

PUF60基因变异致Verheij综合征一例并文献复习

李文颖

青岛大学儿科系, 山东 青岛
Email: 932978468@qq.com

收稿日期: 2021年2月11日; 录用日期: 2021年3月1日; 发布日期: 2021年3月15日

摘要

目的: 总结PUF60基因变异致Verheij综合征的临床表型及遗传学特点。方法: 回顾性分析青岛市妇女儿童医院2019年8月接诊的1例PUF60基因变异致Verheij综合征患儿的临床资料及分子遗传学检测结果, 并以“PUF60”、“PUF60基因”、“Verheij综合征”、“Verheij syndrome”为检索词, 分别在中国知网、万方数据知识服务平台、PubMed以及人类基因组突变数据库检索截至2020年8月的相关文献, 总结PUF60基因变异患者的临床表型及基因型。结果: 患儿女, 10岁2月, 以“自幼生长缓慢”就诊。同时合并智力障碍、特殊面容、心脏、眼组织、脊柱及手部等多系统畸形。患儿身高121.1 cm (<-3SD), 体重29.1 kg。生长激素激发试验提示生长激素部分缺乏(峰值8.93 ug/ml), 胰岛素样生长因子1 (Insulin-like growth factor 1, IGF-1) 188 ug/L, 染色体示46, XX; 骨龄相当于9.5岁; 垂体CT平扫示蝶鞍未见明显扩大, 鞍内结构显示不清; 脊柱正位片示以胸12为中心略向右凸侧弯。全外显子高通量测序发现, 患儿存在PUF60基因杂合变异(c.407_410delTCTA), 该变异可导致移码突变, 在正常参考人群基因数据库中无相关频率报道, 经父母样本验证, 父母该位点均无变异, 为新发变异。依据美国医学遗传学与基因组学学会变异分类指南, 该变异为致病性变异, 该变异曾有报道。结论: Verheij综合征的临床表现包括精神运动发育迟滞、特殊的面部特征、心脏、肾脏、眼组织、脊柱及手足等多系统畸形。PUF60基因c.407_410delTCTA变异为该患儿的致病原因。基因检测有助于该病早期诊断。

关键词

Verheij综合征, PUF60基因, 变异

PUF60 Gene Mutation Caused Verheij Syndrome in a Case and Literature Review

Wenyong Li

Department of Pediatric, Qingdao University, Qingdao Shandong

Email: 932978468@qq.com

Received: Feb. 11th, 2021; accepted: Mar. 1st, 2021; published: Mar. 15th, 2021

Abstract

Object: To summarize the clinical phenotypes and genetic characteristics of Verheij syndrome caused by *PUF60* gene variation. **Methods:** The clinical data and molecular genetic test results of a child with Verheij syndrome caused by *PUF60* gene mutation in Qingdao Women's and Children's Hospital in August 2019 were retrospectively analyzed. The relevant literatures up to August 2020 were searched on China knowledge Network, Wanfang data knowledge Service platform, PubMed and Human Genome mutation Database with the search term of "*PUF60*", "*PUF60* gene", "Verheij syndrome" and "Verheij syndrome" respectively. The clinical phenotype and genotype of patients with *PUF60* gene mutation were summarized. **Results:** The patient was 10 years old and 2 months old with "slow growth since childhood", at the same time, mental retardation, special facial features, heart, eye tissue, spine and hand and other system deformities. The child was 121.1 cm in height (<-3SD) and 29.1 kg in weight. Growth hormone stimulation test showed partial growth hormone deficiency (peak value 8.93 ug/ml), insulin-like growth factor 1 (IGF-1) 188 ug/L, chromosome 46, XX; bone age was equivalent to 9.5 years; pituitary CT plain scan showed no obvious enlargement of sella, and the structure of sella was unclear. Anteroposterior radiograph of the spine showed a slight right convex curve centered on chest 12. High-throughput sequencing of the whole exon revealed that there was a heterozygous mutation of *PUF60* gene (c.407_410DELCTA) in the child, which could lead to frame-coding mutation, and no relevant frequency was reported in the normal reference population gene database. As verified by the parents' samples, there was no mutation at this site in both parents, which was a new mutation. According to the American Society of Medical Genetics and Genomics Variation Classification Guidelines, this variant is pathogenic and has been reported before. **Conclusion:** The clinical manifestations of Verheij syndrome include psychomotor retardation, special facial features, and multi-system deformities of heart, kidney, eye tissue, spine, and hand and foot. The mutation of *PUF60* gene c.407_410DELCTA was the pathogenic cause of this child. Genetic testing can help diagnose the disease early.

Keywords

Verheij Syndrome, *PUF60* Gene, Variation

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

Verheij 综合征(Verheij syndrome, VRJS)是一类以生长发育迟缓、智力障碍、特殊面容、脊椎骨骼异常以及眼组织缺损、肾脏畸形、心脏异常为特征的综合征,由 *PUF60* 基因变异导致 8q24.3 缺失引起,呈常染色体显性遗传病[1] [2]。目前国外报道 30 余例[1]-[10],国内仅报道 2 例[11] [12]。青岛市妇女儿童医院在 2019 年 8 月接诊 1 例生长发育迟缓的患儿,采用全外显子组高通量组测序技术从分子水平确诊为 *PUF60* 基因变异导致 Verheij 综合征,现总结该综合征的临床表型、分析遗传学特征并文献复习。

2. 病例资料

2.1. 本病例资料

患儿，女，10岁2月，以“自幼生长缓慢”就诊，近2年生长速率约3.5 cm。患儿系母亲第6胎第2产，因“胚胎停育”流产4次，其母39岁妊娠。否认孕期有毒物、化学品、放射线接触史。孕期规律产检未发现胎儿生长发育受限。孕40周因“胎位不正”剖宫产娩出。患儿出生体重3 kg，出生身长50 cm，Apgar评分不详。生后第2天发现“左手多指畸形”并行手术治疗；7~8月时出现频繁呕吐、腹泻、吃奶差，表现出明显的喂养困难。1岁时行“动脉导管封堵术”，5~6岁时发现“左眼先天性弱视内斜视、右眼近视”，矫正治疗至今；9岁时出现无热抽搐1次，表现为四肢僵硬、口唇青紫、牙关紧闭，持续约5分钟缓解；10岁时患儿再次出现抽搐1次，表现同前，完善头颅CT未见明显异常；11岁时患儿在3天之中出现2次抽搐，完善2小时脑电图示未见癫痫波发作，规律口服“左乙拉西坦”治疗半年，抽搐未在发作。7~8个月会抬头，14个月会走，语言发育大致正常。现上小学六年级，学习成绩不佳(数学成绩10~20分)。父母体健，否认非近亲婚配，父亲身高172 cm，母亲163 cm，有一24岁姐姐，现身高163 cm，体健。否认家族中类似发育迟缓患者及相关遗传代谢病史。

体格检查：现10岁2月时身高121.1 cm(<-3SD)、体重29.1 kg，神志清，精神反应一般，发育落后，全身皮肤粘膜未见黄染、咖啡斑，左眼内斜视，听力正常，特殊面容(正面观：方脸，前额高，双侧外眼角下斜，颈短，人中长；侧面观：耳位低、后发际线低)。呼吸平稳，双肺呼吸音粗，未闻及干湿啰音，心前区无隆起，未触及震颤，心音有力，律齐，各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音，腹软，肝脾肋下未触及，肾区无叩击痛，脊柱侧弯，四肢无畸形，双侧乳房B1期，女性外阴，Tanner I期，双侧膝腱反射正常引出，四肢肌力肌张力可，病理征阴性。

辅助检查：血常规、肝肾功能、空腹血糖、甲功三项、性激素 + β -HCG、25-羟基维生素D、甲胎蛋白、癌胚抗原、皮质醇均大致正常；可乐定、胰岛素两种药物分别行生长激发试验提示生长激素部分缺乏(峰值8.93 ug/ml)，IGF-1示188 ug/L；骨龄示相当于9.5岁；因有封堵器植入，未行垂体MR检查，垂体CT平扫示蝶鞍未见明显扩大，鞍内结构显示不清；脊柱正位片示脊柱侧弯，以胸12为中心略向右凸侧弯(见图1)；肝胆胰脾肾脏彩超未见异常；妇科彩超示子宫大小约24 × 6 mm，右侧卵巢大小约21 × 7 mm，内见多个小卵泡回声，左侧卵巢探查不清，提示子宫及右侧卵巢偏小；超声心动图示动脉导管未闭(漏斗型8 mm，最窄处内径3.2 mm)。

遗传学检查：外周血染色体核型分析：46, XX；全外显子组高通量测序：经患儿父母知情同意后，抽取患儿及父母外周血各2 ml进行检测，结果示 *PUF60* 基因杂合变异(c.407_410delTCTA)，该变异导致移码突变(见图2)，引起第136位氨基酸由异亮氨酸变为苏氨酸(p.I136Tfs*31)，导致多肽链合成提前终止(PVS1)；该变异在正常参考人群基因数据库中无相关频率报道(等位基因频率 ExAC.:; 1000 Genome.:; gnomAD.:) (PM2)；经父母样本验证，该变异为新发变异(PS2)；依据美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)变异分类指南[13]，该变异为致病性变异(ACMG: PVS + PS + PM)。本组病例资料和所研究的内容已获得青岛市妇女儿童医院伦理委员会批准。

2.2. 文献检索结果

以“Verheij综合征”、“*PUF60*基因”、“8q24.3”、“Verheij syndrome”、“*PUF60*”为检索词，分别检索万方数据库、中国知网数据库(CNKI)、Pubmed以及HGMD数据库自建库至2020年8月收录的文献，共有12篇文献报道本综合征，国外10篇，国内2篇。共有28例*PUF60*基因变异的VRJS患者[2]-[12]。包括本例共29例患者，其中男12例，女16例。年龄28周~22岁。临床表现：矮身材(28/29)；智力低

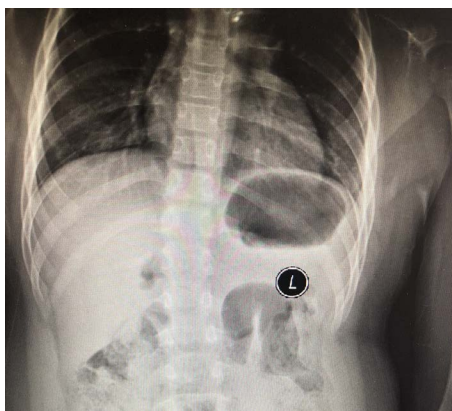


Figure 1. Positive radiography of spine in children with Verheij syndrome: scoliosis, slightly convex to the right with chest 12 as the center

图 1. Verheij 综合征患儿脊柱正位片图：脊柱侧弯，以胸 12 为中心略向右凸侧弯

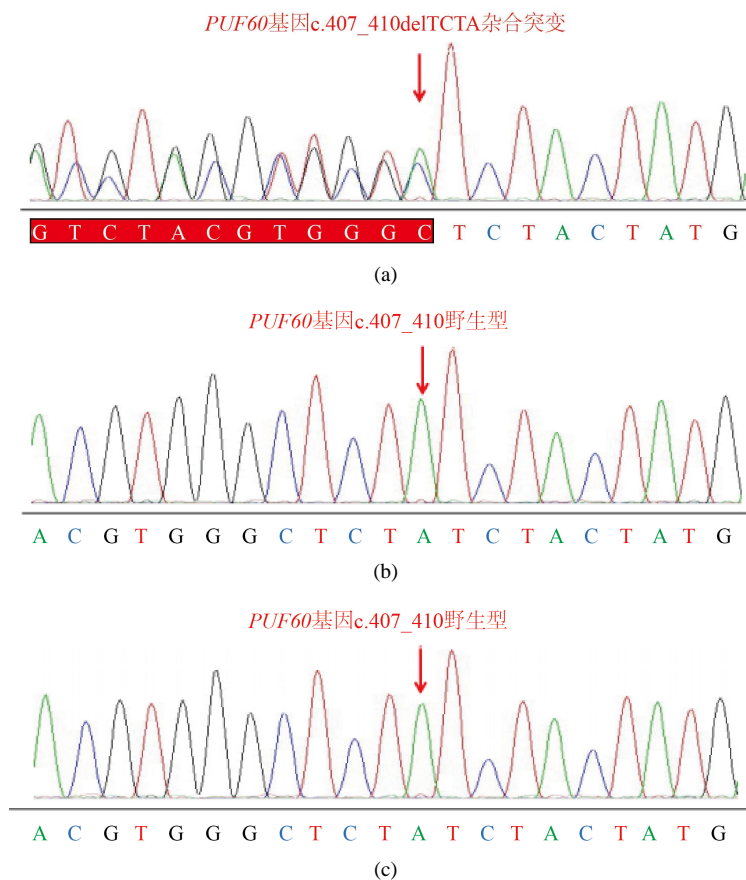


Figure 2. Sequence map An of exon 8 of PUF60 gene in children with Verheij syndrome and their parents. (a) Heterozygous variation of PUF60 gene in children (c.407 to 410delTCTA, p.I136Tfs*31); (b) The sequence diagram of the mother is normal; (c) The sequencing map of the child's father is also normal

图 2. Verheij 综合征患儿及其父母 PUF60 基因 8 号外显子测序图。(a) 患儿 PUF60 基因杂合变异(c.407_410delTCTA, p.I136Tfs*31); (b) 患儿母亲测序图正常; (c) 患儿父亲测序图亦正常

下(28/28); 心脏畸形(19/29); 肾脏畸形(6/26); 眼组织异常(19/29); 听力障碍(8/18); 脊柱畸形(16/28); 关节脱位(11/26); 手足异常(14/27); 皮肤多毛症(5/16); 喂养困难(13/22); 癫痫(6/21); 特殊的面部特征: 长人中(19/26)、宽鼻梁(8/26)、薄上唇(14/26)、小下颌(9/26)、短颈(15/26)。检索文献数据库, 截至 2020 年 8 月报道的关于 *PUF60* 基因致病变异的有 24 个, 2 例 c.407_410delTCTA 变异, 有 3 例患儿出现 c.541G > A 变异。包括错义变异 8 个, 无义变异 4 个, 移码变异 8 个, 剪接位点变异 7 个, 这些变异中有 30.43%(7/23) 提前形成了终止密码子, 有 21.74% (5/23) 的变异位置位于 RRM1 区, 有 13.04% (3/23) 的变异位置位于 RRM3 区, 有 4.34% (1/23) 的变异位置位于 RRM2 区, 有 13.04% (3/23) 的变异位置位于剪接受体处, 有 17.39% (4/23) 的变异位置位于剪接供体处。

3. 讨论

VRJS 是一种多发性先天性异常综合征, 病变可累及全身多器官系统。在 2009 年由 Verheij 等[1]首次发现该综合征, 发现在 8q24 区域存在大片段缺失的情况, 经基因组比较共同缺失区域为 8.35Mb, 共含有 22 个基因, 随后在 2013 年 Dauber 等[2]研究中发现该染色体常见的缺失区间最小的重叠区域包括三个基因: *PUF60*、*SCRIB*、*NRBP2*, 并指出 *PUF60* 该基因杂合变异是该病的致病原因。近年来, 关于 *PUF60* 基因的研究逐渐增多[9], *PUF60* 是编码核酸结合蛋白的基因, 含 14 个外显子和 13 个内含子, 559 个氨基酸, 作为剪接因子在前体信使 RNA 的选择性剪接过程中发挥重要作用。有研究指出, *PUF60* 可通过抑制转录因子 FUSE 结合蛋白(far upstream element binding protein, FBP)来调控人类致癌基因 c-myc 的表达。斑马鱼敲除实验表明[2], 敲除 *SCRIB* 基因、*PUF60* 基因任一基因均可导致身材矮小、小头畸形、颅面缺损表型。单独敲除 *SCRIB* 基因可导致眼部、肾脏畸形, 单独敲除 *PUF60* 基因可致心脏结构异常。同时敲除 *SCRIB* 和 *PUF60* 基因对眼组织、心脏、头部、肾脏的外显率和表现度无变化, 但同时加重了身材矮小的表型。同时在 *PUF60* 基因变异患儿中也发现了眼部缺损, 并指出眼部缺损可能不是由 *SCRIB* 基因单独作用引起的。在 2017 年 Santos-Simarro F 等[4]认为眼部缺损在 *PUF60* 基因变异的 VRJS 患者中是一个较常见的表型。这与 Graziano 等[5]在报道中一致, 并详细记录了 1 例以眼组织缺损联合持续性胎儿血管综合征共同出现的患者, 但 *PUF60* 在眼睛发育过程中的具体功能尚不明确, 建议将 *PUF60* 添加到用于检测眼部畸形患者的基因包中, 并表述了到目前为止, 尚未发现人类遗传病关于 *SCRIB* 和 *NRBP2* 单个核苷酸的变异的观点。在 2018 年 Abdin 等[9]研究证明存在 *PUF60-SCRIB* 融合转录本, *PUF60* 和 *SCRIB* 结合的单倍性不仅促成了特有的临床表现, 而且也促成了融合转录本的存在。由 Zhao Jin J 等[10]认为 *PUF60* 对于神经元剪接起着非常关键的作用, 调控着神经精神发育, 本文同时证明 *PUF60* 基因是导致 VRJS 智力障碍的主要原因。在一项对 28 名智力障碍的患者分别进行全外显子组测序的研究中, 使用 CADD 评分来衡量变异位点的致病性, 其中 *PUF60* 基因变异的患儿 CADD > 30 分, 其中评分越高, 表明致病性越高。据报道, 在 OMIM 数据库中, CADD 评分超过 20 分的致病变异显著增加, 所有的变异都被归为致病或可能致病[14]。

通过总结全球范围内有详细资料的 31 例 VRJS 患者的临床特征, 发现其临床表现并不典型, 与 Charge 综合征难以鉴别, 均可表现为生长发育落后、特殊面容及多系统先天性畸形。随着 VRJS 综合征病例报道增多, 发现两种表型上亦存在差异, 如 Charge 综合征通常合并鼻道、唇腭裂、耳部畸形伴听力障碍等特征。本例患儿听力正常, 无上述异常特征, 并出现并指、脊柱弯曲等多系统畸形的情况, 均符合 VRJS 的临床表现。有研究指出[8], 由于这些基因同在一个调节染色质重组通路中, 因此都会影响染色质的重组及 DNA 的转录, 基因检测是有效的鉴别手段。但由于不同的基因在不同的部位表达量不同, 因此即使临床表现有重叠的部分, 不同的综合征也会有各自的特异性症状。即使是同一基因变异位点, 其临床表型亦有差异, 本文与 Chehadeh S E 等[6]分别报道了携带 c.407_410delTCTA 移码突变的 2 例患者。后

者表现为宫内生长发育受限、肾脏发育畸形、语言发育落后。本例患儿并无这些症状，且本例患儿在婴幼儿时期出现严重的喂养困难，并合并癫痫发作，在另外一例患儿虽然行脑电图示癫痫发作，但并未发生过抽搐。后者患儿视力在幼儿时期是正常的，但本例患儿出现弱视、斜视。再者，LowKJ 等[3]、Santos-Simarro F 等[4]和 Graziano 等[5]分别报道了携带了 *PUF60* 基因 c.541G>A 错义变异的 3 例患者，其中有 2 例存在脊柱和眼部的畸形，另外 1 例并无这些症状，其中 1 例患儿出现听力障碍同时合并腹股沟疝，2 例患儿出现生殖器发育异常，分别为阴蒂肌发育不良和隐睾。本例患儿亦合并其他文献中未道的临床症状，如患儿妇科彩超提示左侧卵巢探查不清，右侧卵巢及子宫偏小。目前未查询到相关研究指出 *PUF60* 基因参与受精卵的形成或胚胎的早期发育过程。VRJS 综合征临床表型无明显特异性，实验室检测及影像学检查无典型改变，发病率极低，临床诊断非常困难。本变异为国内的首例临床报道，将帮助儿科医师提高对该病的认知。

Wells C [7]等在 2016 年首次报道了 1 例 27 周胎儿进行羊水穿刺术后，经 Array-CGH 和 FISH 分析诊断为 8q24.3 染色体缺失。该胎儿在宫内表现为房室间隔缺损伴主动脉弓发育不全、面部畸形、耳畸形、双手第五手指斜位及骶椎异常等表型，在 28 周行引产手术。明确 VRJS 患者分子诊断后，为受累家庭提供产前诊断是避免再生育类似患儿的唯一方法。虽然目前已报道的 *PUF60* 基因变异均为新发变异，孕妇再生育患儿几率低，但不能排除夫妻双方为该变异生殖腺嵌合携带者的可能，因此再次妊娠时仍建议行产前诊断咨询。

4. 结论

综上所述，*PUF60* 基因变异导致的 VRJS 综合征主要表现为生长发育落后、智力障碍、特殊面容、先天性心脏病、骨骼异常等多系统畸形，该病无有效治疗方法。对于不明原因的发育迟缓的患儿，应考虑到本病的可能，并尽早进行高通量测序等遗传学检测明确病因，为进一步评估患儿病情、提供遗传咨询及产前诊断等方面提供依据。

参考文献

- [1] Verheij, J.B.G.M., Munnik, S.A.D., Dijkhuizen, T., *et al.* (2009) An 8.35 Mb Overlapping Interstitial Deletion of 8q24 in Two Patients with Coloboma, Congenital Heart Defect, Limb Abnormalities, Psychomotor Retardation and Convulsions. *European Journal of Medical Genetics*, **52**, 353-357. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2009.05.006>
- [2] Andrew, D., Christelle, G., Cécile, G., *et al.* (2013) *SCRIB* and *PUF60* Are Primary Drivers of the Multisystemic Phenotypes of the 8q24.3 Copy-Number Variant. *American Society of Human Genetics*, **93**, 798-811. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.09.010>
- [3] Low, K.J., Ansari, M., Jamra, R.A., *et al.* (2017) *PUF60* Variants Cause a Syndrome of ID, Short Stature, Microcephaly, Coloboma, Craniofacial, Cardiac, Renal and Spinal Features. *European Journal of Human Genetics*, **25**, 552-559. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2017.27>
- [4] Santos-Simarro, F., Vallespin, E., Del Pozo, A., *et al.* (2017) Eye Coloboma and Complex Cardiac Malformations Belong to the Clinical Spectrum of *PUF60* Variants. *Clinical Genetics*, **92**, 350-351. <https://doi.org/10.1111/cge.12965>
- [5] Graziano, C., Gusson, E., Severi, G., *et al.* (2017) A *De Novo PUF60* Mutation in a Child with a Syndromic Form of Coloboma and Persistent Fetal Vasculature. *Ophthalmic Genetics*, **38**, 590-592. <https://doi.org/10.1080/13816810.2017.1318927>
- [6] Chehadah, S.E., Kerstjens-Frederikse, W.S., Thevenon, J., *et al.* (2016) Dominant Variants in the Splicing Factor *PUF60* Cause a Recognizable Syndrome with Intellectual Disability, Heart Defects and Short Stature. *European Journal of Human Genetics*, **25**, 43-51. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.133>
- [7] Wells, C., Spaggiari, E., Malan, V., *et al.* (2016) First Fetal Case of the 8q24.3 Contiguous Genes Syndrome. *American Journal of Medical Genetics—Part A*, **170**, 239-242. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37411>
- [8] Moccia, A., Srivastava, A., Skidmore, J.M., *et al.* (2018) Genetic Analysis of CHARGE Syndrome Identifies Overlapping Molecular Biology. *Genetics in Medicine*, **20**, 1022-1029. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.233>
- [9] Abdinab, D., Rumpa, A., Tzschacha, A., *et al.* (2019) *PUF60-SCRIB* Fusion Transcript in a Patient with 8q24.3 Mi-

crodeletion and Atypical Verheij Syndrome. *European Journal of Medical Genetics*, **62**, Article ID: 103587. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2018.11.021>

- [10] Zhao, J.J., Halvardson, J., Zander, C.S., *et al.* (2018) Exome Sequencing Reveals NAA15 and PUF60 as Candidate Genes Associated with Intellectual Disability. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, **177**, 10-20. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32574>
- [11] 梁雁, 叶娟, 魏虹, 等. 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[J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56(8): 592-596.
- [12] Xu, Q., Li, C.-Y., Wang, Y., *et al.* (2018) Role of PUF60 Gene in Verheij Syndrome: A Case Report of the First Chinese Han Patient with a *De Novo* Pathogenic Variant and Review of the Literature. *BMC Medical Genomics*, **11**, Article Number: 92. <https://doi.org/10.1186/s12920-018-0421-3>
- [13] Richards, S., Aziz, N., Bale, S., *et al.* (2015) Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine Official Journal of the American College of Medical Genetics*, **17**, 405-424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- [14] Shyr, C., Tarailo-Graovac, M., Gottlieb, M., *et al.* (2014) FLAGS, Frequently Mutated Genes in Public Exomes. *BMC Medical Genomics*, **7**, Article Number: 64. <https://doi.org/10.1186/s12920-014-0064-y>