

· 短篇论著 ·

1例Christianson综合征患儿的临床与基因变异分析

吕诗灵¹ 陈先睿¹ 黄建琪^{2,*}

1.福建省厦门市康复医院儿童康复科 (福建 厦门 361003)

2.厦门大学附属第一医院儿科 (福建 厦门 361003)

【摘要】目的 总结1例Christianson综合征患儿的临床特点, 分析其SLC9A6基因变异为遗传咨询提供依据。方法 收集厦门大学附属第一医院确诊的1例Christianson综合征患儿的临床资料, 并采集患儿及父母外周血, 用全外显子测序方法进行基因检测, 并用Sanger测序法验证变异位点。结果 患儿为男童, 8个月, 临床表现为小头畸形、全面发育迟缓, 全外显子测序显示SLC9A6基因存在[NM_001042537.2: c.611T>G(p.Phe204Cys)]变异, 导致第4外显子跳跃, 该变异未见文献报道。结论 确诊了1例Christianson综合征患儿, 通过基因变异分析丰富了人类基因突变数据库, 为临床诊断和遗传咨询提供依据。

【关键词】Christianson综合征; SLC9A6基因; X连锁; 智力障碍

【中图分类号】R720.5

【文献标识码】A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2024.3.002

Analysis of Clinical and Genetic Variation in A Child with Christianson Syndrome

LV Shi-ling¹, CHEN Xian-rui¹, HUANG Jian-qi^{2,*}

1.Department of Pediatric Rehabilitation of The Xiamen Rehabilitation Hospital, , Xiamen 361003, Fujian Province, China

2.Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, Fujian Province, China

Abstract: Objective To summarize the clinical characteristics of a child with Christianson syndrome, and analyze the SLC9A6 gene mutation in order to provide evidence for genetic counseling. **Methods** There was a boy aged eight months. Clinical general data and genetic results were collected and analyzed. The child presented with microcephaly and global developmental delay. Sanger sequencing of proband's cDNA was used to evaluate the impact of a splice site variant on mRNA structure. Bioinformatical tools were used to investigate SLC9A6 protein structure changes. **Results** We identified a novel hemizygous splicing variant [NM_001042537.2: c.611T>G(p.Phe204Cys)] in SLC9A6 by trio-based exome sequencing, resulting in skipping over exon 4. This variation has not been reported in the literature. **Conclusion** Our finding extends the catalog of pathogenic intronic variants affecting SLC9A6 pre-mRNA splicing and provides a basis for the genetic diagnosis of CS.

Keywords: Christianson Syndrome; SLC9A6 Gene; X-linked; Intellectual Disability

Christianson 综合征(Christianson Syndrome, CS; OMIM 607379)是一种X连锁智力障碍的遗传疾病, 在男性中以认知功能障碍、行为障碍和神经学表现为特征; 女性携带者可表现为无症状、轻微的ID或行为问题^[1]。CS临床表现为产后头小畸形、肌张力减退、吞咽困难、发育迟缓或发育倒退, 重度或极重度智力障碍(Intellectual Disability, ID); 行为上以孤独症谱系障碍和多动较为常见的, 可有类似于天使综合症的快乐行为。由于CS患者在生命早期有口咽部吞咽困难、肌张力减退等问题, 多继发出营养不良, 如体重和身高增长不良; 此外还常见眼球运动异常、胃食管反流及感觉障碍, 如疼痛阈值较高等^[2-4]。癫痫发作通常开始于三岁之前, 包括婴儿痉挛、强直、强直阵挛、肌阵挛等发作形式, 因此CS患者随着年龄的增长可能失去行走和独立进食的能力。MRI常提示进行性小脑萎缩^[4-5]。本研究中对1例患儿进行全外显子测序, 并用Sanger测序对其双亲进行验证位点, 寻找其遗传学病因以明确临床诊断, 并提供遗传咨询依据。

1 临床资料

患儿男, 8个月, 因“生长发育落后7个月”就诊我科儿童保健门诊。患儿系G1P1, 足月顺产, 出生体重2.6Kg, 身长49cm, 无窒息抢救史。出生后发现头围小, 31cm, 头围增长缓慢(目前头围41cm)。1个月左右始出现肌张力偏高, 无喂养困难、呕吐、反复感染等情况, 抬头、握持弱, 拉坐慢, 可扶坐但易前倾, 咿呀呀呀, 声音不大。唤其名字反应欠佳, 可逗笑, 不会翻身、独坐不能。0岁~6岁儿童发育行为评估量表表示: 智龄3.1个月, 发育商DQ50。韦氏幼儿智力测试96分(言语理解88分, 视觉空间89分, 流体推理111分, 工作记忆103分, 加工速度89

分), 梦想标准化语言评估: 总体语言99分(听力理解102分, 语言表达89分, 语义106分, 句法93分)。颅脑磁共振平扫: 胼胝体略纤细, 双侧额颞部脑外间隙及前纵裂池增宽; 双侧上颌窦及筛窦少量积液。心脏彩超: 心内结构正常, 左室整体收缩功能正常, 舒张功能正常。脑电图: 正常儿童脑电图。视听诱发电位: 双耳分别刺激, 中央记录: 脑干听觉诱发电位: 双耳 I 波、III波、V波、各波潜伏期、各间期、波幅正常。

为明确病因, 抽取先证者及其父母的外周血各5 ml(EDTA抗凝), 全外显子组测序, 基于高通量测序平台, 采用IDT xGen Exome Research Panel进行捕获建库, 双末端(Paired-End)测序策略。Raw data>10G, Q30≥80%。测序仪下机原始数据使用bcl2fastq将bcl文件转换成fastq文件, 并使用BWA, Samtools和Picard软件将reads比对到人类参考基因组GRCh38/hg38, 生成的bam文件采用GATK系列软件进行局部重新比对, 重复序列去除并进行变异检出。使用AnnoVar对.vcf变异文件进行变异注释。致病变异位点筛选原则: (1)筛选出外显子区变异、非同义突变位点。(2)ExAC_EAS、ExAC_ALL、1000Genomes、gnomAD等数据库中未见正常人携带或携带率小于5%。(3)参考dbSNP、OMIM、HGMD、ClinVar等多种数据库对致病变异位点进行评估。(4)使用SIFT、Polyphen2、LRT、MutationTaster、FATHMM等多种蛋白功能预测软件进行基因变异导致蛋白功能预测。根据ACMG分类指南以及病人的临床表型进行致病变异的筛选。

患儿及其双亲的高通量外显子测序数据分析发现SLC9A6基因存在c.611T>G(p.Phe204Cys)变异, 父母均为野生型。根据《ACMG遗传变异分类标准与指南》6, 该变异符合“临床意义未明变异”: PM6+PM2_Supporting+PP3。PM6: 该变异为新发突变(不排除父母生殖腺存在嵌合可能), 未经家系样本生物学关

【第一作者】吕诗灵, 女, 医师, 主要研究方向: 儿童康复。E-mail: hschara@outlook.com

【通讯作者】黄建琪, 女, 主任医师, 主要研究方向: 儿童保健。E-mail: huangjq2000@126.com

系验证; PM2_Supporting: 该变异在ExAC、gnomAD、千人基因组亚洲人群数据库中的发生频率极低或没有收录; PP3: 多款变异预测软件提示该变异可能有害。该基因关联疾病为X连锁遗传, 患者该位点为半合子, 合子类型可以解释患者患病(图1)。

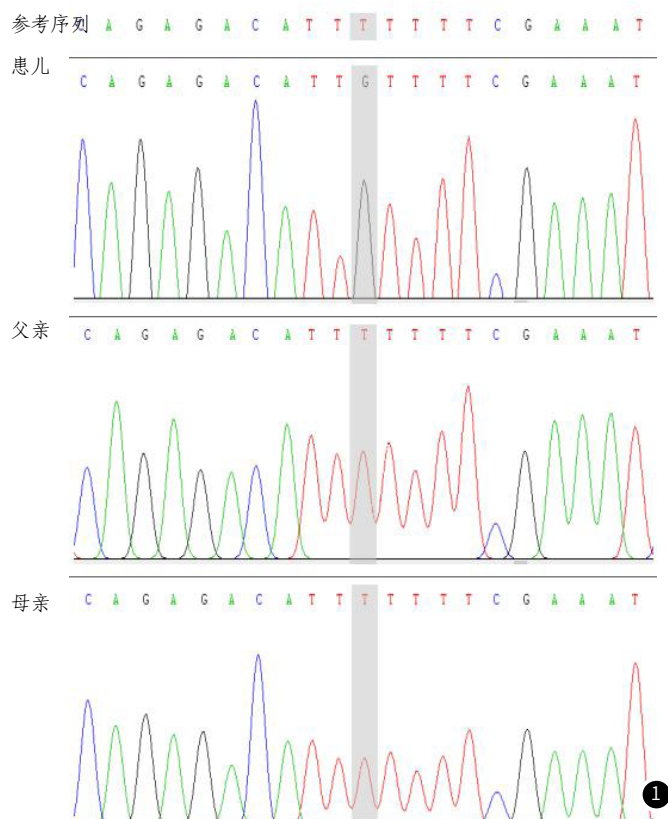


图1 先证者及家系的基因测序图。SLC9A6 : c. 611T>G (p. Phe204Cys)。

2 讨论

Christianson 综合征是一种x连锁的神经发育和退行性智力障碍疾病, 根据对大约200个疑似x连锁智力残疾的家庭进行的x染色体测序, CS可能是最常见的x连锁神经发育障碍之一。男性CS的诊断是通过在X染色体上鉴定SLC9A6的半合子致病性变异而确诊, 而女性携带者则需通过分子遗传识别, 杂合子女性每次妊娠都有50%的机率遗传给胎儿, 其中男性将会罹患CS, 女性患者的表型谱广泛, 可能是无症状携带者, 也可能出现学习困难、语言迟缓、轻中度ID或行为问题^[7-9]。男性CS患者的临床症状主要包括ID、言语受限、出生后小头畸形、多动、小脑和脑干等萎缩和神经元缺失所致的进行性躯干共济失调以及非畸形面部特征等, 其他常见问题有眼动异常、感觉障碍、张力减退、胃食管反流疾病、喂养困难, 尽管热量摄入正常, 但始终低体重, 预期寿命缩短。在临床上, CS的表型与Angelman syndrome (AS)有部分重叠, 大约1/3的CS患者曾被诊断为AS^[3], 因此常需与AS进行鉴别诊断。其鉴别要点主要为, CS患者通常在10岁后出现进行性小脑萎缩(Cerebellar Atrophy, CA)^[10], 相关影像学资料提示, CS患者CA的平均发病年龄为11岁^[11]; 另还有终身伴有低质量睡眠、睡眠时出现持续性癫痫状态等问题。部分人在慢波睡眠中出现癫痫状态epileptic encephalopathy with continuous spike-and-wave during slow-wave sleep (CSWS)^[12], ESES常伴有睡眠诱发的癫痫放电(慢波睡眠期间连续尖峰波)和获得性认知或行为障碍, 与神经认知缺陷的发展有关^[13]。

SLC9A6编码蛋白属于溶质载体(SLC)超家族, 是一种跨膜蛋白, 编码NHE6蛋白, 主要位于早期和再循环的核内体中, 能够调节内体(Na⁺, K⁺)/H⁺交换^[5], 在机体稳态条件下, 通过NHE6碱化剂调节各细胞内H⁺-ATP酶的酸化效应。而NHE6转运体在大脑认知和智力相关功能区的发展中起着关键作用^[14], 广泛存在于小

鼠海马神经元、树突和突触后室; 在发育的神经元中, NHE6也定位于生长中的轴突束, 已发现椎体神经元中NHE6的表达在突触发生过程中增加^[15], 总体参与神经发育、神经退行性病变和突触功能^[16]。因此当SLC9A6/NHE6的功能缺失突变, 导致内体-溶酶体的过度酸化、循环核内体物质的摄取受损, 如转铁蛋白受体(TfR)和原毒素受体激酶B(TrkB)运输受损、上皮顶端表面极性溶解等^[17-19]。核内体中的强酸性环境影响BDNF/TrkB(脑源性神经营养因子及其受体/原毒素受体激酶B)信号通路, 干扰神经元生长、成熟, 因此出现小头畸形、ID等表现。动物实验发现, NHE6功能敲除小鼠的视觉空间记忆和运动协调出现缺陷^[20,21], 而SLC9A6敲除小鼠杏仁核、海马体和大脑皮层是受影响最严重的区域^[22], 对热刺激和机械刺激的行为反应减少, 小脑内浦肯野神经元出现退化, 神经节苷质沉积^[23], 脊髓灰质中星形胶质细胞和小胶质细胞出现种群变化^[24], 提示了神经炎的发生, 其结果与NHE6功能敲除小鼠表现出的神经系统症状相一致。

本例患儿运动发育迟缓、张力减退、语言缺乏、小头畸形, 其X染色体测序结果提示, 该患者在X染色体上的SLC9A6的第189位氨基酸残基从苯丙氨酸Phe变成半胱氨酸Cys, 第4外显子跳跃。因此, 该患者被明确诊断为CS。对于CS患者的治疗, 目前临床主要是支持和对症治疗, 常见症状如神经发育障碍、喂养困难、癫痫发作等, 临床给予相应康复治疗、抗癫痫药物等方法。由于CS早期容易误诊为AS, 造成过度医疗, 因此应及时对家庭成员进行分子遗传学检测。一旦在受影响的家庭成员中发现SLC9A6致病性变异, 就可以对高危女性亲属进行携带者检测, 对风险增加的妊娠进行产前检测, 以及胚胎植入前遗传学检测。

我们的研究提供了一例由于SLC9A6基因中c.611T>G剪切位点变异引起的剪切中断, 第4外显子跳跃导致蛋白质结构和功能破坏, 这些分子变化进而导致了Christianson综合征的发展。对SLC9A6剪切位点变异的分子研究在临床上有助于从病理生物学和病因学上对CS进行分析, 使患者得到确诊, 并丰富人类基因突变数据库。

参考文献

- [1] Morrow E M, Pescosolido M F. Christianson syndrome [J]. 2018.
- [2] Liu X, Xie L, Fang Z, et al. Case Report: Novel SLC9A6 Splicing Variant in a Chinese Boy with Christianson Syndrome With Electrical Status Epilepticus During Sleep [J]. Front. Neurol, 2022, 12, 796283.
- [3] Pescosolido MF, Stein DM, Schmidt M, et al. Genetic and phenotypic diversity of NHE6 mutations in Christianson syndrome [J]. Ann Neurol, 2014, 76, 581-593.
- [4] Schroer RJ, Holden KR, Tarpey PS, et al. Natural History of Christianson Syndrome [J]. Am. J. Med. Genet, Part A 2010, 152A, 2775-2783.
- [5] Gilfillan GD, Selmer KK, Roxrud I, et al. SLC9A6 Mutations Cause X-Linked Mental Retardation, Microcephaly, Epilepsy, and Ataxia, a Phenotype Mimicking Angelman Syndrome [J]. Am. J. Hum. Genet, 2008, 82, 1003-1010.
- [6] 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, 405-424.
- [7] Christianson AL, Stevenson RE, van der Meyden CH, et al. 1999. X linked severe mental retardation, craniofacial dysmorphism, epilepsy, ophthalmoplegia, and cerebellar atrophy in a large South African kindred is localised to Xq24-q27 [J]. J. Med. Genet, 1999, 36, 759-766.
- [8] Masurel-Paulet A, Piton A, Chancenerotte S, et al. A new family with an SLC9A6 mutation expanding the phenotypic spectrum of Christianson syndrome [J]. Am J Med Genet A, 2016, 170 (8): 2103-2110.
- [9] Sinajon P, Verbaan D, So J. The expanding phenotypic spectrum of female SLC9A6 mutation carriers: a case series and review of the literature [J]. Hum Genet, 2016; 135 (8): 841-850.
- [10] Pescosolido MF, Stein DM, Schmidt M, et al. Genetic and phenotypic diversity of NHE6 mutations in Christianson syndrome [J]. Annals of neurology, 2014, 76 (4): 581-593.
- [11] Bosemani T, Zanni G, Hartman AL, et al. Christianson syndrome: spectrum of neuroimaging findings [J]. Neuropediatrics, 2014; 45 (4): 247-251.
- [12] Zanni G, Barresi S, Cohen R, et al. A novel mutation in the endosomal Na⁺/H⁺ exchanger NHE6 (SLC9A6) causes Christianson syndrome with electrical status epilepticus during slow-wave sleep (ESWS) [J]. Epilepsy Res, 2014, 108 (4): 811-815.

(下转第10页)

临床上可诊断早发型新生儿败血症，血培养阴性，但外周血宏基因组测序找到了致病病原体，可以确诊早发型新生儿婴儿芽孢杆菌败血症。

新生儿由于非特异性免疫及特异性免疫功能未成熟，容易并发各种感染，导致败血症，而血培养阳性率低、敏感度差，容易造成漏诊，病原微生物宏基因组检测项目基于第二代高通量测序技术，对特定样本中微生物群体的核酸序列进行检测分析，通过与数据库中微生物的核酸序列进行比对，从而鉴定样本中存在的可疑致病微生物，可以检测出所有临床标本中存在的病原体，包括罕见的病原体，甚至可以发现新的病原微生物^[2]。对鹦鹉热衣原体等特殊病原体，mNGS被认为是最有效的检测方法之一^[3]。无菌部位来源的临床标本中检出微生物种群不应轻易视为污染，检出的微生物符合临床诊断，应确认序列结果的准确性和特异性^[4]。

目前有关婴儿芽孢杆菌的研究很少，国内尚未见婴儿芽孢杆菌感染的报道。婴儿芽孢杆菌是2006年从一名女性新生儿败血症患儿血液中分离出来的一种革兰氏阳性杆菌，此女性患儿表现有发绀、发热和低血压，但该菌致病性当时未完全明了。芽孢杆菌属中包括100多种细菌，多数是分布广泛的腐生菌，婴儿芽孢杆菌是需氧生长、革兰氏染色阳性、过氧化氢酶阳性、氧化酶阴性

的杆菌^[5]。后来经实验证实：婴儿芽孢杆菌含有几种毒力因子，包括粘附素，侵袭素，定植因子，铁载体和转运蛋白，该细菌可以造成感染性的自身免疫性心肌损伤^[6]。从土壤分离到的婴儿芽孢杆菌药敏试验提示复方新诺明、青霉素、头孢曲松、头孢吡肟、万古霉素等均敏感^[7]，我们使用青霉素加头孢噻肟舒巴坦联合抗感染治疗，效果明显。

本例患儿表现为发热，反应差，皮肤大理石花纹，呼吸急促，口吐泡沫，血氧饱和度下降，C反应蛋白、降钙素原增高明显，而血常规变化不大。外周血病原学微生物宏基因组检出婴儿芽孢杆菌。予以青霉素和头孢噻肟舒巴坦联合抗感染、支持等治疗后病情好转出院，随访至10个月，患儿生长发育良好。新生儿感染婴儿芽孢杆菌时，病情通常迅速恶化，C反应蛋白、降钙素原等炎症指标升高明显，而血象变化相对较小，因此，临床上应尽早行病原体检测，并给予积极有效的抗感染治疗。新生儿早发型败血症病原体培养阳性率低，病死率高，宏基因组测序可以克服病原体难以培养的难题，3-5天就能完成检测、数据比对、结果分析，可运用于新生儿早发型败血症病原体的分析，尤其适合婴儿芽孢杆菌等罕见菌感染的诊断，有助于实现早诊断、早治疗，从而降低病死率。

表1 血感染指标监测值

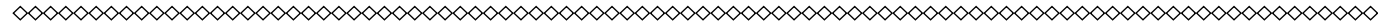
	1h	25h	5d	11d	18d
白细胞总数($\times 10^9/L$)	9.08	7.01	10.91	15.6	10.18
粒细胞百分比(%)	59.3	52.4	49	52.6	28.8
血红蛋白浓度(g/L)	170	138	136	131	115
血小板总数($\times 10^9/L$)	258	211	296	626	490
降钙素原(ng/ml)	2.49	16.74	0.267	0.088	0.064
C反应蛋白(mg/L)	<5.50	41.5	7.23	<5.50	<5.50
超敏C反应蛋白(mg/L)	4.62	>5.50	<2.75	<2.75	<2.75

参考文献

[1] 中华医学会儿科学分会新生儿学组, 中国医师协会新生儿科医师分会感染专业委员会. 新生儿败血症诊断及治疗专家共识(2019年版)[J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(4): 252-257.
[2] 毕铭轶, 汪春付, 连建奇, 等. 宏基因组测序在感染性疾病中的应用与反思[J]. 中华临床感染病杂志, 2019, 12(5): 379-384.
[3] 张修建, 朱爱玲, 葛德海. 8例鹦鹉热衣原体肺炎的诊治体会[J]. 罕少疾病杂志, 2023, 30(4): 3-5.
[4] 中华医学检验学会. 高通量宏基因组测序技术检测病原微生物的临床应用规范化专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(12): 1181-1195.
[5] Ko KS, Oh WS, Lee MY, et al. *Bacillus infantis* sp. nov. and *Bacillus idriensis* sp. nov. isolated from a patient with neonatal sepsis[J].

International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2006, 56(11): 2541-2544.
[6] Massilamany C, Mohammed A, Loy JD, et al. Whole genomic sequence analysis of *Bacillus infantis*: defining the genetic blueprint of strain NRRL B-14911, an emerging cardiopathogenic microbe[J]. *BMC Genomics*, 2016, 17 Suppl 7(Suppl 7): 511.
[7] Sandeep Kaur, Saggu, Prakash Chandra, et al. Characterization of thermostable alkaline proteases from *Bacillus infantis* SKS1 isolated from garden soil[J]. *PloS one*, 2017, 12(11): e0188724.

(收稿日期: 2023-01-25)
(校对编辑: 姚丽娜)



(上接第5页)

[13] Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy[J]. *Epilepsia*, 1989; 30(4): 389-399.
[14] Schwede M, Garbett K, Mirnics K, et al. Genes for endosomal NHE6 and NHE9 are misregulated in autism brains[J]. *Mol Psychiatry*, 2014; 19(3): 277-279.
[15] Deane EC, Ilie AE, Sizdahkhani S, et al. Enhanced recruitment of endosomal Na⁺/H⁺ exchanger NHE6 into Dendritic spines of hippocampal pyramidal neurons during NMDA receptor-dependent long-term potentiation[J]. *J Neurosci*, 2013; 33(2): 595-610.
[16] Ouyang Q, Lizarraga SB, Schmidt M, et al. Christianson syndrome protein NHE6 modulates TrkB endosomal signaling required for neuronal circuit development[J]. *Neuron*, 2013; 80(1): 97-112.
[17] Ilie A, Weinstein E, Boucher A, et al. Impaired posttranslational processing and trafficking of an endosomal Na⁺/H⁺ exchanger NHE6 mutant (D370WST372) associated with X-linked intellectual disability and autism[J]. *Neurochem Int*, 2014; 73, 192-203.
[18] Ohgaki R, Matsushita M, Kanazawa H, et al. The Na⁺/H⁺ exchanger NHE6 in the endosomal recycling system is involved in the development of apical bile canalicular surface domains in HepG2 cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2010; 21(7): 1293-1304.
[19] Xinhan L, Matsushita M, Numaza M, et al. Na⁺/H⁺ exchanger isoform 6 (NHE6/SLC9A6) is involved in clathrin-dependent endocytosis of transferrin[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2011; 301(6): C1431-C1444.

[20] Sikora J, Leddy J, Gulinello M, et al. X-linked Christianson syndrome: heterozygous female *Slc9a6* knockout mice develop mosaic neuropathological changes and related behavioral abnormalities[J]. *Dis Model Mech*, 2016; 9(1): 13-23.
[21] Strømme P, Dobrenis K, Sillitoe RV, et al. X-linked Angelman-like syndrome caused by *Slc9a6* knockout in mice exhibits evidence of endosomal-lysosomal dysfunction[J]. *Brain*, 2011; 134(Pt 11): 3369-3383.
[22] Kondapalli KC, Prasad H, Rao R. An inside job: how endosomal Na⁺/H⁺ exchangers link to autism and neurological disease[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014; 8: 172. Published 2014 Jun 23.
[23] Kerner-Rossi M, Gulinello M, Walkley S, et al. Pathobiology of Christianson syndrome: linking disrupted endosomal-lysosomal function with intellectual disability and sensory impairments[J]. *Neurobiology of learning and memory*, 2019, 165: 106867.
[24] Kerner-Rossi M, Gulinello M, Walkley S, et al. Pathobiology of Christianson syndrome: linking disrupted endosomal-lysosomal function with intellectual disability and sensory impairments[J]. *Neurobiology of learning and memory*, 2019, 165: 106867.

(收稿日期: 2023-02-25)
(校对编辑: 姚丽娜)