

## · 临床研究 ·

## 青少年型神经元蜡样脂褐质沉积症的基因诊断

沈人娟 周容 冯卓堃 王小芳 陈冲 陈珍姬 金子兵

温州医科大学附属眼视光医院 遗传眼病专科 视网膜再生医疗研究组 国家临床医学研究中心(眼科疾病) 眼视光学与视觉科学国家重点实验室,温州 325027

通信作者:金子兵, Email: jinzb@mail. eye. ac. cn

**【摘要】 目的** 对疑似青少年型神经元蜡样脂褐质沉积症(JNCL)患者进行临床症状及遗传分析,检测其基因型及临床表型,寻求以眼科表现为首发症状的 JNCL 患者精确诊断的线索。**方法** 采用病例对照研究方法,纳入 2013 和 2017 年在温州医科大学附属眼视光医院就诊的 2 个汉族疑似 JNCL 家系,收集患者眼部及全身病史资料及家系信息,测定受检者最佳矫正视力(BCVA),采用彩色眼底照相和光相干断层扫描(OCT)检查患者眼底表现,采用视觉电生理检查评估患者视觉功能变化。采集该 2 个家系 3 例首诊于眼科的疑似 JNCL 患者及 5 名健康家系成员的血液标本各 3 ml,并提取 DNA,应用高通量测序法筛选致病基因,针对检测出的变异位点进行生物信息学分析、Sanger 测序验证以及家系共分离。**结果** 所有患者眼底均呈现典型牛眼征以及视网膜色素紊乱,OCT 影像显示外层视网膜明显变薄。2 个家系均在 *CLN3* 基因上检测到致病突变,F1 家系 2 位患者为 c. 154T>C (p. Y52H) 和 c. 982G>C (p. A328P) 复合杂合突变,其中 c. 982G>C (p. A328P) 位点为本研究首次报道;F2 家系先证者为 c. 906+5G>A 剪切位点纯合突变,此位点为已知致病位点。家系共分离以及全面的致病性分析显示,F1 家系复合杂合突变以及 F2 家系剪切位点纯合突变是导致其表型的遗传学病因。**结论** 本研究发现了 JNCL 家系的一个新突变,丰富了 *CLN3* 基因的突变谱。高通量测序以及 Sanger 直接测序技术对于 JNCL 的精确诊断、指导个性化治疗以及判断预后非常重要。

**【关键词】** 神经元蜡样脂褐质沉积病/诊断; 高通量测序; 基因突变; 青少年; *CLN3* 基因

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81970838); 国家重点研发计划(2017YFB0403700、2017YFA0105300)

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2020. 01. 009

**Unraveling the genetic cause of juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis**

Shen Renjuan, Zhou Rong, Feng Zhuokun, Wang Xiaofang, Chen Chong, Chen Zhenji, Jin Zibing

State Key Laboratory of Ophthalmology, Optometry and Visual Science, National Clinical Research Center for Ophthalmology, Retinal Regeneration Medical Research Group, Division of Ophthalmic Genetics, The Eye Hospital, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325027, China

Corresponding author: Jin Zibing, Email: jinzb@mail. eye. ac. cn

**【Abstract】 Objective** To analyze the clinical symptoms and hereditary information of suspicious juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis (JNCL) and determine the genotype in order to explore the diagnosis clues in the patients with ophthalmologic manifestations being initial symptom. **Methods** A case-control study was performed in this study. Two families were included in Eye Hospital of Wenzhou Medical in 2013 and 2017, respectively. Medical histories were collected and all participants underwent comprehensive ophthalmologic examinations, and the best corrected visual acuity (BCVA) was obtained. Fundus photography and optical coherence tomography (OCT) were used to image the retinal signs, and visual electrophysiology was recorded to evaluate the visual function. Genomic DNA of 3 patients who initially visited to ophthalmologists and 5 unaffected family members were extracted. Whole exome sequencing (WES), targeted exome sequencing (TES), Sanger sequencing and comprehensive analyses of pathogenicity were performed to determine the genetic cause of the patients. This study was approved by Ethics Committee of Eye Hospital of Wenzhou Medical University (KYK-2017-7), and written informed consent was obtained from each subject prior to any medical examination. **Results** All patients presented bull eye sign and disorder of pigment on the fundus photograph, and the retinas were thinning on the OCT image, indicating the diffuse retinal pigment epithelium atrophy of macula and loss of outer layer structure of retina. Three mutations in *CLN3* gene were identified by WES, TES, Sanger validation and assessments of pathogenicity, including c. 154T>C (p. Y52H), c. 982G>C (p. A328P) and c. 906+5G>A, among which p. A328P was a novel mutation. Patients of F1 family harbored the compound heterozygous mutations c. 154T>C (p. Y52H) and c. 982G>C (p. A328P), while proband of F2 family harbored the homozygous splice site mutation c. 906+5G>A, which was reported to be a pathogenic mutation of JNCL. Co-segregation and comprehensive pathogenicity analysis revealed that the compound heterozygous mutations in F1 family and the homozygous mutation in a splice site in F2 family were the genetic causes of their phenotypes.

**Conclusions** A novel mutation in *CLN3* gene for JNCL is identified, which expands the mutation spectrum of *CLN3*

gene. Considering the high clinical heterogeneity of inherited retinal diseases, especially syndromic cases, genetic test through next generation plays a vital role in diagnosis, guiding future treatment and prognostic evaluation.

[Key words] Neuronal ceroid-lipofuscinosis/diagnosis; Next generation sequencing; Gene mutation; Juvenile; *CLN3* gene

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81970838); National Key R&D Program of China (2017YFB0403700, 2017YFA0105300)

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2020. 01. 009

神经元蜡样脂褐质沉积症 (neuronal ceroid-lipofuscinosis, NCLs) 是一组进行性神经系统退行疾病, 多呈常染色体隐性遗传, 主要病因是溶酶体代谢障碍, 大量脂褐质异常沉积于神经元引起。NCLs 的全球发病率约为 1/100 000, 国内报道较少, 尚无确切的流行病学资料。根据发病年龄以及基因型的不同可分为先天型 NCL (congenital NCL, CNCL)、婴儿型 NCL (infantile NCL, INCL)、晚婴型 NCL (late infantile NCL, LNCL)、晚婴变异型 (variant late infantile NCL, vLNCL)、青少年型 NCL (Juvenile NCL, JNCL) 及成人型 NCL (adult NCL, ANCL)<sup>[1-3]</sup>。JNCL 又称 Batten 病, 常在 4~7 岁发病, 多以进行性视力下降为首发症状至眼科就诊, 眼部病情发展迅速, 数年内出现癫痫及行动和认知障碍等神经系统症状, 目前尚无有效的治疗方法, 患者多在 30 岁前死亡<sup>[4]</sup>。*CLN3* 基因为已知的 JNCL 致病基因, 定位于 16p12.1, 共 16 个外显子, 编码 Battenin 溶酶体跨膜蛋白, 对维持溶酶体的生理功能极为重要<sup>[5]</sup>。*CLN3* 基因突变引起 Battenin 蛋白功能缺陷或无法合成, 致细胞中脂褐质异常堆积, 导致光感受器细胞及中枢神经系统神经元变性<sup>[6]</sup>。迄今已有超过 80 个突变被报道与 JNCL 有关, 其中以 1 个碱基长约 1 kb、跨越 7~8 号外显子的大片段缺失较常见<sup>[3,5]</sup>。本研究中结合临床检查及高通量测序对 2 个家系的 3 例疑似 JNCL 患者进行临床诊断及遗传学分析, 探讨其发病的遗传学基础和背景, 寻求综合征相关型视网膜变性疾病的精确诊断方法。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

采用病例对照研究方法, 分别于 2013 和 2017 年纳入在温州医科大学附属眼视光医院就诊的 2 个可疑 JNCL 家系。2013 年首诊的 F1 家系包括可疑 JNCL 2 例及健康成员 3 名, 2 例患者首诊均诊为视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa, RP), 但随访过程中诊断为疑似 JNCL。2017 年首诊的 F2 家系包括 1 例先证者及 2 名健康家系成员, 先证者首诊疑似 JNCL。

本研究经温州医科大学附属眼视光医院伦理委员会审核批准 (伦审号: KYK-2017-7), 研究对象及其家庭成员均知晓本研究的目的和方法, 并签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 临床检查** 所有患者及家系成员均接受专业眼科检查, 包括裂隙灯显微镜检查、眼压测定、最佳矫正视力 (best corrected visual acuity, BCVA) 检查、彩色眼底照相和光相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT)。由于患儿检查配合欠佳, 仅 F1 家系中男性患儿完成视网膜电图 (electroretinogram, ERG) 检查, F2 家系先证者完成图形视诱发电位 (pattern visual evoked potential, PVEP) 检查。

**1.2.2 基因测序及遗传学分析** 采集 2 个家系中 3 例患者以及 5 名健康成员的外周血各 3 ml, 采用全血 DNA 提取试剂盒 (杭州新景 Simgen 公司) 提取全基因组 DNA, 用紫外分光光度仪检测证实浓度和纯度合格后, 分别对 F1 家系和 F2 家系进行全外显子测序 (whole exome sequencing, WES) 以及目标区域捕获测序 (targeted exome sequencing, TES), 针对检测出的变异位点进行生物信息学分析、一代测序验证以及家系共分离。所用数据库为 gnomAD、ClinVar 和 RetinoGenetics, 所用预测软件为 Mutation Taster、Sift、Polyphen、CADD 以及 Human Splicing Finder<sup>[7-9]</sup>。因二代测序读长相对较短, 无法检测到 JNCL 患者突变中常见的 1 kb 大片段缺失, 为避免假阴性结果, 二代测序后亦对 *CLN3* 基因的 7 号和 8 号外显子及前后内含子各至少 50 个碱基进行 Sanger 直接测序。PCR 引物合成和 PCR 产物一代测序均由北京擎科生物公司 Tsingke 完成。利用 Clustal Omega 软件对 Y52H 以及 A328P 2 个突变位点进行多物种多重序列比对, 物种包括人类、黑猩猩、小鼠、家猫、黑果蝇、爪哇穿山甲以及青鳉鱼。

## 2 结果

### 2.1 JNCL 患者临床表型

F1 家系先证者, 女, 13 岁, 8 岁时出现夜盲, 视力急剧下降。先证者胞弟, 9 岁, 7 岁时出现视力下降, 发病以来视力显著下降并逐渐出现夜盲。该 2 例患儿均无其他系统异常。首诊时先证者双眼 BCVA 为手动/眼前, 其胞弟为数指/30 cm。2 例患儿双眼眼压正常, 均不能固视, 眼底可见色素紊乱及牛眼征外观, OCT 影像显示外层视网膜萎缩变薄, 感光细胞丢失 (图 1)。先证者

胞弟 ERG 各波形记录不到,先证者因配合欠佳未记录到可信的 ERG 波形。根据病史及体征,2 例患者首诊为 RP。随访过程中发现,先证者于 16 岁时首次发作癫痫,17 岁时再次发作,曾于当地医院神经内科就诊,脑电图检查提示异常。先证者胞弟尚无癫痫病史以及行动能力和语言能力倒退等表现。先证者及其胞弟均为足月顺产,发病前与同龄儿童的发育水平无明显差异。家族中无近亲结婚及其他疾病史(表 1)。2017 年至温州医科大学附属眼视光医院复诊,修正诊断为疑似 JNCL。

患者	发病年龄	首发症状	BCVA		眼底	ERG	神经系统症状		
			右眼	左眼			首发症状	出现时间	脑电图
F1. III-1	8 岁	夜盲、视力下降	眼前手动	眼前手动	牛眼征	NA	癫痫	16 岁	异常
F1. III-3	7 岁	视力下降	数指/30 cm	数指/30 cm	牛眼征	记录不到	暂无	-	-
F2. III-1	5 岁	行动能力倒退	数指/10 cm	手动/50 cm	牛眼征	NA	行动能力倒退	5 岁	异常

注:JNCL:青少年型神经元蜡样脂褐质沉积症;BCVA:最佳矫正视力;ERG:视网膜电图;NA:无可靠信息  
Note: JNCL: juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis; BCVA: best correct visual acuity; ERG: electroretinogram; NA: not available

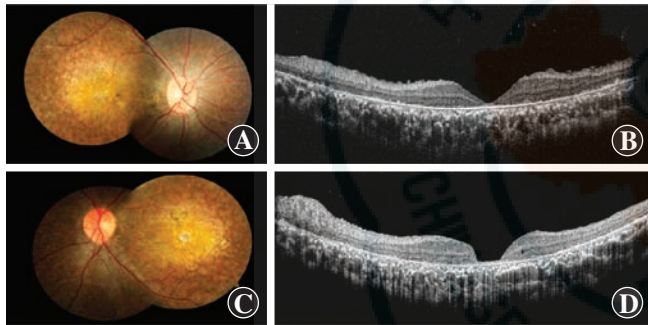


图 1 先证者 F1. III-1 的眼底表现 双眼视网膜呈青灰色,视盘蜡黄,血管细窄,黄斑区金箔样反光,色素紊乱,呈牛眼征。OCT 检查显示双眼后极部外核层及椭圆体带消失,黄斑中心凹结构萎缩 A:右眼彩色眼底照相 B:左眼彩色眼底照相 C:右眼 OCT 影像 D:左眼 OCT 影像

Figure 1 Fundus manifestation of proband F1. III-1 Bull eye configuration, attenuated vessels and waxy pallor of the optic discs were seen on the color photograph of bilateral eyes. OCT images exhibited foveal attenuation and loss of outer layer of retina, including outer nuclear layer and ellipsoid zone in both eyes A: fundus photograph of right eye B: fundus photograph of left eye C: OCT findings of right eye D: OCT findings of left eye

F2 家系先证者,男,首诊时 6 岁,5 岁出现视力下降以及行动能力倒退,曾至当地医院神经内科就诊,脑电图检查提示异常,诊断为精神发育迟滞。发病 1 年来视力明显下降,语言表达能力及智力开始倒退,行动能力进一步退化,否认癫痫病史。首诊时右眼 BCVA 为数指/10 cm,左眼手动/50 cm,需仰头视物,眼压正常,眼底呈牛眼征,OCT 示黄斑中心凹结构明显变薄,视网膜光感受器细胞内外节结构基本消失。PVEP 显示双眼 P<sub>100</sub> 波振幅降低,潜伏期延长。患儿为足月顺产,发病前与同龄儿童发育水平无明显差异。无近亲结婚及其他疾病史(表 1)。初诊为疑似 JNCL。

## 2.2 JNCL 家系基因型

F1 家系先证者及其胞弟检测到 c. 154T>C (p. Y52H) 和 c. 982G>C (p. A328P) 2 个杂合错义突变,分别来自其父方和母方,为复合杂合突变,符合常染色体隐性遗传致病模式(图 2,表 2)。CLN3 基因编码的 Battenin 蛋白功能域包括从第 40 位到第 436 位氨基酸,检测到的 2 个突变均在功能域内,且在各个物种间高度保守(图 3)。gnomAD 数据库中显示该 2 个位点在所有种族正常人群中的频率均为 0,经多个预测软件分析均预测为强致病性,CADD 分值分别为 28.6 和 23.3。根据 ACMG 的变异分级指南<sup>[10]</sup>,该 2 个位点均为可能致病。三维蛋白结构预测模型直观地展示了局部氨基酸改变(图 4)。

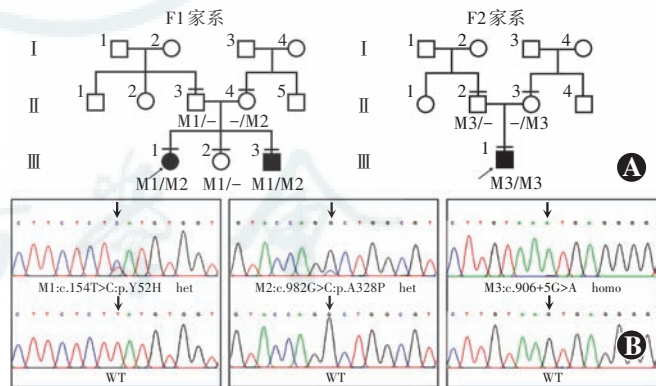


图 2 JNCL 家系图及基因型 A: F1 和 F2 家系的系谱图 F1 家系为常染色体隐性遗传模式, F2 家系为散发病例 □: 正常男性; ○: 正常女性; ■: 男性患者; ●: 女性患者; ↗: 先证者; M1: 突变 1; M2: 突变 2; M3: 突变 3 B: 先证者以及健康家系成员的 Sanger 测序图 het: 杂合; homo: 纯合; WT: 野生型

Figure 2 JNCL pedigrees and genotypes A: Pedigrees and genotypes of F1 and F2 F1 appeared to be autosomal recessive inheritance and F2 was a sporadic case □: normal males; ○: normal females, ■: the affected males; ●: the affected female ↗: probands; M1: mutation site 1; M2: mutation site 2; M3: mutation site 3 B: Sanger sequencing results of the probands and healthy family members Het: heterozygous; Homo: homozygous; WT: wild type

表 2 JNCL 家系患者基因检测结果  
Table 2 Genetic mutations identified in JNCL patients

患者	基因	染色体位置	核苷酸改变	氨基酸改变	突变类型	遗传模式	参考文献
F1. III-1	CLN3	chr16:28500679	c. 154T>C	p. Y52H	错义突变	AR	倪菁菁等, 2019 <sup>[11]</sup>
		chr16:28493500	c. 982G>C	p. A328P	错义突变	AR	新突变
F1. III-3	CLN3	chr16:28500679	c. 154T>C	p. Y52H	错义突变	AR	倪菁菁等, 2019 <sup>[11]</sup>
		chr16:28493500	c. 982G>C	p. A328P	错义突变	AR	新突变
F2. III-1	CLN3	chr16:28493793	c. 906+5G>A	-	剪切改变	散发	Maria et al, 2011 <sup>[3]</sup>

注: JNCL: 青少年型神经元蜡样脂褐质沉积症; AR: 常染色体隐性  
Note: JNCL: juvenile neuronal ceroid-lipofuscinosis; AR: autosomal recessive

F2 家系先证者检测到 c. 906+5G>A 纯合突变, 其父母均为杂合携带者, 符合常染色体隐性遗传模式(表 2, 图 2)。该突变位于 12 号外显子与 12 号内含子交界处的剪切位点(图 3), Human Splicing Finder 预测该突变导致 ESE 位点破坏, 可能对正常基因剪切产生影响; Mutation Taster 预测为致病突变。该突变在 gnomAD 数据库各个种族人群中频率为 0, 已有报道该突变为 JNCL 的致病突变<sup>[3]</sup>。F1 和 F2 家系 7, 8 号外显子序列均为野生型, 未检测到跨越 7, 8 外显子的大片段缺失。

### 3 讨论

JNCL 是一类溶酶体代谢障碍所致的系统性疾病, 主要累及眼感光细胞及中枢神经系统神经元, 引起严重功能障碍以及智力、行动能力丧失, 是 NCL 较为常见的类型。JNCL 以视力下降为首发症状, 表现为视网膜感光细胞的丢失以及 RP, 随后数年内出现中枢神经系统症状。研究发现, JNCL 由 CLN3 基因突变引起, 迄今为止, ClinVar 数据库中已提交的明确致病以及可能致病的突变类型共 86 种, 包括大片段缺失 13 种、无义突变 14 种、错义突变 17 种、单个碱基插入或缺失移码突变 17 种以及剪切位点突变 25 种, 其中以 c. 461-280\_677+382del 最为常见, 片段缺失长度达 996 kb, 跨越 7 号和 8 号外显子, 在所有基因型中占 80% 以上<sup>[3, 12]</sup>。

目前各型 NCL 均无有效治疗方法, 主要采用对症治疗, 包括针对运动功能障碍的物理疗法、职业疗法、药物疗法及拟减轻精神症状和行为异常的行为疗法和精神药物应用。目前国外已开展了数十项临床试验,

美国国家儿童医院进行的 CLN3 型 NCL 基因治疗临床试验正在受试者招募中。Schulz 等<sup>[13]</sup> 研究发现, 作为酶替代物, 重组人 TPP1 可延缓并减轻 CLN2 型 NCL 患者运动及语言能力下降。Augustine 等<sup>[14]</sup> 研究发现, 霉酚酸酯可延缓和减轻 CLN3 型 NCL 患者的神经系统症状。

国内关于 JNCL 的研究报

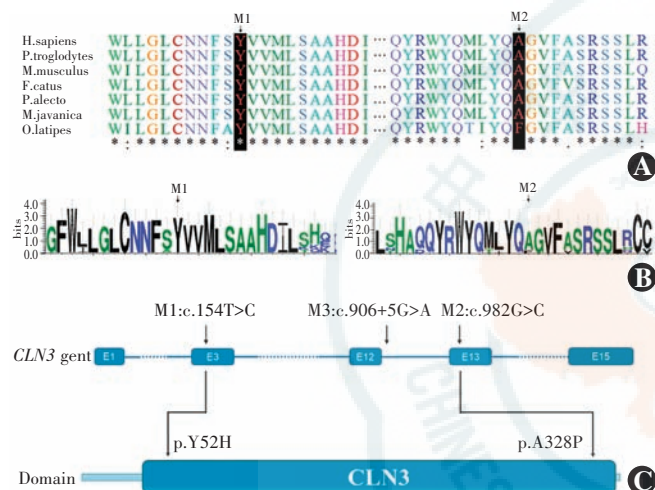


图 3 CLN3 基因突变对 Battenin 蛋白一级和二级结构的影响 A: 利用 Clustal Omega 软件对 Y52H 以及 A328P 2 个突变位点进行多物种多重序列比对 B: 利用 WebLogo 所分析的结果, 横坐标为氨基酸位置, 纵坐标代表保守性的强度, 字母越高表示保守性越强 C: 突变分别在 CLN3 基因上以及功能域上的位置

Figure 3 The effect of CLN3 mutations on the primary and secondary structure of Battenin protein A: Multiple sequence alignment of CLN3 polypeptides of different species by using Clustal Omega, showing 2 conserved amino acid residues (Tyrosine 52 and Alanine 328P) B: Conservation analyzed by using WebLogo, the overall height of the symbols indicated the sequence conservation at that position C: Exons and domain of CLN3 gene and the location of 3 mutations



图 4 CLN3 编码蛋白的 3D 结构预测模型 A: 第 52 位疏水性酪氨酸 (TYR) 突变为亲水性组氨酸 (HIS), 与周围氨基酸的氢键连接未发生变化 B: 第 328 位丙氨酸 (ALA) 突变为脯氨酸 (PRO), 原本与 324 位蛋氨酸 (MET) 间的氢键连接消失

Figure 4 Prediction of CLN3 protein 3D structure A: The amino acid at position 52 was mutated from hydrophobic tyrosine (TYR) to hydrophilic histidine (HIS), hydrogen bonding with other amino acids remained unchanged B: The amino acid at position 328 was mutated from alanine (ALA) to proline (PRO), which caused the disappearance of the hydrogen bond between alanine (ALA) at position 328 and methionine (MET) at position 324

道较少,大部分患者因视功能障碍为首发症状至眼科首诊。由于患者早期缺乏神经系统表型,故极易漏诊或误诊为 RP,临床诊断和分型均较困难。本研究中,F1 家系先证者自 8 岁出现视力下降,16 岁才首次发作癫痫,此期间无任何神经系统异常,是典型的 JNCL 的表现。该先证者胞弟 7 岁出现视力下降,至今尚无神经系统症状,而仅依靠眼部表型显然无法做出精确诊断。JNCL 患者往往 30 岁前死亡,给患者及其家庭带来很大影响,JNCL 的精确诊断和分型对于患者预后的判断、治疗的指导以及遗传咨询尤为重要。

本研究对 3 例疑似 JNCL 患者进行临床检查及致病基因筛查,发现了 *CLN3* 基因的致病性突变,F1 家系中 2 例患者均检出 c. 154T>C(p. Y52H)和 c. 982G>C(p. A328P)复合杂合突变,其中 c. 982G>C 为首次报道;F2 家系先证者检出纯合剪切位点突变 c. 906+5G>A,为已知突变位点。结合家系共分离试验和功能预测,认为该 3 个位点的突变是患者的遗传学病因,进而确诊为 JNCL。*CLN3* 基因最主要的突变为约 1 kb 纯合缺失,临床表型较为典型,病情进展迅速,而复合杂合突变以及其他突变位点的患者病情发展相对缓慢<sup>[15]</sup>。另外,*CLN3* 基因突变除了引起 JNCL 外亦可引起非综合征型 RP<sup>[16]</sup>。

由于本研究样本量较小且随访时间较短,尚未发现基因型与表型之间的关联,有待扩大样本量并延长随访时间进行进一步研究,同时也须开展动物实验对研究结果加以验证。

综上所述,全外显子测序 WES、目标区域捕获 TES 以及 Sanger 直接测序等遗传检测手段用于 NCLs 以及遗传性眼病的诊疗过程可大大提高疾病诊断的特异性和精确性,为多系统、复杂性遗传性疾病的诊断、预后评估以及治疗方案选择提供有用线索。

**利益冲突** 本研究中所有作者均声明不存在任何利益冲突

## 参考文献

- [1] Mole SE. The genetic spectrum of human neuronal ceroid-lipofuscinoses [J]. *Brain Pathol*, 2004, 14(1): 70-76. DOI: 10. 1111/j. 1750-3639. 2004. tb00500. x.
- [2] Jalanko A, Brulke T. Neuronal ceroid lipofuscinoses [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793(4): 697-709.
- [3] Kousi M, Lehesjoki AE, Mole SE. Update of the mutation spectrum and clinical correlations of over 360 mutations in eight genes that underlie the neuronal ceroid lipofuscinoses [J]. *Hum Mutat*, 2012, 33(1): 42-63. DOI: 10. 1002/humu. 21624.
- [4] Collins J, Holder GE, Herbert H, et al. Batten disease: features to facilitate early diagnosis [J]. *Br J Ophthalmol*, 2006, 90(9): 1119-1124. DOI: 10. 1136/bjo. 2006. 091637.
- [5] The International Batten Disease Consortium. Isolation of a novel gene underlying Batten disease, *CLN3* [J]. *Cell*, 1995, 2(6): 949-957. DOI: 10. 1016/0092-8674(95)90274-0.
- [6] Luirio K, Kopra O, Lehtovirta M, et al. *CLN3* protein is targeted to neuronal synapses but excluded from synaptic vesicles; new clues to Batten disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(19): 2123-2131. DOI: 10. 1093/hmg/10. 19. 2123.
- [7] Desmet FO, Hamroun D, Lalande M, et al. Human splicing finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals [J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(9): 67-75. DOI: 10. 1093/nar/gkp215.
- [8] Kircher M, Witten DM, Jain P, et al. A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants [J]. *Nat Genet*, 2014, 46(3): 310-315. DOI: 10. 1038/ng. 2892.
- [9] Ran X, Cai WJ, Huang XF, et al. RetinoGenetics: a comprehensive mutation database for genes related to inherited retinal degeneration [J]. *Database (Oxford)*, 2014, 2014 [2019-11-04]. <https://academic.oup.com/database/article/doi/10.1093/database/bau047/2634348> DOI: 10. 1093/database/bau047.
- [10] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology [J]. *Genet Med*, 2015, 17(5): 405-424. DOI: 10. 1038/gim. 2015. 30.
- [11] 倪菁菁, 张慧娟, 李静, 等. 一例青少年型神经元蜡样脂褐质沉积症的基因诊断 [J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(3): 369-374. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-6325. 2019. 03. 015.
- [12] Ni JJ, Zhang HJ, Li J, et al. Gene diagnosis of a case of juvenile neuronal ceroid lipofuscinosis [J]. *Basic & Clin Med*, 2019, 39(3): 369-374. DOI: 10. 3969/j. issn. 1001-6325. 2019. 03. 015.
- [13] Munroe PB, Mitchison HM, O'Rawe AM, et al. Spectrum of mutations in the Batten disease gene, *CLN3* [J]. *Am J Hum Genet*, 1997, 61(2): 310-316. DOI: 10. 1086/514846.
- [14] Schulz A, Ajayi T, Specchio N, et al. Study of intraventricular cerliponase Alfa for *CLN2* Disease [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(20): 1898-1907. DOI: 10. 1056/NEJMoa1712649.
- [15] Augustine EF, Adams HR, Mink JW. Clinical trials in rare disease: challenges and opportunities [J]. *J Child Neurol*, 2013, 28(9): 1142-1150. DOI: 10. 1177/0883073813495959.
- [16] Aberg L, Lauronen L, Hämäläinen J, et al. A 30-year follow-up of a neuronal ceroid lipofuscinosis patient with mutations in *CLN3* and protracted disease course [J]. *Pediatr Neurol*, 2009, 40(2): 134-137. DOI: 10. 1016/j. pediatrneurol. 2008. 10. 012.
- [17] 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.

(收稿日期:2019-05-09 修回日期:2019-12-25)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)