

一个早期婴儿型癫痫性脑病 9 型家系的临床特征及遗传学分析

智亚楠 王涛 张萍萍 孙艳美 李娟 李亚丽

河北省人民医院生殖遗传科, 石家庄 050051

通信作者: 李亚丽, Email: lyl8703@sina.com

【摘要】 目的 分析一个早期婴儿型癫痫性脑病 9 型家系临床特征及遗传学特点。方法 采用 N048: 癫痫全面版基因检测 panel-V2、基因拷贝数变异分析进行外周血检测, 抽取羊水进行单核苷酸多态性微阵列 (single nucleotide polymorphism array, SNP-array) 检测。结果 基因检测显示女婴 Xq21.31q22.1 区域杂合缺失, 其中 *PCDH19* 基因外显子缺失, 变异来源于母亲。SNP-array 检测示女性胎儿, arr [hg19] Xq21.31q22.1(89 558 626-99 701 006) × 1。此家系母女及胎儿均为早期婴儿型癫痫性脑病 9 型。结论 *PCDH19* 基因变异为该家系患早期婴儿型癫痫性脑病 9 型的可能原因。

【关键词】 癫痫; 原钙黏蛋白 19; 原钙黏蛋白 11X

基金项目: 临床医学人才培养项目 (2021040)

DOI: 10.3760/cma.j.cn511374-20210819-00680

Clinical features and genetics analysis of a Chinese pedigree affected with developmental and epileptic encephalopathy 9 *Zhi Ya'nan, Wang Tao, Zhang Pingping, Sun Yanmei, Li Juan, Li Yali*

Department of Reproductive and Genetics, Hebei General Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050051, China

Corresponding author: Li Yali, Email: lyl8703@sina.com

【Abstract】 Objective To analyze the clinical and genetic characteristics of a Chinese pedigree affected with developmental and epileptic encephalopathy 9. **Methods** N048: epilepsy full version gene detection panel-V2 and genome wide copy number variation analysis were carried out on the genomic DNA extracted from the peripheral blood samples. Amniotic fluid was also sampled for single nucleotide polymorphism array (SNP-array) analysis. **Results** Both the mother and her daughter were found to have loss of heterozygosity at Xq21.31q22.1, with which exons of protocadherin 19 (*PCDH19*) gene were deleted. SNP-array showed the fetus to be a female and had arr[hg19]Xq21.31q22.1 (89 558 626-99 701 006) × 1. The mother, daughter and fetus of this family all had developmental and epileptic encephalopathy 9. **Conclusion** Variant of the *PCDH19* gene probably underlay the developmental and epileptic encephalopathy 9 in this pedigree.

【Key words】 Epilepsy; Protocadherin 19; Protocadherin 11 X

Fund program: Program for Clinical Medicine Talent Cultivation (2021040)

DOI: 10.3760/cma.j.cn511374-20210819-00680

早期婴儿型癫痫性脑病 9 型, 又称限于女性的癫痫和智力障碍 (epilepsy and mental retardation restricted to females, EFMR), 本病在国内少有报道, 目前认为 *PCDH19* (protocadherin 19) 基因变异干扰细胞间通讯, 是 EFMR 致病的主要原因。有学者认为原钙黏蛋白 11Y (protocadherin 11Y, *PCDH11Y*) 基因的表达可补偿 *PCDH19* 基因的功能缺失^[1], 但 *PCDH19* 与 *PCDH11* 基因在癫痫致病方面的关系尚不完全清楚, *PCDH19* 合并原钙黏蛋白 11X (protocadherin 11X, *PCDH11X*) 基因缺失变异尚未

见报道。通过对一个 EFMR 家系的回顾性研究, 及 *PCDH19* 和 *PCDH11* 基因致病相关性的探讨, 希望能加深对本病发病机制的认识, 提高临床医师重视, 为产前诊断提供指导。

1 对象与方法

1.1 对象

先证者, 孕妇, 24 岁, 5 岁时有癫痫大发作, 现药物控制, 2~3 月发作一次, 孕 4 产 1, 人工流产史 1 次。2018 年足月顺产 1 女婴, 1 岁时发现手足抽搐, 双眼上

翻,30 分钟发作 1 次,1 次发作持续 2 分钟,服用左拉西坦、丙戊酸钠治疗 1 年,症状略好转。先证者母亲亦有癫痫发作病史,具体不详,其丈夫、父亲、舅舅、阿姨、外祖母、外祖父均表型正常。先证者同母异父的一兄长、两姐姐均表型正常。现再次妊娠,要求对本次妊娠胎儿进行产前诊断。家系系谱图如图 1。

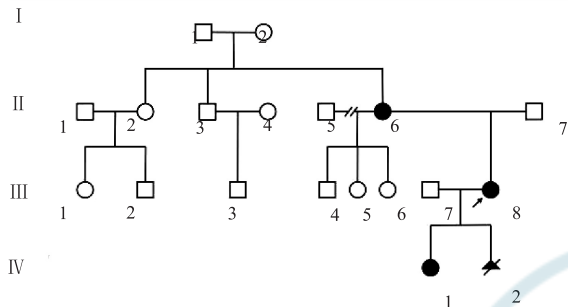


图 1 早期婴儿型癫痫性脑病 9 型家系系谱图

1.2 方法

抽取先证者女儿外周血样 5 mL,行 N048:癫痫全面版基因检测 panel-V2(北京迈基诺基因科技有限责任公司),并抽取先证者及其女儿外周血样 5 mL 行全基因组拷贝数变异(copy number variations, CNVs)(北京迈基诺基因科技有限责任公司)。经孕妇本人及家属同意,于孕 17 周行羊膜腔穿刺术,抽取羊水 45 mL,分别于我院行胎儿染色体核型分析及 SNP-array 检测(北京贝康医学检验所)。本研究通过了我院伦理委员会的审查(批准号:202191)。

2 结果

2.1 基因测序及诊断

N048:癫痫全面版基因检测 panel-V2 发现与疾病表型相关的高度可疑变异,女婴 *PCDH19* 基因外显子缺失(见图 2)。CNVs 结果显示母女 Xq21.31q22.1 区域存在杂合缺失,证实 *PCDH19* 基因外显子缺失

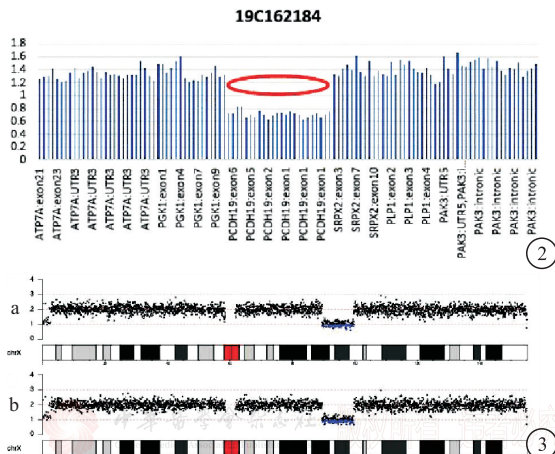


图 2 *PCDH19* 基因外显子缺失

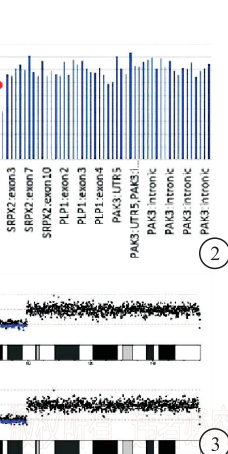


图 3 全基因组 CNV 分析的结果

(见图 3),变异来源于母亲。根据美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)指南分析:(1)为零效变异(外显子缺失),可能导致基因功能丧失(PVS1:致病性证据非常强);(2)文献数据库中已有该变异的病例报道(PS4:致病证据中等);(3)在正常人群数据库中的频率为低频变异(PM2:致病性证据中等)。综上,初步判定为致病性变异。结合先证者及女儿表型以及基因变异位点,考虑为早期婴儿型癫痫性脑病 9 型。

2.2 胎儿产前诊断

羊水染色体核型分析未见数目及结构明显异常。SNP-array 检测,结果显示为女性胎儿, arr [hg19] Xq21.31q22.1(89 558 626-99 701 006) ×1(见图 4),提示:X 染色体 Xq21.31q22.1 区段存在 10.1 Mb 片段的杂合缺失。电话随访:患者及家属自诉于当地行引产术,自阴道娩出 1 女,外观无畸形。

2.3 数据库检索

通过检索 DECIPHER 数据库,缺失片段中包含 *DIAPH2* (* 300108), *PCDH19* (* 300460), *DIAPH2-AS1* (* 300347), *NAPIL3* (* 300117), *PABPC5* (* 300407), *PCDH11X* (* 300246), *RPA4* (* 300767), *TGIF2LX* (* 300411)7 个 OMIM 基因。DECIPHER 数据库中,涉及 *PCDH19* 基因变异患者共 78 例,其中缺失变异占 33%,具有不同的 Xq 部分缺失,但其中没有与该家系相同的断点,明确遗传来源的患者共 32 例,其中 3 例变异来源于母亲。涉及 *PCDH11Y* 基因变异患者共 40 例,3 例有癫痫发作,其中 1 例仅有癫痫而无其他临床表现, *PCDH11X* 基因变异患者共 93 例,12 例有癫痫发作,其中 3 例仅有癫痫而无其他临床表现(见表 1)。目前染色体多态性数据库中不覆盖该区域,dbVar 病例数据库中仅有该区域重复的病例报道。



图 4 羊水 SNP-array 检测的结果图

注:a 为患儿;b 为患儿母亲

表 1 PCDH11 基因变异患者的基因型及表型特点

患者编号	基因	变异位置	性别	变异类型	基因型	遗传	癫痫	发育延迟	智力障碍	致病性/贡献
290266	PCDH11Y	376 236-26 638 383	未知	重复	未知	未知	有	—	—	可能良性/—
295429	PCDH11Y	11 529-19 744 947	46,XY	重复	半合子	未知	有	有	—	不确定/部分
301620	PCDH11Y	11 529-22 246 895	46,XY	重复	半合子	未知	有	有	—	可能致病/部分
259869	PCDH11X	84 192 781-100 226 819	46,XY	缺失	半合子	来自正常父母	有	—	有	—
269123	PCDH11X	89 924 717-100 890 392	46,XX	缺失	杂合子	未知	有	—	有	—
274363	PCDH11X	79 372 269-100 924 659	46,XX	缺失	杂合子	未知	有	—	有	—
278600	PCDH11X	84 744 992-156 030 895	46,XX	单体	单体	新发	有	有	有	不确定/不确定
287504	PCDH11X	1001-156 030 895	其他男	多倍体	嵌合	新发	有	有	有	—
288136	PCDH11X	355 626-156 016 978	46,XY	重复	半合子	未知	有	—	有	—/不确定
288318	PCDH11X	56 885 859-155 952 524	46,XX	重复	杂合子	未知	有	—	—	—/不确定
289199	PCDH11X	70 927 386-151 491 059	未知	重复	未知	未知	有	—	—	—/不确定
290021	PCDH11X	91 093 661-97 288 149	46,XX	重复	杂合子	未知	有	—	—	—/不确定
290266	PCDH11X	89 231 560-93 100 335	未知	重复	未知	未知	有	—	—	可能良性/-
300747	PCDH11X	11 091-155 960 418	47,XXX	重复	杂合子	未知	有	—	有	—
300814	PCDH11X	10 001-156 030 895	46,XX	单体	嵌合	新发	有	有	—	致病/部分

3 讨论

EFMR 主要临床特征为: 婴儿或幼儿时期起病; 发病有丛集性、热敏感性; 多种癫痫发作类型; 伴不同程度的发育迟缓、认知功能障碍^[2], 该家系仅有癫痫发作。目前认为 PCDH19 基因变异为 EFMR 发生的主要原因。此基因位于 Xq22.1 区, 其变异类型包括遗传性变异和新生变异, 在目前的大多报道中以新生变异为主, 约占 50% 以上^[3], 而该家系中缺失片段为来源于母亲的遗传性变异, 且数据库中尚没有与该家系相同断点的报道。

PCDH19 基因可编码一种由 1148 个氨基酸组成的原钙黏蛋白 19, 研究发现 PCDH19 蛋白在大脑皮层、室下区、海马区、中间区、副板等部位高度表达^[4], 可与其他原钙黏蛋白相互作用, 加强同型细胞间的黏附力^[5], 其功能可能与神经元迁移、突触形成、信号传递等相关^[6]。在对斑马鱼的研究发现, Pcdh19 基因变异体的脑网络显示出聚类增强和网络组装发展轨迹的改变^[7]。PCDH19 蛋白功能丧失可使小鼠和人类的神经发生增加, 并使神经干细胞极性丧失, 提示 PCDH19 变异型及野生型神经元发生不同步可能会导致下游神经元网络形成的异步性及异常, 可能为癫痫发作的机制^[8]。GABAA 受体 (GABAAR) 为大脑中介导快速抑制性传导的配体门控离子通道, 研究表明在大鼠脑中 Pcdh19 蛋白可与其 α 亚基结合, Pcdh19 蛋白的下调可降低海马神经元表面 GABAARs 的表达^[9], 并降低该受体介导的抑制性强直电流, 提高神经元的兴奋性, 此与癫痫发作相关^[10-11]。该家系母女 PCDH19 基因外显子整体缺失, 可能导致基因功能丧失, 考虑为致

病原因。

与一般 X 连锁显性或隐性遗传不同, 在半合子男性或正常基因的女性中, 表达相同 PCDH19 蛋白的细胞之间可正常黏附并传递信号, 因而表型正常; 而在基因变异的女性患者中, X 染色体随机失活, 及男性嵌合体中, 均存在表达不同 PCDH19 蛋白的细胞, 其之间黏附及通讯等功能无法正常进行, 从而致病^[5,12-14], 此机制在体外及小鼠模型中得以证实^[5,15]。Hoshina 等^[16]进一步对细胞干扰分子机制进行了探讨, PCDH19 蛋白可与神经细胞突触中另一细胞黏附分子 N-钙黏蛋白形成顺势复合物, 并通过 N-钙黏蛋白同源匹配介导跨膜突触信号, 而在嵌合体中 PCDH19 基因变异细胞此复合物不能正常形成, 损害 N-钙黏蛋白依赖性 β -catenin 信号传导及突触前纤维发育。

EFMR 具有表型异质性和外显率不全特点^[17]。该家系中母女携带相同变异, 但分别于 5 岁、1 岁时起病, 癫痫发作频率亦不相同, 与前述研究一致。考虑临床症状的严重程度与组织器官中变异基因等位基因比有关, 当突变型与野生型比例在 50% 左右时, 细胞之间的通讯干扰处于较高水平, 此时临床症状应比变异基因等位基因比更高或更低的时候严重, 由于 X 染色体失活在不同个体中比例不同, 导致母女相同组织器官功能受影响轻重程度不一, 从而导致不同的表型^[18]。

PCDH11 基因亦参与细胞黏附及通讯, 包括两个亚型: PCDH11Y 基因位于染色体 Yp11.2 区, PCDH11X 基因位于染色体 Xq21.3 区。PCDH19、PCDH11X、PCDH11Y 基因均在皮质、杏仁核、皮质下区域及神经节隆起中表达, 但 PCDH11X/Y 基因在尾

状核中的表达呈现性二态性^[1,19]。有研究证实,大脑皮层中的大多数神经元以组合的方式表达一种以上的钙黏连蛋白,并且组合方式多样:互补性、部分或完全重叠,子集特异性表达,大小细胞特异性表达等,并在小鼠大脑皮层中观察到 Pcdh11 及 Pcdh19 蛋白共表达的现象^[20]。一部分男性 PCDH19 基因存在缺失,但并没有癫痫发作,说明至少在男性中,PCDH19 蛋白的功能并不是不可或缺的^[21],并有学者在小鼠模型中进一步验证,完全敲除 Pcdh19 基因,小鼠脑活动正常,无异常细胞分选的发生^[5]。但是到目前为止,并未见女性 PCDH19 基因纯合缺失的报道。PCDH19 基因变异的半合子男性表型正常,有学者推测 PCDH11Y 基因的表达可能补偿了 PCDH19 基因的功能缺失^[1]。有报道在 1 例青春期男性乳房发育症的患者中 Xq13.2-q21.31 出现重复序列,其中包含 PCDH11X 基因,此患者有癫痫反复发作病史,PCDH11X 为其致病候选基因^[22]。该家系母女基因缺失片段涵盖 PCDH11X 基因,癫痫发作是否与之相关及 PCDH19、PCDH11X、PCDH11Y 基因间的关系需进一步研究。

总之,通过该家系报告提高了对此病基因型及表型的认识,对于癫痫伴智力低下者,应警惕该疾病的可能,进行遗传咨询及产前诊断,从而降低出生缺陷,预防遗传病的发生。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 智亚楠:数据收集分析,论文撰写;王涛、张萍萍、孙艳美、李娟:论文修改;李亚丽:实验设计,论文指导

参 考 文 献

- [1] Dibbens LM, Tarpey PS, Hynes K, et al. X-linked protocadherin 19 mutations cause female-limited epilepsy and cognitive impairment[J]. Nat Genet, 2008, 40(6): 776-781. DOI: 10.1038/ng.149.
- [2] Trivisano M, Pietrafusa N, Terracciano A, et al. Defining the electroclinical phenotype and outcome of PCDH19-related epilepsy: A multicenter study[J]. Epilepsia, 2018, 59(12): 2260-2271. DOI: 10.1111/epi.14600.
- [3] Kolc KL, Sadleir LG, Scheffer IE, et al. A systematic review and meta-analysis of 271 PCDH19-variant individuals identifies psychiatric comorbidities, and association of seizure onset and disease severity[J]. Mol Psychiatry, 2019, 24(2): 241-251. DOI: 10.1038/s41380-018-0066-9.
- [4] Hertel N, Redies C. Absence of layer-specific cadherin expression profiles in the neocortex of the reeler mutant mouse [J]. Cereb Cortex, 2011, 21(5): 1105-1117. DOI: 10.1093/cercor/bhq183.
- [5] Pederick DT, Richards KL, Piltz SG, et al. Abnormal cell sorting underlies the unique X-linked inheritance of PCDH19 epilepsy[J]. Neuron, 2018, 97(1): 59-66.e5. DOI: 10.1016/j.neuron.2017.12.005.
- [6] Gerosa L, Francolini M, Bassani S, et al. The role of protocadherin 19 (PCDH19) in neurodevelopment and in the pathophysiology of early infantile epileptic encephalopathy-9 (EIEE9)[J]. Dev Neurobiol, 2019, 79(1): 75-84. DOI: 10.1002/dneu.22654.
- [7] Light SEW, Jontes JD. Multiplane calcium imaging reveals disrupted development of network topology in zebrafish *pcdh19* mutants[J]. eNeuro, 2019, 6(3): ENEURO.0420-18.2019. DOI: 10.1523/ENEURO.0420-18.2019.
- [8] Homan CC, Pederson S, To TH, et al. PCDH19 regulation of neural progenitor cell differentiation suggests asynchrony of neurogenesis as a mechanism contributing to PCDH19 girls clustering epilepsy[J]. Neurobiol Dis, 2018, 116: 106-119. DOI: 10.1016/j.nbd.2018.05.004.
- [9] Bassani S, Cwetsch AW, Gerosa L, et al. The female epilepsy protein PCDH19 is a new GABAAR-binding partner that regulates GABAergic transmission as well as migration and morphological maturation of hippocampal neurons[J]. Hum Mol Genet, 2018, 27(6): 1027-1038. DOI: 10.1093/hmg/ddy019.
- [10] Serratto GM, Pizzi E, Murru L, et al. The epilepsy-related protein PCDH19 regulates tonic inhibition, GABAAR kinetics, and the intrinsic excitability of hippocampal neurons[J]. Mol Neurobiol, 2020, 57(12): 5336-5351. DOI: 10.1007/s12035-020-02099-7.
- [11] Zapata J, Moretto E, Hannan S, et al. Epilepsy and intellectual disability linked protein Shrm4 interaction with GABAARs shapes inhibitory neurotransmission[J]. Nat Commun, 2017, 8: 14536. DOI: 10.1038/ncomms14536.
- [12] Migeon BR. X-linked diseases: susceptible females[J]. Genet Med, 2020, 22(7): 1156-1174. DOI: 10.1038/s41436-020-0779-4.
- [13] Kolc KL, Møller RS, Sadleir LG, et al. PCDH19 pathogenic variants in males: expanding the phenotypic spectrum[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1298: 177-187. DOI: 10.1007/5584_2020_574.
- [14] Tan Y, Hou M, Ma S, et al. Chinese cases of early infantile epileptic encephalopathy: a novel mutation in the PCDH19 gene was proved in a mosaic male- case report[J]. BMC Med Genet, 2018, 19(1): 92. DOI: 10.1186/s12881-018-0621-x.
- [15] Mincheva-Tasheva S, Nieto Guil AF, Homan CC, et al. Disrupted excitatory synaptic contacts and altered neuronal network activity underpins the neurological phenotype in PCDH19-clustering epilepsy (PCDH19-CE)[J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(5): 2005-2018. DOI: 10.1007/s12035-020-02242-4.
- [16] Hoshina N, Johnson-Venkatesh EM, Hoshina M, et al. Female-specific synaptic dysfunction and cognitive impairment in a mouse model of PCDH19 disorder [J]. Science, 2021, 372(6539): eaaz3893. DOI: 10.1126/science.aaz3893.
- [17] Liu X, Yang X, Yang X, et al. Mosaicism and incomplete penetrance of PCDH19 mutations[J]. J Med Genet, 2019, 56(2): 81-88. DOI: 10.1136/jmedgenet-2017-105235.
- [18] Vallot C, Ouimette JF, Rougeulle C. Establishment of X chromosome inactivation and epigenomic features of the inactive X depend on cellular contexts[J]. Bioessays, 2016, 38(9): 869-880. DOI: 10.1002/bies.201600121.
- [19] Johansson MM, Lundin E, Qian X, et al. Spatial sexual dimorphism of X and Y homolog gene expression in the human central nervous system during early male development[J]. Biol Sex Differ, 2016, 7: 5. DOI: 10.1186/s13293-015-0056-4.
- [20] Krishna-K K, Hertel N, Redies C. Cadherin expression in the somatosensory cortex: evidence for a combinatorial molecular code at the single-cell level[J]. Neuroscience, 2011, 175: 37-48. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.11.056.
- [21] Kolc KL, Sadleir LG, Depienne C, et al. A standardized patient-centered characterization of the phenotypic spectrum of PCDH19 girls clustering epilepsy[J]. Transl Psychiatry, 2020, 10(1): 1002/dneu.22654.
- [22] Tan Y, Hou M, Ma S, et al. Chinese cases of early infantile epileptic encephalopathy: a novel mutation in the PCDH19 gene was proved in a mosaic male- case report[J]. BMC Med Genet, 2018, 19(1): 92. DOI: 10.1186/s12881-018-0621-x.

127. DOI: 10.1038/s41398-020-0803-0.

Meta Gene, 2016, 9: 185-190. DOI: 10.1016/j.mgene.2016.07.004.

[22] Linhares ND, Valadares ER, da Costa SS, et al. Inherited Xq13.2-q21.31 duplication in a boy with recurrent seizures and pubertal gynecomastia: clinical, chromosomal and aCGH characterization[J].

(收稿日期:2021-08-19)

(本文编辑 张谦)

• 临床细胞遗传学 •

产前诊断 6 号染色体短臂部分单体一例

张丽芳 钱飞燕 陈伟萍 曾艳

绍兴市妇幼保健院,浙江 312000

通信作者:张丽芳,Email:597993085@qq.com

DOI: 10.3760/cma.j.cn511374-20210819-00681

孕妇 28 岁, G₃P₁, 孕 12⁺周 B 超提示胎儿颈部透明层 (NT) 为 2.6 mm, 疑似伴有淋巴管水肿, 孕 12⁺周复查 NT 为 3.2 mm。在签署知情同意书后, 于孕 19 周行羊膜腔穿刺, 常规进行羊水染色体检查以及基于细菌人工染色体微珠 (BoBs) 的检测。胎儿染色体核型为 46, XY, del(6)(p22.3p24) (图 1), BoBs 检测未见异常。孕妇核型为 46, XX, 其丈夫为 46, XY, ins(10;6)(q22;p22.3p24) (图 2)。单核苷酸多态性微阵列检测结果显示胎儿 6p22.3p24 区存在 9.1 Mb 缺失, 涉及 EDN1、ATXN1 和 PHACTR1 等 25 个 OMIM 基因 (图 3)。经遗传咨询, 该夫妇决定终止妊娠, 引产儿外观无明显畸形, 未行病理学检查。

讨论 6p22-p24 缺失较为罕见, 其常见表型包括发育及语言滞后、自闭症谱系障碍、注意力缺陷多动障碍、重复行为以及多种先天异常如脑积水、小头畸形、眼/耳/鼻异常、肌肉异常、微棘皮症、短颈、心/肾异常、下肢/生殖器异常、指甲发育不良等^[1]。

本例胎儿的缺失来源于孕妇丈夫的染色体插入。携带插入者大多表型正常, 但通过减数分裂可形成 12 种配子, 其中仅 1 种正常, 1 种携带相同的插入, 其余均携带部分单体和/或三体, 受精后将导致早期自然流产。我们联合多种技术对本例胎儿的部分单体进行了确诊, 可为该夫妇的后续妊娠提供指导, 减少出生缺陷的发生率。

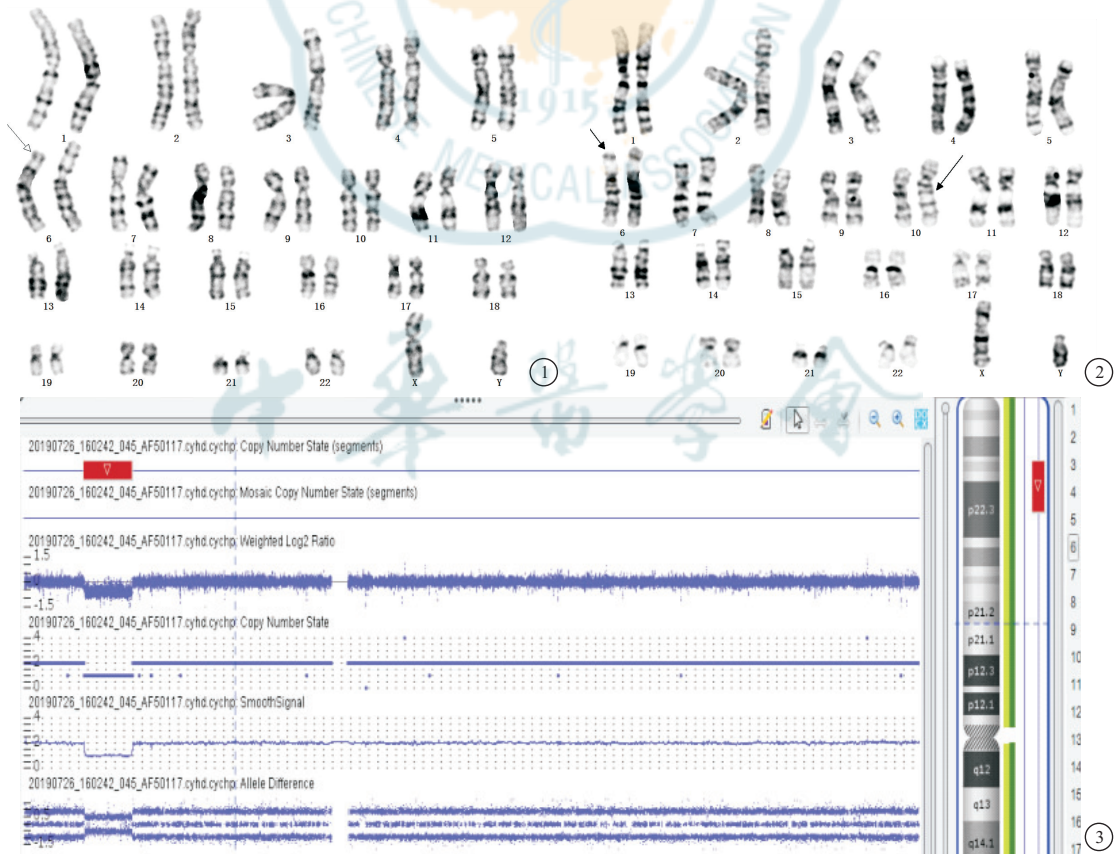


图 1 胎儿染色体核型 图 2 孕妇丈夫的染色体核型 图 3 胎儿 6p22.3p24 区存在 9.1 Mb 缺失

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

[1] Celestino-soper PB, skinner C, Schroer R, et al. Deletions in chromosome 6p22.3-p24.3, Including ATXN1, are associated

with developmental delay and autism spectrum disorders[J]. Mol Cytogenet, 2012, 5: 17. DOI: 10.1186/1755-8166-5-17.

(收稿日期:2021-08-19)

(本文编辑 李岭)