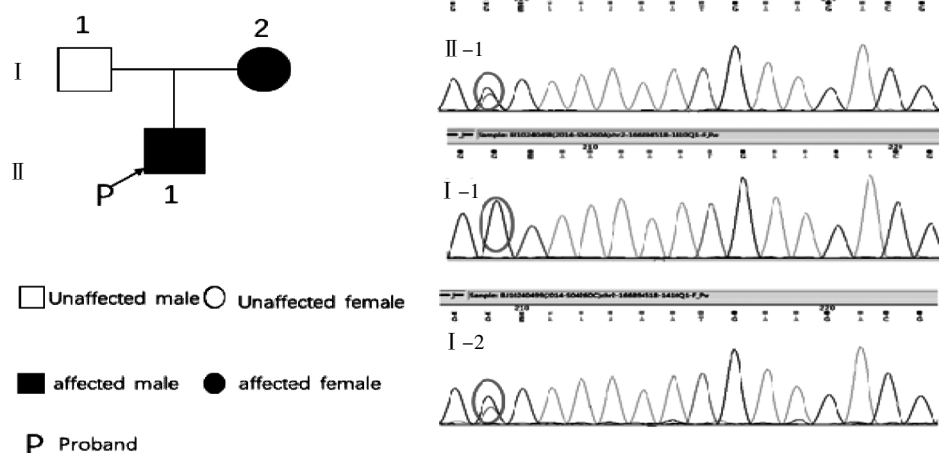


图 2 家系 2 的家系图及基因测序结果

### 3 讨论

Dravet 综合征最常见的致病原因为 SCN1A 基因突变,既往研究认为在 Dravet 综合征患儿中,80% 有 SCN1A 突变,突变部位多位于钠离子的关键区域(S4-S6),且其中绝大多数突变无家族遗传倾向,95% 为新生突变,5% 来自父母,但父母往往临床表型轻微<sup>[4]</sup>。但最新的研究发现在 575 个 Dravet 综合征家系中,共发现 30 例(5.2%)父母一方为 SCN1A 突变嵌合体<sup>[5]</sup>,同时 Dravet 综合征患儿中也存在 SCN1A 单核苷酸突变体的体细胞嵌合现象<sup>[6]</sup>。本研究发现家系 2 先证者和母亲有同

一位点 SCN1A 的基因突变,但母亲临床表型轻微,进一步说明 SCN1 基因突变具有表型异质性的特点。家系 1 未发现父母有同一位点的基因突变,是否为嵌合体则需要进一步研究。对于 SCN1A 基因检测阴性的患儿,有报道少见的致病基因包括 PCDH19、STXBP1、GABRA1、GABARG2、SCN1B、SCN2A、STXBP1 等位点基因突变<sup>[7-12]</sup>。所以对于 Dravet 综合征,不仅需要早期进行 SCN1A 基因筛查,同时需要包含 PCDH19、STXBP1、GABRA1、GABARG2、SCN1B、SCN2A 等可疑基因的二代测序,在临床费用和准确率相当的同时,进一步扩大了筛查范围,有利于早期明确病因和诊断。

Dravet 综合征患儿出生时往往正常,多在 1 岁内起病,发病年龄在 2~10 个月,部分患儿有癫痫和(或)热性惊厥家族史,最初可表现为由发热诱发的长时间全面性或一侧性惊厥发作,脑电图表现可正常,此时常被诊断为热性惊厥。1~4 岁后患儿逐渐出现无热惊厥<sup>[13]</sup>,发作形式多样,以肌阵挛为主,可有不典型失神发作和部分性发作。一半以上患儿出现癫痫持续状态,多出现在 6~18 个月。发病后出现进行性精神运动发育落后或倒退,尤其是语言发育迟缓。本研究家系 1 先证者临床表型为 Dravet 综合征,9 月龄起病时表现为以部分性发作起始的 CFS,1 岁以后才表现为无热惊厥,但 10 月龄时已经出现智力和语言发育进行性减退,但 MRI 未见异常,脑电图早期多次检查正常,直到 2 岁以后才出现右枕区的尖慢波,棘慢波。家系 2 先证者也是 9 月龄出现热性惊厥,1 岁时出现无热惊厥, MRI 只有髓鞘化偏慢,无特异性,2 岁后视频脑电图出现癫痫样放电。故需早期认识 Dravet 综合征的临床特点,早期进行干预和合理治疗,而不能完全或单纯等待 MRI、脑电图等辅助检查结果后才开始干预。研究表明反复的惊厥发作会加重患儿智力的减退,早期的合理治疗有利于惊厥的控制,最终有利于减轻患儿智力损害,SCN1A 基因检测能帮助早期诊断,缩短观察期,有利于患儿的治疗和管理<sup>[14]</sup>。所以早期识别 Dravet 综合征的临床特点至关重要,有研究显示 Dravet 综合征患儿在 1 岁以前常具备多条 CFS 的特点<sup>[15]</sup>,具备 2 条及 2 条以上 CFS 特点者高达 82.4% (154/187),故对于 1 岁前表现为热性惊厥的患儿应密切随访。同时 Ragona 和 Hattoari 等<sup>[16-17]</sup>研究显示,Dravet 综合征患儿早期都有半侧阵挛发作或局灶性发作的表现。所以对于以下具有危险因素的热性惊厥患儿需进行致病基因筛查:(1)首次发作<1 岁,(2)直系亲属中有癫痫病史,(3)首次发作有神经系统发育异常或异常体征,(4)早期都有半侧阵挛发作或局灶性发作的表现。

有研究认为,热性惊厥相关性癫痫发生机制<sup>[18-19]</sup>:(1)包括钠通道、L-氨基酸受体和超极化激活的环核苷酸门控通道相关基因在内的单基因突变造成的通道功能异常,尤其与 SCN1A 基因的关系最为密切;(2)多个易患基因共同作用的遗传背景;(3)细胞因子和其他炎性介质介导的细胞凋亡等。复杂的遗传和分子致病基础以及多样的临床表型,决定了热性惊厥相关性癫痫药物选择的复杂性。近年的研究发现电压依赖性钠通道(SCN1A)基因突变与全面性癫痫伴热性惊厥附加症(GEFS+)、部分性癫痫伴热性惊厥附加症(PEFS+)和 Dravet 综合征的关系密切,突变造成的钠通道功能障

碍是其可能的发病机制<sup>[20-21]</sup>。国内外都做了相关的研究,有报道拉莫三嗪、卡马西平、苯妥英钠和奥卡西平加重热性惊厥相关性癫痫患者,尤其加重 SCN1A 基因突变患者的发作<sup>[22]</sup>。Sugawara 等<sup>[23]</sup>发现将 SCN1A 错义突变的细胞 Na<sup>+</sup>通道电流明显减少,通道功能缺失,甚至通道功能完全失活。本研究 2 例先证者早期临床表现为局灶性发作的特点,故都选用了对部分性发作有效的阻滞钠通道的抗癫痫药物。但 2 例先证者在用钠通道阻滞药物后出现了发作频率加快和症状加重的情况,考虑与 SCN1A 突变有关。家系 1 先证者 2 岁 10 个月开始口服奥卡西平和拉莫三嗪,发作频率增多,从原来 1 个月 1~2 次,到每周 1~2 次,且发作持续时间延长,基因检测后改丙戊酸钠、左乙拉西坦及硝西泮治疗后发作较前明显控制,2~3 个月发作一次。家系 2 先证者 1 岁 6 个月开始口服奥卡西平后发作次数无减少,症状无缓解,基因检测诊断明确后改丙戊酸钠和左乙拉西坦治疗后发作基本控制,只有在高热时偶有发作。所以对于临床表型为部分性发作的 GEFS+ 患儿及 Dravet 综合征患儿避免选择钠通道阻滞药物,如卡马西平、拉莫三嗪、奥卡西平等,尤其明确 SCN1A 基因突变患儿需要应用抗癫痫治疗时,选用丙戊酸、左乙拉西坦、托吡酯、氯硝西泮或生酮饮食治疗更为合适,而不是盲目地根据临床发作类型选用钠通道药物。

综上所述,对于 1 周岁以内发病的 CFS 患儿和早期以部分性发作为表现且抗癫痫治疗疗效差的患儿,需高度警惕 Dravet 综合征、PEFS+。早期进行二代多基因筛查,有利于早期明确诊断和早期合理治疗。

#### 4 参考文献

- [1] Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies:report of the ILAE Commission on Classification and Terminology,2005-2009 [J]. *Epilepsia*,2010,51:676-685. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x.
- [2] Banlac S, Gourfinkel-An I, Nabbout R, et al. Fever, genes and epilepsy[J]. *Lancet Neurol*,2004,3(7):421-430. DOI:10.1016/S1474-4422(04)00808-7.
- [3] Sun H, Zhang Y, Liu X, et al. Analysis of SCN1A mutation and parental origin in patients with Dravet syndrome[J]. *Hum Genet*, 2010,55(7):421-427. DOI: 10.1038/jhg.2010.39.
- [4] Marini C, Scheffer IE, Nabbout R, et al. The genetics of Dravet syndrome[J]. *Epilepsia*, 2011, 52(Suppl 2):24. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2011.02997.x.
- [5] 刘爱杰,杨晓旭,许小菁,等.Dravet 综合征患儿父母 SCN1A 基因突变嵌合体研究[J]. *中华儿科杂志*,2017,55(11):818-823. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2017.11.005.

- [6] Nakayama T, Ishii A, Yoshida T, et al. Somatic mosaic deletions involving SCN1A cause Dravet syndrome[J]. American Journal of Medical Genetics Part A, 2018, 176(3): 657–662. DOI: 10.1002/ajmg.a.38596.
- [7] 田小娟, 张月华, 曾琦, 等. Dravet 综合征少见致病基因突变及临床表型分析[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(19): 1479–1483. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2017.19.010.
- [8] Kang JQ, Macdonald RL. Molecular Pathogenic Basis for GABRG2 Mutations Associated With a Spectrum of Epilepsy Syndromes, From Generalized Absence Epilepsy to Dravet Syndrome[J]. Jama Neurology, 2016, 73(8): 1009–1016. DOI: 10.1001/jamaneurol.2016.0449.
- [9] Huang X, Tian M, Hernandez CC, et al. The GABRG2 Nonsense Mutation, Q40X, Associated with Dravet Syndrome Activated NMD and Generated a Truncated Subunit That was Partially Rescued by aminoglycoside-Induced Stop Codon Read-through [J]. Neurobiology of Disease, 2012, 48(1): 115–123. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.06.013
- [10] Ishii A, Kanaumi T, Sohda M, et al. Association of nonsense mutation in GABRG2 with abnormal trafficking of GABAA receptors in severe epilepsy[J]. Epilepsy Research, 2014, 108(3): 420–432. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2013.12.005.
- [11] Suls A, Jaehn JA, Kecskés A, et al. De Novo Loss-of-Function Mutations in CHD2 Cause a Fever-Sensitive Myoclonic Epileptic Encephalopathy Sharing Features with Dravet Syndrome[J]. American Journal of Human Genetics, 2013, 93(5): 967–975. DOI: 10.1016/j.ajhg.2013.09.017.
- [12] Carvill GL, Weckhuysen S, McMahon JM, et al. GABRA1 and STXBP1: Novel genetic causes of Dravet syndrome[J]. Neurology, 2014, 82(14): 1245–1253. DOI: 10.1212/WNL.0000000000000291.
- [13] 倪燕, 张林妹, 吴冰冰, 等. Dravet 综合征临床与 SCN1A 基因突变分析(附 60 例报告)[J]. 中国实用儿科杂志, 2017, 32(10): 772–776. DOI: 10.19538/j.ek.2017.10.0613.
- [14] O'Callaghan F J K, Lux A L, Darke K, et al. The effect of lead time to treatment and of age of onset on developmental outcome at 4 years in infantile spasms: Evidence from the United Kingdom Infantile Spasms Study[J]. Epilepsia, 2011, 52(7): 1359–1364. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2011.03127.x.
- [15] 许小菁, 张月华. SCN1A 突变的 Dravet 综合征早期临床特点[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2014, 2(29): 299–302. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2014.04.015.
- [16] Ragona F, Brazzo D, De Giorgi I, et al. Dravet syndrome: Early clinical manifestations and cognitive outcome in 37 Italian patients[J]. Brain Dev, 2010, 32(1): 71–77. DOI: 10.1016/j.braindev.2009.09.014.
- [17] Hattori J, Ouchida M, Ono J, et al. A screening test for the prediction of Dravet syndrome before one year of age[J]. Epilepsia, 2008, 49(4): 626–633. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01475.x.
- [18] Dubé CM, McClelland S, Choy MK, et al. Fever, febrile seizures, and epileptogenesis[J]. Epilepsia, 2010, 51(Suppl 5): 33. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2010.02819.x.
- [19] Saghadzadeh A, Mastrangelo M, Rezaei N. Genetic background of febrile seizures[J]. Rev Neurosci, 2014, 25: 129–161. DOI: 10.1515/revneuro-2013-0053.
- [20] Hirose S, Scheffer IE, Marini C, et al. SCN1A testing for epilepsy application in clinical practice[J]. Epilepsia, 2013, 54: 946–952. DOI: 10.1111/epi.12168.
- [21] Marini C, Scheffer IE, Nabbout R, et al. The genetics of Dravet syndrome[J]. Epilepsia, 2011, 52(Suppl 2): 24. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2011.02997.x.
- [22] 余璐, 何娜, 廖卫平, 等. 热性惊厥相关癫痫患者抗癫痫药物治疗疗效及与电压依赖性钠通道  $\alpha 1$  亚基因突变的关系[J]. 中华神经科杂志, 2015, 47(8): 516–522. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2014.08.002.
- [23] Sugawara T, Tsumbuchi Y, Fujiwara T, et al. Nav1.1 channels with mutations of severe myoclonic epilepsy in infancy display attenuated currents[J]. Epilepsy Res, 2003, 54(2–3): 201–207. DOI: 10.1016/s0920-1211(03)00084-6.

(收稿日期: 2018-07-23)

(本文编辑: 马雯娜)

## 《浙江医学》对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计学分析方法的选择: 对于定量资料, 应根据采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的, 选用合适的统计学分析方法, 不应盲目套用  $t$  检验和单因素方差分析; 对于定性资料, 应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件以及分析目的, 选用合适的统计学分析方法, 不应盲目套用  $\chi^2$  检验。对于回归分析, 应结合专业知识和散布图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用简单直线回归分析, 对具有重复实验数据的回归分析资料, 不应简单化处理; 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计学分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。应写明所用统计学分析方法的具体名称(如: 成组设计资料的  $t$  检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的  $q$  检验等)。

2. 统计结果的解释和表达: 当  $P < 0.05$  或  $< 0.01$  时, 应说明对比组之间的差异有统计学意义, 而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别; 统计量的具体值(如  $t$  值,  $\chi^2$  值,  $F$  值等)应尽可能给出具体的  $P$  值; 当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时, 在给出显著性检验结果的同时, 再给出 95% 可信区间。

本刊编辑部