

# 复杂型热性惊厥癫痫相关热点突变基因的研究及意义

杨宇, 郝金斗, 邹新英, 姚梦霖

南方医科大学附属深圳妇幼保健院, 广东 深圳 518028

**摘要:** **目的** 研究复杂型热性惊厥(CFS)癫痫相关热点突变基因。**方法** 选取从2017年6月至2018年6月,于儿科门诊及病房住院治疗的复杂型热性惊厥患儿120例进行研究,记作病变组。另取同期进行体检的120例健康儿童作为对照组。提取所有入组儿童的全血DNA,进行已知致病基因的筛查,分析基因突变情况。并将病变组患儿按照基因突变类型的不同分成离子通道及受体相关基因突变与细胞因子基因突变,比较不同基因突变患儿的临床表型以及癫痫发生情况。**结果** 观察组SCN1A、SCN1B、SCN9A、GABRD、IL-4基因突变发生率均高于对照组( $P < 0.05$ )。离子通道及受体相关基因突变CFS患儿临床表型为热性惊厥(FS)的人数占比低于细胞因子基因突变患儿,而临床表型为热性惊厥附加症(FS+)、FS+伴全面性发作、FS+伴部分性发作的人数占比高于细胞因子基因突变患儿( $P < 0.05$ )。离子通道及受体相关基因突变与细胞因子基因突变CFS患儿癫痫发生率分别为10.26%、10.00%,对比不明显( $P > 0.05$ )。**结论** CFS癫痫相关热点突变基因囊括SCN1A、SCN1B、SCN9A、GABRD、IL-4,其中离子通道及受体相关基因突变CFS患儿临床表型以FS+为主,而细胞因子基因突变CFS患儿临床表型以FS为主。

**关键词:** 复杂型热性惊厥; 癫痫; 基因突变; 临床表型

**中图分类号:** R 742.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2020)06-0811-04

## Research of hot spot mutation gene related to complex febrile convulsion and epilepsy

YANG Yu, HAO Jin-dou, ZOU Xin-ying, YAO Meng-lin

Shenzhen Maternal and Child Health Hospital Affiliated to Southern Medical University, Shenzhen, Guangdong 518028, China

Corresponding author: ZOU Xin-ying, E-mail: zouxinying122@tom.com

**Abstract: Objective** To study the hot spot genes mutation related to epilepsy of children with complex febrile convulsions (CFS). **Methods** A total of 120 children with CFS treated from June 2017 to June 2018 were selected and designed as disease group, and 120 healthy children were served as control group at the same time. DNA extraction from whole blood were screened for mutations in the known pathogenic genes. According to the different types of gene mutations, the children in disease group were divided into ion channel and receptor gene mutations group (SCN1A, SCN1B, SCN2A, SCN9A, GABRG2, GABRD and CACNB4) and cytokine gene mutations group (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10 and IL-4). The clinical phenotype and the occurrence of epilepsy in children with different gene mutations were compared. **Results** The mutation rates of SCN1A, SCN1B, SCN2A, SCN9A, GABRG2, GABRD, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10 and IL-4 genes in disease group were statistically higher than those in control group (all  $P < 0.05$ ). The proportion of children with clinical phenotype of FS in CFS children with ion channel and receptor-related gene mutations was lower than that of CFS children with cytokine gene mutation, however, the proportion of clinical phenotype of FS+, FS+ with comprehensive onset and FS+ with partial onset was significantly higher than that of those with cytokine gene mutations (all  $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the incidence of epilepsy in CFS children with ion channel and receptor-related gene mutations and with cytokine gene mutation (10.26% vs 10.00%,  $P > 0.05$ ). **Conclusion** The hot spot mutations genes related to epilepsy include SCN1A, SCN1B, SCN2A, SCN9A, GABRG2, GABRD, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10 and IL-4. The clinical phenotype is mainly FS+ in CFS patients with ion channel and receptor-related gene mutations and is mainly FS in CFS

patients with cytokine gene mutations.

**Key words:** Complex febrile convulsions; Epilepsy; Gene mutations; Clinical phenotype

**Fund program:** Shenzhen Health and Family Planning System Research Project (SZFZ2017006)

热性惊厥(FS)属于儿科临床较为常见的一种神经系统疾病,亦是惊厥最为常见的原因,发病率约为3%~5%<sup>[1]</sup>。作为年龄依赖性疾病,FS首次发作多见6个月~5岁,且绝大部分患儿预后良好。目前,临床上将FS按照表现特征的差异分成单纯型热性惊厥(SFS)以及复杂型热性惊厥(CFS)<sup>[2]</sup>。随着近年来相关研究的逐渐深入,越来越多的学者发现CFS激发癫痫的几率为4.0%~15.0%,明显高于SFS的1.0%~1.5%,属于继发癫痫重要危险因素之一<sup>[3]</sup>。迄今为止,关于FS的具体发病机制尚未完全明确,大部分研究认为可能和脑发育不成熟、遗传易感性以及发热3个方面因素互相作用有关,但该病存在显著的家庭遗传倾向,往往为多基因遗传或常染色体显性遗传,其中同卵双胞胎同病率相较于异卵双胞胎明显更高<sup>[4]</sup>。FS发病的遗传机制涉及个人和家族易感性,神经元兴奋和抑制,炎症及免疫调节反映以及机体和多种病原体的相互作用。目前,临床上已有不少研究证实,多个基因或(和)染色体异常和FS密切相关<sup>[5]</sup>。鉴于此,本文通过研究CFS癫痫相关热点突变基因,旨在为临床CFS的防治提供参考依据。现作以下报道。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取从2017年6月至2018年6月,于深圳市妇幼保健院儿科门诊及病房住院治疗的CFS患儿120例进行研究,记作病变组。CFS诊断标准主要是参照中华医学会儿科分会神经学组《热性惊厥诊断治疗与管理专家共识(2017)》<sup>[6]</sup>进行:(1)发作时间较长,持续时间超过15min;(2)单次病程多次发作;(3)发病年龄低于6个月或超过5岁;(4)局灶性发作;(5)发病前后存在神经系统异常。其中男性71例,女性49例,年龄3个月~8岁,(3.39±1.05)岁。纳入标准:(1)所有患儿均符合上述相关诊断标准;(2)年龄<5岁。排除标准:(1)既往有癫痫病史者;(2)因感染导致的惊厥发作者;(3)伴有中毒性脑病或(和)中枢神经系统感染者;(4)由全身代谢紊乱以及急性中毒导致的惊厥。另取同期于我院进行体检的120例健康儿童作为对照组。男性70例,女性50例,年龄4个月~8岁,平均(3.42±1.06)岁。两组性别、年龄比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),均衡可比。已获得纳入对象家属

同意,并得到医院伦理委员会批准。

1.2 研究方法 (1)临床资料收集:建立患儿信息系统,登记基本信息:年龄、产次、住址、文化程度、有无其它基础疾病、惊厥发作情况等。同时采集发病年龄、性别、发作次数、持续时间、临床表现、脑电图检查及磁共振检查情况,围生期调查、预后等基本信息。通过EpiData3.0软件将上述相关数据录入,并完成数据库的建立。(2)全血标本采集:所有患儿入院后均采集静脉血标本5ml,置于EDTA抗凝管中,保存在-80℃冰箱中备用。(3)CFS已知致病基因的筛查:采用QIAamp DNA Mini KIT进行患儿全血基因组DNA提取,具体操作方式严格按照试剂盒说明书进行。(4)聚合酶链式反应:从NCBI GenBank数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>)和UCSC数据库(Genome Browser database)中下载CHRN2基因的序列,并确定其外显子和内含子的分界。引物设计使用Primer Premier 5软件辅助,所有引物均由上海瀚宇生物科技有限公司合成。(5)基因测序:主要是由达安基因公司完成。(6)测序结果判定:首先采用DNA Sequencing Analysis Software Version 3.4.1分析测序结果,随后采用Ghromas 1.62软件包进行读取,并以Vector NTI 9.0软件包中的AlignX对比所有患儿DNA样品PCR测序结果和GenBank中相应基因的标准序列。继而明确是否存在碱基的替换、插入、缺失或其他改变。若发现有可疑变异的序列,则进行反向测序。如果双向测序结果均在同一位点发现变异,则确定为变异位点。(7)分组方式:并将病变组患儿按照基因突变类型的不同分成离子通道及受体相关基因(组SCN1A、SCN1B、SCN2A、SCN9A、GABRG2、GABRD、CACNB4)突变与细胞因子基因(IL-1R $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-4)突变。

1.3 统计学方法 以SPSS 20.0软件实施数据的分析。计数资料以例(%)表示,行 $\chi^2$ 检验或Yates校正 $\chi^2$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组基因突变情况对比 观察组离子通道及受体相关基因突变CFS患儿为39例,细胞因子基因突变患儿为20例。对照组未发现相关基因突变。观察组SCN1A、SCN1B、SCN9A、GABRD、IL-4基因突变发生率均高于对照组( $P<0.05$ )。见表1。

2.2 不同类型基因突变 CFS 患儿临床表型对比  
离子通道及受体相关基因突变 CFS 患儿临床表型为 FS 的人数占比低于细胞因子基因突变患儿,而临床表型为 FS +、FS + 伴全面性发作、FS + 伴部分性发作的人数占比高于细胞因子基因突变患儿临床表型,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。离子通道及受体相关基因突变 CFS 患儿 FS + 占比最高(53.85%),细胞因子基因突变 CFS 患儿 FS 占比最高(80.00%)。见表 2。

2.3 不同类型基因突变 CFS 患儿癫痫发生情况对比  
离子通道及受体相关基因突变与细胞因子基因突变 CFS 患儿癫痫发生率分别为 10.26% (4/39)、10.00% (2/20),两组对比差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.180, P = 0.671$ )。

表 1 两组基因突变情况对比 例(%)

基因	观察组(n=120)	对照组(n=120)	$\chi^2$ 值	P 值
SCN1A	6(5.00)	0	4.274	0.039
SCN1B	7(5.83)	0	5.297	0.021
SCN2A	5(4.17)	0	3.268	0.071
SCN9A	8(6.67)	0	6.336	0.012
GABRG2	5(4.17)	0	3.268	0.071
GABRD	6(5.00)	0	4.274	0.039
CACNB4	2(1.67)	0	0.504	0.478
IL-1R $\alpha$	4(3.33)	0	2.288	0.130
IL-1 $\beta$	5(4.17)	0	3.268	0.071
IL-10	5(4.17)	0	3.268	0.071
IL-4	6(5.00)	0	4.274	0.039

表 2 不同类型基因突变 CFS 患儿临床表型对比 例(%)

基因突变类型	例数	FS	FS +	FS + 伴全面性发作	FS + 伴部分性发作
离子通道及受体相关基因	39	3(7.69)	21(53.85)	7(17.95)	8(20.51)
细胞因子基因	20	16(80.00)	4(20.00)	0	0
$\chi^2$ 值				32.730	
P 值				0.000	

### 3 讨论

临床上已知的部分癫痫和癫痫综合征均可由 FS 导致,存在“热敏感”的特征或早期具有 FS 表现,容易和 FS 混淆,应予以足够的重视,而上述 FS 中大部分表现为 CFS<sup>[7-9]</sup>。Dravet 综合征和遗传性癫痫伴热性惊厥附加症(GEFS+)均是目前已知的热敏感相关癫痫综合征。前者属于难治性癫痫综合征之一,已被国际抗癫痫联盟(ILAE)归类于癫痫性脑病,患者主要临床特征表现为 CFS,且大部分患儿的药物治疗效果不理想,发作无法控制<sup>[10]</sup>。且有学者发现 Dravet 综合征患儿的发病绝大部分和 SCN1A 基因突变密切相关,且 SCN9A、PCDH19 等基因突变亦可能引

发该病<sup>[11]</sup>。GEFS+属于家族性遗传性癫痫综合征,存在表型异质性,多见于 FS,其次为 FS+,表现为 6 岁后仍出现热或无热的全身强直阵挛<sup>[12]</sup>。目前临床上的大量家系研究亦证实多种离子通道蛋白亚单位基因的突变和 GEFS+ 发病相关<sup>[13]</sup>。由此可知,针对 CFS 患儿应密切关注热敏感相关的癫痫综合征,并实施必要的遗传学检测。

本文结果表明了 CFS 癫痫相关热点突变基因囊括 SCN1A、SCN1B、SCN2A、SCN9A、GABRG2、GABRD、IL-1R $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-4。其中 SCN1A 基因定位在染色体 2q24.3,长度为 8123bp,编码 2010 个氨基酸,构成钠通道  $\alpha$  亚单位,该基因的突变会引起钠通道蛋白氨基酸发生变化,进一步引起钠通道功能增强或减弱。SCN1B 基因位于染色体 19q13.1,主要作用为编码钠离子亚单位,其中  $\alpha$  亚基属于钠通道功能单位,而  $\beta$  基因发挥调控作用,一旦该基因发生突变,会对  $\alpha$  亚基的激活和失活产生影响,进一步导致癫痫的发生。另有相关研究表明<sup>[14]</sup>,SCN2A 最早于 2001 年被发现,其中 R188W(C/T)、R524Q(G/A)以及 R19K(G/A)是其 3 个突变位点,该基因的突变亦会导致通道功能障碍,从而增加了钠离子的内流,进一步引起神经元的过度兴奋,最终引发癫痫的发作。SCN9A 同样是钠离子通道编码基因之一,和上述相关基因作用类似。GABRG2 基因定位在 5q34,主要囊括 9 个外显子以及 8 个内含子,编码 GABAA 受体的  $\gamma 2$  亚基,在机体的运输、聚集以及突触保护过程中起着至关重要的作用。GABRG2 基因突变包括 3 种错义突变,3 种无义突变,1 中剪切位点突变。有研究报告,GABRG2 基因突变中的 W390X 以及 Q351 突变位于 3、4 结构域之间细胞内环,可通过降低对神经元兴奋的抑制作用,进一步影响神经元的兴奋性以及放电,继而导致突出对兴奋性传入反应的增强,在癫痫发生过程中起着至关重要的作用<sup>[15]</sup>。GABRD 基因定位在 IP36.3,包括 9 个外显子,编码 452 个蛋白质,其所构成的 GABAA 受体 S 亚基位于突触膜周围和膜外,广泛认为是介导紧张性抑制,而 GABAA 受体电流减少可能和神经元兴奋性增加密切相关。IL-1R $\alpha$  位于 2 号染色体上,可通过拮抗 IL-1,继而发生一系列生物学效应,上述两种因子的动态平衡在其所介导的疾病中发挥着极其重要的反馈调节作用,参与全身炎症反应。IL-1 $\beta$  包含 7 个外显子及 6 个内含子,且有研究证实其反应增强可能参与惊厥的发生、发展,即 IL-1 $\beta$  可诱导发热,进一步对血脑屏障通透性造成损害,诱导了惊厥的发生。IL-10 与 IL-4 均在维持细胞因子网络平衡中起着至关重要的作用,可能

通过炎症反应途径参与惊厥的发生。此外,离子通道及受体相关基因突变 CFS 患儿临床表型为 FS 的人数占比低于细胞因子基因突变患儿,而临床表型为 FS +、FS + 伴全面性发作、FS + 伴部分性发作的人数占比高于细胞因子基因突变患儿。分析原因,可能是离子通道及受体相关基因中的 SCN1A、SCN1B、SCN2A、SCN9A、GABRG2、GABRD 基因均是临床上已知的 FS + 相关基因,分别编码电压门控钠离子通道  $\alpha 1$ 、 $\beta 1$  亚单位和配体门控氯离子通道 GABA 受体  $\gamma 2$ 、 $\delta$  亚单位,从而会导致患者出现 FS + 表型。提示了在临床工作中可能通过对 CFS 患儿的表型进行观察,继而达至判断其基因突变类型,继而为临床的进一步诊断和治疗提供指导作用。

综上所述,CFS 癫痫相关热点突变基因涵盖 SCN1A、SCN1B、SCN2A、SCN9A、GABRG2、GABRD、IL-1R $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10、IL-4 等。且不同基因突变 CFS 患儿的临床表型存在一定的差异。

#### 参考文献

[1] Yamanaka G, Ishida Y, Morichi S, et al. Spinal fluid cytokine levels and single-photon emission computed tomography findings in complex febrile seizures[J]. J Child Neurol, 2018, 33(6): 417-421.

[2] Sun Q, Zhang YS, Huang J, et al. DPP4 regulates the inflammatory response in a rat model of febrile seizures[J]. Biomed Mater Eng, 2017, 28(s1): S139-S152.

[3] Łotowska J, Sobaniec P, Sobaniec-Łotowska M, et al. Effects of topiramate on the ultrastructure of synaptic endings in the hippocampal CA1 and CA3 sectors in the rat experimental model of febrile seizures; the first Electron microscopy report[J]. Folia Neuropathol, 2019, 57(3): 267-276.

[4] 曾琦,张月华,杨小玲,等. SCN2A 基因突变导致的癫痫表型特点[J]. 中华儿科杂志, 2018, 56(7): 518-523.

[5] Crandall LG, Lee JH, Stainman R, et al. Potential role of febrile seizures and other risk factors associated with sudden deaths in children[J]. JAMA Netw Open, 2019, 2(4): e192739.

[6] 中华医学会儿科学分会神经学组. 热性惊厥诊断治疗与管理专家共识(2017 实用版)[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(18): 1379-1382.

[7] 孙慧慧,张月华,刘晓燕,等. 一个全面性癫痫伴热性惊厥附加症家系临床表型及 GABRG2 基因突变分析[J]. 中华医学遗传学杂志, 2008, 25(6): 611-615.

[8] 黄春玲,曹广娜,童笑梅. 新生儿惊厥 2 例临床及基因分析[J]. 临床儿科杂志, 2018, 36(9): 666-669.

[9] Dai YJ, Wu DC, Feng B, et al. Prolonged febrile seizures induce inheritable memory deficits in rats through DNA methylation[J]. CNS Neurosci Ther, 2019, 25(5): 601-611.

[10] 张华,陈海丹,陈泽燕,等. Dravet 综合征患儿致病基因定位及 GEFS + 基因突变检测[J]. 临床儿科杂志, 2019, 37(9): 665-668.

[11] 吴光声,朱亚非,李珊,等. Dravet 综合征 2 个家系的致病基因筛查和早期用药分析[J]. 浙江医学, 2019, 41(4): 373-376.

[12] 王翠,贾天明,张晓莉,等. Dravet 综合征患儿 SCN1A 基因突变特点与其临床表型的相关性及药物疗效[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2019, 34(9): 684-688.

[13] 方志旭,蒋莉. 遗传性癫痫伴热性惊厥附加症的遗传学研究进展[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(12): 949-953.

[14] 王嫻,刘爱华. 遗传性癫痫伴热性惊厥附加症相关性 GABRG2 的分子遗传学研究进展[J]. 临床神经病学杂志, 2016, 29(6): 470-473.

[15] 田杨,侯池,王秀英,等. STX1B 基因突变致遗传性癫痫伴热性惊厥附加症一家系分析并文献复习[J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(3): 206-210.

收稿日期:2019-10-24 编辑:王娜娜