

Witteveen-Kolk 综合征并文献复习

冷洁¹, 程昕然², 汪柳旭², 张静²

(电子科技大学医学院附属妇女儿童医院·成都市妇女儿童中心医院内分泌遗传代谢科, 成都 611731)

Witteveen-Kolk syndrome and literatures review

Leng Jie¹, Cheng Xinran², Wang Liuxu², Zhang Jing²

(Department of Endocrinology, Genetics and Metabolism, Chengdu Women's and Children's Central Hospital, School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China)

【中图分类号】R725.8

【文献标志码】B

【收稿日期】2021-12-27

维特芬-科尔克综合征 (Witteveen-Kolk syndrome, WITKOS) 是一种罕见的神经发育障碍, 其特征是发育迟缓/智力残疾、面部畸形和身材矮小。WITKOS 由开关不敏感 3 转录调节因子家族成员 A (switch-insensitive 3 transcription regulator family member A, SIN3A) 功能丧失引起。WITKOS 于 2016 年首次描述。迄今为止, 医学文献中已报告了 39 例 WITKOS 点突变患者^[1-4]。WITKOS 以常染色体显性方式遗传, 大多数患者是散发性的。SIN3A 基因的单倍剂量不足是 WITKOS 的原因^[3-4]。

1 病例情况

1.1 病史资料

先证者, 男, 2 岁 1 个月, 2021 年 4 月因“特殊面容, 身材矮小”就诊。G1P1, 孕 39⁺4 周顺产, 出生体质量 2.8 kg, 出生身长 49 cm, 出生后生长缓慢 (图 1), 喂养困难, 7 个月会坐, 2 岁可独走, 语言迟缓。查体: 身高 81.5 cm (-3~2SD), 体质量 9.8 kg (-3~2SD), 头围 46.3 cm (<P₃)。特殊面容: 前额宽而高、饱满的眼睑 (较宽的双眼皮)、鼻梁稍塌、小下颌和眼睑外眦稍下斜、耳廓内旋、小嘴、薄上唇。心肺未见异常, 肝脾未触及肿大, 脊柱无侧弯, 四肢肌张力稍低, 肌力正常, 外生殖器正常 (图 2)。父亲身高 160 cm, 母亲身高 160 cm, 均体健, 非近亲婚配, 家族中无类似疾病患者。本研究遵循的程序符合 2013 年修订的世界医学协会《赫尔辛基宣言》要求。

作者介绍: 冷洁, Email: 328754180@qq.com,

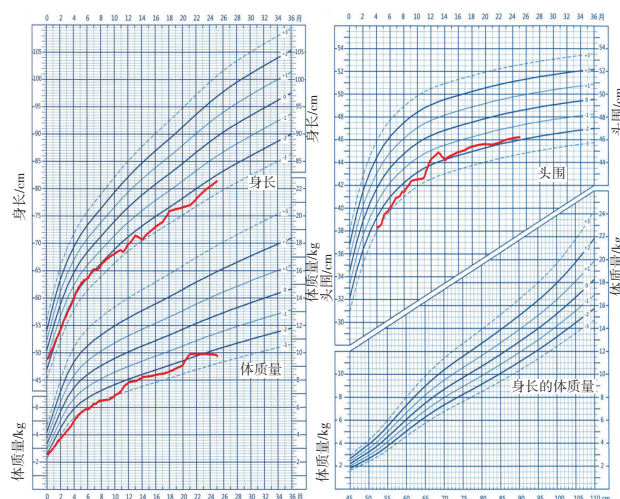
研究方向: 遗传代谢性疾病及生长发育疾病等。

通信作者: 程昕然, Email: cxr1216@sina.com。

基金项目: 四川省科技计划资助项目 (编号: 2019JDPT0034)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20220330.1300.010.html>

(2022-04-01)



注: 红线为先证者身长、体质量、头围生长轨迹

图 1 中国 0~3 岁男童身长、体质量、头围标准差单位曲线图



图 2 先证者临床表型

1.2 一般检查

2 岁 1 个月婴幼儿语言发育筛查量表测试显示该患儿的语音和语言表达相当于 15 月龄,听觉感受和理解相当于 16 月龄,与视觉相关的理解和表达正常。2 岁 1 个月智能发育筛查(developmental screen test,DST)测试运动显示该患儿相当于 15 月龄,社会适应相当于 18 月龄,智力相当于 15 月龄,发育商(developmental quotient,DQ)<50。2 岁 1 个月Gesell 发育评估显示该患儿适应性 DQ=88,大运动 DQ=89,精细动作 DQ=86,语言 DQ=70,个人-社交 DQ=22.17。CHAT-23 报告:阴性,有目光交流及共同注意。胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor -1,IGF-1)=36.6 ng/mL,甲状腺功能、促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone,ACTH)和皮质醇检查未见异常,因孩子 2 岁 1 个月,外生殖器查体未见异常,未行性激素检查,头 MRI 未见明显异常,垂体 MRI 提示垂体前叶变薄,鞍上局部蛛网膜下腔稍向鞍内突入。5 个月 13 d 大时脑电图检查未见异常。心脏彩超未见异常,双肾及输尿管彩超未见异常。

1.3 基因检测

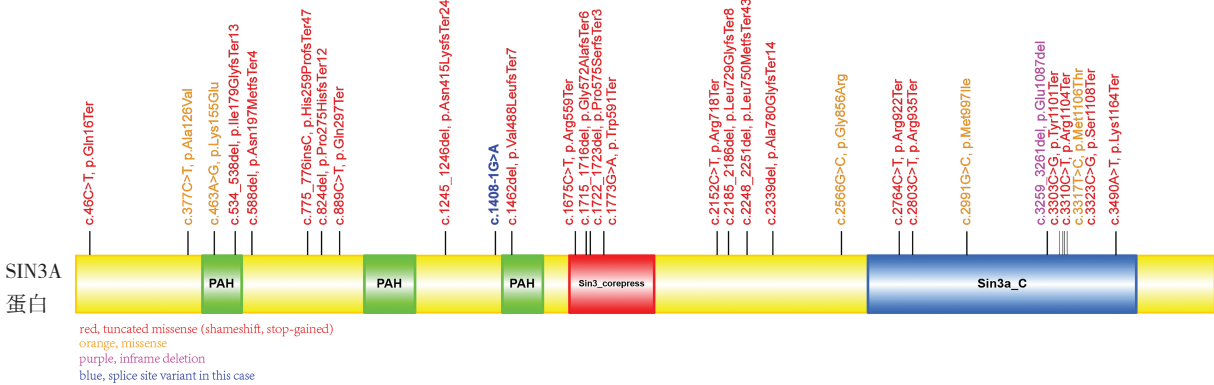
经成都市妇女儿童中心医院医学伦理委员会审查批准并取得患儿父母知情同意后,分别采集患儿及父母的外周血样各 2 mL 用于提取 DNA,进行基因分析。使用血液基因组柱式中量提取试剂盒(康为世纪)提取脐血或胎儿组织基因组 DNA,操作按照试剂盒说明书进行。所提取 DNA 样本用 Qubit 2.0 型荧光计及 0.8%的琼脂糖凝胶电泳对所提供的 DNA 样本进行质检,合格后继续后续步骤。采用 IDT 公司 xGen® Exome Research Panel v1.0 捕获探针与 gDNA 文库序

列进行液体杂交,将目标区域 DNA 片段进行富集,构建全外显子文库,覆盖人基因组中 19 396 个基因的编码区及部分非编码区,捕获区间大小 51 Mb。通过 Illumina 公司 NovaSeq 6000 系列测序仪进行高通量测序(PE150),目标序列测序覆盖度不低于 99%。测序过程由智因东方转化医学研究中心完成。使用 Burrows-Wheeler Aligner(BWA)软件将测序序列与 Ensembl 参考基因组 GRCh37/hg19 比对;然后使用 GATK 软件分析出 SNP、Indel;最后根据测序深度、突变质量对检测到的 SNP、Indel 进行过滤和筛选,得到高质量可靠的突变。对检测到的高质量变异进行各大数据库(如 dbSNP、千人基因组、ExAC、ESP 等频率数据库及 OMIM、HGMD、ClinVar 等)关联注释。借助 Proven、SIFT、Polyphen2-HVAR、Polyphen2-HDIV、M-Cap、Revel、Mutationtaster 等蛋白结构预测软件,MaxEntScan 剪切位点预测软件等对其危害性进行分析,筛选出对蛋白结构可能有有害的变异。

患者全外显子基因检测结果显示患儿携带与临床表型高度相关的 *SIN3A* 基因杂合突变,其 15 号染色体长臂 10 号外显子旁 9 内含子-1 位置 G 突变为 A(c.1408-1(IVS9)G>A)(图 3)。按美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics,ACMG)变异分类标准,归类为“致病”变异。该变异不属于多态性位点,在人群中发生频率极低。查询 HGMD 数据库、Locus Database 数据库、PubMed、DECIPHER、CNKI 及万方文献数据库,均无该基因突变的位点及文献报道。其父母该位点为野生型,故为新生变异。目前已报道的突变位点如图 4 所示,本例患儿与已报道 *SIN3A* 点突变患者临床表型对比详见表 1。

基因	序号	染色体位置	核酸改变(外显子号)	氨基酸改变(变体号)	RS号	MAF	ACMG致病等级	先证者(男)	父(正常)	母(正常)
<i>SIN3A</i>	1	chr15:75 694312	c.1408-1 (IVS9) G>A	- (NM_015477)	无	未收录	致病	杂合 68/157	野生型 0/72	野生型 0/83

图 3 *SIN3A* 突变位点图



注:红色为截断变异(移码变异);橙色为错义变异;紫色为框内缺失突变;蓝色为本例先证者剪切位点变异(使用了 Wellcome 信托基金资助的 DECIPHER <http://DECIPHER.sanger.ac.uk>)

图 4 *SIN3A* 蛋白结构和变异位点示意图

表 1 本例先证者和目前文献报道 WITKOS 患者表型比较

临床表型	本研究 (<i>n</i> =1)	Balasubramanian M 等 (<i>n</i> =28) ^[4]	WitteveenJS 等 (<i>n</i> =9) ^[3]	Narumi-KishimotoY (<i>n</i> =1) ^[2]	总数 (<i>n</i> =39)
智力障碍	1	16	7	1	
轻度	1	8	5		14
中度		7	2	1	10
重度		1			
运动障碍	1	15	3	1	20
语言迟缓	1	11	2	1	15
矮小	1	6	4	—	11
小头畸形	1	4	4	—	9
张力减退	—	12	2	1	15
癫痫	—	4	1	—	5
行为问题	1	12	4	1	17
喂养困难	1	15	N/R	N/R	16
头 MRI 异常	—	4	4	N/R	8

注:N/R 指未报道

2 讨 论

真核细胞染色质由重复的核小体亚单位构成。4 种核心组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4 各 2 分子形成组蛋白八聚体,表面围以 DNA 双螺旋形成核小体。组蛋白的表观遗传修饰由起激活作用的辅激活子和起沉默作用的辅抑制子 2 类调节复合物相反活动调节^[5]。其中组蛋白 N 末端的翻译后修饰,特别是乙酰化在基因转录的动态调节中起决定性作用。组蛋白去乙酰化由组蛋白去乙酰化酶(the histone deacetylase, HDAC)HDAC1 和 HDAC2 执行,并依赖 Sin3、MecP2、NuRD 和 CoREST 形成阻遏复合物。与智力障碍(intellectual disability, ID)/自闭症谱系障碍(autism spectrum disorders, ASD)相关的基因,通常为编码染色质调节因子的基因^[6-7]。

哺乳动物中, *SIN3A* (MIM:607776) 和 *SIN3B* (MIM:607777) 是编码 Sin3 复合体的主要基因。其中 *SIN3A* 编码一种转录调节蛋白,与核心组蛋白脱乙酰酶复合物中的支架形成相关^[8]。形成的 SIN3-HDAC 复合物为辅助因子支架,通过招募 Sin3 辅阻遏物模块促进组蛋白 H3 和 H4 去乙酰化^[8-10]。编码 *SIN3A* 的基因位于 15 号染色体 q24 上,属于 15q24 微缺失最短重叠区域(in the shortest region of overlap, SRO; 约 260 kb) 的 5 个基因之一。因此曾被认为是非经典突变型 15q24 微缺失综合征的关键基因^[11]。15q24 微缺失综合征患者常表现为 ID 和 ASD, *SIN3A* 基因突变患者临床表型与 15q24 微缺失综合征患者不同,具有特殊面容和通常较轻微的智力障碍^[9]。

与 *SIN3A* 杂合性功能缺失变异相关的 WITKOS 是一种新的常染色体显性遗传神经发育综合征,患者多有轻中度 ID 和不同程度的生长发育延迟及喂养困难,具有特殊面容,表现为宽而高的前额、小嘴、薄上唇、尖下巴和向下倾斜的眼睑裂隙,部分表现为身材矮小、小头畸形,头 MRI 可能表现为

轻微的大脑异常,包括胼胝体发育不全和脑室扩大。迄今为止已报道 *SIN3A* 点突变患者共 39 例(包含本例患者),其中一项关于 28 例 *SIN3A* 相关疾病患者的综合研究分析了 *SIN3A* 基因突变患者的认知障碍和独特的面部表型,确定了与 *SIN3A* 单倍剂量不足相关的临床和神经发育相关表型^[4]。

目前已报道的 39 例患者中较明显的临床表现为 ID。报道的 ID 患者有 25 例(64%),其中轻度 ID 患者 14 例(占 ID 患者的 56%),10 例中度 ID(占 ID 患者的 40%),1 例重度 ID(占 ID 患者的 4%)。 *SIN3A* 突变患者通常表现为运动和语言发育迟缓。其中 41% 的患者有喂养困难,43.5% 的患者有行为问题如孤独症谱系障碍(autistic spectrum disorder, ASD)或注意缺陷多动障碍(attention deficit hyperactivity disorder, ADHD)。其他神经系统症状如肌张力减退(38%)和癫痫(12.8%)也较常见,部分患者头 MRI 检查发现异常如胼胝体发育不良,侧脑室扩大等(20.5%)。脑磁共振成像显示细微异常,包括胼胝体发育不全和脑室扩大。本例患者具有典型的面部特征、矮小和轻度智力发育迟缓,头 MRI 未发现胼胝体发育异常,还需继续监测智力运动发育情况并随访头 MRI。

目前报道的患者多为截断变异,少数为错义变异和框内缺失变异,本例患者的突变位点为首次报道。研究结果提示 *SIN3A* 单倍剂量不足导致患者的临床表型。单倍剂量不足可能是 *SIN3A* 相关疾病的主要可能机制,但表型可能因 *SIN3A* 变体的性质而异。其中智力障碍较为常见,以轻中度智力障碍为主。与 15q24 微缺失综合征相关的中度或严重智力障碍表型不同,提示虽然 15q24 微缺失综合征部分患者缺失区域包含 *SIN3A*,其他基因异常的共同作用导致 15q24 微缺失综合征更为严重的认知表型^[11-12]。 *SIN3A* 突变患者还可能出现行为问题,除 ASD 外,还可能出现 ADHD、强迫症等。对 5 名 Witteveen-Kolk 综合征患者的行为和认知功能研究发现,所有患者存在信息处理速度/持续注意力薄弱,其中 3 名患者在

规划和维持方面存在困难^[13]。

SIN3A 在成熟大脑中的研究发现,长期记忆依赖对活动依赖性神经元基因表达的控制,该基因表达受表观遗传修饰调控。SIN3A 调节突触后密度中编码蛋白质的基因的表达。出生后神经元缺失 SIN3A 可通过增加突触支架 Homer1 的表达,改变代谢型谷氨酸受体 1 α (glutamate receptor 1 α , mGluR1 α) 和 mGluR5 对长时程增强作用的依赖,并增加学习后海马 ERK 的激活,从而增强海马长时程增强作用和长时程情境恐惧记忆^[4],提示辅助阻遏物 SIN3A 在成熟大脑记忆和突触可塑性中具有关键作用。

对发育中的大脑,SIN3A 是调节参与增殖和分化的转录因子复合物表达水平的关键因子。SIN3A 在不同大脑区域都有表达,但在前额叶皮层和体感皮层等躯体感觉皮层区域尤为明显。SIN3A 存在于增殖区的活跃分裂细胞中。在皮质发生过程中,SIN3A 在大量皮质祖细胞和年轻神经元中表达。随着时间推移,这些表达模式变得越来越受限,提示 SIN3A 在神经发生阶段高表达。SIN3A 对于早期细胞分裂和大脑皮质神经元的产生至关重要,在神经发生高峰期,SIN3A 表达降低导致增殖区皮质祖细胞数量减少。SIN3A 是皮质祖细胞分化所必需的,SIN3A 表达降低将导致皮质神经元身份改变。此外,SIN3A 表达还影响皮层分化和轴突延伸。SIN3A 表达下调可增加沿着胼胝体路径穿过中线的轴突长度和数量,表达减少导致轴突延伸偏离原始路线。体内功能性敲除 SIN3A 导致发育中的小鼠大脑皮质神经发生减少、神经元身份改变和皮质投射异常^[6]。

在发育中的大脑中,SIN3A 基因缺失与成熟大脑中 SIN3A 基因缺失对大脑神经系统的影响不同。这是由于 SIN3A 影响了发育中大脑皮质祖细胞的分化和轴突投射。神经祖细胞增殖受损可能导致小头畸形。此外,SIN3A 敲除小鼠可以观察到神经轴突生长增强,可能是由于神经元在向皮质板第 2 层或第 3 层迁移过程中退出不成熟的细胞周期所致。在错误的时间和地点发生有丝分裂后,这些神经元过早地开始延伸其神经突起,从而导致胼胝体发育不良中经常观察到的纵向胼胝体投射或 Probst 束产生。分化的增加很可能导致异常投射,异常投射由于神经轴突在到达正确目标区域时受到阻碍,促进补偿机制产生,对异常投射进行修剪,导致 Witteveen-Kolk 综合征临床表型^[6]。

SIN3A 对皮质早期发育过程中神经祖细胞增殖、分化和轴突生长至关重要。SIN3A 杂合移码或无义变异导致单倍剂量不足是 Witteveen-Kolk 综合征的主要病因,患者常表现为特殊面容、轻中度智力障碍、生长障碍和喂养困难。矮小临床表型是由于 SIN3A 突变导致细胞分裂周期 G₂/M 阻滞和严重的非整倍性产生^[14],同时突变可能与肿瘤发生有关,因此暂不考虑给予患儿 rhGH 干预身高。目前报道 SIN3A 突变患者有限,本例患者为中国报道的首位患者,还需扩大样本量来获得更多临床表型和基因型之间的关系。早期诊断对于改善患儿精神运动发育能力具有重要性。在管理这些患者时,应

考虑包括遗传学家、儿科内分泌医生和儿童神经学家、发育行为儿科学家等多学科团队的参与。

参 考 文 献

- [1] Ferrer A, Schultz-Rogers L, Kaiwar C, et al. Three rare disease diagnoses in one patient through exome sequencing[J]. Cold Spring Harb Mol Case Stud, 2019, 5(6): a004390.
- [2] Narumi-Kishimoto Y, Araki N, Migita O, et al. Novel SIN3A mutation identified in a Japanese patient with Witteveen-Kolk syndrome[J]. Eur J Med Genet, 2019, 62(9): 103547.
- [3] Witteveen JS, Willemsen MH, Dombroski TCD, et al. Haploinsufficiency of MeCP2-interacting transcriptional co-repressor SIN3A causes mild intellectual disability by affecting the development of cortical integrity[J]. Nat Genet, 2016, 48(8): 877-887.
- [4] Balasubramanian M, Dingemans AJM, Albaba S, et al. Comprehensive study of 28 individuals with SIN3A-related disorder underscoring the associated mild cognitive and distinctive facial phenotype[J]. Eur J Hum Genet, 2021, 29(4): 625-636.
- [5] Bridi M, Schoch H, Florian C, et al. Transcriptional corepressor SIN3A regulates hippocampal synaptic plasticity via Homer1/mGluR5 signaling[J]. JCI Insight, 2020, 5(5): 92385.
- [6] Latypova X, Vincent M, Mollé A, et al. Haploinsufficiency of the Sin3/HDAC corepressor complex member SIN3B causes a syndromic intellectual disability/autism spectrum disorder[J]. Am J Hum Genet, 2021, 108(5): 929-941.
- [7] Chen LF, Zhou AS, West AE. Transcribing the connectome: roles for transcription factors and chromatin regulators in activity-dependent synapse development[J]. J Neurophysiol, 2017, 118(2): 755-770.
- [8] Grzenda A, Lomberg G, Zhang JS, et al. Sin3: master scaffold and transcriptional corepressor[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1789(6/7/8): 443-450.
- [9] Kadamb R, Mittal S, Bansal N, et al. Sin3: insight into its transcription regulatory functions[J]. Eur J Cell Biol, 2013, 92(8/9): 237-246.
- [10] Alland L, David G, Hong SL, et al. Identification of mammalian Sds3 as an integral component of the Sin3/histone deacetylase corepressor complex[J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(8): 2743-2750.
- [11] Mefford HC, Rosenfeld JA, Shur N, et al. Further clinical and molecular delineation of the 15q24 microdeletion syndrome[J]. J Med Genet, 2012, 49(2): 110-118.
- [12] Jing XY, Zhang L, Li R, et al. Clinical and genetic analysis of three pediatric patients with 15q24 microdeletion syndrome[J]. Chin J Med Genet, 2019, 36(7): 672-675.
- [13] van Dongen LCM, Wingbermühle E, Dingemans AJM, et al. Behavior and cognitive functioning in Witteveen-Kolk syndrome[J]. Am J Med Genet A, 2020, 182(10): 2384-2390.
- [14] Adams GE, Chandru A, Cowley SM. Co-repressor, co-activator and general transcription factor: the many faces of the Sin3 histone deacetylase (HDAC) complex[J]. Biochem J, 2018, 475(24): 3921-3932.

(责任编辑:唐秋姗)