

KCNQ2基因新发突变导致早发癫痫性脑病1例

曾巧娣¹, 邹德华², 古珊珊², 宁凡², 张应金³, 郭润民², 马国达², 黄润忠^{3*} [1. 宁夏中卫市海原县人民医院检验科, 宁夏海原 755200; 2. 广东医科大学顺德妇女儿童医院(佛山市顺德区妇幼保健院)妇幼研究所, 3. 新生儿科; 广东佛山 528300]

摘要: 为探讨 *KCNQ2* 基因突变与早发性癫痫性脑病(EOEE)的关系, 对收治的1例EOEE伴有 *KCNQ2* 基因突变患者的临床资料进行回顾性分析, 并应用生物信息学软件对突变位点进行致病性分析。根据 ACMG 指南以及多种生物信息工具预测结果显示, *KCNQ2* 基因新发错义突变(c.833T>C:p.I278T)可能是导致该患儿早发性癫痫性脑病的致病因素。

关键词: 早发性癫痫性脑病; *KCNQ2* 基因; 新发突变

中图分类号: R 729

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2022)01-0113-03

Early-onset epilepsy encephalopathy caused by novel *KCNQ2* mutation: 1 case

ZENG Qiao-di¹, ZOU De-hua², GU Shan-shan², NING Fan², ZHANG Ying-jin³, GUO Run-min², MA Guo-da², HUANG Run-zhong^{3*} (1. Department of Clinical Laboratory, Haiyuan People's Hospital, Zhongwei 755200, China; 2. Maternal and Child Research Institute; 3. Department of Neonates, Shunde Women and Children's Hospital (Maternity and Child Healthcare Hospital of Shunde), Guangdong Medical University, Foshan 528300, China)

Abstract: Retrospective analysis was conducted on 1 admitted case with early-onset epilepsy encephalopathy (EOEE) accompanied with *KCNQ2* gene mutation to explore the relationship between *KCNQ2* gene mutation and EOEE. The pathogenicity of mutation sites was analyzed by bioinformatics software. According to the ACMG guide and prediction results of multiple bioinformatics tools, the de novo missense mutation(c.833T>C:p.I278T) of the *KCNQ2* gene may be a pathogenic mutation of EOEE.

Key words: early infantile epileptic encephalopathy; *KCNQ2* gene; de novo mutation

早发婴儿癫痫性脑病(EOEE)是一种罕见的以频繁的强直性阵挛和暴发-抑制脑电图为特征的早发癫痫综合征, 可导致婴儿发育迟缓、智力障碍, 且无法治愈^[1]。目前研究证实多种基因突变与EOEE的发病机制相关, 包括 *ARX*、*CDKL5*、*STXBPI*、*SLC25A22*、*SCN1A* 等。既往研究认为, 钾离子电压门控通道 Q 亚家族成员 2(*KCNQ2*) 编码基因只与良性家族性新生儿癫痫相关, 而最近越来越多的证据表明 *KCNQ2* 基因突变也可导致 EOEE^[2]。*KCNQ2* 基因位于人常染色体 20q13.3 区, 编码钾离子电压门控通道 Kv7.2 亚基^[3-4], 该亚基由 6 个跨膜区、1 个孔区和 1 个胞质长尾组成^[5-6]。目前有关 *KCNQ2* 基因突变的报道主要是缺失、插入和剪切位点变异, 导致 *KCNQ2* 蛋白提前终止翻译或移码, 使该蛋白无法正常表达并发挥功能, 目前只有很少的跨膜区和孔区的错义突变被报道。

现报道 1 例 *KCNQ2* 编码孔区的碱基含有错义突变(c.833T>C:p.I278T), 其可能是早发癫痫性脑病的致病因素。

1 病例资料

患儿, 女, 出生体质量 4.56 kg, 在出生后 6 d 因呛奶后面色紫绀, 呼吸急促, 且伴有阵挛性抽搐而就诊。患儿父母健康, 非近亲婚配, 家族中无癫痫病史。母孕期无异常, 该患儿为足月剖腹产。患儿在未发病时精神反应正常。入院第 1 天患儿再次出现抽搐, 临床表现为双眼凝视、双手握拳、四肢僵直、神志不清, 持续约 30 s 后自行缓解, 一过性体温 37.8 °C, 之后体温恢复正常, 发作频率每天 2~3 次。脑电图表现出爆发-抑制模式(图 1a)。给予咪唑安定静脉滴注治疗, 患儿呼吸急促缓解, 四肢偶有抖动, 抽搐发作频率降低。入院第 10 天患儿再次出现抽搐。脑电图(图 1b)显示连续性 2~6 Hz 低波幅混合波活动, 多棘波, 棘慢波发放, 枕区为主。入院第 19 天患儿出现长延时抽搐, 脑电图(图 1c)提示混合多量快波, 阵发性节律, 背

收稿日期: 2021-03-30

作者简介: 曾巧娣(1989-), 女, 本科, 检验技师

通信作者: 黄润忠(1968-), 男, 硕士, 主任医师

景活动不对称,睡眠-觉醒波形区别不明显。进一步给予苯巴比妥治疗,患儿发病频率逐步降低后出院。出院后间隔发作,数天1次,无规律,症状同前。脑部磁共振成像(MRI)、脑脊液检验、胸部X片正侧位检查、尿-便常规、肝肾功能、电解质检查均未见异常。血清中25-羟基维生素D₂<2.2 mg/L,25-羟基维生素D₃为6.8 mg/L,25-羟基维生素,D₂+D₃:6.8 mg/L(正常值:≥20 mg/L)。患儿仰卧位四肢肌张力低,追视和追声反应差。Gesell发育评估(大动作、精细动作、适应能力、语言、社交行为)结果显示:发育严重落后,综合得分3.2分(10分制),发育商得分45.56分(100分制)。

2 全外显子基因测序及突变分析

经家属同意后,采集患者及其父母外周血,参照血液DNA提取试剂盒提取步骤(Qiagen, Germany),提取白细胞中基因组DNA,送北京迈基诺医学检验所进行全外显子测序WES分析。该检测使用全外显子组高通量测序检测技术捕获外显子,参考人类基因组19(GRCh37/hg19),应用变异位点检测系统进行对比分析。

全外显子基因测序发现:患儿父母未见*KCNQ2*基因突变,患儿*KCNQ2*基因编码区第833位的胸腺嘧啶突变为胞嘧啶(c.833T>C),导致第278位疏水性

异亮氨酸突变为亲水性苏氨酸(p.I278T)(图2a),比对氨基酸序列发现该突变位点位于*KCNQ2*蛋白的孔区。对*KCNQ2*蛋白氨基酸序列跨物种比对表明,第278位的异亮氨酸残基在脊椎动物之间高度保守(图2b方框),表明该氨基酸位置的突变可能影响PMM2蛋白的正常结构和功能(图2b)。在中国人群数据库和人类外显子数据库(ExAC)中未发现该突变,参考人群千人基因组数据库(1 000 Genomes),该突变频率为0.000189671。对目前已报道EOEE病例进行复习发现,该错义突变病例未见报道。

在Genebank数据库中下载脊椎动物(Human、Chimpanzee、Rhesus monkey、Domestic cat、House mouse、Norway rat、Chicken、Zebrafish)*KCNQ2*蛋白氨基酸序列,经Blastp工具比对分析显示,第278位的异亮氨酸残基在脊椎动物之间高度保守(图2b)。根据ACMG诊断指南,7种生物信息学软件(Mutation-Taster、Deogen2、PolyPhen-2、Fathmm、MutPred2、PROVEAN、SIFT)分析显示该突变为致病突变(表1)。

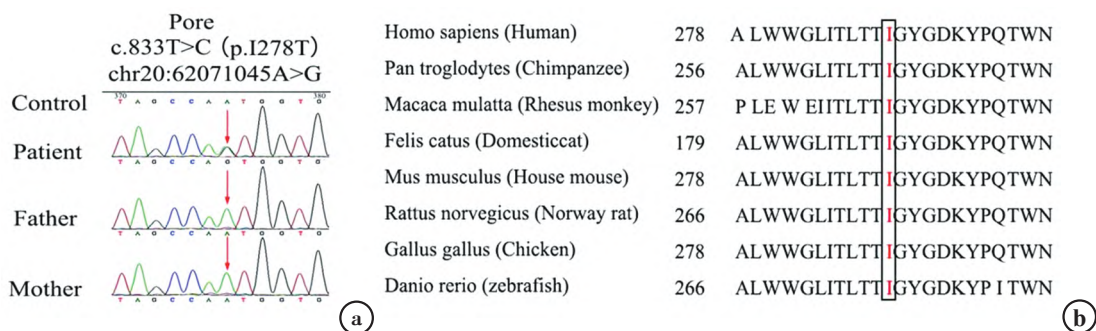
3 讨论

本例患儿因呛奶后面色紫绀,呼吸急促,伴有阵挛性抽搐等症状,提示可能患遗传代谢病或脑发育异常,而脑部磁共振成像(MRI)、脑脊液检验、串联质谱筛查遗传代谢性疾病均未见异常。患儿发病时动态



a. 入院第1天,爆发-抑制趋势,频繁孤立或成串痉挛发作;b. 入院第10天,多棘波、棘慢波发放,枕颞区显著(不典型高度失律);c. 入院第19天,混合多量快波,阵发性节律,背景活动不对称

图1 患儿脑电图



a. Sanger测序患儿及其父母亲的*KCNQ2*基因;b. 对*KCNQ2*蛋白氨基酸序列跨物种比对

图2 分析*KCNQ2*基因错义突变(T883C)

表1 *KCNQ2* 2T883C 基因突变的致病性分析

Database	Result
1 MutationTaster	①Score=0.99999,The nucleotide is conserved. ②Protein features (might be) affected. ③Start (265aa) end (285aa), Intramem, Pore-forming, Name=Segment H5;(Potential), lost. ④Start (277aa) end (282aa), Motif, Selectivity filter (By similarity), lost.
2 Deogen2	①AA similarity 53.0% ②DeogenScore=0.894, Deleterious
3 PolyPhen-2	①Score=0.993 ②Probably damaging
4 Fathom	①Score=0.98238, Deleterious ②Coding Groups: AEFBI
5 MutPred2	①Score=0.946 ②Pathogenicity
6 PROVEAN	①Score=-4.43 ②Deleterious
7 SIFT	①Score=0.000 ②Damaging

脑电图(aEEG)呈爆发-抑制模式,该种模式在EOEE患者临床中多见^[7-9]。入院期间给予患儿咪唑安定静脉滴注治疗和苯巴比妥治疗,其癫痫症状减轻,抽搐发作频率降低,初步诊断为家族性良性新生儿癫痫(BFNS)。而在患儿11月龄后,逐渐表现出生长发育和智力发育落后,结合全外显子测序结果,确定该患儿癫痫症为*KCNQ2*基因突变所致,最终诊断为EOEE。相比之下,*KCNQ2*的移码突变或无意义突变在BFNS中更为常见^[10]。该患儿在出生后1周内发病,临床症状较轻,有较好的癫痫药物治疗反应,但在生长发育过程中逐渐表现出生长发育和智力发育严重落后的癫痫病例非常罕见。

目前认为,*KCNQ2*基因突变导致其编码的钾离子电压门控Kv7.2亚基与*KCNQ3*编码的Kv7.3亚基无法正常组装,进而干扰了KCNQ钾离子通道在细胞膜上的转运^[11]。该突变导致KCNQ2蛋白孔区域第278位疏水性异亮氨酸突变为亲水性苏氨酸,氨基酸序列跨物种对比表明,异亮氨酸残基在脊椎动物中高度保守。用MutationTaster软件预测发现,该突变可能导致KCNQ2蛋白氨基酸序列第265位到285位氨基酸形成位于膜内(Intramembrane)的孔结构域(Pore-forming)丢失(表1),可能影响了KCNQ2蛋白的功能,进而影响了Kv7.2亚基与*KCNQ3*编码的

Kv7.3亚基的正常组装。用DEOGEN2软件预测发现,该突变为有害(DEOGEN score=0.894)。用MutationAssessor、Fathmm、MutPred2、PROVEAN、SIFT软件对该突变的致病性进行预测发现,该突变与疾病相关。因此推测该位点突变对于KCNQ2的功能具有重要影响。

本研究结合患者临床特征、基因测序和生物信息学技术分析,明确*KCNQ2*基因新的突变(c.833T>C:p.I278T)可能导致EOEE。本研究将在该家系今后的妊娠遗传检查中发挥重要作用,同时丰富了*KCNQ2*基因突变导致EOEE的临床资料。

参考文献:

- [1] OSTRANDER B E P, BUTTERFIELD R J, PEDERSEN B S, et al. Whole-genome analysis for effective clinical diagnosis and gene discovery in early infantile epileptic encephalopathy [J]. NPJ Genom Med, 2018, 3(22):235-238.
- [2] BENETOU C, PAPAILIOU S, MARITSI D, et al. A novel de novo *KCNQ2* mutation in a child with treatment-resistant early-onset epileptic encephalopathy [J]. Turk J Pediatr, 2019, 61(2):279-281.
- [3] BIERVERT C, SCHROEDER B C, Kubisch C, et al. A potassium channel mutation in neonatal human epilepsy[J]. Science, 1998, 279(5349):403-406.
- [4] SINGH N A, CHARLIER C, STAUFFER D, et al. A novel potassium channel gene, *KCNQ2*, is mutated in an inherited epilepsy of newborns [J]. Nat Genet, 1998, 18(5):25-29.
- [5] CHARLIER C, SINGH N A, RYAN S G, et al. A pore mutation in a novel KQT-like potassium channel gene in an idiopathic epilepsy family [J]. Nat Genet, 1998, 18(1):53-55.
- [6] 马思敏, 杨琳, 周文浩. 新生儿惊厥诊断和治疗进展[J]. 中国循证儿科杂志, 2015, 10(2):126-135.
- [7] KATO M, YAMAGATA T, KUBOTA M, et al. Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by *KCNQ2* mutation [J]. Epilepsia, 2013, 54(7):1282-1287.
- [8] 胡春辉, 孙丹, 胡家胜, 等. 钾离子通道*KCNQ2*基因突变相关性早发性癫痫脑病2例临床报道[J]. 中国实用儿科杂志, 2019, 34(1):56-58.
- [9] 白薇, 王爽. *KCNQ2*突变所致大田原综合征2例报告及文献复习 [J]. 中国实用儿科杂志, 2015, 30(9):705-709.
- [10] STEINLEIN O K, CONRAD C, WEIDNER B. Benign familial neonatal convulsions: Always benign? [J]. Epilepsy Res, 2007, 73(3):245-249.
- [11] ISHII A, FUKUMA G, UEHARA A, et al. A de novo *KCNQ2* mutation detected in non-familial benign neonatal convulsions [J]. Brain Dev, 2009, 31(1):27-33.