

• 临床研究 •

6 例 Currarino 综合征 *HLXB9* 基因突变的探讨

王 跃 吴晔明

【摘要】 目的 研究 Currarino 综合征患者 *HLXB9* 基因突变情况。**方法** 采用 PCR、DNA 直接测序的方法对 6 例 Currarino 综合征进行 *HLXB9* 突变检测,突变经双向测序证实。**结果** 2 例家族性 Currarino 综合征患儿中均发现 1 种新的杂合无义突变(c.552C>G; p. Tyr184X),而 4 例散发性病例未发现异常。**结论** Currarino 综合征与 *HLXB9* 基因相关,2 例家族性病例 *HLXB9* 基因突变检出率与国外类似,4 例散发性病例检出率低于报道的 30%。

【关键词】 Currarino 综合征;基因

Currarino 综合征是由骶骨发育不全,肛门直肠畸形和骶前肿块构成的一种常染色体显性遗传疾病,最早由 Currarino 等人提出,又称为 Currarino 三联征^[1]。Yates 等^[2]在 1983 年报道了 Currarino 综合征在家族中表现为显性遗传。Ross 等^[3]进一步证实 *HLXB9* 基因的突变可能是 Currarino 综合征的主要原因。*HLXB9* 基因位于染色体 7q36,包括 3 个外显子,编码 403 个氨基酸的转录因子 HB9 蛋白。*HLXB9* 基因进化上高度保守,不仅涉及尾部发育,也是胰腺正常发育和脊髓运动神经元分化所必需。目前已报道 *HLXB9* 基因位点的突变约 70 个,主要来自西方国家。作者对新华医院近年收治的 6 例 Currarino 综合征患儿进行了 *HLXB9* 基因突变检测。

资料与方法

一、临床资料

2009 年 9 月至 2010 年 5 月,上海交通大学医学院附属新华医院收治 6 例 Currarino 综合征患儿,其中 2 例是姐弟,家属中没有类似病例发生,其余 4 例无血缘关系,亲属无相关病史提供。男 4 例,女 2 例。年龄最大 11 岁,最小 3 个月。6 例患儿中 5 例肛门闭锁,1 例为一穴肛。6 例骶前肿块患儿中,3 例为骶管脂肪瘤,1 例为脊髓脊膜膨出,1 例为畸胎瘤,1 例为表皮囊肿;其中 3 例合并脊髓栓系或脊髓空洞,2 例家族性病例同时合并先天性巨结肠。腰骶部 MRI 均提示不同程度骶骨发育不良。根据病史、症状、体征和腰骶部 MRI 临床诊断为 Currarino

综合征。所有检查均获得患儿家长知情同意。

二、实验方法

1. 基因组 DNA 提取:抽取并分离患儿及其父母外周血白细胞,结果阳性的同时抽取患儿三代以内直系亲属样品进行家族性分析,提取的 DNA 于 -20℃ 保存。

2. *HLXB9* 基因突变分析:采用的引物序列和扩增条件见表 1,其中 *EX1A*、*EX1B*、*EX1D*、*EX2*、*EX3* 引物进行 PCR 扩增后直接测序,*EX1C* 引物 PCR 扩增后进行亚克隆,再对产物进行测序。PCR 产物经由 ABI 3730 自动测序仪测序(上海杰李生物技术有限公司),突变均由双向测序证实,并对患儿父母行 *HLXB9* 基因检测,分析突变来源。

表 1 *MX1* (*HLXB9*) 基因 PCR 扩增引物及条件

| 引物名称 | 引物序列(5' → 3') | 长度 (bp) | 退火温度 (℃) |
|------|---|---------|----------|
| Ex1A | F: GCTGAGTTTCGGCGGCGACTTT R: CGCGCGCGAGCGACGTACCAA | 261 | 70 |
| Ex1B | F: CGCGCGCGTGGCCTTGCTCA R: GCGCGGATGCGCGTGGTGTG | 286 | 70 |
| Ex1C | F: TGCTGCCCAAGCGGGCTTCCTG R: CGCGCGCGCGGAGTAGCCGTAGAC | 248 | 70 |
| Ex1D | F: GGCGCTCTACGGCCACCCGGTCTA R: ACGGGGGCGCGAGGCTACTACAG | 246 | 67 |
| EX2 | F: GCCTCACTGCCCTTTGGTC R: CAGCGCTAGATGCCTCAGA | 283 | 61 |
| EX3 | F: CCTGCCGATTCTGCTTCTAA R: CCCTTGCTTAAAGGGAAGC | 700 | 56 |

3. 利用 Sequencher 4.9 软件对测序结果和 *HLXB9* 标准基因序列 (GenBank NG_013212.1) 比对,确认突变的位点。

结 果

2 例家族性病例中发现 1 个新的杂合无义突变 (c. 552C > G; p. Tyr184X), 该突变累及高度保守区域。对家族其余成员的检测发现该位点突变同样存在于两患儿母亲和外祖母中。患儿母亲和外祖母是无症状携带者。其余 4 例散发性 Currarino 综合征患儿中, 未发现 *HLXB9* 基因位点异常。

讨 论

Currarino 综合征的骶骨发育不全、肛门直肠畸形和骶前肿块在尾芽具有共同的胚胎起源^[4]。典型的 Currarino 综合征骶骨发育不全表现为半骶骨, 伴有完整的第一骶椎 (又称为镰刀形骶骨), 此种骶骨异常是该综合征的特征性表现。肛门直肠畸形可以表现为肛门狭窄, 肛门闭锁伴或不伴有泌尿生殖系统瘻。骶前肿块的性质可以是前脊膜膨出、畸胎瘤、脂肪瘤、皮样囊肿、直肠重复等。

肛门直肠畸形引起便秘是 Currarino 综合征的常见症状, 60% 的患儿表现为肛门狭窄^[5]。便秘的危险并发症是肛门或直肠瘻, 当与脊髓相通时可以诱发脑膜炎。因此建议对肛门直肠畸形或持续顽固性便秘的患儿进行腰骶部 X 线或 MRI 检查以排除 Currarino 综合征。

早在 1998 年, Ross 等人就首次提出 *HLXB9* 基因是 Currarino 综合征的主要致病位点。目前, *HLXB9* 基因突变和 Currarino 综合征之间的相关性已毋庸置疑, 且 *HLXB9* 基因突变是通过单倍体剂量不足机制导致 Currarino 综合征的, 即野生型的整体水平或 *HLXB9* 基因产生的功能蛋白是正常水平的一半, 从而引起异常的临床表型^[6]。

作者发现的新的杂合无义突变 (c. 552C > G; p. Tyr184X) 累及高度保守区域, 如果正常转录, 将缺失整个同源结构域。同源结构域被认为是转录因子 HB9 蛋白与 DNA 结合的区域, 这个区域的缺失必定会影响 HB9 蛋白的功能。*HLXB9* 基因突变在几乎所有家族性病例和约 30% 的散发性病例中可以检出到, 但本组 4 例散发性患儿中没有检测到 *HLXB9* 基因的异常。编码区外和假定的启动子区域的突变以及体细胞镶嵌都可以提供解释, 遗传异质性也是解释非 *HLXB9* 突变的另一种可能^[4]。

Currarino 综合征的表型具有多变性^[7]。本组

家族性病例携带相同突变的 4 位家族成员中, 2 例表现为典型的 Currarino 综合征, 2 例为无症状携带者, 文献中还报道过携带相同突变基因的非相关患儿的临床表型也可以不同, 提示 Currarino 综合征的临床表现及严重性可能不仅仅依赖于 *HLXB9* 基因的突变, 可能还存在其他基因或蛋白 (修饰物) 作用于 *HLXB9* 基因本身或其编码的蛋白^[8]。由于 Currarino 综合征表型的多变性, 当患儿仅有部分表型符合, 也要考虑到患 Currarino 综合征的可能。Currarino 综合征虽然以常染色体显性遗传方式传递, 由于其较低临床外显率, 可以发现许多无症状的 *HLXB9* 基因突变携带者。因而, *HLXB9* 基因突变的患儿人数存在被低估的可能。

目前, Currarino 综合征的诊断方法是腰骶部 MRI 检查, 存在骶骨发育不全时, 再对患儿及亲属行 *HLXB9* 基因突变检测以及影像学检查, 明确 Currarino 综合征病例是家族性还是散发性。虽然 Currarino 综合征没有建立基因表型相关性, 但进行 *HLXB9* 基因检测对遗传咨询仍然具有一定意义。

参 考 文 献

- 1 Currarino G, Coln D, Votteler T. Triad of anorectal, sacral, and presacral anomalies [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 1981, 137:395-398.
- 2 Yates VD, Wilroy RS, Whittington L, Simmons JCH. Anterior sacral defects: an autosomal dominantly inherited condition [J]. *J Pediatr* 1983, 102:239-242.
- 3 Ross AJ, Ruiz-Perez V, Wang Y, et al. A homeobox gene, *HLXB9*, is the major locus for dominantly inherited sacral agenesis [J]. *Nat Genet* 1998, 20:358-361.
- 4 Cr  t  lle C, Pelet A, et al. Spectrum of *HLXB9* gene mutations in Currarino syndrome and genotype-phenotype correlation [J]. *Hum Mutat*, 2008, 29(7):903-910.
- 5 M Samuel, G Hosie, K Holmes. Currarino triad-diagnostic dilemma and a combined surgical approach [J]. *Journal of Pediatric Surgery*, 2000, 35, (12): 1790-1794.
- 6 Garcia-Barcel   MM, Lui VC, et al. MNX1 (*HLXB9*) mutations in Currarino patients [J]. *J Pediatr Surg*, 2009, 44(10):1892-1898.
- 7 Lynch SA, Wang Y, Strachan T, et al. Autosomal dominant sacral agenesis: Currarino syndrome [J]. *J Med Genet*, 2000, 37:561-566.
- 8 Garcia-Barcel   M, So MT, Lau DK, et al. Population differences in the polyalanine domain and 6 new mutations in *HLXB9* in patients with Currarino syndrome [J]. *Clin Chem*, 2006, 52:46-52.