

· 论著 · 罕见病研究 ·

CASK基因变异一例临床与遗传学分析并文献复习*

过湘云 胡笑月* 孙明霞 张 林
无锡市儿童医院神经内科(江苏 无锡 214023)

【摘要】目的 探讨1例CASK基因变异患儿的临床及遗传学特点。**方法** 对1例发育障碍、小头畸形伴小脑发育不良患儿的临床资料、基因报告作回顾分析并进行文献复习。**结果** 女性患儿, 3月龄起逐步发现耳聋、小头畸形、小脑发育不良、精神运动发育迟滞, 康复训练至2岁无明显进步。患儿及其父母进行了三人家系全外显子组测序(WES), 基因检测结果显示患儿携带CASK基因半合子移码变异NM_003688.3:c.1973dupT(p.Lys660*), 该变异为疑似致病变异。患儿父亲未见该变异, 母亲为嵌合体。**结论** CASK基因变异极可能为该患儿出现智力障碍、小头畸形、小脑发育不良等表征的遗传学病因, WES检测为患者广泛发育障碍的病因诊断提供了帮助, 并为遗传咨询提供了重要参考依据。

【关键词】 CASK基因; 全外显子组测序; 小头畸形; 小脑发育不良; 发育障碍

【中图分类号】 R742.8

【文献标识码】 A

【基金项目】 无锡市卫生健康委科研项目(Q202258)

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2025.7.005

Clinical and Genetic Analysis of One Case with CASK Gene Mutation and Literature Review*

GUO Xiang-yun, HU Xiao-yue*, SUN Ming-xia, ZHANG Lin.

Department of Neurology, Wuxi Children's Hospital, Wuxi 214023, Jiangsu Province, China

Abstract: Objective To investigate the clinical and genetic characteristics of one case with CASK gene mutation. **Methods** Retrospective analysis and literature review of the clinical data and genetic reports of a child with developmental disorders, microcephaly, and cerebellar dysplasia were conducted. **Results** The female patient was gradually manifested deafness, microcephaly, cerebellar dysplasia, and psychomotor developmental delay since the age of 3 months. Despite rehabilitation training until the age of 2 years, there was no significant improvement. Whole exome sequencing (WES) was performed on the patient and her parents in a trio family, WES results showed that the girl carried a hemizygous frameshift mutation in CASK gene, NM_003688.3: c.1973dupT (p.Lys660*), which was a possible pathogenic variation. Her father did not show the same variation, and her mother was chimeric. **Conclusion** The CASK gene mutation is highly possible to be the genetic cause of intellectual disability, microcephaly, and cerebellar dysplasia in this patient. WES provides assistance in diagnosing the etiology of extensive developmental disorders in patients and serves as an important reference for genetic counseling.

Keywords: CASK Gene; Whole Exome Sequencing; Microcephaly; Cerebellar Dysplasia; Developmental Disorders

CASK (calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase)基因定位于Xp11.4, 有27个外显子, 钙/钙调素依赖性丝氨酸蛋白激酶基因属于膜结合鸟苷酸环化酶相关蛋白(MAGUK)家族成员, 是重要的调控因子, 在神经突触形成、囊泡运输以及跨膜信号传导等重要生理过程中起着核心作用, 并且能够通过调节基因表达来影响多种生物学过程。这种基因功能的缺失常常会导致神经发育异常, 表现出智力障碍、运动迟缓以及其他神经系统症状^[1]。本次研究选取了一名携带CASK基因杂合突变的女性患者, 对其临床表现和遗传学特征进行了分析, 并结合文献综述来进一步探究该基因变异的表型特征及可能的分子机制。目前该患者的突变并未录入Human Gene Mutation Database (HGMD) 数据库, 且患儿母亲为无表型的嵌合变异者。该病例丰富了中国人人群中该病的数据, 并为该家系的遗传咨询提供了依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2022年5月至2024年4月期间就诊于无锡市

儿童医院的1例发育障碍、小头畸形伴小脑发育不良的患儿为研究对象。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 收集患儿的病史、检验检查结果等临床资料。

1.2.2 标本采集 在患儿家长主动提出为其提供遗传咨询的要求下, 经知情同意, 采集患儿及父母EDTA抗凝血各2mL用于基因检测。

1.2.3 DNA提取 (天根)供应的血液基因组DNA提取试剂盒处理样本的时候, 一定要依照产品说明书上的操作步骤, 提取结束以后, 要用Nanodrop荧光分光光度计来测定DNA的浓度, 还要用1%的琼脂糖凝胶电泳来评判其纯度, 只有经过质量把控, 符合标准之后, 才能进入到下一步的文库构建程序当中。

1.2.4 全外显子组文库构建及测序 采用基于IDTxGen Exome Research Panel v2的加密版探针 IDTxGen Exome v2 与gDNA文库进行杂交, 本研究选取含有目标区域的DNA序列作为样本, 该序列包含人基因组中20,099个外显子及其上下游各20 bp的内

【第一作者】 过湘云, 女, 副主任医师, 主要研究方向: 神经免疫。E-mail: ranee_gxy@qq.com

【通讯作者】 胡笑月, 女, 副主任医师, 主要研究方向: 儿童癫痫。E-mail: hux87@163.com

含子区,以此构建全外显子组测序文库,测序工作在Illumina NovaSeq 6000平台上开展(采用双端读长PE150模式),经过严格的质控流程之后,平均覆盖深度达到20倍,总的测序比率超过96%,实验由福州福瑞医学检验实验室执行,后续的生物信息学分析包含以下环节:(1)用fastp工具对原始数据展开质量评判并预处理,从而得到clean reads;利用Sentieon软件把clean reads同人类参考基因组GRCh37/hg19开展比对;(2)找出单核苷酸多态性(SNP)以及插入/缺失(Indel)之类的变异信息;按照测序深度和变异质量指标对候选位点执行筛选和过滤,创建高质量变异数据库。(3)变异致病性评估包含了诸多数据源的整合并开展深层次分析,具体包含如下要素:依靠dbSNP,千人基因组计划,ExAC和ESP等资源统计数据的群体频率分布特点;依照OMIM, HGMD和ClinVar等权威数据库所给予的致病性分类准则;应用Provean, SIFT, PolyPhen2-HVAR, PolyPhen2-HDIV, M-CAP, Revel和MutationTaster这些工具来量化它对功能的影响程度,并经过系统的注释与综合分析予以精准判定,基于ACMG指南,借助注释信息及Alamut® Software Suite对变异的致病性进行评估。采用福君基因内部算法CNVexon及misalignment detection algorithm分别进行外显子的CNV检测及假基因优化。

2 结 果

2.1 临床资料 患儿为第一胎第一产,家中独女,足月顺产,母孕期及围产期无异常,父母健康,无家族遗传病史。3月龄我院耳鼻喉科脑干听觉诱发电位提示双侧中度耳聋,5月龄会抬头,6月龄儿童保健科体检时发现头围小(37.8cm),刚会翻身、不会坐,0~6岁儿童发育行为评估量表评估DQ值(发育商)为75,提示临界偏低,头颅磁共振提示脑沟增宽、四脑室扩大、脑干-小脑发育不良(见图1),脑电图未见异常,后一直在康复科康复训练,2岁至神经内科复诊时头围39cm(<-3SD),肌张力低下,可翻身,仍不会独坐,不会走,不会主动抓物,仅有无意识发音,不会说话,不会认人,0~6岁儿童发育行为评估量表评估DQ值为64,提示智力发育障碍。

2.2 基因检测结果 WES测序结果显示在患儿中发现CASK基因的1个杂合变异:NM_003688.3:c.1973dupT(p.Lys660*),即编码区第1973位碱基重复,编码蛋白第660位氨基酸的提前终止突变导致蛋白质截短,患儿父亲未见此变异,但其母亲存在嵌合型(约占17%,测序深度达164×),详细分布见图2,经Sanger测序再次确认,患儿母亲实际嵌合比例约12.12%(图3)。

2.3 候选变异致病性分析结果 该移码突变发生于转录本NM_003688.3的第21号外显子(共有27个外显子),其位置促使提前终止密码子出现,从而有可能通过无义介导的mRNA降解机制来干扰基因产物的功能表达,相关研究显示,此变异下游的截短突变确实存在致病性特征^[2-4](符合PVS1标准),经过查询,这个突变并不在HGMD数据库或者gnomAD v2.1.1版本当中(符合PM2 Supporting条件),按照ACMG指南,该变异应当被归入“疑似致病”(Likely Pathogenic)这一类别,其判定所依赖的主要证据包含PVS1以及PM2 Supporting这两项。

3 讨 论

智力障碍伴小头畸形、脑桥-小脑发育不良(mental retardation and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia, MICPCH, OMIM: 300749)是一种X连锁显性遗传病,具有高度异质性,大部分为女性患者,其核心特征是智力发育严重受损、小头畸形、不同程度的脑桥-小脑发育不全。受影响的个体会出现精神运动发育迟滞,无法独立行走或说话,轴向肌张力减退或不伴张力亢进。部分患者可能会伴有感觉神经性耳聋或眼部异常等。畸形特征包括整体生长不良,严重小头畸形(-3.5至-10SD),宽鼻梁和鼻尖,大耳朵,长人中,小颌畸形和眼距过宽等^[5]。据文献报道,CASK、ITPR1、HDAC2、MARCKS、HS3ST5和RELN的变异,均可能与MICPCH的病因有关,DYNC1H1和DCTN1同时发生突变也可能导致MICPCH,但CASK基因仍为MICPCH最主要的致病基因^[3]。本例女性患儿存在CASK基因杂合变异,且有智力发育障碍、小头畸形、脑干-小脑发育不全、耳聋,轴向肌张力低下等,高度符合该病特征。

CASK基因位于X染色体短臂(Xp11.4)上,由27个外显子组成,其主要功能是编码CASK蛋白,在人体的各个组织中都有表达,但是它在中枢神经系统中的表达量比其他器官要高出3到5倍^[6]。该蛋白是MAGUK蛋白家族的成员,由926个氨基酸组成,是一种多结构域支架蛋白,包括N端的CaMK结构域,2个L27 (Lin2, lin7)结构域、1个PDZ结构域和1个整合的SH3和GuK结构域,每个结构域通过与其他蛋白的相互作用发挥不同的作用^[7](图4)。它在信号传导、细胞间连接、细胞骨架和与膜蛋白结合中起着重要作用,它参与突触形成和突触间的相互作用,涉及NMDA谷氨酸受体的蛋白质转运和N型钙通道的突触靶点,调节基因表达和神经发育。它还参与许多细胞通路,包括线粒体、突触和蛋白质代谢,这些细胞的功能障碍可能是许多复杂神经系统疾病的基础^[8]。

CASK基因变异可导致其编码的CASK蛋白功能改变、缺失,有研究认为,CASK完全丧失会导致小脑颗粒细胞严重变性、退化^[9]。自2008年Najm J等人报道了5名患者CASK的杂合缺失和点突变导致MICPCH以来,已有超过100例MICPCH患者被报告了各种类型的CASK突变^[7]。目前的研究主要集中在女性MICPCH患者的典型症状以及CASK基因变异,但仍有一些非典型病例没有表现出该综合征的主要特征。Bozarth X等人报告了一名由于CASK基因框架缺失突变而导致早发性婴儿痉挛症的患者,影像学检查显示有局灶性皮质发育异常,脑电图表现为高峰失律,但没有其他MICPCH相关表型的支持^[4]。而男性患者较少,可能与其X染色体突变会影响到所有体细胞,从而表型更重,宫内致死率更高,存活率降低有关^[10]。这表明CASK基因变异位点和变异方式不同所致的表型及轻重不同,性别差异也可能和表型轻重有关。迄今为止,已在人类患者群体中发现了CASK的多种遗传变异及临床表型,包括占主体地位的X连锁显性遗传的小头畸形伴脑桥和小脑发育不全(MICPCH),X连锁隐性遗传的X连锁智力障

碍 (XLID) 伴或不伴眼球震颤、FG 综合征 4 型^[11], FG4 临床表现为智力障碍、先天性肌张力低下、便秘、行为障碍等, 还有发育迟缓和自闭症谱系障碍 (ASD)^[12], 各种癫痫发作和癫痫性脑病^[13], 先天性心脏病^[14]等。目前已报道 222 种 CASK 基因变异 (数据来源于专业版 HGMD: www.hgmd.cf.ac.uk, 截止 2024 年 01 月), 变异类型包括错义变异、无义变异、剪接变异与小片段及大片段缺失插入, 复杂重排。为了解各变异类型的致病性, 通过查询 NCBI 上的 ClinVar 数据库, 发现 416 个变异 (至 2024 年 06 月), 包括移码变异 43 个, 错义变异 283 个, 无义变异 47 个, 剪接变异 41 个, UTR 变异 2 个 (表 1), 几乎所有移码和无义变异均被归类为致病或疑似致病, 剪接变异致病率也较高, 而错义变异有一部分被归类为良性, 这表明移码、无义、剪接变异或较错义变异引发更严重表型。

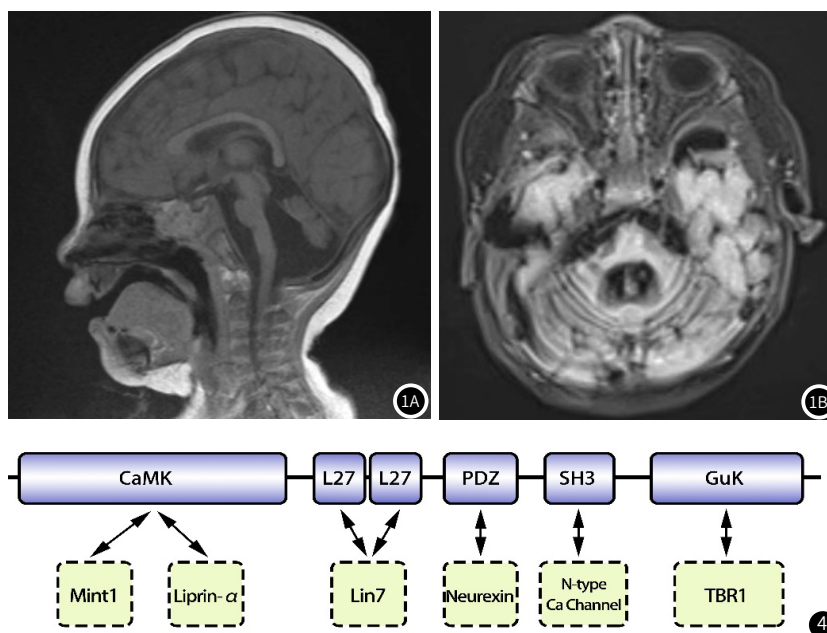
CASK 基因变异与临床表型、性别差异间的关系尚不完全清楚。但根据以往报道, 智力障碍 (ID) 见于大多数病例中, 且男女比例相仿^[7]。MICPCH 的病例报告多来自女性, 通常由蛋白功能丧失的无义变异、移码变异、剪接变异引起。男性被报道较少, 多数会有严重的发育障碍和癫痫性脑病如 Ohtahara 综合征、West 综合征等难治性癫痫, 预后欠佳。女性也会有癫痫发作, 但起病年龄相对男性较晚, 出现痉挛发作较少, 且发作也较男性更易控制^[13]。XLID、ASD 表型通常由亚等位基因变异 (错义变异) 引起, 最常见于男性, 携带者女性受到轻度影响或不受影响^[15]。

本例女性患儿携带的是 CASK 基因 21 号外显子上的一个移码变异 (碱基重复), 它导致了一个提前终止密码子, 使得编码蛋白自第 660 位氨基酸起翻译终止, 蛋白截短, CASK 蛋白中特定 SH3 结构域的部分区域或完整 GuK 结构域存在缺失 (具体的变异位点分布可参照图 5^[16])。SH3 (Src Homology 3) 结构域, 即 Src 蛋白 3 同源结构域, 可与 N 型钙通道羧基末端的脯氨酸富含区结合, 参与神经递质的释放。位于 CASK 末端

的 GuK (鸟苷酸激酶) 结构域, 与转录因子 TBR-1 (T-brain-1) 和 CASK 互作核小体组装蛋白 (CINAP) 形成复合物^[17]。此复合物位于神经元细胞核中, 调控神经元迁移和基因表达。先前有研究表明, MICPCH 表型主要是 CASK 的 PDZ 结构域与突触前粘附蛋白 Neurexin 间的相互作用被破坏所导致的^[18], 而 SH3 中的变异可以破坏 PDZ 和 Neurexin 的连接。此外, SH3-GuK 结构域之间亦存在分子间和分子内的结合, 这种结合也是必要的, 它能帮助形成蛋白质复合物^[19]。有人用 CASK 敲除小鼠作为 MICPCH 的模型来研究其变异的影响, 发现 CASK 的 CaMK、PDZ、SH3 是小脑颗粒细胞存活所必需的^[20]。综上分析, 本例患儿的小头畸形、脑干-小脑发育不良、智力低下等表现可得到分子生物学解释。

CASK 基因的遗传模式是 X 连锁, 本例患儿为母源性遗传变异, 其母为嵌合体, 这种现象也许是因为致病基因的外显率比较低, 也有可能是 X 染色体失活 (XCI) 所造成, 使得带有致病突变的母系等位基因不被表达。男性只有一条 X 染色体, 致病变异会影响到每个细胞, 因此携带同样变异的男性症状通常比女性更严重, 女性表型严重程度通常取决于 CASK 缺陷细胞的比例^[19], 加上 X 染色体失活存在偏倚可能^[21], 因此有必要提前对胎儿进行遗传性评估。国际上已有多中心研究将 CASK 相关疾病自然史扩展到产前期^[22], 研究者建议连续测量胎儿头围, 特别是在妊娠晚期, 当测量值在标准值低范围, 应更加密切监测, 必要时考虑介入产前诊断 (羊膜腔穿刺术), 包括全外显子组测序 (可鉴别胎儿小头畸形和小脑发育不全的病因) 和染色体微阵列分析^[23] (发现 CASK 基因片段缺失), 以便提供给父母充分的咨询并使他们能够做出明智决策。

CASK 基因变异国内报道很少, 本文报告了一例尚未被 HGMD 数据库收录的女性 CASK 杂合变异, 通过复习以往文献, 对其临床表现、基因检测结果进行了回顾分析, 丰富了基因数据库, 并为该家系后续妊娠提供了遗传学依据。



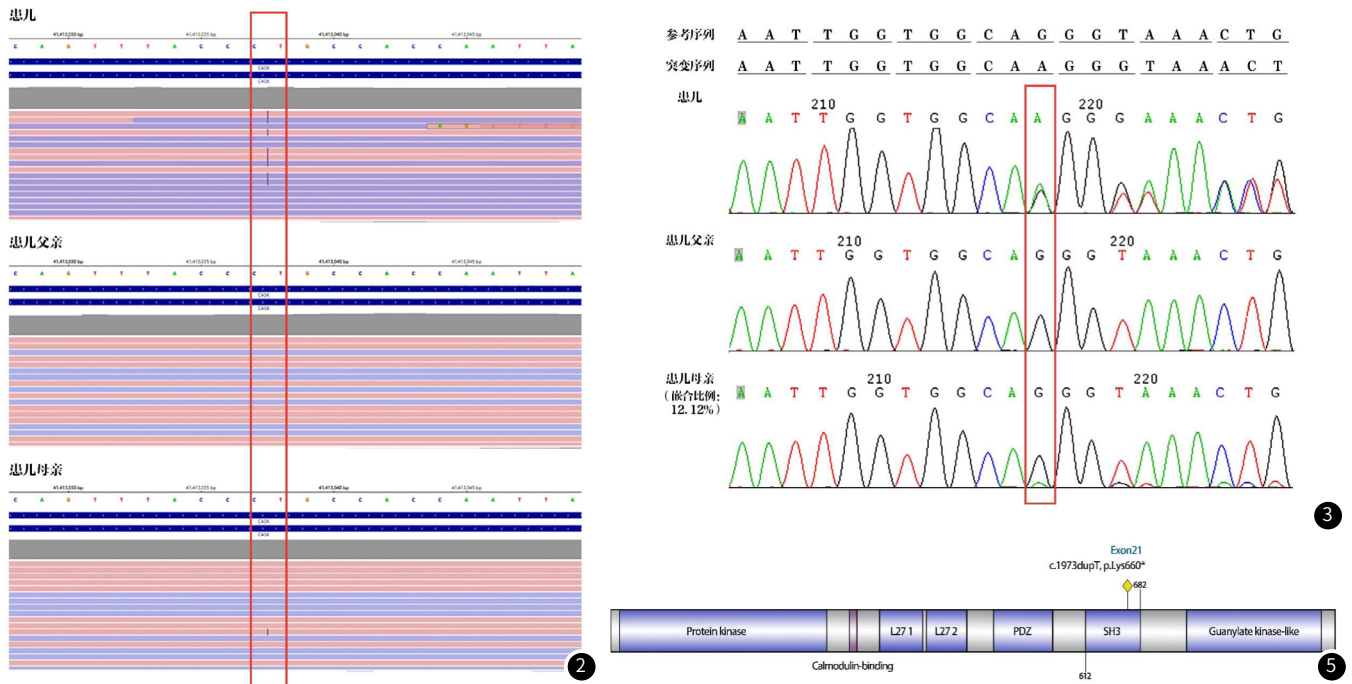


图1A-图1B 患儿6月龄头颅MRI成像。图2 患儿及父母二代测序图。CASK (NM_003688.3) c.1973dupT p.Lys660*。图3 患儿及父母突变位点Sanger测序图。CASK (NM_003688.3) c.1973dupT p.Lys660*。图4 CASK蛋白域与交互蛋白分子图。图5 变异位点与结构域位置关系图。

表1 ClinVar数据库上CASK的遗传变异

突变	致病	疑似致病	良性 ¹	意义未明 ²
移码	34	9	0	1
错义	11	23	24	229
无义	43	7	0	0
剪接	20	18	1	4
UTR	0	0	1	1

注：1：良性包括“疑似良性”病例。2：包括解释相互矛盾的病例。

参考文献

- [1]王雅清,袁栋.钙/钙调蛋白依赖性丝氨酸蛋白激酶在胚胎发育及相关疾病中的作用[J].中华医学遗传学杂志,2015,32(3):422-425.
- [2]Zhang Y,Kong W,Gao Y,et al.Gene mutation analysis in 253 Chinese children with unexplained epilepsy and intellectual/developmental disabilities[J].PLoS One,2015,10(11):e0141782.
- [3]Hayashi S,Uehara DT,Tanimoto K,et al.Comprehensive investigation of CASK mutations and other genetic etiologies in 41 patients with intellectual disability and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia (MICPCH)[J].PLoS One,2017,12(8):e0181791.
- [4]Bozarth X,Foss K,Mefford HC.A de novo in-frame deletion of CASK gene causes early onset infantile spasms and supratentorial cerebral malformation in a female patient[J].Am J Med Genet A,2018,176(11):2425-2429.
- [5]Wu S,Jiang C,Li J,et al.A novel missense variant in the CASK gene causes intellectual developmental disorder and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia[J].BMC Med Genomics,2022,15(1):127.
- [6]Stevenson D,Laverty HG,Wenwieser S,et al.Mapping and expression analysis of the human CASK gene[J].Mamm Genome,2000,11(10):934-937.
- [7]Mori T,Zhou M,Tabuchi K.Diverse clinical phenotypes of CASK-related disorders and multiple functional domains of CASK protein[J].Genes(Basel),2023,14(8):1656.
- [8]Zhang Y,Nie Y,Mu Y,et al.A de novo variant in CASK gene causing intellectual disability and brain hypoplasia:a case report and literature review[J].Ital J Pediatr,2022,48(1):73.
- [9]Patel PA,Hegert JV,Cristian I,et al.Complete loss of the X-linked gene CASK causes severe cerebellar degeneration[J].J Med Genet,2022,59(11):1044-1057.
- [10]Cristofoli F,Devriendt K,Davis EE,et al.Novel CASK mutations in cases with syndromic microcephaly[J].Hum Mutat,2018,39(7):993-1001.
- [11]McSweeney D,Gabriel R,Jin K,et al.CASK loss of function differentially regulates neuronal maturation and synaptic function in human induced cortical excitatory neurons[J].iScience,2022,25(10):105187.
- [12]Seto T,Hamazaki T,Nishigaki S,et al.A novel CASK mutation identified in siblings exhibiting developmental disorders with/without microcephaly[J].Intractable Rare Dis Res,2017,6(3):177-182.
- [13]陈奕,杨莹,牛雪阳,等.CASK基因变异相关的癫痫性脑病4例临床表型特点研究[J].中国实用儿科杂志,2021,36(4):275-280.
- [14]Abe-Hatano C,Yokoi T,Ida K,et al.Mosaicism of a truncating variant of CASK causes congenital heart disease and neurodevelopmental disorder[J].Mol Syndromol,2023,13(6):517-521.
- [15]Dubbs H,Ortiz-Gonzalez X,Marsh ED.Pathogenic variants in CASK: expanding the genotype-phenotype correlations[J].Am J Med Genet A,2022,188(9):2617-2626.
- [16]张仪,姚如恩,胥雨菲,等.CASK基因变异1例临床特征分析[J].临床儿科杂志,2019,37(9):693-696.
- [17]Pan YE,Tibbe D,Harms FL,et al.Missense mutations in CASK, coding for the calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase, interfere with neurexin binding and neurexin-induced oligomerization[J].J Neurochem,2021,157(4):1331-1350.
- [18]LaConte LEW,Chavan V,Elias AF,et al.Two microcephaly-associated novel missense mutations in CASK specifically disrupt the CASK-neurexin interaction[J].Hum Genet,2018,137(3):231-246.
- [19]Zhang R,Jia P,Yao Y,et al.Case report:identification of a novel CASK missense variant in a Chinese family with MICPCH[J].Front Genet,2022,13:933785.
- [20]Guo Q,Kouyama-Suzuki E,Shirai Y,et al.Structural analysis implicates CASK-Liprin-α2 interaction in cerebellar granular cell death in MICPCH syndrome[J].Cells,2023,12(8):1177.
- [21]卜秀芬,林彭思远,胡兰萍,等.Xp11.4p11.3微缺失导致胎儿生长受限一例[J].中华医学遗传学杂志,2022,39(1):112-114.
- [22]Gafner M,Boltshauser E,D'Abrusco F,et al.Expanding the natural history of CASK-related disorders to the prenatal period[J].Dev Med Child Neurol,2023,65(4):544-550.
- [23]刘建生.染色体微阵列技术在胎儿遗传学诊断中的应用[J].罕见疾病杂志,2023,30(6):100-101.

(收稿日期:2024-07-24)

(校对编辑:翁佳鸿 赵望淇)