

让罕见病“不罕见”

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002990

基于二代测序技术的矮小症患者表型与基因型研究

吴 瑞¹, 石 宇², 黄道超³, 李书香¹, 吴莉婷¹, 周全胜¹, 桂俊峰¹, 蔡奕晴¹, 宋 萃¹
(重庆医科大学附属儿童医院、国家儿童健康与疾病临床医学研究中心、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、
儿科学重庆市重点实验室 1. 内分泌遗传代谢科; 2. 检验科; 3. 儿科研究所, 重庆 400014)

【摘要】目的:应用二代测序技术结合临床总结矮小症患者的基因型和表型特点。**方法:**收集 2015 年 5 月至 2020 年 5 月就诊于重庆医科大学附属儿童医院内分泌遗传代谢科、符合矮小症标准的患者资料, 收集患者临床表型并利用二代测序技术分析患者基因型。**结果:**175 例患者中 81 例检出致病性或可能致病性基因突变, 检出率为 46.29%; 检出 46 个单基因突变、10 个拷贝数变异、2 个基因印记异常和 1 个染色体异常; 发现 29 个尚未报道过的变异位点。本队列中综合征性矮小患者基因突变阳性率更高, 身材矮小伴骨片异常、骨骼畸形、特殊面容、性发育异常、发育迟缓的患者具有分子病因的可能性更大。**结论:**二代测序技术有助于明确矮小症患者的分子病因, 在分子水平扩展临床医生对矮小症患者基因型和表型的认识。

【关键词】二代测序; 基因突变; 矮小症; 综合征性矮小

【中图分类号】R725.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2022-01-13

Study on phenotype and genotype of short stature based on second-generation sequencing technology

Wu Rui¹, Shi Yu², Huang Daochao³, Li Shuxiang¹, Wu Liting¹, Zhou Quansheng¹,
Gui Junfeng¹, Cai Yiqing¹, Song Cui¹

(1. Department of Endocrinology and Genetic Metabolism; 2. Department of Clinical Laboratory;
3. Institute of Pediatrics, Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center
for Child Health and Disorders, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders,
Chongqing Key Laboratory of Pediatrics)

【Abstract】Objective: To summarize the genotypic and phenotypic characteristics of patients with short stature based on the clinic feature and second-generation sequencing technology. **Methods:** Patients met the criteria of short stature were included in study who visited the Department of Endocrinology and Genetic Metabolism, Children's Hospital of Chongqing Medical University from May 2015 to May 2020. The phenotypes of the patients were collected and the genotypes of patients were analyzed by second-generation sequencing technology. **Results:** The study included 175 patients, of which 81 were found pathogenic or likely pathogenic gene mutations, with a detection rate of 46.29%; there were 46 single gene mutations, 10 copy number variations, 2 gene imprinting abnormalities and 1 chromosome abnormality; 29 unreported mutation sites were found. The gene diagnosis rate of patients with syndromic short stature was higher in this cohort, and the patients with short stature, accompanied with bone X-ray abnormality, bone deformity, special face, sexual development disorder and stunting were more likely to have genetic etiology. **Conclusion:** The second-generation sequencing technology is helpful to clarify the genetic etiology of patients with short stature and expand clinicians' understanding of genotype and phenotype of patients with short stature at molecular level.

【Key words】second-generation sequencing; gene mutation; short stature; syndromic short stature

作者介绍: 吴 瑞, Email: 415180109@qq.com,

研究方向: 小儿生长发育障碍。

通信作者: 宋 萃, Email: 400756@hospital.cqmu.edu.cn。

基金项目: 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心临床医学研究一般资助项目(编号: NCRCHD-2020-GP-10); 重庆市教育委员会科学技术研究资助项目(编号: KJQN201900448); 重庆医科大学未来医学青年创新团队发展支持计划资助项目(编号: W0110)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20220330.1300.022.html>
(2022-04-01)

矮小症是指身高低于同年龄、同性别、同种族健康正常儿童平均身高 2 个标准差(-2SD), 或第 3 个百分位数^[1], 发病率为 3%~5%, 是儿童内分泌科最常见的就诊原因之一^[2]。综合征性矮小则是以身材矮小为核心表型, 具有先天性畸形特征的复杂综合征^[3]。近年来二代测序技术的发展使我们在分子层面了解了基因对身高的影响。例如, 全基因组关联研究(genome wide association study, GWAS)评估

了 DNA 序列变异对成人身高个体差异的影响,结果发现检出的基因突变可解释 27.4% 的成人身高变异^[4]。此外,二代测序技术的临床应用还扩展了临床医生对某些罕见复杂综合征表型及基因型的认识。为了系统分析重庆医科大学附属儿童医院近 5 年间收治的综合征性矮小患儿表型及基因型特点,本研究回顾性分析本院近 5 年收治的 175 例矮小症患者临床资料,总结本队列患者表型和基因型的特点。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集 2015 年 5 月至 2020 年 5 月以“矮身材”为核心症状就诊于重庆医科大学附属儿童医院的患者,并进行回顾性研究。纳入标准:①矮小症诊断标准符合 2008 年中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组发表的矮身材诊治指南^[5];②病因不明或存在其他系统受累的复杂表型,疑具有分子病因的患者。排除标准:①存在慢性感染性疾病或消耗性疾病(如乙肝、肿瘤等)、严重肝肾功能障碍所致的矮身材;②营养、精神、心理障碍所致的矮身材;③明确诊断为唐氏综合征、Turner 综合征的矮身材患者;④信息严重缺失的患者;⑤拒绝基因检测的患者。所有患者均签署知情同意书,完善相关辅助检查,并应用二代测序技术进行基因检测。

1.2 研究方法

1.2.1 病史采集 出生史(孕周、产重、身长、有无病理产科等)、生长发育史、既往史、家族史(父母青春期发育史、一级亲属身高)等。

1.2.2 体格检查 首次就诊/转诊时身体测量(身高、体质量),表型采集结合人类表型标准用语(human phenotype ontology, HPO)、青春期分期(Tanner 分期)等。

1.2.3 实验室检查 血尿生化检查,如电解质、肝肾功能,生长激素激发试验、血清胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)测定和 IGFBP3 测定等;影像学检查,如骨龄 X 片、头颅鞍区 MRI 等。

1.2.4 二代测序及分析 ①抽取患儿及其父母外周血标本各 2 mL,提取基因组 DNA,构建样本 DNA 文库;②采用特异性捕获探针杂交富集目标区域的 DNA 序列,进行高通量测序;③将测序结果与参考基因组(GRCh37/hg19)(2009-02 release, <http://genome.ucsc.edu/>)序列比对,进行单核苷酸变异(single nucleotide variants, SNVs)和插入及缺失(insertion-deletion, InDel)分析;④应用基因组学学院/分子病理学协会(American College of Medical Genetics and Genomics/the Association for Molecular Pathology, ACMG/AMP)指南^[6]对 SNVs 进行致病性评估;⑤参考 DGV、DECIPHER 和 OMIM 等多种数据库和已发表文献对拷贝数变异(copy-number variants, CNVs)进行致病性评估。

1.2.5 评估方法 生长激素激发实验结果显示生长激素峰值<10 μg/L 为生长激素缺乏症(growth hormone deficiency, GHD)^[6]。血清 IGF-1 测定低于参考值中位数水平为低下。骨

龄与年龄差值在 ±1 岁被认为正常^[7]。粗大运动、精细运动、语言、认知、日常活动、智力等发育能区落后于同龄儿童评估为发育迟缓^[8]。三代以内亲属有身材矮小表型(男性身高低于 160 cm,女性身高低于 150 cm)或有相似表型评估为家族史阳性。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 软件 23.0 进行统计学分析,组间频率比较采用卡方检验。不满足卡方检验条件时采用 Fisher 精确检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。应用 Review Manager 5.4 软件制作不同表型遗传病因的优势比(odds ratio, OR)和 95% 置信区间(95% confidence interval, 95%CI)。

2 结果

2.1 表型分析

纳入的 175 例患者中,年龄最小 1 个月余,最大 15 岁余。患者性别、身高、初诊年龄、骨龄、双亲身高及病因见表 1。

表 1 临床信息分析

分组	例数	基因检测阳性例数	阳性率/%	χ^2 值	P 值
性别				3.065	0.080
男	100	52	52.00		
女	75	29	38.67		
身高				12.208	0.000
<-3SD	94	55	58.51		
≥-3SD	81	26	32.10		
初诊年龄				7.794 ^a	0.096
婴儿期	39	15	38.46		
幼儿期	38	25	65.79		
学龄前期	50	21	42.00		
学龄期	40	16	40.00		
青春期	8	4	50.00		
骨龄				1.653	0.199
与实际年龄相符	68	25	36.76		
与实际年龄不相符	56	27	48.21		
双亲身高				0.392 ^a	0.886
正常	96	41	42.71		
单亲矮小	21	10	47.62		
双亲矮小	6	3	50.00		
病因				20.894	0.000
综合征性矮小	82	53	64.63		
骨发育障碍	34	25	73.53		
发育迟缓	10	6	60.00		
心脏异常	7	4	57.14		
性发育异常	3	1	33.33		
多系统异常	28	17	60.71		
非综合征性矮小	93	28	30.11		
生长激素缺乏症	36	13	36.11		
特发性矮身材	29	5	17.24		
小于胎龄儿	12	2	16.67		

注:本研究中存在期待频数小于 5 的情况,根据 Fisher 值判断各组的差异;a 为 Fisher 精确切概率法所得 χ^2 值

本队列中 136 例患者进行了家系模式全外显子测序+CNVs 检测,7 例患者进行了先证者模式全外显子测序,32 例患者进行相关基因包检测。患者不同临床表型的优势比和置信区间如图 1 所示。

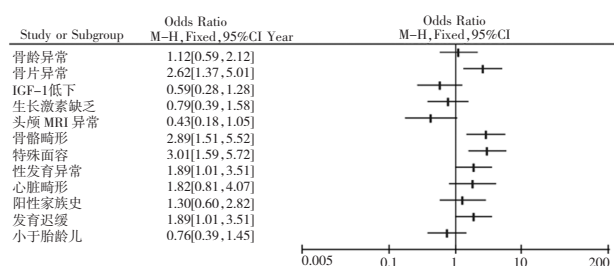


图 1 不同表型患者的分子病因分析

2.2 基因型分析

2.2.1 二代测序结果 本研究基因检测阳性患者 81 例,阳性率为 46.29%,共检出 93 个致病或可能致病的变异位点。其中,错义变异检出率最高,为 38 个(40.43%),其次是移码变异(16 个,17.20%)与无义变异(15 个,16.13%)。就遗传方式而言,66 例由单基因变异所致病的患者中,常染色体显性遗传(AD)最高发,为 34 例(51.52%),其次为常染色体隐性遗传(AR),为 15 例(22.73%),7 例(10.61%)以 AD/AR 形式发病,其他变异类型还有 X 显性遗传(XD),共 9 例(13.64%);X 隐性遗传(XR)仅 1 例(1.52%)。93 个致病或可能致病的变异位点中,50 个(53.76%)为自发突变,来源于单亲的变异共 38 个(40.86%,其中 12 来源于父亲,26 个来源于母亲),4 例为双亲来源的变异。

2.2.2 基因变异信息 检出的 93 个致病或可能致病性变异中,46 个为单基因突变,10 个为拷贝数变异,2 个为基因印记异常,1 个为染色体异常(表 2、表 3)。

3 讨论

目前我国的矮小症患者超过 800 万,矮身材对患者的社会活动及身心健康带来不良影响^[9]。特别是病理性矮身材,其中包括一些罕见的综合征性矮小。

本研究共纳入 175 例矮小症患者,男女比例为 1.33:1,就诊人数以学龄前组最多,占总人数的 28.57%。将纳入患者按身高水平分组,发现身高 $<-3SD$ 的患者基因检测阳性率更高($\chi^2=12.208, P=0.000$),表明身材严重矮小的个体往往更可能找到分子原因。接受骨龄分析的患者中,骨龄与实际年龄不符合的患者基因检测阳性率更高。统计不同病因患者的阳性率,综合征性矮小患者基因检测阳性率更高($\chi^2=20.894, P=0.000$),其中以身材矮小伴骨骼畸形的患者阳性率最高。采用统计学方法验证不同表型及检查结果与遗传病因的关系,发现有无矮

小家族史或是否为小于胎龄儿(small for gestational age, SGA)对患者的基因诊断率无统计学影响。但矮小症患者如果合并表型包括骨片异常、骨骼畸形、特殊面容、性发育异常、发育迟缓,则基因检测阳性率更高,上述结果提示临床医生在诊疗工作中应该更加重视上述表型。

本研究应用二代测序技术,在 81 例患者中检测到 93 个致病或可能致病的变异位点,综合检出率为 46.29%,高于既往报道的矮小症患者基因检测阳性率^[10-11]。基因检测阳性的 81 例患者中,有 42 例检出不同基因、CNVs、染色体异常或基因印记的致病/可能致病变异,占有阳性病例的 51.85%,自发突变有 50 个(53.76%),提示矮小症具有遗传异质性,其中有 29 个变异位点尚未在相关病例中报道过,占有所有变异位点的 27.47%,这一结果扩展了对矮小症基因型的认识。本研究表明,常染色体显性遗传是矮小症最常见的遗传方式,存在统计学差异($\chi^2=60.682, P=0.000$),有 34 例(51.52%)患者以常染色体显性遗传方式起病,所以有单亲矮小表型的患者基因检测阳性率较双亲身高正常的患者高,双亲均矮小的患者身高往往达到矮小症的标准,但身高在预测的遗传靶身高范围内。

综合征性矮小是本研究最常见的原因,患者表现为身材矮小伴其他多个系统异常,包括骨骼、心脏、性发育、发育迟缓、智力障碍等,结果显示共有 82 例(46.86%),基因检测阳性 53 例,诊断率为 64.63%。其中骨骼畸形是最多见且易被临床医生识别的伴随表型,骨骼发育不良是具有临床异质性的一组疾病。最近的国际骨骼发育不良协会公布了 461 种遗传性骨骼疾病和 437 种不同的致病基因^[12]。一个基因的致病性变异可导致多种表型,如 FGFR3 突变可导致多种疾病^[13],一种表型可能由多种基因变异引起,影像学仍然是最重要的诊断手段,但影像学表现的广泛重叠导致影像学检查缺乏特异性。本队列诊断 7 例软骨发育不全,其中检出 3 例 COMP(P17-19)变异和 4 例 FGFR3 变异(P23-P26),但是 COMP 变异导致的假性软骨不全和 FGFR3 导致的软骨发育不全在临床工作中难以区分,基因检测在这类疾病的鉴别诊断中发挥重要作用。身材矮小伴有多系统异常的患者平均就诊年龄 2 岁 3 个月,常有异常出生史,合并至少 2 个系统异常,以身材矮小伴发育迟缓、特殊面容多见,多种综合征表型重叠难以明确病因,在出现不可逆的神经系统和多器官受累之前,尽早识别患者病因尤为重要。二代测序技术是促进诊断的有利工具。

表 2 检出致病和可能致病基因变异信息

患者	基因	遗传方式	变异位点	ACMG 结论	来源	变异类型	疾病
P1	<i>ACAN</i>	AD, AR	chr15:89389095/c.1411C>T(p.Q471*)	LP	母亲	无义变异	身材矮小和骨龄超前
P2	<i>ACAN</i>	AD, AR	chr15:89384970/c.630-1G>T	LP	母亲	剪切位点变异	身材矮小和骨龄超前
P3	<i>ALDH18A1</i>	AD, AR	chr10:97402778/c.274C>G(p.L92V)	LP	新发	错义变异	皮肤松弛症 3 型
P4	<i>ALPL</i>	AD, AR	chr1:21890603/c.542C>T(p.S181L)	LP	父亲	错义变异	低磷酸酯酶症
			chr1:21887611/c.203C>T(p.T68M)	LP	母亲	错义变异	
P5	<i>ALPL</i>	AD, AR	chr1:21902242-21902243/c.1014-1015:insG	P	父亲	移码变异	低磷酸酯酶症
			chr1:21904012/c.1446C>A(p.482H>Q)	LP	母亲	错义变异	
P6	<i>AMMECR1</i>	XD	chrX:109507799/c.502C>T(p.R168*)	LP	母亲	无义变异	面中部发育不良-听力损伤-椭圆形红细胞增多症-肾钙质沉着症
P7	<i>ASXL3</i>	AD	chr18:31323232/c.3422delA(p.N1141Tfs*2)	LP	新发	移码变异	Bainbridge-Ropers 综合征
P8	<i>AVPR2</i>	XD	chrX:153171460/c.500C>T(p.S167L)	LP	母亲	错义变异	肾源性尿崩症
P9	<i>BLM</i>	AR	chr15:91341431/c.3222-3223delAA(p.D1076Cfs*3)	LP	父亲	移码变异	Bloom 综合征
			chr15:91346792/c.3400G>T(p.G1134*)	LP	母亲	无义变异	
P10	<i>CHD7</i>	AD	chr8:61769121/c.7282C>T(p.R2428X, 570)	P	新发	无义变异	Charge 综合征
P11	<i>CLCNKB</i>	AR	chr1:16372052-16374539/缺失 (EXON:3-5)	LP	母亲	缺失变异	巴特综合征 III 型 (经典型)
			chr1:16375060/c.638T>G(p.F213C)	LP	父亲	错义变异	
P12	<i>COL1A1</i>	AD	chr17:48264162/c.3653C>T(p.A1218V)	LP	新发	错义变异	成骨不全
	<i>WDR11</i>	AD	chr10:122619690/c.422T>C(p.I141T)	LP	新发	错义变异	促性腺激素释放激素缺乏症
P13	<i>COL1A1</i>	AD	chr17:48273283/c.1056+1G>A	P	母亲	剪切位点变异	成骨不全
P14	<i>COL1A1</i>	AD	chr17:48272640-48272641/c.1251delC(p.S418Lfs*123)	P	母亲	移码变异	成骨不全
P15	<i>COL2A1</i>	AD	chr12:48372112/c.2965C>T(p.R989C)	P	母亲	错义变异	先天性脊椎骨骺发育不良等
P16	<i>COL3A1</i>	AD	chr2:189873678/c.3554G>A(p.G1185D)	P	新发	错义变异	Ehlers-Danlos 综合征 4 型
P17	<i>COMP</i>	AD	chr19:18896845/c.1417-1419dupGAC(p.D473dup)	P	新发	非移码变异	假性软骨发育不全
P18	<i>COMP</i>	AD	chr19:18898453/c.982T>G(p.C328G)	LP	新发	错义变异	假性软骨发育不全
P19	<i>COMP</i>	AD	chr19:18899046/c.950A>G(p.D317G)	LP	母亲	错义变异	假性软骨发育不全
P20	<i>CYP27B1</i>	AR	chr12:58157010/c.1442delA(p.E481Gfs*60)	LP	父亲	移码变异	维生素 D 依赖性佝偻病 I 型
			chr12:58159269/c.400T>C(p.W134R)	LP	母亲	错义变异	
P21	<i>EP300</i>	AD	chr22:41573793-41573800/c.6078-6085delCATGGCTC (p.N2026Nfs*44)	P	新发	移码变异	Rubinstein-Taybi 综合征
P22	<i>FBN1</i>	AD	chr15:48752455/c.5284G>A(p.G1762S)	LP	新发	错义变异	肢端过小性发育不良
P23	<i>FGFR3</i>	AD	chr4:c.1138G>C(p.G380R)	P	新发	错义变异	软骨发育不良
P24	<i>FGFR3</i>	AD	chr4:c.1138G>A(p.G380R)	P	新发	错义变异	软骨发育不良
P25	<i>FGFR3</i>	AD	chr4:1807371/c.1626C>A(p.N542K)	P	新发	错义变异	软骨发育不良
P26	<i>FGFR3</i>	AD	chr4:1803398/c.667C>T(p.R223C)	LP	新发	错义变异	软骨发育不良
			chr4:1803406/c.675C>G(p.N225K)	LP	新发	错义变异	
P27	<i>G6PC</i>	AR	chr17:41056043/c.326G>A(p.C109Y)	P	双亲	错义变异	糖原贮积症 I a 型
P28	<i>G6PD</i>	XD	chrX:153760472/c.1478G>A(p.R493H)	LP	母亲	错义变异	G6PD 缺乏型溶血性贫血
P29	<i>GALC</i>	AR	chr14:88406259/c.1901T>C(p.L634S)	LP	双亲	错义变异	Krabbe 病
P30	<i>GALNS</i>	AR	chr16:88893230/c.1019G>A(p.G340D)	LP	母亲	错义变异	黏多糖贮积症 IVA 型
P31	<i>GALNS</i>	AR	chr16:88898455/c.953T>G(p.M318R)	P	父亲	错义变异	黏多糖贮积症 IVA 型
			chr16:88908305/c.319G>A(p.A107T)	P	母亲	错义变异	
P32	<i>GHI</i>	AD, AR	chr17:61995741/c.130_136del7(p.H44Cfs*54)	LP	母亲	移码变异	单纯性生长激素缺乏症
P33	<i>HGD</i>	AR	chr3:120360507/c.808G>A(p.G270R)	LP	双亲	错义变异	尿黑酸尿症
P34	<i>HNRNP1</i>	AD	chr1:245019323/c.2049-2050delGA(p.N684Hfs*8)	LP	新发	移码变异	早期婴儿型癫痫性脑病 54 型
P35	<i>IDS</i>	XR	ChrX:148564524/c.1406C>T(p.P469L)	P	母亲	错义变异	黏多糖贮积症 II 型
P36	<i>IDUA</i>	AR	chr4:996121/c.1037T>G(p.L346R)	LP	母亲	错义变异	黏多糖贮积症 I-H 型
			chr4:995888/c.911delT(p.V304Gfs*13)	LP	父亲	移码变异	
P37	<i>IDUA</i>	AR	chr4:996554-996555/c.1224-1225insG(p.G409Gfs*100)	P	父亲	移码变异	黏多糖贮积症 I-H 型
			chr4:995663/c.786C>G(p.H262Q)	LP	母亲	错义变异	
P38	<i>KIF1A</i>	AD, AR	chr2:241715312/c.914C>T(p.P305L)	LP	新发	错义变异	常显遗传性精神发育迟缓 9 型
P39	<i>KMT2A</i>	AD	chr11:118374045/c.7429C>T(p.R2477*)	LP	母亲	无义变异	Wiedemann-Steiner 综合征
P40	<i>KMT2A</i>	AD	chr11:118348817/c.3470A>C(p.Q1157P)	LP	新发	错义变异	Wiedemann-Steiner 综合征
P41	<i>MMAHC</i>	AD	chr1:45974605/c.567dupT(p.I190Yfs*13)	LP	双亲	移码变异	甲基丙二酸尿症
P42	<i>NFI</i>	AD	chr17:29563012/c.3947-3948delAT(p.H1316Rfs*2)	P	新发	移码变异	神经纤维瘤病 1 型
P43	<i>NIPBL</i>	AD	chr5:37061073/c.7816dupA(p.I2606Nfs*26)	LP	新发	移码变异	Cornelia de Lange 综合征 1 型
P44	<i>NNT</i>	AR	chr5:43609297-43613239/loss1 (EXON:2-3) (4K)	LP	母亲	缺失变异	糖皮质激素缺乏症 4 型
P45	<i>NR5A1</i>	AD	chr9:127253503/c.995delA (p.E332Gfs*2)	P	新发	移码变异	肾上腺皮质功能不全
P46	<i>PHEX</i>	XD	chrX:22266002/c.2182C>T(p.Q728*)	LP	新发	无义变异	X 连锁低磷酸盐血症
P47	<i>PHEX</i>	XD	chrX:22245716/c.2058dupG (p.S687Efs*30)	LP	母亲	移码变异	X 连锁低磷酸盐血症
P48	<i>PHEX</i>	XD	chrX:22239798/c.1838dupA (p.T615Nfs*5)	P	新发	移码变异	X 连锁低磷酸盐血症
P49	<i>PHEX</i>	XD	chrX:22231033/c.1658G>A (p.G553E)	LP	父亲	错义变异	X 连锁低磷酸盐血症
P50	<i>PHEX</i>	XD	chrX:22263483/c.2104C>T (p.R702X)	P	父亲	无义变异	X 连锁低磷酸盐血症
P51	<i>PHEX</i>	XD	chrX:22263483/c.2104C>T (p.R702X)	P	新发	无义变异	X 连锁低磷酸盐血症
P52	<i>PHEX</i>	XD	chrX:22231074/c.1699C>T (p.R567X)	P	新发	无义变异	X 连锁低磷酸盐血症
P53	<i>PIK3R1</i>	AD	chr5:67589664/c.1425+2 (IVS11) T>G	P	新发	剪切位点变异	SHORT 综合征
P54	<i>PITX1</i>	AD	chr5:134364909/c.505C>T (p.Q169*)	LP	新发	无义变异	Liebenberg 综合征
P55	<i>POU1F1</i>	AD, AR	chr3:87309109/c.889C>T (p.R297W)	P	新发	错义变异	联合型垂体激素缺乏症 1 型
P56	<i>PTPN11</i>	AD	chr12:112888166/c.182A>G (p.D61G)	P	新发	错义变异	Noonan 综合征
P57	<i>PTPN11</i>	AD	chr12:112926890/c.1510A>G (p.M504V)	P	新发	错义变异	Noonan 综合征
P58	<i>PTPN11</i>	AD	chr12:112888158/c.174C>G (p.N58K)	P	新发	错义变异	Noonan 综合征
P59	<i>PUF60</i>	AD	chr8:144903784/c.280C>T (p.Q94*)	LP	新发	无义变异	Verheij 综合征
P60	<i>SHOX</i>	AD, AR	chrX:591633-605371/全基因缺失	P	父亲	缺失变异	SHOX 缺乏相关疾病
P61	<i>SIL1</i>	AR	chr5:138456814/c.154G>T (p.E52*)	LP	母亲	无义变异	Marinesco-Sjogren 综合征
P62	<i>SRCAP</i>	AR	chr16:30748691/c.7330C>T (p.R2444X, 787)	P	新发	无义变异	Floating-Harbor 综合征
P63	<i>SRCAP</i>	AD	chr16:30748664/c.7303C>T (p.R2435*)	P	新发	无义变异	Floating-Harbor 综合征
P64	<i>STXBPI</i>	AD	chr9:130434329-130439032/loss1 (4704bp)	P	新发	缺失变异	早发性婴儿癫痫性脑病 4 型
P65	<i>TCF20</i>	AD	chr22:42608353/c.2959C>T (p.P987S)	LP	新发	错义变异	发育迟缓伴可变的智力障碍和行为异常
P66	<i>VDR</i>	AR	chr12:48251373/c.526G>T (p.E176X, 302)	P	父亲	无义变异	维生素 D 依赖性佝偻病 2A 型
			chr12:48272775/c.122G>A (p.C41Y)	LP	母亲	错义变异	
P67	<i>7p22q36</i>	-	chr7:2255801-157049585/>154.79Mb 单亲二倍体	P	新发	基因印记	Silver-Russell 综合征
P68	<i>chr7mUPD</i>	-	-	LP	新发	基因印记	Silver-Russell 综合征
P69	<i>chrX</i>	-	-	LP	新发	染色体异常	Klinefelter 综合征

注:LP 指可能致病,P 指致病

表 3 检出致病和可能致病拷贝数变异信息

患者	拷贝数变异	变异位点	大小	ACMG结论	来源	相关疾病
P70	10q26.3	chr10:135176372-135379033	>202 kb 缺失	LP	新发	10q26.3 微缺失综合征
P71	12p13	chr12:394622-6058369	>5.6 Mb 缺失	LP	新发	12p13 微缺失综合征
P72	18q22.1q23	chr18:66344170-77748392	>11.4 Mb 缺失	P	新发	18q22.1q23 缺失综合征
P73	2q21.1q22.3	chr2:130949404-145274917	> 14.3 Mb 缺失	LP	新发	2q21.1q22.3 缺失综合征
P74	2q37	chr2:233599908-242800990	>9.30 Mb 缺失	P	新发	2q37 缺失综合征
	20p13	chr20:123270-2644834	>2.52 Mb 重复	LP	新发	20p13 重复综合征
P75	22q11.2	chr22:21062335-21351637	>289.5 kb 缺失	LP	新发	22q11.2 缺失综合征
P76	22q11.2	chr22:18659538-21905265	3.25 Mb	LP	-	22q11 缺失综合征
P77	22q11.21	chr22:18900688-21351637	>2.45 Mb 缺失	P	新发	DiGeorge 综合征
P78	4p16.3p15.2	chr4:331773-26432629	>26.1 Mb 重复	P	新发	4p 三体综合征
P79	7q11.23	chr7:72652158-74122158	1.47 Mb 缺失	P	母亲	Williams-Beuren 综合征
P80	7q11.23	chr7:72411560-75478317	~ 3.07 Mb 缺失	LP	新发	Williams-Beuren 综合征
P81	7q11.23	chr7:72742432-73483030	>740.5 kb 缺失	P	新发	Williams-Beuren 综合征

非综合征性身材矮小基因阳性诊断率为 30.11%,明显低于综合征性矮小症患者,然而非综合征性矮小患者也检出导致综合征性矮小的基因变异,这可能是由于疾病早期阶段临床表型尚未完全出现,增加了诊断难度。生长激素缺乏症是本研究患儿就诊的第二大常见原因。孤立性生长激素缺乏症可能是联合垂体激素缺乏症的早期表现,其他垂体功能障碍可能在生长激素缺乏症诊断后的任何时间出现,因此对于诊断为 GHD 但尚无其他垂体激素缺乏表型的患者,长期随访至关重要^[14]。患者 P53 检出位于 PIK3R1 的新发杂合变异:c.1425+2(IVS11)T>G,导致 SHORT 综合征。Verge CF 等^[15]报道了 1 例 SHORT 综合征患者,重组人生长激素(recombinant human growth hormone,rhGH)治疗后身高明显增长,但 2 年后出现糖尿病,而 rhGH 有诱发高胰岛素血症的风险,可能加重 SHORT 综合征胰岛素抵抗,因此 rhGH 的选择应慎重。特发性矮小(idiopathic short stature,ISS)为排除 GHD、SGA、内分泌缺陷、骨骼发育障碍、慢性器质性疾病、严重营养不良、心理障碍等导致的矮身材。本队列中有 29 例(16.57%)既往内分泌检查均正常的矮小症患者诊断为 ISS,最近的研究提出许多被归类为 ISS 的儿童可能存在单基因缺陷^[16],本队列在 29 例 ISS 患者中检出 2 例 ACAN 变异,1 例 GALC 变异,一个染色体异常(47,XXY)和 1 例基因印记异常,分子诊断阳性率为 13.79%,高于文献报道 ISS 基因诊断阳性率^[17]。检测结果阴性的患者可能为体质性生长发育延迟或致病基因不在已知范围内,需要对这部分人随访成年终身高,必要时做二代测序原始数据重分析甚至全基因组测序。本研究中 SGA 患者平均诊断年龄为 3 岁,患儿生后持续身材矮小而没有明确原因,

基因检测结果阳性有 2 例,包括 1 例 MMACHC 突变和 1 例基因印记异常。SGA 原因复杂,母孕期健康状况、生产因素、胎盘功能和遗传因素均可参与^[18]。据报道,与 SGA 相关的异常甲基化存在于大量基因中,而 DNA 甲基化受许多基因调控。对于基因检测未发现异常的患者,可能需要进行甲基化分析以识别 Silver Russell 综合征、Temple 综合征等甲基化疾病^[19]。

近年来,随着矮小症遗传病因的研究逐渐增多,除单基因缺陷会导致矮小症外,染色体异常、基因印记、拷贝数变异等也是不能忽略的原因^[2]。本队列检出 2 例位于 7 号染色体母源性单亲二倍体(maternal uniparental disomy,mUPD),临床症状较轻,1 例因不明原因矮小临床诊断 ISS,另 1 例诊断 SGA。其他基因印记疾病还包括 Prader-Willi 综合征、假性甲状旁腺功能减退症等,未在本研究中检出。患者 P69 基因检测及染色体核型分析诊断 Klinefelter 综合征,该综合征是最常见的染色体疾病之一,本例患者为不典型 Klinefelter 综合征,早期诊断有利于对患者隐睾症、语言和学习能力的早期评估和干预提供益处^[20]。此外,本病例也突破了传统对 Klinefelter 综合征高身材的认知^[21]。几项关于矮身材患者 CNVs 的研究表明,致病或可能致病的 CNVs 可解释 4%~13%的 ISS、16%未追赶 SGA 和综合征性矮小的病因^[22-23]。本队列对 136 患者行 CNVs 分析,其中 12 例经评估为致病或可能致病变异,在这 12 例患者中,以片段缺失最常见,仅 1 例为染色体片段重复,还有 1 例携带复杂 CNVs,这些 CNVs 在身材矮小的遗传机制中发挥重要作用,因为 CNVs 的结果可以推动对矮小关键基因组区域或基因的鉴定。本队列检出的 CNVs 分布于各个疾病中,其中综

合征性矮小中检出的 CNVs 更多,通常是在有特殊面容和(或)神经发育障碍的患者中。基因检测结果阴性的患者可能存在检测方法不覆盖的变异,如内含子区域、表观遗传学修饰、染色体重排等情况,可以通过进一步改进检测方式或使用全基因组测序来弥补。

综上所述,矮身材可能是某些罕见的复杂的综合征的临床表型之一,由于这类疾病具有复杂的遗传异质性,因此在临床上也表现出复杂的表型异质性。本研究将二代测序应用于矮小症患者的临床研究,总检出率为 46.29%,扩展了对矮小症患者基因型-表型的认知,明确了部分矮小症的遗传病因,其中综合征性矮小患者的基因阳性率高于非综合征性矮小症患者,但广泛的表型重叠和遗传异质性导致临床诊断困难。明确的基因诊断结果能帮助临床医生在精准诊疗、遗传咨询及个性化随访方案制定方面提供依据。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组. 矮身材儿童诊治指南[J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(6): 428-430.
The Subspecialty Group of Endocrinologic, Hereditary and Metabolic Diseases, The Society of Pediatrics, Chinese Medical Association. Guidelines for diagnosis and treatment of children with short stature[J]. Chin J Pediatr, 2008, 46(6): 428-430.
- [2] Wit JM, Oostdijk W, Losekoot M, et al. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: novel genetic causes of short stature[J]. Eur J Endocrinol, 2016, 174(4): R145-R173.
- [3] Baron J, Säwendahl L, de Luca F, et al. Short and tall stature: a new paradigm emerges[J]. Nat Rev Endocrinol, 2015, 11(12): 735-746.
- [4] Marouli E, Graff M, Medina-Gomez C, et al. Rare and low-frequency coding variants alter human adult height[J]. Nature, 2017, 542(7640): 186-190.
- [5] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. 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[J]. Genet Med, 2015, 17(5): 405-424.
- [6] Rogol AD, Hayden GF. Etiologies and early diagnosis of short stature and growth failure in children and adolescents[J]. J Pediatr, 2014, 164(5 Suppl): S1-S14. e6.
- [7] Xu SS, Gu XF, Pan H, et al. Reference ranges for serum IGF-1 and IGFBP-3 levels in Chinese children during childhood and adolescence[J]. Endocr J, 2010, 57(3): 221-228.
- [8] Khan I, Leventhal BL. Developmental Delay[A]//StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing LLC., 2021.
- [9] 张 乐. 重组人生长激素治疗矮小症的有效性评价[J]. 临床医学研究与实践, 2017, 2(15): 90-91.
Zhang L. Effectiveness evaluation of recombinant human growth hormone in the treatment of short stature[J]. Clin Res Pract, 2017, 2(15): 90-91.
- [10] Yang LL, Zhang CH, Wang W, et al. Pathogenic gene screening in 91 Chinese patients with short stature of unknown etiology with a targeted next-generation sequencing panel[J]. BMC Med Genet, 2018, 19(1): 212.
- [11] Hauer NN, Popp B, Schoeller E, et al. Clinical relevance of systematic phenotyping and exome sequencing in patients with short stature[J]. Genet Med, 2018, 20(6): 630-638.
- [12] Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision[J]. Am J Med Genet A, 2019, 179(12): 2393-2419.
- [13] Pauli RM. Achondroplasia: a comprehensive clinical review[J]. Orphanet J Rare Dis, 2019, 14(1): 1.
- [14] van Iersel L, van Santen HM, Zandwijken GRJ, et al. Low FT4 concentrations around the start of recombinant human growth hormone treatment: predictor of congenital structural hypothalamic-pituitary abnormalities[J]. Horm Res Paediatr, 2018, 89(2): 98-107.
- [15] Verge CF, Donaghue KC, Williams PF, et al. Insulin-resistant diabetes during growth hormone therapy in a child with SHORT syndrome[J]. Acta Paediatr, 1994, 83(7): 786-788.
- [16] Vasques GA, Andrade NLM, Jorge AAL. Genetic causes of isolated short stature[J]. Arch Endocrinol Metab, 2019, 63(1): 70-78.
- [17] Perchard R, Murray PG, Payton A, et al. Novel mutations and genes that impact on growth in short stature of undefined aetiology: the EPIGROW study[J]. J Endocr Soc, 2020, 4(10): bvaa105.
- [18] Sharma D, Sharma P, Shastri S. Genetic, metabolic and endocrine aspect of intrauterine growth restriction: an update[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2017, 30(19): 2263-2275.
- [19] Finken MJJ, van der Steen M, Smeets CCJ, et al. Children born small for gestational age: differential diagnosis, molecular genetic evaluation, and implications[J]. Endocr Rev, 2018, 39(6): 851-894.
- [20] Akcan N, Poyrazoğlu S, Bas F, et al. Klinefelter syndrome in childhood: variability in clinical and molecular findings[J]. J Clin Res Pediatr Endocrinol, 2018, 10(2): 100-107.
- [21] Zitzmann M, Rohayem J. Gonadal dysfunction and beyond: clinical challenges in children, adolescents, and adults with 47, XXY Klinefelter syndrome[J]. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2020, 184(2): 302-312.
- [22] Homma TK, Krepischi ACV, Furuya TK, et al. Recurrent copy number variants associated with syndromic short stature of unknown cause[J]. Horm Res Paediatr, 2018, 89(1): 13-21.
- [23] Hu GR, Fan YJ, Wang LL, et al. Copy number variations in 119 Chinese children with idiopathic short stature identified by the custom genome-wide microarray[J]. Mol Cytogenet, 2016, 9: 16.

(责任编辑:唐秋姗)