

先天性无虹膜患者 *Pax6* 基因突变筛查

郝朋 应铭 韩瑞芳 王犁明 李宁东

300020 天津市眼科医院 天津市眼科研究所 天津市眼科学与视觉科学重点实验室 天津医科大学眼科临床学院(郝朋、应铭、韩瑞芳、王犁明);100045 首都医科大学附属北京儿童医院眼科(李宁东)

通信作者:李宁东, Email: lnd30@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.10.007

【摘要】背景 先天性无虹膜是一种罕见的先天性常染色体显性遗传疾病,表现为双眼无虹膜,目前已知配对盒基因 6 (*Pax6*) 突变与先天性无虹膜相关。**目的** 对先天性无虹膜患者进行 *Pax6* 基因突变筛查。

方法 纳入 2012 年 8 月至 2015 年 10 月在天津市眼科医院就诊的先天性无虹膜患者 11 例,包括来自 3 个先天性无虹膜家系的 6 例患者及 5 例散发病例,所有患者均接受常规眼科检查。采集所有患者的外周静脉血各 3 ml,按照 DNA 分离试剂盒说明书描述的标准流程提取 DNA,对 *Pax6* 和 *Elp4* 基因全部外显子、外显子 5' 和 3' 端与内含子拼接部序列、SIMO 序列进行 PCR 扩增,采用 Sanger 直接测序法以及多重连接探针扩增技术 (MLPA) 对患者的 *Pax6* 基因进行序列分析,并与 500 例无眼前节异常的眼外伤患者的测序结果进行比对。

结果 所有患者均虹膜缺如,视力为手动/眼前,1 例患者存在晶状体脱位。直接测序结果发现,AN-01 家系中的 3 例患者均携带 *Pax6* 基因 c.688g>t(p.E230X) 突变,5 例散发病例中 3 例携有 *Pax6* 基因突变,分别为 c.468g>a(p.W156X)、c.613c>t(p.Q205X) 和 c.141+2t>c 突变,其中 c.688g>t(p.E230X) 为新发现的突变。AN-02 家系的 1 例患者、AN-03 家系的 2 例患者及另 2 例散发病例经直接测序和 MLPA 验证,均未发现 *Pax6*、*Elp4* 基因以及 SIMO 片段的突变。500 名正常个体均未发现上述突变。**结论** 先天性无虹膜可由 *Pax6* 基因突变引起,c.688g>t(p.E230X) 为新发现的 *Pax6* 突变体,扩大了 *Pax6* 基因突变谱。

【关键词】 先天性无虹膜; 基因突变; *Pax6* 基因; 突变筛查

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81170884); 天津市应用基础与前沿技术研究计划青年项目 (15JCQNJC11000、15JCQNJC45000)

Mutation analysis of *Pax6* in Chinese patients with congenital aniridia Hao Peng, Ying Ming, Han Ruifang, Wang Liming, Li Ningdong

Tianjin Key Lab of Ophthalmology and Visual Science, Tianjin Eye Institute, Tianjin Eye Hospital, Clinical College of Ophthalmology, Tianjin Medical University, 300020 Tianjin, China (Hao P, Ying M, Han RF, Wang LM); Department of Ophthalmology, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, 100045 Beijing, China (Li ND)

Corresponding author: Li Ningdong, Email: lnd30@163.com

【Abstract】Background Congenital aniridia is a rare congenital autosomal dominant disease, which is shown as aniridia of double eyes, and the paired box gene 6 (*Pax6*) gene mutation is now known to be associated with congenital aniridia. **Objective** This study was to screen the *Pax6* gene mutation in patients with congenital aniridia. **Methods** Eleven patients with congenital aniridia were enrolled in Tianjin Eye Hospital from August 2012 to October 2015, including 6 patients from 3 congenital aniridia family and 5 sporadic patients. All patients received routine ophthalmic examination. Peripheral venous blood of 3 ml was collected from the patients for DNA extraction according to the standard process of DNA isolation instructions, and all the exons of *Pax6* gene, *Elp4* gene, exon 5' and 3', intron splice sequence and SIMO sequence were amplified by PCR. *Pax6* genes of the patients were sequenced using Sanger direct sequencing and multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA) and compared with those of 500 ocular trauma patients. This study complied with Helsinki declaration, and written informed consent was obtained from each patient prior to any medical examination. **Results** Iris absence was found in all the patients, and the visions acuity was hand motion to 0.2. Lens dislocation was seen in 1 patient. Direct

sequencing results found that three patients in AN-01 family were c.688g>t (p. E230X) mutation of *Pax6* gene, and 3 of 5 sporadic patients carried c.468g>a (p. W156X), c.613c>t (p. Q205X) and c.141+2t>c mutant of *Pax6* gene, and the c.688g>t (pE230X) mutation was a novel-discovered mutation. No any mutation in *Pax6*, *Elp4* gene and SIMO fragment was detected in 1 patient from AN-02 family, 2 patients from AN-03 family and 2 sporadic patients by both direct sequencing and MLPA validation. No above-mentioned mutation was found in 500 normal individuals.

Conclusions The mutation of *Pax6* gene is a pathogenic mutation in congenital aniridia patients, and c.688g>t (p. E230X) is a novel *Pax6* mutant, which expanded the mutation spectrum of *Pax6* gene.

[Key words] Congenital aniridia; Gene mutation; *Pax6* gene; Mutation screening

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81170884); Tianjin Youth Research Program of Application Foundation and Advanced Technology Research Project (15JCQNJC11000, 15JCQNJC45000)

先天性无虹膜是一种罕见的先天性常染色体显性遗传疾病,表现为双眼无虹膜,其发病率为 1/100 000 ~ 1/50 000^[1],部分患者合并角膜、前房、晶状体及黄斑等组织结构的发育异常^[2]。患者因虹膜缺如而表现出畏光症状,或由于黄斑发育不良合并眼球震颤,合并前房角和晶状体发育异常者还可出现青光眼、白内障及角膜混浊等^[3-4]。这些并发症使先天性无虹膜患者出现视力下降甚至丧失,先天性无虹膜可合并泌尿生殖系统发育异常,形成 WAGR 综合征。大部分先天性无虹膜患者有家族史,少部分患者为散发病例。目前已知配对盒基因 6 (paired box gene 6, *Pax6*) 突变与先天性无虹膜有关。研究表明, *Pax6* 基因突变小鼠可出现小眼球、无眼球,甚至死亡^[5]。此外,有报道认为复合蛋白 4 (elongator protein 4, *Elp4*) 基因和位于该基因内含子区的一个超级保守序列 SIMO 也与无虹膜有关^[6-7]。为了深入研究先天性无虹膜患者发病的分子生物学机制,本研究中采用直接测序法以及多重连接探针扩增技术 (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) 对先天性无虹膜患者进行 *Pax6* 和 *Elp4* 基因突变位点筛查。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入 2012 年 8 月至 2015 年 10 月在天津市眼科医院就诊的先天性无虹膜患者 11 例,其中 6 例患者来自中国北方不同地区的 3 个遗传家系 (AN-01、AN-02 和 AN-03),另外 5 例为散发病例。所有患者均接受视力、裂隙灯显微镜、超声生物显微镜、眼压及 OCT 检查。同期纳入在天津市眼科医院治疗的无

眼前节异常的眼外伤患者 500 例作为对照。本研究经天津市眼科医院伦理委员会批准 (批准文号: TJYYLL-2012-04) 并严格遵循赫尔辛基宣言,所有临床检查和基因分析均获得患者的知情同意。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 采集 11 例患者的外周静脉血各 3 ml,按照 DNA 分离试剂盒 (美国 Roche Biochemical 公司) 说明书描述的标准流程提取 DNA,提取的 DNA 样品经质量分数 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测纯度和浓度后于 -20 °C 条件下保存备用。

表 1 *Pax6* 基因外显子 PCR 扩增引物序列

引物	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')	产物大小 (bp)
<i>Exon-4</i>	AGTTCAGGCCTACCTGATGC	CGTCGGGAGTCCCTGTG	202
<i>Exon-5</i>	TTCTCTTCTCTTCTCTGCC	GGGGTCCATAATTAGCATCG	317
<i>Exon-6</i>	TGCTGGACAATCAAAACGTAAG	ACAGTGGAGAGAGAGGGTGG	413
<i>Exon-7</i>	TTTAAACGGGTGAGAGTTGC	GAAGCCCTGAGAGGAAATGG	362
<i>Exon-8</i>	ACCTTGGGAATGTTTTGGTG	TTTGAATTACTGGTAGATGAAAAGAAG	540
<i>Exon-9</i>	AGGTGGGAACCACTTTGATG	CAGAGCATTTAGCAGACTGAACC	303
<i>Exon-10</i>	TCTGCTAAATGCTCTGCTGC	AACATGGAGCCAGATGTGAAG	387
<i>Exon-11</i>	AATCCACAACCCACCACAC	TGACTGGTCAAGCCAATCAC	372
<i>Exon-12</i>	CTGTGTCAGAGTTCCTCG	AGGAGTTAAACACGCCCTCC	347
<i>Exon-13</i>	AAACCTATAAATTTGATTCCATG	TTTCAAGTCCATTCCTTCCC	331

注: *Pax*: 配对盒基因

表 2 *Elp4* 基因外显子以及 SIMO 序列 PCR 扩增引物序列

引物	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')	产物大小 (bp)
<i>Exon-1</i>	CTGATAGGACGGGTGTTTGC	GGTCCCTCCCTAAAGTTTCC	339
<i>Exon-2</i>	GCCTTCTCTTCATAAAGCCTAAC	AATTTTGAATGGGAATTGG	206
<i>Exon-3</i>	GTGCTGTGCTTTGATAGCC	AGCTTAATATTTCCCAACTCTC	439
<i>Exon-4</i>	TTTCTTTAAATTCAGTTTATTGC	GGCATACCACAAGAGATTCTG	435
<i>Exon-5</i>	GCCATTGTTTTGCTGGATG	AAAAGAAAGCCACAGATAATGAAATAC	412
<i>Exon-6</i>	TGAGCAAGTTATAATAAGGCATTG	CTAAGGCTGCTTGTCTCTG	449
<i>Exon-7</i>	CATCTATTGACATTGTCTCCCTG	ATGCCAGAAAGCACCTG	425
<i>Exon-8</i>	TTTCCATCCAGTTTTCAGCC	GGATTGAATAGGATGCTTCCAG	349
<i>Exon-9</i>	ACCATTTGCTTCATTGCTCC	TTCAAAAGAAAATCATCTTTGCC	486
<i>Exon-10</i>	TTGTTTACAGGAATTTTATATGC	AATGAGAAATGGCCGAC	420
SIMO	GAACCTAATGACTGTTTTCAGCC	GACTTTCTCAGGAAGAAATCAGG	593

注: *Elp*: 复合蛋白

1.2.2 Pax6 和 Elp4 基因扩增 对 Pax6 和 Elp4 基因全部外显子、外显子 5' 和 3' 端与内含子拼接部序列、SIMO 序列进行 PCR 扩增, PCR 反应体系为 20 μ l, 包括 1.5 mmol/L MgCl₂、每种 dNTP 0.2 mmol/L、上下游引物各 0.5 μ mol/L、Taq 聚合酶 1 U (商品单位) 和模板基因组 DNA 50 ng。扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 共 30 个循环。PCR 引物为自行设计, 由上海生工公司合成, 引物序列见表 1, 2。

1.2.3 基因突变检测 PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳后, 按凝胶纯化试剂盒 (美国 Qiagen 公司) 说明书进行分离纯化。纯化后的 PCR 扩增产物经 BigDye 试剂盒 (美国 ABI 公司) 测序延伸后, 用 PRISM 3130 遗传分析仪 (美国 ABI 公司) 读取基因序列信息, 通过 DNASTar 软件中的 SeqMan 程序与美国国家生物技术中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 数据库 (Pax6 基因参考序列号: NG_008679. 1; Elp4 基因参考序列号: NG_034086. 1) 的正常序列进行比对。在 500 例对照组中进行患者突变位点筛查, 并与患者家系其他成员的直接测序结果进行比对。直接测序法未检测到 Pax6 基因突变患者则参照文献 [8] 中描述的 MLPA 方法检测目标基因内多个核苷酸序列的拷贝数变化以确定基因序列重排或大片段缺失。

2 结果

2.1 患者临床表现

11 例患者的临床表现均为低视力和畏光, 眼压正常, 裂隙灯显微镜下可见角膜透明, 虹膜缺如, 视网膜脉络膜未见明显组织缺损。其中 1 例患者伴晶状体脱位 (图 1)。例 4、例 5 和例 6 患者来自 AN-01 家系, 例 9 和例 10 患者来自 AN-03 家系。患者临床特征见表 3。

患者编号	年龄 (岁)	视力	虹膜	所属家系
例 1	16	数指/眼前	缺如	散发
例 2	12	0.1	缺如	散发
例 3	38	0.1	缺如	散发
例 4	7	0.2	缺如	AN-01
例 5	5	0.1	缺如	AN-01
例 6	33	数指/眼前	缺如	AN-01
例 7	15	0.1	缺如	AN-02
例 8	43	0.1	缺如	散发
例 9	37	数指/眼前	缺如	AN-03
例 10	18	0.1	缺如	AN-03
例 11	19	0.2	缺如	散发

注: AN: 无虹膜

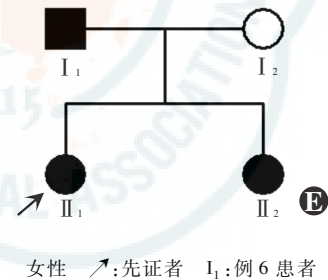
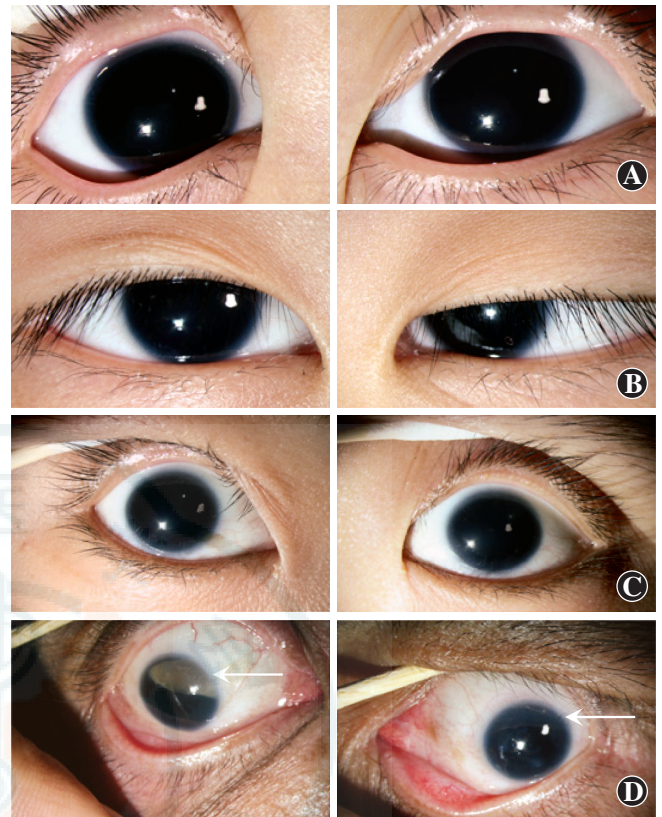


图 1 患者眼前节及家系图 可见所有患者均表现为完全或接近完全的虹膜缺损 A: 例 1 患者 B: 例 2 患者 C: 例 3 患者 D: 例 4 患者无虹膜, 可见晶状体缺如 (箭头) E: AN-01 家系图 ●: 患病女性 ■: 患病男性 ○: 健康女性 ↗: 先证者 I₁: 例 6 患者 II₁: 例 4 患者 II₂: 例 5 患者

2.2 患者基因突变位点

5 例散发患者中, 直接测序结果发现例 1、例 2 和例 3 携带 Pax6 基因突变, 分别为 c. 141+2t>c、c. 468g>a (p. W156X) 及 c. 613c>t (p. Q205X) 突变 (图 2A, B, C), 例 8 和例 11 患者直接测序和 MLPA 结果均未发现 Pax6、Elp4 基因以及 SIMO 片段存在突变。直接测序结果发现, AN-01 家系中所有患者均携带 Pax6 基因 c. 688g>t (p. E230X) 突变 (图 2D), 而 AN-02 和 AN-03 家系成员直接测序和 MLPA 结果均未发现 Pax6、Elp4 基因以及 SIMO 片段存在突变。500 例对照个体均未发现上述突变。

3 讨论

Pax6 基因位于染色体 11p13 上, 包括 14 个外显子, 可编码由 422 个氨基酸组成的 PAX6 蛋白。PAX6 蛋白是高度保守的转录因子, 参与大脑、胰腺、角膜、

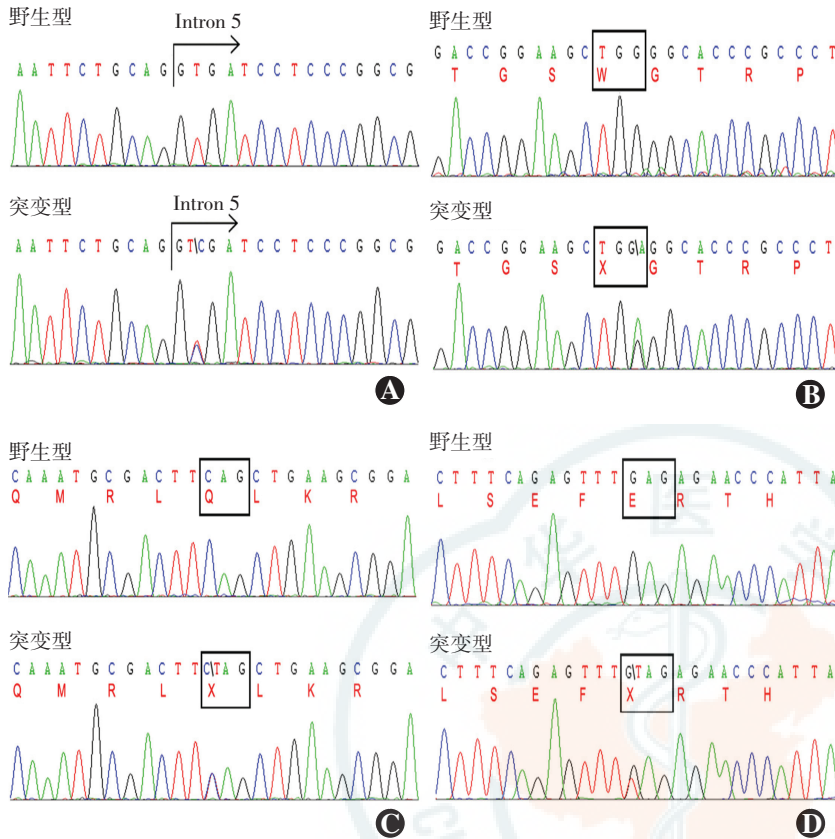


图 2 先天性无虹膜患者 *Pax6* 基因测序图 A: 与野生型 *Pax6* 基因测序结果比较, 患者出现 c.141+2t>c 突变。箭头示内含子 5 的起始位置 B: 与野生型 *Pax6* 基因测序结果比较, 患者出现 c.468g>a (p. W156X) 突变。方框示无义突变密码子的读码框位置 C: 与野生型 *Pax6* 基因测序结果比较, 患者出现 c.613c>t (p. Q205X) 突变。方框示无义突变密码子的读码框位置 D: 与野生型 *Pax6* 基因测序结果比较, AN-01 家系 3 例患者均出现 c.688g>t (p. E230X) 突变。方框示无义突变密码子的读码框位置

晶状体和视网膜等多种组织器官的发育^[9]。已证实 *Pax6* 突变后可导致患者无虹膜、精神发育迟滞、糖耐量受损或糖尿病。作为 *Pax* 家族的一员, *Pax6* 基因在大脑、眼部、肠道和胰腺等多个器官中均有表达, 在进化过程表现出高度的序列保守性^[10]。PAX6 蛋白含有 2 个 DNA 结合结构域, 分别为配对结构域 (PD, 4-130aa) 和同源结构域 (HD, 210-269aa), 这 2 个结构域之间由一段富含甘氨酸的连接段 (LNK, 131-209aa) 相连^[11]。PAX 蛋白羧基端还存在一个富含脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸的结构域 (PST, 279-422aa), 该结构域具有反式激活转录调节的作用^[12]。迄今为止, 在眼部畸形患者中已发现了超过 300 个 *Pax6* 基因的突变, 包括错义、无义、剪接异常、读码框移位、插入、缺失等多种类型, 其中无义突变占多数^[13-14]。

本研究中收集的 3 个无虹膜家系成员和 5 例散发病例中存在 4 种 *Pax6* 基因突变体, 其中包括 c.468g>a (p. W156X)、c.613c>t (p. Q205X) 和 c.688g>t (p. E230X) 这 3 种无义突变以及 1 个基因剪接位点

突变, 即 c.141+2t>c。其中无义突变 c.468g>a (p. W156X) 和 c.613c>t (p. Q205X) 与剪接位点突变 c.141+2t>c 为已知突变^[15-17], c.688g>t (p. E230X) 为新的突变体。

无义突变 c.468g>a (p. W156X) 和 c.613c>t (p. Q205X) 位于 PAX6 蛋白 LNK 结构域, c.688g>t (p. E230X) 突变位于 HD 结构域。这 3 种无义突变均导致 *Pax6* 基因编码的氨基酸序列出现提前终止密码子 (premature translation termination condon, PTC), 诱发无义突变介导的 mRNA 降解机制 (nonsense-mediated mRNA decay, NMD), 使含有 PTC 信号的 mRNA 分子被选择性地降解, 导致体内的 PAX6 蛋白水平严重下降, 这种单体不足效应可能是先天性无虹膜发生的主要分子病因^[18-19]。发生于 *Pax6* 基因内含子 2 中的剪接位点突变 c.141+2t>c 改变了阅读框架, 同样导致 PTC 信号的出现, 使异常 mRNA 被 NMD 监视机制降解。

本研究中还发现 1 例散发病例发生了 *Pax6* 基因内含子与外显子交界处的杂合突变 c.141+2t>c。通过与 Genbank 上 *Pax6* 基因组序列 (NG_008679.1) 的比对, 本研究将该突变定位在 5 号内含子的第二核苷酸处, 该碱基位于剪接供体保守序列内。

鉴于该保守序列对剪接功能的重要作用, 本研究中应用剪接分析网站提供的预测分析服务对该突变位点进行了预测, 结果显示该突变破坏了野生型的剪接位点。

本研究中通过直接测序法对先天性无虹膜患者的 *Pax6* 进行突变筛查, 但在 AN-02 和 AN-03 家系及 2 例散发病例中未检测到 *Pax6*、*Elp4* 基因以及 SIMO 片段的突变。为防止由于基因重排或大片断 DNA 序列的丢失, 本研究中利用 MLPA 法对这些患者进行了序列分析, 但仍未发现突变。本研究 8 例先证者中的 4 例发现了 *Pax6* 基因突变体, 突变检出率为 50%, 与其他研究十分接近^[20-21]。根据本研究检测结果, 推测一方面可能由于本研究目前所用的检测手段存在一定的局限性, 尚不能找到靶基因内含子或调控区域的变异; 另一方面可能存在其他与先天性无虹膜发病相关的未知基因, 需要进一步的研究来揭示。

综上所述, 本研究在中国无虹膜患者的 *Pax6* 基因

中发现了 4 种杂合突变体, *c. 688g>t(pE230X)* 为新发现的 *Pax6* 突变体, 扩大了 *Pax6* 基因的突变谱, 对于先天性无虹膜患者的分子发病机制研究具有重要价值。

参考文献

- [1] Song S, Liu Y, Guo S, et al. A novel *PAX6* gene mutation in a Chinese family with aniridia[J]. *Mol Vis*, 2005, 11: 335-337.
- [2] Zhuang J, Chen X, Tan Z, et al. A novel *de novo* duplication mutation of *PAX6* in a Chinese family with aniridia and other ocular abnormalities [J/OL]. *Sci Rep*, 2014, 4: 4836 [2016-01-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC24787241/>. DOI:10.1038/srep04836.
- [3] Hingorani M, Hanson I, van Heyningen V. Aniridia[J]. *Eur J Hum Genet*, 2012, 20(10): 1011-1017. DOI:10.1038/ejhg.2012.100.
- [4] Hingorani M, Williamson KA, Moore AT, et al. Detailed ophthalmologic evaluation of 43 individuals with *PAX6* mutations [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(6): 2581-2590. DOI:10.1167/iovs.08-2827.
- [5] Shimo N, Yasuda T, Kitamura T, et al. Aniridia with a heterozygous *PAX6* mutation in which the pituitary function was partially impaired[J]. *Intern Med*, 2014, 53(1): 39-42.
- [6] Bhatia S, Bengani H, Fish M, et al. Disruption of autoregulatory feedback by a mutation in a remote, ultraconserved *PAX6* enhancer causes aniridia[J]. *Am J Hum Genet*, 2013, 93(6): 1126-1134. DOI:10.1016/j.ajhg.2013.10.028.
- [7] Kleinjan DA, Seawright A, Elgar G, et al. Characterization of a novel gene adjacent to *PAX6*, revealing synteny conservation with functional significance[J]. *Mamm Genome*, 2002, 13(2): 102-107. DOI:10.1007/s00335-001-3058-y.
- [8] Redeker EJ, de Visser AS, Bergen AA, et al. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) enhances the molecular diagnosis of aniridia and related disorders[J]. *Mol Vis*, 2008, 14: 836-840.
- [9] Georgala PA, Carr CB, Price DJ. The role of *Pax6* in forebrain development[J]. *Dev Neurobiol*, 2011, 71(8): 690-709. DOI:10.1002/dneu.20895.
- [10] Lauderdale JD, Wilensky JS, Oliver ER, et al. 3' deletions cause aniridia by preventing *PAX6* gene expression[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(25): 13755-13759. DOI:10.1073/pnas.240398797.
- [11] Lee H, Khan R, O'Keefe M. Aniridia: current pathology and management[J]. *Acta Ophthalmol*, 2008, 86(7): 708-715. DOI:10.1111/j.1755-3768.2008.01427.x.
- [12] Tzoulaki I, White IM, Hanson IM. *PAX6* mutations: genotype-phenotype correlations[J/OL]. *BMC Genet*, 2005, 6: 27 [2016-01-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1156885/>. DOI:10.1186/1471-2156-6-27.
- [13] D'Elia AV, Pellizzari L, Fabbro D, et al. A deletion 3' to the *PAX6* gene in familial aniridia cases[J]. *Mol Vis*, 2007, 13: 1245-1250.
- [14] Fantès J, Redeker B, Breen M, et al. Aniridia-associated cytogenetic rearrangements suggest that a position effect may cause the mutant phenotype[J]. *Hum Mol Genet*, 1995, 4(3): 415-422.
- [15] Chao LY, Mishra R, Strong LC, et al. Missense mutations in the DNA-binding region and termination codon in *PAX6* [J]. *Hum Mutat*, 2003, 21(2): 138-145. DOI:10.1002/humu.10163.
- [16] Azuma N, Yamaguchi Y, Handa H, et al. Mutations of the *PAX6* gene detected in patients with a variety of optic-nerve malformations[J]. *Am J Hum Genet*, 2003, 72(6): 1565-1570. DOI:10.1086/375555.
- [17] Kawano T, Wang C, Hotta Y, et al. Three novel mutations of the *PAX6* gene in Japanese aniridia patients [J]. *J Hum Genet*, 2007, 52(7): 571-574. DOI:10.1007/s10038-007-0153-2.
- [18] Vincent MC, Pujo AL, Olivier D, et al. Screening for *PAX6* gene mutations is consistent with haploinsufficiency as the main mechanism leading to various ocular defects[J]. *Eur J Hum Genet*, 2003, 11(2): 163-169. DOI:10.1038/sj.ejhg.5200940.
- [19] Bhuvanagiri M, Schlitter AM, Hentze MW, et al. NMD; RNA biology meets human genetic medicine[J]. *Biochem J*, 2010, 430(3): 365-377. DOI:10.1042/BJ20100699.
- [20] Zhang X, Wang P, Li S, et al. Mutation spectrum of *PAX6* in Chinese patients with aniridia[J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 2139-2147.
- [21] Kondo-Saitoh A, Matsumoto N, Sasaki T, et al. Two nonsense mutations of *PAX6* in two Japanese aniridia families; case report and review of the literature[J]. *Eur J Ophthalmol*, 2000, 10(2): 167-172.

(收稿日期:2016-05-11)

(本文编辑:尹卫靖 刘艳)

读者·作者·编者

本刊对医学研究中知情同意和医学伦理学描述的要求

根据国际医学期刊编辑委员会提供的“生物医学期刊投稿统一要求”的表述,本刊对作者撰写稿件时关于“知情同意”和“医学伦理学”的描述提出如下要求:

(1) 知情同意 在未事先获得知情同意的情况下,患者有隐私不被侵犯的权力。患者的身份信息,包括姓名、来源、住院号等均不应该以文字、图片或家系信息的方式在出版物上公开,除非这些信息对于本研究是必需的,如需在出版物上显示,应征得患者(或者父母、监护人)签署的书面同意书。

发表的文章中应该省略不必要的患者个人信息,但难以做到完全匿名时(如在照片中掩盖患者的眼部,不足以保护患者的隐私权),应提供知情同意的信息。如果用改变患者的身份特征(如遗传家系等)以保护患者隐私权的方法,作者应该确保这些改变不影响研究的科学性,并且编辑应在文中对此予以说明。

(2) 医学伦理学 以人体为实验对象的研究,作者应该提及试验步骤是否符合相应的负责机构、国家委员会或 1975 年赫尔辛基宣言(2005 年修订)的医学伦理学标准。如果研究过程对是否符合赫尔辛基宣言有疑问或存在一定的问题,作者应当做出客观说明并解释研究的合理性,提交已通过审查机构的批准情况。以动物为实验对象的研究,作者应当说明是否遵循当地的相关机构、学会(国内或国外)及国家实验动物保护和利用指南。

(本刊编辑部)