



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความหลากหลายของลักษณะทางคลินิกที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน FGFR:  
จากการเติบโตผิดปกติรูปร่างถึงการเกิดมะเร็ง

รองศาสตราจารย์นายแพทย์วรศักดิ์ โชติเลอศักดิ์  
หน่วยเวชพันธุศาสตร์และเมแทบอลิซึม ภาควิชากุมารเวชศาสตร์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

30 พฤศจิกายน 2546

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์แพทย์หญิงสุมาลี ศรีวิภานา ศาสตราจารย์นายแพทย์สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงจุงจิตร งามไพบูลย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงพรรณทิพา ฉัตรชาติ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ทายาท ดีสุดจิต แพทย์หญิงอวยพร ชีวถาวร แห่งภาควิชากุมารเวชศาสตร์ รองศาสตราจารย์นายแพทย์ จรัญ มหาทุมะรัตน์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์นนท์ โรจน์วิชานนท์ อาจารย์นายแพทย์พิชิต ศิริวรรณ อาจารย์นายแพทย์อภิชัย อังสพัทธ์ อาจารย์นายแพทย์ ช่อเพ็ญ เตโชพาร แห่งภาควิชาศัลยศาสตร์ ศาสตราจารย์แพทย์หญิงนียา สุวรรณเวลา ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงกาญจนา โชติเลอศักดิ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงสุกัลยา เลิศล้ำ ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงอัจฉรา มหายศนันท์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงปานฤทัย ศรีนวลรัตน์ แห่งภาควิชารังสีวิทยา ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ วรพงศ์ ภู่งศ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงสุรางค์ ศรีรัตนชาติ รองศาสตราจารย์นายแพทย์สมชัย นิรุติศาสน์ แห่งภาควิชาสูติเวชศาสตร์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์สารัช สุนทรโยธิน แห่งภาควิชาอายุรศาสตร์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ชนพ ช่างโชติ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงวรรณุช ชนากิจ แห่งภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นายแพทย์วีรยุทธ ประพันธ์พจน์ โรงพยาบาลราชานุกูล และเจ้าหน้าที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่กรุณาช่วยดูแลผู้ป่วยเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์นายแพทย์ ยง ภู่วรรณ รองศาสตราจารย์นายแพทย์ อภิวัฒน์ มุทิรางกูร ศาสตราจารย์ปิยะรัตน์ โดสไชวงศ์ แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ศ.ดร.มรว. ชินนุสร สวัสดิวัฒน์ ดร. จันทรกานต์ พิภพมงคล Dr. James R. Ketudat Cairns แห่งสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ Dr. K Yoshiura Dr. N Niikawa แห่ง Nagasaki University School of Medicine, Japan ที่กรุณาให้คำแนะนำ ชี้แนะ สนับสนุนและร่วมทำการทดลองทางห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณนายชูพงศ์ อิทธิวุฒิ นายเฉลิมพล ศรีจอมทอง นางสาวศิริประภา ทองกอบเพชร นางสาวทิวรัตน์ สินธุวิวัฒน์ นิสิตปริญญาโท นางสาวรัชนิกร บุญยัษฐิติ นิสิตปริญญาตรี นางสาวสุภาพ อรุณภาคมงคล นางสาวอภิรดี เทียมบุญเลิศ นายวีรชัย แก้วผลึก เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ร่วมทำการทดลองทางห้องปฏิบัติการ

ขอขอบพระคุณสำนักงานส่งเสริมการวิจัย (สกว.) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่สนับสนุนในด้านเงินทุน สถานที่ เจ้าหน้าที่และอื่น ๆ ศาสตราจารย์นายแพทย์ภิรมย์ กมลรัตนกุล คณบดีคณะแพทยศาสตร์ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงรัชณี เช่นศิริวิภานา อดีตหัวหน้าภาควิชากุมารเวชศาสตร์ และ

ศาสตราจารย์แพทย์หญิงพิมลรัตน์ ไทยธรรมยานนท์ หัวหน้าภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทย  
ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุน  
และขอขอบคุณผู้ป่วยและครอบครัวที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RSA/05/2544

ชื่อโครงการ ความหลากหลายของลักษณะทางคลินิกที่เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน FGFR: จาก  
การเติบโตผิดปกติรูปร่างถึงการเกิดมะเร็ง

ชื่อนักวิจัย รองศาสตราจารย์นายแพทย์วรศักดิ์ โชติเลอศักดิ์

สถาบัน หน่วยเวชพันธุศาสตร์และเมแทบอลิซึม ภาควิชากุมารเวชศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address : vorasuk.s@chula.ac.th

ระยะเวลาโครงการ 1 ธันวาคม 2543 ถึง 30 พฤศจิกายน 2546

โรคในกลุ่มอาการที่มีความผิดปกติทางรูปร่างและกลุ่มโรคพันธุกรรมเมแทบอลิก แม้แต่ละโรคจะพบได้น้อย แต่โดยรวมแล้วนับเป็นสัดส่วนที่สำคัญของการเจ็บป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็ก โรคกลุ่มนี้แสดงอาการได้ในทุกอวัยวะ ทุกรูปแบบ ทำให้การวินิจฉัยทำได้ค่อนข้างยาก อย่างไรก็ตามแพทย์จำเป็นต้องพยายามให้การวินิจฉัยที่ถูกต้อง ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยและป้องกันการเกิดซ้ำของสมาชิกคนอื่นในครอบครัว

คณะผู้วิจัยได้ศึกษาลักษณะทางคลินิก พัฒนาการตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการทางชีวเคมีและอนุพันธุศาสตร์เพื่อใช้ในการวินิจฉัยผู้ป่วยไทยที่มีความพิการแต่กำเนิดและโรคพันธุกรรมเมแทบอลิก พบว่าผู้ป่วยไทยหลายโรคมีลักษณะทางคลินิกและการกลายพันธุ์ที่มีลักษณะเฉพาะ รวมทั้ง โรครอยต่อของกะโหลกปิดก่อนกำหนด, กลุ่มอาการ Van der Woude, Pseudoachondroplasia, กลุ่มอาการ Kabuki syndrome, hydroletharus, และ methylmalonic academia นอกจากนี้ยังพบว่าการกลายพันธุ์บางชนิดนอกจากจะทำให้เกิดความพิการแต่กำเนิดแล้ว ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดมะเร็งปากมดลูกและมะเร็งหลังโพรงจมูกอีกด้วย

คำหลัก: ความพิการแต่กำเนิด โรคพันธุกรรมเมแทบอลิก มะเร็งปากมดลูก มะเร็งหลังโพรงจมูก  
การกลายพันธุ์

## Abstract

Project Code : RSA/05/2544

Project Title : Clinical variability of *FGFR* mutations: from malformations to malignancies.

Investigator : Vorasuk Shotelersuk, MD.

Section on Medical Genetics and Metabolism, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine,  
Chulalongkorn University

E-mail Address : vorasuk.s@chula.ac.th

Project Period : 1 December 2000 – 30 November 2003

While dysmorphic syndromes and inherited metabolic disorders are individually rare, they collectively account for a significant proportion of illness, especially in children. They present clinically in a wide variety of ways, involving virtually any organ or tissue of the body making them relatively difficult to diagnose. However, reaching an accurate diagnosis for children with dysmorphic features and suspected inherited metabolic disorders is important to them and their families both for treatment and for the prevention of disease in other family members. It also makes available all the accumulated knowledge about the relevant condition.

We studied clinical features, developed biochemical and molecular techniques to help making definite diagnoses for Thai patients with genetic disorders, including dysmorphic syndromes and inherited metabolic disorders. We found out that Thai patients with many of these disorders such as syndromic craniosynostoses, Van der Woude syndrome, Pseudoachondroplasia, Kabuki syndrome, hydrolethrus, and methylmalonic academia, have unique clinical and molecular features. In addition, some of these mutations, besides being responsible for malformation syndromes are related to cervical and nasopharyngeal cancer developments.

Keywords : malformation syndromes, Inherited metabolic disorders, cervical cancer, nasopharyngeal cancer, mutation analysis

## เนื้อหางานวิจัย

บทนำ โครงการศึกษาจีโนมมนุษย์ (Human Genome Project) ซึ่งเป็นโครงการทางชีววิทยาที่ใหญ่ที่สุดโครงการหนึ่งในประวัติศาสตร์ของมนุษยชาติ โดยมีจุดประสงค์หลักเพื่อศึกษาการเรียงลำดับ nucleotide ของจีโนมมนุษย์ ได้เสร็จสิ้นลงแล้วเมื่อไม่นานมานี้ โรคของมนุษย์เกือบทุกโรคมีสาเหตุมาจากความผิดปกติของสารพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เป็นที่ทราบกันอย่างแน่ชัดว่า ลักษณะทางคลินิกของโรคที่มีการถ่ายทอดแบบยีนเดี่ยว เช่น thalassemia ขึ้นกับปัจจัยทางพันธุกรรมเป็นอย่างมาก แต่โรคอื่น ๆ เช่น เบาหวาน, ความดันโลหิตสูง, โรคอ้วน, มะเร็ง รวมทั้งลักษณะนิสัยก็อาจมีส่วนได้รับอิทธิพลจากปัจจัยทางพันธุกรรมด้วย การทราบลำดับ nucleotide ในจีโนมมนุษย์จะทำให้การค้นพบยีนทั้งที่ก่อโรค (disease causing gene) และที่เพิ่มแนวโน้มการเกิดโรค (susceptibility gene) เร็วขึ้นมาก คณะผู้วิจัยจึงได้ถือโอกาสนี้นำความรู้ที่ได้จากโครงการศึกษาจีโนมมนุษย์มาใช้ประโยชน์ในประชากรไทยที่เป็นโรคในกลุ่มความพิการแต่กำเนิด โรคมะเร็งปากมดลูก และโรคพันธุกรรมเมแทบอลิก

ความพิการแต่กำเนิด (congenital anomalies) หมายถึง ความผิดปกติทางรูปร่างแต่กำเนิด เป็นกลุ่มโรคที่มีอุบัติการณ์สูง ทารกแรกเกิด 100 คนจะมีผู้ที่มีความพิการแต่กำเนิดชนิดรุนแรงอยู่ 2 ถึง 4 คน โดยมีโรคและกลุ่มอาการที่เป็นสาเหตุของความพิการเหล่านี้เป็นจำนวนมาก ใน website ที่ชื่อ Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>> ซึ่งบันทึกเฉพาะกลุ่มอาการที่เกิดจากยีนเดี่ยวได้บรรจุรายการไว้มากกว่า 10,000 รายการ เมื่อเกิดความพิการแต่กำเนิดขึ้นแล้ว มักเป็นภาระต่อผู้ป่วย ครอบครัวและสังคมเป็นอย่างมาก การให้การวินิจฉัยที่แน่ชัดได้จากลักษณะทางคลินิกและการกลายพันธุ์จะทำให้แพทย์สามารถให้ข้อมูลแก่ผู้ป่วยและครอบครัวได้อย่างถูกต้อง เช่นการพยากรณ์โรคและโอกาสการเกิดซ้ำ ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญมากกับครอบครัวในการตัดสินใจต่อไป นอกจากนั้นความพิการแต่กำเนิดบางชนิดยังสามารถป้องกันเพื่อลดโอกาสการเกิดให้น้อยลงได้ ยิ่งไปกว่านั้น ยีนที่เป็นสาเหตุของความพิการแต่กำเนิดบางยีนยังเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งด้วย เช่น *FGFR3* เป็นสาเหตุของการเกิดโรค thanatophoric dwarfism และมะเร็งบางชนิด

โรคพันธุกรรมเมแทบอลิก (inherited metabolic disorders หรือ inborn errors of metabolism) มีความหมายที่ใช้กันโดยทั่วไปคือกลุ่มโรคที่เกิดจากความผิดปกติของกระบวนการย่อยสลาย (catabolism) หรือกระบวนการสังเคราะห์ (anabolism) สารอาหารซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ผิดปกติ การทำงานที่ผิดปกติของเอนไซม์จะทำให้เกิดการคั่งของสารตั้งต้นและการขาดของผลิตภัณฑ์ สารตั้งต้นที่คั่งอาจถูกเปลี่ยนไปเป็น metabolites อื่นโดยกระบวนการรอง (minor pathway) ส่ง

ผลให้การทำงานของเซลล์ผิดปกติและเกิดอาการทางคลินิกขึ้น เมื่อเกิดโรคในกลุ่มนี้ ก็เป็นดังเช่น การเกิดความพิการแต่กำเนิด กล่าวคือเป็นโรคที่เป็นภาระต่อผู้ป่วย ครอบครัวและสังคมเป็นอย่างมาก การรักษาให้หายขาดเป็นไปได้ยาก การให้การวินิจฉัยที่แน่ชัดได้จากลักษณะทางคลินิก การตรวจทางชีวเคมีและการกลายพันธุ์จะทำให้แพทย์สามารถให้ข้อมูลแก่ผู้ป่วยและครอบครัวได้อย่างถูกต้อง ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญมากกับครอบครัวในการตัดสินใจต่อไป

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาลักษณะทางคลินิกและลักษณะการกลายพันธุ์ของผู้ป่วยไทยที่มีความพิการแต่กำเนิด เช่น craniosynostoses และโรคพันธุกรรมเมแทบอลิก
2. เพื่อศึกษาบทบาทของยีน *FGFR3* ในการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก

### วิธีทดลอง

1. ศึกษาลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยไทยที่มีความพิการแต่กำเนิดและเป็นมะเร็งปากมดลูกที่มาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
2. เก็บเลือด สกัด DNA และศึกษาการกลายพันธุ์ของผู้ป่วย

### ผลการทดลอง

คณะผู้วิจัยได้ศึกษาลักษณะทางคลินิกและเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยและครอบครัว สรุปได้ดังนี้

1. ลักษณะทางคลินิกของผู้ป่วยไทยที่มีความพิการแต่กำเนิดหลายโรคมีลักษณะเฉพาะ
  - 1.1 Craniosynostosis with skin, eye and joint manifestations<sup>1</sup>
  - 1.2 Hydroletharus syndrome อายุยืนกว่าปกติ<sup>2</sup>
  - 1.3 Kabuki syndrome และมี discordant monozygotic twins คู่แรกของโลก<sup>3</sup>
  - 1.4 คณะผู้วิจัยศึกษาผู้ป่วยที่เป็นพี่น้อง มีลักษณะอาการทางคลินิกที่เฉพาะ และได้เสนอว่าเป็นกลุ่มอาการใหม่ที่ไม่มีการรายงานมาก่อน<sup>4</sup>
  - 1.5 คณะผู้วิจัยได้ใช้วิธีการทางพยาธิวิทยาให้การวินิจฉัยผู้ป่วยโรค Pompe (Glycogen storage disease type II) เป็นจำนวน 2 ราย ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัยก่อนคลอดได้สำเร็จเป็นครั้งแรกในประเทศไทย<sup>5</sup>
2. พัฒนารูปแบบการตรวจโรคในกลุ่มที่มีความพิการแต่กำเนิดและโรคพันธุกรรมเมแทบอลิก
  - 2.1 พัฒนารูปแบบการตรวจกรดอินทรีย์ในปัสสาวะด้วยวิธี GC-MS<sup>6</sup>

- 2.2 คณะผู้วิจัยศึกษาผู้ป่วยที่เป็น methemoglobinemia และยืนยันด้วยวิธีการทางชีวเคมีที่ปฏิบัติในห้องปฏิบัติการในประเทศไทย<sup>7</sup>
- 2.3 ศึกษาการวินิจฉัย precocious puberty ด้วยการกระตุ้นฮอร์โมน<sup>8</sup>
- 2.4 พัฒนาการตรวจโรค Achondroplasia ด้วยวิธีทางอณูพันธุศาสตร์<sup>9</sup>
- 2.5 พัฒนาการตรวจโรค Pfeiffer syndrome ด้วยวิธีทางอณูพันธุศาสตร์<sup>10</sup>
- 2.6 พัฒนาการตรวจโรค MEN 2A ด้วยวิธีทางอณูพันธุศาสตร์<sup>11</sup>
- 2.7 ศึกษาลักษณะรูปแบบของกรดอะมิโนในผู้ป่วย cystinuria<sup>12</sup>
- 2.8 ทบทวนลักษณะทางคลินิก ชีวเคมีและการกลายพันธุ์ในผู้ป่วยไทยที่มีความผิดปกติแต่กำเนิด และโรคพันธุกรรมเมแทบอลิก<sup>13</sup>
3. ลักษณะการกลายพันธุ์ของผู้ป่วยไทยที่เป็นโรคพันธุกรรมหลายโรคต่างจากผู้ป่วยเชื้อสายอื่น เช่น
  - 3.1 Pseudoachondroplasia พบครอบครัวที่มีการกลายพันธุ์ที่เป็นการกลายพันธุ์ใหม่ ไม่เหมือนผู้ป่วยอื่นในโลก<sup>14</sup>
  - 3.2 Methymalonic academia พบครอบครัวที่มีการกลายพันธุ์ที่เป็นการกลายพันธุ์ใหม่ ไม่เหมือนผู้ป่วยอื่นในโลก<sup>15</sup>
  - 3.3 Van der Woude syndrome พบครอบครัวที่มีการกลายพันธุ์ที่เป็นการกลายพันธุ์ใหม่ ไม่เหมือนผู้ป่วยอื่นในโลก<sup>16</sup>
  - 3.4 Crouzon and Apert syndromes พบการกลายพันธุ์ในยีน *FGFR* ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดได้เป็นผลสำเร็จ<sup>17</sup>
  - 3.5 ผู้ป่วยโรคมะเร็ง คณะผู้วิจัยศึกษาผู้ป่วยหญิงไทยที่เป็น cervical cancer 75 ราย ไม่พบว่าการกลายพันธุ์ชนิด S249C ในยีน *FGFR3* ซึ่งต่างจากผู้ป่วยที่เคยมีรายงานมาก่อนในต่างประเทศ ที่บางรายงานมีอัตราการกลายพันธุ์สูงถึงร้อยละ 25 ส่วนการศึกษาผู้ป่วยไทยที่เป็น nasopharyngeal cancer 69 ราย พบว่าการกลายพันธุ์ชนิด S249C ในยีน *FGFR3* 1 ราย ซึ่งนับเป็นผู้ป่วย nasopharyngeal cancer รายแรกที่พบการกลายพันธุ์ในยีนนี้<sup>18</sup>
4. คณะผู้วิจัยศึกษาพบว่าลักษณะทางพันธุกรรมแบบหนึ่งในมารดา คือ *MTHFR* 677CT/1298AC เป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้บุตรในครรภ์เป็นโรคปากแหว่งเพดานโหว่มากกว่าลักษณะทางพันธุกรรมแบบอื่น ๆ 4.4 เท่า<sup>19</sup>



## สรุป

1. โรคความพิการแต่กำเนิดโรคเดียวกันอาจเกิดจากการกลายพันธุ์ต่างชนิดในยีนเดียวกัน หรือจากการกลายพันธุ์ต่างยีนกัน ในขณะที่การกลายพันธุ์ที่เหมือนกันอาจทำให้เกิดโรคที่มีลักษณะทางคลินิกที่แตกต่างกันได้มาก ตั้งแต่ทำให้เกิดความพิการแต่กำเนิดจนถึงการเกิดมะเร็ง

2. ในคนไทยมีกลุ่มอาการบางอย่างที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนในโลก รวมทั้งมีลักษณะทางคลินิก และการกลายพันธุ์ที่แตกต่างจากชนชาติอื่น ซึ่งส่งผลต่อการเลือกวิธีการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

## เอกสารอ้างอิง

1. Shotelersuk V, Ittiwut C, Srivuthana S, Mahatumarat C, Lerdlum S, Wacharasindhu S. Distinct craniofacial-skeletal-dermatological dysplasia in a patient with W290C mutation in FGFR2. Am J Med Genet 2002;113(1):4-8.
2. Shotelersuk V, Punyavoravud V, Phudhichareonrat S, Kukulprasong A. An Asian girl with a 'milder' form of the Hydrolethalus syndrome. Clin Dysmorphol 2001;10(1):51-5.
3. Shotelersuk V, Punyashtithi R, Srivuthana S, Wacharasindhu S. Kabuki syndrome: report of six Thai children and further phenotypic and genetic delineation. Am J Med Genet 2002;110(4):384-90.
4. Shotelersuk V, Desudchit T, Suwanwela N. Postnatal growth failure, microcephaly, mental retardation, cataracts, large joint contractures, osteoporosis, cortical dysplasia, and cerebellar atrophy. Am J Med Genet 2003;116A(2):164-9.
5. Shotelersuk V, Shuangshoti S, Chotivitayatarakorn P, Chouwsrikul W, Wattanasirmit V, Maneesri S, et al. Clinical, pathological, and electron microscopic findings in two Thai children with Pompe disease. J Med Assoc Thai 2002;85 Suppl 1:S271-9.
6. Shotelersuk V, Srivuthana S, Wacharasindhu S, Dhamcharee V, Jaruratanasirikul S, Pangkanon S, et al. Establishing gas chromatography-mass spectrometry to diagnose

organic acidemias in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2000;31(3):566-70.

7. Shotelersuk V, Tosukhowong P, Chotivitayatarakorn P, Pongpunlert W. A Thai boy with hereditary enzymopenic methemoglobinemia type II. *J Med Assoc Thai* 2000;83(11):1380-6.

8. Wacharasindhu S, Srivuthana S, Aroonparkmongkol S, Shotelersuk V. A cost-benefit of GnRH stimulation test in diagnosis of central precocious puberty (CPP). *J Med Assoc Thai* 2000;83(9):1105-11.

9. Shotelersuk V, Ittiwut C, Srivuthana S, Wacharasindhu S, Aroonparkmongkol S, Mutirangura A, et al. Clinical and molecular characteristics of Thai patients with achondroplasia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001;32(2):429-33.

10. Shotelersuk V, Srivuthana S, Ittiwut C, Theamboonlers A, Mahatamarat C, Poovorawan Y. A case of Pfeiffer syndrome type 1 with an A344P mutation in the FGFR2 gene. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001;32(2):425-8.

11. Sunthornyothin S, Sinthuwiwat T, Shotelersuk V. A RET C634R mutation in a Thai female with multiple endocrine neoplasia type 2A. *J Med Assoc Thai* 2003;86 Suppl 2:S472-6.

12. Tangnararatchakit K, Ariyaprakai W, Tapaneya-Olarn W, Shotelersuk V, Petchthong T. Cystinuria: cause of recurrent renal stones in a 4-year-old girl. *J Med Assoc Thai* 2002;85 Suppl 4:S1281-6.

13. Shotelersuk V. Molecular diagnosis of dysmorphic syndromes and inherited metabolic disorders in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2003;86 Suppl 2:S129-34.

14. Shotelersuk V, Punyashtithi R. A novel mutation of the COMP gene in a Thai family with pseudoachondroplasia. *Int J Mol Med* 2002;9(1):81-4.

15. Champattanachai V, Ketudat Cairns JR, Shotelersuk V, Keeratichamroen S, Sawangareetrakul P, Srisomsap C, et al. Novel mutations in a Thai patient with methylmalonic acidemia. *Mol Genet Metab* 2003;79(4):300-2.

16. Shotelersuk V, Srichomthong C, Yoshiura K, Niikawa N. A novel mutation, 1234del(C), of the IRF6 in a Thai family with Van der Woude syndrome. *Int J Mol Med* 2003;11(4):505-7.
17. Shotelersuk V, Mahatumarat C, Ittiwut C, Rojvachiranonda N, Srivuthana S, Wacharasindhu S, et al. FGFR2 mutations among Thai children with Crouzon and Apert syndromes. *J Craniofac Surg* 2003;14(1):101-4; discussion 105-7.
18. Shotelersuk V, Ittiwut C, Shotelersuk K, Triratanachat S, Poovorawan Y, Mutirangura A. Fibroblast growth factor receptor 3 S249C mutation in virus associated squamous cell carcinomas. *Oncol Rep* 2001;8(6):1301-4.
19. Shotelersuk V, Ittiwut C, Siriwan P, Angspatt A. Maternal 677CT/1298AC genotype of the MTHFR gene as a risk factor for cleft lip. *J Med Genet* 2003;40(5):e64.

## Output

### 1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

1. Shotelersuk V, Ittiwut C, Srivuthana S, Mahatumarat C, Lerdlum S, Wacharasindhu S. Distinct craniofacial-skeletal-dermatological dysplasia in a patient with W290C mutation in FGFR2. *Am J Med Genet* 2002;113(1):4-8.
2. Shotelersuk V, Punyavoravud V, Phudhichareonrat S, Kukulprasong A. An Asian girl with a 'milder' form of the Hydroletharus syndrome. *Clin Dysmorphol* 2001;10(1):51-5.
3. Shotelersuk V, Punyashtiti R, Srivuthana S, Wacharasindhu S. Kabuki syndrome: report of six Thai children and further phenotypic and genetic delineation. *Am J Med Genet* 2002;110(4):384-90.
4. Shotelersuk V, Desudchit T, Suwanwela N. Postnatal growth failure, microcephaly, mental retardation, cataracts, large joint contractures, osteoporosis, cortical dysplasia, and cerebellar atrophy. *Am J Med Genet* 2003;116A(2):164-9.
5. Shotelersuk V, Shuangshoti S, Chotivitayatarakorn P, Chouwsriku W, Wattanasirmit V, Maneesri S, et al. Clinical, pathological, and electron microscopic findings in two Thai children with Pompe disease. *J Med Assoc Thai* 2002;85 Suppl 1:S271-9.
6. Shotelersuk V, Srivuthana S, Wacharasindhu S, Dhamcharee V, Jaruratanasirikul S, Pangkanon S, et al. Establishing gas chromatography-mass spectrometry to diagnose organic acidemias in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2000;31(3):566-70.
7. Shotelersuk V, Tosukhowong P, Chotivitayatarakorn P, Pongpunlert W. A Thai boy with hereditary enzymopenic methemoglobinemia type II. *J Med Assoc Thai* 2000;83(11):1380-6.
8. Wacharasindhu S, Srivuthana S, Aroonparkmongkol S, Shotelersuk V. A cost-benefit of GnRH stimulation test in diagnosis of central precocious puberty (CPP). *J Med Assoc Thai* 2000;83(9):1105-11.

9. Shotelersuk V, Ittiwut C, Srivuthana S, Wacharasindhu S, Aroonparkmongkol S, Mutirangura A, et al. Clinical and molecular characteristics of Thai patients with achondroplasia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001;32(2):429-33.
10. Shotelersuk V, Srivuthana S, Ittiwut C, Theamboonlers A, Mahatumarat C, Poovorawan Y. A case of Pfeiffer syndrome type 1 with an A344P mutation in the FGFR2 gene. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001;32(2):425-8.
11. Sunthornyothin S, Sinthuwiwat T, Shotelersuk V. A RET C634R mutation in a Thai female with multiple endocrine neoplasia type 2A. *J Med Assoc Thai* 2003;86 Suppl 2:S472-6.
12. Tangnararatchakit K, Ariyaprakai W, Tapaneya-Olarn W, Shotelersuk V, Petchthong T. Cystinuria: cause of recurrent renal stones in a 4-year-old girl. *J Med Assoc Thai* 2002;85 Suppl 4:S1281-6.
13. Shotelersuk V. Molecular diagnosis of dysmorphic syndromes and inherited metabolic disorders in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2003;86 Suppl 2:S129-34.
14. Shotelersuk V, Punyashthiti R. A novel mutation of the COMP gene in a Thai family with pseudoachondroplasia. *Int J Mol Med* 2002;9(1):81-4.
15. Champattanachai V, Ketudat Cairns JR, Shotelersuk V, Keeratichamroen S, Sawangareetrakul P, Srisomsap C, et al. Novel mutations in a Thai patient with methylmalonic acidemia. *Mol Genet Metab* 2003;79(4):300-2.
16. Shotelersuk V, Srichomthong C, Yoshiura K, Niikawa N. A novel mutation, 1234del(C), of the IRF6 in a Thai family with Van der Woude syndrome. *Int J Mol Med* 2003;11(4):505-7.
17. Shotelersuk V, Mahatumarat C, Ittiwut C, Rojvachiranonda N, Srivuthana S, Wacharasindhu S, et al. FGFR2 mutations among Thai children with Crouzon and Apert syndromes. *J Craniofac Surg* 2003;14(1):101-4; discussion 105-7.
18. Shotelersuk V, Ittiwut C, Shotelersuk K, Triratanachat S, Poovorawan Y, Mutirangura A. Fibroblast growth factor receptor 3 S249C mutation in virus associated squamous cell carcinomas. *Oncol Rep* 2001;8(6):1301-4.

19. Shotelersuk V, Ittiwut C, Siriwan P, Angspatt A. Maternal 677CT/1298AC genotype of the MTHFR gene as a risk factor for cleft lip. J Med Genet 2003;40(5):e64.

## 2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้นำผลงานดังกล่าวไปสอนนิสิต และไปเสนอในการประชุมต่าง ๆ ทั่วประเทศ รวมทั้ง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โรงพยาบาลศิริราช โรงพยาบาลรามาธิบดี สถาบันสุขภาพแห่งชาติมหา ราชินี โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และมหาวิทยาลัย สงขล

ผลิตนักวิจัยใหม่ ระดับปริญญาโท 4 ท่าน ได้แก่ นายชูพงศ์ อธิวิรุฒ นายเฉลิมพล ศรี จอมทอง นางสาวศิริประภา ทองกอบเพชร นางสาวทิวรัตน์ สินธุวิวัฒน์

นอกจากนี้งานวิจัยยังเป็นประโยชน์และได้ใช้แล้วกับครอบครัวผู้ป่วยในกลุ่มที่มีความพิการ แต่กำเนิดและกลุ่มโรคพันธุกรรมเมแทบอลิกหลายครอบครัว

ภาคผนวก

## บทความที่ 1



# Distinct Craniofacial-Skeletal-Dermatological Dysplasia in a Patient With W290C Mutation in *FGFR2*

Vorasuk Shotelersuk,<sup>1\*</sup> Chupong Ittiwut,<sup>1</sup> Sumarlee Srivuthana,<sup>1</sup> Charan Mahatumarat,<sup>2</sup> Sukalaya Lerdlum,<sup>3</sup> and Suthipong Wacharasindhu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

<sup>2</sup>Department of Surgery, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

<sup>3</sup>Department of Radiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Mutations in the fibroblast growth factor receptor genes (*FGFR*) have been known to be associated with many craniosynostosis syndromes with overlapping phenotypes. We studied a 15-year-old Thai boy with an unspecified craniosynostosis syndrome characterized by multiple suture craniosynostoses, a persistent anterior fontanel, corneal scleralization, choanal stenosis, atresia of the auditory meatus, broad thumbs and great toes, severe scoliosis, acanthosis nigricans, hydrocephalus, and mental retardation. Radiography revealed bony ankyloses of vertebral bodies of T9–12, humero-radio-ulnar joints, intercarpal joints, distal interphalangeal joints of fifth fingers, fibulo-tibial joints, intertarsal joints, and distal interphalangeal joints of the first toes. The patient was a heterozygous for a 870G → T change resulting in a W290C amino acid substitution in the extracellular domain of the fibroblast growth factor receptor 2 gene (*FGFR2*). This mutation has previously been reported in a patient with severe Pfeiffer syndrome type 2 that is distinct from the craniosynostosis in our patient. These findings emphasize locus, allelic, and phenotypic heterogeneity of craniofacial-skeletal-dermatological syn-

drome due to *FGFR2* mutations.

© 2002 Wiley-Liss, Inc.

**KEY WORDS:** fibroblast growth factor receptor 2 gene (*FGFR2*); craniosynostosis; acanthosis nigricans; ankyloses; hydrocephalus; corneal scleralization

## INTRODUCTION

At least 100 syndromes are associated with craniosynostosis and are classified based upon clinical features [Muenke and Wilkie, 2001]. Recently, many of the craniosynostosis syndromes, including Crouzon syndrome (MIM 123500), Apert syndrome (MIM 101200), Pfeiffer syndrome (MIM 101600), Muenke syndrome (MIM 602849), Jackson-Weiss syndrome (MIM 123150), and Beare-Stevenson syndrome (MIM 123790) were discovered to be associated with mutations in the fibroblast growth factor receptor genes (*FGFR*) [Passos-Bueno et al., 1999]. Here we present a case of unspecified craniosynostosis with an *FGFR2* mutation.

## MATERIALS AND METHODS

### Clinical Report

The patient was a 15-year-old Thai boy. He was born at full-term by natural spontaneous vaginal delivery after an uncomplicated pregnancy with a birth weight of 2,850 g to a 28-year-old, gravida 2, para 1 mother and her 28-year-old unrelated husband. Family history was unremarkable. At birth, the patient was noted to have craniosynostosis of several cranial sutures, severe midface hypoplasia and noisy breathing. Bilateral inguinal hernias were also noted, which was surgically corrected at age 10 months. At age seven months, a ventriculoperitoneal (VP) shunt was placed for hydrocephalus. At four years, he underwent total calvarial vault reconstruction with fronto-orbital advancement. At approximately 10 years of age, he developed

Grant sponsor: Molecular Biology Project, Faculty of Medicine; Grant sponsor: Grants for New Faculty/Researchers, Chulalongkorn University; Grant sponsor: Thailand Research Fund; Grant number: RSA/05/2544.

\*Correspondence to: Vorasuk Shotelersuk, M.D., Head of Section on Medical Genetics and Metabolism, Department of Pediatrics, Sor Kor Building 11th floor, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok 10330, Thailand.  
E-mail: vorasuk.s@chula.ac.th

Received 6 July 2001; Accepted 6 February 2002

DOI 10.1002/ajmg.10449

Published online 10 May 2002 in Wiley InterScience  
www.interscience.wiley.com)

2002 Wiley-Liss, Inc.

hyperpigmentation at skin areas and hyperkeratosis consistent with the diagnosis of acanthosis nigricans. When evaluated by us at age 15 years, physical examination revealed a weight of 38 kg (-1.5 SD), height 144.5 cm (-6 SD), and OFC of 52 cm (-2 SD). The anterior fontanel was still open and measured 0.5 × 0.5 cm. He had turribrachycephaly, several surgical

scars on his scalp, high forehead, depression over the supraorbital ridges and temporal areas, down-slanting palpebral fissures, shallow orbits with severe ocular proptosis, exotropia, bilateral corneal scleralization, and corneal scars with vascularization of cornea and conjunctivae (Fig. 1A-B). Bilateral choanal stenosis, maxillary hypoplasia, severe underbite, inverted-V-

A



B



C



D



Postoperative appearance of the patient at age 15 years. A: Note cloverleaf skull, severe ocular proptosis, scleralization of cornea, low-set ears, prognathia, acanthosis nigricans of perioral, perinasal, and periorbital areas. B: Note abnormal position of joints. C: Acanthosis nigricans of the perioral area. D: Broad and laterally deviated halluces.

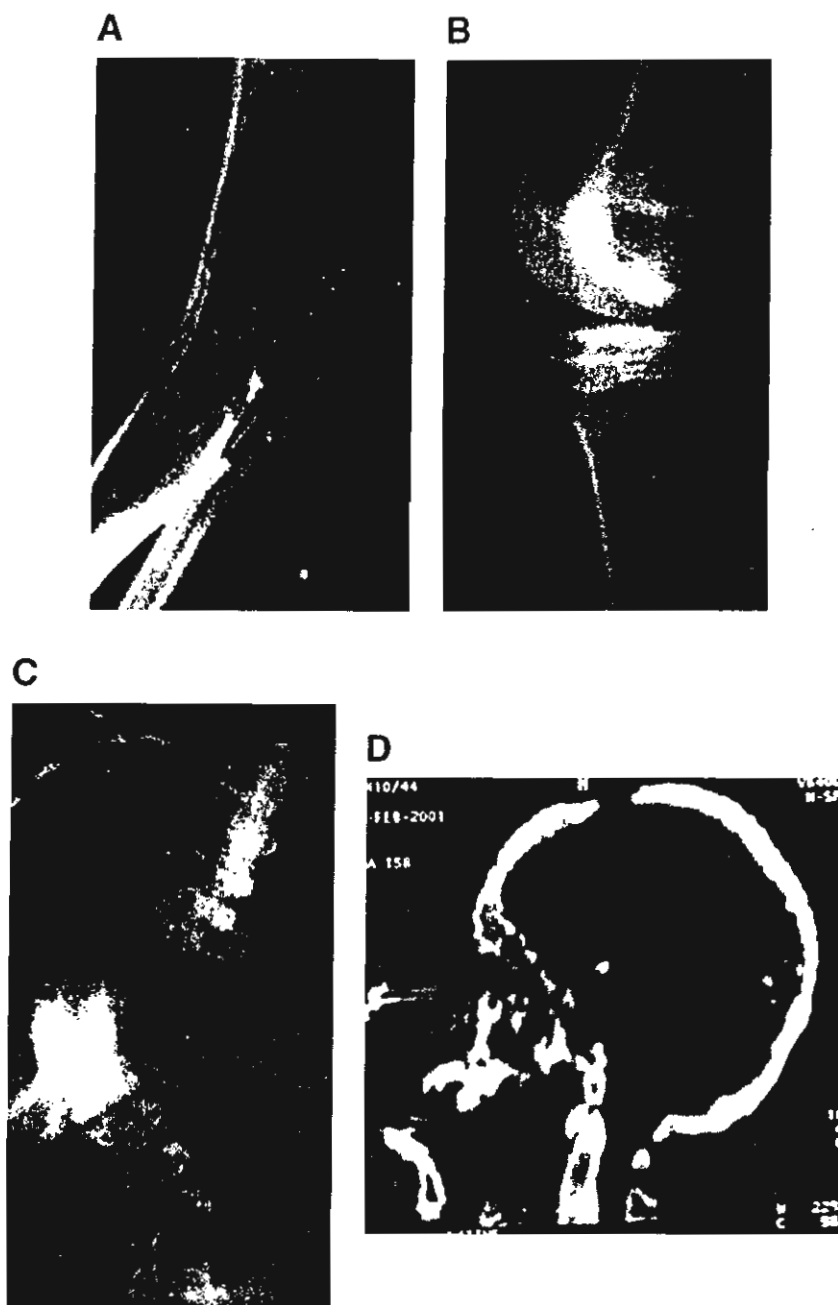


Fig. 2. Radiographs. A: Note complete fusion of the humerus, radius, and ulna prohibiting any motion at the right elbow. B: Tibulofibular fusion at the right knee. C: Severe scoliosis and fusion of vertebral bodies of T9 to T12. D: Brain computer tomography with two-dimension multiplanar reconstruction showing microcephaly and severe maxillary hypoplasia.

shaped palate, and noisy breathing were noted. Ears were low-set and external auditory canals were atretic. Acanthosis nigricans involved the periorbital, perinasal, perioral areas, and neck and axillae (Fig. 1C). The chest wall was asymmetric and severe scoliosis was detected. Examinations of his heart and lungs were unremarkable. His elbows, hips, and knees were fixed at approximately 150 degrees. His thumbs and great toes were broad with the great toe/second toe ratio of 2.0

on the left and 2.12 on the right. The halluces were in valgus position (Fig. 1D). He was unable to talk but able to follow simple commands. His vision and hearing were severely impaired. He had light perception. Brain stem auditory-evoked potentials revealed hearing at approximately 45 and 60 decibels on the right and left, respectively. Electrocardiogram showed no evidence of right heart hypertrophy. Routine laboratory tests were all within the normal limits. Radiography revealed

bony ankyloses of T9–12 vertebral bodies, the humero-radio-ulnar, intercarpal, and distal interphalangeal joints of the fifth fingers and first toes, and of the fibulo-tibial and intertarsal joints (Fig. 2A–C). Computed tomography of the skull and brain revealed microcephaly, hydrocephalus with a ventriculoperitoneal shunt, and severe maxillary hypoplasia (Fig. 2D).

### Mutation Analysis

After informed consent was obtained in accordance with the standards set by the local institutional review boards, DNA was extracted from the patient and his parents by a standard method. *FGFR2* exon 8 and *FGFR2* exon 10 were PCR-amplified. Primers, annealing temperatures and PCR procedures were as described previously [Shotelersuk et al., 2001]. PCR products were electrophoresed on a 2% agarose gel (Promega, Madison, WI) and stained with ethidium bromide. DNA on visualized bands was extracted with a kit (Bio 101, Carlsbad, CA), and sequenced in both directions with an automated DNA sequencer (ABI Prism 310 Genetic Analyzer, Perkin Elmer, Foster City, CA).

A heterozygous G → T transversion at nucleotide 870 was identified in *FGFR2* exon 8 of the patient (data not shown). Nucleotide sequence of *FGFR2* exon 10 of the patient, and those of *FGFR2* exons 8 and 10 of his parents, were normal (data not shown).

### DISCUSSION

The salient features in our patient were multiple suture craniosynostoses, corneal scleralization, choanal stenosis, atresia of auditory meatus, broad thumbs and great toes, multiple bony ankyloses, severe scoliosis, acanthosis nigricans, hydrocephalus and mental retardation. These clinical features do not fit any known craniosynostosis syndromes (Table I).

Although acanthosis nigricans can be associated with type II diabetes mellitus (DM), patients with acanthosis nigricans and congenital disorders such as Crouzon syndrome did not have DM [Wilkes et al., 1996]. Our patient had a normal fasting glucose level and an oral glucose tolerance test showing no evidence of abnormal glucose metabolism. Craniosynostoses with acanthosis nigricans can result from either of mutations in *FGFR2* (Beare-Stevenson syndrome), or in *FGFR3* (Crouzon syndrome and acanthosis nigricans, CAN) [Passos-luano et al., 1999].

Our patient was heterozygous for an 870 G-to-T mutation in *FGFR2*, leading to a substitution of a cysteine for the normal tryptophan at codon 290 (W290C). The mutation was not found in either of his parents, the finding indicating that the mutation was de novo type. The same mutation has previously been reported in a female patient with Pfeiffer syndrome [Schaefer et al., 1998]. Unlike our patient, she had normally formed ornae, a urogenital septum defect, bilateral temporal cephaloceles, patent ductus arteriosus, atrial septal defect, and no fusion of the vertebral, fibulo-tibial,

TABLE I. Clinical Features in Patients With Craniosynostosis

| Clinical findings                       | Our patient | Previously reported patient with W290C | Crouzon with acanthosis nigricans | Pfeiffer syndrome | Crouzon syndrome | Antley-Bixler syndrome | Apert syndrome           | Beare-Stevenson syndrome |
|-----------------------------------------|-------------|----------------------------------------|-----------------------------------|-------------------|------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Craniosynostosis                        | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Hydrocephalus                           | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Acanthosis nigricans                    | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Broad thumbs and great toes             | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Deviation of great toes                 | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Choanal atresia/stenosis                | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Atresia of auditory meatus              | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Ankyloses                               | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Ocular anterior chamber dysgenesis      | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Radiographic findings of achondroplasia | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Mental retardation                      | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Early death                             | +           | +                                      | +                                 | +                 | +                | +                      | +                        | +                        |
| Inheritance                             | AD          | AD                                     | AD                                | AD                | AD               | AD                     | AD                       | AD                       |
| Mutation                                | FGFR2 W290C | FGFR2 W290C                            | FGFR3 A391E                       | FGFR1/2 Several   | FGFR2 Several    | AR ?                   | FGFR2 S252W P253R Others | FGFR2 S372C Y375C        |

+, common or present; +/-, occasional; -, uncommon or not present; ?, unknown.

intercarpal, intertarsal, and interphalangeal joints; she died at the age of 10 days. If she had survived to an older age, acanthosis nigricans and bony fusion, which are present in our patient, might have been observed. In contrast to our patient with halluces extended a valgus deviation, the halluces in the patient by Schaefer et al. [1998] were in varus position. Even though clinical manifestations were similar between the two patients with W290C, the natural history was quite different: one died at age 10 days, the other has survived to adolescence. This observation emphasizes phenotypic heterogeneity of the mutation, which could be accounted for by different modifier genes and diverse environmental factors.

Other amino acid changes, e.g., a substitution of tryptophan to arginine or to glycine, at the same codon of *FGFR2* resulted in milder forms of craniosynostosis, such as either classic Crouzon syndrome or an atypical Crouzon syndrome [Oldridge et al., 1995; Park et al., 1995; Meyers et al., 1996; Steinberger et al., 1996]. Cysteine crosslinking forming immunoglobulin-like loops typifies the region around codon 290 of the fibroblast growth factor receptor [Zhang et al., 1999], and an additional cysteine predicted by the mutation in our patient may lead to aberrant crosslinking and severe changes in the secondary and tertiary structure of the protein.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the patients and their family for their participation in this study, and Dr. William A. Gahl at NIH for reviewing the manuscript.

REFERENCES

Meyers GA, Day D, Goldberg R, Daentl DL, Przylepa KA, Abrams LJ, Graham Jr JM, Feingold M, Moeschler JB, Rawnsley E, Scott AF, Jabs EW. 1996. *FGFR2* exon IIIa and IIIc mutations in Crouzon, Jackson-Weiss, and Pfeiffer syndromes: evidence for missense changes, insertions, and a deletion due to alternative RNA splicing. *Am J Hum Genet* 58:491-498.

Muenke M, Wilkie AOM. 2001. Craniosynostosis syndromes. In: Sriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill. p 6117-6146.

Oldridge M, Wilkie AO, Slaney SF, Poole MD, Pulleyn LJ, Rutland P, Hockley AD, Wake MJ, Goldin JH, Winter RM, Reardon W, Malcolm S. 1995. Mutations in the third immunoglobulin domain of the fibroblast growth factor receptor-2 gene in Crouzon syndrome. *Hum Mol Genet* 4:1077-1082.

Park WJ, Meyers GA, Li X, Theda C, Day D, Orlow SJ, Jones MC, Jabs EW. 1995. Novel *FGFR2* mutations in Crouzon and Jackson-Weiss syndromes show allelic heterogeneity and phenotypic variability. *Hum Mol Genet* 4:1229-1233.

Passos-Bueno MR, Wilcox WR, Jabs EW, Sertie AL, Alonso LG, Kitch H. 1999. Clinical spectrum of fibroblast growth factor receptor mutations. *Hum Mutat* 14:115-125.

Schaefer F, Anderson C, Can B, Say B. 1998. Novel mutation in the *FGFR2* gene at the same codon as the Crouzon syndrome mutations in a severe Pfeiffer syndrome type 2 case. *Am J Med Genet* 75:252-255.

Shotelersuk V, Srivuthana S, Ittiwut C, Theamboonlers A, Mahatumarat C, Poovorawan Y. 2001. A case of Pfeiffer syndrome type 1 with an A344P mutation in the *FGFR2* gene. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 32:425-428.

Steinberger D, Mulliken JB, Muller U. 1996. Crouzon syndrome: previously unrecognized deletion, duplication, and point mutation within *FGFR2* gene. *Hum Mutat* 8:386-390.

Wilkes D, Rutland P, Pulleyn LJ, Reardon W, Moss C, Ellis JP, Winter RM, Malcolm S. 1996. A recurrent mutation, ala391glu, in the transmembrane region of *FGFR3* causes Crouzon syndrome and acanthosis nigricans. *J Med Genet* 33:744-748.

Zhang Y, Gorro MC, Post JC, Ehrlich GD. 1999. Genomic organization of the human fibroblast growth factor receptor 2 (*FGFR2*) gene and comparative analysis of the human *FGFR* gene family. *Gene* 230:69-79.

## บทความที่ 2

## An Asian girl with a 'milder' form of the Hydrolethalus syndrome

V. Shotelersuk<sup>a</sup>, V. Punyavoravud<sup>b</sup>, S. Phudhichareonrat<sup>c</sup> and A. Kukulprasong<sup>d</sup>

Department of <sup>a</sup>Pediatrics, <sup>b</sup>Pathology, and <sup>d</sup>Radiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

<sup>c</sup>Department of Pathology, Prasat Neurological Institute, Bangkok 10400, Thailand

Correspondence to Vorasuk Shotelersuk, MD, Division of Endocrinology, Genetics, and Metabolism, Department of Pediatrics, Sor Kor Building 11th floor, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok 10330, Thailand. Tel: 662 256 4989; Fax: 662 256 4911; E-mail: fmedvst@md2.md.chula.ac.th

Received: 5 May 2000; accepted as revised: 21 September 2000

Hydrolethalus syndrome is an autosomal recessive disorder characterized by hydrocephalus, micrognathia, limb anomalies and several other abnormalities, mostly in the midline structures. The syndrome was first described in Finland, where the incidence is approximately 1 in 20 000. All of the Finnish patients were stillborn or died during the first day of life. Only three non-Finnish cases have survived beyond the neonatal period. Here, we report the first Oriental girl with a 'milder' form of hydrolethalus syndrome. The patient died at age 44 days making her the fourth reported case surviving beyond the neonatal period. The case supports the concept of a 'milder' form of the syndrome. Whether this spectrum is due to allelism or locus heterogeneity awaits molecular analysis.

*Clin Dysmorphol* 10: 51-55 © 2001 Lippincott Williams & Wilkins

**Keywords:** hydrolethalus syndrome

### INTRODUCTION

Hydrolethalus syndrome is an autosomal recessive disorder characterized by severe prenatal onset hydrocephalus, a 'key hole-shaped' foramen magnum, hypoplastic eyes, a broad nasal root, cleft palate, malformed low-set ears, micrognathia, limb anomalies, and other abnormalities of the internal organs. It is most common in Finland. Stillbirth or early death is considered to be the rule (Salonen and Herva, 1990). The gene responsible has recently been mapped to chromosome 11q23-25 (Visapaa *et al.*, 1999). Here, we report an Oriental girl with a 'milder' form of hydrolethalus syndrome. The patient had typical craniofacial features except for micrognathia. No internal organ anomalies were found. In addition, the patient survived beyond the neonatal period.

### CASE REPORT

A female infant was born at 39 weeks to a 30-year-old G1P0 Thai mother and a 32-year-old unrelated Thai father. There was no known exposure to infections, teratogenic agents, or other environmental hazards. Serology for HbsAg, HIV, and VDRL were negative. The pregnancy was complicated by polyhydramnios. Ultrasonography performed one day before delivery revealed marked hydrocephalus. A cesarean section was performed because of the large head size and breech presentation. Birth weight was 3650 g. Apgar scores were 5 at 1 min and 7 at 5 min. The placenta appeared normal, weighed 480 g, and the umbilical cord length was 34 cm.

The infant had several anomalies including a markedly enlarged head with head circumference of 42 cm,

aplasia cutis of the scalp (1 cm in diameter) on the left side of the parietofrontal area, frontal bossing, malformed low-set ears, hypertelorism, small and deep-set eyes, a poorly formed and bifid nose, a midline cleft upper lip and a cleft palate (Figure 1). The mandible was not small. Her neck was broad in proportion to her shoulders. Examination of the extremities revealed a right clubbed foot. There was no polydactyly or hallux duplex. Cardiac, pulmonary, abdominal and genital examinations were unremarkable.

A diagnosis of hydrolethrus syndrome was made soon after birth. Genetic counselling was provided to the family. Only supportive care including infant formula feeding through an orogastric tube was given to the patient. The patient remained medically stable for 38 days, then started to have respiratory distress, intermittent cyanosis, apnea, and bradycardia and died at age 44 days.

Chromosomal analysis revealed a normal 46, XX karyotype. Ultrasonography of the head, heart, and whole abdomen performed shortly before the patient

died revealed only severe hydrocephalus. No cardiac or urinary tract anomalies were identified. Postmortem skull X-rays revealed an abnormal shape of the opening in the base of skull (Figure 2). Radiographs of the other parts of the body were unremarkable. At autopsy the infant weighed 4700 g. Examination of the calvaria showed widely separated sutures and fontanelles. The bony cleft extended posteriorly from the foramen magnum to form an abnormal shape of the opening in the skull base (Figure 2). The brain weighed 570 g and displayed severe hydrocephalus involving the cerebrum but sparing the brain stem and cerebellum. Upon sectioning, the brain showed a dilatation of the third and lateral ventricles but a normal fourth ventricle. Microscopic examination confirmed the presence of aqueduct stenosis. In addition, thinning of corpus callosum, absence of the septum pellucidum and flattening of cerebral cortex were observed. The left eye was severely microphthalmic and the right eye was absent. The other internal organs were anatomically normal.

Table 1 Features of non-Finnish patients with hydrolethrus-like syndrome

| Features                         | Present case                 | Toriello <i>et al.</i> (1985)                                                                   | Aughton <i>et al.</i> (1987)                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Polyhydramnios                   | +                            | +                                                                                               | +                                                                                                                                                                                                        |
| Preterm delivery                 | -                            | +                                                                                               | -                                                                                                                                                                                                        |
| Hydrocephaly                     | +                            | +                                                                                               | +                                                                                                                                                                                                        |
| Other CNS malformations          | Absence of septum pellucidum | Rudimentary olfactory and optic nerve complex. Diffusely polymicrogyric cerebrum and cerebellum | Porencephaly, encephalocele, hypoplastic cerebellar hemispheres, abnormally shaped medulla, absent septum pellucidum, and a partial defect in the corpus callosum, ventricles open to subarachnoid space |
| Abnormally shaped foramen magnum | +                            | +                                                                                               | ±                                                                                                                                                                                                        |
| Aplasia cutis                    | +                            | -                                                                                               | -                                                                                                                                                                                                        |
| Frontal bossing                  | +                            | +                                                                                               | +                                                                                                                                                                                                        |
| Hypertelorism                    | +                            | +                                                                                               | N/A                                                                                                                                                                                                      |
| Hypoplastic eyes                 | +                            | +                                                                                               | -                                                                                                                                                                                                        |
| Malformed low-set ears           | +                            | +                                                                                               | ±                                                                                                                                                                                                        |
| Poorly formed nose               | +                            | +                                                                                               | -                                                                                                                                                                                                        |
| Cleft lip/palate                 | +                            | +                                                                                               | Only a small cleft of the secondary palate                                                                                                                                                               |
| Micrognathia                     | -                            | +                                                                                               | +                                                                                                                                                                                                        |
| Preaxial polydactyly             | -                            | -                                                                                               | Both feet                                                                                                                                                                                                |
| Central polydactyly              | -                            | -                                                                                               | -                                                                                                                                                                                                        |
| Post-axial polydactyly           | -                            | -                                                                                               | Both hands                                                                                                                                                                                               |
| Club feet                        | +                            | -                                                                                               | -                                                                                                                                                                                                        |
| Other internal organ involvement | -                            | Bilateral pulmonary agenesis                                                                    | Congenital heart defect, genital anomalies                                                                                                                                                               |
| Ethnicity                        | Thai                         | Black                                                                                           | European/Lebanon/Amerindian                                                                                                                                                                              |
| Consanguineous family history    | -                            | -                                                                                               | -                                                                                                                                                                                                        |
| Age at death                     | 44 days                      | 8 minutes                                                                                       | > 5 months                                                                                                                                                                                               |

N/A, data not available.



## DISCUSSION

Hydroletharus syndrome was first described in the early 1980s (Salonen *et al.*, 1981). Since then, more than 90 cases have been reported (Salonen *et al.*, 1981; Adetoro *et al.*, 1984; Toriello *et al.*, 1985; Aughton and Cassidy, 1987; Anyane-Yeboah *et al.*, 1987; Krassikoff *et al.*, 1987; Bachman *et al.*, 1990; Salonen and Herva, 1990; Pryde *et al.*, 1993; Morava *et al.*, 1996; de Ravel *et al.*, 1999; Visapaa *et al.*, 1999). The majority of them (81 cases) are from Finland, where the incidence has been approximated to be at least 1:20 000 (Salonen and Herva, 1990). All of the Finnish cases were stillborn or died during the first day of life (Salonen and Herva, 1990; Visapaa *et al.*, 1999). The syndrome has been reported in other ethnic groups including Afro-Caribbean, Lebanese, Arab, Mexican, and European. Only three cases survived beyond the neonatal period (Table 1).

Hydroletharus syndrome is currently a clinical diagnosis. Here we report an Oriental female patient who

had several major anomalies consistent with the syndrome including severe hydrocephalus from aqueductal stenosis, the 'key hole-shaped' foramen magnum, absence of septum pellucidum, hypoplastic eyes, low-set malformed ears, cleft lip and palate and club foot. However, the patient seemed to have a milder form of the disorder. She did not have micrognathia, previously claimed to be present in 100% of the syndrome. Cardiopulmonary, gastrointestinal, urinary and reproductive systems in this patient were anatomically normal. A previous review article reported congenital heart disease in 46% of patients, defective lobulation of the lungs 62%, abnormal larynx/trachea 58%, urinary tract anomalies 16%, and uterus duplex in females 52% (Salonen and Herva, 1990). In addition, the patient died at age 44 days. There have been only three previously reported cases of hydroletharus where the infant survived beyond the neonatal period (Aughton and Cassidy, 1987; Anyane-Yeboah *et al.*, 1987; de Ravel *et al.*, 1999). All of them were non-Finnish. Features of non-Finnish cases with a milder

| Anyane-Yeboah <i>et al.</i> (1987)                  | Morava <i>et al.</i> (1996)                                                            | de Ravel <i>et al.</i> (1999)                                              |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| N/A                                                 | -                                                                                      | +                                                                          |
| -                                                   | -                                                                                      | -                                                                          |
| +                                                   | +                                                                                      | +                                                                          |
| A Dandy-Walker malformation, absent olfactory bulbs | A Dandy-Walker malformation, agenesis of corpus callosum, absence of cerebellar vermis | A Dandy-Walker malformation, cerebellar hypoplasia, absent corpus callosum |
| -                                                   | +                                                                                      | N/A                                                                        |
| -                                                   | -                                                                                      | -                                                                          |
| +                                                   | -                                                                                      | -                                                                          |
| +                                                   | N/A                                                                                    | N/A                                                                        |
| -                                                   | -                                                                                      | -                                                                          |
| +                                                   | Low-set but not malformed                                                              | -                                                                          |
| +                                                   | -                                                                                      | -                                                                          |
| +                                                   | -                                                                                      | -                                                                          |
| +                                                   | +                                                                                      | N/A                                                                        |
| Both feet                                           | Right hand and both feet                                                               | -                                                                          |
| Left hand                                           | -                                                                                      | -                                                                          |
| -                                                   | Right foot and left hand                                                               | -                                                                          |
| -                                                   | -                                                                                      | -                                                                          |
| Accessory spleens                                   | -                                                                                      | N/A                                                                        |
| Arab                                                | Hungarian                                                                              | Portuguese/German/South African                                            |
| +                                                   | -                                                                                      | -                                                                          |
| 17 days (1st case) and 4 months (2nd case)          | 5 days                                                                                 | 7 months                                                                   |

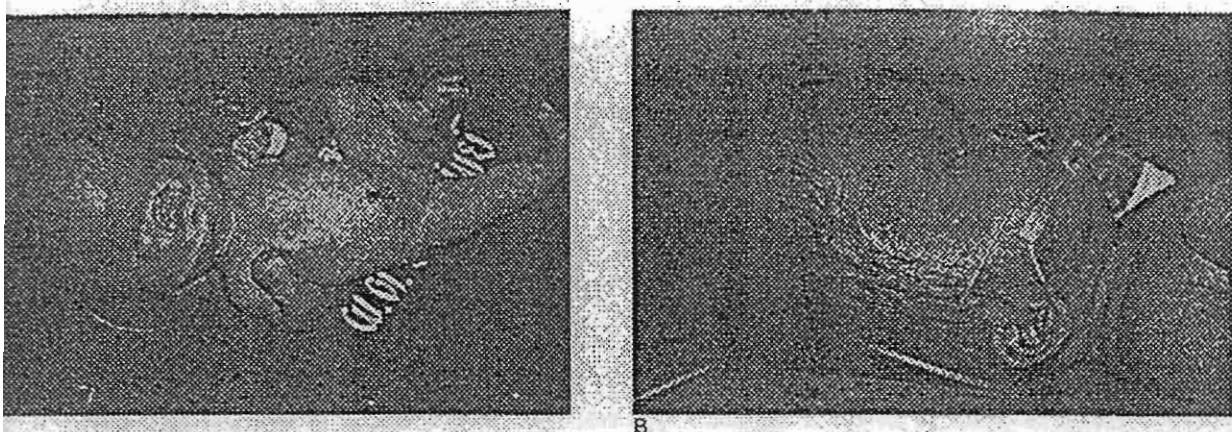


FIGURE 1. The proboscis at 1 day of age. (A) Macrocephaly, aplasia cutis, hypertelorism, hypoplastic and deep-set eyes, poorly defined and bilid nose, midline cleft upper lip, broad back and right clubbed foot. (B) Lateral view of the right side of the face showing deep-set ear. The mandible was not small.

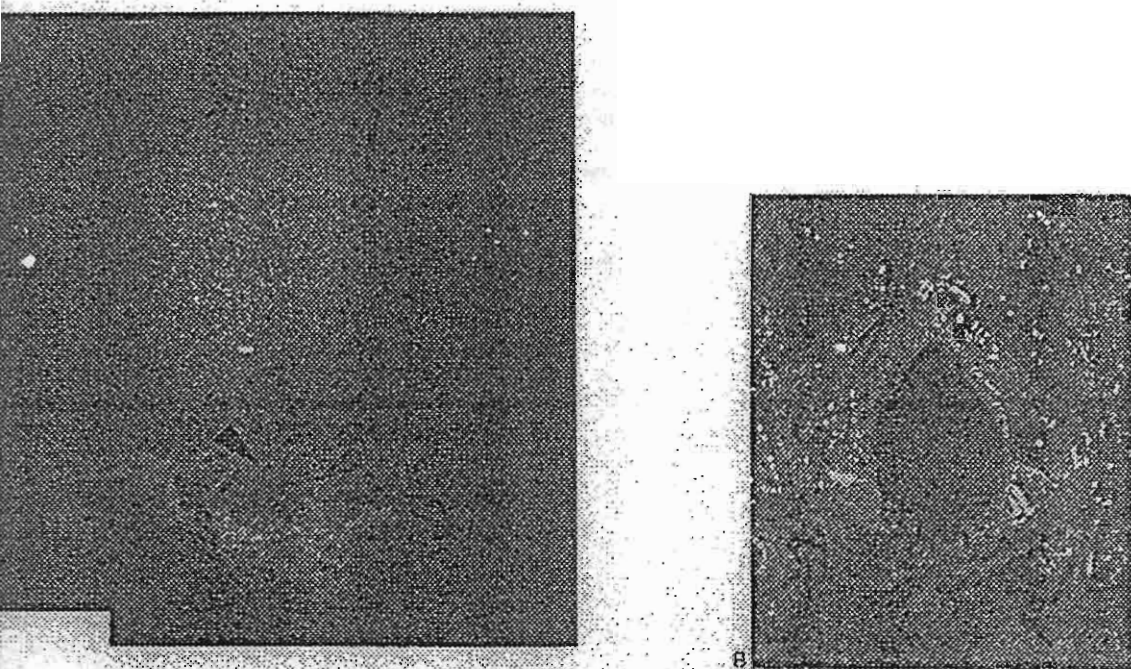


FIGURE 2. (A): The radiograph of the skull in Towne's view reveals markedly enlarged and thin calvarium. The key-hole-shaped foramen magnum is outlined in dots and indicated by arrowheads. (B): Gross specimen of the skull base reveals the abnormal shape of the foramen magnum. The top of the photograph is the posterior part of the skull.

form of hydroletharus syndrome are presented in Table 1. Hydroletharus syndrome has been proposed to be inherited in an autosomal recessive manner based on a few cases of consanguinity and several families in which there was recurrence in siblings (Krassikoff, 1987). However, history of consanguinity was denied in our family.

The absence of a posterior encephalocele, polydactyly, and cystic dysplastic kidneys in our patient

make the diagnosis of Meckel syndrome unlikely. Acrocollosal syndrome is also unlikely due to the absence of polydactyly and the presence of hydrocephalus in our patient. In addition, our patient's features were not consistent with any other known syndromes. Another possibility is our patient represents a distinct syndrome with major features including aqueductal stenosis, microphthalmia, and median cleft lip.

This case supports the concept of a 'milder' form of the syndrome and the founder effect in the Finnish population for the severe form. Whether this spectrum is due to allelism or locus heterogeneity awaits molecular analysis.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Chulalongkorn University and the Thailand Research Fund.

## REFERENCES

- Adetoro OO, Komolafe F, Anjorin A (1984). Hydroletharus syndrome in consecutive African siblings. *Pediatr Radiol* 14:422-424.
- Anyane-Yeboah K, Collins M, Kupsky W, Maidman J, Malin J, Yeh M (1987). Hydroletharus (Salonen-Herva-Norio) syndrome: further clinicopathological delineation. *Am J Med Genet* 26:899-907.
- Aughton DJ, Cassidy SB (1987). Hydroletharus syndrome: report of an apparent mild case, literature review, and differential diagnosis. *Am J Med Genet* 27:935-942.
- Bachman H, Clark RD, Salahi W (1990). Holoprosencephaly and polydactyly: a possible expression of the hydroletharus syndrome. *J Med Genet* 27:50-52.
- de Ravel TJL, van der Griendt MC, Evan P, Wright CA (1999). Hydroletharus syndrome in a non-Finnish family: confirmation of the entity and early prenatal diagnosis. *Prenatal Diag* 19:279-281.
- Krassikoff N, Konick L, Gilbert EF (1987). The hydroletharus syndrome. *Birth Defects* 23:411-419.
- Morava E, Adamovich K, Czeizel AE (1996). Dandy-Walker malformation and polydactyly: a possible expression of hydroletharus syndrome. *Clin Genet* 49:211-215.
- Pryde PG, Qureshi F, Hallak M, Kupsky W, Johnson MP, Evans MI (1993). Two consecutive hydroletharus syndrome-affected pregnancies in a nonconsanguineous Black couple: Discussion of problems in prenatal differential diagnosis of midline malformation syndromes. *Am J Med Genet* 46:537-541.
- Salonen R, Herva R, Norio R (1981). The hydroletharus syndrome: delineation of a 'new', lethal malformation syndrome based on 28 patients. *Clin Genet* 19:321-330.
- Salonen R, Herva R (1990). Hydroletharus syndrome. *J Med Genet* 27:756-759.
- Toriello HV, Bauserman SC (1985). Bilateral pulmonary agenesis: association with the hydroletharus syndrome and review of the literature from a developmental field perspective. *Am J Med Genet* 21:93-103.
- Visapaa I, Salonen R, Varilo T, Paavola P, Peltonen L (1999). Assignment of the locus for hydroletharus syndrome to a highly restricted region on 11q23-25. *Am J Hum Genet* 65:1086-1095.

### บทความที่ 3

## Clinical Report

# Kabuki Syndrome: Report of Six Thai Children and Further Phenotypic and Genetic Delineation

Vorasuk Shotelersuk,\* Rachaneekorn Punyashthiti, Sumarlee Srivuthana, and Suttipong Wacharasindhu

Division of Medical Genetics and Metabolism, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

We describe six Thai children with the Kabuki syndrome. Monozygotic twin boys discordant for the syndrome were encountered in a family. The affected twin had all five cardinal features of the syndrome, whereas the unaffected twin had none of them. The presence of monozygotic twins discordant for the syndrome argues against a single gene origin of the disorder, but by no means excludes it. In another family, a mother had a facial appearance similar to her affected son. Lower lip pits with or without symmetrical lower lip nodules were present in three of the six children, and pilonidal sinus was seen in five children. These clinical manifestations were much more common than previously described. Other inconsistent findings included early eruption of the lower central incisors, a skin defect of the head, and transient hyperthyrotropinemia in infancy.

© 2002 Wiley-Liss, Inc.

**KEY WORDS:** Kabuki syndrome; lower lip pits; pilonidal sinus; hyperthyrotropinemia; aplasia cutis; discordant twins

## INTRODUCTION

Kabuki syndrome (KS), first described in 1981 [Kuroki et al., 1981; Niikawa et al., 1981], is characterized by peculiar facies, dermatoglyphic abnormalities with persisting fingerpads, skeletal anomalies, mild to moderate mental retardation, and postnatal growth deficiency [Niikawa et al., 1988]. To our knowledge, a total of 246 patients have been reported in the literature. Several possible etiologies have been proposed, including chromosomal abnormalities [Fryns et al., 1994] and an autosomal dominant disorder with variable expressivity [Courten et al., 2000]. However, the true cause of the syndrome remains unknown.

Here we describe six Thai children with KS. Some of their clinical manifestations are much more common than described previously, and a few have not been previously described. Monozygotic twin boys discordant for the syndrome are described.

## SUBJECTS AND METHODS

Six children with KS were identified and studied in the Genetics Clinic of the King Chulalongkorn Memorial Hospital during the 2-year period from July 1999 to June 2001. Parents of all six patients were nonconsanguineous.

### Patient 1

Twin boys were born at 32 weeks of gestation to a 20-year-old G1P0 mother and a 33-year-old father. Besides the twinning, the pregnancy and labor were uncomplicated. There was no history of fever, rash, spotting, tobacco, alcohol, illicit drug use, or x-ray exposure during the pregnancy. The twins stayed in the hospital for 7 weeks and 9 weeks, respectively, after birth.

Twin A walked and spoke at age 14 months. At his last visit at age 9 years, he was ranked 22nd of 43 students in his third-grade class and measured 125.8 cm (−0.5 SD), weighed 19.9 kg (−1.5 SD), and had an OFC of 51 cm (−1 SD). Physical examination was unremarkable (Fig. 1).

Grant sponsor: Thailand Research Fund; Grant number: RSA/2544; Grant sponsor: Molecular Biology Projects, Faculty of Medicine, and Development Grants for New Faculty/Researchers, Chulalongkorn University.

\*Correspondence to: Vorasuk Shotelersuk, M.D., Head of Division of Medical Genetics and Metabolism, Department of Pediatrics, Sor Kor Building, 11th floor, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok 10330, Thailand.  
E-mail: vorasuk.s@chula.ac.th

Received 28 September 2001; Accepted 8 February 2002

DOI 10.1002/ajmg.10474

Published online 10 May 2002 in Wiley InterScience  
www.interscience.wiley.com

2002 Wiley-Liss, Inc.



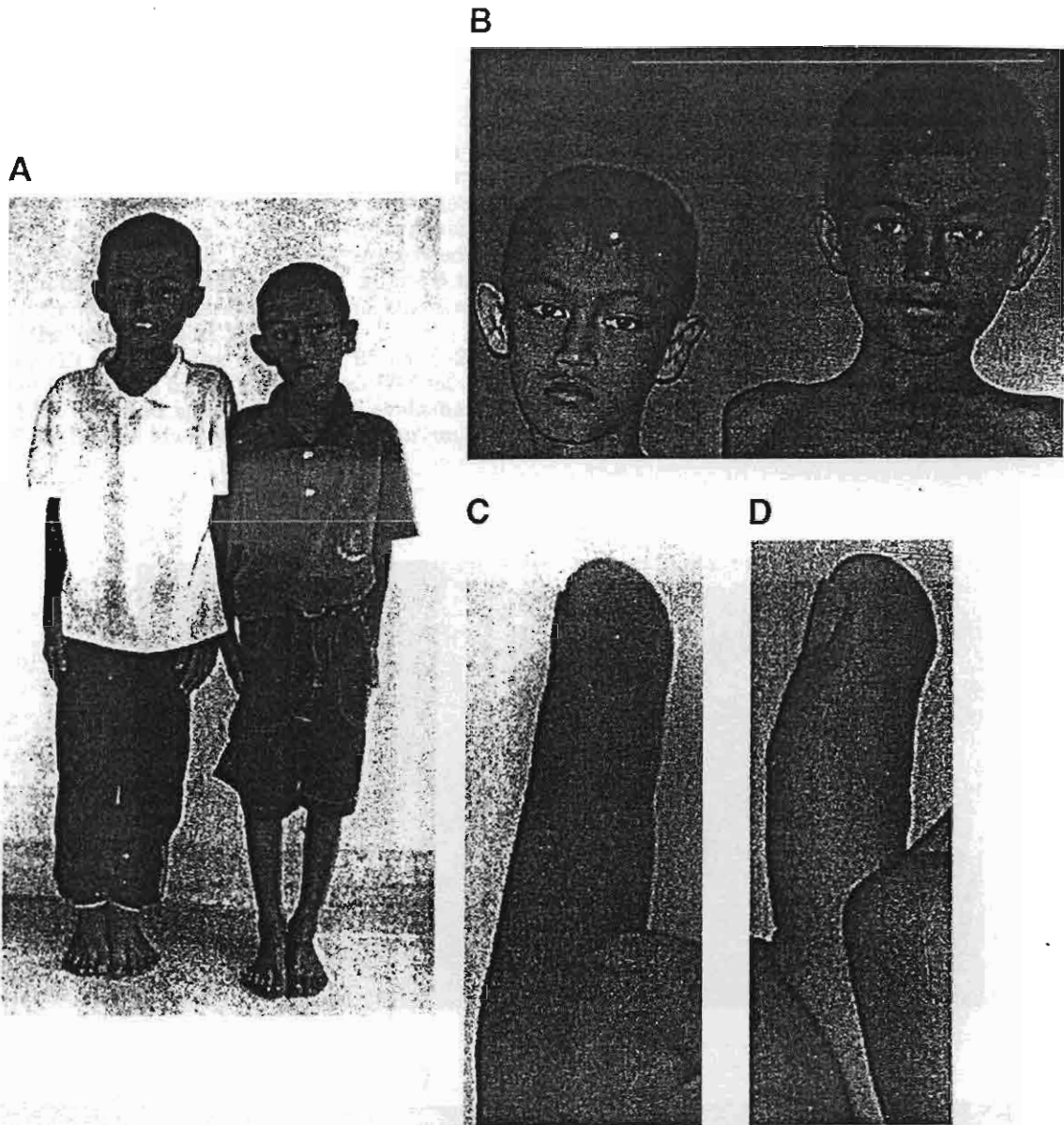


Fig. 1. Patient 1 and his monozygotic twin. A: Growth failure in twin B (right). B: Long palpebral fissures and large and prominent ears in twin B (left). C: Left fourth finger of twin A (normal). D: Finger pad in twin B.

Twin B (patient 1) first rolled over at age 12 months, sat at 2 years, crawled at 3 years, walked at 4 years, and spoke at 6 years. At age 9 years, his vocabulary was approximately 10 words, and he could follow simple commands, run, and walk up and down stairs. Besides a febrile seizure at age 4 years, he had been healthy. The twins' father and two uncles also had histories of febrile seizures. At age 9 years, he measured 116 cm ( $-2$  SD), weighed 16 kg ( $-2$  SD), and had an OFC of 39 cm ( $-3$  SD). He showed growth failure (Fig. 1A), long eyelashes, ectropion of the lateral lower eyelids, and large and prominent ears (Fig. 1B). His right ear was malformed and his left ear had a scar across the pinna.

He had a short linear scar on his abdominal wall above his umbilicus. He had brachydactyly and prominent finger pads of bilateral third and fourth fingers (Fig. 1C). His IQ was estimated at 59. He had bilateral severe sensorineural hearing loss. Bone age at the chronological age of 8½ years was 6 years. Chromosomes were normal: 46,XY. *FMR1* methylation PCR analysis for fragile X syndrome was negative. Thyroid function tests (thyroxine [T4] and thyroid-stimulating hormone [TSH]) at age 9 years were normal.

Analysis of microsatellite markers was performed in the twins as previously described [Shotelersuk et al., 1999]. Thirteen markers on 11 chromosomes were inter-