

· 病例报告 ·

吡哆醇依赖性癫痫 1 例报告及基因突变分析

李慧娟¹,程锐¹,郑帆²,曹兆兰¹,吴越¹,茅晓楠¹,丁乐^{2*}¹南京医科大学附属儿童医院新生儿医疗中心,²神经内科,江苏 南京 210008

[关键词] 癫痫;VB6;基因诊断;ALDH7A1

[中图分类号] R729

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2021)02-306-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20210229

吡哆醇依赖性癫痫(Pyridoxine dependent epilepsy, PDE)是一种罕见的常染色体隐性遗传病,最早于1954年报道,典型病例于新生儿期或婴儿早期起病,表现为抗癫痫药难以控制的反复癫痫发作,而应用维生素B6(vitamin B6, VB6)可控制病情。现已明确醛脱氢酶7家族成员A1(aldehyde dehydrogenase 7 family member A1, ALDH7A1)基因突变是PDE的病因^[1]。

1 临床资料

患儿,女,40 d,因“反复抽搐37 d”入院。患儿37 d前无诱因下出现抽搐发作,表现为四肢强直抖动,持续约1 min,无口吐泡沫,无面色青紫,至我院新生儿科病房住院治疗,期间给予“苯巴比妥,VB6”等对症治疗18 d,未再抽搐后口服“苯巴比妥”出院。出院后1周患儿再次出现抽搐发作,表现为双眼紧闭或上翻,两侧肢体交替抖动,持续数十秒至1 min左右缓解。患儿系G1P1,足月因“相对头盆不称”剖宫产娩出,出生体重3.68 kg, Apgar评分1 min 8分,5 min 9分,羊水清。父母体健,否认家族遗传性疾病史。入院体格检查:神清,反应可,面容无特殊,前囟平软,双外耳无畸形。心肺腹未及异常;四肢肌力肌张力正常,原始反射均存在。相关辅助检查:血糖、血电解质、血氨、血气分析、血生化均未见异常;血尿遗传代谢未见明显异常。头颅MRI提示脑白质含水量偏高,双额颞部颅板下间隙宽,两侧侧脑室饱满。视频脑电图提示异常小婴儿脑电图,

脑电发育中度延迟(后头部 δ 刷, QS期交替图形),左侧颞区为主多灶尖波发放、尖慢波、尖形慢波发放,睡眠期著。基因诊断明确后停用苯巴比妥,予VB6 7.5 mg/(kg·d)口服,随访2个月未有抽搐发作。因患儿年龄小,其运动智力发育需进一步随访评估,目前尚无确切结论。

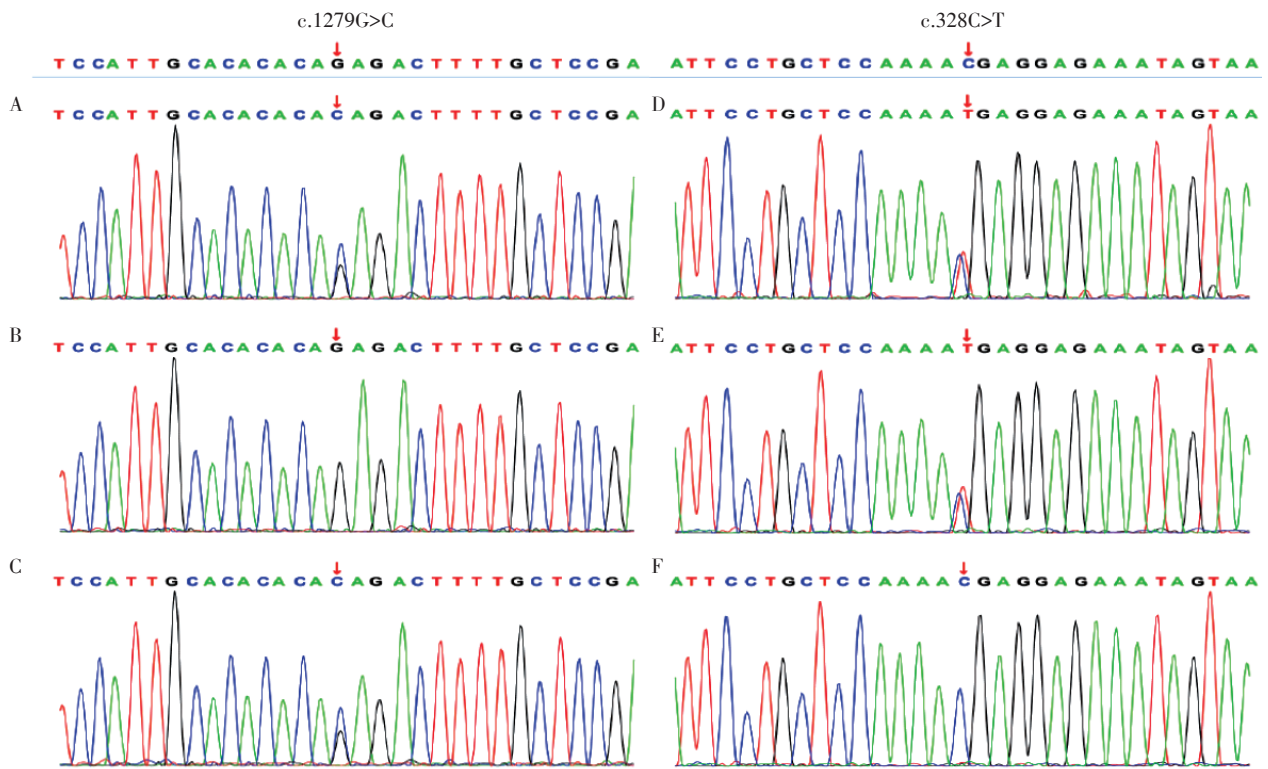
为明确病因,经医院医学伦理委员会审核及患儿父母知情同意后,抽取患儿及其父母外周血2 mL,送北京智因东方科技有限责任公司行基因检测。从患儿及其父母血中提取3~5 μ g DNA,并将其打断、扩增,建立含目标基因的全基因组文库,经生物素标记的探针与文库DNA杂交,最后用磁力架吸附携带目的基因的磁珠,洗脱纯化,富集目的基因,利用Illumina NextSeq 500行高通量测序(覆盖度一般为98%,平均深度不小于 $\times 200$),并进行分析,找出相关可能致病基因的所有突变信息,最后分析家系相关基因。患儿携带ALDH7A1复合杂合变异,母亲来源突变为c.1279G>C,父亲来源突变为c.328C>T,结合该病系常染色体隐性遗传,确诊PDE(图1)。

2 讨论

以“吡哆醇依赖性癫痫”“ALDH7A1”为关键词,检索中国知网,万方, Pubmed数据库等。通过文献阅读,将目前见刊报道的52例及本例,即共53例国人PDE患儿,总结如下。其中,男31例,女21例,性别不详者1例;32例有出生史异常,发生率约63%(32/51, 53例中有2例未提供出生相关资料),主要异常出生史包括缺氧缺血性脑病/窒息/低Apgar评分,羊水污染和异常胎动;在有发作类型描述的25例中,20例表现为局灶运动发作,3例表现为局灶运动

[基金项目] 南京医科大学科技发展基金(NMUB2018116)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: dingle1207@126.com



A: 患儿存在 c.1279G>C 杂合突变; B: 患儿父亲无突变; C: 患儿母亲存在 c.1279G>C 杂合突变; D: 患儿存在 c.328C>T 杂合突变; E: 患儿父亲存在 c.328C>T 杂合突变; F: 患儿母亲无突变。

图1 患儿及父母的ALDH7A1突变位点

或强直阵挛发作,仅1例单纯表现为强直阵挛发作;头颅影像学及脑电图表现缺乏特异性。根据其中24例病例资料统计,起病时间为生后2 h~13个月,中位数为8 d;延迟诊断时间为15 d~7年8个月,中位数为5个月;根据11例患儿确诊前抗癫痫药应用情况统计,平均用药种类达3.7种,其中1例患儿除外先后应用的8种抗癫痫药,还接受了生酮饮食治疗;VB6治疗的维持剂量波动在2.6~15 mg/(kg·d);在随访的51例患儿中,48例出现了精神运动发育落后,发生率高达94%。目前已报道53例患儿中,基因确诊者50例。共计包含23种突变位点,其中23(46%)例患儿有IVS11+1G>A突变,为我国人群热点突变。

VB6包括吡哆醇、吡哆胺和吡哆醛,以及相应的磷酸吡哆醇、磷酸吡哆胺和磷酸吡哆醛(pyridoxal 5'-phosphate, PLP)。磷酸吡哆醇(胺)在磷酸吡哆醇(胺)氧化酶(pyridoxal 5'-phosphate oxidase, PNPO)作用下生成PLP^[2]。PLP参与生成多种神经递质,调控中枢神经系统功能。ALDH7A1编码 α -氨基己二酸半醛(α -amino adipic semialdehyde, α -AASA)脱氢酶,该基因突变导致 α -AASA累积。 Δ 1-四氢吡啶-羧

酸(pyrraline 6' carboxylate, P6C)水平随 α -AASA升高,结合PLP使之有效浓度降低,阻断神经递质生成,与 α -AASA的毒性作用共同导致PDE患儿反复癫痫发作。大剂量补充VB6可增加PLP浓度,发挥部分治疗作用。

儿童癫痫表现多种多样^[3],PDE主要表现为生命早期的反复癫痫发作,而发作表现以及脑电图表现均缺乏特异性。约1/3患儿表现不典型,可表现为起病晚,停用VB6后可较长时间不发作等^[4]。推测原因可能是这部分患儿的ALDH7A1基因突变未造成 α -AASA脱氢酶的完全失活,疾病严重程度降低,起病趋于缓慢。虽然多项研究表明PDE患儿胼胝体的结构发生了改变,表现为容积缩小,尤其是后极部^[5-6];功能MRI(functional MRI, fMRI)还揭示了PDE患儿存在记忆、体感以及听觉神经传导受损^[7],但国内病例未见相关报道。以上非特异性表现均导致了该病诊断困难。国人病例中约63%有出生史异常,主要与围产期缺氧有关。除外个别病例,大多数患儿于新生儿期起病,但延迟诊断时间最长可达数年。需要关注的是我国PDE患儿的精神运动发育落后比例(94%)较国外(75%)高^[8],其中可能

混杂有部分患儿围产期缺氧所致的不良结局,提示在该病的诊治以及围产期管理中均有提升空间;且尽早诊断可以减少抗癫痫药的不必要应用,目前仅1例需要丙戊酸钠共同控制病情,其余患儿均可被VB6单药控制病情。基因诊断是PDE诊断的金标准,但在现有技术条件下,该方法耗时长且费用高,推广有一定难度。ALDH7A1基因IVS11+1G>A突变是我国患儿的热点突变位点^[1],我们认为可以将ALDH7A1基因IVS11+1G>A作为新生儿无诱因下惊厥的热点筛查基因,以期尽可能降低PDE的漏诊和误诊率,提高诊断效率,减少延误诊断及治疗的时间。同时当遇到新生儿期起病的难治性癫痫病例时,可以常规给予VB6的经验性治疗。

哌啶酸(pipecolic acid, PA)是应用较为广泛的生物标志物。ALDH7A1基因突变患儿体内PA浓度上升,具有较高的诊断特异性和敏感性,尿液PA因其无创性而成为了临床常用的生物标志物。既往研究表明,PDE患儿经治疗后,PA水平可降至正常,因此PA不仅能协助疾病诊断,还能协助治疗及评估预后。目前PA的检测用于PDE诊治在我国还处于起步阶段,国内首先将尿液PA用于协助PDE诊治的是北京大学第一医院,他们利用气相/液相色谱-质谱检测尿液PA浓度^[1],后来还发展了利用干血片和干尿片同时检测 α -AASA、P6C以及PA等,值得推广和借鉴^[9-10]。

总结国人PDE病例,发现该病治疗仍停留在单纯补充VB6阶段,而三联疗法,即补充VB6,精氨酸,限制赖氨酸摄入已经是国际上PDE的标准疗法。赖氨酸经过酵母氨酸和甲基哌啶两条路径生成 α -AASA、P6C、PA等,在PDE患儿中, α -AASA分解受到抑制,导致 α -AASA、P6C、PA蓄积,直接产生毒性作用^[11]。限制赖氨酸的原理是减少 α -AASA等的累积,降低其神经系统毒性作用;而补充精氨酸则能发挥竞争作用,减少赖氨酸进入脑组织及肝脏等,进一步阻断其下游 α -AASA的毒性作用。该三联疗法能够显著降低体液中PA浓度,改善患儿的运动功能预后,治疗效果优于单纯补充VB6,值得在国内推广^[12]。还有研究报道了补充亚叶酸的有效性,但机制不明^[12]。

国外研究显示,PDE患儿的认知和行为预后与多种因素相关,包括起病时间,延迟诊治时间,控制病情所需的VB6剂量,ALDH7A1突变类型以及中枢神经系统结构的异常等。其中基因突变类型决定了酶的残留活性,起病的早晚以及治疗所需的VB6

剂量,因此ALDH7A1的突变类型是决定该病预后的重要内因^[13-14]。

尽管目前国际上推行三联疗法,并且随着基因诊断的推广,该病的诊治越来越早,甚至在产前诊断明确的情况下宫内即开始补充VB6,但是患儿总体预后仍然不良,存在运动及语言发育迟缓,我国发生率更是高达94%,判断原因可能是赖氨酸下游关键产物缺失,导致患儿部分重要的神经系统功能无法行使^[15]。

以上临床现状提示对该病的发病机制尚需要更加深入的研究,以改善预后,或者从基因编辑的角度阻断发病。目前研究者应用CRISPR-Cas9技术敲除斑马鱼ALDH7A1基因,成功建立了PDE的第一个生物模型,将为探索PDE发病机制,以及进行药物筛选等提供良好的研究载体^[16-17]。

综上所述,PDE具有可治性,早期疑诊并行ALDH7A1基因检测可提高该病的诊断率,目前国际推荐的三联疗法值得在国内推广。

[参考文献]

- [1] 薛姣,杨志仙,李慧,等. 吡哆醇依赖性癫痫的临床和遗传学特点及尿液哌啶酸的检测[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(8): 592-596
- [2] 杨斌,叶小飞. 吡哆醇依赖性癫痫[J]. 儿科药理学杂志, 2008, 14(6): 52-54
- [3] 姜雯雯,王小珊. 儿童失神癫痫的研究进展[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2019, 39(5): 781-785
- [4] 薛姣,杨志仙,王爽,等. 临床表现不典型的吡哆醇依赖性癫痫一例[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(11): 861-862
- [5] OESCH G, MAGA A M, FRIEDMAN S D, et al. Geometric morphometrics reveal altered corpus callosum shape in pyridoxine-dependent epilepsy [J]. Neurology, 2018, 91(1): e78-e86
- [6] FRIEDMAN S D, ISHAK G E, POLIACHIK S L, et al. Callosal alterations in pyridoxine-dependent epilepsy [J]. Dev Med Child Neurol, 2014, 56(11): 1106-1110
- [7] POLIACHIK S L, FRIEDMAN S D, POLIAKOV A V, et al. Corpus callosum diffusion and connectivity features in high functioning subjects with pyridoxine-dependent epilepsy [J]. Pediatr Neurol, 2016, 54: 43-48
- [8] VAN KARNEBEEK C D, TIEBOUT S A, NIERMEIJER J, et al. Pyridoxine-dependent epilepsy: an expanding clinical spectrum [J]. Pediatr Neurol, 2016, 59: 6-12
- [9] XUE J, WANG J, GONG P, et al. Simultaneous quantification of alpha-amino adipic semialdehyde, piperidine-6-carboxylate, pipercolic acid and alpha-amino adipic acid in

- pyridoxine-dependent epilepsy[J]. *Sci Rep-Uk*, 2019, 9(1):11371
- [10] MATHEW E M, MOORKOTH S, LEWIS L, et al. Biomarker profiling for pyridoxine dependent epilepsy in dried blood spots by HILIC-ESI-MS[J]. *Int J Anal Chem*, 2018, 2018:2583215
- [11] CROWTHER L M, MATHIS D, POMS M, et al. New insights into human lysine degradation pathways with relevance to pyridoxine-dependent epilepsy due to antiquitin deficiency[J]. *J Inherit Metab Dis*, 2019, 42(4):620-628
- [12] COUGHLIN C R, VAN KARNEBEEK C D, AL-HERTANI W, et al. Triple therapy with pyridoxine, arginine supplementation and dietary lysine restriction in pyridoxine-dependent epilepsy: neurodevelopmental outcome[J]. *Mol Genet Metab*, 2015, 116(1-2):35-43
- [13] GOSPE S M. Developmental outcome in pyridoxine-dependent epilepsy: better late(onset)than early[J]. *Eur J Paediatr Neuro*, 2018, 22(4):575-576
- [14] DE ROOY R L P, HALBERTSMA F J, STRUIJS E A, et al. Pyridoxine dependent epilepsy: Is late onset a predictor for favorable outcome? [J]. *Eur J Paediatr Neuro*, 2018, 22(4):662-666
- [15] MARGUET F, BARAKIZOU H, TEBANI A, et al. Pyridoxine-dependent epilepsy: report on three families with neuropathology[J]. *Metab Brain Dis*, 2016, 31(6):1435-1443
- [16] ZABINYAKOV N, BULLIVANT G, CAO F, et al. Characterization of the first knock-out *aldh7a1* zebrafish model for pyridoxine-dependent epilepsy using CRISPR-Cas9 technology[J]. *PLoS One*, 2017, 12(10):e0186645
- [17] PENA I A, ROUSSEL Y, DANIEL K, et al. Pyridoxine-dependent epilepsy in zebrafish caused by *Aldh7a1* deficiency[J]. *Genet*, 2017, 207(4):1501-1518
- [收稿日期] 2020-06-30

(上接第295页)

- [J]. *Vet Med Sci*, 2017, 3(2):51-62
- [15] KUPPUSAMY K, RAJAN A, WARRIER A, et al. Cytological grading of breast tumors - the human and canine perspective[J]. *Front Vet Sci*, 2019, 6:283
- [16] CARVALHO M I, PIRES I, PRADO J, et al. A role for T-lymphocytes in human breast cancer and in canine mammary tumors[J]. *Bio Med Res Intern*, 2014, 2014:1-11
- [17] DONNINGER H, HOBGING K, SCHMIDT M L, et al. A porcine model system of BRCA1 driven breast cancer[J]. *Front Genet*, 2015, 6:269
- [18] HUEN M S, SY S M, CHEN J. BRCA1 and its toolbox for the maintenance of genome integrity [J]. *Nat Rev Mdd Cell Biol*, 11:138-148
- [19] LUO Y, LI J, LIU Y, et al. High efficiency of BRCA1 knockout using rAAV-mediated gene targeting: developing a pig model for breast cancer [J]. *Transgenic Res*, 2011, 20(5):975-988
- [20] ADAM S J, RUND L, UZMUK K N, et al. Genetic induction of tumorigenesis in swine [J]. *Oncogene*, 2007, 26(7):1038-1045
- [21] 徐加菊. 兔多器官 VX2 动物模型建立的实验研究[D]. 泰安:泰山医学院, 2010
- [22] ZHANG W, CHAI W, ZENG J, et al. Irreversible electroporation for the treatment of rabbit VX2 breast cancer[J]. *Biomed Microdevices*, 2017, 9(2):29.1-29.12
- [23] WANG L, YAO Q, WANG J, et al. MRI and hybrid PET/CT for monitoring tumour metastasis in a metastatic breast cancer model in rabbit [J]. *Nucl Med Commun*, 2008, 29(2):137-143
- [24] MERCATALI L, LA MANNA F, GROENEWOUD A, et al. Development of a patient-derived xenograft (PDX) of breast cancer bone metastasis in a zebrafish model [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(8):E1375
- [25] REN J, LIU S, CUI C, et al. Invasive behavior of human breast cancer cells in embryonic zebrafish [J]. *J Vis Exp*, 2017, 122:55459
- [26] 谢智慧,王蕾,吕庆,等. COX-2 与 MVD 在三阴性乳腺癌中的表达及相关性研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2013, 33(10):1410-1414
- [27] 陈锡强,韩利文,王希敏,等. 人乳腺癌斑马鱼移植瘤模型建立[J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(1):128-132
- [28] WIESE D A, THAIWONG T, YUZBASIYAN-GURKAN V, et al. Feline mammary basal-like adenocarcinomas: A potential model for human triple-negative breast cancer (TNBC) with basal-like subtype [J]. *BMC Cancer*, 2013, 13:403
- [29] HASSAN B B, ELSHAFIE S M, SUPSAVHAD W, et al. Feline mammary cancer [J]. *Vet Pathol*, 2017, 54(1):32-43
- [30] CLARKSON T B, APPT S E. Controversies about HRT—lessons from monkey models [J]. *Maturitas*, 2005, 51(1):64-74
- [收稿日期] 2020-06-13