

- 版权声明 本网受著作权人委托，在此严正声明：披露演讲内容目的在于传递交流学术思想，并不代表本网赞同其观点和对其真实性负责。未经本网授权，禁止任何媒体、网站或个人在未经 本网书面授权的情况下违法转载、摘编、翻录或其它形式使用 本网公开披露的演讲内容。违反上述声明者，本网将追究 其相关法律责任。刊播后如有作品内容、版权和其它问题请 联系010-68479567。

Verheij综合征

梁 雁



華中科技大學 同濟醫學院

HUAZHONG UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY



· 临床研究与实践 ·

PUF60 基因变异致 Verheij 综合征一例的临床及分子遗传学分析并文献复习

梁雁 叶娟 魏虹 叶枫 罗小平

【摘要】 目的 总结 Verheij 综合征的临床及遗传学分析特点。**方法** 对 2017 年 5 月华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科收治的 1 例 Verheij 综合征患儿的临床资料及基因检测结果进行总结分析,并以“Verheij syndrome”“PUF60 gene”和“Verheij 综合征”、“PUF60 基因”为检索词,分别检索 2018 年 1 月前的 PubMed、人类基因组突变数据库(HGMD)、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)、CNKI 和万方数据库的 Verheij 综合征病例进行文献复习。**结果** 患儿男,14 岁 3 月龄,因“生长落后 13 年”就诊。出生体重 2.9 kg,3 岁时在外院行“房间隔缺损修补术”,4 岁时发现“先天性弱视及远视”。身高 142.5 cm,标准差积分 -3.26。精神运动发育迟缓,学习成绩不佳。颈蹼,眼距宽、双侧外眼角下斜,人中长,腭弓高,后发际低;右手通贯掌。骨龄落后于实际年龄;垂体内分泌功能检测结果提示部分性生长激素缺乏(GH 峰值 6.63 $\mu\text{g/L}$),IGF1 (73.20 $\mu\text{g/L}$)及 IGFBP3 (2 500 $\mu\text{g/L}$)低于正常;肾脏 B 超左肾 8.5 cm×3.3 cm,右肾 8.4 cm×4.3 cm;染色体核型 46,XY;垂体磁共振成像提示垂体高度约 4 mm,

病例

- 患儿，男，14岁3个月。因“生长落后13年”就诊。
- 患儿系G1P1G41^w，剖宫产，出生体重2.9kg。母乳喂养至11个月，婴幼儿时期无明显喂养困难。6个月头可竖稳，1岁会叫人，1岁3个月会走。现上初中一年级，学习成绩较差。
- 患儿3岁时，在外院行“房间隔缺损修补术”。4岁时发现有“先天性弱视、远视”。
- 父母非近亲婚配。父亲身高174cm，母亲身高165cm，遗传靶身高： $175.5 \pm 4\text{cm}$ 。否认遗传代谢病家族史。

病例

- 身高142.5cm (<3rd, -3.26 SDS)
- 体重44kg (10~25th)
- BP: 109/87mmHg。
- 颈蹼，眼距宽、双侧外眼角下斜，人中长，腭弓高，后发际低。心音有力，律齐，未闻及病理性杂音。腹软，肝脾肋下未及。右手通贯掌。双睾3ml

病例

- BA=10岁
- 血常规、肝肾功能、电解质、血气分析均正常；
- 空腹血糖、胰岛素、甲状腺功能及肾上腺皮质功能正常
- 血IGF1、IGFBP3均低于正常，分别为73.20 ng/ml 和 IGFBP3 2500 ng/ml
- 肾脏B超：双肾体积偏小
- 染色体核型分析正常（46,XY）
- 垂体MRI：脑垂体高度约4mm，显示有部分空蝶鞍

病例

垂体内分泌功能试验

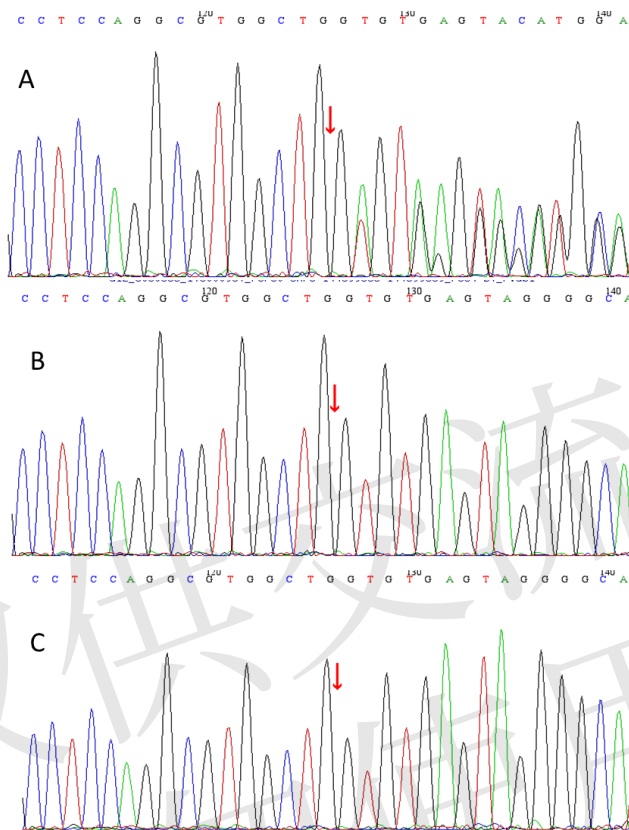
	0min	30 min	60 min	90 min
GH(ng/ml)	<0.05	1.58	6.63	4.42
LH(mU/ml)	0.57	15.10	17.70	15.70
FSH(mU/ml)	4.69	16.17	21.31	22.61



病例

Noonan综合征??

- Noonan综合征相关的10个基因:
- PTPN11, RASA2, SOS1, KRAS, RAF1, NRAS, SHOC2, BRAF, RIT1, A2ML1



PUF60基因杂合突变

(c.931_934del, p. p.T311Qfs*47)

该突变为移码突变

- 患者父母该位点均无变异。经Sanger测序进行验证及父母来源分析，提示为**新发突变**

- 根据2015年ACMG指南，该突变符合：

PVS1 (无功能变异——移码突变)

PS2 (患者的新发变异，且无家族史，亲子关系确定)

PM2 (ESP数据库、千人数据库、EXAC数据库中正常对照人群中未发现的变异)

为**致病性变异**

Verheij 综合征 (OMIM 615583)

- 常染色显性遗传病
- 又称8q24.3缺失综合征
- 本综合征2009年由Verheij 及其同事首报
- 2013年Dauber等研究发现位于8q24.3的聚U结合剪接因子60kDa (poly U binding splicing factor 60 KDa, PUF60) 基因杂合突变是Verheij 综合征的致病原因

Verheij 综合征 (OMIM 615583)

其临床特征为:

- 生长落后
- 精神运动发育迟缓
- 具有特殊的面部特征，骨骼特别是脊椎异常
- 眼组织缺损、肾脏畸形、心脏异常

- 2009年，Verheij 及其同事，对2例伴发多种先天畸形的荷兰儿童进行研究

生长落后、精神运动发育迟缓、髋脱位

- 细胞遗传学研究：发现8q24有新发的、大片、杂合中间缺失
- 比较基因组杂交分析：缺失范围分别为15.1 Mb和23.5 Mb
- 2例患儿的共同缺失区域为8.35 Mb，含有22个基因

- Dauber等2013年报道5例患者，均有以下特征

眼组织缺损

小头畸形、发育迟缓、生长发育落后

具有**特殊的面部特征**：长人中、鼻孔前倾、鼻短、鼻梁低平、上唇薄、小下颌、颈短、耳前凹、双颞窄等

心脏、肾脏缺陷

- 其中**3例**有小头畸形，**4例**出现发育迟缓，**4例**有肾脏畸形（单侧肾不发育、肾发育不全、多囊肾、异位肾融合），**4例**有关节松弛、髋脱位，**3例**有脊椎异常（骶骨发育异常、尾骨不发育、脊柱融合、半椎体），**2例**有心室缺陷。
- 在**5例**患者中发现了**5种不同的8q24.3**的新发、杂合、中间缺失。缺失范围为**78 kb~1 Mb**，但无相同的断裂点
- 最小的共同缺失区包含**3个基因**：**SCRIB**、**NRBP2**、**PUF60**

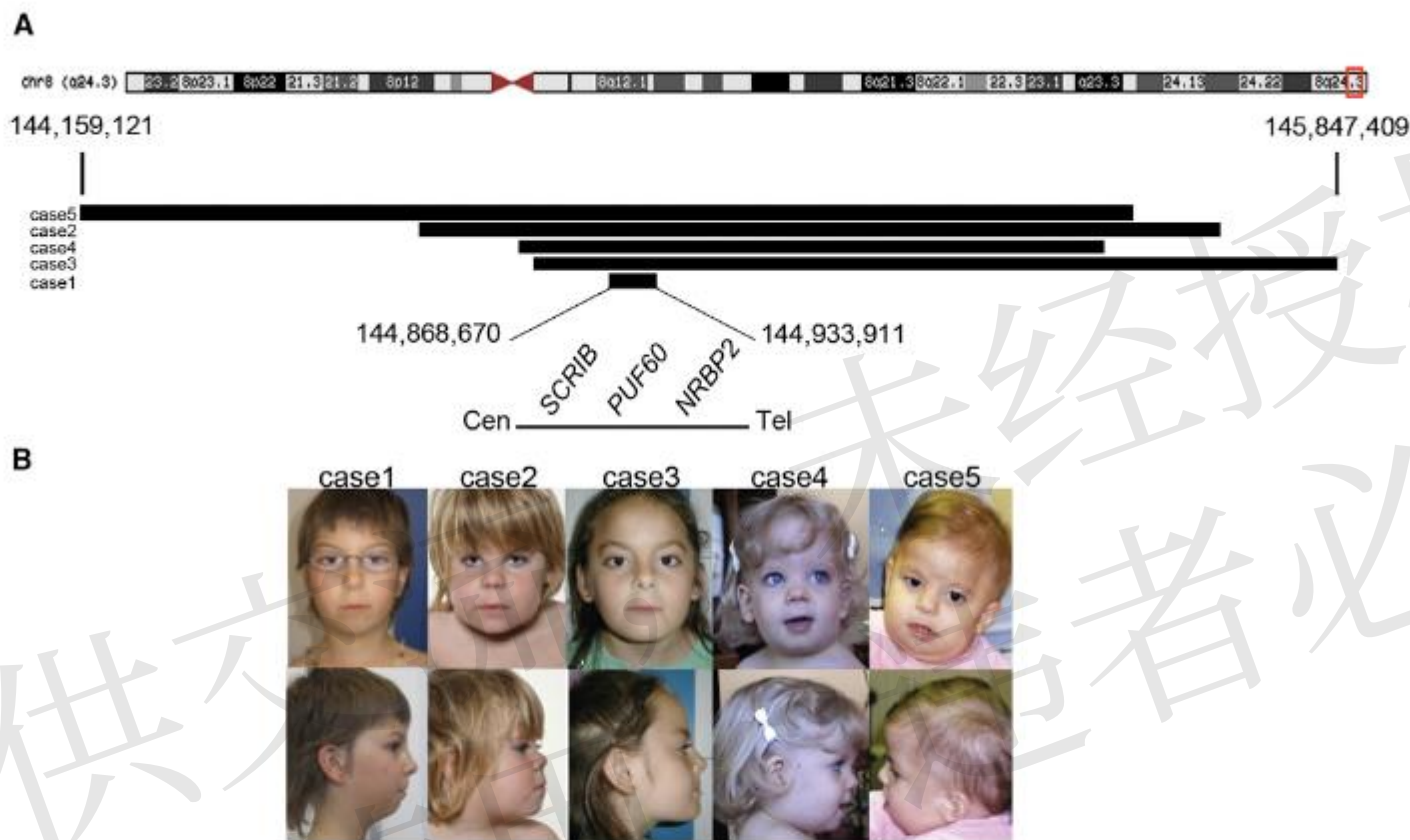


Figure 1. Positions of the 8q24.3 Deletions and the Corresponding Photographs of Affected Individuals

(A) Schematic representation of chromosome 8 showing the breakpoints of the 8q24.3 deletions. The minimal deletion (individual 1) includes *SCRIB*, *PUF60*, and *NRBP2*.

(B) Photographs of individuals 1–5 capture the core facial gestalt, including microcephaly, bitemporal narrowing, wide nasal bridge, anteverted nares, long and flat philtrum, and thin upper lip.

- 斑马鱼基因敲除试验提示：

SCRIB和PUF60基因单倍剂量不足与此征有关

NRBP2缺失与临床特征无关

- 敲除Scrib和Puf60的任一基因均可导致身材矮小、小头畸形、小下颌
- 单独敲除Scrib基因可导致眼组织缺损和肾脏畸形
- 单独敲除Puf60 基因可导致心脏结构缺陷
- 同时敲除Scrib和Puf60基因对眼组织缺损、心脏、头围、肾脏、下颌的外显率和表现度无变化，但加重了身材矮小的表型

- Dauber等又报道了第6例患者
- 有严重的生长发育落后、精神运动发育迟缓、小头畸形、特殊的面部特征、抽搐、室间隔缺损、髋关节脱位、半椎体以及脊柱侧凸，但无视野缺损和肾脏异常
- 外显子测序提示PUF60基因杂合突变（c.505 C>T, p.His169Tyr）

- 此后，不断有新的PUF60基因杂合变异导致本征的报道
- 2017年Low等报道了12例患者PUF60变异：
 - 4例为移码突变
 - 3例错义突变（聚集在PUF60 RNA识别区）
 - 5例剪接位点突变

患者的共同特征为发育迟缓和身材矮小，但表型的变异性非常显著。共同的面部特征为：长人中、上唇薄、小下颌、睑裂小（窄的杏仁眼）。

- El Chehadeh等报道了5例PUF60新发杂合变异：
 - 1例移码突变
 - 1例错义突变
 - 1例剪接位点突变
 - 2例无义突变

[*Eur J Hum Genet.* 2017 May;25\(5\):552-559](#)

[*Eur J Hum Genet.* 2016 Jan;25\(1\):43-51](#)

表1 目前已报道的 Verheij 综合征患者 PUF60 基因新发突变^[2-6]

作者 ^a	核苷酸变异 ^a	蛋白改变 ^a	突变位置 ^a
Dauber 等 ^[2]	c.505C>T	p. His169Try	RRM_1
Graziano 等 ^[3]	c.541G>A	p. Glu181Lys	RRM_1
Low 等 ^[4]			
4 例移码突变 ^a	C931-932insAAAA	p. Thr311Lysfs*137	早期终止密码子 ^a
	c.1577-1557del	p. His526Profs*16	RRM3_UHM
	c.1094dupG	p. Thr366Hisfs*81	早期终止密码子 ^a
	c.619-637del	p. Asn207Profs*3	早期终止密码子 ^a
5 例剪接位点变异 ^a	c.604-2A>G		剪接受体 ^a
	c.1008+1 G>A		剪接受体 ^a
	c.604-2A>G		剪接受体 ^a
	c.1381-2 A>G		剪接受体 ^a
	c.24+1 G>A		剪接受体 ^a
3 例错义突变 ^a	c.541G>A	p. Glu181Lys	位于 RRM1 区
	c.475G>A	p. Asp159Asn	位于 RRM1 区
	c.1472>A	p. Gly491Glu	RRM3 区
El Chehadeh 等 ^[5]	c.24+1 G>C		剪接受体 ^a
	c.1342C>T	p. Arg448*	RRM3
	c.1448T>C	p. Val483Ala	RRM3
	c.407-410delTCTA	p. Ile136Thrfs*31	RRM1
	c.901C>T	p. Lys301*	RRM2
Santos-Simarro 等 ^[6]	c.439C>T	p. Glu147	RRM_1
	c.541G>A	p. Glu181Lys	RRM_1
	c.1144+1G>A		剪接受体 ^a
本文 ^a	c.931-934del	p. Thr311Glnfs*47	早期终止密码子 ^a

- PUF60属于RRM half pint家族，包括3个RRM结构域。
- PUF60编码DNA-和RNA结合蛋白，在前体RNA（pre-RNA）剪接和转录调节过程中发挥作用。在前体RNA剪接过程中，PUF60与U2AF2相互作用，促进内含子在弱的3'剪接稳位点的剪接有选择性剪接的作用
- PUF60杂合功能丧失突变（loss of function mutation），可致RNA加工、剪接体功能异常而引起人类发育异常，出现以下表型：生长发育迟缓和颅面部、心脏、肾脏、眼部、骨骼畸形

[*Ophthalmic Genet.* 2017 Dec;38\(6\):590-592.](#)

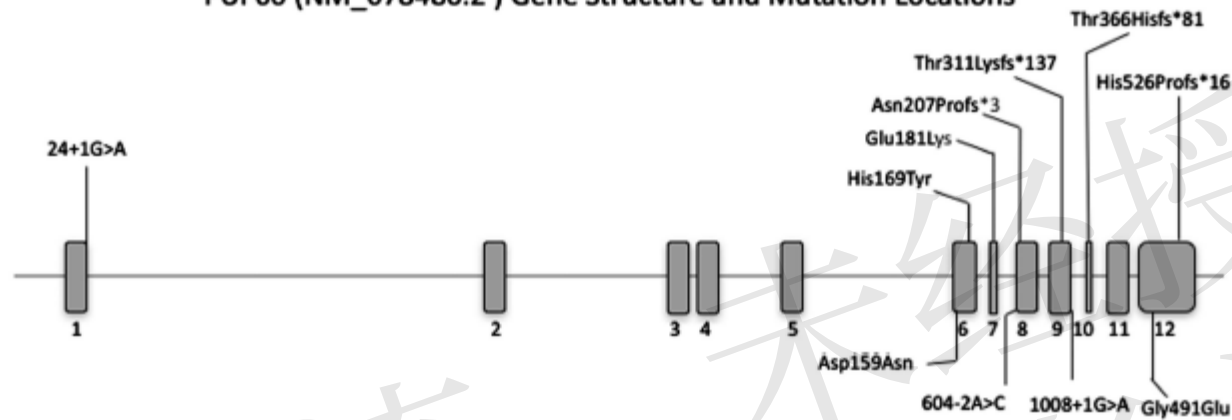
[*Eur J Hum Genet.* 2017 May;25\(5\):552-559.](#)

[*Eur J Hum Genet.* 2016 Jan;25\(1\):43-51](#)

[*RNA.* 1999 Dec;5\(12\):1548-60.](#)

[*J Biol Chem.* 2009 Jan 2;284\(1\):630-9](#)

PUF60 (NM_078480.2) Gene Structure and Mutation Locations



PUF60 Protein Structure and Missense Mutation Locations

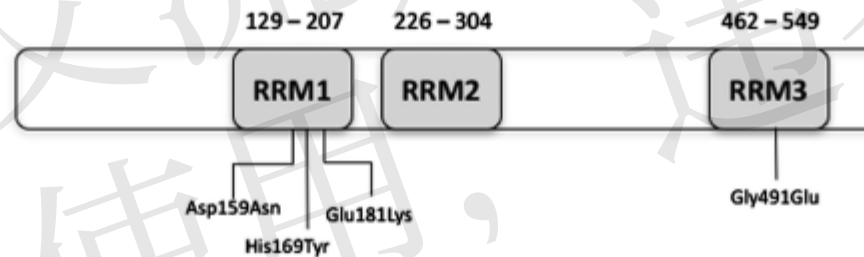


Figure 1 *PUF60* gene diagram (above) indicating mutations found in our cohort which cluster in the second half of the coding region, apart from the single variant in exon 1. Note recurrent splicing variant in exon 8. Below is pictured the known protein structure and location of RRM domains in relation to the missense variants.

- 斑马鱼功能试验显示，PUF60单倍剂量不足与Verheij综合征的其他表型有关，与眼睛的发育缺陷却无直接关系
- 但在已报道的8例带有de novo点突变的患者中，有3例患者有虹膜-视网膜缺损
- Santos-Simarro等报道的3例患者中有2例有突出的眼睛问题。基因变异为c.439C>T (p. Glu147) 和c.1144+1G>A，可影响共识剪接位点 (a consensus donor splice site)
- Graziano等报道的1例患者眼睛的问题比较突出，PUF60的变异为c.541G>A, p.Glu181Lys)。作者认为眼睛发育缺陷特别是眼组织缺损在PUF60相关异常疾病中较为常见，眼组织缺损和持续性胎儿血管综合征的联合缺陷也见于PUF60变异的个体，建议把PUF60加入眼睛发育缺陷的筛查基因panel中

Verheij综合征与Noonan综合征的临床表型特征

表型	Verheij综合征	Noonan综合征
身材矮小	+	+
精神运动发育迟缓	+	+
特殊面容	+	+
头	斜头/小头畸形，前额突出	头大，前额宽，脸小/倒三角脸
眼	内眦赘皮	眼距宽，外眼睑下斜，内眦赘皮， 上睑下垂
鼻	鼻短、鼻梁低平、鼻翼发育不良、鼻孔前倾、鼻尖显著	鼻短、鼻梁低平
人中	人中长	人中深
下颌	小下颌	下颌小
上唇	上唇薄	上唇为弓型，唇峰突出
腭弓	高	腭弓高
颈短	部分有	颈蹼
耳	耳前瘻管，耳位轻度低	耳位低

Verheij综合征与Noonan综合征的临床表型特征

表型	Verheij综合征	Noonan综合征
骨骼发育异常	主要为 脊椎异常 （半椎体、 脊柱侧凸）、髋关节脱位、 并指	主要为胸部、脊柱异常（鸡胸、漏 斗胸）
关节	关节松弛	
肾脏	单侧肾不发育、肾发育不全、 多囊肾、异位肾融合	肾盂积水 肾盂输尿管狭窄
心脏	房间隔缺损、室间隔缺损	以肺动脉狭窄、肥厚性心肌病为主
眼睛	双侧虹膜、视网膜、脉络膜 缺损	斜视、屈光不正、弱视、眼球震颤、 白内障
抽搐	部分有	
婴幼儿期喂养 困难	明显	可有
其他		外周淋巴水肿、凝血障碍、隐睾







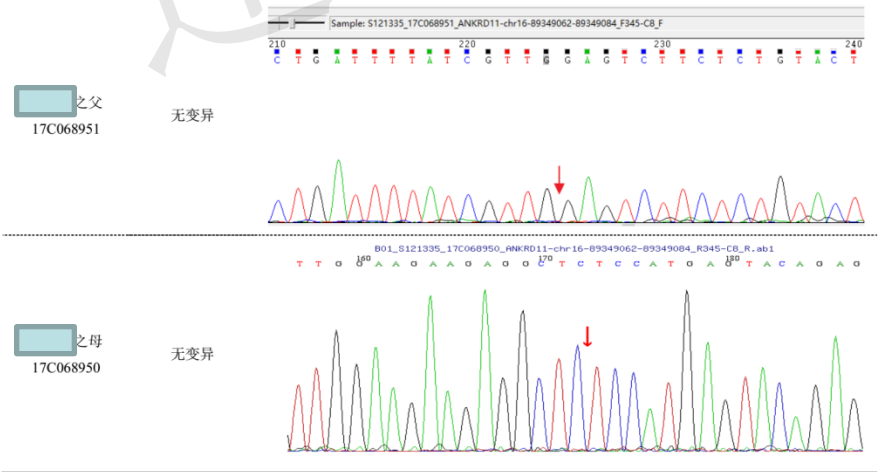
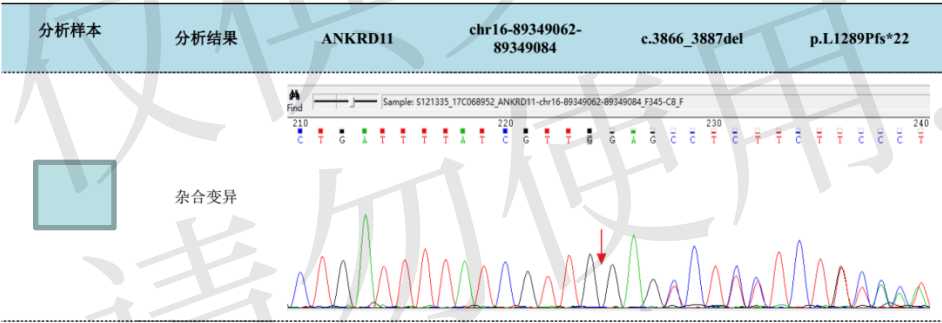
基因报告

1. 发现与受检者临床表型高度相关的基因变异:

基因	染色体位置	转录本编号	外显子	核苷酸变化	氨基酸变化	纯合/杂合	正常人中频率	致病性分析	遗传方式	疾病/表型	变异来源
ANKRD11	chr16-89349062-89349084	NM_001256182	exon 10	c.3866_3887del	p.L1289Pfs*22	het	-	likely_pathogenic	AD	KBG 综合征	自发突变

结果说明:

该样本分析到 ANKRD11 基因有 1 个杂合突变:
c.3866_3887del(缺失), 导致氨基酸改变 p.L1289Pfs*22 (移码突变)。该变异不属于多态性位点, 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, 受检人之父该位点无变异, 受检人之母该位点无变异。此基因变异为自发突变, 该位点为疑似致病性变异。



KBG综合征

- Herrmann等于1975年首次在3个家庭中描述了KBG综合征（Orpha 2332; MIM 148050），并以这3个家庭姓氏首字母命名
- KBG综合征是一种罕见的常染色体显性遗传病，通常在男性中表现更严重。主要临床症状为典型的面部畸形、上颌中切牙巨牙、骨骼（主要是肋脊）异常和发育延迟。
- 迄今为止，KBG综合征已经在100多例患者中报道。半数以上患者表现为身材矮小、脑电图的异常（伴或不伴癫痫）和头发植入异常。较不常见的症状包括皮肤并指畸形、蹼颈短、隐睾、听力丧失、腭缺陷、斜视和先天性心脏缺陷



KBG综合征

典型临床表现:

- 颅面部表现（占已报道个体的60 - 80%）：

三角脸，短头，一字眉，眼距过宽。高鼻梁凸出、鼻孔前倾、长人中和薄上唇也很常见。

- 牙齿表现（占已报道个体的85%）：

巨牙，尤其是上恒中切牙巨牙，是一个主要表现，出现在大多数并不是所有患者中。巨牙通常被定义为大于或等于10毫米(男性)和9.7毫米(女性)。

也可见裂齿，铲形门齿、釉质发育不全、先天缺牙、牙坑和切牙乳突（上门牙的切割边缘出现圆形突起）



年龄:	1 岁 2 月	样本类型:	全血	采样日期:	2018-08-30
送检单位:	华中科技大学同济医学院附属同济医院			病历号:	-
分析项目:	WES001:全外显子检测				
临床诊断:	-				
疾病表型:	-				
重点关注基因:	-				
病史摘要:	生长发育 6 月余				
家族史摘要:	-				

分析结果：通过对疾病相关基因的测序分析，发现与疾病表型相关的致病性变异

1.与受检者临床表型高度相关的基因变异:

基因	染色体位置	转录本外显子	核苷酸氨基酸	纯合/杂合	正常人频率	预测	致病性分析	遗传方式	疾病/表型	变异来源
SRC AP	chr16-30748634-30748634	NM_006662;exon34	c.7274dupC (p.P2426Tfs*17)	het	-	-	Pathogenic	AD	Floating-Harbor 综合征	自发突变

注：预测：蛋白功能预测软件 REVEL(rare exome variant ensemble learner)， P：预测为有害； B：预测为良性； -: 未知

Floating-Harbor 综合征

- 常染色体显性遗传病
- 1974年由Robinson等根据Pelletier和Feingold(1974)在美国波士顿Floating医院及Leisti等在Fornance Harbor医院所发现报道的病例，而命名为Floating-Harbor综合征
- 发病年龄在儿童时期。临床表现为：出生体重低、头围正常、身材矮小、骨龄延迟、骨骼异常(指过短、杵状指、指弯曲、拇指短、关节和锁骨畸形)、严重的接受和表达语言障碍、过度鼻音和高音、轻度至中度智力残疾

Floating-Harbor 综合征

临床表型

- 宽嘴、薄嘴唇、人中扁平、三角脸、后旋耳、反复发作型中耳炎、传导性听力障碍、鼻子突出、短颈、斜视、眼睛深陷、长睫毛、远视、后发际低、嘴角下弯
- 房间隔缺陷、主动脉缩窄、左侧上腔静脉永存
- 肾钙质沉着症，肾积水，先天性后尿道瓣膜
- 腹股沟疝，隐睾，尿道下裂，精索静脉曲张;附睾囊肿
- 骨成熟延迟、小手指屈指畸形、身材矮小、指骨锥形骨骺
- 语言表达延迟、认知障碍
- 多毛症、关节松弛、脐疝
- 乳糜泻

小 结

- 身材矮小是临床症状而非诊断
- 全面详细的病史采集、体格检查、辅助检查是矮身材得到正确诊断的前提
- 遗传学分析方法的选择需依据临床表现进行选择
- 正确解读遗传学分析结果



Thank you

