

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.15.019

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200317.0957.002.html\(2020-03-17\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200317.0957.002.html(2020-03-17))

ASPA 基因新变异型致卡纳万病 1 例报道并文献复习*

程书欢,孙萌,程亚颖[△]

(河北省人民医院儿科,石家庄 050051)

[摘要] **目的** 探讨卡纳万病(CD)的临床表现及天冬氨酸酰基转移酶(ASPA)基因变异特征,为临床工作中更好地识别该病提供参考。**方法** 回顾性分析 1 例经基因检测诊断为 CD 的患儿临床资料,结合目前 CD 的研究进展进行文献复习。**结果** 该病例为 1 例 7 个月男婴,以精神运动发育迟缓为主要临床表现,尿串联质谱检测显示 N-乙酰天冬氨酸明显增高,头颅磁共振提示双侧额顶叶脑白质区见多发点状及小条形异常信号,符合脑白质病磁共振表现。二代基因测序发现患儿 ASPA 基因外显子区域存在 c.432+1G>A 和 c.634+1G>A 两处杂合变异,导致氨基酸改变。Sanger 测序验证结果显示 2 个突变分别来源于母亲和父亲,为复合杂合变异,其中 c.634+1G>A 突变为首次报道。**结论** 该例报道扩大了 CD 患儿的基因变异谱。

[关键词] 卡纳万病;天冬氨酸;酰基转移酶类;遗传变异;突变**[中图分类号]** R729**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2020)15-2495-04

Canavan disease caused by a novel variant of ASPA gene: a case report and literature review*

CHENG Shuhuan, SUN Meng, CHENG Yaying[△]

(Department of Pediatrics, Hebei General Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050051, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical manifestations of Canavan disease (CD) and the characteristics of aspartate acyltransferase (ASPA) gene mutations, in order to provide references for better identification of the disease in clinical work. **Methods** The clinical data of a child diagnosed with CD by genetic testing was retrospectively analyzed, and literature review was conducted. **Results** The case was a July baby boy with mental retardation as the main clinical manifestation. Urine tandem mass spectrometry showed that N-acetylaspartic acid levels significantly increased, cranial magnetic resonance imaging showed a multiple spoty and small abnormal signal changes in the cerebral white matter of bilateral frontal and parietal lobes. Second-generation gene sequencing revealed that there were two heterozygous mutations in c.432+1G>A and c.634+1G>A in the exon region of the child's ASPA gene, leading to amino acid changes. The results of Sanger sequencing showed that the two mutations were derived from mother and father respectively, and they were compound heterozygous mutations, of which the c.634+1G>A mutation was the first report. **Conclusion** This report expands the spectrum of genetic variation in children with CD.

[Key words] canavan disease; aspartic acid; acyltransferases; genetic variation; mutation

卡纳万病(Canavan disease, CD)于 1931 年由 MYRTELLE CANAVAN 首先报道,是一种罕见的常染色体隐性遗传神经系统变性病,本病多发于犹太民族,发病率高达 1/13 500~1/6 400。该病临床特征为头围大、运动智力进行性减退、听力障碍、癫痫发作等,磁共振波谱(magnetic resonance spectroscopy, MRS)显示 N-乙酰天门冬氨酸(N-acetylaspartic

acid, NAA)波峰明显增高^[1],血尿代谢筛查显示 NAA 增高^[2]。其致病基因为天冬氨酸酰基转移酶(aspartoacylase, ASPA)基因,该基因位于 17p13.3,其变异后致使 ASPA 活性降低或失活,导致具有神经毒性的 NAA 在脑内聚集而损伤神经功能。本文回顾性分析 1 例经基因诊断确诊的 CD 患儿的临床资料,现报道如下。

* 基金项目:2019 年度河北省医学科学研究课题计划(20190296)。
[△] 通信作者, E-mail: doctorcy@126.com。

作者简介:程书欢(1991—),在读硕士研究生,主要从事儿童保健及内

1 临床资料

患儿,男,7 个月,因“发现精神运动发育迟缓 3 个月”入院。患儿系第 4 胎第 1 产,前 3 胎均无胎芽、胎心,人工流产。本次于孕期封闭抗体阴性行免疫治疗 3 个月,经阴道分娩,孕 34⁺6 周,出生体重 2.6 kg,头围 36.0 cm,身长 47.0 cm。生后哭声响亮,无缺氧窒息史及黄疸史,Apgar 评分具体不详。母亲孕期无特殊患病及用药史,无污染及放射线接触史。父母非近亲结婚,均体健,否认家族性及遗传性疾病史。患儿就诊时矫正月龄 5 个月 6 天,对外界刺激反应迟钝,抬头不稳,无法伸手取物,不会独坐,追视及追听迟钝,不会发出单词音节,无抽搐病史。查体:体重 6.6 kg,头围 45.5 cm,身长 62.0 cm,胸围 40.0 cm。表情呆滞,逗之偶尔能笑,无法笑出声,不能竖头,俯卧抬头 3 min,胸不能离床,双肘不能支撑,不会翻身,不会伸手抓物。前凶平坦,张力不高,心肺腹查体未见明显异常。四肢肌张力低,肌力 III 级,双侧巴氏征阴性。辅助检查:血尿便常规、肝肾功能、电解质、血糖、血脂、心肌酶、血浆氨、血同型半胱氨酸测定均未见异常。头颅磁共振(magnetic resonance imaging, MRI):双侧额顶叶脑白质区见多发点状及小条形异常信号,T1W1 低信号,T2W1 高信号,FLAIR 低信号,边界清晰。于双侧额顶枕叶脑白质仍可见对称性异常信号,呈 T1W1 低信号,T2W1 高信号,FLAIR 高信号,边界不清。印象:脑白质周围血管间隙增宽,髓鞘发育不良。由于经济原因患儿未完善磁共振波谱(MRS)检查。普通脑电图未见明显异常。0~6 岁儿童 Gesell 评估,适应性:中度发育迟缓;大运动:重度发育迟缓;精细动作:极重度发育迟缓;语言:重度发育迟缓;个人-社交:中度发育迟缓。尿串联质谱代谢缺陷筛查显示尿中检出了大量的 NAA,提示 CD。ASPA 基因二代测序检测到两个杂合变异:c. 432+1G>A 和 c. 634+1G>A,确诊为 CD。

根据患儿的临床表现、头颅 MRI 及尿遗传代谢检测结果,诊断为 CD。为明确其基因变异情况,以便将来行产前诊断,经其父母知情同意后,北京迈基诺医学检验所采用基因二代测序技术对该患儿及其父母进行遗传代谢性疾病相关基因筛查,阳性检测结果用 Sanger 测序方法进行验证。按照人类基因突变数据库(human gene mutation database, HGMD)发布的最新基因变异解读标准和指南对疾病相关基因进行测序分析,发现了与疾病表型相关的致病性变异。

患儿 ASPA 基因外显子区域存在 c. 432+1G>A 和 c. 634+1G>A 两处杂合变异,导致剪切变异。其中 c. 432+1G>A 遗传自母亲(图 1),为已报道致病位点。c. 634+1G>A 遗传自父亲(图 2),在 HGMD 专业版数据库中未见报道。患儿父母 ASPA 基因均

为杂合变异,无相关临床表现,结合患儿典型的 CD 临床表现,以及两处杂合变异,符合常染色体隐性遗传规律,考虑 c. 634+1G>A 为患儿致病变异。按照 HGMD 发布的基因变异解读标准和指南分析,考虑为致病性变异。根据患儿临床表现,影像学检查、尿代谢筛查及 ASPA 二代基因测序结果,可确诊为 CD。

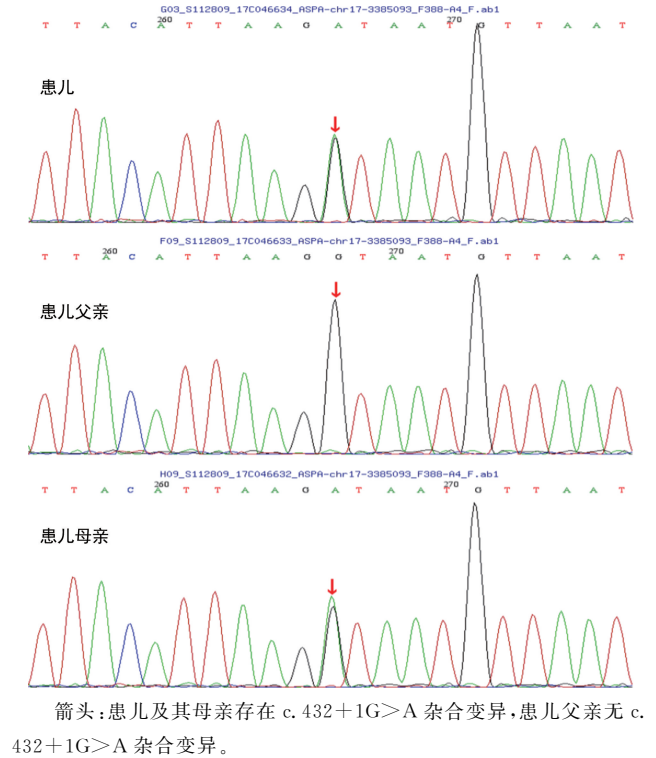


图 1 患儿及其父母 ASPA 基因 c. 432+1G>A 变异位点 Sanger 测序结果

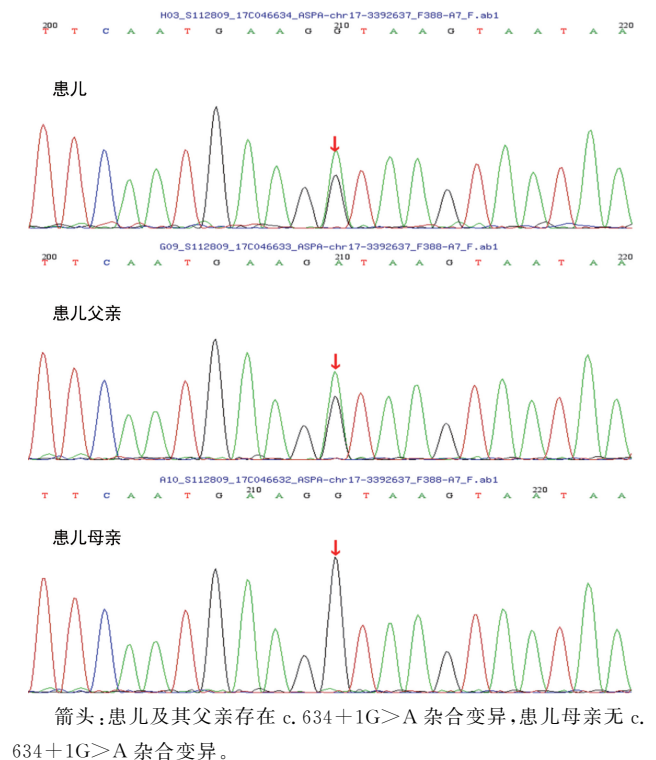


图 2 患儿及其父母 ASPA 基因 c. 634+1G>A 变异位点 Sanger 测序结果

2 讨 论

CD 是一种严重的、进行性的脑白质营养不良,在阿斯肯纳齐犹太人后裔的儿童中最为常见,但在许多不同种族中也被诊断^[3]。在 1988 年以前,本病的诊断只能靠脑组织活检,1988 年证实本病是由于酶的缺陷所致,才使诊断有了突破性进展。本病致病基因定位于 17p13-pter,该基因长 29 kb,包括 6 个外显子和 5 个内含子,编码 313 个氨基酸的 ASPA 蛋白。NAA 是天门冬氨酸的衍生物,在大脑中的浓度水平相当高,由 ASPA 催化,该酶局限于脑白质,其变异可以使其自身活性下降或失活^[4],致使 NAA 水解为天门冬氨酸和乙酸这一过程发生障碍。因此 NAA 在患者尿液、血浆及脑组织聚集,进而直接导致了中枢神经系统功能障碍^[5]。本病的病理特征是病变区脑白质内空泡形成,呈海绵状样结构,髓鞘水肿、星形细胞肿胀,最终导致脱髓鞘和胶质细胞减少,晚期可出现脑萎缩及脑室增大^[6],因此又称为中枢神经系统海绵样变性。此外,电镜下可见脑白质髓鞘板层内大片状空泡形成,部分髓鞘过度增厚,脑组织的细胞间隙增宽,可见肿胀的星形胶质细胞内含异常的线粒体,线粒体基质内可见丝状核心。

CD 分为先天型、婴儿型和幼儿型。先天型的症状比较严重,常于出生后数周内死亡;婴儿型患者占多数,其症状出现在 6 个月左右,当出现肌张力下降、发育迟缓、头围大等症时应考虑本病;幼儿型在早期无症状,要到 4~5 岁时才出现神经系统退行性改变^[7]。该病临床特征主要有:(1)运动、智力进行性减退;(2)巨头征;(3)视神经萎缩;(4)癫痫发作;(5)头颅 CT 显示广泛脑白质脱髓鞘改变,中央区白质及皮层下白质均受累;MRI 显示早期皮质下弓形纤维病变,呈长 T2 信号,以后累及双侧大脑半球的深部白质,呈弥漫性长 T2 信号,然后累及基底节,也可波及脑部其他位置。MRS 显示 NAA 波峰增高;(6)血、尿、生化检查显示 NAA 增高;(7)皮肤成纤维细胞培养检测 NAA 活性明显降低;(8)甲状腺功能低下^[8-9]。该患儿精神运动发育迟缓、头围大、四肢肌张力低,头颅 MRI 显示脑白质周围血管间隙增宽,髓鞘发育不良,尿代谢筛查提示尿中 NAA 明显增高,均与婴儿型相吻合。目前, HGMD 报道的与 CD 基因相关的变异有百余种,变异形式多样,包括碱基置换、插入、缺失等,但以错义变异和无义变异为主。目前国内外的研究表明有 3 个热点变异,犹太人群中 2 个常见的变异型:1 个是第 285 位上的谷氨酸变成了丙氨酸,占 83.6%;1 个是第 231 位突变为无效密码使酪氨酸消失,占 13.4%。另 1 个是非犹太人的热点变异,其为第 305 位上的丙氨酸变成了谷氨酸,占 40%~60%。由于我国对该疾病报道较少,故其发病

率、有无热点变异的情况尚不明确^[10-11]。但由此推测出中国人很可能有自己的基因变异谱特征,这有待于加大样本量做进一步深入研究。本例患儿二代基因测序分析显示 ASPA 基因有 2 个杂合变异:(1)c. 432+1G>A(编码区第 432+1 号核苷酸有鸟嘌呤变异为腺嘌呤),导致氨基酸发生剪接变异,该变异在人群中发生频率极低。HGMD 专业版数据库已报道与 CD 相关,经家系验证分析,受检人之父该位点无变异,受检人之母该位点杂合变异。(2)c. 634+1G>A(编码区第 634+1 号核苷酸有鸟嘌呤变异为腺嘌呤),导致氨基酸发生剪接变异,该变异在人群中发生频率极低。在 HGMD 专业版数据库中未见报道,经家系验证分析,受检人之父该位点杂合变异,受检人之母该位点无变异。该患儿为复合杂合变异,且有 CD 的典型临床表现,其父母均为表型正常的杂合子携带者,符合常染色体隐性遗传规律,考虑 c. 634+1G>A 为患儿致病变异。因此,本例报道进一步扩展了 ASPA 的基因变异谱。

另外,临床上需与 CD 鉴别的疾病有:(1)亚历山大病。该病亦为婴儿起病,表现为头围大,智力落后,痉挛性瘫痪,癫痫发作,头颅 MRI 显示大脑白质广泛受累,表现为 T1W 低信号, T2W 高信号,但白质早期典型病变为双侧额部起病,到后期才向顶、枕叶发展。MRS 表现为乳酸波峰明显增高。(2)肾上腺脑白质营养不良。常见于儿童,有癫痫样发作,脑白质大片状脱髓鞘,但其临床上多有肾上腺功能低下的症状,如低血糖、低血钠、高血钾等,电镜下可见到吞噬细胞内含弯曲的包涵体。MRI 可见双侧对称性 T2W1 白质高信号,但皮质不受累。此外,本病常先累及双侧额叶白质,由前向后进展,可见病灶边缘强化。(3)佩-梅病(Pelizaeus-Merzbacher disease, PMD)。PMD 也可累及皮质下弓形纤维,但通常伴有明显的小脑萎缩和进行性脑沟增宽。此外, PDM 患者无巨头畸形, MRS 上 NAA 水平正常。

目前 CD 尚无有效的治疗方法,多数患儿 5 岁内死亡,极少数存活到少年或成年。DEMBIC 等^[12]发现白藜芦醇可以调控成纤维细胞中的变异的 ASPA 基因,进而可以提高细胞中线粒体的功能和某些酶的活性,可能对 CD 的治疗有益。近年来,研究的热点是基因治疗。近期有报道应用携带基因 Nat8l 的腺病毒载体基因片段修复受损 ASPA 基因,可降低 NAA 的浓度并抑制海绵状脑损伤的发展^[13-14]。有研究表明, CD 的病理改变是由于少突胶质细胞中 NAA 表达异常所致,因此采用基因替代疗法恢复该酶在少突胶质细胞中的表达,可逆转该病中枢神经系统病理学改变^[15]。目前临床上主要是对症治疗,如利用康复训练提高患儿肌力,降低肌张力,可能暂时改善患儿的运

动功能;运用支持性治疗以保证充足的营养和水分,控制感染及保护呼吸道;还可通过特别的教育计划增强交流能力,使用抗癫痫药物治疗癫痫等。该患儿目前前行运动、认知功能训练,大动作较前有所改善。CD 预后较差,因此对于临床可疑的患儿早期进行血尿遗传代谢筛查以发现先证者,进一步明确相关基因变异情况以便更好地进行遗传咨询,指导再生育。

参考文献

- [1] ISRANI A V, MANDAL A. Canavan disease with typical brain MRI and MRS findings[J]. *Neurol India*, 2017, 65(5):1191-1192.
- [2] 曾伟宏, 欧阳海梅, 梁嘉颖, 等. 气相色谱-质谱联用技术在遗传代谢病诊断和治疗监测中的应用[J]. *广东医学*, 2017, 38(19):2997-3000.
- [3] ZAKI O K, KRISHNAMOORTHY N, EL ABD H S, et al. Two patients with Canavan disease and structural modeling of a novel mutation[J]. *Metab Brain Dis*, 2017, 32(1):171-177.
- [4] MENDES M I, SMITH D E, POP A, et al. Clinically distinct phenotypes of Canavan disease correlate with residual aspartoacylase enzyme activity[J]. *Hum Mutat*, 2017, 38(5):524-531.
- [5] KOCAK A, YILDIZ M. Docking, molecular dynamics and free energy studies on aspartoacylase mutations involved in Canavan disease[J]. *J Mol Graph Model*, 2017, 74:44-53.
- [6] ROSCOE R B, ELLIOTT C, ZARROS A, et al. Non-genetic therapeutic approaches to Canavan disease[J]. *J Neurol Sci*, 2016, 366:116-124.
- [7] 董纪强, 马彩云, 尚清. Canavan 病 1 例并文献复习[C]. //河南省医学会. 河南省第二十六次儿科学术年会论文集. 2015:434-435.
- [8] 李林琛, 朱登纳, 王俊辉. 临床表现类似于脑损伤综合征的 Canavan 病 1 例[J]. *中国实用医药*, 2013, 8(34):184.
- [9] HOSHINO H, KUBOTA M. Canavan disease: clinical features and recent advances in research. [J]. *Pediatr Int*, 2014, 56(4):477-483.
- [10] 石真, 延会芳, 李东晓, 等. Canavan 病 3 家系临床及分子遗传学研究[C]. //WHO 遗传病社区防控中心. 第十届全国遗传病诊断与产前诊断学术交流会暨海峡两岸医药卫生交流协会遗传与生殖专业委员会第一届年会论文汇编. 2016:66.
- [11] 杨志刚, 陈国洪, 杨艳玲, 等. Canavan 病 1 例临床和天冬氨酸酰基转移酶基因突变分析[J]. *中华神经科杂志*, 2019, 52(6):493-497.
- [12] DEMBIC M, ANDERSEN H S, BASTIN J, et al. Next generation sequencing of RNA reveals novel targets of resveratrol with possible implications for Canavan disease[J]. *Mol Genet Metab*, 2019, 126(1):64-76.
- [13] STARLING S. White matter disease: targeted aspartoacylase gene therapy reverts Canavan disease[J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, 14(1):4.
- [14] BANNERMAN P, GUO F, CHECHNEVA O, et al. Brain Nat8l knockdown suppresses spongiform leukodystrophy in an aspartoacylase-deficient Canavan disease mouse model [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(3):793-800.
- [15] VON JONQUIERES G, SPENCER Z H T, ROWLANDS B D, et al. Uncoupling N-acetylaspartate from brain pathology: implications for Canavan disease gene therapy[J]. *Acta Neuropathol*, 2018, 135(1):95-113.

(收稿日期:2019-11-15 修回日期:2020-02-24)