

· 临床研究 ·

二代测序技术对易误诊为视网膜色素变性的两个中国无脉络膜症家系鉴别诊断

王苗苗 王卓实 孙岩 夏阳 何伟

辽宁何氏医学院 110000

通信作者:何伟,Email:hewei@hsyk.com.cn

【摘要】 目的 应用二代测序技术(NGS)鉴别无脉络膜症与视网膜色素变性(RP)。方法 采用横断面研究设计。纳入 2017 年 1 月至 2018 年 12 月在沈阳何氏眼科医院就诊的 2 个经外院临床医生诊断为 RP 的家系,采集相关病史资料,询问家族史,并绘制家系图,进行视力、眼压、眼底照相、视网膜电图(ERG)、B 型超声、视野、色觉、光相干断层扫描(OCT)、裂隙灯显微镜检查,并进行目标序列捕获测序和 Sanger 验证,大片段的缺失插入经实时荧光定量 PCR 检测进行验证。结果 识别了 *CHM* 基因中的 2 个已知致病突变 EX9 DEL 和 c.715C>T,明确诊断为无脉络膜症,家系 1 先证者 II 1 携带 EX9 DEL 半合子突变,双眼黄斑中心凹处可见星型小片完整脉络膜。家系 2 患者携带 c.715C>T 致病突变,先证者 III 1 为半合子突变,双眼眼底可见黄斑中心凹处淡红色岛区;先证者母亲 II 2 和外祖母 I 2 为杂合突变,眼底萎缩程度较先证者 III 1 轻,眼底呈斑驳样外观,视盘界清色可,血管粗细适中,眼底萎缩区可见暴露的脉络膜。结论 本研究首次在亚洲满族和汉族人群中识别了 *CHM* 基因 EX9 DEL 和 c.715C>T 致病突变,c.715C>T 致病突变女性携带者与男性患者临床表现不同。NGS 可能成为鉴别无脉络膜症与 RP 的有力工具。

【关键词】 无脉络膜症; 突变; 二代测序技术**基金项目:** 辽宁省自然科学基金项目 (17-600-9-00)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.09.006

Diagnosis of choroideremia in two Chinese families misdiagnosed as retinitis pigmentosa using next-generation sequencing

Wang Miaomiao, Wang Zhuoshi, Sun Yan, Xia Yang, He Wei

Liaoning He University, Shenyang 110000, China

Corresponding author: He Wei, Email: hewei@hsyk.com.cn

【Abstract】 Objective To identify choroideremia and retinitis pigmentosa (RP) using next-generation sequencing(NGS) technology. **Methods** A cross-sectional study was adopted. The participants were two pedigrees that was suspected of RP in previous hospital treatments in He Eye Specialist Hospital between January 2017 and December 2018. The relevant medical and family history were collected, and the family tree was plotted. The visual acuity, intraocular pressure, fundus photography, electroretinogram (ERG), B-mode ultrasound, visual field, color vision, optical coherence tomography (OCT), and slit lamp assessment were performed on all subjects. Target region sequencing and Sanger sequencing were performed, deletion insertion of large fragments was verified by real-time quantitative PCR. This study followed the Helsinki Declaration and was approved by the Ethics Committee of Shenyang He Eye Hospital (NO. IRB [2017] k002.01). **Results** Two known pathogenic mutations were identified in *CHM* gene: EX9 DEL and c.715C>T. Furthermore, the clinical diagnosis of choroideremia was confirmed. The Family 1 proband III 1 with the EX9 DEL hemizygous mutation had a special clinical phenotype, "Star" small piece intact choroid was visible in the macular fovea of both eyes. The patients in pedigree 2 carried the pathogenic mutation c.715C>T, the proband III 1 carried a hemizygous mutation and the reddish island area in the fovea macula was seen in both eyes. The mother II 2 and grandmother I 2 of proband carried heterozygous mutations, the degree of fundus atrophy was lighter than that of the proband III 1, the fundus had a mottled appearance, the optic disc boundary was clear, the blood vessel thickness was moderate, and the exposed choroid was visible in the fundus atrophy area. **Conclusions** This study is the first to identify two known pathogenic mutations in *CHM* gene, EX9 DEL and c.715C>T in Asian Manchu and Han populations. The clinical phenotypes of female carriers with the c.715C>t pathogenic mutation are different from those of male patients. The NGS technology may become a powerful tool to distinguish choroideremia from RP.

【Key words】 Choroideremia; Mutation; Next-generation sequencing**Fund program:** Natural Science Foundation of Liaoning Province (17-600-9-00)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.09.006

无脉络膜症是一种可导致脉络膜毛细血管层、视网膜色素上皮层 (retinal pigment epithelium, RPE) 和光感受器萎缩的 X 连锁遗传眼病, 中国无脉络膜症患者可能病情更严重, 进展更快^[1-2]。无脉络膜症是由编码 Rab 护送蛋白-1 (rabescort-protein-1, REP-1) 的 *CHM* 基因功能丧失引起, *CHM* 基因位于 Xq21. 2, 包含 15 个外显子, 碱基跨度约 150 kb, 并编码一个含有 653 个氨基酸的胞内蛋白质 REP-1^[3-6]。由于 *CHM* 基因位于 X 染色体上, 所以大部分男性患者早期出现夜盲, 周边视野逐渐缺损, 视力逐渐下降; 女性携带者除表现为屈光不正外, 一般无其他临床症状, 但个别女性携带者可表现为眼底斑驳状、马赛克样色素改变, 这种眼底改变可由 X 染色体不平衡失活假说所解释^[2,7]。无脉络膜症早期有轻度非典型周边部色素性视网膜病变和视网膜色素上皮变性, 晚期脉络膜和视网膜结构和功能显著缺失。无脉络膜症与视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa, RP) 在临床表型上有部分症状交叉重叠, 难以区分, 如果仅从临床表型来判断, 极易误诊。随着二代测序技术 (next-generation sequencing, NGS) 的发展, 医学研究已经迎来了精准医疗的新时代。本研究中通过 NGS 对 2 个被误诊为 RP 的无脉络膜症家系进行分析, 鉴别诊断无脉络膜症与 RP, 为视网膜疾病的精确诊断提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用横断面研究设计, 于 2017 年 1 月至 2018 年 12 月在沈阳何氏眼科医院收集 2 个易误诊为 RP 的无脉络膜症患者家系。本研究遵循赫尔辛基宣言, 并经沈阳何氏眼科医院伦理委员会批准【批文号: IRB (2017) K002. 01】, 所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 相关眼部检查 详细询问并记录家系病史, 重点询问有无夜盲、色盲等病史、家族史和父母是否近亲结婚。测量先证者及其家系成员的裸眼视力及最佳矫正视力, 进行非接触式眼压计 (日本 Topcon 公司)、视野计 (Humphrey 750i, 德国 ZEISS 公司)、视网膜电图 (electroretinogram, ERG) (美国 Veris 公司) 检查, 使用 Farnsworth D-15 色调检测法和俞自萍色盲本进行色觉检查, 使用裂隙灯显微镜检查眼睑、结膜、角膜、前房、瞳孔、晶状体等眼前节情况, 复方托吡卡胺滴眼液扩瞳后检查眼底, 50DX 眼底照相机 (日本 Topcon 公司) 进行彩色眼底照相、光相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) (HD-5000, 德国 ZEISS 公司) 检测黄

斑中心凹厚度以及视网膜内界膜 (inner limiting membrane, ILM) 到 RPE 厚度。

1.2.2 样本采集及处理 抽取受检者的静脉血 5 ml, 采用 QIAamp DNA Blood Midi Kit (德国 Qiagen 公司) 的标准流程提取基因组 DNA, 完成单个受检者的 DNA 建库。文库经 Agilent2100 Bioanalyzer (美国 NYSE: A 公司) 和 BMG LABTECH (德国 BMG 公司) 进行 DNA 片段大小和浓度检测, 合格后将需要不同数据量的文库进行池化、定量; 然后将池化文库进行单链环化。环化后的文库生成 DNA 纳米球 (DNA nano ball, DNB) 后利用 BGISEQ-500 高通量测序仪 (深圳华大基因股份有限公司) 连续双向测序并读出原始测序数据。

1.2.3 突变基因筛选及验证 数据下机后进入信息分析部分, 经过对下机的原始数据进行测序质量评估后, 从千人基因组计划、HapMap 和 dbSNP 等数据库中筛选出频率小于 0.005 的突变, 根据中国遗传学会遗传变异分类标准与指南 (<http://acmg.cbgc.org.cn/doku.php?id=start>) 找出患者的致病突变。所有的致病突变通过 Sanger 测序来验证, 大片段的缺失插入经荧光定量 PCR 进行基因拷贝数变异验证。对家系成员 DNA 进行家系共分离分析。

2 结果

家系 1 共 2 代 3 名成员, 先证者 II 1, 男, 31 岁, 满族, 5 岁时发现双眼夜盲, 昼视觉可, 无色盲, 21 岁时自觉视野变小, 并逐渐加重, 23 岁时出现昼视觉下降, 近视度数逐渐增加, 于外院就诊, 诊断为双眼 RP, 未系统治疗。2018 年 5 月, 患者就诊于沈阳何氏眼科医院。先证者 II 1 双眼结膜无充血, 角膜光滑透明, 前房正常, 瞳孔正圆, 双眼晶状体皮质呈点状混浊, 玻璃体混浊, 双眼眼底可见周边视网膜萎缩, 呈豹纹状, 黄斑区可见星型小片完整脉络膜, 周边少量骨细胞样色素沉着, 可透见脉络膜大血管组织及后方巩膜 (图 1); B 型超声检查示双眼中少量玻璃体混浊并后脱离; 视野检查显示双眼几乎呈管状视野; OCT 检查显示脉络膜毛细血管层反射消失, 外界膜、椭圆体、嵌合体区消失, RPE 变薄, 中心凹下脉络膜厚度为 144 μm , 距黄斑中心凹 1 000 μm 颞侧位置下的脉络膜厚度为 149 μm , 鼻侧位置下的脉络膜厚度为 54 μm (图 2); 先证者父亲 (I 1) 和母亲 (I 2) 临床表型均正常 (图 3); ERG 显示双眼视锥和视杆细胞呈反应熄灭型 (图 4)。先证者 II 1 临床表型见表 1。诊断为双眼疑似 RP, 双眼无脉络膜症待排除。

表 1 2 个无脉络膜症家系患者表型

家系	患者	性别	年龄 (岁)	发病年龄 (岁)		裸眼视力		矫正视力		眼压 (mmHg)		黄斑中心凹厚度 (μm)		杯盘比		色觉
				夜盲	视野缩小	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	
家系 1	II 1	男	31	5	21	0.05	0.02	0.60	0.80	14	14	389	398	0.5	0.4	无异常
家系 2	III 1	男	22	10	20	0.10	0.05	1.00	0.05	14	15	242	236	0.6	0.4	无异常
	II 2	女	55	无	无	数指/10 cm	0.10	数指/30 cm	0.40	15	15	189	172	0.1	0.6	无异常
	I 2	女	72	无	无	0.25	数指/30 cm	0.30	0.10	13	15	219	113	0.5	0.4	无异常

注: RP: 视网膜色素变性 (1 mmHg = 0.133 kPa)



图 1 先证者 II 1 双眼彩色眼底照片 双眼周边视网膜萎缩, 呈豹纹状, 黄斑区可见星型小片完整脉络膜 (白色箭头), 周边少量骨细胞样色素沉着 (红色箭头) A: 右眼 B: 左眼

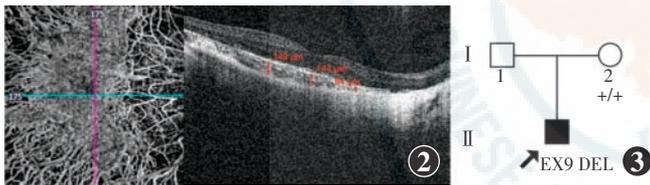


图 2 先证者 II 1 右眼眼底 OCT 检查 黄斑中心凹区域视网膜结构相对完整, 其余外层视网膜萎缩, 脉络膜缺损, 巩膜反射代偿性增强
图 3 家系 1 家系图 □: 正常男性; ■: 患病男性; ○: 正常女性; ♂: 先证者; +: 不携带突变基因

为先证者 II 1 进行视网膜疾病相关的 ALMS1、CNNM4、CHM 等 156 个目标基因目标序列捕获测序, 检出 CHM 基因一个已知致病突变 EX9 DEL (图 5) 和 CYP4V2 基因一个已知致病突变 c. 802-8_810delinsGC (表 2)。明确突变位点后, 对其母亲 (I 2) 进行该位点的 Sanger 验证, 由于 EX9 DEL 属于大片段缺失, 此类突变很难被传统的 Sanger 测序所发现, 遂用荧光定量 PCR 对其进一步进行大片段缺失验证。验证结果其母亲 (I 2) 并未携带此大片段缺失。

表 2 2 个无脉络膜症家系携带致病性突变位点信息

类别	基因名称	核苷酸改变	基因亚区	杂合性	相关疾病	遗传模式
家系 1	CHM	EX9 DEL	EX9/CDS9	Hemi	无脉络膜症	XLD
	CYP4V2	c. 802-8_810delinsGC	Intron6、EX7/CDS7	Het	Bietti 结晶样视网膜变性	AR
家系 2	CHM	c. 715C>T	EX6/CDS6	Hemi/Het	无脉络膜症	XLD

注: Het: 杂合突变; Hemi: 半合子突变; AR: 常染色体隐性遗传; XLD: X 染色体显性遗传

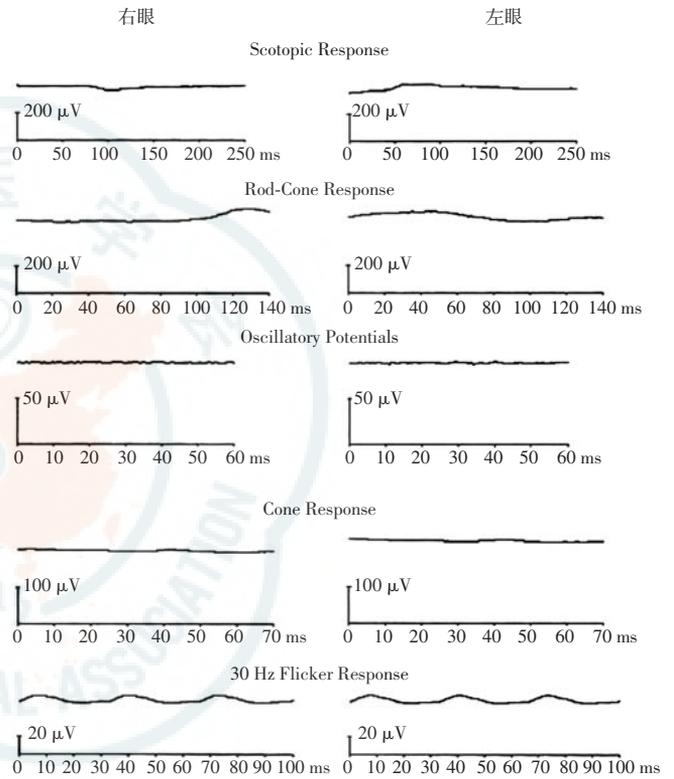


图 4 先证者 II 1 双眼 ERG 检测图 双眼各反应近平坦, 视锥和视杆呈反应熄灭型

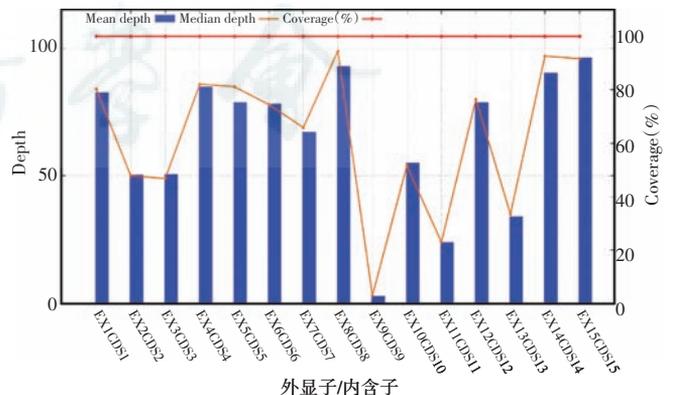


图 5 先证者 II 1 CHM 基因的 EX9 DEL 测序分析

家系 2 先证者 III 1, 男, 22 岁, 汉族, 10 岁时发现视力较差, 20 岁时发现视野变小, 在外院检查时被诊断为双眼 RP。先证者母亲 (II 2) 和外祖母 (I 2) 也均视力下降, 详细病史见表 1, 家系图见图 6。入院检查, 先证者 III 1 双眼结膜无充血, 角膜光滑透明, 前房正

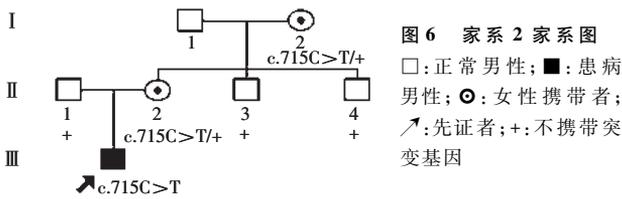


图 6 家系 2 家系图
 □: 正常男性; ■: 患病男性; ○: 女性携带者; ↗: 先证者; +: 不携带突变基因

常,瞳孔正圆,晶状体正常,玻璃体正常,眼底可见全部视网膜青灰色,萎缩区可见暴露的脉络膜大血管及巩膜,有极少量色素沉着,黄斑中心凹处可见淡红色岛区(图 7);双眼几乎呈管状视野;OCT 像显示双眼周边视网膜厚度同神经纤维层厚度变薄,局部脉络膜毛细血管层反射降低,周边脉络膜萎缩,RPE 变薄,脉络膜缺损区巩膜反射代偿性增强;ERG 显示双眼各反应近平坦,双眼视锥视杆反应熄灭型(图 8)。先证者母亲(II 2)眼底可见右眼眼底视网膜青灰色,眼底萎缩区可见暴露的脉络膜,血管轻度变细;左眼视网膜呈橘红色,呈斑驳样外观(图 7);OCT 像显示双眼周边视网膜厚

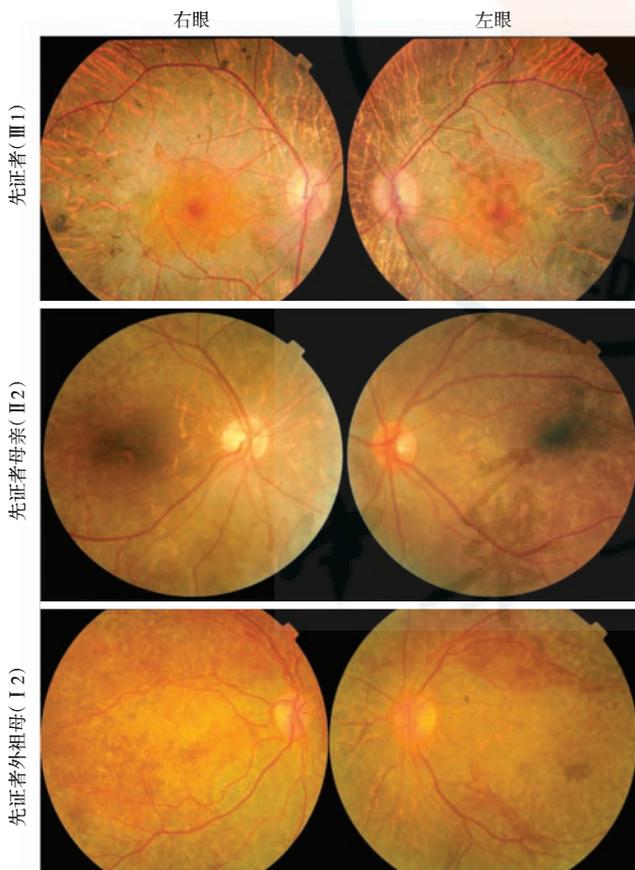


图 7 先证者 III 1 及其家属彩色眼底照片 先证者 III 1 眼底全部视网膜呈青灰色,黄斑中心凹处可见淡红色岛区。先证者母亲(II 2)右眼视网膜呈青灰色,眼底萎缩区可见暴露的脉络膜;左眼眼底视网膜呈橘红色,斑驳样外观。先证者外祖母(I 2)右眼眼底全视网膜萎缩,呈青灰色,后极部可见多处黄白色点状病灶;左眼眼底黄斑及视盘区、赤道部均可见大片脉络膜萎缩,眼底萎缩区可见暴露的脉络膜,可见斑片状色素沉着

度和神经纤维层厚度均变薄,局部脉络膜毛细血管层反射降低,RPE 萎缩变薄,右眼外层视网膜囊样低反射,脉络膜缺损区巩膜反射代偿性增强。先证者外祖母(I 2)右眼全视网膜萎缩,呈青灰色,后极部可见多处黄白色点状病灶;左眼眼底黄斑区、视盘区以及赤道部均可见大片脉络膜萎缩,眼底萎缩区可见暴露的脉络膜,可见斑片状色素沉着(图 7);OCT 像显示左眼周边视网膜厚度同神经纤维层厚度变薄,黄斑中心凹萎缩,局部脉络膜毛细血管层反射降低,脉络膜缺损区巩膜反射代偿性增强,右眼未见明显异常。

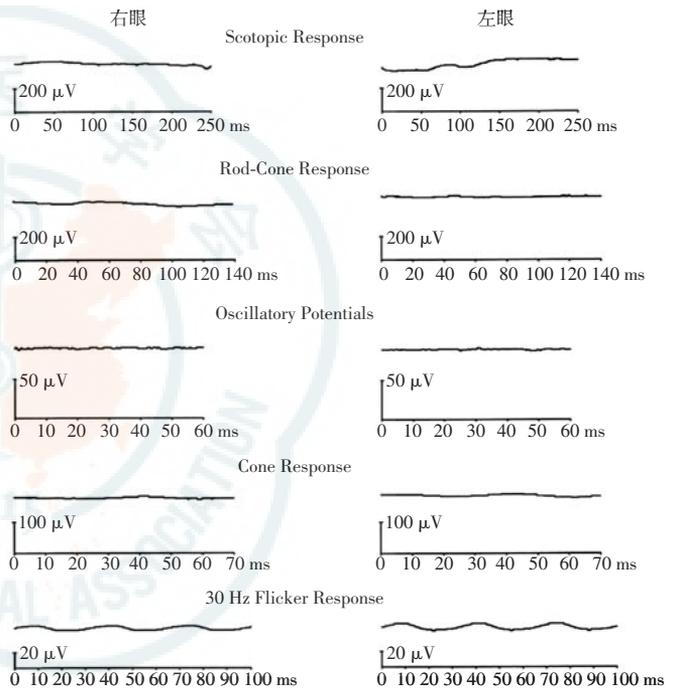


图 8 先证者 III 1 双眼 ERG 检测图 双眼各反应近平坦,视锥和视杆呈反应熄灭型

对先证者 III 1 及其家属进行视网膜疾病相关的 *ALMS1*、*CNNM4*、*CHM* 等 790 个目标基因目标序列捕获测序,在先证者 III 1、母亲(II 2)及外祖母(I 2)中分别识别了 *CHM* 基因一个已知致病突变:c. 715C>T (p. Arg239Ter)无义突变(图 9)。该突变可能导致编码蛋白质序列提前终止,产生截短蛋白或被降解。经过 Sanger 测序验证后,突变位点在此家系共分离。

3 讨论

无脉络膜症是一种 X 连锁的以夜盲和进展性视野缩小为主要特征的严重遗传眼病,致盲率高。受累男性初期表现为夜盲,进展性周边视野缺失,视野进行性变小^[8]。RP 是一种以夜盲、进行性视野缩窄、视网膜色素沉着为其主要临床特征的遗传性眼病^[9]。无脉络膜症与 RP 在临床表型上有部分症状交叉重

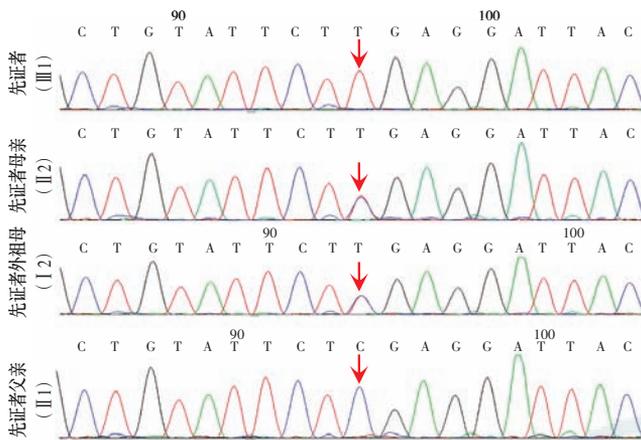


图9 *CHM* 基因突变位点 Sanger 验证图 在先证者(Ⅲ1)、母亲(Ⅱ2)及外祖母(Ⅰ2)中均存在 *CHM* 基因 c.715C>T(p.Arg239Ter) 无义突变(红色箭头)

叠,难以区分,如果仅从罕见且复杂多样的临床表型来判断,易误诊。

NGS 是有效区分无脉络膜症与 RP 的鉴别手段。Stone 等^[10] 研究发现,无脉络膜症患者均存在 *CHM* 基因突变,*CHM* 基因异质性最小,有利于通过二代测序技术明确疾病诊断,从 DNA 层面寻找该疾病的致病原因。NGS 逐渐成熟并广泛应用于临床,其中目标序列捕获测序已应用于多种疾病的诊断;与全外显子组或全基因组测序相比,其具有相对集中的优点,如可以被定制包括已知导致疾病的特定非基因组区域,而且执行速度相对较快且成本低。

本研究中 2 个家系分别选择了包含 156 个和 790 个目标基因的 panel 进行检测,家系 1 患者表型特殊,视网膜疾病相关的 *ALMS1*、*CNNM4*、*CHM* 等 156 个目标基因完全覆盖患者临床表型,而家系 2 中每例患者表型不同,其中先证者Ⅲ1 双眼眼底可见黄斑中心凹处淡红色岛区,先证者外祖母(Ⅱ2)眼底后极部可见多处黄白色点状病灶,且双眼玻璃体少量混浊并后脱离,左眼后极部视网膜牵引。为尽可能完全覆盖家系表型,选择眼部疾病相关的 790 个基因。

本研究中在亚洲满族人群中首次识别了 *CHM* 基因的 EX9 DEL 半合子突变。Jacobson 等^[11] 研究报道在 13~40 岁携带 EX9 DEL 半合子突变的无脉络膜症患者中,整体黄斑中心凹可能会出现极度增厚,与本研究中的发现一致,推测满族人种与高加索人种在这一突变的表型上可能存在一致性。通过对先证者母亲Ⅱ2 进行定量 PCR 验证发现,健康的母亲并未携带此大片段缺失,推测先证者为自发突变,不排除嵌合体的可能性。

本研究中在亚洲汉族人群中首次识别了 *CHM* 基因的 c.715C>T 突变。Francis 等^[12] 研究报道的白种

人群无脉络膜症 1 家系中,先证者及其外祖父均携带 *CHM* 基因的 c.715C>T 突变且发病,眼底检查显示脉络膜萎缩的程度逐渐加重,并在周边出现色素沉着,先证者祖父 71 岁时彩色眼底照片显示脉络膜几乎完全萎缩,但不排除本研究中的先证者脉络膜萎缩程度会随着病程延长而持续加重。本研究中结果显示,女性携带者眼底萎缩程度较男性轻,呈斑驳样外观,视盘边界清且颜色正常,血管粗细适中,眼底萎缩区可见暴露的脉络膜,可见斑片状色素沉着。

综上所述,本研究通过对被误诊为 RP 的 2 个家系进行 NGS,首次在亚洲人群中识别 *CHM* 基因两个已知致病突变 EX9 DEL 和 c.715C>T,其中携带 EX9 DEL 半合子突变的患者临床表型特殊,双眼黄斑中心凹处可见星型小片状完整脉络膜,且符合高加索人群无脉络膜症患者黄斑中心凹的变化规律,且不排除先证者脉络膜萎缩程度会随着病程持续加重,女性携带者与男性患者临床表型不同。NGS 可能成为有效鉴别无脉络膜症与 RP 的手段。

利益声明 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cremers FP, Sankila EM, Brunsmann F, et al. Deletions in patients with classical choroideremia vary in size from 45 kb to several megabases [J]. Am J Hum Genet, 1990, 47(4): 622-628.
- [2] 韩筱煦,李蕙,吴世靖,等.中国无脉络膜症患者自然病程研究[J].中华实验眼科杂志,2018,36(7):519-525. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.07.007.
- [3] Han XX, Li H, Wu SJ, et al. Study of natural history of Chinese patients with choroideremia [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2018, 36(7): 519-525. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.07.007.
- [4] van den Hurk JA, Schwartz M, van Bokhoven H, et al. Molecular basis of choroideremia (CHM): mutations involving the Rab escort protein-1 (REP-1) gene [J]. Hum Mutat, 1997, 9(2): 110-117. DOI:10.1002/(SICI)1098-1004(1997)9:2<110::AID-HUMU2>3.0.CO;2-D.
- [5] MacDonald IM, Russell L, Chan CC. Choroideremia; new findings from ocular pathology and review of recent literature [J]. Surv Ophthalmol, 2009, 54(3): 401-407. DOI:10.1016/j.survophthal.2009.02.008.
- [6] 赵艳,孟庆丰,滕岩.无脉络膜症诊疗新进展[J].国际眼科杂志,2015,15(12):2079-2082. DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.12.14.
- [7] Zhao Y, Meng QF, Teng Y. Latest progress on diagnosis and treatment of choroideremia [J]. Int Eye Sci, 2015, 15(12): 2079-2082. DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.12.14.
- [8] Seabra MC, Mules EH, Hume AN. Rab GTPases, intracellular traffic and disease [J]. Trends Mol Med, 2002, 8(1): 23-30.
- [9] Beaufrère L, Rieu S, Hache JC, et al. Altered rep-1 expression due to substitution at position +3 of the IVS13 splice-donor site of the choroideremia (CHM) gene [J]. Curr Eye Res, 1998, 17(7): 726-729.
- [10] 林英,柳夏林,刘玉华,等.先天性无脉络膜症及其与 *CHM* 基因的相关研究 [J]. 国际眼科纵览, 2013, 37(4): 265-268. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-5803.2013.04.011.
- [11] Lin Y, Liu XL, Liu YH, et al. Congenital choroideremia and CHM gene [J]. Intern Rev Ophthalmol, 2013, 37(4): 265-268. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-5803.2013.04.011.
- [12] Veltel S, Gasper R, Eisenacher E, et al. The retinitis pigmentosa 2 gene product is a GTPase-activating protein for Arf-like 3 [J]. Nat Struct Mol Biol, 2008, 15(4): 373-380. DOI:10.1038/nsmb.1396.
- [13] Stone EM, Andorf JL, Whitmore SS, et al. Clinically Focused Molecular Investigation of 1000 Consecutive Families with Inherited Retinal Disease [J]. Ophthalmology, 2017, 124(9): 1314-1331. DOI:10.1016/j.ophtha.2017.04.008.

[11] Jacobson SG, Cideciyan AV, Sumaroka A, et al. Remodeling of the human retina in choroideremia: rab escort protein 1 (REP-1) mutations [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47 (9) : 4113-4120. DOI: 10.1167/iov.06-0424.

[12] Francis PJ, Fishman GA, Trzupke KM, et al. Stop mutations in exon 6 of the choroideremia gene, CHM, associated with preservation of the electroretinogram [J]. Arch Ophthalmol, 2005, 123 (8) : 1146-1149.

DOI:10.1001/archoph.123.8.1146.

(收稿日期:2019-05-21 修回日期:2019-07-28)

(本文编辑:张宇)

· 病例报告 ·

睑结膜恶性黑色素瘤诊疗一例

苏冠羽 梁庆丰 李彬

首都医科大学附属北京同仁医院 北京同仁眼科中心 北京市眼科研究所 北京市眼科学与视觉科学重点实验室 100005

通信作者:李彬, Email: libin43_99@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.09.007

患者,女性,48岁,左眼上睑长肿物4个月,双眼睫毛部痒1年,就诊于首都医科大学附属北京同仁医院眼科。患者自述肿物曾破溃2次,并曾流出血水;2018年9月于外院行上睑结膜肿物活检,组织病理学检查结果显示为色素性肿物。既往曾患左肺小细胞肺癌,已痊愈;高血压史,长期服用抗高血压药物维持;否认家族遗传病史。眼科常规检查:裸眼视力右眼为1.2,左眼1.0,眼压右眼为15.0 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),左眼为13 mmHg;左眼上睑皮肤肿胀微隆起,睑裂缩小,上睑结膜面可见弥漫棕黑褐色隆起肿物,表面呈结节状生长,肿物大小约为28 mm×10 mm×3 mm,其内可见新生血管长入,病变累及上穹窿部结膜(图1A),肿物质软,固定,下睑结膜鼻侧及颞侧均可见片状棕黑色肿物生长,轻微隆起,鼻侧睑结膜病变约为8 mm×4 mm×1 mm,颞侧病变约9 mm×3 mm×1 mm(图1B),病变未及双侧耳前及颌下腺。角膜透明,球结膜轻微充血,未见肿物生长。住院后完善全身检查:血常规未见明显异常,尿常规细菌556个/μl,提示有尿路感染,颈部超声未见明显异常。临床诊断:(1)左眼上下睑结膜色素性肿物(色素痣恶变?);(2)尿路感染。于首诊后1周行左眼上睑结膜大范围肿物切除+自体硬腭移植+眼睑重建术,扩大切除上睑肿物后送组织病理学检查,送检组织大小约28 mm×10 mm×3 mm。由于下睑结膜病变面积较小,未进行切除。该患者未发现其他部位有明显的肿瘤,区域未见明显淋巴结转移和远处转移,根据美国2010年美国癌症联合委员(AJCC)和国际抗癌联盟(UICC)制定的第7版肿瘤的TNM分期^[1],属于TONOMO。半年后复诊,左眼上睑未见黑色素瘤复发,下睑肿瘤明显扩大(图2),行下睑结膜大范围肿物切除+自体硬腭移植+眼睑重建术,肿瘤组织病理学检查结果显示肿瘤组织部分呈巢状分布,细胞增生活跃,异型性明显,肿瘤组织内可见梭形细胞及上皮样细胞(图3)。免疫组织化学染色显示 melan-A(+), S-100(+), vimentin(+), CK(+), CD99(-), desmin(-), p53(-), SMA(-) 和 ki-67index(占30%)。综合以上结果,诊断为结膜恶性黑色素瘤。

讨论:眼睑肿物以良性居多,2016年一项眼睑结膜肿物大样本临床组织病理学分析显示,恶性肿物占19.1%,多见于中老年人,其中黑色素瘤位于第2位^[2]。Hu等^[3]分析1992—2003年

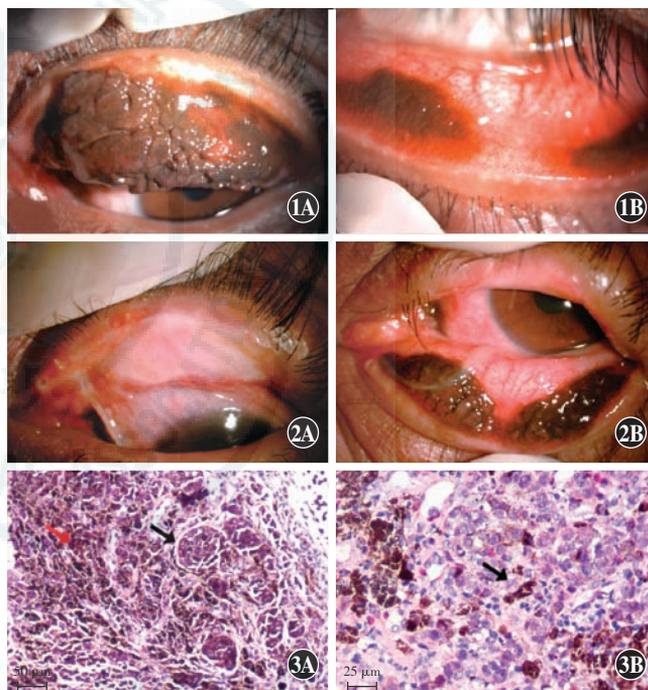


图1 患者初诊左眼外观像 A:左眼上睑结膜外观像 B:左眼下睑结膜外观像 图2 患者半年后复诊左眼外观像 A:左眼上睑结膜外观像 B:左眼下睑结膜外观像 图3 肿瘤组织病理学观察(HE) A:肿瘤组织呈巢状分布(黑色箭头),可见梭形细胞及上皮样细胞,瘤细胞内含有棕黑色黑色素(红色箭头)(标尺=50 μm, ×200) B:瘤细胞异型性明显,细胞形态不规则,体积增大,呈圆形或者多边形(黑色箭头)(标尺=25 μm, ×400)

不同种族和民族的结膜黑色素瘤的发病率,发现黑人、美洲印第安人、亚洲人、西班牙裔人以及非西班牙裔白人结膜黑色素瘤年发病率分别为每百万人0.18、0.17、0.15、0.33和0.49;结膜黑色素瘤在白人、黑人和亚洲人之间的发病率差异有统计学意义,但在黑人和亚洲人之间发病率差异无统计学意义。

恶性黑色素瘤可发生于皮肤及不同部位的实质器官,是一种高度恶性的肿瘤,来源于黑色素细胞,较少表现在眼部。结膜恶性黑色素瘤较为罕见,单眼发病,在眼部肿物中仅占2%~3%^[4]。结膜黑色素瘤多呈结节状生长,常伴有丰富的血管生