· 临床研究 ·

先天性无虹膜患者的基因型-表型分析

李杰　栗占荣　邢亚斯　彭海鹰　戴淑真
河南省人民医院　郑州大学人民医院　河南省立眼科医院　河南省眼科研究所　河南省眼科学与视觉科学重点实验室，郑州 450003
通信作者：戴淑真，Email：dsz997300056@163.com

【摘要】 目的　分析先天性无虹膜患者基因型与表型之间的关系。 **方法**　应用全外显子组测序对 3 例先天性无虹膜家系进行致病基因筛查，重点分析 PAX6 相关基因变异，并应用 Sanger 测序与定量聚合酶链式反应（PCR）验证相关变异。 **结果**　基因分析显示，2 例先证者的 *PAX6* 基因分别存在 c.949 C>T 无义变异和 c.141+1 G>T 剪切变异，另 1 例检测到染色体 11p13 的重复变异（chr11：31531331-31827959），该区域包含了 *PAX6*、*ELP4* 基因。*PAX6* 结构基因变异患者的表型符合典型无虹膜的特征，主要表现为虹膜完全缺失，黄斑发育不全/眼球震颤及小角膜；11p13 的重复变异患者主要表现为小眼球合并小角膜、黄斑发育不全/眼球震颤及虹膜发育不良。 **结论**　完全 *PAX6* 拷贝重复可能导致 *PAX6* 表达过量，引起以小眼球合并小角膜，黄斑发育不良为特征的严重眼部异常，其虹膜异常累及较轻微，区别于 *PAX6* 单倍剂量不足所致的典型无虹膜。

【关键词】 先天性无虹膜；*PAX6* 基因；重复变异；临床表型
基金项目： 国家自然科学基金项目（81600775）；国家临床重点专科建设项目
DOI：10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.11.009

Genetic screening of the congenital aniridia and genotype-phenotype analysis

Li Jie, Li Zhanrong, Xing Yasi, Peng Haiying, Dai Shuzhen
Henan Provincial People's Hospital, People's Hospital of Zhengzhou University, Henan Eye Institute, Henan Eye Hospital, Henan Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science, Zhengzhou 450003, China
Corresponding author: Dai Shuzhen, Email: dsz997300056@163.com

[**Abstract**] **Objective**　To explore the genotype-phenotype correlation among 3 pedigrees affected with congenital aniridia. **Methods**　Clinical data and genomic DNA were collected and genetic variations were screened by whole-exome sequencing, with an emphasis on PAX6-related genes. Suspected variations were verified by Sanger sequencing and quantitative polymerase chain reaction (PCR). Written informed consent was obtained from the parents of each propositus prior to entering study cohort. This study protocol was approved by Ethic Committee of Henan Eye Hospital (No. HNEECKY-2017(6)). **Results**　Genetic analysis identified that a nonsense c.949 C>T variation and an c.141+1 G>T splicing variation of the *PAX6* gene in two of the probands, while the remainder has carried a duplication in 11 p13 (chr11: 31531331-31827959) encompassing the *PAX6* and *ELP4* genes. Phenotype analysis showed that the probands carrying the nonsense and splicing variations had classical features including complete aniridia, macular hypoplasia, microcornea and nystagmus; the proband carrying the 11p13 duplication had microphthalmos, microcornea, macular dysplasia, iris dysgenesis, and nystagmus. **Conclusions**　The 11p13 duplication involving the *PAX6* gene may have caused over-expression of *PAX6 gene*, resulting in severe eye abnormalities including microphthalmos and microcornea, macular dysplasia and nystagmus. The relatively mild iris dysgenesis has distinguishing it from classical aniridia due to *PAX6* haploinsufficiency.

[**Key words**] Congenital aniridia; *PAX6 gene*; Copy number variation; Phenotype
Fund program: National Natural Science Foundation of China (81600775); National Key Clinical Specialties Construction Program of China
DOI：10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.11.009

先天性无虹膜是指虹膜部分或完全发育缺陷，常合并其他眼前节异常及黄斑发育不全[1]，多为常染色体显性遗传，主要致病基因是位于 11 号染色体 11p13 的配对盒基因 6（paired box protein pax-6，*PAX6*），其表达的转录因子调控胚眼的发育[2]；其他可能相关的致病基因包括 *ABCB6*、*FOXC1*、*FOXD3*、*FOXE3*、*PITX2*、*CYP1B1* 和 *SOX2*[3]。此外，*PAX6* 基因 3'端以及 5'端转录调控元件的基因变异也可以引起先天性无虹膜

中华医学会杂志社 版权所有 违者必究
Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

症[4-5]，因此先天性无虹膜具有显著的基因异质性和表型异质性。目前普遍认为 *PAX6* 单倍剂量不足是其作用机制，关于拷贝重复的变异较少报道[6]，重复变异的表型也鲜有分析，本研究中应用全外显子组测序对 3 例先天性无虹膜患者进行致病基因检测，探讨基因型-表型之间的关系。

1　资料与方法

1.1　一般资料

3 例先天性无虹膜先证者均来自河南省，为河南省立眼科医院遗传眼病门诊患者，先证者父母均签署知情同意书，本研究通过河南省立眼科医院伦理委员会审核批准[批文号：HNEECKY-2017(6)号]。家系情况如图 1 所示，图中家系成员均纳入研究。

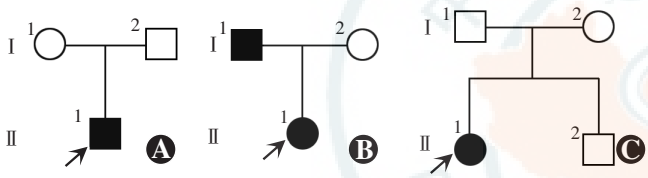

图 1　先天性无虹膜三家系　A：家系 1　B：家系 2　C：家系 3　□：正常男性　○：正常女性　■：患病男性　●：患病女性　↗：先证者

1.2　方法

1.2.1　提取基因组 DNA　抽取先证者及父母外周静脉血并分离白细胞，TIANamp Blood DNA Kit 试剂盒（北京 Tiangen Biotech 公司）提取基因组 DNA，Qubit® 2.0 荧光计（Qubit™ 双链 DNA 检测试剂盒，美国 Invitrogen 公司）定量检测基因组 DNA 浓度及总量，并用琼脂糖凝胶电泳检测纯度及完整性。

1.2.2　全外显子组测序　对先证者及其双亲同时进行全外显子组测序，DNA 样本用 V2 捕获探针（瑞士罗氏 NimbleGen 公司）进行捕获，完成建库之后，Hiseq 系列平台（美国 Illumina 公司）上机测序，运用 basecall 分析软件 BclToFastq（美国 Illumina 公司）得到原始数据。原始数据经过质控后应用 BWA 比对软件（https://github.com/lh3/bwa）与参考序列 hg19 比对统计；用 SAMtools 进行单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）检测，采用 pindel 进行 Indel 检测；根据测序深度，突变质量进行变异过滤（突变深度至少达到 10×，突变率达到 30%以上，筛选突变 Quality > 20）；然后进行变异注释及危害预测（PROVEAN、SIFT、Polyphen2、Mutationtaster、MaxEntScan 等）；并二次过滤去除最小等位基因频率（minor allele frequency，MAF）5%以上的多态性变异、同义突变、内含子区域的突变；最后根据家系共分离进一步分析筛选。

1.2.3　荧光定量 PCR 测量拷贝数变异　验证先证者及其父母的 *ELP4* 基因和 *PAX6* 基因的拷贝数，*ELP4* 基因选取第 4、7、10 外显子，*PAX6* 基因选取第 1、7、9、13 外显子。应用 ABI Step One/Plus PCR 仪（美国 Applied Biosystems 公司）对正常对照（来源于正常体检志愿者）和家系成员进行拷贝数变异检测。引物序列见表 1，反应体系包括上下游引物各 0.25 μl（2.5 μmol/L）和 0.50 μl（100 ng）样本 DNA 以及 SYBR Green 荧光定量 PCR 反应（试剂）体系 5.00 μl。每个实验重复 3 次，取平均值。比较家系样本与正常对照样本内参基因的 Ct 值，使两者差值<1（>1 则按照此差值稀释高浓度样本重新试验），选取 SD 值>0.2 数据进行分析（<0.2 者重新进行试验）。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算结果值。$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值为 0.8～1.2 的样本为正常，$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值>1.25～<1.75 的样本为单倍重复，$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值>1.75～<2.25 的样本为双倍重复，$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值>0.35～<0.75 的样本为杂合缺失，$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值为 0 则为纯合缺失。

表 1　荧光定量 PCR 引物序列

引物名称	碱基序列（5'-3'）	产物长度（bp）
PAX6-1QF	CATTTGCATGTTGCGGAGTGATTA	125
PAX6-1QR	GAAGCCTGACCTCTGTCATCATC	
PAX6-4QF	TAACAGAGCCCCATATTCGAGC	133
PAX6-4QR	TCCTCCCCTGACCCTCG	
PAX6-9QF	TTTGAGAGAACCCATTATCCAGATGT	131
PAX6-9QR	AGACAAATGGTATGAATCACAAAGTGT	
PAX6-13QF	GTGTGTCAGTTCCAGTTCAAGTT	131
PAX6-13QR	CCATAGTCACTGACTGAATTAACACA	
ELP4-4QF	CTTCCAGCACCATTACTTGATGATA	132
ELP4-4QR	TGCCTCCATCTTGGGTAATAACTG	
ELP4-7QF	GAGACGATATTTGCTGTGCAGAAA	141
ELP4-7QR	AATTTCGTACCTGGATCAGATGTGTT	
ELP4-10QF	TGTCAGACACAGTGAGCCG	125
ELP4-10QR	ACTAAGGAGGAATCCCTAGAAGTCC	

注：PCR：聚合酶链式反应

1.2.4　Sanger 测序验证变异　家系 2、3 中所有成员应用 Sanger 测序法验证变异，根据变位点所在位置设计引物，PCR 扩增对应 DNA 片段，扩增产物经质量分数 1%琼脂糖凝胶电泳，按凝胶纯化提取试剂盒（德国 Qiagen 公司）说明书的步骤分离纯化目的条带，纯化产物采用相应的 PCR 引物扩增，用 ABI 377 型全自动 DNA 测序仪（美国 Applied Biosystems 公司）进行 DNA 测序。将测序结果在家系中进行验证，观察是否有与突变位点相一致的基因与表型共分离现象。

中华医学会杂志社 版权所有 违者必究　Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

2　结果

2.1　各家系临床表型

家系 1，先证者，男，5 岁，诉自幼双眼视力差，眼球震颤。右眼视力：+1.50 DS−1.00 DC×35°=0.05；左眼视力：+0.75 DS−1.00 DC×165°=0.05。检查发现双眼球水平钟摆样震颤，双眼小角膜（水平直径约为 8.0 mm）（图 2A），双眼虹膜发育不良，右眼瞳孔上方移位（图 2B，C），视网膜平伏，色泽可，黄斑中心凹反光未见；眼轴长度右眼 18.83 mm，左眼 18.81 mm；角膜曲率半径右眼 7.02 mm（水平）/6.62 mm（垂直），左眼 6.88 mm（水平）/6.57 mm（垂直）；双眼 B 型超声示眼球组织无缺损（图 2D，E）。先证者父母表型正常。

家系 2，先证者，女，10 岁，诉自幼双眼视力差，眼球震颤，伴面左偏，视线向右。右眼视力：−3.50 DC×180°=0.1；左眼视力：−3.00 DC×180°=0.1。检查发现双眼球水平钟摆样震颤，双眼小角膜（水平直径约为 8.5 mm）（图 3A），双眼无虹膜（图 3B，C），视网膜平伏，色泽可，黄斑中心凹反光未见（图 3D，E）；眼轴长度右眼 23.29 mm，左眼 22.27 mm；角膜曲率半径：右眼 8.29 mm（水平）/7.55 mm（垂直），左眼 8.17 mm（水平）/7.37 mm（垂直）；双眼 B 型超声示眼球组织无缺损；智力发育正常。其父亲的表型与与先证者相似，母亲表型正常。

家系 3，先证者，女，5 岁，诉自幼双眼视力差，眼球震颤。右眼视力：−1.00 DS−3.00 DC×140°=0.05；左眼视力：−2.00 DS−2.00 DC×150°=0.05。检查发现双眼球水平钟摆样震颤，外斜映光约−30°，双眼小角膜（水平直径约为 9.0 mm）（图 4A），双眼无虹膜（图 4B，C），视网膜平伏，色泽可，黄斑中心凹反光未见；双眼 B 型超声检查示眼球组织无缺损；光相干断层扫描（optical coherence tomography，OCT）检查示未见黄斑结构（图 4D，E）；智力发育正常。患儿父母及弟弟表型均正常。

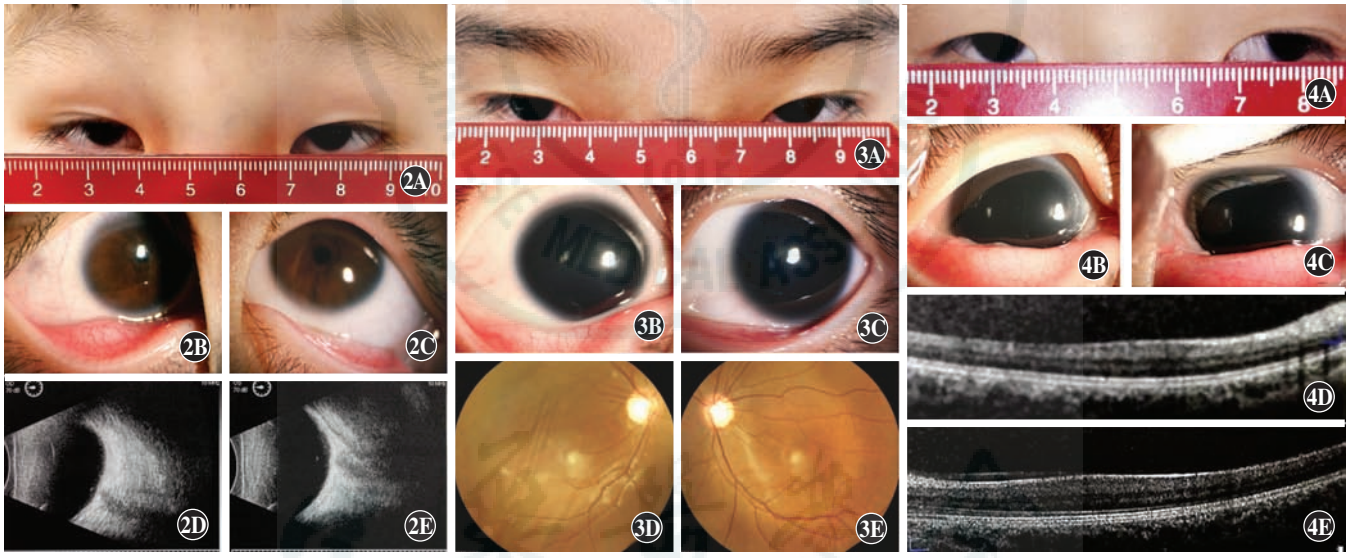

图 2　家系 1 先证者眼部表型图　A：双眼角膜横径均为 8.0 mm　B：右眼虹膜发育不良　C：左眼虹膜发育不良，瞳孔上移　D、E：B 型超声检查示双眼球壁无缺损（D：右眼；E：左眼）　**图 3　家系 2 先证者眼部表型图**　A：双眼角膜横径均为 8.5 mm　B、C：双眼完全性无虹膜（B：右眼；C：左眼）　D、E：彩色眼底照片示先证者双眼黄斑中心凹反光未见（D：右眼；E：左眼）　**图 4　家系 3 先证者眼部表型图**　A：双眼角膜横径均为 9.0 mm　B、C：双眼完全性无虹膜（B：右眼；C：左眼）　D、E：先证者 OCT 检查示双眼黄斑结构缺失（D：右眼；E：左眼）

2.2　各家系基因分析

家系 1 先证者及父母全外显子组测序的覆盖度及平均深度如表 2 所示。智因医学视觉系统包括的所有 2 472 个基因的筛查分析，排除正常人数据库 MAF>5%（DYDF、dbSNP、EaAC、千人基因组等）以及不影响剪接的同义、内含子突变等后，共识别到 160 个不能排除致病可能的变异，对先天性无虹膜相关基因变异（*PAX6*、*ELP4*、*ABCB6*、*FOXC1*、*FOXD3*、*FOXE3*、*PITX2*、*CYP1B1*、*SOX2*、*VSX2*、*SHH*、*GDF3*、*GDF6*、*RBP4*）分析，检测到 *PAX6* 基因（NM_000280）的外显子双倍重复（第 1～13

表 2　家系 1、2、3 成员全外显子组测序的覆盖度及平均深度

家系成员	家系 1			家系 2			家系 3		
	先证者	父亲	母亲	先证者	父亲	母亲	先证者	父亲	母亲
覆盖度（%）	99.87	99.90	99.80	99.88	99.93	99.82	99.84	99.94	99.87
深度（×）	111	87	132	170	150	139	145	142	156

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

外显子)致病综合评分最高;分析 *PAX6* 上下游调控序列基因(*RCN1*、*DNAJC24*、*WT1*、*HIPK3*、*LMO2*、*EHF*、*CD44*、*ELP4*、*DCDC1*、*MPPED2*、*IMMP1L*),排除上下游调控基因的拷贝数变异,重复变异定位于染色体 11p13(chr11: 31531331-31827959),该区域包含 *PAX6*、*ELP4* 基因;荧光定量 PCR 分析结果显示,先证者 *PAX6*、*ELP4* 基因存在重复变异;先证者父母 *PAX6*、*ELP4* 基因的外显子拷贝数正常(图 5)。

家系 2 与家系 3 先证者及其父母全外显子组测序的覆盖度及平均深度如表 2 所示;家系 2 先证者 *PAX6* 的第 5 外显子侧翼存在 c.141+1 G>T 剪切变异,父亲携带相同变异(图 6)。家系 3 先证者 *PAX6* 基因存在 c.949 C>T 无义变异,导致终止密码子生成,编码终止,为新发(denovo)变异,其父母和胞弟均未检测到该变异(图 7)。

2.3　各家系基因型-表型分析

家系 1 的先证者携带 *PAX6*、*ELP4* 基因重复变异,临床特征主要包括小眼球合并小角膜、黄斑发育不全/眼球震颤及虹膜发育不良。家系 2 和家系 3 的先证者分别携带 *PAX6* 基因结构区域的剪切变异和无义突变,临床表现符合典型无虹膜的特征,包括虹膜完全缺失、黄斑发育不全/眼球震颤及小角膜。

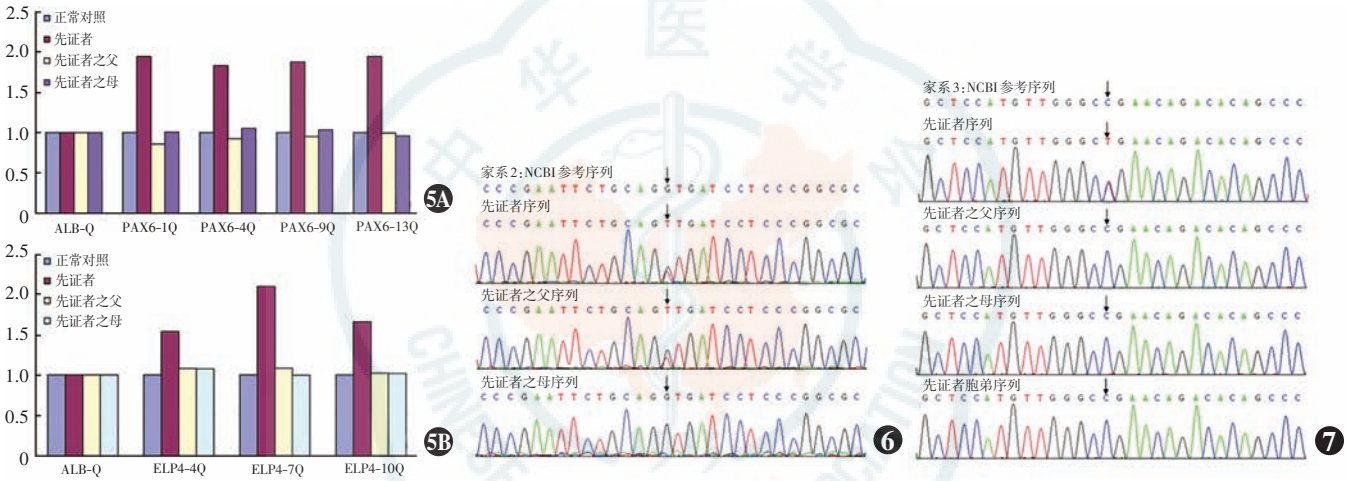

图 5　家系 1 先证者 *PAX6* 和 *ELP4* 基因定量 PCR 结果　A:先证者 *PAX6* 基因第 1、4、9、13 外显子的拷贝数与正常对照及其正常父母的比值约为 2.0,提示先证者 *PAX6* 基因第 1~13 外显子存在双倍重复　B:先证者 *ELP4* 基因第 4、7、10 外显子的拷贝数与正常对照及其正常父母的比值约为 1.5,提示先证者 *ELP4* 基因第 4~10 外显子存在单倍重复　**图 6　家系 2 Sanger 测序图**　家系 2 先证者及其父亲检出 c.141+1G>T 变异,先证者母亲未检出变异　**图 7　家系 3 Sanger 测序图**　先证者检出 c.949>T(p.Arg317*)变异,先证者父母及其胞弟均未检出变异

3　讨论

先天性无虹膜常见的临床表型包括虹膜缺失和眼球震颤,具有显著的表型异质性和基因异质性,其临床表型谱包括虹膜缺损或发育不全、小眼球/小角膜、中央型角膜混浊、房角/晶状体异常、视盘发育异常/缺损、中心凹发育不全、眼球震颤等。先天性无虹膜 25%~30% 的病例可以发现染色体的异常,常见于 11p13 染色体部分缺失[7];致病突变发现 10 余个结构基因,其中最重要的是位于 11 号染色体 11p13 区的 *PAX6* 基因,其单倍剂量不足是主要的致病机制。目前人类 *PAX6* 基因突变数据库中已报道变异 472 种(截至 2017 年 7 月),其中常见的变异包括错义突变、缺失突变和重复突变,分别占 71%、18% 和 7%;蛋白结构改变则以无义突变、框移突变及错义突变常见(http://lsdb.hgu.mrc.ac.uk/home.php?select_db=*PAX6*);然而关于基因重复拷贝数的变异报道较少。此外,*PAX6* 结构基因上、下游的调控序列片段丢失也可以引起先天性无虹膜[8],如上游的 *WT1*、*HIPK3*、*LMO2*、*EHF*、*CD44*、*RCN1* 基因和下游的 *ELP4*、*DPH4*、*DCDC1*、*MPPED2*、*IMMP1L* 基因缺失[9-10]。*ELP4* 基因位于与 *PAX6* 基因毗邻的 3’端,属于下游的转录调控元件[11],其编码的 elp4 蛋白构成了组蛋白乙酰转移酶并与 RNA 聚合酶Ⅱ结合,介导转录的 RNA 的延伸[12],*ELP4* 基因突变可以导致 *PAX6* 增强子功能紊乱,影响 *PAX6* 的转录效率[11]。

家系 1 先证者存在 11p13 区拷贝数变异,此区域的 *PAX6* 与 *ELP4* 基因重复变异可能是致病变异。目前单倍剂量不足被认为是 *PAX6* 的致病机制,而其表达过量致病的报道较少[6],Schedl 等[13]报道在 *PAX6* 敲除的小鼠模型中导入人 *PAX6* 染色体片段,可以消除 *PAX6* 缺陷所致无虹膜综合征(虹膜重度缺损、角膜中央混浊及小眼畸形),而双倍导入则出现小眼畸形(虹膜无缺损),表明 *PAX6* 转录和调控上调也可以导

中华医学会杂志社 版权所有 Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

致眼部发育的异常；Manuel 等[14]认为 *PAX6* 表达上调虽然对眼的初期形成和主要的细胞类型无明显影响，但在胚胎 14.5 周后阻止视网膜的正常发育可致先天性小眼球、视网膜发育不全和神经节细胞缺损。Aradhya 等[15]报道了 1 例完整 *PAX6* 基因重复病例，其临床表型包括新生儿癫痫、肌张力减退、小头畸形和发育迟缓，眼部无异常表现；Schilter 等[16]报道了 1 例 11p13 区的重复变异，包含 *ELP4*、*PAX6*、*DKFZp686K1684*、*RCN1*、*WT1*、*WT1-AS* 基因，临床表型包括先天性小眼球、先天性白内障、青光眼、视网膜脱离和视神经发育不良等，其他体征包括小头畸形、张力减退、运动迟缓、垂体发育不良等。目前已有数例 *ELP4* 缺失突变的报道，患者临床表现为完全性无虹膜、白内障或伴发青光眼[17-18]，但尚无重复突变的报道。本研究中家系 1 先证者的重复区包含 *PAX6* 与 *ELP4* 基因，主要表现为水平钟摆样眼球震颤、小角膜/小眼球、虹膜发育不良、瞳孔上方移位；通过临床表型的对比，*PAX6* 重复变异具有较特殊的临床表现，先天性小眼球、视网膜发育不全较常见，而典型虹膜的缺损未见报道，与 *PAX6* 单倍剂量不足的临床特征具有明显差异。

既往关于先天性无虹膜的家系国内已有报道[19-20]，c.949 C>T 无义变异是 *PAX6* 变异频率高的位点之一，几乎所有病例均以完全性无虹膜为主要特征，大部分患者有黄斑发育不全和眼球震颤，此外，白内障、青光眼、角膜混浊也较为频发，表型异质性较明显；已报道的 2 例 c.141+1 G>T 剪切变异病例中，1 例表现为完全性无虹膜、角膜混浊、青光眼、白内障、黄斑发育不良[21]；另 1 例表现为经典无虹膜。

综上所述，本研究结果表明位于 11p13 区（chr11：31531331-31827959）的 *PAX6* 和 *ELP4* 重复突变具有先天性小眼球、视网膜发育不全的特征，虹膜异常的表型较轻微，与 *PAX6* 剂量不足所致的典型无虹膜相区别。本研究结果增加了先天性无虹膜的突变频谱，丰富了对 *PAX6* 异常表达特征的认识。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Nelson LB, Spaeth GL, Nowinski TS, et al. Aniridia. A review[J]. Surv Ophthalmol, 1984, 28(6): 621-642.

[2] Shaham O, Menuchin Y, Farhy C, et al. Pax6: a multi-level regulator of ocular development[J]. Prog Retin Eye Res, 2012, 31(5): 351-376. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2012.04.002.

[3] 曾光群，刘昊天，张丁丁. 先天性无虹膜相关基因的研究进展[J]. 眼科新进展，2016，36(1)：84-88. DOI：10.13389/j.cnki.rao.2016.0024.
Zeng GQ, Liu HT, Zhang DD. Research advances in gene study of congenital aniridia[J]. Rec Adv Ophthalmol, 2016, 36(1): 84-88. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2016.0024.

[4] Cheng F, Song W, Kang Y, et al. A 556 kb deletion in the downstream region of the *PAX6* gene causes familial aniridia and other eye anomalies in a Chinese family[J]. Mol Vis, 2011, 17: 448-455.

[5] Zhang X, Qin G, Chen G, et al. Variants in *TRIM44* cause aniridia by impairing *PAX6* expression[J]. Hum Mutat, 2015, 36(12): 1164-1167. DOI: 10.1002/humu.22907.

[6] 李杨. 先天性无虹膜症 *PAX6* 基因突变分析中应重视大片段缺失的检测[J]. 国际眼科纵览，2013，37(1)：1-4. DOI：10.3760/cma.j.issn.1673-5803.2013.01.001.
Li Y. The interest of large deletions screening in the *PAX6* gene mutations analysis in aniridia[J]. Int Rev Ophthalmol, 2013, 37(1): 1-4. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-5803.2013.01.001.

[7] Robinson DO, Howarth RJ, Williamson KA, et al. Genetic analysis of chromosome 11p13 and the *PAX6* gene in a series of 125 cases referred with aniridia[J]. Am J Med Genet A, 2008, 146A(5): 558-569. DOI: 10.1002/ajmg.a.32209.

[8] 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.

[9] Wawrocka A, Budny B, Debicki S, et al. *PAX6* 3' deletion in a family with aniridia[J]. Ophthalmic Genet, 2012, 33(1): 44-48. DOI: 10.3109/13816810.2011.615076.

[10] Hu P, Meng L, Ma D, et al. A novel 11p13 microdeletion encompassing *PAX6* in a Chinese Han family with aniridia, ptosis and mental retardation[J]. Mol Cytogenet, 2015, 8(1): 3. DOI: 10.1186/s13039-015-0110-2.

[11] Kleinjan DA, Seawright A, Schedl A, et al. Aniridia-associated translocations, DNase hypersensitivity, sequence comparison and transgenic analysis redefine the functional domain of *PAX6*[J]. Hum Mol Genet, 2001, 10(19): 2049-2059. DOI: 10.1093/hmg/10.19.2049.

[12] Davis LK, Meyer KJ, Rudd DS, et al. Pax6 3' deletion results in aniridia, autism and mental retardation[J]. Hum Genet, 2008, 123(4): 371-378. DOI: 10.1007/s00439-008-0484-x.

[13] Schedl A, Ross A, Lee M, et al. Influence of *PAX6* gene dosage on development: overexpression causes severe eye abnormalities[J]. Cell, 1996, 86(1): 71-82. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80078-1.

[14] Manuel M, Pratt T, Liu M, et al. Overexpression of Pax6 results in microphthalmia, retinal dysplasia and defective retinal ganglion cell axon guidance[J]. BMC Dev Biol, 2008, 8: 59. DOI: 10.1186/1471-213X-8-59.

[15] Aradhya S, Smaoui N, Marble M, et al. De novo duplication 11p13 involving the PAX6 gene in a patient with neonatal seizures, hypotonia, microcephaly, developmental disability and minor ocular manifestations[J]. Am J Med Genet A, 2011, 155A(2): 442-444. DOI: 10.1002/ajmg.a.33814.

[16] Schilter KF, Reis LM, Schneider A, et al. Whole-genome copy number variation analysis in anophthalmia and microphthalmia[J]. Clin Genet, 2013, 84(5): 473-481. DOI: 10.1111/cge.12202.

[17] 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.

[18] Zhang X, Zhang Q, Tong Y, et al. Large novel deletions detected in Chinese families with aniridia: correlation between genotype and phenotype[J]. Mol Vis, 2011, 17: 548-557.

[19] 张陆希，杨鸽，贾竞，等. 中国一先天性无虹膜家系的遗传分析及 *PAX6* 基因突变位点的检测[J]. 中华实验眼科杂志，2017，35(8)：721-725. DOI：10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.08.011.
Zhang LX, Yang G, Jia J, et al. Genetic analysis of a Chinese family with congenital aniridia and detection of *PAX6* mutation locus[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2017, 35(8): 721-725. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.08.011.

[20] 郝朋，应铭，韩瑞芳，等. 先天性无虹膜患者 *Pax6* 基因突变筛查[J]. 中华实验眼科杂志，2016，34(10)：900-904. DOI：10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.10.007.
Hao P, Ying M, Han RF, et al. Mutation analysis of *Pax6* in Chinese patients with congenital aniridia[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34(10): 900-904. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.10.007.

[21] Yokoi T, Nishina S, Fukami M, et al. Genotype-phenotype correlation of PAX6 gene mutations in aniridia[J]. Hum Genome Var, 2016, 3: 15052. DOI: 10.1038/hgv.2015.52.

（收稿日期：2019-05-14　修回日期：2019-09-29）

（本文编辑：刘艳）

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?