

易误诊为弱视的遗传性视网膜疾病基因型及表型分析

綦瑞 朱金燕 王晓光 庄文娟 盛迅伦

宁夏回族自治区人民医院 宁夏眼科医院 西北民族大学第一附属医院 宁夏致盲性眼病临床医学研究中心, 银川 750002

通信作者: 盛迅伦, Email: shengxunlun@163.com

【摘要】 **目的** 分析临床上易误诊为弱视的遗传性视网膜疾病(HRD)患者的基因型及其与表型的关系。**方法** 采用病例-对照研究设计。收集 2017 年 1—12 月就诊于宁夏眼科医院曾误诊为弱视的 HRD 患者,详细询问并记录患者及其家系成员的病例资料,绘制家系图谱,完善相关眼科检查。采集患者及其家系成员的外周静脉血 5 ml 并提取 DNA。应用目标序列捕获测序技术对患者血清进行基因检测,通过 Sanger 测序和共分离验证,确定致病性突变位点。综合基因检测结果和相关眼科检查,分析患者基因型及其与临床表型的关系。**结果** 共收集到 HRD 患者 22 例,包括 Stargardt 病(STGD)10 例、视锥细胞营养不良(COD)或视锥视杆细胞营养不良(CRD)8 例和家族性渗出性视网膜玻璃体病变(FEVER)5 例。共 9 例患者检测到致病基因突变,阳性率为 40.9%。4 例 STGD 患者携带致病基因,涉及 *ABCA4* 基因和 *PROM1* 基因;3 例 COD 或 CRD 患者分别检测到 *RPGR*、*PROM1* 和 *GUCY2D* 基因突变;2 例 FEVER 患者携带 *TSPAN12* 基因突变。共检测到 11 个突变位点,其中 4 个为新发现的突变位点。9 个 HRD 家系的患者中,均于青少年时期发病,发病初期即有严重的视力损害,但眼底表现正常或仅有轻微异常改变,随着病情进展,眼底改变具有特征性,部分疾病之间存在临床表型重叠现象,所有家系基因型及临床表型均发生共分离。**结论** STGD 主要致病基因为 *ABCA4* 基因,*PROM1* 基因也可引起部分性 STGD;COD 与 CRD 临床表现相似,致病基因也互有交叉,遗传方式多样;*TSPAN12* 基因突变导致的 FEVER 呈常染色体显性遗传,突变类型有错义突变、移码突变等。HRD 早期缺乏典型的临床体征,基因诊断可以提供症状前诊断。

【关键词】 遗传性视网膜疾病; 基因型; 临床表型

基金项目: 国家自然科学基金项目(81760180、81460093)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.11.008

Analysis of genotype and phenotype of hereditary retinal diseases which are easily misdiagnosed as amblyopia

Qi Rui, Zhu Jinyan, Wang Xiaoguang, Zhuang Wenjuan, Sheng Xunlun

Department of Ophthalmology, Ningxia Eye Hospital, People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, First Affiliated Hospital of Northwest University for Nationalities, Ningxia Clinical Research Center on Diseases of Blindness in Eye, Yinchuan 750002, China

Corresponding author: Sheng Xunlun, Email: shengxunlun@163.com

【Abstract】 **Objective** To analysis the genotype and phenotype of hereditary retinal diseases (HRD) which are easily misdiagnosed as amblyopia. **Methods** A case-control study was designed. The patients with HRD who were misdiagnosed as amblyopia in Ningxia Eye Hospital from January to December, 2017 were recruited in this study. The clinical medical history and ophthalmic examinations of patients and their family members were recorded, and family maps were drawn. Peripheral venous blood (5 ml) from each patient and their family members was collected, and genomic DNA was extract. The target sequence capture sequencing technology was used to detect the genetic testing in serum of the patient, and the pathogenic mutation site was determined by Sanger sequencing and co-segregation verification. Genetic testing results with related ophthalmic examination were considered together to analyze the relationship between genotype and phenotype. This study followed the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from each subject or the guardian prior to entering study cohort. This study protocol was approved by Ethic Committee of People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region Hospital (No. 2016018).

Results Twenty-two patients with HRD were enrolled in the study, including 10 Stargardt disease (STGD), 8 cases of cone dystrophy (COD) or cone and rod dystrophy (CRD), and 5 cases of familial exudative vitreoretinopathy (FEVER). Nine patients were detected to have pathogenic mutations, and the positive rate was 40.9%, of which 4 patients with STGD carried mutation gene, including *ABCA4* and *PROM1* genes; mutations in *RPGR*, *PROM1* and *GUCY2D* genes were detected in 3 patients with COD or CRD; *TSPAN12* gene mutation were detected in 2 patients with FEVER. Eleven mutation sites were detected, 4 of which were newly discovered mutation sites. All of the patients

in 9 HRD families developed symptoms during adolescence. At the early stage of the disease, there was severe damage to the eyesight, but the fundus was normal or only slightly abnormal. As the disease progressed, the fundus changes were characteristic, and there were clinical phenotypic overlap between some diseases. All family genotypes and clinical phenotypes were co-separated. **Conclusions** The main pathogenic gene of STGD is *ABCA4* gene, and *PROM1* gene can also cause partial STGD; COD and CRD have similar clinical manifestations, and the pathogenic genes also cross each other, and the genetic pattern is diverse; FEVER caused by mutation of *TSPAN12* gene is autosomal dominant, and the mutation type has missense mutation and frameshift mutation. HRDs lack typical early clinical signs, and genetic diagnosis can provide pre-symptomatic diagnosis.

[Key words] Hereditary retinal disease; Genotype; Phenotype

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81760180, 81460093)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.11.008

遗传性视网膜疾病 (hereditary retinal disease, HRD) 是临床上较常见且视力损害严重的一类遗传性眼病, 已成为国内外儿童及青少年难治性盲的主要病因。据统计, 发达国家约一半的儿童盲是由 HRD 造成的, 中国因 HRD 导致的儿童盲及严重视力损害约占 1/3, 而且有逐年升高的趋势^[1]。HRD 具有复杂多样且交互重叠的临床表型, 其高度的临床异质性以及儿童眼科检查的局限性都给临床诊断增加了一定的难度, 尤其是一些 HRD 患者早期缺少典型的临床体征, 易被漏诊或误诊为弱视。常见的易被误诊为弱视的 HRD 包括 Stargardt 病 (Stargardt disease, STGD)、视锥细胞营养不良 (cone dystrophy, COD)、视锥视杆细胞营养不良 (cone and rod dystrophy, CRD) 及家族性渗出性玻璃体视网膜病变 (familial exudative vitreoretinopathy, FEVER) 等。将基因检测用以辅助 HRD 的临床及优生辅助诊断已成为国际眼科研究的主要热点之一^[2], 但将其作为常规的临床检测项目推广应用还有实际困难, 主要原因是大量未知的致病基因尚未被发现、HRD 较强的遗传异质性决定了相同基因的不同突变可以引起不同疾病, 以及罕见的基因变异与 HRD 的关系尚不完全清楚。本研究旨在通过基因检测对曾误诊为弱视的 HRD 患者进行致病基因筛查, 同时结合患者临床表型分析, 探讨基因型及其与表型间的关系, 以提高对此类疾病的诊疗水平。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用病例-对照研究设计。收集 2017 年 1—12 月就诊于宁夏眼科医院曾误诊为弱视的 HRD 患者 22 例作为研究对象, 选取同期在宁夏眼科医院体检且与上述患者无血缘关系的健康人 300 人作为对照。本研究方案遵循赫尔辛基宣言, 所有纳入的研究对象或未成年患儿监护人均被告知本研究目的及流程, 并签署由宁夏回族自治区人民医院伦理委员会批准的遗传性眼

病知情同意书。本研究方案经宁夏回族自治区人民医院伦理委员会审核批准 (批文号: 2016018)。

1.2 临床表型的确定

完善所有患者及其家庭成员的相关眼科检查, 包括裂隙灯显微镜检查、间接检眼镜检查、裸眼视力 (uncorrected visual acuity, UCVA)、最佳矫正视力 (best corrected visual acuity, BCVA)、视野检查、彩色眼底照相、频域光相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT)、荧光素眼底血管造影 (fundus fluorescein angiography, FFA) 及视网膜电图 (electroretinogram, ERG) 等检查。详细询问并记录患者现病史、既往史、个人史、家族史及婚育史, 绘制家系图。涉及相关 HRD 诊断标准参照文献 [3-5] (STGD^[3]、COD^[4]、CRD^[4]、FEVER^[5])。

1.3 方法

采集受检者外周静脉血各 5 ml, 应用 Qiamp Blood Mini Kit DNA 提取试剂盒 (德国 Qiagen 公司) 提取基因组 DNA。研究所应用的目标序列捕获芯片包括 232 个由 RetNet 网站 (<https://sph.uth.edu/RETNET>) 所公布的 HRD 已知致病基因, 针对已知的致病基因及突变位点定制特异性的寡核苷酸探针, 通过 Applied Biosystems (ABI) (美国 Applied Biosystems 公司) 的 Agilent SureSelect 外显子靶向序列富集系统对目标基因组区域进行液相捕获, 并将捕获的 DNA 文库通过 Illumina HiSeqTM2000 平台 (美国 Illumina 公司) 对基因目标序列进行 2×100 bp 的双端测序, 获得原始的测序数据。将高通量二代测序结果应用 Burrows Wheeler Aligner (BWA version 0.6.1, <http://bio-bwa.sourceforge.net/>) 软件与 UCSC 人类基因组对照序列 hg19 完成比对, 并运用 Genome Analysis Tool Kit (GATK version 1.0.5974) 工具对获得的测序结果进行校准及完善。将检测获得的 DNA 序列变异信息与单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 数据库进行比对过滤, 应用 ANNOVAR (<http://annovar.openbioinformatics>).

org/) 软件对剩余的突变基因进行蛋白质的改变预测,剔除同义突变,利用专业版人类基因突变数据库进行基因位点检索获得候选致病突变位点,筛选出的所有候选致病突变位点经 Sanger 验证以排除假阳性,并在全部家系成员中验证是否与临床表型呈现共分离,最终确定致病基因突变位点。

2 结果

2.1 STGD 患者的基因型及表型分析

共收集到 STGD 先证者 10 例,包括 7 个家系及 3 例散发患者,有 4 例基因检测结果为阳性,其中 3 例为 *ABCA4* 基因突变,1 例为 *PROM1* 基因突变,检测到 6 个突变位点,其中 1 个为新发现的移码突变。STGD 先证者基因检测结果及临床资料见表 1,2。

S01 家系先证者(II 1)及其胞弟(II 2)均于青少年期发病,双眼视力低下,均首诊为弱视,色觉检查示红绿色弱。先证者父母(I 1、I 2)临床表型正常,否认近亲结婚家族史。II 1 双眼裸眼视力 0.12,矫正均无助。II 1 及 II 2 眼底检查可见双眼黄斑区色素紊乱;OCT 检查提示双眼黄斑区神经上皮层明显变薄,视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)层不规则反射;FFA 检查可见双眼黄斑部椭圆形透见荧光灶,脉络膜淹没征阳性(图 1)。二代测序及 Sanger 测序证实 II 1 及 II 2 均携带 *ABCA4* 基因的 p. F2188S 及 p. R2040X 复合杂合性突变,先证者父亲(I 1)携带 p. R2040X 杂合性错义突变,先证者母亲(I 2)携带 p. F2188S 杂合性无义突变(图 2),符合常染色体隐性遗传(autosomal recessive inheritance, AR)。结合 II 1、II 2 的基因检测结果及临床表型分析,诊断为 STGD。

2.2 COD 和 CRD 患者的基因型及表型分析

共收集到 8 例临床表型为 COD 或 CRD 的先证者,其中有 3 例检测到致病基因突变,包括 *RPGR*、*PROM1* 和 *GUCY2D* 基因突变各 1 例。共检测到 3 个突变位点,其中 1 个为新发现的突变位点。基因检测

表 1 STGD 先证者基因检测结果

患者	染色体	位置	核苷酸改变	蛋白质改变	突变基因	突变类型	遗传方式	相关疾病
S01	chr 1	94463583	c. T6563C	p. F2188S	<i>ABCA4</i>	错义突变	AR	STGD
	chr 1	94471026	c. C6118T	p. R2040X	<i>ABCA4</i>	无义突变		
S02	chr 1	94497392	c. C4070T	p. A1357V	<i>ABCA4</i>	错义突变	AR	STGD
S03	chr 4	16026900	c. 544dupC	p. Q182fs	<i>PROM1</i>	移码突变*	AR	STGD
S04	chr 1	94466655	c. C6289T	p. P2097S	<i>ABCA4</i>	错义突变	AR	STGD
	chr 1	94512499	c. A2894G	p. N965S	<i>ABCA4</i>	错义突变		

注:STGD:Stargardt 病;AR:常染色体隐性遗传 * :新发现的突变位点

表 2 STGD 先证者临床资料

患者	发病年龄(岁)	裸眼视力		矫正视力		色觉	ERG		相关疾病
		右眼	左眼	右眼	左眼		暗适应	明适应	
S01	11	0.12	0.12	0.12	0.12	红绿色弱	轻度下降	重度下降	STGD
S02	13	0.1	0.12	0.1	0.12	正常	轻度下降	轻度下降	STGD
S03	5	0.25	0.15	0.3	0.2	红绿色盲	正常	轻度下降	STGD
S04	14	0.2	0.02	0.8	0.04	正常	正常	正常	STGD

注:STGD:Stargardt 病;ERG:视网膜电图

结果及临床资料见表 3,4。

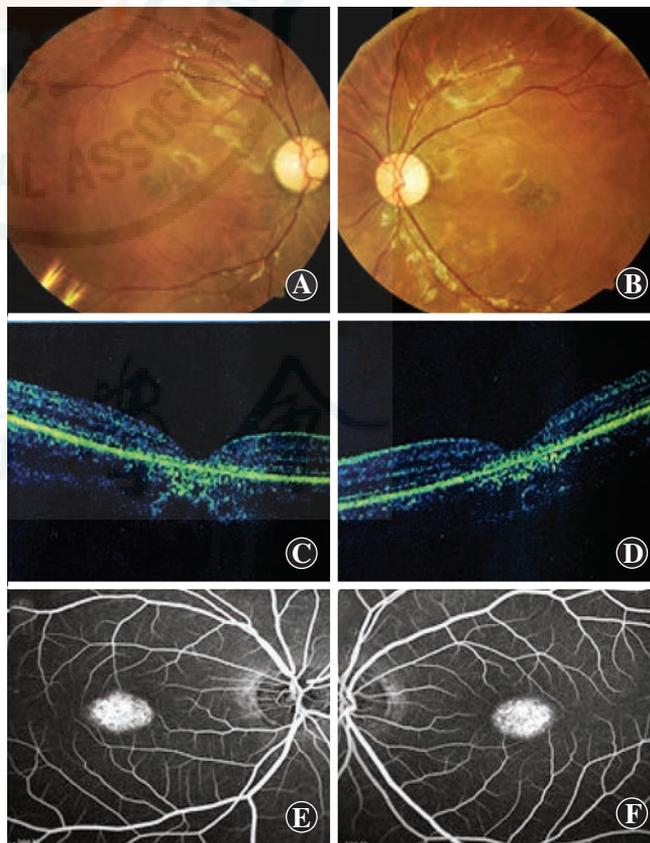


图 1 STGD 患者(S01 家系)眼底影像学检查 A、B:彩色眼底照相示双眼黄斑区色素紊乱(A:右眼 B:左眼) C、D:黄斑 OCT 检查示双眼黄斑区神经上皮层明显变薄,RPE 层不规则反射(C:右眼 D:左眼) E、F:FFA 检查示双眼黄斑部椭圆形透见荧光灶,脉络膜淹没征阳性(E:右眼 F:左眼)

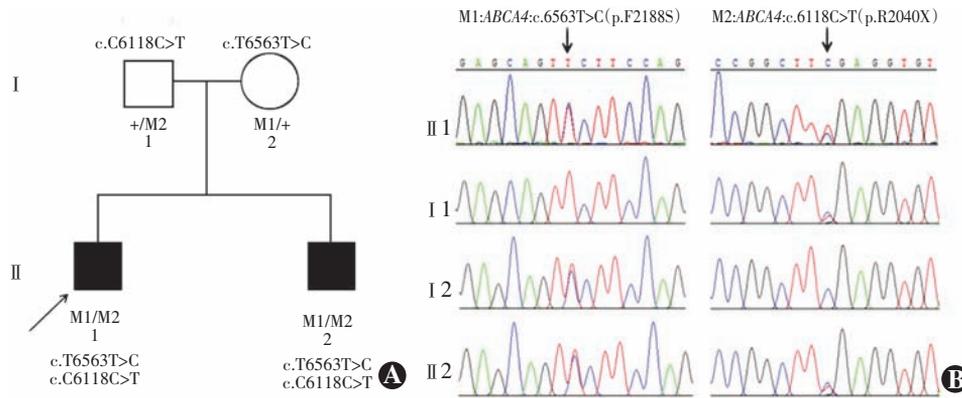


图 2 S01 家系图及基因检测图 A: 家系图 B: 基因检测图 I1、I2 携带同一基因不同位点的杂合性突变, II1、II2 携带该基因位点的复合杂合性突变, 突变位点为 M1: ABCA4 基因 c. T6563T>C (p. F2188S) 突变; M2: ABCA4 基因 c. C6118C>T (p. R2040X) 突变 □: 正常男性 ○: 正常女性 ■: 患病男性 ↗: 先证者

表 3 COD 和 CRD 先证者基因检测结果

患者	染色体	位置	核苷酸改变	蛋白质改变	突变基因	突变类型	遗传方式	相关疾病
C01	chr X	38145221	c. G3031T	p. G1011X	RPGR	无义突变*	XLR	COD
C02	chr4	15985881	c. 2373+5G>T	—	PROM1	剪切突变	AR	CRD
C03	chr17	7918019	c. G2513A	p. R838H	GUCY2D	错义突变	AD	COD

注: COD: 视锥细胞营养不良; CRD: 视锥视杆细胞营养不良; XLR: X 连锁隐性遗传; AR: 常染色体隐性遗传; AD: 常染色体显性遗传 * : 新发现的突变位点

表 4 COD 和 CRD 先证者临床资料

患者	发病年龄 (岁)	首发症状	裸眼视力		矫正视力		色觉	ERG			相关疾病
			右眼	左眼	右眼	左眼		暗适应	明适应	夜盲	
C01	6	视力下降、畏光	0.12	0.02	0.8	0.1	红绿色弱	基本正常	重度下降	无	COD
C02	15	视力下降、畏光	0.04	数指 /20 cm	0.04	数指 /20 cm	全色盲	重度下降	熄灭	有	CRD
C03	9	视力下降	0.1	0.1	0.12	0.12	红绿色盲	中度下降	重度下降	有	CRD

注: COD: 视锥细胞营养不良; CRD: 视锥视杆细胞营养不良; ERG: 视网膜电图

C01 家系先证者(II2), 23 岁, 左眼自幼视力差, 曾于外院诊断为“左眼屈光性弱视”, 欲行屈光矫治手术治疗于宁夏眼科医院就诊。眼科检查: 裸眼视力右眼 0.1, -9.00 DS-4.25 DC×175° = 0.8; 左眼 0.02, -10.00 DS -3.50 DC×15° = 0.04。内斜视, 角膜荧光+15°。裂隙灯显微镜检查过程中发现患者严重畏光, 患者否认夜盲病史, 色觉检查示红绿色弱。扩瞳后查眼底见双眼视盘颞侧苍白, 视网膜血管变细, 黄斑区色素紊乱, 呈金箔样反光; OCT 检查示黄斑中心凹处厚度变薄, RPE

层萎缩; FFA 检查示双眼黄斑区可见点状强荧光, 左眼较重(图 3)。ERG 检查提示视锥细胞反应重度下降, 视杆细胞反应基本正常。家系其他成员临床表型均正常, 基因检测发现 II2 患者 X 染色体上携带 RPGR 基因 p. G1011X (c. G3031G>T) 无义突变, 该突变基因来源于母亲(I2), 父亲(I1)及胞兄(II1)的 X 染色体上未发现该突变位点(图 4)。该家系基因型及临床表型发生共分离, 符合 X 染色体连锁

2.3 FEVER 患者的基因型及表型分析

共收集到 FEVER 先证者 5 例, 包括 4 个家系和 1 例散发患者, 2 例检测出致病基因突变, 阳性率为 40.0%, 均为 TSPAN12 基因突变, 共检测到 2 个突变位点, 其中 c. C543G 为新发现的错义突变, c. 14_15insAAGA 为新发现的移码突变。基因检测结果及临床资料见表 5, 6。

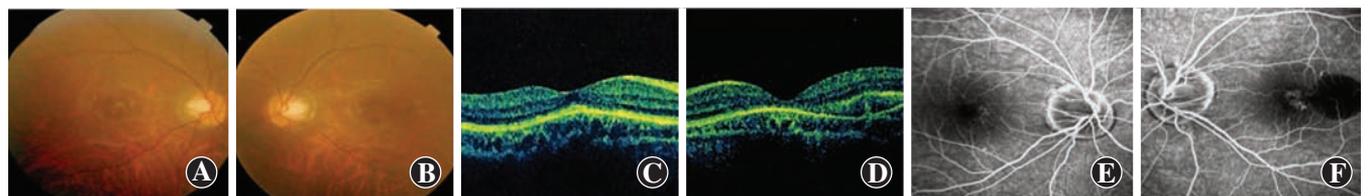


图 3 COD 患者(C01 家系)眼底影像学检查 A、B: 彩色眼底照相示双眼视盘颞侧苍白, 视网膜血管变细, 黄斑区色素紊乱, 呈金箔样反光(A: 右眼 B: 左眼) C、D: 黄斑 OCT 检查示黄斑中心凹处厚度变薄, RPE 层萎缩(C: 右眼 D: 左眼) E、F: FFA 检查示双眼黄斑区可见点状强荧光, 左眼较重(E: 右眼 F: 左眼)

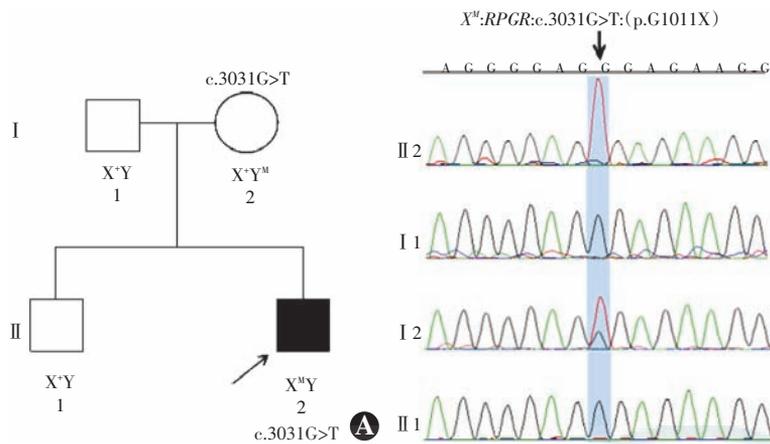


图 4 C01 家系图及基因测序图 A:家系图 B:基因测序图 I 1、II 1 基因型正常, I 2、II 2 均携带 X 染色体突变, 突变位点为 X^M:RPGR 基因 c.3031G>T(p. G1011X) 突变 □:正常男性 ○:正常女性 ■:患病男性 ↗:先证者

表 5 FEVER 先证者基因检测结果

患者	染色体	位置	核苷酸改变	蛋白质改变	突变基因	突变类型	遗传方式	相关疾病
F01	Chr 7	120446672	c. C543G	p. C181W	TSPAN12	错义突变*	AD	FEVER
F02	Chr 7	120496803	c. 14_15insAAGA	p. D5fs	TSPAN12	移码突变*	AD	FEVER

注:FEVER:家族性渗出性玻璃体视网膜病变;AD:常染色体显性遗传 * :新发现的突变位点

表 6 FEVER 先证者临床资料

患者	发病年龄 (岁)	首发症状	裸眼视力		矫正视力		色觉	ERG		相关疾病
			右眼	左眼	右眼	左眼		暗适应	明适应	
F01	5	视力下降、视物外斜	0.01	数指/10 cm	0.01	数指/10 cm	轻度红绿色盲	中度下降	重度下降	FEVER
F02	6	视力低下	0.4	0.12	0.8	0.12	正常	轻度下降	轻度下降	FEVER

注:FEVER:家族性渗出性玻璃体视网膜病变;ERG:视网膜电图

F02 家系先证者 (II 2), 18 岁, 左眼自幼视物不清, 有轻度红绿色盲, 无近亲结婚家族史。外院诊断为“左眼屈光性弱视”, 戴镜联合弱视训练治疗十余年, 视力无改善, 欲行屈光矫治手术于宁夏眼科医院就诊。

均携带 p. D5fs 杂合性移码突变, 而先证者父亲 (I 1) 临床表型正常, 未发现该基因位点的改变。家系图及基因测序结果 (图 6), 提示 F02 家系遗传方式为常染色体显性遗传。结合 II 2 的临床表型最终诊断为 FEVER 2 期。

裸眼视力右眼 0.4, -1.25 DS -1.75 DC × 15° = 0.8; 左眼 0.12, 矫正无助。扩瞳后查眼底可见双眼后极部血管走行稍异常, 左眼视网膜颞侧可见变性区及多发的裂孔, 伴颞侧周边视网膜浅脱离; 黄斑 OCT 检查未见结构明显异常; FFA 示左眼血管在赤道部附近终止, 无血管区与正常视网膜间形成明显的嵴样分界, 周边血管分支繁多, 呈毛刷状改变, 上、下血管弓之间向颞侧偏斜, 黄斑向颞下方牵拉移位, 血管末端部分动静脉异常吻合, 伴新生血管生成, 视网膜可见荧光素渗出病灶 (图 5)。ERG 检查提示暗适应及明适应轻度降低。先证者母亲 (I 2) 及胞姐 (II 1) 视力均有不同程度损害, 但均未曾诊治。I 2、II 1、II 2 的 TSPAN12 基因上

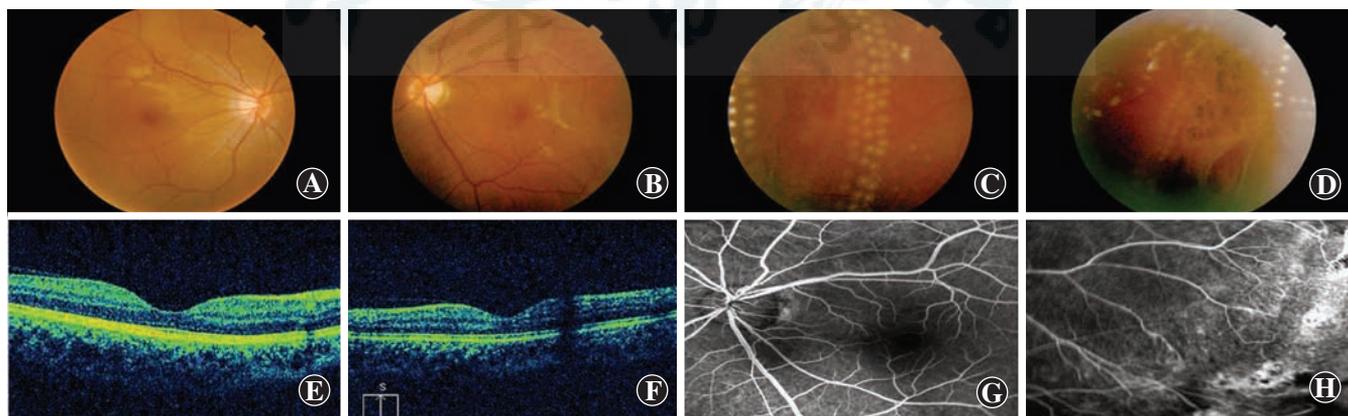


图 5 FEVER 患者 (F02 家系) 眼底影像学检查 A、B:彩色眼底照相示双眼后极部血管走行异常 (A:右眼 B:左眼) C、D:彩色眼底照相示左眼视网膜周边可见变性区及多发裂孔, 裂孔周边激光斑灶明确 (C:右眼 D:左眼) E、F:黄斑 OCT 检查示双眼黄斑区结构未见明显异常 (E:右眼 F:左眼) G、H:FFA 示血管在赤道部附近终止, 无血管区与正常视网膜间形成明显的嵴样分界, 周边血管分支繁多, 呈毛刷样改变, 上、下血管弓之间向颞侧偏斜, 黄斑部向颞下方牵拉移位, 血管末端部分动静脉异常吻合, 伴新生血管生成, 视网膜可见荧光素渗出病灶 (G:右眼 H:左眼)

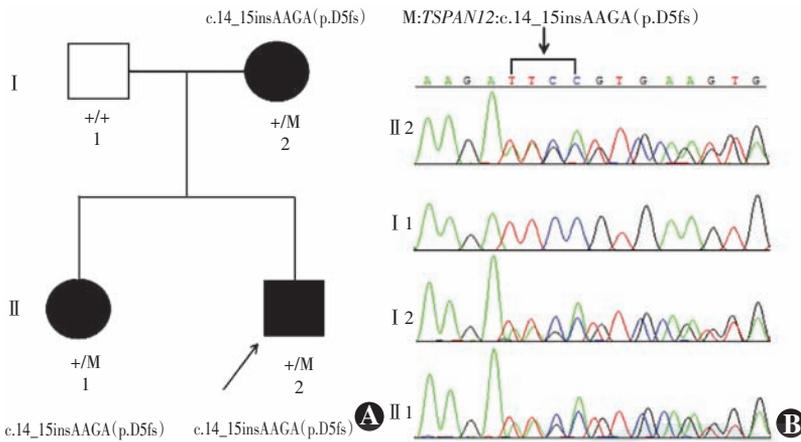


图 6 F02 家系图及基因检测图 A: 家系图 B: 基因检测结果 I 1 基因型正常, I 2、II 1、II 2 均携带常染色体杂合性突变, 突变位点为 M: *TSPAN12* 基因 c. 14_15insAAGA (p. D5fs) □: 正常男性 ■: 患病男性 ●: 患病女性 ↗: 先证者

3 讨论

本研究中对 22 例曾误诊为弱视的 HRD 患者进行致病基因筛查, 共 9 例患者检测到致病基因突变, 阳性率为 40.9%, 包括 STGD 4 例、COD 1 例、CRD 2 例和 FEVER 2 例, 共检测到 11 个突变位点, 其中 4 个为新发现的突变位点。

STGD 是原发于 RPE 层的遗传性黄斑营养不良性疾病, 在全球的发病率为 1/10 000~1/8 000, 发病年龄多在 6~12 岁, 是青少年和成人常见的黄斑营养不良类型^[3]。既往研究发现, 约 95% 的 STGD 患者是由 *ABCA4* 基因突变引起的, 迄今在 *ABCA4* 基因的编码区已发现 1 000 多个不同突变位点, 也形成了众多的表型, 除 STGD 外, 还可引起 AR 的 CRD、视网膜色素变性和年龄相关性黄斑变性等 HRD 的发生^[6-8], 另外少数 STGD 或“STGD-like”表型病也与 *PROM1*、*ELOVL4*、*PRPH2* 和 *VMD2* 等基因型的突变有关^[9]。本研究中有 4 个 STGD 家系检测到致病基因突变, 其中 S01、S02、S04 家系检测到 *ABCA4* 基因致病突变, S01 先证者携带 *ABCA4* 基因的 c. T6563T>C 和 c. C6118C>T 复合杂合性突变; S02 先证者携带 c. C4070C>T 纯合突变; S04 先证者则携带 c. C6289C>T 和 c. A2894A>G 复合杂合性突变; 而 S03 先证者基因检测到 *PROM1* 基因 p. Q182fs 移码纯合突变。基因检测结果确定 S01、S02 和 S04 家系的遗传方式均为 AR。

STGD 患者在发病早期就可出现中心视力的明显下降, 但眼底检查可表现为正常, 即眼底检查情况与视力下降程度往往不相吻合, 表现为症状重、体征轻, 所以容易被误诊为弱视。随着病情发展, 患者黄斑区可出现 RPE 层黄白色斑点状沉着物, 最后逐渐发展成黄

斑周围边界清楚的点状萎缩灶, 此时又极易与其他黄斑营养不良类疾病相混淆。因此, 通过基因检测明确致病基因突变位点可以为本病的早期诊断提供可靠的依据。

COD 和 CRD 是一类具有相似临床表型及遗传特点的 HRD, 发病率为 1/100 000~1/20 000^[10-11]。这类 HRD 首先表现为视锥细胞功能的异常, 随后视杆细胞功能也会出现不同程度的异常, 临床表型异质性较强。发病年龄多在 10 岁以内或 10~20 岁, 患者表现为双眼进行性视力下降, 可伴获得性色觉障碍及畏光症状, 视野检查有中心暗点, 部分患者还伴有眼球震颤^[4]。如果仅凭临床表型很难鉴别单纯的 COD 和 CRD, 随着病情

的发展, 在单纯的 COD 患者中, 通常会有一定程度的视杆细胞功能障碍。一般将具有显著锥细胞功能障碍, 伴迟发或轻微杆细胞功能障碍的视网膜疾病称为 COD。早发的进行性锥细胞功能障碍伴显著杆细胞功能障碍的病变称为 CRD。COD 及 CRD 发病年龄较早, 疾病初期患者眼底可完全正常或仅有黄斑区轻微色素改变, 但视力呈进行性下降, 矫正视力无提高。部分患者可伴畏光、色觉异常, 部分有眼球震颤。由于临床医师对本病认识不足, 且多忽视患者的伴随症状, 如畏光、眼球震颤等, 不重视视觉及眼电生理的检查, 因而常误诊为弱视。根据 RetNet 网站 (<http://sph.uth.edu/RetNet/>) 公布的数据, 目前已明确有 35 个基因的突变可导致 COD 或 CRD 的发病, 包括常染色体显性遗传相关的基因 10 个 (*AIPL1*、*CRX*、*GUCY1A*、*GUCY2D*、*PITPNM3*、*PROM1*、*PRPH2*、*RIMS1*、*SEMA4A*、*UNC119*), AR 相关的基因 23 个 (*ABCA4*、*ADAM9*、*ATF6*、*C21orf2*、*C8orf37*、*CACNA2D4*、*CDHR1*、*CEP78*、*CERKL*、*CNGA3*、*CNGB3*、*CNNM4*、*GNAT2*、*IFT81*、*KCNV2*、*PDE6C*、*PDE6H*、*POC1B*、*RAB28*、*RAX2*、*RDH5*、*RPGRIP1*、*TTL5*), X 连锁遗传相关的基因 2 个 (*CACNA1F*、*RPGR*)。其中, 有 6 种基因主要导致 COD 的发病, 另有 22 种则主要与 CRD 的发病相关^[12]。本研究中有 2 个 CRD 和 1 个 COD 家系检测到致病基因突变, C01 先证者携带 X 染色体 *RPGR* 基因的 p. G1011X 无义突变, C02 先证者携带 *PROM1* 基因的 c. 2373+5G>T 纯合性剪切突变, C03 先证者携带 *GUCY2D* 基因的 p. R838H 杂合突变, 结合临床表型的分析, 最终明确了这 3 个家系患者的诊断。

FEVER 是一种以视网膜血管发育异常为特征的 HRD, 占儿童致盲眼病的 13%~16%。FEVER 的遗传

方式多样,有常染色体显性遗传、AR 和伴 X 连锁遗传 3 种方式,其中以常染色体显性遗传为主,外显率接近 100%。目前报道的与 FEVER 发病相关的基因有 *NDP*、*FZD4*、*LRP5*、*TSPAN12*、*ZNF408* 和 *KIF11*^[13-21],但这也仅能解释约 50% 的 FEVER 病例^[22-24]。其中前 4 种基因在 *Norrin* 或 *Wnt* 信号通路中扮演了重要角色,*Norrin* 及 *Wnt* 通路参与了视网膜血管的发生^[25],基因的改变也将引起血管发育的异常。在 FEVER 患者中,*LRP5* 基因突变率最高,而 *ZNF408* 及 *KIF11* 作为新发现的 FEVER 致病基因,突变率相对较低,致病机制暂不明确,但与 *Wnt* 通路差异明显,致病性则更为严重。本研究中检测到的 2 例 FEVER 家系均携带 *TSPAN12* 基因位点的改变,分别为 p. C181W 错义突变和 p. D5fs 移码突变,该 2 个位点均系首次发现并报道与 FEVER 疾病相关。*TSPAN12* 基因定位于染色体 7q31,含 8 个外显子,与 FEVER 5 型 (OMIM61330) 关联。*TSPAN12* 基因具有 4 次跨膜结构的典型特征,通过与四旋蛋白或其他分子的相互作用,形成多分子膜复合物,参与细胞的粘连、迁移及信号转导^[26]。Junge 等^[27] 通过小鼠模型进一步证实了 *TSPAN12* 蛋白在信号传导通路里的重要作用,*TSPAN12* 基因的改变将导致视网膜血管的异常分化。

FEVER 临床表现多样,部分患者病情可终身处于静止期,无明显临床症状,易被忽视和漏诊,仅在 FFA 检查时发现周边视网膜血管异常及无灌注区形成,常规眼底检查在轻型患者上表现基本正常。FEVER 患者多伴有高度近视,如不进行仔细的扩瞳后周边眼底检查或 FFA 检查则易被漏诊或误诊为屈光性弱视。因此临床上遇到高度近视的患者或者长期接受弱视训练无效的患者均应进行详细的眼底检查;对于白瞳症、眼球震颤、斜视、弱视的患儿也要仔细检查,排除 FEVER 的可能;对临床症状不典型的可疑患者,除 FFA 检查外,还可以通过追问家族史,同时辅助基因检测有助于准确诊断。

综上所述,STGD、COD、CRD 和 FEVER 等 HRD 早期缺乏典型的临床体征,易误诊弱视。本研究在 9 个 HRD 家系中共检测到 11 个基因突变位点,其中 4 个为新发现的致病突变,均为首次报道,丰富了 HRD 致病基因的突变谱。本研究中尚未发现疾病与基因型存在明确的一一对应关系,可能与某一基因的不同突变可能通过作用于细胞功能的不同环节导致导致不同疾病的发生有关^[28],因此,在临床上尚不能基于临床表现直接锁定某个特定致病基因,也不能单纯基于基因检测结果直接锁定某种疾病,需要进行大样本系列研

究,以进一步明确基因型与临床表型的联系,丰富基因突变疾病谱。采用基因检测结合临床表型分析的方法将显著提高 HRD 的早期诊断水平,同时基于基因检测结果确定遗传方式,开展遗传性眼病的咨询,宣传遗传性眼病基本知识,可消除患者及家属的疑虑,并对有生育需求的高危人群进行婚育指导,减少遗传性疾病给患者及家庭带来的痛苦。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 陈雪,赵晨. 遗传诊断和胚胎植入前遗传诊断在防治儿童遗传眼病中的重要作用[J]. 中华实验眼科杂志, 2018, 36(7): 489-493. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2018. 07. 002. Chen X, Zhao C. Importance of genetic and preimplantation genetic diagnosis in the prevention and treatment of inherited pediatric ophthalmopathies[J]. Chin Exp Ophthalmol, 2018, 36(7): 489-493. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2018. 07. 002.
- [2] 房心荷,张芳霞,朱艳,等. 应用目标基因捕获结合二代测序技术检测无遗传性眼病家族史的遗传性视网膜疾病患者的致病基因[J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(12): 1097-1103. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 12. 009. Fang XH, Zhang FX, Zhu Y, et al. Rapid identification of pathogenic mutations in sporadic hereditary retinal dystrophies using targeted next-generation sequencing[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2017, 35(12): 1097-1103. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 12. 009.
- [3] Walia S, Fishman GA. Natural history of phenotypic changes in Stargardt macular dystrophy[J]. Ophthalmic Genet, 2009, 30(2): 63-68. DOI: 10. 1080/13816810802695550.
- [4] Michaelides M, Hardcastle AJ, Hunt DM, et al. Progressive cone and cone-rod dystrophies: phenotypes and underlying molecular genetic basis[J]. Surv Ophthalmol, 2006, 51(3): 232-258. DOI: 10. 1016/j. survophthal. 2006. 02. 007.
- [5] Ranchod TM, Ho LY, Drenser KA, et al. Clinical presentation of familial exudative vitreoretinopathy[J]. Ophthalmology, 2011, 118(10): 2070-2075. DOI: 10. 1016/j. ophtha. 2011. 06. 020.
- [6] 容维宁,王晓光,盛迅伦. *ABCA4* 基因突变与 3 个不同遗传性视网膜疾病家系临床表型的研究[J]. 中华眼科杂志, 2018, 54(10): 775-781. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2018. 10. 011. Rong WN, Wang XG, Sheng XL. *ABCA4* mutations and phenotype of different hereditary retinopathies in 3 pedigrees[J]. Chin J Ophthalmol, 2018, 54(10): 775-781. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2018. 10. 011.
- [7] Burke TR, Tsang SH. Allelic and phenotypic heterogeneity in *ABCA4* mutations[J]. Ophthalmic Genet, 2011, 32(3): 165-174. DOI: 10. 3109/13816810. 2011. 565397.
- [8] Riveiro-Alvarez R, Lopez-Martinez MA, Zernant J, et al. Outcome of *ABCA4* disease-associated alleles in autosomal recessive retinal dystrophies: retrospective analysis in 420 Spanish families[J]. Ophthalmology, 2013, 120(11): 2332-2337. DOI: 10. 1016/j. ophtha. 2013. 04. 002.
- [9] Strom SP, Gao YQ, Martinez A, et al. Molecular diagnosis of putative Stargardt Disease probands by exome sequencing[J]. BMC Med Genet, 2012, 13: 67. DOI: 10. 1186/1471-2350-13-67.
- [10] Gardner JC, Webb TR, Kanuga N, et al. X-linked cone dystrophy caused by mutation of the red and green cone opsins[J]. Am J Hum Genet, 2010, 87(1): 26-39. DOI: 10. 1016/j. ajhg. 2010. 05. 019.
- [11] Roosing S, Thiadens AA, Hoyng CB, et al. Causes and consequences of inherited cone disorders[J]. Prog Retin Eye Res, 2014, 42: 1-26. DOI: 10. 1016/j. preteyeres. 2014. 05. 001.
- [12] Michaelides M, Hardcastle AJ, Hunt DM, et al. Progressive cone and cone-rod dystrophies: phenotypes and underlying molecular genetic basis[J]. Surv Ophthalmol, 2006, 51(3): 232-258. DOI: 10. 1016/j. survophthal. 2006. 02. 007.
- [13] Yang H, Xiao X, Li S, et al. Novel *TSPAN12* mutations in patients with familial exudative vitreoretinopathy and their associated phenotypes[J]. Mol Vis, 2011, 17: 1128-1135.
- [14] Nikopoulos K, Gilissen C, Hoischen A, et al. Next-generation

- sequencing of a 40 Mb linkage interval reveals TSPAN12 mutations in patients with familial exudative vitreoretinopathy [J]. *Am J Hum Genet*, 2010, 86(2): 240-247. DOI: 10. 1016/j. ajhg. 2009. 12. 016.
- [15] Poulter JA, Ali M, Gilmour DF, et al. Mutations in *TSPAN12* cause autosomal-dominant familial exudative vitreoretinopathy [J]. *Am J Hum Genet*, 2010, 86(2): 248-253. DOI: 10. 1016/j. ajhg. 2010. 01. 012.
- [16] Ávila-Fernández A, Cantalapiedra D, Aller E, et al. Mutation analysis of 272 Spanish families affected by autosomal recessive retinitis pigmentosa using a genotyping microarray [J]. *Mol Vis*, 2010, 16: 2550-2558.
- [17] Fu Q, Wang F, Wang H, et al. Next-generation sequencing-based molecular diagnosis of a Chinese patient cohort with autosomal recessive retinitis pigmentosa [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(6): 4158-4166. DOI: 10. 1167/iovs. 13-11672.
- [18] Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, et al. Genetic variants of *FZD4* and *LRP5* genes in patients with advanced retinopathy of prematurity [J]. *Mol Vis*, 2013, 19: 476-485.
- [19] Churchill JD, Bowne SJ, Sullivan LS, et al. Mutations in the X-linked retinitis pigmentosa genes *RPGR* and *RP2* found in 8. 5% of families with a provisional diagnosis of autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(2): 1411-1416. DOI: 10. 1167/iovs. 12-11541.
- [20] Wang F, Wang H, Tuan HF, et al. Next generation sequencing-based molecular diagnosis of retinitis pigmentosa: identification of a novel genotype-phenotype correlation and clinical refinements [J]. *Hum Genet*, 2014, 133(3): 331-345. DOI: 10. 1007/s00439-013-1381-5.
- [21] Huang XF, Huang F, Wu KC, et al. Genotype-phenotype correlation and mutation spectrum in a large cohort of patients with inherited retinal dystrophy revealed by next-generation sequencing [J]. *Genet Med*, 2015, 17(4): 271-278. DOI: 10. 1038/gim. 2014. 138.
- [22] Katsanis N, Ansley SJ, Badano JL, et al. Triallelic inheritance in Bardet-Biedl syndrome, a Mendelian recessive disorder [J]. *Science*, 2001, 293(5538): 2256-2259. DOI: 10. 1126/science. 1063525.
- [23] Rao FQ, Cai XB, Cheng FF, et al. Mutations in *LRP5*, *FZD4*, *TSPAN12*, *NDP*, *ZNF408*, or *KIF11* genes account for 38. 7% of Chinese patients with familial exudative vitreoretinopathy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(5): 2623-2629. DOI: 10. 1167/iovs. 16-21324.
- [24] Panagioutou ES, Sanjurjo SC, Poulter JA, et al. Defects in the cell signaling mediator β -catenin cause the retinal vascular condition FEVR [J]. *Am J Hum Genet*, 2017, 100(6): 960-968. DOI: 10. 1016/j. ajhg. 2017. 05. 001.
- [25] Wang Y, Rattner A, Zhou Y, et al. *Norrin*/Frizzled4 signaling in retinal vascular development and blood brain barrier plasticity [J]. *Cell*, 2012, 151(6): 1332-1344. DOI: 10. 1016/j. cell. 2012. 10. 042.
- [26] 唐妙, 李梓敬, 丁小燕. 家族性渗出性玻璃体视网膜膜病变基因研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34(6): 558-561. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 06. 017.
- Tang M, Li ZJ, Ding XY. Research progress on genetics of familial exudative vitreoretinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2016, 34(6): 558-561. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 06. 017.
- [27] Junge HJ, Yang S, Burton JB, et al. *TSPAN12* regulates retinal vascular development by promoting *Norrin*-but not *Wnt*-induced *FZD4*/ β -catenin signaling [J]. *Cell*, 2009, 139(2): 299-311. DOI: 10. 1016/j. cell. 2009. 07. 048.
- [28] 容维宁, 马润清, 房心荷, 等. 三个 Stargardt 病家系基因型和临床表型分析 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2018, 36(7): 544-548. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2018. 07. 013.
- Rong WN, Ma RQ, Fang XH, et al. Analysis of the genotype and phenotype in 3 pedigrees with Stargardt disease [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2018, 36(7): 544-548. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2018. 07. 013.

(收稿日期:2019-07-11 修回日期:2019-09-27)

(本文编辑:刘艳)

消息

多学科实用性工具书《眼眶病多学科协同诊疗》(中文翻译版)出版发行

在热烈庆祝新中国成立 70 周年之际,由首都医科大学附属北京同仁医院眼科马建民教授和解放军总医院第三临床中心眼眶病科杨新吉主任领衔主译,以及我国眼肿瘤眼眶病领域诸多权威专家参译的适用于多学科的实用性眼科工具书《眼眶病多学科协同诊疗》(中文翻译版)近日在京出版发行。

眼肿瘤眼眶病是一类不仅可以导致视力丧失而且可以致命的严重危害人类健康的疾病,就其性质而言可以分为良性和恶性病变;就其累及范围而言,不仅可以累及眼球和眼眶,而且可以累及眶周组织,如鼻窦、颅内等组织结构。所以眼肿瘤眼眶病较一般常见眼部疾病而言,病情更为复杂,诊治难度更高。在诊治眼肿瘤眼眶病过程中往往会涉及到病理科、医学影像科、神经外科、耳鼻喉科、儿科、内分泌科、放射治疗科等多个临床科室协同处理。目前国内尚缺少有关眼肿瘤眼眶病多学科协作诊治方面的参考书。

马建民和杨新吉教授领衔主译的《眼眶病多学科协同诊疗》填补了国内有关眼肿瘤眼眶病多学科诊疗模式的空白。据悉,此书主要对眼眶病的解剖学知识、病理生理学基础、临床表现、辅助检查、诊断方法、治疗方式以及并发症等进行了详细描述,共附有 650 余张全彩照片和插图;同时此书也详尽地叙述了颅眶或鼻眶沟通性疑难眼肿瘤眼眶病的多学科之间协作的诊疗方式,给广大临床医师提供了一个可供借鉴学习的模式。

这部译著临床实用价值较高,对于提升眼科医师及其他相关科室医师的综合诊疗水平、提高处置疑难眼肿瘤眼眶病的能力以及进一步改善患者的预后具有重要意义,是一部值得推广应用的实用性工具书。

据了解,原著《Interdisciplinary Management of Orbital Diseases》由 Hans-J. Welkoborsky 教授、Burkhard Wiechens 教授和 Michael L. Hinmi 教授联合主编,由 Georg Thieme Verlag KG 出版发行。

(马建民)

