

癫痫及相关疾病专题

POLG 基因新复合杂合突变致 Alpers-Huttenlocher 综合征 1 例

张艳凤¹ 王江涛¹ 高健博¹ 吕艳英³ 梁建民¹ 贾飞勇² 陈银波¹ 郝云鹏¹

(1. 吉林大学第一医院小儿神经科, 吉林 长春 130021;
2. 吉林大学第一医院发育行为儿科, 吉林 长春 130021;
3. 长春市绿园区医院儿科, 吉林 长春 130000)

患儿, 男, 11 个月, 因左侧肢体抽搐 4 h 入院。入院 4 h 前患儿无明显诱因出现左侧肢体持续抖动, 无颜面青紫, 无意识障碍。近期无发热、呕吐等。出生史正常。患儿 3 个月会抬头, 6 个月会独坐, 8 个月会爬。父母非近亲结婚。患儿姐姐 10 月龄起病, 表现为持续性部分性癫痫、伴肝功能酶学升高, 脑电图提示多灶起源的部分性发作; 先后应用托吡酯、奥卡西平、丙戊酸镁、拉莫三嗪、氯硝西泮等治疗, 抽搐无明显缓解, 并逐渐出现黄疸、肝功能酶学异常加重和高乳酸血症 (>15 mmol/L), 起病 4 个月后死亡。

入院查体: 发育正常、营养中等, 神志清楚, 左侧肢体持续抖动, 双侧瞳孔等大同圆、对光反射迟钝, 双肺呼吸音粗, 心率 130 次/min、律齐、无杂音, 腹软, 肝脾肋下未触及, 左侧肢体肌力因持续抖动无法评估, 右侧肢体肌力、肌张力正常, 无颈项强直, 双侧膝腱反射正常, 双侧巴氏征阳性。辅助检查: 血常规白细胞 $11.4 \times 10^9/L$, 余项正常; 乳酸 3 mmol/L (参考值 0~2 mmol/L); 血电解质、血糖正常; 肝功能: 门冬氨酸氨基转移酶 135 U/L (参考值 15~40 U/L), 丙氨酸氨基转移酶 155 U/L (参考值 9~50 U/L), α -羟丁酸脱氢酶 221 U/L (参考值 78~182 U/L); 脑脊液: 蛋白 0.47 g/L, 潘氏反应+, 余项正常。头部 MRI: 表观弥散系数成像可见双侧尾状核头部对称性低信号。视频脑电

图 (图 1) 监测到左侧肢体节律或非节律性频繁肌阵挛发作, 或右侧 Rolandic 区起始的部分性发作持续状态, 表现为弥漫性 δ 波为主的慢波, 以前头部及后头部为著; 右侧 Rolandic 区慢波或夹杂 (多) 棘波尖波, 或 (多) 棘慢波接近持续发放。血串联质谱、尿有机酸、氨基酸筛查均未见异常。患儿线粒体疾病基因筛查发现 POLG (polymerase-gamma) 基因复合杂合核苷酸突变: c.3024_3025insTTG (编码区第 3024_3025 号核苷酸间插入 TTG) 和 c.2588G>T (编码区第 2588 号核苷酸由 G 变为 T), 其父母均携带其中一个杂合突变 (患儿父母表型正常, 姐姐为患者), 见图 2。入院后临床诊断为癫痫、局灶性发作、癫痫持续状态、持续性部分性癫痫、Alpers-Huttenlocher 综合征, 予咪达唑仑持续泵入、先后予以托吡酯、奥卡西平口服抗癫痫治疗, 以及磷酸肌酸、左卡尼汀、维生素 B₁、维生素 C、辅酶 Q₁₀、三磷酸腺苷等对症治疗。目前患儿病程已 2 个月, 不能翻身、独坐, 反应淡漠, 时有烦躁, 仍有左侧肢体间断抖动, 左侧肢体肌力 3 级、肌张力略低; 复查肝功能: 门冬氨酸氨基转移酶 173.8 U/L, 丙氨酸氨基转移酶 114.1 U/L, 与入院相比无明显变化; 复查脑电图 (图 3): 监测到清醒期为主的多次左侧上肢或左侧肢体肌阵挛发作, 脑电背景活动慢化, 双侧 Rolandic 区或后头部为主的慢波、棘慢波发放。



图 1 治疗前癫痫发作期脑电图 治疗前表现为持续性部分性癫痫发作。箭头所指为发作期 C4 导联连续性 δ 波发放。

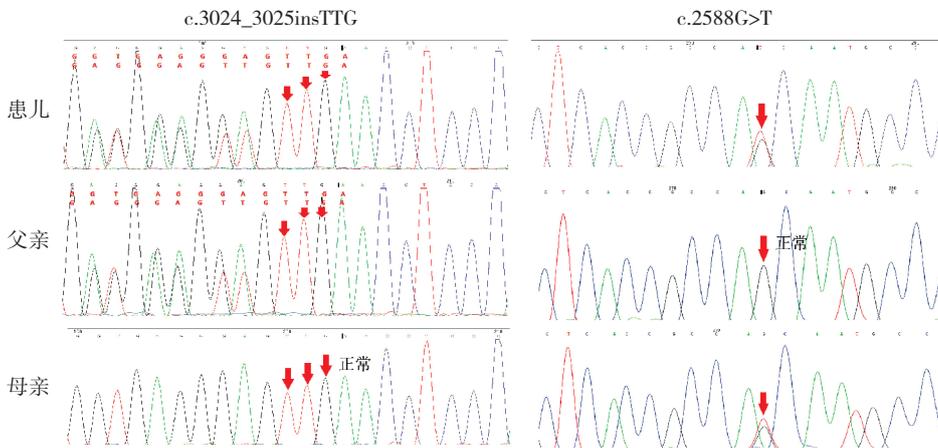


图 2 POLG 基因分析 患儿线粒体疾病基因筛查发现 POLG 基因复合杂合核苷酸突变：c.3024_3025insTTG（编码区第 3024_3025 号核苷酸间插入 TTT），c.2588G>T（编码区第 2588 号核苷酸由 G 变为 T）；患儿父亲存在 c.3024_3025insTTG 杂合突变，患儿母亲存在 c.2588G>T 杂合核苷酸突变。突变位点如箭头所示。

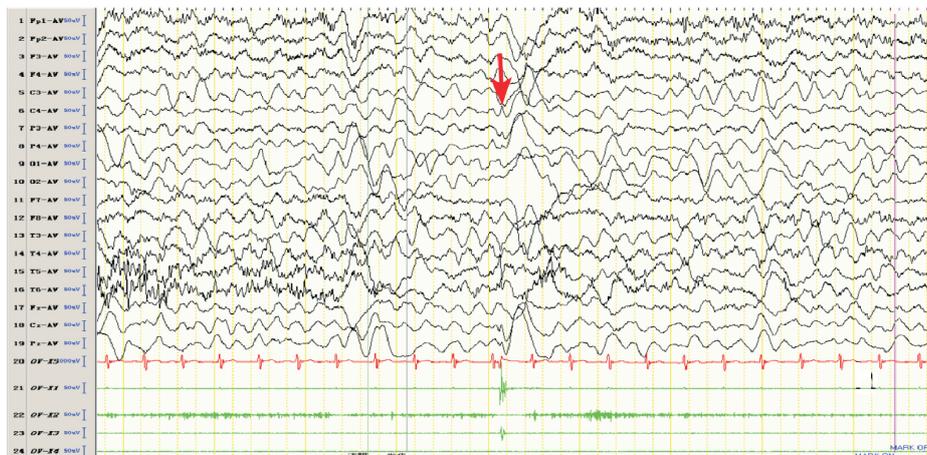


图 3 治疗 2 个月后癫痫发作期脑电图 治疗 2 个月后表现为左上肢局灶性肌阵挛发作。箭头所指为发作期 C4 导联棘波。

讨论: Alpers-Huttenlocher 综合征 (又称 Alpers 综合征) 为一种常染色体隐性遗传的肝脑综合征, 其典型的临床特征为难治性癫痫及进行性肝功能异常, 尤其是应用丙戊酸后可能发生急性肝衰竭、皮质盲和精神运动倒退; 发病年龄为 1 个月至 25 岁, 以婴幼儿常见, 多在 3 岁内死亡^[1-2]。

Alpers 于 1931 年报道 1 例生长发育正常的 3 个月女孩, 出现难治性癫痫, 进展迅速, 1 个月内出现深度昏迷, 直至死亡; 脑组织病理检查发现大脑灰质广泛的神经元细胞脱失, 这是关于 Alpers-Huttenlocher 综合征的早期描述^[3]。1976 年, Huttenlocher 等^[4-5]描述了本病肝病方面的特征, 进一步确认了本病遗传方式为常染色体隐性遗传。1990 年, Harding 等^[1]报道 32 例肝病合并脑病的病人, 系统阐述了本病的典型临床过程—早期发育正常, 逐渐出现发育迟缓, 体重增长困难, 发作性呕吐, 肌张力降低。抽搐可以是首发症状, 其他临床症状在抽搐出现后一般会迅速进展; 肝脏受累时间差异较大, 可能先于抽搐出现, 也有些出现在疾病终末期。大脑皮层的病理表现多样, 包括海绵层水肿、神经元缺失、星型胶质细胞细胞增生等, 但多数累及距状裂皮质, 进一步进展累及整个大脑皮层^[2]。

Ropp 和 Copeland 等^[6]于 1996 年成功克隆了 POLG 基因, 并阐述了 POLG 基因的特性。有关 POLG 相关疾病的研究开启了人们对线粒体—核基因相互关联疾病的认识。Naviaux 等^[7]1999 年发现, POLG 酶活性降低可导致线粒体 DNA 耗竭, 从而建立了 Alpers-Huttenlocher 综合征与 POLG 基因生化、酶学方面的关联。Naviaux 和 Nguyen 在 2004 年描述了 POLG 基因突变导致的 Alpers-Huttenlocher 综合征, 从而建立了基因型—表型之间的联系, 明确了 Alpers-Huttenlocher 综合征是由基因异常导致的酶学变化, 从而使线粒体 DNA 减少引发线粒体 DNA 耗竭综合征^[8]。

POLG 基因位于 15q25, 编码线粒体 DNA 多聚酶, 该蛋白在线粒体 DNA 复制与修复中起重要作用, 已发现大约 200 余种 POLG 基因突变^[9]。Alpers 综合征常见的 POLG 基因突变为 A467T, 占突变等位基因的 40%, 其次为 W748S、G848S 和 T914P, 其余突变检出率很低^[10-11]。本文涉及的两处突变的致病性均尚未见文献报道 (参考数

据库: HGMD Pro 及 PubMed), 不属于多态性变化, 在人群中发生的频率极低 (参考数据库: 1000Genomes、dbSNP)。POLG 蛋白结构可分为 3 个区域: 3'-5' 核酸外切酶区域、连接区及 DNA 聚合酶区域, 而 DNA 聚合酶区域是 POLG 的主要活性区域^[9]。本文涉及的两个突变均位于 DNA 聚合酶区域, 突变的核苷酸均引起了氨基酸序列的改变, 其中 c.2588G>T 导致第 863 号氨基酸由 Ser 变为 Ile (p.Ser863Ile)。丝氨酸通常为蛋白质磷酸化修饰的位点, 改变后对蛋白质功能影响较大^[12]。另一个突变 c.3024_3025insTTG, 导致第 1008 与 1009 号氨基酸间插入 Leu。新插入的 Leu 为中性氨基酸, 而原来此位置的 Asp 为酸性氨基酸, 两种氨基酸性质不同。用 polyphen 软件对该患儿两处突变进行蛋白功能预测, 显示为“可能致病的”; 另外通过对黑猩猩、小鼠、大鼠、蟾蜍和人类多重序列进行比对分析, 发现黑猩猩、小鼠、大鼠、蟾蜍和人类在这两个位点均分别编码 Ser 和 Asp, 说明这两个位点处于进化高度保守区域, 此位置突变对 POLG 蛋白影响大。而有研究表明, POLG 基因作为 Alpers-Huttenlocher 综合征、进行性眼外肌麻痹、共济失调神经病等的致病基因, 复合杂合突变可以导致发病^[9]。因此推测患儿的这两个突变也可能致病。

Alpers-Huttenlocher 综合征的诊断标准^[8]:

- (1) 临床表现为难治性癫痫、精神、运动倒退和肝病;
- (2) 没有肝病表现者, 进一步诊断需依靠 POLG 基因测序、或肝活检、尸检或其它表现;
- (3) 其他表现包括 (须符合 11 条中的 2 条):
 - ① 颅脑磁共振波谱分析提示 N-乙酰天门冬氨酸降低、肌酸正常、乳酸升高;
 - ② 脑脊液蛋白升高;
 - ③ 头部磁共振或 CT 扫描提示脑容积减少;
 - ④ 至少一次脑电图提示多灶起源的高波幅慢波、棘波/多棘波活动;
 - ⑤ 皮质盲或视神经萎缩;
 - ⑥ 视觉诱发电位异常, 而视网膜电流图正常;
 - ⑦ 骨骼肌或肝脏线粒体 DNA 耗竭;
 - ⑧ 骨骼肌或肝脏聚合酶- γ 活性缺陷;
 - ⑨ 除外急性肝衰竭的情况, 至少 1 次血或脑脊液的乳酸升高 (>3 mmol/L);
 - ⑩ 肝细胞呼吸链测定实验提示单独电子传递链复合物 IV 缺陷, 或复合物 I、III、IV 联合缺陷;
 - ⑪ 家族中有 1 个同胞被诊断为 Alpers-Huttenlocher 综合征。

本例患儿以持续性部分性癫痫起病, 11 月龄

起病,表现为精神、运动倒退,血乳酸升高,肝功能酶学升高,脑脊液蛋白轻度升高,基因检测发现 POLG 基因的复合杂合突变。患儿姐姐 10 月龄起病,同样表现为持续性部分性癫痫,多种药物联合治疗,抽搐难以控制,脑电图提示多灶起源的部分性发作,肝功酶学升高,应用丙戊酸后出现黄疸、肝功能异常加重、持续高乳酸血症,起病 4 个月后死亡。根据诊断标准^[8],患儿及其姐姐均可诊断为 Alpers-Huttenlocher 综合征。

丙戊酸可诱发肝衰竭为 Alpers-Huttenlocher 综合征特点之一,机制尚不完全明确。有学者对于患 Alpers-Huttenlocher 综合征的同胞进行观察,使用丙戊酸的患儿很快出现肝衰竭,未使用丙戊酸的患儿死于癫痫持续状态,但二者尸检均显示肝脏结节形成,认为肝硬化和肝衰竭可能为本病的病理表现之一,而与药物关系并不密切,但丙戊酸可能加速这一进程^[13]。最近有研究报道,丙戊酸导致本病患者发生肝衰竭可能与线粒体膜通透性转孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)开放有关,应用环孢素 A(mPTP 抑制剂)能够挽救丙戊酸所致的这种凋亡效应^[14]。本例患儿的姐姐在丙戊酸治疗 1 个月后出现黄疸、肝功能损害加重,起病后 4 个月死亡;而本例患儿起病方式与其姐姐极其相似,但在病情早期得以诊断,给予左卡尼汀等支持治疗,同时避免使用丙戊酸,目前病程已 2 个月,抽搐较前略有好转。

迄今为止,尚无有效手段阻止 Alpers-Huttenlocher 综合征进展。一种新的临床药物 EPI-743(对苯醌类似物,一种抗氧化剂)正在临床观察中,或许能给本病患者带来希望^[15]。还有研究提示,在疾病的足够早期开始运动练习能够延缓进展^[16]。另外,mPTP 的抑制剂虽然只限于细胞模型研究,也使人们看到了本病治疗的一点希望。

Alpers-Huttenlocher 综合征的分子-临床-生化方面的研究已有 10 余年历史,发现基因及环境因素对该疾病有影响,但关于基因变化如何影响表型,如何找到有效的治疗方法,还有大量工作要做。

志谢:感谢上海诺华贸易有限公司在本研究病例资料收集中给予的支持。

[参 考 文 献]

- [1] Harding BN. Progressive neuronal degeneration of childhood with liver disease (Alpers-Huttenlocher syndrome): A personal review[J]. *J Child Neurol*, 1990, 5(4): 273-287.
- [2] Egger J, Harding BN, Boyd SG, et al. Progressive neuronal degeneration of childhood (PNDC) with liver disease[J]. *Clin Pediatr (Phila)*, 1987, 26(4): 167-173.
- [3] Alpers BJ. Diffuse progressive degeneration of the gray matter of the cerebrum[J]. *Arch Neurol Psychiatry*, 1931, 25(3): 469-505.
- [4] Huttenlocher PR, Solitare GB, Adams G. Infantile diffuse cerebral degeneration with hepatic cirrhosis[J]. *Arch Neurol*, 1976, 33(3): 186-192.
- [5] Sandback U, Lerman P. Progressive cerebral poliodystrophy-Alpers' disease. Disorganized giant neuronal mitochondria on electron microscopy[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1972, 35(6): 749-755.
- [6] Ropp PA, Copeland WC. Cloning and characterization of the human mitochondrial DNA polymerase gamma[J]. *Genomics*, 1996, 36(3): 449-458.
- [7] Naviaux RK, Nyhan WL, Barshop BA, et al. Mitochondrial DNA polymerase gamma deficiency and mtDNA depletion in a child with Alpers syndrome[J]. *Ann Neurol*, 1999, 45(1): 54-58.
- [8] Nguyen KV, Sharief FS, Chan SS, et al. Molecular diagnosis of Alpers syndrome[J]. *J Hepatol*, 2006, 45(1): 108-116.
- [9] National Institute of Environmental Health Sciences. Human DNA polymerase gamma mutation database[DB/OL]. [2016-06-20]. <http://tools.niehs.nih.gov/polg/>.
- [10] Naviaux RK, Nguyen KV. POLG mutations associated with Alpers syndrome and mitochondrial DNA depletion[J]. *Ann Neurol*, 2004, 55(5): 706-712.
- [11] Tzoulis C, Engelsens BA, Telstad W, et al. The spectrum of clinical disease caused by the A467T and W748S POLG mutations: A study of 26 cases[J]. *Brain*, 2006, 129(Pt 7): 1685-1692.
- [12] 梁前进,王鹏程,白燕荣.蛋白质磷酸化修饰研究进展[J]. *科技导报*, 2012, 30(31): 73-79.
- [13] Schwabe MJ, Dobyns WB, Burke B, et al. Valproate-induced liver failure in one of two siblings with Alpers disease[J]. *Pediatr Neurol*, 1997, 16(4): 337-343.
- [14] Li S, Guo J, Yang Z, et al. Valproic acid-induced hepatotoxicity in Alpers syndrome is associated with mitochondrial permeability transition pore opening-dependent apoptotic sensitivity in an induced pluripotent stem cell model[J]. *Hepatology*, 2015, 61(5): 1730-1739.
- [15] Enns GM, Kinsman SL, Perlman SL, et al. Initial experience in the treatment of inherited mitochondrial disease with EPI-743[J]. *Mol Genet Metab*, 2012, 105(1): 91-102.
- [16] Safdar A, Bourgeois JM, Ogborn DI, et al. Endurance exercise rescues progeroid aging and induces systemic mitochondrial rejuvenation in mtDNA mutator mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(10): 4135-4140.

(本文编辑: 俞燕)