

论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.05.006

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211118.1408.006.html\(2021-11-19\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211118.1408.006.html(2021-11-19))

KMT2D 基因 c.7168_c.7169 delCC 杂合突变致歌舞伎综合征 1 例报道*

郭谦楠,王红丹,侯巧芳,廖世秀,刘红彦,王莉[△]

(河南省人民医院医学遗传研究所/河南省遗传性疾病功能基因组重点实验室/国家卫生健康委出生缺陷预防重点实验室/郑州大学人民医院/河南大学人民医院,郑州 450003)

[摘要] **目的** 对 1 例具有先天性心脏病合并特殊面容和发育迟缓的患儿进行基因诊断。**方法** 对患儿进行外周血全基因组拷贝数变异(CNV)检测和全外显子测序检测。**结果** 患儿外周血全外显子测序显示,KMT2D 基因存在 c.7168_c.7169 del CC 杂合突变且患儿母亲和父亲均未检测到此突变,该突变符合由 KMT2D 基因突变导致的常染色体显性遗传病——歌舞伎综合征(KS)的发病机制;根据美国遗传学和基因组学学会指南并结合突变影响和患儿临床症状的综合分析判定该变异符合“致病突变”且与患儿临床症状相符;经 ClinVar 和 HGMD 等数据库搜索未发现此突变的记载,此突变为未曾报道过的新致病突变。患儿外周血全基因组 CNV 检测显示,未发现临床明确致病或可疑致病的 CNV 变异。**结论** 患儿为 KMT2D 基因新发突变导致的 KS I 型。

[关键词] 歌舞伎综合征;先天性心脏病;高通量全外显子测序;拷贝数变异;新发突变;赖氨酸甲基转移酶

[中图分类号] R394 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)05-0753-04

Kabuki syndrome resulted from heterozygous KMT2D c.7168_c.7169 delCC mutation: a case report*

GUO Qiannan, WANG Hongdan, HOU Qiaofang, LIAO Shixiu, LIU Hongyan, WANG Li[△]

(Department of Medical Genetic Center of Henan Provincial People's Hospital/Henan Provincial Key Laboratory of Genetic Diseases and Functional Genomics National Health Commission Key Laboratory of Birth Defects Prevention/the People's Hospital of Zhengzhou University/the People's Hospital of Henan University, Zhengzhou, Henan 450003, China)

[Abstract] **Objective** Genetic diagnosis was performed in a child with congenital heart disease combined with special facial features and developmental delay. **Methods** The high throughput whole-genomic exon sequencing and the copy number variance (CNV) of whole genomic DNA from peripheral blood were tested. **Results** The high throughput exon sequencing revealed that the KMT2D gene had a heterozygous mutation of c.7168_c.7169 del CC in the child. While, this mutation was not detected in her parents and it's consistent with the pathogenesis of an autosomal dominant genetic disease caused by KMT2D gene mutation, called Kabuki syndrome (KS). According to the American College of Medical Genetics and Genomics guidelines and combined with the impact of mutation and clinical symptoms, the comprehensive analysis determined that the variant met the "pathogenic mutation" and was consistent with the clinical symptoms of the child. According to the searches through ClinVar, HGMD and other databases, this mutation has not been reported before, as an unreported novel pathogenic mutation. No clinically pathogenic or suspected pathogenic CNV variants were found through whole genomic CNV detection in the peripheral blood of the child. **Conclusion** The Child is the KS I type caused by new mutations in the KMT2D gene.

[Key words] Kabuki syndrome; congenital heart defect; high throughput whole-genomic exon sequencing; copy number variance; de novo mutation; lysine methyltransferase 2D

赖氨酸甲基转移酶 2D(lysine methyltransferase 2D, KMT2D)也称为 MLL2 或 MLL4, 位于 12q13.12

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81501336);河南省医学科技攻关计划项目(2018020388)。作者简介:郭谦楠(1984—),助理研究员,硕士,主要从事优生优育和出生缺陷预防研究。△ 通信作者, E-mail: wl_6008@163.com。

(NC_000012.12), cDNA 长约 42 kb, 有 54 个外显子, 编码 5 537 个氨基酸, 其编码的蛋白质是组蛋白甲基转移酶, 甲基化组蛋白 H3 的 4 号赖氨酸(H3K4)位置^[1-3]。KMT2D 在调节发育、分化、新陈代谢和抑制肿瘤方面发挥着重要作用, 且该基因经常在发育性疾病如歌舞伎综合征(Kabuki syndrom, KS)和先天性心脏病(congenital heart defect, CHD)中发生突变^[4]。

KS 是一组具有特殊面部、骨骼发育异常、皮肤纹理异常、先天内脏发育畸形、出生后生长受限和轻中度智力障碍等为主要特征的常染色体显性遗传性疾病^[5]。约 70% 的患者由 KMT2D 或赖氨酸甲基转移酶 6A(lysine demethylase 6A, KDM6A) 基因突变引起^[5], 这两个基因的突变通过对组蛋白修饰的影响而改变染色质构型, 从而引起基因表达的改变^[6]。其中, 与 KMT2D 基因突变有关的 KS 称为 KS I 型, 占 44%~75%, 为常染色体显性遗传^[7-8]。与 KDM6A 相关的 KS 称为 KS II 型, 占 3%~5%, 为 X 连锁显性遗传^[8-9]。该病最早报道于日本人群中, 发病率约为 1/32 000^[10], 澳大利亚和新西兰发病率约为 1/86 000^[11]。在我国, 由于发病率低, 还未有确切的统计。本研究分析 1 例由于 KMT2D 基因突变所导致 KS 的患儿临床及遗传学特点, 现报道如下。

1 临床资料

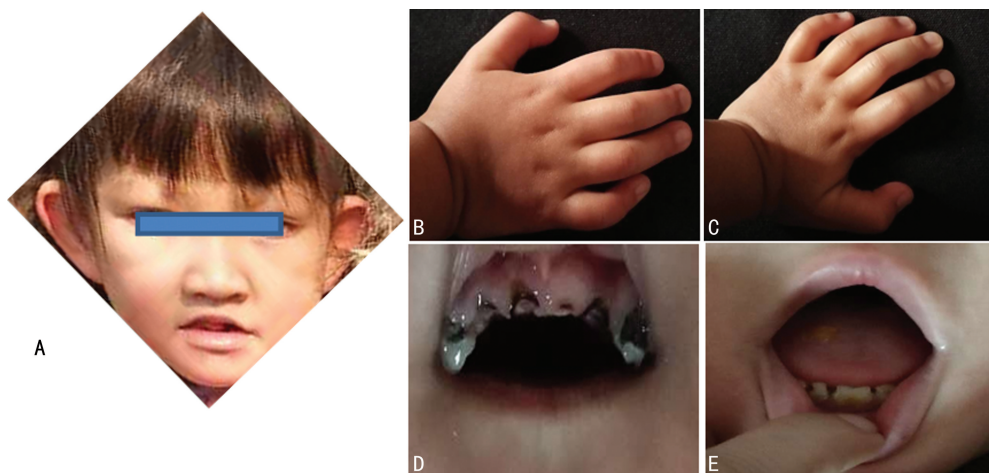
患儿, 女, 5 岁, 招风耳、大耳朵、眼距宽、塌鼻头、眉毛淡、多动, 2 岁前反复肺炎, CHD(房间隔、室间隔缺损)、心脏修补手术 1 个月后癫痫发作, 运动发育迟缓、智力低下、不会说话、4 岁才会走路, 于 2019 年 11

月就诊于本院医学遗传研究所。患儿系第 1 胎、第 1 产、足月顺产, 染色体核型正常。8 个月时头颅磁共振成像: 胼胝体显示较薄、双侧小脑半球异常信号, 考虑为顺磁性物质沉积。患儿父母非近亲结婚, 且无家族遗传病史。

体格检查: 听力受损, 特殊面容(招风耳、大耳朵、鼻根宽、拱形眉并伴外 1/3 稀疏、眼裂大并向外侧延伸、下眼睑外翻、鼻尖扁平、上唇薄翘、下唇丰满厚、牙齿萌出和排列异常及牙裂大畸形), 双手手指弯曲不能伸直伴持久的胎指垫, 见图 1。

基因组 DNA 提取: 采取患儿及其父母外周血 1~2 mL, 乙二胺四乙酸抗凝, 利用 TIANamp Genomic DNA Kit 试剂盒提取 DNA。采用 NanoDrop 2000 分光光度计进行 DNA 定量检测。

基因检测方法: (1) 外显子测序, 采用 Nimblegen 全外显子捕获芯片经 Illumina HiSeq 系列测序仪对外周血全基因组 DNA 进行外显子测序。(2) 拷贝数变异(CNV)检测, 采用 Human genome CGH Microarray 8X60K 芯片经 Affymetrix Gene Chip 扫描系统检测和分析。检测结果分析: 参考基因组序列采用 GRCH/Hg19 与患者基因检测结果进行比较分析并参考众多圈内数据库(DGV、Decipher、ISCA、ECA-RUCA、dbVar、OMIM、ClinGen、ClinVar 和 HGMD 等数据库), 对测得的患者基因序列进行突变分析; 对分析得出的高度致病或疑似致病突变的目标序列进行 PCR 后, 经 ABI 3730 测序仪进行 Sanger 测序验证。



A: 招风耳、大耳朵, 上唇薄翘、下唇丰满厚; B、C: 双手弯曲不能伸直; D、E: 牙齿萌出和排列异常及大牙裂。

图 1 患儿特征

CNV 检测未发现临床明确治病的 CNV 变异; 全外显子测序发现患儿存在 KMT2D 基因的 cDNA 序列的 7 168~7 169 处(均为外显子区)2 个 CC 碱基的杂合缺失突变(即: c. 7168_c. 7169 delCC)。该缺失突变导致其氨基酸编码框在第 2 390 位的脯氨酸突变为

丙氨酸并发生位移, 使位移后的第 3 个氨基酸发生无义突变使终止密码子提前出现, 从而造成肽链截断 [p. P2390Afs * 3(NM_003482)], 此突变归类为功能丧失突变(即 Loss-of-function 突变, 简称 LOF 突变)。根据美国遗传学和基因组学学会指南中的遗传

变异分类标准与指南综合分析该变异符合“PVS1 型强致病突变”,该突变可导致常染色体显性遗传的 KS I 型(OMIM:147920)。此外,患儿的特殊面容(大而发育不良的耳朵,鼻根宽,鼻尖扁平,拱形眉并伴外 1/3 稀疏,长眼裂,下眼睑外翻,少牙畸形和牙裂异常)、异常的手指结构(双手手指弯曲不能伸直、指尖垫突显)、智力障碍、听力受损、发育迟缓、室间隔缺损、房间隔缺损及癫痫发作这些表征均符合与 KMT2D 基因突变有关的 KS I 型的临床指征。因此,此患儿的 KMT2D 基因 c. 7168_c. 7169 delCC 杂合突变被认为是 KS I 型的致病突变。另外,对此突变进行 Sanger 测序验证后发现此突变仅存在于患儿中,患儿父母均无此突变(图 2),所以,此突变为患儿新发突变。经 ClinVar 和 HGMD 等数据库检索分析,未见此突变的报道,此突变为首次报道。

诊断:该患儿被诊断为 KS I 型,且 KMT2D 基因 c. 7168_c. 7169 delCC 杂合突变为该患儿的致病突变且为新发突变。

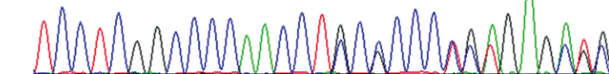
治疗:目前无临床有效的治愈方法,建议对症支持治疗。再次妊娠建议进行产前诊断。

NCBI 参照序列

T C C T C G G C C C C A A C C T C G C C C C C T G A G A G C

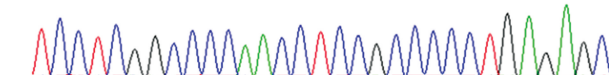
患儿序列

T C C T C G G C C C C A A C C T C C C C C C T G A G A G C T G



患儿之父序列

T C C T C G G C C C C A A C C T C G C C C C C T G A G A G C



患儿之母序列

T C C T C G G C C C C A A C C T C G C C C C C T G A G A G C

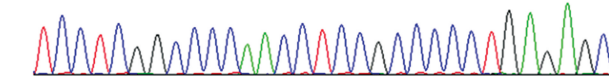


图 2 患儿及其父母的 KMT2D 基因 c. 7168_c. 7169 delCC 缺失突变的 Sanger 测序验证结果

2 讨论

KS 是一种罕见的出生缺陷遗传性疾病,已知约 70% 的 KS 主要是由于 KMT2D 基因突变引起的^[12-13]。因为很多 KS 的典型特征是随着患者年龄的增长才慢慢变得明显,这就造成了 KS 的早期临床诊断比较困难。鉴于 KMT2D 基因突变不仅与 KS 有关还与 CHD 有关,这就造成了 KMT2D 基因突变导致的 KS 患者绝大多数都伴有 CHD。

KMT2D 蛋白是一种被称为抗坏血酸的大蛋白复合物的一部分,它被证明是 β -珠蛋白和雌激素受体基因的转录调节器。最新的研究报道发现,KMT2D 基因可通过影响染色质的功能分区从而影响基因的表达和细胞核功能^[14]。因此,KMT2D 基因功能缺陷所

导致的 KS I 型可被认为是一种染色质调节障碍性疾病^[15]。在 KMT2D 基因敲除小鼠中,KMT2D 基因被发现与小鼠胚胎的肌肉和棕色脂肪前体细胞分化成肌肉和棕色脂肪细胞有关^[16],而心脏前体细胞和心肌组织中 KMT2D 基因的靶向缺失会导致严重的心脏缺损和胚胎死亡^[16-17],且神经胚细胞的 KMT2D 基因敲除可直接影响骨软骨祖细胞和神经胚细胞的分化并导致腭裂、下颌骨发育不良和颅底骨化缺陷及额鼻骨长度减少的面部发育不全^[4,18]。因此,KMT2D 基因不仅与胚胎致死性相关还与心脏发育及面部骨骼和神经细胞发育有关。

KMT2D 的功能主要由 C-端肽链区域(从约第 5 000 个氨基酸处开始至 C-端肽链结束)决定^[4]。这个区域主要包括 1 个植物同源结构域(plant homeodomains, PHD), 2 个富含苯丙氨酸和酪氨酸(FY)的序列和 1 个 SET 结构域^[4]。其中,SET 结构域负责组蛋白 H3 的 4 号赖氨酸位置的甲基化及维持 KMT2D 蛋白在细胞中的稳定性。其中,位于 SET 区域中的 Y5426 和 Y5512 两种氨基酸是人体内 KMT2D 活性的关键^[4]。在体外研究中发现,KMT2D 基因与转录增强子和转录因子共定位促进基因表达。在早期胚胎分化过程中^[4],KMT2D 基因被发现是组蛋白 H3K27 乙酰转移酶 CBP 和 p300 在基因增强子区结合、增强子活化及细胞特异性基因表达所必需的。KMT2D 基因在调节发育、分化、新陈代谢和抑制肿瘤方面均发挥着重要作用。

目前,已有超过 600 个 KMT2D 基因突变在 KS 患者中被报道过,其中约 84% 的突变会造成 KMT2D 蛋白截断突变从而导致蛋白功能丧失(即 LOF 突变)^[19-20],包括无义突变、小片段的插入和缺失及重复、剪切位点突变、移码突变。然而,多数 KMT2D 基因突变不仅导致 KS 还导致 KS 患者中同时出现 CHD 症状,这与临床中发现绝大多数 KS 患者同时患有 CHD 的现象一致^[21]。这些与 KS 患者中发生 CHD 相关的 KMT2D 基因突变中,多数为 LOF 突变和一些影响 KMT2D 甲基化功能的突变。

本研究中,该患儿的 KMT2D 基因中检测到 c. 7168_c. 7169 delCC(p. P2390Afs * 3)杂合缺失突变。此突变导致位于 KMT2D 蛋白的第 2 390 个氨基酸的脯氨酸转变为丙氨酸并使氨基酸编码框发生位移使位移后的第 3 个氨基酸发生无义突变使终止密码子提前出现,从而造成后面包括整个 KMT2D 蛋白关键功能区域 C-端肽链的丧失,使 KMT2D 蛋白丧失其功能。因此,此突变可归类为 LOF 致病突变^[22]。ClinVar 和 HGMD 等数据库均未见此突变位点的报道和收录。

综上所述,KS 为常染色体显性遗传病,而由 KMT2D 基因突变导致的 KS 则归为 KS I 型。这类疾病被认为是由于单拷贝的有效基因不足以产生足够的基因产物维持生物个体的性状,从而导致疾病的

发生。此研究中,患儿为 KMT2D 基因致病突变的携带者,符合 KS I 型的常染色体显性遗传方式。且该患儿的特殊面容、CHD、异常的手指结构、智力障碍、听力受损、发育迟缓及癫痫发作这些症状均符合 KS I 型的临床诊断指标(OMIM:147920)。因此,该名患儿被确诊为 KS I 型。鉴于该突变未在患儿父母中检测到,此突变可归类为新发突变。

参考文献

- [1] COLLINS B E, GREER C B, COLEMAN B C, et al. Histone H3 lysine K4 methylation and its role in learning and memory[J]. *Epigenetics Chromatin*, 2019, 12(1):7.
- [2] YANG L, JIN M, JEONG K W. Histone H3K4 methyltransferases as targets for drug-resistant cancers[J]. *Biology(Basel)*, 2021, 10(7):581.
- [3] KLONOU A, CHLAMYDAS S, PIPERI C. Structure, activity and function of the MLL2(KMT2B) protein lysine methyltransferase[J]. *Life(Basel)*, 2021, 11(8):823.
- [4] FROIMCHUK E, JANG Y, GE K. Histone H3 lysine 4 methyltransferase KMT2D[J]. *Gene*, 2017, 627:337-342.
- [5] STANGLER HERODEZ S, MARCUN VARDA N, KOKALJ VOKAC N, et al. De novo KMT2D heterozygous frameshift deletion in a newborn with a congenital heart anomaly[J]. *Balkan J Med Genet*, 2020, 23(1):83-90.
- [6] 王依柔. Kabuki 综合征诊治及分子机制研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2018, 48(8):620-623.
- [7] 吴冰冰, 苏雅洁, 王慧君, 等. Kmt2d 基因突变所致的 kabuki 综合征 6 例报告并文献复习[J]. *中国循证儿科杂志*, 2017, 12(2):135-139.
- [8] 陶雪花, 张士发, 唐宗生. 歌舞伎综合征 KMT2D 基因型 1 例[J]. *皖南医学院学报*, 2020, 39(5):508-510.
- [9] LIN C Z, QI B R, HU J S, et al. A fetus with Kabuki syndrome 2 detected by chromosomal microarray analysis[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13(2):302-306.
- [10] MARGOT H, BOURSIER G, DUFLOS C, et al. Immunopathological manifestations in Kabuki syndrome:a registry study of 177 individuals[J]. *Genet Med*, 2020, 22:181-188.
- [11] DEL CERRO I, MERINO P, GÓMEZ DE LIAÑO P, et al. Changes in ocular motility in Kabuki syndrome[J]. *Arch Soc Esp Oftalmol*, 2020, 95(1):38-41.
- [12] KIM J H, KANG J, OH J S, et al. Characteristics and surgical outcomes of cleft palate in kabuki syndrome;a case series of 11 patients[J]. *BMC Pediatr*, 2021, 21(1):379.
- [13] DI CANDIA F, FONTANA P, PAGLIA P, et al. Clinical heterogeneity of Kabuki syndrome in a cohort of Italian patients and review of the literature[J/OL]. *Eur J Pediatr*. [2021-04-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34232366/>.
- [14] FASCIANI A, D'ANNUNZIO S, POLI V, et al. MLL4-associated condensates counterbalance Polycomb-mediated nuclear mechanical stress in Kabuki syndrome[J]. *Nat Genet*, 2020, 52(12):1397-1411.
- [15] DALY T, ROBERTS A, YANG E, et al. Holoprosencephaly in Kabuki syndrome[J]. *Am J Med Genet A*, 2020, 182(3):444-445.
- [16] LEE J E, WANG C, XU S, et al. H3K4 mono- and di-methyltransferase MLL4 is required for enhancer activation during cell differentiation[J]. *Elife*, 2013, 2:e01503.
- [17] ANG S Y, UEBERSOHN A, SPENCER C I, et al. KMT2D regulates specific programs in heart development via histone H3 lysine 4 di-methylation[J]. *Development*, 2016, 143:810-821.
- [18] SHPARGEL K B, MANGINI C L, XIE G, et al. The KMT2D Kabuki syndrome histone methylase controls neural crest cell differentiation and facial morphology[J]. *Development*, 2020, 147(21):187997.
- [19] COCCIADIFERRO D, AUGELLO B, DE NITIS P, et al. Dissecting KMT2D missense mutations in Kabuki syndrome patients[J]. *Hum Mol Genet*, 2018, 27(21):3651-3668.
- [20] BALDRIDGE D, SPILLMANN R C, WEGNER D J, et al. Phenotypic expansion of KMT2D-related disorder: Beyond Kabuki syndrome[J]. *Am J Med Genet A*, 2020, 182(5):1053-1065.
- [21] ROSENBERG C E, DALY T, HUNG C, et al. Prenatal and perinatal history in Kabuki syndrome[J]. *Am J Med Genet A*, 2020, 182(1):85-92.
- [22] 王秋菊, 沈亦平, 邬玲仟, 等. 遗传变异分类标准与指南[J]. *中国科学(生命科学)*, 2017, 47(6):668-688.