

SCN4A 基因新突变致低钾性周期性瘫痪 一家系分析

李海燕¹ 周晓路¹ 郭纪锋² 唐北沙² 付越娇¹ 孙九艳¹

¹新乡医学院附属安阳市人民医院神经内科, 安阳 455000; ²中南大学湘雅医院神经内科, 长沙 410008

通信作者: 李海燕, Email: lihaiyan1718@163.com

【摘要】 目的 报道一个中国人低钾性周期性瘫痪(HOKPP)家系, 探讨该家系的临床及致病基因特点。方法 对该家系先证者的临床、电生理及病理资料进行分析, 并对该家系进行详细的调查; 采集该家系 6 名成员的外周静脉血并抽提其基因组 DNA, 采用二代测序技术对先证者进行周期性瘫痪相关基因检测, 对所发现突变采用 SIFT、PolyPhen 2 及 Mutation Taster 软件进行突变蛋白功能的致病性分析; 采用一代测序技术进行家系的表型和基因型共分离研究。结果 该家系 3 代患者 3 例, 发病年龄 21~42 岁, 主要表现为发作性四肢无力, 以呕吐为首发症状, 伴肌肉酸痛, 持续 3~5 d 后缓解; 先证者发作时肌酶明显升高, 缓解后长时程运动诱发试验阳性, 心电图及肌肉病理未见异常; 先证者周期性瘫痪相关基因二代测序发现 SCN4A 基因 c.2458A>T(p.N820Y) 新突变, 该突变位于 SCN4A 蛋白保守区域, 功能预测为致病性突变, 一代测序验证该突变与家系内患者共分离, 同时发现先证者儿子携带相同突变, 目前尚未发病, 为症状前患者。结论 HOKPP 患者可以呕吐为临床表现; SCN4A 基因新突变 c.2458A>T 为该家系的致病突变; 对伴有呕吐的周期性瘫痪患者尽早行血钾和基因检测, 有助于早期诊治和遗传咨询。

【关键词】 低钾性周期性麻痹; 呕吐; SCN4A 基因; 突变

基金项目: 河南省医学科技攻关计划(2018021009)

DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20200421-01265

A novel mutation of SCN4A gene causes hypokalemic periodic paralysis in a Chinese family

Li Haiyan¹, Zhou Xiaolu¹, Guo Jifeng², Tang Beisha², Fu Yuejiao¹, Sun Jiuyan¹

¹Department of Neurology, the People's Hospital of Anyang City, Anyang 455000, China; ²Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China

Corresponding author: Li Haiyan, Email: lihaiyan1718@163.com

【Abstract】 Objective To report a Chinese family with hypokalemic periodic paralysis (HOKPP) and investigate the clinical and pathogenic gene characteristics of the family. **Methods** The clinical, electrophysiological and pathological data of the proband of the family were analyzed, and the information of the family was investigated in detail. The peripheral venous blood of the six members of the family was collected and their genomic DNA was extracted. The genes related to periodic paralysis analysis of the proband were performed by the second generation sequencing. The pathogenicity of the mutant protein was respectively analyzed by the bioinformatics software SIFT, Polyphen2 and Mutation Tasker. The cosegregation analysis of phenotype and genotype of the family was performed by the first generation sequencing. **Results** There were 3 patients in the family with the onset age of 21 to 42 years old. All the patients manifested with vomiting as the first symptoms, then presented with muscle weakness accompanied by muscle soreness. The muscle weakness gradually relieved in 3 to 5 days. Creatine kinase (CK) of the proband significantly increased. Electromyographic exercise test was positive, however, electromyography and muscle pathological analysis were normal. The genes related to periodic paralysis analysis of the proband found a novel mutation (c.2458A>T (p. N. 820Y)) of SCN4A gene which was located in the conservative region. The function analysis showed it was a pathogenic mutation. Moreover, the first generation sequencing confirmed that the mutation was cosegregated with patients in the family. Meanwhile, it was found that the proband's son carried the same mutation, but without any symptom, indicating that he

was a pre-symptomatic patient. **Conclusions** Vomiting can be one of the symptoms of the patients with HOKPP. The novel mutation of SCN4A gene c.2458 A>T is the pathogenic mutation of the family. Patients with periodic paralysis should be tested for blood potassium and genes as early as possible to facilitate early diagnosis and genetic counseling.

【Key words】 Hypokalemic periodic paralysis; Vomit; SCN4A gene; Mutation

Fund program: Henan Medical Science and Technology Research Plan (2018021009)

DOI:10.3760/cma.j.cn112137-20200421-01265

低钾性周期性瘫痪(hypokalemic periodic paralysis, HOKPP)是一种少见的遗传性神经肌肉病,发病率约为1/10万,临床主要表现为发作性肌肉无力,以发作时血钾降低为主要特点,可伴有肌肉酸痛、肌肉强直,少数患者进展为持续性的肌肉无力或肌肉萎缩^[1-4]。HOKPP呈常染色体显性遗传,根据致病基因不同分为HOKPP1型和HOKPP2型,分别由位于1q32.1的电压门控钙通道 α_1 亚单位基因CACNA1S和位于17q23.3的电压门控钠通道 α 亚单位基因SCN4A突变所致^[5-6]。本研究近期发现一个由SCN4A基因新突变所致的一个中国人低钾性周期性瘫痪家系,该家系以呕吐为首发症状,目前尚未有类似临床表现的HOKPP家系报道,现就其临床及分子遗传学特点分析如下。

对象与方法

一、研究对象

一个中国人HOKPP家系,3代患者3例(图1)。先证者为2018年10月在新乡医学院附属安阳市人民医院神经内科就诊的患者。对该家系进行详细的调查,收集所有家系成员的临床表现、体格检查及相关辅助检查资料,HOKPP的临床诊断依据Statland等^[1]提出的诊断标准。本研究为临床病例观察,经新乡医学院附属安阳市人民医院伦理委员会批准(批准号:201806),家系成员均知情同意并签署知情同意书。

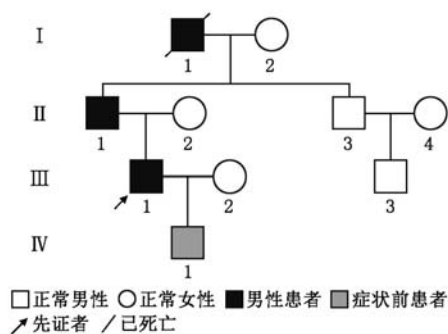


图1 低钾性周期性瘫痪患者家系图

二、研究方法

1. 电生理及肌肉病理检查:对先证者行双侧正中神经、尺神经、胫神经及腓肠神经运动传导速度(MCV)、感觉传导速度(SCV)及左侧三角肌、拇短展肌、右侧股直肌和腓肠肌的肌电图(electromyography, EMG)检查;对先证者及其父亲行长时程运动诱发试验(exercise test, ET)检查;以该家系先证者左上肢肱二头肌为活检部位,切取0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm左右肌肉组织,行苏木精-伊红(HE)、改良 Gomori 三色(MGT)、还原型辅酶 I 四氮唑还原酶(NADH)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、糖原(PAS)及油红 O(ORO)染色,并置镜下观察分析。

2. 致病基因分析:采集该家系成员6人外周静脉血各3 ml,经EDTA抗凝后送基因检测公司行周期性瘫痪相关基因的二代测序,采用一代测序技术进行家系的表型和基因型的共分离研究,采用SIFT、PolyPhen 2及Mutation Taster软件对所发现的突变进行功能预测,根据美国医学遗传学和基因组学学会(ACMG)指南对突变进行评级。

结果

一、临床特点

先证者,男,27岁,以“发作性四肢无力伴呕吐、肌肉酸痛6年,再发5 d”于2018年10月入院。入院6年前,无明显诱因于夜间出现呕吐,呕吐物为胃内容物,为非喷射性呕吐,数小时后出现四肢无力,伴肌肉酸痛,以双下肢为重,当时查血钾2.2 mol/L(正常值:3.5~5.3 mol/L),口服补钾1 d后症状缓解。2年前再次于夜间出现呕吐,晨起后出现四肢无力,行走困难,伴四肢肌肉酸痛、排尿无力,测血钾2.0 mol/L,肌酸激酶(CK)452 U/L(正常值:50~310 U/L),当地医院给予补钾3 d后症状逐渐缓解。入院5 d前再次于夜间呕吐后出现上述症状,四肢无力逐渐加重,致举手、行走不能,当地医院查血钾1.8 mol/L,CK 896 U/L,予补钾后四肢无力渐缓解,但仍感肌肉酸痛,为明确诊治前来新乡

医学院附属安阳市人民医院,门诊以“四肢无力查因”收入神经内科。体格检查:神志清,精神可,颅神经正常,四肢肌肉无萎缩,肌张力正常,肌力 V 级,四肢腱反射正常,病理征未引出。辅助检查:血钾 4.2 mol/L, CK 350 U/L, 丙氨酸转氨酶 (AST) 79 U/L (正常值:9~50 U/L), 天冬氨酸转氨酶 (ALT) 45 U/L (正常值:15~40 U/L), 维生素 B₁₂ 111 pg/L (正常值:180~914 pg/L), 同型半胱氨酸 (Hcy) 51 μmol/L (正常值:<15 μmol/L), 抗“O” 349 U/L (正常值:0~200 U/L), 红细胞沉降率、肾功能及 C 反应蛋白正常, 甲状腺功能 7 项、输血前 8 项及抗核抗体谱正常;促肾上腺皮质激素、皮质醇、肾素及 24 h 尿钾正常;心电图、胸部 CT 正常。

家系调查:家系中 I₁、II₁ 有类似病史,主要表现为发作性四肢无力,均以夜间呕吐为首发症状,晨起后出现四肢无力,持续 1~3 d。I₁ 于 42 岁首次发病,55 岁因“胃癌”去世,共发作 2 次;II₁ 现年 52 岁,于 40 岁初次发作,48 岁及 50 岁各发作一次,共发作 3 次,发作时曾查血钾降低,予补钾后缓解,症状较轻时也可自行缓解,发作间期无异常。

二、电生理及肌肉病理检查

先证者双侧正中神经、尺神经、胫神经及腓肠神经 MCV、SCV 未见异常;左侧三角肌、拇短展肌及右侧股直肌和腓肠肌 EMG 正常;ET 检查发现先证者左侧小指展肌运动后 70 min 左侧尺神经复合肌肉动作电位 (CMAP) 波幅下降 33%,提示其 ET 试验阳性;先证者肌肉病理 HE、MGT、SDH、NADH、ORO 及 PAS 染色均未见异常。

三、致病基因分析

先证者周期性瘫痪相关基因二代测序发现 SCN4A 基因第 14 外显子新发突变 c.2458A>T (图 2),该突变在正常人群中的频率为 0,该突变导致 SCN4A 蛋白第 820 位的天冬酰胺 (N) 转变成酪氨酸 (Y),即 p.N820Y,突变位于 SCN4A 蛋白的保守区域 (图 3);一代测序发现先证者父亲、儿子携带该突变,先证者奶奶、母亲和叔叔正常,证实该突变和家系内患者共分离,先证者儿子目前尚未发病,为症状前患者;SIFT、Mutation Taster 预测该突变为致病性,预测值分别为 0.0、1.0, PolyPhen 2 预测为可能致病,预测值为 0.991,结合家系内共分离情况,ACMG 指南评级为可能致病。

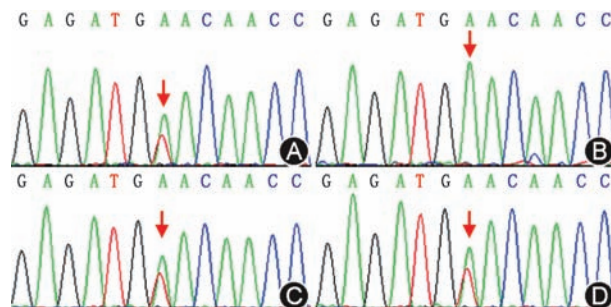


图 2 SCN4A c.2458A>T 测序图 (箭头所示为突变部位) A:先证者;B:先证者之母;C:先证者之父;D:先证者之子

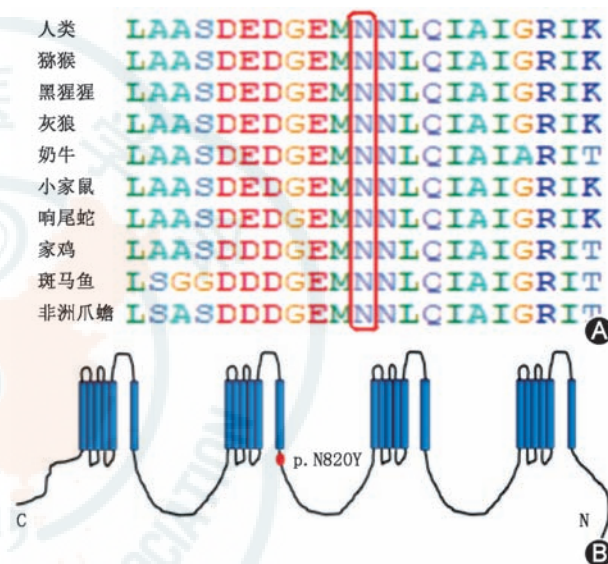


图 3 SCN4A 蛋白 p.N820Y 保守性分析及 SCN4A 蛋白模式图 (红框所示为不同物种突变氨基酸部位高度保守) A:p.N820Y 保守性分析结果;B:SCN4A 蛋白模式图

讨 论

本家系患者主要表现为发作性四肢无力,发作时血钾下降,补钾后症状迅速缓解,血糖、肾功能及甲状腺功能正常,排除甲状腺功能亢进、肾小管酸中毒、原发性醛固酮增多症及药源性低血钾等继发性原因,该家系符合 HOKPP 临床诊断^[1]。为明确该家系的致病基因,我们对家系进行了周期性瘫痪相关基因二代测序,结果发现 SCN4A 基因第 14 外显子新发突变 c.2458A>T 为该家系的致病突变,同时发现先证者儿子也携带该突变,为症状前患者,从而从分子水平明确了该家系的诊断,为进一步的治疗和遗传咨询奠定了基础。

HOKPP 具有临床异质性,家系内和家系外患者在发病年龄、诱发因素、临床症状、电生理及病理表现等方面均不尽相同。典型的 HOKPP 表现为发作性的局灶或全面性的骨骼肌无力,持续数小时至

数天,发作时血钾通常 <2.5 mol/L,部分患者伴有肌强直、肌肉疼痛或反复发作后出现持续性的肌肉无力和肌肉萎缩^[1,4,7-9]。该家系患者除 HOKPP 典型临床特点即伴有低血钾的发作性肌无力外,每次均于呕吐后出现四肢无力,此种以呕吐为首发症状的家系尚未见文献报道,表明呕吐也可作为 HOKPP 的临床表现之一,其原因考虑与低血钾所致的胃肠平滑肌受累而出现的胃肠运动减弱有关,此种少见的临床表现有待更多的 HOKPP 患者来证实。文献报道 HOKPP 发作时肌酶可以升高、EMG 可正常也可表现为肌源性损害或神经源性损害、肌肉病理可见管聚集、炎性细胞或靶纤维等表现^[1,8],该家系先证者发作时 CK 升高、EMG 未见异常,与文献报道相符,肌肉病理检查未见异常,考虑与其发作次数少、病情较轻、病史较短有关。该家系先证者发作缓解后长时程 ET 阳性,提示该项检查可作为 HOKPP 非发作期的临床诊断依据之一。

HOKPP 具有遗传异质性,目前已知的致病基因有 CACNA1S 及 SCN4A,另有报道 KCNE3 基因突变可能与 HOKPP 有关,但其致病性尚未明确^[10]。在 HOKPP 患者中约 60% 为 CACNA1S 基因突变,20% 为 SCN4A 突变基因,约 20% 的患者致病基因尚未明确,其中约 90% 的家族性 HOKPP 为 CACNA1S 基因突变所致^[11]。SCN4A 基因突变可导致先天性肌强直(myotonia congenita, MC)、先天性副肌强直(paramyotonia congenita, PMC)、高钾性周期性瘫痪(hyperkalemic periodic paralysis, HYPP)、HOKPP 及先天性肌无力综合征(congenital myasthenic syndrome, CMS),目前已发现 70 余种 SCN4A 基因突变,其突变形式和表型具有一定的关系,错义突变主要导致 MC、PMC 或 HYPP,而无义突变、移码突变及剪接点突变则导致先天性肌病^[1-2]。SCN4A 基因编码钠离子通道 Nav1.4 α 亚单位,分为四个结构域 D1~D4,每个结构域又包含 6 个跨膜片段 S1~S6。SCN4A 基因突变后,其编码的 Nav1.4 通道在开放后可快速失活,并在通道开放后期向内增加了稳定的电流,从而导致肌肉持续的去极化和肌肉纤维兴奋性过度,最终导致了肌强直或肌无力等不同表型^[12]。本家系所发现的突变 c.2458A>T(p.N820Y)是新发突变,位于 Nav1.4 α 亚单位 D2 的 S6 末端,该突变可能导致了 Nav1.4 静息电位的持续去极化,从而降低了肌纤维的兴奋性,进而导致了 HOKPP。

HOKPP 的治疗主要在于避免诱发因素,发作时予补钾治疗,发作间期可服用钾盐、乙酰唑胺或螺内酯。文献报道 CACNA1S 基因突变患者,乙酰唑胺治疗效果较好,SCN4A 基因突变患者乙酰唑胺治疗效果欠佳^[2],因此尽早完善 HOKPP 的基因诊断有助于该病的精确治疗、遗传咨询。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Statland JM, Fontaine B, Hanna MG, et al. Review of the diagnosis and treatment of periodic paralysis[J]. Muscle Nerve, 2018, 57(4):522-530. DOI: 10.1002/mus.26009.
- [2] Cannon SC. Sodium channelopathies of skeletal muscle[J]. Handb Exp Pharmacol, 2018, 246: 309-330. DOI: 10.1007/164_2017_52.
- [3] Miller TM, Dias da Silva MR, Miller HA, et al. Correlating phenotype and genotype in the periodic paralyses[J]. Neurology, 2004, 63(9): 1647-1655. DOI: 10.1212 / 01.wnl.0000143383.91137.00.
- [4] 杨丹,李海江,耿嘉,等. SCN4A 基因 Thr704Met 突变致严重的家族性低钾性周期性麻痹[J]. 中华神经科杂志, 2016, 49(2): 98-101. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2016.02.005.
- [5] Ptáček LJ, Tawil R, Griggs RC, et al. Dihydropyridine receptor mutations cause hypokalemic periodic paralysis[J]. Cell, 1994, 77(6): 863-868. DOI: 10.1016 / 0092-8674(94)90135-x.
- [6] Bulman DE, Scoggan KA, van Oene MD, et al. A novel sodium channel mutation in a family with hypokalemic periodic paralysis[J]. Neurology, 1999, 53(9):1932-1936. DOI: 10.1212/wnl.53.9.1932.
- [7] 潘学琪,张炜,畅雪丽,等. SCN4A 基因 p.R1448H 突变致先天性副肌强直合并低钾性周期性麻痹一家系报道[J]. 中华神经科杂志, 2019, 52(6):457-462. DOI: 10.3760 / cma.j.issn.1006-7876.2019.06.004.
- [8] 洪道俊,栾兴华,郑日亮,等. 骨骼肌钠通道 $\alpha 1$ 亚基基因 R1129Q 新突变导致正常钾和低钾性周期性瘫痪一家系[J]. 中华神经科杂志, 2009, 42(9):588-591. DOI: 10.3760 / cma.j.issn.1006-7876.2009.09.006.
- [9] 柯青,吴卫平,徐全刚,等. 家族性低钾型周期性麻痹的基因突变与临床特征[J]. 中华神经科杂志, 2006, 39(5): 323-327. DOI: 10.3760/j.issn:1006-7876.2006.05.010.
- [10] Sternberg D, Tabti N, Fournier E, et al. Lack of association of the potassium channel-associated peptide MiRP2-R83H variant with periodic paralysis[J]. Neurology, 2003, 61(6): 857-859. DOI: 10.1212/01.wnl.0000082392.66713.e3.
- [11] Miller TM, Dias da Silva MR, Miller HA, et al. Correlating phenotype and genotype in the periodic paralyses[J]. Neurology, 2004, 63(9): 1647-1655. DOI: 10.1212 / 01.wnl.0000143383.91137.00.
- [12] Allard B, Fuster C. When muscle Ca²⁺ channels carry monovalent cations through gating pores: insights into the pathophysiology of type 1 hypokalaemic periodic paralysis[J]. J Physiol, 2018, 596(11):2019-2027. DOI: 10.1113/JP274955.

(收稿日期:2020-04-21)

(本文编辑:朱瑶)