

Делеция импринтированного региона 14q32.2 у пациента с синдромом Кагами-Огата

Семенова Н.А.¹, Анисимова И.В.¹, Володин И.В.¹, Ступина А.В.²,
Абдраисова А.Т.², Цокова И.Б.², Башарин С.А.²

¹ — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»,

115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1, e-mail: semenova@med-gen.ru

² — ГБУЗ «Детская городская клиническая больница №9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ», 123317, г. Москва, Шмитовский проезд, 29

Область длинного плеча 14-й хромосомы человека 14q32.2 несет в себе кластер импринтированных генов, дифференциально экспрессирующихся с отцовского и материнского аллелей. Генетическое и эпигенетическое повреждение этих генов приводит к двум различным фенотипам, известным как материнская однородительская дисомия (синдром Темпла, OMIM #616222) и отцовская однородительская дисомия (синдром Кагами-Огата, OMIM# 608149). Синдром Кагами-Огата характеризуется колоколообразной грудной клеткой, короткими ребрами с крючкообразной конфигурацией, дефектами брюшной стенки и многоводием. При обоих синдромах описано три типа молекулярных повреждений: однородительская дисомия, делеции и эпимутации. Большинство описанных делеций включают один или оба дифференциально метилированных региона IG-DMR и MEG3-DMR. В противоположность однородительской дисомии и эпимутациям, делеции регуляторного элемента в локусе 14q32.2 на материнской или отцовской хромосомах ассоциированы с высоким повторным риском. **Пациенты и методы исследования.** Мы представили клинический случай синдрома Кагами-Огата, обусловленного делецией 14q32.2. Проведен микросателлитный анализ ребенку и родителям, а также микроматричный анализ хромосом матери. **Результаты.** Микросателлитный анализ трио и микроматричный анализ хромосом матери позволили установить точные размеры делеции (378 т.п.н.) вовлекающей регионы 14q32.2-14q32.1, включающей гены, экспрессирующиеся с материнского аллеля *MEG3*, *RTL1*, *MEG8* и не затрагивающей IG-DMR. С использованием данных литературы проведен сравнительный анализ фенотипов пациентов, имеющих делеции, вовлекающие IG-DMR и MEG3-DMR. **Выводы.** Анализ происхождения делеций, а также входящих в нее генов позволяет поставить точный диагноз и использовать методы пренатальной и/или предимплантационной диагностики.

Ключевые слова: синдром Кагами-Огата, однородительская дисомия 14, делеция 14q32.2.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Novel deletion imprinting region 14q32.2 in a patient with Kagami-Ogata syndrome

Semenova N.A.¹, Anisimova I.V.¹, Volodin I.V.¹, Stupina A.V.²,
Abdraisova A.T.², Tsokova I.B.², Basharin S.A.²

¹ — Federal State Budgetary Institution Research Centre for Medical Genetics.

1, Moskvorechie street, Moscow, 115478, e-mail: semenova@med-gen.ru

² — City Budgetary Institution of health Care «Children's city clinical hospital No. 9 of. GN. Speransky DZM», 123317, Moscow, Shmitovsky passage, 29

The human chromosome region 14q32 contains a number of imprinted genes that are expressed either from the paternal or from the maternal alleles. Genetic alterations of these genes lead to distinct phenotypes, known as maternal uniparental disomy 14 (Temple syndrome OMIM #616222) or paternal uniparental disomy 14 (Kagami-Ogata syndrome OMIM# 608149). Kagami-Ogata syndrome characterizes by a small bell-shaped thorax with a coat-hanger configuration of the ribs, abdominal wall defects, joint contractures and polyhydramnios during the pregnancy. In both syndromes, three types of molecular alterations have been reported: uniparental disomy 14, deletions and epimutations. Most described deletions in previous articles included one or both of the differentially methylated regions: DLK1 and MEG3. In contrast to uniparental disomy and epimutations, deletions affecting regulatory elements in 14q32.2 are associated with a high-recurrence risk. **Patients and Methods.** We present clinical case Kagami-Ogata syndrome is caused deletion 14q32.2. We performed microsatellite analysis of trio and microarray analysis of the mother. **Results.** Microsatellite analysis of trio and microarray analysis of mother have allowed to define the extent of deletions (378 kb) affecting the regions 14q32.2-14q32.1, including genes (*MEG3*, *RTL1*, *MEG8*) that are expressed from the maternal allele and do not affect the IG-DMR. We performed a comparative analysis of patient's phenotypes, described earlier, with different deletions involving IG-DMR and MEG3-DMR. **Conclusion.** Analysis of deletions origin, as well as its included genes, in the diagnosis of diseases allows making an accurate diagnosis and using the methods of prenatal and/or preimplantation diagnostics in patients with a high risk of hereditary pathology.

Key words: Kagami-Ogata syndrome, paternal uniparental disomy 14, deletion 14q32.2.

Введение

Область длинного плеча 14-й хромосомы человека 14q32.2 несет в себе кластер импринтированных генов, включающих гены, экспрессирующиеся с отцовского аллеля: *DLK1* и *RTL1*, а также гены, экспрессирующиеся с материнского аллеля *MEG3*, *RTL1as*, *MEG8* и многочисленные ядерные (sno)RNAs и micro-RNAs [1–4]. Более того, импринтированный локус 14q32.2 содержит два дифференциально метилированных региона (DMRs): первичный межгенный IG-DMR, расположенный между генами *DLK1* и *MEG3*, и вторичный MEG3-DMR. Эти регионы метилированы на отцовской и неметилированы на материнской 14-й хромосоме в большинстве соматических клеток (рис. 1) [5–8].

Генетическое и эпигенетическое повреждение кластера импринтированных генов в локусе 14q32.2 приводит к двум различным фенотипам, известным как материнская или отцовская однородительская дисомия 14. Синдром отцовской однородительской дисомии 14-й хромосомы, известный как синдром Кагами-Огата (OMIM #608149), характеризуется многоводием, маленькой колоколообразной грудной клеткой, лицевым дизморфизмом, дефектами брюшной стенки, дистальным артрогрипозом и задержкой психического развития [9]. Синдром материнской однородительской дисомии хромосомы 14, известный как синдром Темпла (OMIM #616222), характеризуется более мягким фенотипом в виде задержки роста (пре и постнатальной), неонатальной гипотонии, трудностей вскармливания и прежде-

временного пубертата [10]. В обоих случаях описано три типа молекулярных повреждений: однородительская дисомия, делеции и эпимутации [11–16].

В противоположность однородительской дисомии и эпимутациям, делеция регуляторного элемента в локусе 14q32.2 на материнской или отцовской хромосомах ассоциированы с высоким повторным риском рождения больного ребенка [16]. В исследованиях, проведенных ранее, было показано, что *MEG3* и IG-DMR функционируют как центры контроля импринтинга в соматических клетках и плаценте. Функциональная иерархия IG-DMR как регулятора метилирования MEG3-DMR была описана у пациента с делецией 8,6 т.п.н., унаследованной от матери, затрагивающей IG-DMR, но не включающей промотор *MEG3* [16], который, в свою очередь, ассоциирован с эпимутацией (гиперметилированием) MEG3-DMR и имеет фенотипические и плацентарные проявления. В противоположность этому, другой пациент в этом же исследовании, имел делецию размером 4,3 т.п.н. материнского аллеля, затрагивая MEG3-DMR и не вовлекая IG-DMR (рис. 1). Такая делеция ассоциирована с нормальным метилированием IG-DMR. Плацента этого пациента не имела изменений. Оба пациента имели фенотип, характерный для синдрома отцовской однородительской дисомии. Всего в литературе известно 17 случаев делеции 14q32.2 у пациентов с фенотипом синдрома Кагами-Огата. Мы представили клиническое описание случая отцовской однородительской дисомии 14-й хромосомы, обусловленной делецией 14q32.2, унаследованной от матери.

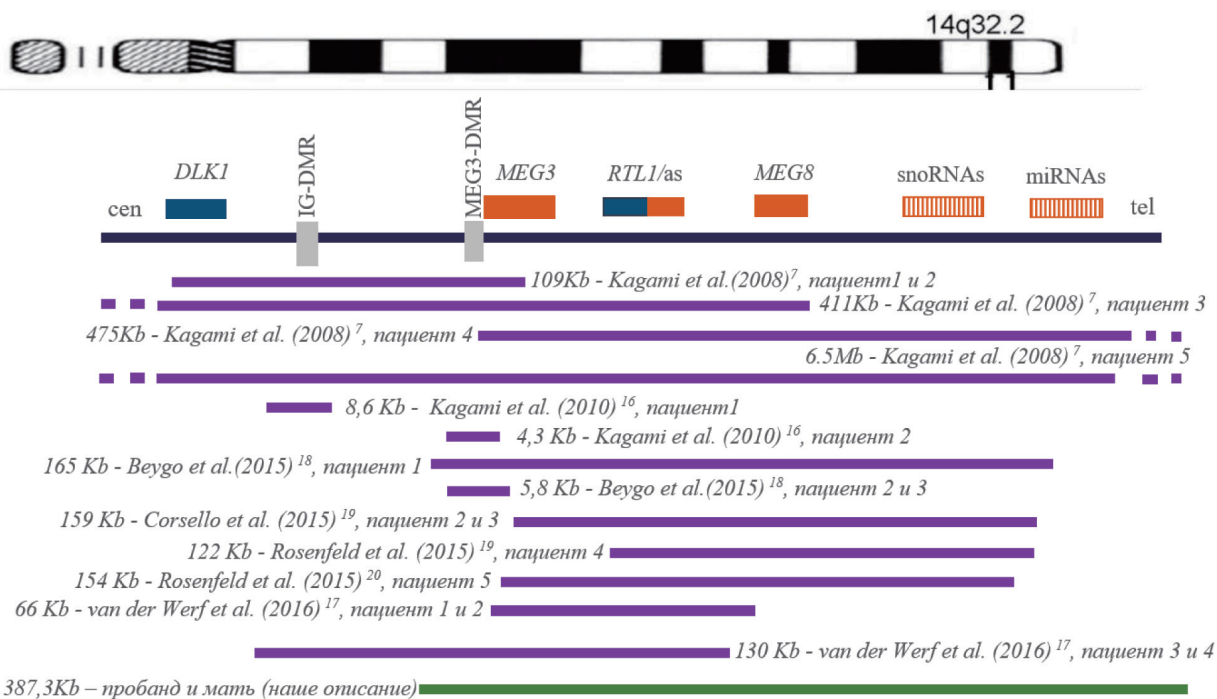


Рис. 1. Схематическое изображение импринтированного региона 14q32.2 длинного плеча хромосомы 14 и делеций, ранее описанных в литературе, а также обнаруженных у нашего пациента и его матери.

Пациенты и методы исследования

Клинический фенотип

Пробанд — мальчик от 2-й беременности в некровнородственном браке. Национальная принадлежность родителей — кабардинцы. Первая беременность у матери завершилась преждевременным родоразрешением в 28 недель плодом мужского пола в связи с прогрессирующим нарастанием многоводия, хронической плацентарной недостаточностью, отслойкой плаценты. Ребенок умер сразу после рождения.

Во время второй беременности при антенатальном скрининге (ультразвуковое исследование) у плода выявлены увеличение толщины воротникового пространства до 3,8 мм, а также дефект брюшной стенки — омфалоцеле. Проведено инвазивное исследование кариотипа плода (аниоцентез): кариотип 46, XY — нормальный мужской. Молекулярный хромосомный анализ выявил микроделецию длинного плеча 14-й хромосомы с позиции 101269807 до позиции 1011657127, затрагивающую регион 14q32.2-14q32.1, размером 378 т.п.н. Гены, расположенные в районе дисбаланса: *MEG3*, *RTL1*, *MIR431*, *MIR433*, *MIR127*, *MIR136*, *MEG8*, *MIR370*, *SNORD113-1*, *SNORD114-1*, *MIR379*, *MIR380*, *MIR494*, *MIR495*,

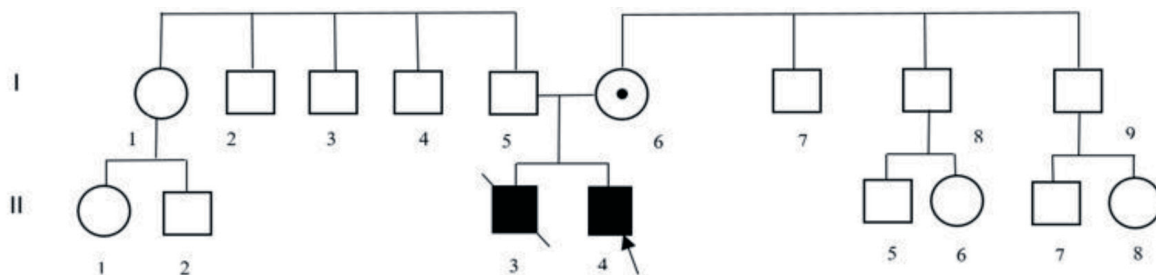
MIR376C, *MIR376A2*, *MIR376B*, *MIR376A1*, *MIR487B*, *MIR134*, *MIR485*, *MIR409*, *MIR369*, *MIR410*, *MIR656*. Молекулярный кариотип: arr[GRCh37]14q32.2q32.31(101269807_101567127)x1.

Цитогенетические кариотипы родителей и их фенотипы нормальные. FISH-анализ локуса 14q32 у родителей патологии не выявил.

Роды в 28 недель, в связи с нарастающим многоводием и плацентарной недостаточностью, ухудшением состояния плода. При рождении масса 1480 г, длина 37 см, окружность головы 30 см, оценка по шкале Апгар 4/5 баллов. Околоплодные воды светлые, 3000 мл. С рождения длительно нуждался в респираторной поддержке. Не исключалась гипоплазия легких. Консультирован с предположительным диагнозом: *синдром коротких ребер, торакальная дисплазия*. По данным ультразвукового исследования почек выявлена двусторонняя пиелэктазия. Проведено оперативное лечение омфалоцеле.

Молекулярно-генетическая диагностика

Для анализа наследования микросателлитных маркеров была создана панель праймеров, включающая в себя три- и тетра-нуклеотидные повторы, а также STS-маркер



А



Б



В



Г

Рис. 2. Родословная семьи (А) и фенотип пробанда: рентгенограмма грудной клетки, (Б), лицевой фенотип (В, Г).

D14S985, располагающийся в регионе 14q32.2-14q32.3. Изучение аллельного состояния маркеров проводилось методом фрагментного анализа на приборе Abi Prism 3500.

Хромосомный микроматричный анализ выполнен на генетическом анализаторе ГЕНОСКАН 3000 с использованием микроматриц высокого разрешения.

Результаты исследования

Фенотип ребенка: длинный выступающий фильтр, низкий рост волос на лбу, низкорасположенные ушные раковины, микрогения, гирсутизм. На рентгенограмме грудной клетки во фронтальной проекции форма грудной клетки колоколообразная, узкая, ребра имеют крючкообразную конфигурацию. На основании анамнеза, а также клинико-лабораторных методов исследования пробанду установлен клинический диагноз: *синдром Кагами-Огата*.

Микросателлитный анализ показал отсутствие материнских аллелей микросателлитных маркеров в материале пробанда, что может свидетельствовать о делеции материнского происхождения либо об однопородительской дисомии отцовского происхождения.

Хромосомный микроматричный анализ, проведенный матери пробанда подтвердил наличие делеции и позволил уточнить размеры и входящие в нее гены. Выявлена микроделеция участка длинного плеча 14-й хромосомы с позиции 101264519 до позиции 101567893, захватывающая регионы 14q32.2q32.31. Размер: 303 т.п.н.

Гены, расположенные в районе дисбаланса: *MEG3, RTL1, MIR431, MIR433, MIR127, MIR136, MEG8, MIR370, SNORD113-1, SNORD114-1, MIR379, MIR380, MIR494, MIR495, MIR376C, MIR376A2, MIR376B, MIR376A1, MIR487B, MIR134, MIR485, MIR409, MIR369, MIR410, MIR656*. Молекулярный кариотип: *arr[hg19] 14q32.2q32.31(101264519_101567893)x1*. Таким образом, пробанд делецию унаследовал от матери. В зону делеции вошел *MEG3-DMR*, при этом не затронут *IG-DMR*.

По данным литературы, известно о 17 случаях синдрома Кагами-Огата, обусловленных делециями, унаследованными от матерей. Описанные делеции вовлекают разные дифференциально импринтированные регионы 14-й хромосомы (рис. 1). Мы провели сравнение клинических фенотипов этих пациентов. Данные представлены в таблице.

Оказалось, что общий признак, который был описан у всех пациентов — это колоколообразная деформация грудной клетки. Этот симптом обнаружен у 100% пробандов. Специфическое крючкообразное строение ребер — у 87,5% (14/16).

Вторым по частоте признаком у пациентов с синдромом Кагами-Огата было многоводие. Оно встречалось в 83,3% (15/18).

В двух описаниях [19, 20] у трех девочек делеции не вовлекали ни один из дифференциально импринтированных регионов 14-й хромосомы, однако у всех пациентов была отмечена специфическая деформация грудной клетки. При этом ни у одного ребенка не было омфалоцеле. У других пациентов, делеция которых вовле-

Таблица

Клиническая характеристика пациентов с синдромом Кагами-Огата, обусловленным микроделецией 14q32, унаследованной от матери

	Kagami et al. ⁷	Kagami et al. ¹⁶	Beygo et al. ¹⁸	Corsello et al. ¹⁹	Rosenfeld et al. ²⁰	van der Werf et al. ¹⁷	Наши данные
Количество пациентов (ж/м)	5 (3:2)	2 (2:0)	3 (1:2)	1 (f)	2 (2:0)	4 (1:3)	1 (м)
Молекулярный анализ:							
IG-DMR материнского происхождения	Делеция (5/5)	Делеция (1/2)	Не вовлечен	Не вовлечен	Не вовлечен	Делеция (2/4)	Не вовлечен
MEG3-DMR материнского происхождения	Делеция (5/5)	Делеция (1/2)	Делеция (3/3)	Не вовлечен	Не вовлечен	Делеция (2/4)	Делеция
Пренатально: Многоводие	+ (4/5)	+ (1/2)	+ (3/3)	+	+ (2/2)	+ (3/4)	+
Срок родов (недель)	27-35	28-33	32-35	35	?	32-41	28
Грудная клетка:							
— колоколообразная грудная клетка	+ (5/5)	+ (2/2)	+ (3/3)	+	+ (2/2)	+ (4/4)	+
— короткие крючкообразные ребра	+ (5/5)	+ (2/2)	+ (3/3)	+	?	+ (2/4)	+
Омфалоцеле	+ (2/5)	+ (2/2)	+ (1/3)	-	-	+ (2/4)	+
Задержка психомоторного развития	+ (3/5)	?	+ (2/3)	?	?	+ (3/4)	?
Примечание. ж/м — женский/мужской пол; IG-DMR, MEG3-DMR — внутригенный дифференциально метилированный регион; "+" — признак присутствует. "-" — признак отсутствует; "?" — признак не описан или данные о нем отсутствуют.							

кала хотя бы один DMRs, этот симптом встречался по меньшей мере в половине случаев (8/15).

Матери больных детей почти во всех описаниях не имели никаких клинических проявлений, лишь мать одного пациента [16] имела низкий рост и ожирение.

Большинство детей нуждались в респираторной поддержке сразу после рождения (14/16). Часть детей, как и наш пробанд, погибла в первые месяцы жизни, однако некоторые пациенты на момент описания не достигли возраста одного года, судьба их неизвестна. В своей работе van der Werf с соавт. [17] описали двоих взрослых пациентов с синдромом Кагами-Огата, имеющих мягкий фенотип. Авторы предположили, что более тяжелый фенотип ассоциирован с делециями, затрагивающий MEG3-DMR.

Выводы

При определении казуативности выявленных у пробанда делеций, анализ их происхождения имеет большое значение. Микроделеции, унаследованные от здоровых родителей, не всегда имеют нейтральный характер, даже при их небольших размерах. Для постановки диагноза имеет значение оценка корреляции генотип-фенотип с генами, вошедшими в зону дисбаланса.

Список литературы

1. Wylie AA, Murphy SK, Orton TC, Jirtle RL. Novel imprinted DLK1/GTL2 domain on human chromosome 14 contains motifs that mimic those implicated in IGF2/H19 regulation. *Genome Res* 2000; 10: 1711-1718.
2. Charlier C, Segers K, Wagenaar D et al: Human-ovine comparative sequencing of a 250-kb imprinted domain encompassing the callipyge (clpg) locus and identification of six imprinted transcripts: DLK1, DAT, GTL2, PEG11, antiPEG11, and MEG8. *Genome Res* 2001; 11: 850-862.
3. Cavaille J, Seitz H, Paulsen M, Ferguson-Smith AC, Bachellerie JP: Identification of tandemly-repeated C/D snoRNA genes at the imprinted human 14q32 domain reminiscent of those at the Prader-Willi/Angelman syndrome region. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 1527-1538.
4. Seitz H, Royo H, Bortolin ML, Lin SP, Ferguson-Smith AC, Cavaille J: A large imprinted microRNA gene cluster at the mouse Dlk1-Gtl2 domain. *Genome Res* 2004; 14: 1741-1748.
5. Paulsen M, Takada S, Youngson NA et al: Comparative sequence analysis of the imprinted Dlk1-Gtl2 locus in three mammalian species reveals highly conserved genomic elements and refines comparison with the Igf2-H19 region. *Genome Res* 2001; 11: 2085-2094.
6. Lin SP, Youngson N, Takada S et al: Asymmetric regulation of imprinting on the maternal and paternal chromosomes at the Dlk1-Gtl2 imprinted cluster on mouse chromosome 12. *Nat Genet* 2003; 35: 97-102.
7. Kagami M, Sekita Y, Nishimura G et al: Deletions and epimutations affecting the human 14q32.2 imprinted region in individuals with paternal and maternal upd(14)-like phenotypes. *Nat Genet* 2008; 40: 237-242.
8. Ogata T, Kagami M, Ferguson-Smith AC: Molecular mechanisms regulating phenotypic outcome in paternal and maternal uniparental disomy for chromosome 14. *Epigenetics* 2008; 3: 181-187.
9. Kagami M, Nishimura G, Okuyama T et al: Segmental and full paternal isodisomy for chromosome 14 in three patients: narrowing the critical region and implication for the clinical features. *Am J Med Genet A* 2005; 138A: 127-132.
10. Temple IK, Cockwell A, Hassold T, Pettay D, Jacobs P: Maternal uniparental disomy for chromosome 14. *J Med Genet* 1991; 28: 511-514.
11. Mitter D, Buiting K, von Eggeling F et al: Is there a higher incidence of maternal uniparental disomy 14 [upd(14)mat]? Detection of 10 new patients by methylationspecific PCR. *Am J Med Genet A* 2006; 140: 2039-2049.
12. Antonarakis SE, Blouin JL, Maher J, Avramopoulos D, Thomas G, Talbot CC Jr:
13. Maternal uniparental disomy for human chromosome 14, due to loss of a chromosome 14 from somatic cells with t(13;14) trisomy 14. *Am J Hum Genet* 1993; 52:1145-1152.
14. Buiting K, Kanber D, Martin-Subero JI et al: Clinical features of maternal uniparental disomy 14 in patients with an epimutation and a deletion of the imprinted DLK1/GTL2 gene cluster. *Hum Mutat* 2008; 29: 1141-1146.
15. Zechner U, Kohlschmidt N, Rittner G et al: Epimutation at human chromosome 14q32.2 in a boy with a upd(14)mat-like clinical phenotype. *Clin Genet* 2009; 75:251-258.
16. Kagami M, O'Sullivan MJ, Green AJ et al: The IG-DMR and the MEG3-DMR at human chromosome 14q32.2: hierarchical interaction and distinct functional properties as imprinting control centers. *PLoS Genet* 2010; 6: e1000992.
17. van der Werf I, Buiting K et al. Novel microdeletions on chromosome 14q32.2 suggest a potential role for non-coding RNAs in Kagami-Ogata syndrome. *Journal Article published 13 Jul 2016 in European Journal of Human Genetics. volume 24 issue 12 on p1724-29. doi.org/10.1038/ejhg.2016.82*
18. Beygo J, Elbracht M, de Groot Ket al: Novel deletions affecting the MEG3-DMR provide further evidence for a hierarchical regulation of imprinting in 14q32. *Eur J Hum Genet*. 2015;23:180-188.
19. Corsello G, Salzano E, Vecchio Det al: Paternal uniparental disomy chromosome 14-like syndrome due a maternal de novo 160kb deletion at the 14q32.2 region not encompassing the IG- and the MEG3-DMRs: Patient report and genotype-phenotype correlation. *Am J Med Genet*.2015;167A:3130-3138.
20. Rosenfeld JA, Fox JE, Descartes Met al: Clinical features associated with copy number variations of the 14q32 imprinted gene cluster. *Am J Med Genet A*2015;167A: 345-353.