

【文章编号】1006-6233(2020)12-2032-05

不明原因智力障碍共患癫痫患儿的临床特征及相关致病基因分析

孙莹, 段丽芬, 王惠萍, 王春霞, 王左华, 龚燕, 张霞

(云南省昆明市儿童医院神经内科, 云南 昆明 650228)

【摘要】目的:分析不明原因智力障碍共患癫痫(Epilepsy in patients with unexplained mental disorders, ID-E)患儿临床特征及相关致病基因。**方法:**选取2016年1月1日至2019年6月31日我院收治的临床资料完整的智力障碍共患癫痫儿童患者72例为研究对象,根据患儿基因拷贝数(CNVs)变异检出率进行分组,观察阳性、阴性表达患儿临床特征,观察表达患儿临床治疗效果,根据患儿智力障碍情况分为轻度智力障碍、中度智力障碍、重度智力障碍组,对不同智力障碍患儿CNVs检出类型进行观察记录。**结果:**72例患儿CNVs阳性情况进行分组,15例阳性患儿,占(20.83%);阴性患儿57例,占(79.17%)。对阳性、阴性CNVs情况患儿临床特征进行分析发现:其在智力障碍程度、癫痫发作特点上,差异具有统计学意义($P<0.05$)。根据患儿智力障碍进行分组,4例中度智力障碍阳性CNVs患儿3例为微缺失微重复综合征;1例基因片段突变,其突变染色体涉及17、21与X号染色体;无致病性不确定患儿。11例重度智力障碍阳性CNVs患儿7例为微缺失微重复综合征;3例基因片段突变,涉及染色体同样为17、21与X号染色体;发现1例致病性不确定患儿,经Fisher's检验显示:微缺失微重复综合征、基因片段突变、致病性不确定比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。阳性与阴性患儿疗效程度显著、有效、无效比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);治疗总有效率阴性组患儿显著高于阳性组患儿,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**不同CNVs表达患者其在智力受损程度、癫痫发作特点上存在显著差异;本研究通过基因拷贝数变异情况进行分析表明20.83%患儿存在可致病性拷贝数变异。

【关键词】 不明原因智力障碍; 癫痫; 临床特征; 致病基因

【文献标识码】 A 【doi】10.3969/j.issn.1006-6233.2020.12.023

Clinical Characteristics and Related Pathogenic Genes of Children with Epilepsy and Dysgnosis for Unknown Reason

SUN Ying, DUAN Lifen, WANG Huiping, et al

(Kunming Children's Hospital, Yunnan Kunming 650228, China)

【Abstract】Objective: To analyze the clinical characteristics and related pathogenic genes of children with epilepsy (Epilepsy in patients with unexplained mental disorders, ID-E) and dysgnosis for unknown reason. **Methods:** From January 1, 2016 to June 31, 2019, 72 children with epilepsy and dysgnosis for unknown reason admitted to our hospital were selected as subjects. According to the detection rate of gene copy number (CNVs) variation, the positive and negative expression of children's clinical characteristics were observed, and the clinical treatment effect was observed. According to the mental disorder degree, children were divided into mild mental disorder group, moderate mental disorder group, and severe mental disorder group. Different types of CNVs were observed and recorded. **Results:** 72 cases of children with CNVs were divided into two groups, 15 cases Positive (20.83%), 57 cases negative (79.17%). The clinical characteristics of children with positive and negative CNVs were analyzed. It was found that the difference was statistically significant in the degree of mental retardation and seizure characteristics ($P<0.05$). According to the children's mental retardation, among 4 cases of moderate mental retardation positive CNVs, 3 cases were confirmed microdeletion and microduplication syndrome, 1 case was confirmed gene fragment mutation, the mutation chromosome involving chromosome 17, 21 and X; there were no children with uncertain pathogenicity. In 11 cases of severe mental retardation positive CNVs, 7 cases were microdeletion and microduplication syndrome; 3 cases were gene fragment mutation, involving chromosomes 17, 21 and X; one case of pathogenicity uncertainty was

【基金项目】云南省昆明市卫生健康委员会卫生科研课题项目,(编号:2019-06-01-031);云南省王艺专家工作站,(编号:2019IC050)

【通讯作者】张霞

found, and Fisher's test showed that there was no significant difference in microdeletion and microduplication syndrome, gene fragment mutation and pathogenicity uncertainty ($P > 0.05$). The difference was statistically significant ($P < 0.05$); the total effective rate in the negative group was significantly higher than that in the positive group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Different CNVs expression patients have significant differences in the degree of intellectual impairment, seizure characteristics; this study through gene copy number variation analysis showed that 20.83% of children have pathogenic copy number variation.

[Key words] Dysgnosia for unknown reason; Epilepsy; Clinical characteristics; Pathogenic genes

智力障碍主要为人类 18 岁之前发生的一种功能性疾病状态,主要特征为智力与适应能力受限^[1]。根据研究^[2]指出,智力障碍可分为综合征型与非综合征型,其中综合型智力障碍患者慢性疾病发生率远高于正常人与非综合型患者。癫痫是智力障碍最常见的共患疾病,发生率为 20%~30%,若患者智力障碍程度越高,癫痫程度越严重。研究^[3]指出,不明原因智力障碍共患癫痫(Epilepsy in patients with unexplained mental disorders, ID-E)患者基因拷贝数(CNVs)变异率较高,这提示 ID-E 患者的发病与遗传具有关联性。ID-E 患儿临床主要特征并不明确,不同患儿可存在不同的临床特征,同时不同临床特征及相关致病基因的研究较少。基于此,本文作者结合自身临床实践,选取 72 例我院收治的 ID-E 患儿作为研究对象,旨在分析 ID-E 患儿临床特征及相关致病基因情况,为临床中该患儿的诊断与治疗提供帮助。现将研究结果报告如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料:选取 2016 年 1 月 1 日至 2019 年 6 月 31 日我院收治的临床资料完整的 ID-E 患儿 72 例为研究对象。患儿智力障碍诊断标准符合《精神疾病诊断与统计手册》第五版(DSM-V)诊断标准^[4]。患儿均于我院治疗,治疗时间 ≥ 2 年。纳入标准:①临床症状及脑电图表现确诊为儿童癫痫患者,包括全面性发作、局灶性发作及局灶性癫痫持续状态;②患儿智力测评结果 IQ 分 < 70 分;③患儿进行基因检测获得家属同意。排除标准:①患儿患有遗传性疾病如癫痫综合征、脆性 X 综合征、Rett 综合征、脊髓性肌萎缩症与假肥大型肌营养不良等已知遗传疾病;②患儿为先天愚型;③临床表现为单基因病;④治疗时间 < 2 年。

1.2 方法:采集患儿外周血 5mL,放入抗凝管中,采用提前制备的染色体与细胞悬液以及基因组 DNA 抽提。使用血液基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA;试剂盒购自中科雷鸣生物科技有限公司。全基因组拷贝数变异检测采用 Affymetrix 公司的 CytoScan HD 芯片系统平台,起平台含有 270 万种探针,同时还包括 75 万种可进行分型的 SNP 探针、195 万个拷贝数探针。将所

获得的数据经正常人群数据库 DGV 数据库(<http://ll-projects.tcag.a/variation/>)、异常表型数据库(<http://decipher.sanger.ac.uk/>)、孟德尔在线遗传性疾病数据库(www.ncbi.nlm.nih.gov/omim)进行人工筛查,检索并比较分析是否有已知致病性 CNVs,对致病性与可疑致病性 CNVs 进行分析检测。对大于 500kb 的 CNVs,查找数据若存在相关临床微重复/微缺失综合征或是存在有临床意义的 CNVs,则定义为致病性 CNVs。若异常表型数据库数据库中未收录的大于 500kb,而 DGV 数据库则进行收录的 CNVs 片段定义为正常多态性 CNVs。若上述数据库均未收入, > 500 kb 的 CNVs 则定义为不明 CNVs。根据检测结果,将 CNVs 分为三类,已确定导致遗传疾病的致病 CNVs(已知微缺失综合征或微重复综合征)、潜在致病性 CNVs(可能存在致病性 CNVs,但不明确)、良性的 CNVs。

1.3 观察指标:根据数据库筛查结果确定本研究患儿 CNVs 阳性、阴性情况并进行分组,阳性为:致病性 CNVs、意义不明确 CNVs。阴性:良性的 CNVs^[5]。观察两类患儿临床特征情况。根据患儿智力评定结果进行分组,根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)与美国智力开发低下协会(American Association on Mental Deficiency, AAMD)的智力评定标准分为:智商(Intelligence Quotient, IQ)值 50~69 为轻度智力障碍、35~49 为中度智力障碍、 < 34 为重度智力障碍。分析不同智力障碍患儿 CNVs 检出情况。同时观察阳性、阴性 CNVs 情况患儿治疗效果情况,采用我院自制疗效判定标准;显效:患儿治疗后癫痫无发作,或是发作频率减少 75%以上;有效:发作频率减少 50%~75%,发作时时间缩短,症状较以往得到明显减轻;无效:发作频率减少 $< 50%$,发作时症状无减轻。治疗总有效=显效+有效。

1.4 统计学方法:采用 SPSS22.0 软件对数据进行统计学处理,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,采用独立样本 χ^2 检验与 Fisher's 检验,不同 CNVs 情况患儿治疗效果,采用独立样本 χ^2 检验与秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CNVs 检出情况及临床特征情况:根据 72 例患儿 CNVs 阳性情况进行分组,共 15 例阳性患儿,占(20.

83%);阴性 57 例,占(79.17%);根据患儿临床特征进行分析发现;其在智力障碍程度、癫痫发作特点上,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。详情见表 1。

表 1 CNVs 检出情况及临床特征情况

临床特征		阳性	阴性	χ^2	P
性别	男	12(80.00)	31(54.39)	3.239	0.072
	女	3(20.00)	26(45.61)		
患儿年龄(岁)	4~6岁	3(20.00)	16(28.07)	0.598	0.741
	7~12岁	5(33.33)	20(35.09)		
	>12岁	7(46.67)	21(36.84)		
智力障碍程度	轻度	0(0.00)	22(38.60)	14.279	0.001
	中度	4(26.67)	21(36.84)		
	重度	11(73.33)	14(24.56)		
癫痫发病年龄(岁)	<1个月	3(20.00)	10(17.54)	0.582	0.900
	1个月至1岁	5(33.33)	24(42.11)		
	1~3岁	6(40.00)	21(36.84)		
	>3岁	1(6.67)	2(3.51)		
癫痫发作特点	局限发作	1(6.67)	26(45.61)	12.566	0.007
	全面性发作	8(53.33)	10(17.54)		
	强直发作	2(13.33)	11(19.3)		
	痉挛发作	3(20.00)	5(8.77)		
	失神发作	1(6.67)	5(8.77)		
药物治疗	1种AEDs药物	3(20.00)	12(21.05)	0.016	0.992
	2种AEDs药物	2(13.33)	8(14.04)		
	3种AEDs药物	10(66.67)	37(64.91)		

癫痫发作特点采用 Fisher 精确概率法检验

2.2 不同智力障碍患儿 CNVs 检出情况:4 例中度智力障碍阳性 CNVs 患儿 3 例为微缺失微重复综合征,其中最小检出缺失片段 0.8mb;1 例基因片段突变,其突变染色体涉及 17、21 与 X 号染色体;无致病性不确定患儿。11 例重度智力障碍阳性 CNVs 患儿 7 例为微缺失微重复综合征,其中最小检出缺失片段 0.6mb;3

例基因片段突变,涉及染色体同样为 17、21 与 X 号染色体;发现 1 例致病性不确定患儿。根据 Fisher's 检验结果显示;CNVs 阳性患儿微重复缺乏综合征、给予片段突变、致病性不确定比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。详情见表 2。

表 2 不同智力障碍患儿 CNVs 检出情况

组别	n	微重复微缺失综合征	基因片段突变	致病性不确定
重度智力障碍	4	3(75.00)	1(25.00)	0(0.00)

重度智力障碍	11	7(63.64)	3(27.27)	1(9.09)
P			1.000	

采用 Fisher 精确概率法检验

2.3 不同 CNVs 情况患儿治疗效果: 阳性与阴性患儿疗效程度显效、有效、无效比较, 差异具有统计学意义 (P<0.05); 治疗总有效率阴性组患儿显著高于阳性组患儿, 差异具有统计学意义 (P<0.05), 见表 3。

表 3 不同 CNVs 情况患儿治疗效果 n(%)

CNVs 情况	n	显效	有效	无效	总有效
阳性	15	1(6.67)	7(46.67)	7(46.67)	8(53.33)
阴性	57	23(40.35)	26(45.61)	8(14.04)	49(85.96)
Z/χ ²			-6.208		7.667
P			<0.001		0.006

3 讨论

智力障碍是儿童期常见疾病, 智力障碍患儿常共患癫痫, 病因具有多样性, 包括基因缺陷、先天性代谢疾病、罕见病、疑难病等, 部分病因可以治愈, 部分病因可以通过早期干预得到长期好转^[6]。但由于人们对这类疾病的认识不足, 患者常在多学科就诊, 如儿童保健、康复、神经内科、训练机构等, 且常常出现误诊误治, 给患者家庭及社会造成巨大的负担。因此, 早期精准分析病因, 对于帮助患者进行规范化治疗、康复及干预, 以及帮助患者家庭进行下一胎产前诊断, 保证优生优育, 节约社会资源等方面具有重要的意义。

全世界每年诊断出 200 万至 400 万新癫痫病例。遗传因素发挥了重要作用。智力障碍是癫痫最常见的合并症, 癫痫与智力障碍都是基因异质性疾病, 且癫痫和智力障碍的遗传诊断仍然具有挑战性^[7]。大约 20% 的智力障碍患者有癫痫共病, 癫痫的发病率随着 ID 严重程度的增加而上升, 25% 的癫痫患者共患智力障碍。癫痫管理是许多智力障碍患者的重要医疗保健需求, 且癫痫和智力障碍患者治疗不当可能会导致患者过早死亡。与一般癫痫患者相比, 患有智力障碍和癫痫的患者预后更差, 癫痫发作频率次数增加, 多次使用抗癫痫药物的频率和副作用更高, 治疗成本、死亡率及行为问题发生率也随之增加。因此, 分析智力障碍共患癫痫患者的发病原因, 找到这类患者与正常人在染色体、基因及代谢方面的差异性, 对智力障碍共患癫痫患者的早期诊断、规范化诊疗及预后具有重要的意义。

根据研究^[8]指出, 遗传因素占不明原因智力障碍的 50%, 其中中重度智力障碍患者尤为突出, 遗传学比例高达三分之二甚至更高。遗传因素包括染色体数

目异常或是结构异常等。本研究结果 CNVs 阳性、阴性患儿在智力障碍程度、癫痫发作特点上具有显著差异。其中阳性患儿重度智力障碍占比较多, 且重度智力障碍患儿, 其 CNVs 染色体微重复与微缺失综合征患儿占比较多。这主要是 CNVs 患儿因微缺失微重复综合征关系的导致, 身体各项机能发育迟缓, 且在执行功能、记忆、视觉空间感知等方面存在较大缺陷; 多重因素的共同影响下导致患儿智力发育受限, 致使重度智力障碍占比过高^[9]。ID-E 患儿其皮层发育畸形, 神经元信号传导改变与大脑神经元网络成熟与可塑性缺陷等关系, 导致癫痫的发作。本研究患儿癫痫发作类型多为全面性发作, 导致该情况的发生可能与患者神经元异常迁移基因有关, 根据研究^[10]指出, 神经元基因对多条细胞运动的信号转导通路具有重要作用, 该异常或是突变可导致脑室周围灰质以为, 从而导致癫痫, 且智力障碍患儿起脑室周围灰质存在明显异常者, 患有癫痫的概率为 19%~30%或是更高。

根据研究^[11]指出, 对 ID-E 患儿其 MECP2 基因突变位点与癫痫药物控制率相关性研究发现, MECP2 基因中各突变位点出现异常, 患者更易出现药物难治性癫痫。本研究患儿其治疗时间 ≥2 年, 根据其 CNVs 阳性、阴性情况进行分组, 对治疗效果进行分析发现, 阳性患儿治疗总有效率显著低于阴性患儿。这主要与患儿癫痫发作特点及遗传学病因有重要关系。CNVs 阳性 ID-E 患儿其通常伴有面容异常、心脏发育异常、皮肤异常等多系统受累, 且患儿智力障碍类型多为复合型, 其染色体重复、缺失、大片段异位情况更加明显, 且 CNVs 患儿多为重度智力障碍患儿, 这在一定程度上提高了治疗难度。但本文存在一定缺陷, CNVs 患阳性例数相对较少, 因此后续还需更大样本量进行分