

# RS1 基因突变的 X 连锁视网膜劈裂症家系 基因型和表型分析

蔡博<sup>1</sup> 刘洋<sup>2</sup> 朴顺玉<sup>2</sup> 王少林<sup>2</sup> 李文静<sup>1</sup> 陈琳<sup>1</sup> 田恬<sup>1</sup> 薛雅璐<sup>2</sup> 庄文娟<sup>2</sup>

<sup>1</sup>宁夏医科大学临床医学院, 银川 750001; <sup>2</sup>宁夏回族自治区人民医院宁夏眼科医院 西北民族大学  
第一附属医院眼科 宁夏致盲性眼病临床研究中心, 银川 750001

通信作者: 庄文娟, Email: zh\_wenj@163.com

**【摘要】 目的** 检测 3 个 X 连锁视网膜劈裂症 (XLRs) 家系的致病基因, 探讨其基因型和表型特征。

**方法** 采用横断面研究方法, 纳入 2017 年 10 月至 2019 年 3 月在宁夏眼科医院就诊的 3 个先天性视网膜劈裂家系, 收集患者和家系成员的临床资料, 采集受检者外周血, 完善眼科检查并进行临床分期, 通过 Panel 测序筛选致病基因, 利用软件工具对突变进行保守性分析、致病性分析和蛋白质结构预测, 并根据 ACGM 指南分析突变的致病性。 **结果** 3 个家系共 5 例青年患者, 黄斑光相干断层扫描 (OCT) 均出现典型的黄斑区视网膜劈裂腔, 表现为视网膜劈裂症 I 期; 1 例中年患者表现为视网膜劈裂症 III 期的黄斑萎缩改变; Panel 测序分别发现 RS1 基因突变 c. 668G>A, c. 618G>A 和外显子 1 缺失, 其中 C223 和 W206 在哺乳动物中高度保守, 软件预测突变具有致病性且蛋白质结构改变; 外显子 1 缺失突变没有进行保守性分析和蛋白结构的预测。根据 ACGM 指南分析 3 个突变均为致病性变异。 **结论** RS1 基因突变 c. 668G>A/p. C223Y, c. 618G>A/p. W206X 和外显子 1 缺失均为中国 XLRs 家系的致病性突变。Panel 测序联合致病性预测软件工具的应用对遗传性视网膜疾病的诊断及致病基因的确定有重要作用。

**【关键词】** X 连锁视网膜劈裂症; RS1 基因; 突变

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (81460093)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115985-20190711-00307

## A phenotype-genotype study of X-linked retinoschisis in RS1 mutations

Cai Bo<sup>1</sup>, Liu Yang<sup>2</sup>, Piao Shunyu<sup>2</sup>, Wang Shaolin<sup>2</sup>, Li Wenjing<sup>1</sup>, Chen Lin<sup>1</sup>, Tian Tian<sup>1</sup>, Xue Yajun<sup>2</sup>, Zhuang Wenjuan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Clinical Medicine College, Ningxia Medical University, Yinchuan 750001, China; <sup>2</sup>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 750001, China

Corresponding author: Zhuang Wenjuan, Email: zh\_wenj@163.com

**【Abstract】 Objective** To describe the characteristics of genotype and phenotype in 3 families with X-linked retinoschisis (XLRs) due to RS1 mutations. **Methods** A cross-sectional approach was adopted. Three XLRs families at the Ningxia Eye Hospital from October 2017 to March 2019 were included. Clinical data and peripheral blood of patients and related families were collected and clinically staged were formulated through a comprehensive eye examination. The disease-causing genes screened by panel sequencing underwent conservative analysis, pathogenicity analysis and protein structure prediction by software tools. Analysis of the mutations pathogenicity was performed according to the American College of Medical Genetics and Genomics guidelines. The research was approved by Medical Ethics Committee of the People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region and followed the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from each participant. **Results** Total 5 young male patients and 1 middle-aged patient in these three families. The optical coherence tomography (OCT) findings of 5 young patients showed typical macular retinoschisis, which were characterized by stage I of XLRs. One middle-aged patient (II-9) showed a stage III lesion of macular atrophy. The mutations of c. 668G>A, c. 618G>A and exon 1 deletion in RS1 gene were found in the three families. C223 and W206 were verified to be highly conserved in mammals and were predicted to be pathogenic mutations by software and the change of protein structure. Conservation analysis and prediction of protein structure were not performed for the mutation of exon 1 deletion. All the mutations were pathogenic variants

according to the ACGM guidelines. **Conclusions** Mutations of c. 668G>A/p. C223Y, c. 618G>A/p. W206X and exon 1 deletion in *RS1* gene are pathogenic mutations in Chinese XLRS families. The combination of Panel sequencing with pathogenicity analysis and protein structure prediction have important effect to diagnosis and identify the causative genes for the hereditary retinal diseases.

**[Key words]** X-linked retinoschisis; *RS1* gene; Mutation

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

DOI:10.3760/cma.j.cn115985-20190711-00307

先天性视网膜劈裂是罕见的视网膜玻璃体变性疾病,以 X 连锁视网膜劈裂症(X-linked retinoschisis, XLRS)多见<sup>[1-2]</sup>。XLRS 是一种与 X 染色体上 *RS1* 基因有关的隐性遗传的视网膜劈裂,患病率为 1/25 000~1/5 000,是男性青少年黄斑变性的常见原因之一,女性携带者常为正常表型<sup>[3-4]</sup>。XLRS 由 Hass 首次报道<sup>[5]</sup>, Sauer 等<sup>[6]</sup> 1997 年由 Sauge<sup>[6]</sup> 确定其致病原因是 *RS1* 基因突变。XLRS 的特征性临床表现是双侧黄斑区车辐状图案样病变,黄斑区有视网膜层间劈裂囊肿,可发生于不同的视网膜层,其中多为内核层劈裂,神经纤维层、内丛状层、外丛状层和外核层较少见。约 50% 的患者伴周边视网膜劈裂,极少数患者劈裂仅发生于周边视网膜<sup>[8]</sup>。与其他视网膜病变一样, XLRS 患者的全视野视网膜电图(electroretinogram, ERG)也可出现负性波形<sup>[9-10]</sup>。XLRS 患儿多于学龄期因视力下降就诊,同时可伴有眼球震颤、斜视、白内障、玻璃体积血或者视网膜脱离等<sup>[11-12]</sup>。光相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)在 XLRS 的诊断中具有突出的优势。*RS1* 基因(NM-000330)是 XLRS 已知的常见致病基因,位于 X 染色体短臂 22 区,共 6 个外显子,编码一个由 224 个氨基酸组成的蛋白质 Retinoschisin (RS),为一种八聚复合体功能蛋白<sup>[12-13]</sup>。RS 主要表达于视网膜的光感受器和双极细胞,在维持光感受器和双极细胞的结构和功能中有重要作用<sup>[11,14]</sup>。本研究中通过对 3 个 XLRS 家系进行临床评估、Panel 测序以及生物信息学致病性分析,探寻其遗传学及临床表型的特征,预测疾病的转归。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

采用横断面研究方法,纳入 2017 年 12 月至 2019 年 3 月在宁夏眼科医院就诊的 3 个先天性视网膜劈裂症家系,包括 1 个回族家系和 2 个汉族家系。3 个家系中共 24 名受检者,包括男性患者 6 例、女性携带者 5 例以及表型和基因型均正常的家系成员 13 名。本研究严格遵循赫尔辛基宣言并通过宁夏回族自治区人民医院伦理委员会批准(伦审号:2017-075)。受检者接受

任何医疗检查前均签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 临床检查** 所有受检者均接受裂隙灯显微镜(日本 TOPCON 株式会社,型号 SL-2G)、间接检眼镜(苏州六六医疗器械公司,型号 YZ6F)、最佳矫正视力(best corrected visual acuity, BCVA)、眼压(日本 TOPCON 株式会社,型号 CT-1)、验光(日本 TOPCON 株式会社,型号 KR-8900)、彩色眼底照相(日本 TOPCON 株式会社,型号 TRC-NW300)、OCT(德国 Zeiss 公司,型号 HD-OCT 4000)和 ERG(德国罗兰公司,型号 RETI-Port/Scan21)检查。

**1.2.2 基因检测** 采集患者及其表型正常家系成员的外周静脉血 5 ml,利用基因组 DNA 提取试剂盒提取外周血 DNA,PCR 扩增后进行视网膜疾病 Panel 测序筛选突变基因。基因测序由北京迈基诺基因科技股份有限公司完成。

**1.2.3 致病性突变分析** 对候选的基因单核苷酸变异进行致病性分析、氨基酸的保守性分析和蛋白质结构预测。(1)致病性分析:工具选择包括 SIFT、Polyphen-2、MT (mutation taster)、PROVEAN、REVEL、CADD (combined Annotation-dependent depletion)、HSF、PhCons 和 phloP 9 种预测软件以及和 4 个数据库,分别为 1000 Genomes (1000 G)、the Exome Aggregation Consortium (ExAC) 正常人数据库、视网膜疾病数据库 the Leiden Open Variation Database (LOVD)、疾病数据库 the Human Genetic Mutation Database (HGMD)。突变的致病性分析遵循美国医学遗传学与基因组学学会和美国分子病理学会的基因变异解读标准和指南<sup>[15]</sup>。(2)氨基酸保守性分析:利用 Clustalx 软件选择人、小鼠、大鼠、牛、家犬、猪、马、鲸、猩猩、狒狒、赤狐和猫等 12 种哺乳动物进行氨基酸的保守性分析。(3)致病性预测:采用 SWISS-MODEL 蛋白质预测软件构建突变基因的蛋白模型。

## 2 结果

### 2.1 XLRS 家系患者临床表现

家系 1 为汉族,家系图见图 1。

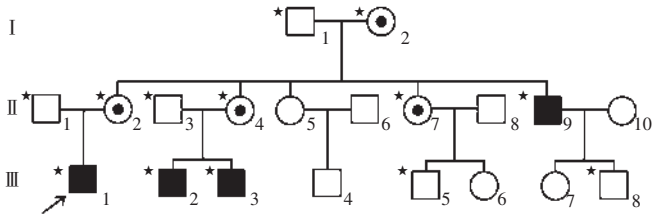


图 1 XLRS 家系 1 的家系图 □:正常男性;○:正常女性;■:男性患者;◎:女性携带者;★:受检者;↗:先证者  
 Figure 1 XLRS pedigree of Family 1 □: normal males; ○: normal females; ■: male patients; ◎: female carrier; ★: participants; ↗: proband

先证者 III-1 为 36 岁男性,8 岁时因双眼视力下降就诊,诊断为双眼先天性视网膜劈裂症,未治疗。患者右眼 BCVA 0.1,左眼 0.2。先证者主诉视力为逐渐下降,25 岁后视力稳定(表 1)。眼底可见双侧黄斑区花瓣样水肿,中心凹光反射消失,有少量色素沉着,右眼可见增生膜由鼻侧下方延伸到颞侧(图 2)。OCT 显示双侧黄斑区视网膜增厚右眼,中心凹厚度为 603 μm,左眼 656 μm,黄斑处视网膜内核层有一隆起囊肿,近黄斑旁内核层可见大量被桥样连接分隔的小囊肿(图 2,3)。黄斑区花瓣样水肿改变和内核层的劈裂腔提示先证者为 I 期 XLRS<sup>[16]</sup>。

表 1 先证者 III-1 视力变化  
 Table 1 The changes of visual acuity proband III-1

时间(年)	年龄(岁)	BCVA(右/左)
1992	8	0.2 /0.6
1996	12	0.2 /0.4
1997	13	0.2 /0.3
2008	25	0.12/0.2
2017	34	0.1 /0.2
2018	35	0.1 /0.2
2019	36	0.1 /0.2

注:BCVA:最佳矫正视力  
 Note:BCVA:best corrected visual acuity

II-9 患者 46 岁,自幼视力下降,8 岁时因右眼先天性白内障行白内障手术,18 岁时诊断为双眼先天性视网膜劈裂症。患者近 2 年视力明显下降,右眼无光感,为无晶状体眼,眼底窥不见;左眼矫正视力为 0.15,眼底黄斑部萎缩、变薄,临床分期为视网膜劈裂症 III 期(图 4)。

III-2 32 岁和 III-3 29 岁均为男性,学龄期均出现双眼视力下降,眼底表现为典型的黄斑部车辐状改变,视网膜内核层均有被桥样连接间隔的多个大小不等的劈裂囊肿(图 5,6)。

家系 1 III-1、II-9、III-2 和 III-3 暗适应 ERG 均表

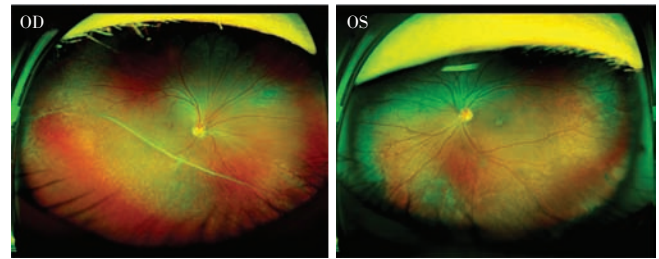


图 2 家系 1 先证者 III-1 的眼底表现 双眼黄斑区劈裂样改变,右眼见增生膜  
 Figure 2 Fundus manifestations of the proband III-1 in pedigree 1 Split-like changes in the macular in both eyes, and a proliferative membrane in right eye

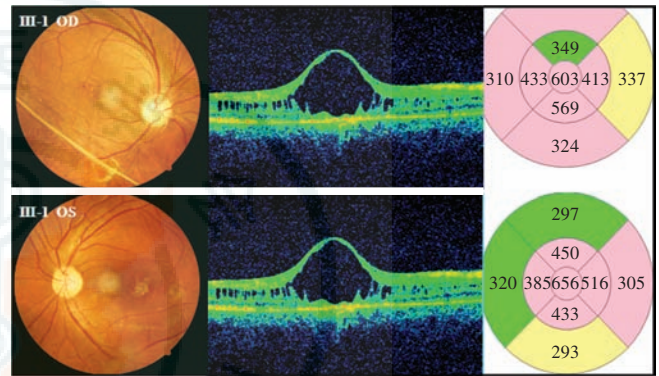


图 3 家系 1 先证者 III-1 的彩色眼底照相和 OCT 表现 彩色眼底照相示黄斑区劈裂改变,OCT 示视网膜劈裂,黄斑中心厚度增加  
 Figure 3 Fundus photography and OCT of male patients III-1 in pedigree 1 Changes in macular by colored fundus photographs and retinoschisis, thickened thickness in macular by OCT

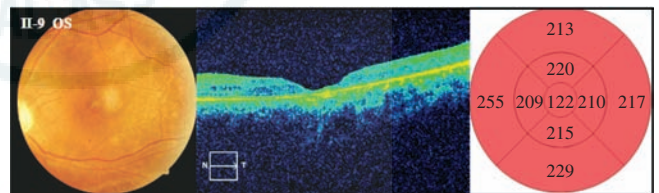


图 4 家系 1 II-9 彩色眼底照相和 OCT 表现 彩色眼底照相示黄斑区劈裂改变,OCT 示黄斑区视网膜萎缩,厚度减小  
 Figure 4 Fundus photography and OCT of II-9 in pedigree 1 Changes in macular by colored fundus photographs and retinal atrophy in the macula and thinner thickness

现为 a、b 波振幅明显下降(图 7,表 2),家系 1 中 4 位女性携带者和其他受检者表型均正常,OCT 检查视网膜结构形态正常(图 8)。

家系 1 中 4 例男性患者眼部表型见表 3。3 例年轻患者随年龄增长 OCT 显示中央视网膜厚度逐渐增加,黄斑内核层劈裂囊肿逐渐扩大、隆起高度逐渐增加,视网膜外界膜、肌样体等结构渐渐被破坏消失。患者 II-9 年龄最大,视力最差,OCT 示中央视网膜厚度减小,黄斑区视网膜萎缩,视网膜各层结构破坏。

家系 2 为回族,家系图见图 9。先证者 II-4 26 岁,男性,自幼视力欠佳。2017 年因双眼视力下降诊断为

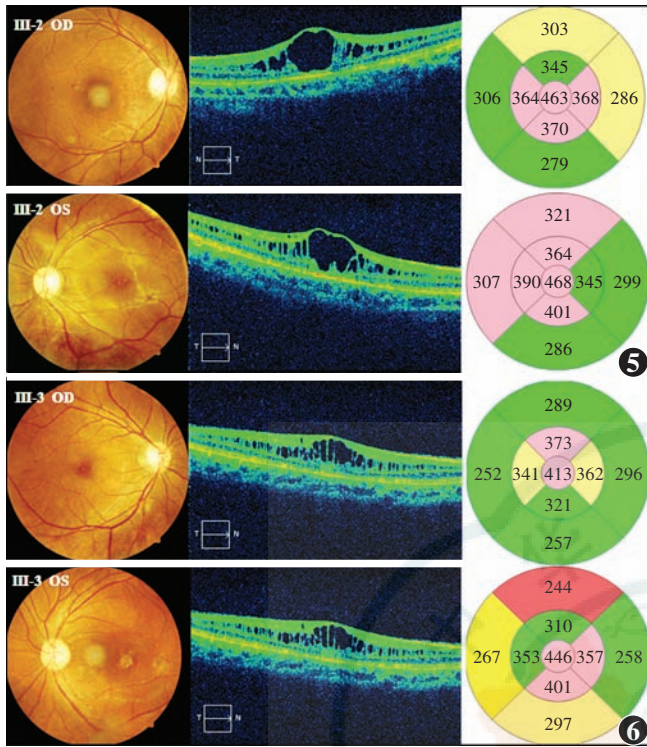


图 5 家系 1 III-2 的彩色眼底照相和 OCT 表现 彩色眼底照相示黄斑区劈裂改变, OCT 示视网膜劈裂, 黄斑中心厚度增加 图 6 家系 1 III-3 的彩色眼底照相和 OCT 表现 彩色眼底照相示黄斑区劈裂改变, OCT 示视网膜劈裂, 黄斑中心厚度增加

Figure 5 Fundus photography and OCT of III-2 in pedigree 1 Changes in macular by colored fundus photographs and retinoschisis, thickened thickness in macular by OCT Figure 6 Fundus photography and OCT of III-3 in pedigree 1 Changes in macular by colored fundus photographs and retinoschisis, thickened thickness in macular by OCT

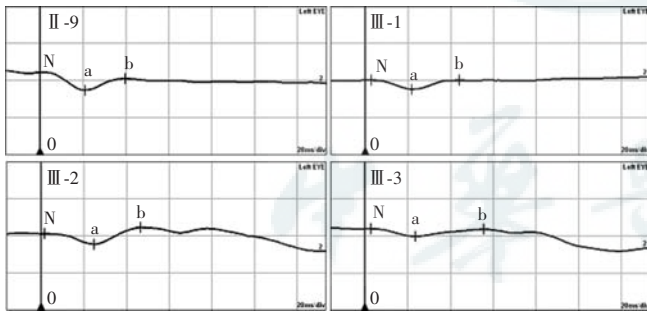


图 7 家系 1 中 4 例患者左眼标准暗适应 3.0 ERG 表现 III-9、III-1、III-2 和 II-3 患者 ERG b 波振幅均降低

Figure 7 Standard dark adaptation 3.0 ERG for four patients in the left eyes in pedigree 1 Patients of III-9, III-1, III-2 and II-3 showed reduced b wave by ERG

先天性视网膜劈裂症, 双眼 BCVA 分别为 0.5 和 0.25。眼底检查可见典型 XLRS 的双侧黄斑车辐状图案和放射状线条。OCT 示双眼黄斑及中心凹旁区域视网膜内核层多个大小不等的囊样劈裂腔, 为视网膜劈裂症 I 期。ERG 检查示 a 波振幅降低。家系其他受检者 BCVA、OCT 均正常。

家系 3 为汉族, 家系图见图 10。先证者 II-4, 21

岁, 男性, 自幼双眼视力下降。2016 年诊断为双眼先天性视网膜劈裂症, 具有 XLRS 典型眼底改变。OCT 示双眼黄斑视网膜多个劈裂腔, 为视网膜劈裂症临床 I 期表现。ERG 明暗适应 b 波振幅下降。家系其他受检者表型均正常。

表 2 家系 1 中患者的标准暗适应 3.0 ERG 检查 Table 2 Standard dark adaptation 3.0 ERG for patients in pedigree 1

患者	眼别	a 波 (μV)	b 波 (μV)	b/a 值
III-3	右眼	50.90	128.00	2.15
	左眼	101.00	92.80	0.91
III-2	右眼	155.00	256.00	1.65
	左眼	146.00	232.00	1.59
III-1	右眼	101.00	87.30	0.87
	左眼	127.00	126.00	0.98
II-9	右眼	3.98	8.13	2.04
	左眼	244.00	161.00	0.66
参考值		>170.00	320.00-470.00	>2.00

注: ERG: 视网膜电图

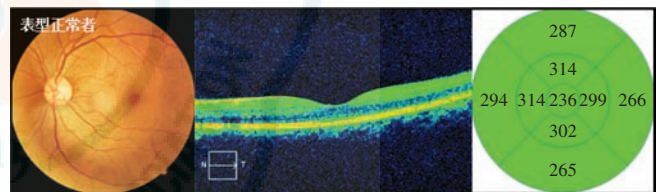


图 8 家系 1 中正常表型者的彩色眼底照相和 OCT 表现 彩色眼底照相示黄斑区视网膜形态正常, OCT 示黄斑区视网膜形态和厚度正常

Figure 8 Fundus photography and OCT of male patients and normal in pedigree 1 Normal color fundus photography and normal retina morphology in OCT

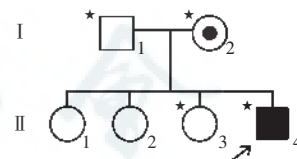


图 9 家系 2 家系图 □: 正常男性; ○: 正常女性; ■: 男性患者; ◎: 女性携带者; ★: 受检者; ↗: 先证者

Figure 9 Pedigree of family 2 □: normal male; ○: normal females; ■: male patient; ◎: female carrier; ★: participants; ↗: proband

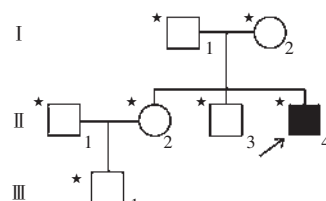


图 10 家系 3 家系图 □: 正常男性; ○: 正常女性; ■: 男性患者; ★: 受检者; ↗: 先证者

Figure 10 Pedigree of family 3 □: normal males; ○: normal females; ■: male patient; ★: participants; ↗: proband

表 3 XLRS 家系患者眼科基本检查、分期和 *RSI* 基因突变  
Table 3 Basic ophthalmic examination, staging, and *RSI* mutation in XLRS families

家系患者	年龄(岁)	发病年龄	BCVA(右/左)	全视野 ERG	眼底照相	视网膜中央厚度(右/左, $\mu\text{m}$ )	黄斑 OCT	临床分期	并发症	突变
1 II-9	46	自幼	-/0.15	双眼 b 波振幅严重降低	双眼黄斑萎缩	数据缺失/122	右眼数据缺失, 左眼黄斑区萎缩	III	右眼数据缺失, 左眼白内障	c. 668G>A/p. C223Y
1 III-1	36	8 岁	0.1/0.2	双眼 b 波振幅降低	双眼黄斑劈裂, 花瓣样水肿	603/656	双眼黄斑囊腔隆起, 近黄斑旁小囊腔减少, 囊腔壁变薄, 外界膜、肌样体带和椭圆体带破坏	I	无	c. 668G>A/p. C223Y
1 III-2	31	学龄期	0.2/0.3	双眼 b 波振幅减低	双眼黄斑劈裂, 辐样改变	468/463	双眼黄斑囊腔隆起, 近黄斑旁小囊腔减少, 囊壁变薄, 外界膜、肌样体带和椭圆体带破坏	I	双眼白内障	c. 668G>A/p. C223Y
1 III-3	28	学龄期	0.2/0.2	双眼 b 波振幅减低	双眼黄斑劈裂, 辐样改变	413/466	双眼囊腔大小由中央向周围依次缓慢缩小, 数量较多, 囊腔壁较厚	I	双眼白内障	c. 668G>A/p. C223Y
2 II-4	26	自幼	0.5/0.25	双眼 b 波振幅减低	双眼黄斑劈裂, 辐样改变	336/548	双眼黄斑囊腔隆起, 近黄斑旁见多个小囊腔, 黄斑区外界膜、肌样体带和椭圆体带破坏	I	无	c. 618G>A/p. W206X
3 II-4	21	自幼	0.4/0.3	双眼 b 波振幅减低	双眼黄斑劈裂, 辐样改变	349/412	双眼黄斑囊腔隆起, 近黄斑旁见多个小囊腔	I	无	外显子 1 缺失

注: XLRS: X 连锁视网膜劈裂症; BCVA: 最佳矫正视力; ERG: 视网膜电图; OCT: 光相干断层扫描; -: 无光感

Note: XLRS: X-linked retinoschisis; BCVA: best corrected visual acuity; ERG: electroretinogram; OCT: optical coherence tomography

## 2.2 XLRS 家系的遗传学表现

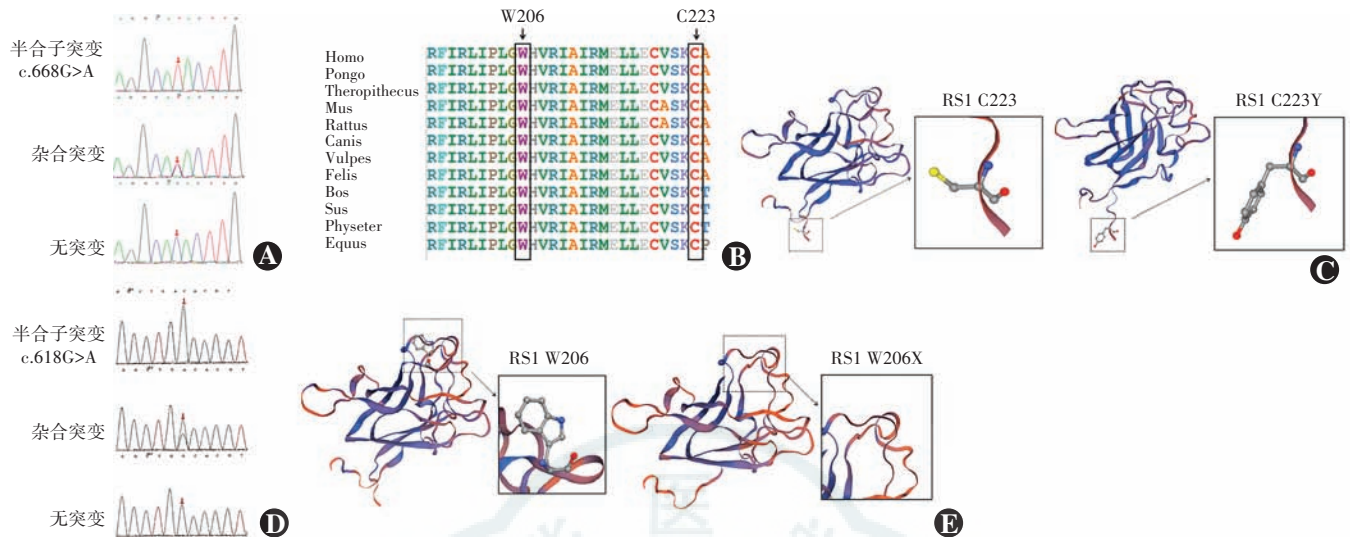
视网膜 Panel 测序发现, 家系 1 患者 *RSI* 基因第 6 外显子发生错义突变为 c. 668G>A/p. C223Y (图 11A)。对家系中其他受检者进行 Sanger 验证分析, 呈家系共分离现象, 家系 1 中 4 例男性患者均为半合子突变, 女性为表型正常的杂合子携带者。在正常人群数据库 1000G 和 ExAC 中以及视网膜疾病数据库 LOVD 数据库 (2011 年更新) 中未发现此突变, 但在 HGMD 疾病数据库可发现此突变。经 SIFT、PolyPhen-2、SIFT、Polyphen-2、MT、PROVEAN、REVEL、CADD、HSF、PhCons 和 phloP 9 个软件工具对 p. C223Y 进行预测, 结果均为有害突变。根据 ACMG 标准和指南, 该家系 *RSI* 基因突变为 c. 668G>A/p. C223Y 满足 2 个 PS 证据、3 个 PM 证据和 3 个 PP 证据, 证实该突变为致病性变异。保守性分析显示, 223 号氨基酸 (半胱氨酸) 在 12 种哺乳动物序列中呈高度保守状态 (图 11B)。蛋白质结构预测发现, 核苷酸 668 位密码子的改变使 223 号位氨基酸由半胱氨酸变为酪氨酸, 氨基酸残基结构发生变化 (图 11C)。

视网膜 Panel 测序发现家系 2 患者 *RSI* 基因第 6 外显子上的无义突变为 c. 618G>A/p. W206X (图 11D), 该突变在此家系中呈家系共分离现象, 患者为半合子突变, 其母亲为突变携带者, 父亲和胞姐无变

异。正常人群数据库 1000G 和 ExAC 中未发现该突变, 但在 LOVD 数据库 (2011 年更新) 和 HGMD 疾病数据库发现该突变, c. 618G>A/p. W206X 突变不属于 *RSI* 基因多态性。MT、REVEL、CADD、PhCons 和 phloP 5 个软件工具对 c. 618G>A 进行预测证实为有害突变。根据 ACMG 分析, 该具有 1 个 PVS 证据、2 个 PS 证据、2 个 PM 证据和 4 个 PP 证据, 满足致病性标准, 因此该突变为致病性变异。氨基酸序列比对显示 206 号半胱氨酸在 12 种哺乳动物中呈高度保守 (图 11B)。*RSI* 基因第 618 位密码子 G 突变为 A, 蛋白质翻译在第 206 位置发生终止, 蛋白质长度改变 (图 11E)。

视网膜 Panel 在家系 3 患者中检测出 *RSI* 基因的外显子 1 缺失, 在此家系中为新生突变, 家系其他表型正常的受检者未发现 *RSI* 基因变异。正常人群数据库 1000G 和 ExAC 中未发现该突变, 但在 LOVD 数据库 (2011 年更新) 和 HGMD 疾病数据库发现此突变。根据 ACMG 分析, 突变符合 PVS、PS1、PS2、PS4、PM2、PP2、PP4 7 个证据, 证实外显子 1 缺失为致病性突变。外显子 1 缺失突变中缺失的核苷酸数目未知, 不能进行保守性分析和蛋白质结构的预测。

患者表型分析及 *RSI* 基因突变致病性分析见表 4 及表 5。



**图 11 基因突变序列图、氨基酸保守性和蛋白结构模型** A: *RSI* 突变 c. 668G>A/p. C223Y 序列图 B: *RSI* 基因 C223 和 W206 保守性分析 C: 突变 c. 668G>A/p. C223Y 的蛋白质模型预测结果 D: 突变 c. 618G>A/p. W206X 的序列图 E: 突变 c. 618G>A/p. W206X 蛋白结构预测  
**Figure 11 Gene mutation sequence, amino acid conservation and protein structure** A: Sequence of *RSI* mutation c. 668G>A/p. C223Y B: Conservative analysis of C223 and W206 C: Protein model of mutation c. 668G>A/p. C223Y D: Sequence of mutation c. 618G>A/p. W206X E: Protein model of mutation c. 618G>A/p. W206X

**表 4 *RSI* 基因突变致病性分析**  
**Table 4 Pathogenicity analysis of *RSI* gene mutation**

突变	类别	标准证据	相关情况
c. 668G>A/p. C223Y	PS1	已报道 <sup>[22,24]</sup>	发生与已确定的致病性相同的氨基酸改变 <sup>[22,24]</sup>
	PS4	自发突变, 亲子关系确定(家系验证)	突变在家族中有 4 个男性患者, 可作为致病性的有力证据
	PM1	位于突变热点或功能区域	位于功能结构域中, 且不是功能区区域中的良性变异
	PM2	正常人群中不出现或隐性突变频率极低	在正常人群数据库(1000G 和 ExAC)中缺乏突变数据
	PM5	已报道同一位置不同氨基酸突变 <sup>[22,24]</sup>	氨基酸残基中存在错义改变(HGMD 数据库)
	PP1	家系中呈遗传共分离	已报道的 2 个家系中共分离出此变异 <sup>[22,24]</sup>
	PP3	软件预测为致病性	SIFT、PolyPhen-2、PROVEAN、MT、REVEL、CADD、HSF、PhCons 和 phyloP 等软件分析结果为有害突变
c. 618G>A/p. W206X	PP4	为单基因致病性疾病, 表型或家族史具有高度特异性	有家族遗传史, 且具有 XLRS 的典型表型
	PVS	大突变: 无义、移码、起始密码子、剪接、外显子缺失	突变为无义突变
	PS1	已报道 <sup>[26]</sup>	发生与已确定的致病性相同的氨基酸改变 <sup>[26]</sup>
	PS4	高风险位点	其他患者或家系中也发现
	PM1	位于突变热点或功能区域	位于功能结构域中, 且不是功能区区域中的良性变异
	PM2	正常人群中不出现或隐性突变频率极低	正常人群数据库(1000G 和 ExAC)中缺乏突变数据
	PP1	家系中呈遗传共分离	在其他已报道的家系中也共分离出此变异 <sup>[26]</sup>
exon1 del	PP2	该基因良性变异率较低	错义突变, 良性变异频率较低
	PP3	软件预测为致病性	MT、REVEL、CADD、PhCons、phyloP 等软件分析结果为有害突变
	PP4	为单基因致病性疾病, 表型或家族史具有高度特异性	单基因疾病, 且具有 XLRS 的典型表型
	PVS	大突变: 无义、移码、起始密码子、剪接、外显子缺失	为外显子 1 缺失
	PS1	已有报道 <sup>[26-27]</sup>	发生与已确定的致病性相同的氨基酸改变 <sup>[26-27]</sup>
	PS2	de novo 变异(经父本和母本确认), 无家族史	亲生家庭, 家庭中无携带者或除先证者外的患者
	PS4	高风险位点	其他患者或家系中也发现 <sup>[26-27]</sup>
	PM2	正常人群中不出现或隐性突变频率极低	正常人群数据库(1000G 和 ExAC)中缺乏突变数据
	PP2	该基因良性变异率较低	外显子缺失突变, 无良性变异
	PP4	为单基因致病性疾病, 表型或家族史具有高度特异性	单基因疾病, 且具有 XLRS 的典型表型

注: MT、CADD 和 HSF 为预测软件; 1000G: 千人基因组数据库; ExAC: 外显子聚合数据库; LOVD: 莱顿开放数据库; HGMD: 人类基因突变数据库

Note: MT: mutation taster; CADD: combined Annotation-dependent depletion; HSF: Human Splicing Finder; 1000G: 1000 Genomes; ExAC: Exome aggregation consortium; LOVD: leiden open variation database; HGMD: human genetic mutation database

表 5 先证者与已报道 *RS1* 基因突变 c. 668G>A/p. C223Y 和外显子 1 缺失文献中患者表型  
Table 5 Phenotypic of probands and patients with *RS1* gene mutations c. 668G>A/p. C223Y and exon 1 deletion in the literature

	年龄 (岁)	核苷酸 突变	蛋白质 突变	发病年龄 (岁)	BCVA (右/左)	黄斑 改变	周围视网膜 病变	视网膜 裂孔	OCT	全视野 ERG	家族史
家系 1 III-1	36	c. 668G>A	p. C223Y	8	0. 1/0. 2	有	无	无	劈裂腔	b 波降低	有
Yi 等 <sup>[28]</sup>	9	c. 668G>A	p. C223Y	6	0. 4/0. 3	有	有	有	劈裂腔	-	无
家系 3 II-4	21	del exon 1	-	自幼	0. 4/0. 3	有	无	无	劈裂腔	b 波降低	无
Chen 等 <sup>[23]</sup>	8	del exon 1	-	6	0. 4/0. 4	有	无	无	劈裂腔	暗适应降低	无

注: BCVA: 最佳矫正视力; OCT: 光相干断层扫描; ERG: 视网膜电图; -: 没有数据或文中未提及

Note: BCVA: best corrected visual acuity; OCT: optical coherence tomography; ERG: electroretinogram; -: no data or no mention in the article

### 3 讨论

XLRS 具有家族遗传特点, 男性患者多于女性患者<sup>[3, 17-18]</sup>。XLRS 患者一般 10 岁前发病, 出现视网膜层间劈裂伴视力下降, 成年之前视力呈进行性下降, 20 岁后视力基本保持稳定。OCT 检查可见视网膜劈裂腔, 对 XLRS 的临床诊断有重要作用, 其典型表现为黄斑区视网膜内核层劈裂、隆起, 形成囊腔, 近黄斑旁视网膜可见桥样连接分隔的小囊腔。早期临床 I 期者视网膜内囊腔大小可保持不变, 或者囊腔逐渐扩大、隆起, 高度逐渐增加; 中期(临床 II 期)时出现囊腔破裂或者塌陷, 局部隆起则消失; 晚期(临床 III 期)黄斑区视网膜出现非特异性萎缩<sup>[16, 19]</sup>。随着黄斑病变的发展, 患者 50 岁左右时黄斑区表现为非特异性萎缩性, 即便未发生视网膜脱离或玻璃体积血等并发症, 视力也会进行性降低<sup>[20]</sup>。研究发现, XLRS 患者也可有正常 ERG 波形和振幅, 因此 ERG 为患者视网膜功能评估的重要指标<sup>[21]</sup>, ERG b/a 值可能与 XLRS 表型存在某种联系<sup>[22]</sup>。本研究中所有患者暗适应 ERG 均表现为 b 波振幅降低。

与 Sanger 测序和全外显子测序相比, Panel 测序针对性地从已知的视网膜疾病相关基因中进行筛选, 具有高效、快捷、检测费用低等优点。本研究中利用蛋白质预测软件和 9 个预测致病性的软件工具对发现的 3 个突变进行致病性预测, 并根据 ACGM 指南对突变进行分析, 证实 *RS1* 基因的 c. 668G>A、c. 618G>A 和外显子 1 缺失是 XLRS 的致病突变。Panel 测序联合致病性预测软件工具的应用能高效筛选出可能致病的基因, 在临床中遗传性视网膜疾病的诊断及致病基因的确方面发挥重要作用。

本研究通过视网膜 Panel 检测在家系 1 中发现的 *RS1* 基因第 6 外显子的 c. 668G>A/p. C223Y 为已知突变, 致核苷酸第 668 位 G 变为 A, 导致氨基酸第 223 位半胱氨酸被酪氨酸取代产生错义突变。氨基酸 C223

位于 *RS1* 基因盘状区域中外显子 6 的 C-末端, 与 C59 一起形成二硫键, 维持蛋白结构的稳定性<sup>[22-24]</sup>。该突变导致氨基酸残基改变, C223 与 C59 之间的二硫键受到破坏, 蛋白质结构发生变化, 原来结构域的稳定性降低, 导致盘状结构域不能组成正常的多亚基复合物, 进一步影响视网膜光感受器和双极细胞突触的结构, 破坏视网膜结构和功能。Sergeev 等<sup>[22]</sup>、余洪华等<sup>[24]</sup>和 Yi 等<sup>[25]</sup>分别在白人和中国人中发现 *RS1* 基因的该突变, 此位点在中国人人群中突变率更高。Yi 等<sup>[25]</sup>在中国家系中发现并描述了 c. 668G>A/p. C223 突变的临床表型, 患者表现为黄斑区和周边视网膜劈裂, 伴视网膜裂孔, 与本研究的家系 1 中患者的临床表现不同, 表明基因型相同的 XLRS 患者其表型具有异质性。Murro 等<sup>[26]</sup>对 1 对同卵双生的早发型 XLRS 患者进行研究, 发现 2 例患者基因型相同但表型不同, 证实 XLRS 同一基因型的表型会有个体差异。与 Murro 等<sup>[26]</sup>研究结果不同的是, 本研究中 4 例患者发病年龄相近, 临床表型基本相同, 提示同一家系中相同基因型的 XLRS 患者表型也会相同。本研究中描述了同一基因突变(c. 668G>A)的 3 代人 28~46 岁的 4 例男性患者的临床表型, 依据 OCT 和彩色眼底照相对不同年龄患者进行 XLRS 临床分期。XLRS 自然病程表现为, 青年时期患者 OCT 视网膜内核层形成的囊腔随着年龄增加逐渐扩大融合, 囊腔隆起, 腔壁拉伸变薄, 中央视网膜厚度逐渐增加, 中年(45 岁以上)患者视网膜劈裂腔塌陷、萎缩, 视网膜结构逐渐破坏或消失。黄斑区视网膜改变可能是此 XLRS 家族患者视网膜劈裂的自然病程和转归, 视力变化与黄斑视网膜病变的发展基本一致, 即青年时视力稳定, 中年时视网膜组织破坏, 黄斑萎缩、变薄而致视力下降, 但视力与黄斑区中央视网膜厚度不成比例。

我们在家系 2 中检测到 *RS1* 基因第 6 外显子 618 位碱基 A 被碱基 G 替代, 最终在第 206 个氨基酸处翻译提前发生终止。此突变位于 *RS1* 基因的盘状功能

区域内,产生无功能的 RS 蛋白,严重影响视网膜细胞正常结构和功能。研究发现,2 个法国 XLRS 家系与 *RS1* 基因 c. 618G>A/p. W206X 突变有关<sup>[27]</sup>。本研究的家系 2 中 *RS1* 基因 c. 618G>A/p. W206X 突变是首次在中国人群中发现,这表明该突变不限于白种人群,也是中国 XLRS 家系的致病基因位点。

家系 3 中除先证者外未发现其他受检者 *RS1* 基因外显子 1 的缺失突变,推测此 *RS1* 基因突变可能是卵子或者受精卵发生了新突变。外显子 1 位于 N—端信号编码区域,编码的肽链主要负责引导 RS 蛋白向细胞外转移。外显子 1 的缺失破坏了 N—端的信号区域,使引导 RS 蛋白向细胞外转移的结构缺失,导致 RS 蛋白生成后不能转移到细胞外,视网膜光感受器和双极细胞结构和功能出现异常。目前有 4 个丹麦 XLRS 家系<sup>[27]</sup>、3 个中国 XLRS 家系<sup>[28-29]</sup>、2 个美国 XLRS 家系<sup>[30-31]</sup>和 1 个德国 XLRS 家系<sup>[9]</sup>均发现了 *RS1* 基因的外显子 1 缺失突变。外显子 1 的缺失突变在 *RS1* 基因突变的发生率较高,是 XLRS 的热点突变,且在不同种族中均有发现。

本研究中的 5 例患者年龄为 21~36 岁,均在 10 岁前发病,双眼 BCVA 为 0.1~0.5, OCT 示双眼黄斑区内核层视网膜可见多个隆起的视网膜劈裂腔,均表现为视网膜劈裂症 I 期并检测出 *RS1* 基因的致病性突变。推测 XLRS 患者在青年时期临床表现具有一致性,中央视网膜厚度与年龄有关,年龄越大,黄斑厚度越厚,而黄斑中央的厚度与视力无明显关系,可能与基因型有关。

*RS1* 基因突变是 XLRS 常见的致病原因。据人类基因突变数据库(HGMD 数据库)统计,有 293 种 *RS1* 基因的致病性变异,其中错义突变占大多数<sup>[27-28,32]</sup>。*RS1* 基因的所有外显子区域的突变都可以致病并导致 XLRS,但主要的突变区域位于 4-6 外显子编码的蛋白质盘状结构域中,这是一个高度保守的功能区域<sup>[14,23]</sup>。诸多关于视网膜 RS 蛋白盘状结构域内的致病突变均说明,盘状结构域对维持蛋白质正常功能有重要作用<sup>[11,14,23]</sup>。*RS1* 基因盘状结构域内发生突变后破坏光感受器和双极细胞的细胞黏附作用和信号传导作用,从而影响视网膜的结构和功能的完整性,导致疾病的发生。Chen 等<sup>[33]</sup>对 *RS1-KI* 基因小鼠进行研究,证明 *RS1* 基因突变使有序的视网膜结构受到破坏,导致视网膜劈裂。目前小鼠 *RS1* 基因的治疗试验取得成功,该疗法已开始进入临床试验阶段<sup>[34]</sup>。关于 XLRS 发展的机制、治疗和预后尚需进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在任何利益冲突

## 参考文献

- [1] Madjarov B, Hilton GF, Brinton DA, et al. A new classification of the retinoschisis [J]. *Retina*, 1995, 15 : 282 - 285. DOI: 10. 1097/00006982-199515040-00002.
- [2] Prenner JL, Capone A, Ciaccia C, A al. Congenital X-linked retinoschisis classification system [J]. *Retina*, 2006, 26 : 61 - 64. DOI: 10. 1097/01. iae. 0000244290. 09499. c1.
- [3] Altschwager P, Ambrosio L, Swanson EA, et al. Juvenile macular degenerations [J]. *Semin Pediatr Neurol*, 2017, 24 : 104 - 409. DOI: 10. 1016/j. spen. 2017. 05. 005.
- [4] Skorzczak A, Krawczyński MR. Four novel *RS1* gene mutations in Polish patients with X-linked juvenile retinoschisis [J]. *Mol Vis*, 2012, 18 : 3004 - 3012.
- [5] Hass J. Ueber das zusammenvorkommen von veränderungen der retina und chorioidea [J]. *Arch Augenheilkd*, 1898, 37 : 343 - 348.
- [6] Sauer CG, Gehrig A, Warneke-Wittstock R, et al. Positional cloning of the gene associated with X-linked juvenile retinoschisis [J]. *Nat Genet*, 1997, 17 : 164 - 170. DOI: 10. 1038/ng1097-164.
- [7] Huang CT, Chen SP, Tsai RK. The gene mutation in a Taiwanese family with X-linked retinoschisis [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2015, 31 : 309 - 314. DOI: 10. 1016/j. kjms. 2015. 03. 001.
- [8] Rao P, Dedania VS, Drenser KA. Congenital X-linked retinoschisis: an updated clinical review [J]. *Asia Pac J Ophthalmol*, 2018, 7 ( 3 ) : 169 - 175. DOI: 10. 22608/APO. 201803.
- [9] Renner AB, Kellner U, Fiebig B, et al. ERG variability in X-linked congenital retinoschisis patients with mutations in the *RS1* gene and the diagnostic importance of fundus autofluorescence and OCT [J]. *Doc Ophthalmol*, 2008, 116 : 97 - 109. DOI: 10. 1007/s10633-007-9094-5.
- [10] Molday RS, Kellner U, Weber BH. X-linked juvenile retinoschisis: Clinical diagnosis, genetic analysis, and molecular mechanisms [J]. *Prog Retinal Eye Res*, 2012, 31 : 159 - 212. DOI: 10. 1016/j. preteyerres. 2011. 12. 002.
- [11] Piermarocchi S, Miotto S, Colavito D, et al. Long-term rearrangement of retinal structures in a novel mutation of X-linked retinoschisis [J]. *Biomed Rep*, 2017, 7 ( 3 ) : 241 - 246. DOI: 10. 3892/br. 2017. 954.
- [12] Kondo H, Oku K, Katagiri S, et al. Novel mutations in the *RS1* gene in Japanese patients with X-linked congenital retinoschisis [J]. *Hum Genome Var*, 2019, 6 : 3 - 9. DOI: 10. 1038/s41439-018-0034-6.
- [13] Sikkink SK, Biswas S, Parry NR, et al. X-linked retinoschisis: an update [J]. *J Med Genet*, 2007, 44 ( 4 ) : 225 - 232. DOI: 10. 1136/jmg. 2006. 047340.
- [14] Vijayasathya C, Ziccardi L, Sieving PA. Biology of retinoschisis [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 723 : 513 - 518. DOI: 10. 1007/978-1-4614-0631-0\_64.
- [15] Li MM, Datto M, Duncavage EJ, 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]. *J Mol Diagn*, 2017, 19 ( 1 ) : 4 - 23. DOI: 10. 1016/j. jmol dx. 2016. 10. 002.
- [16] Stephenson K, Dockery A, Wynne N, et al. Multidial imaging in a pedigree of X-linked retinoschisis with a novel *RS1* variant [J]. *BMC Med Gene*, 2018, 19 ( 1 ) : 195 - 203. DOI: 10. 1186/s12881-018-0712-8.
- [17] Nicolett A, Ziccardi L, Maltese PE, et al. Design and validation of a new MLPA-based assay for the detection of *RS1* Gene deletions and application in a large family with X-linked juvenile retinoschisis [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2017, 21 ( 2 ) : 116 - 121. DOI: 10. 1089/gtmb. 2016. 0257.
- [18] Lee ES, Jang MA, Kim HD, et al. A novel pathogenic *RS1* variant ( c. 362delA ) in a Korean patient with late-onset X-linked retinoschisis [J]. *Ann Lab Med*, 2019, 39 ( 1 ) : 109 - 112. DOI: 10. 3343/alm. 2019. 39. 1. 109.
- [19] Chatziralli I, Theodosiadis G, Brouzas D, et al. Optical coherence tomography evolution in a case of X-linked juvenile retinoschisis: 15



- years of follow-up [J]. *Case Rep Ophthalmol*, 2017, 8 (3) : 459-464. DOI: 10. 1159/000480069.
- [20] Kjellström S, Vijayarathay C, Ponjavic V, et al. Long-term 12 year follow-up of X-linked congenital retinoschisis [J]. *Ophthalmic Genet*, 2010, 31 (3) : 114-125. DOI: 10. 3109/13816810. 2010. 482555.
- [21] Strupaitė R, Ambrozaitytė L, Cimbalistėnė L, et al. X-linked juvenile retinoschisis: phenotypic and genetic characterization [J]. *Int J Ophthalmol*, 2018, 11 (11) : 1875-1878. DOI: 10. 18240/ijo. 2018. 11. 22.
- [22] Sergeev YV, Caruso RC, Meltzer MR, et al. Molecular modeling of retinoschisis with functional analysis of pathogenic mutations from human X-linked retinoschisis [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19 (7) : 1302-1313. DOI: 10. 1093/hmg/ddq006.
- [23] Molday RS. Focus on molecules: retinoschisis (RS1) [J]. *Exp Eye Res*, 2007, 84 (2) : 227-228. DOI: 10. 1016/j. exer. 2005. 12. 013.
- [24] 余洪华, 李涛, 雷蕾, 等. 先天性视网膜劈裂的 RS1 基因突变型及其与临床表型相关性研究 [J]. *中华眼底病杂志*, 2011, 27 (5) : 409-413. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1005-1015. 2011. 05. 002.
- Yu HH, Li T, Lei L, et al. Correlation between RS1 gene mutation genotypes and phenotypes in X-linked retinoschisis [J]. *Hin J Ocul Fundus Dis*, 2011, 27 (5) : 409-413. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1005-1015. 2011. 05. 002.
- [25] Yi J, Li S, Jia X, et al. Novel RS1 mutations associated with X-linked juvenile retinoschisis [J]. *Int J Mol Med*, 2010, 29 (4) : 644-648. DOI: 10. 3892/ijmm. 2012. 882.
- [26] Murro V, Caputo R, Bacci GM, et al. Case report of an atypical early onset X-linked retinoschisis in monozygotic twins [J]. *BMC Ophthalmol*, 2017, 17 (1) : 19-23. DOI: 10. 1186/s12886-017-0406-6.
- [27] Functional implications of the spectrum of mutations found in 234 cases with X-linked juvenile retinoschisis [J]. *Hum Mol Genet*, 1998, 7 (7) : 1185-1192. DOI: 10. 1093/hmg/7. 7. 1185.
- [28] Chen J, Xu K, Zhang X, et al. Novel mutations of the RS1 gene in a cohort of Chinese families with X-linked retinoschisis [J]. *Mol Vis*, 2014, 20 : 132-139.
- [29] 蒋凤, 陈洁琼, 许可, 等. 中国人 X 连锁遗传性视网膜劈裂症患者 RS1 基因突变分析及临床特征 [J]. *眼科*, 2015, 24 (2) : 90-95. DOI: 10. 13281/j. cnki. issn. 1004-4469. 2015. 02. 005.
- Jiang F, Chen JQ, Xu K, et al. Characteristics of RS1 genotype in Chinese patients with X-linked retinoschisis [J]. *Ophthalmol CHN*, 2015, 24 (2) : 90-95. DOI: 10. 13281/j. cnki. issn. 1004-4469. 2015. 02. 005.
- [30] Vincent A, Robson AG, Neveu MM, et al. A phenotype-genotype correlation study of X-linked retinoschisis [J]. *Ophthalmology*, 2013, 120 (7) : 1454-1464. DOI: 10. 1016/j. ophtha. 2012. 12. 008.
- [31] D'Souza L, Cukras C, Antolik C, et al. Characterization of novel RS1 exonic deletions in juvenile X-linked retinoschisis [J]. *Mol Vis*, 2013, 19 : 2209-2216.
- [32] Duncan JL, Ratnam K, Birch DG, et al. Abnormal cone structure in foveal schisis cavities in X-linked retinoschisis from mutations in exon 6 of the RS1 gene [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (13) : 9614-9623. DOI: 10. 1167/iov. 11-8600.
- [33] Chen D, Xu T, Tu M, et al. Recapitulating X-linked juvenile retinoschisis in mouse model by knock-in patient-specific novel mutation [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10 : 453-457. DOI: 10. 3389/fnmol. 2017. 00453.
- [34] Hohman TC. Hereditary retinal dystrophy [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, 242 : 337-367. DOI: 10. 1007/164\_2016\_91.

(收稿日期: 2019-07-11 修回日期: 2020-03-10)

(本文编辑: 杜娟)

读者 · 作者 · 编者

## 本刊对中英文摘要的要求

论著或综述文稿正文请撰写中英文摘要。原创性论著文稿要求为结构式摘要, 包括背景 (Background)、目的 (Objective)、方法 (Methods)、结果 (Results) 和结论 (Conclusions) 5 个要素, 摘要应能够回答以下问题: (1) 为什么进行这项研究。(2) 主要用什么方法进行的研究。(3) 获得什么主要结果。(4) 通过研究得出什么结论等。其中背景部分请概括本课题所涉及的研究内容及亟待解决的问题。目的部分为本课题对上述提出问题设立的目标。方法部分应提供研究对象、样本量、分组情况、各组的干预情况、与研究相适应的观察或检测指标, 获得结局指标的手段和设备等。临床研究请说明是前瞻性研究、回顾性研究还是观察性研究。结果部分请客观描述研究的主要发现, 包括主要的形态学检查表现、相关的关键性或主要的量化资料以及相应的统计学比较结果, 须写明统计学量值及其概率值。结论部分请提出与本研究论据直接相关的、必然的推论, 避免得出过度推测性、评价性和扩大化的结论。摘要请用第三人称客观表述, 不列图表, 不引用文献, 不加评论和解释。英文摘要应与中文摘要内容相对应, 但为了对外交流的需要, 可以略详细。英文摘要应包括论文文题 (正体) 及全部作者姓名 (汉语拼音, 姓在前, 首字母大写, 名在后, 首字母大写, 双字连写。如: Yin Xiaohui)、标准化的单位名称、城市名称 (汉语拼音)、邮政编码及国家名称 (全部为斜体)。请在另起一行处提供通信作者姓名的汉语拼音和 Email 地址, 如 *Corresponding author: Yin Xiaohui, Email: xiaohuih@126.com*。专家述评或综述类文稿请撰写指示性中英文摘要, 摘要内容应包含研究涉及的概念、研究的目的、综述资料的来源、复习的文献量、研究的新发现或应用领域、综合的结果和结论及其意义等必要的信息。

研究论文为前瞻性研究者应在中英文摘要结束处提供临床试验注册号, 以“临床试验注册 (Trial registration)”为标题, 提供注册机构名称和注册号。前瞻性临床研究的论著摘要应注明遵循 CONSORT 声明 (Consolidated Standards of Reporting Trials) (<http://www.consort-standart.org/home>)。

(本刊编辑部)