

· 临床研究 ·

一个中国全色盲家系 *CNGB3* 基因新突变

周钟强 彭海鹰 史平玲 唐贺 魏圆梦 李苗 雷博 黄爱国

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, 郑州 450003

通信作者:彭海鹰, Email: angelphy@163.com

【摘要】目的 探讨全色盲一家系的致病基因突变。 **方法** 采用家系调查研究方法,于 2018 年 11 月对河南省立眼科医院收集的来自河南省洛阳市的汉族全色盲一家系进行基因测序。详细采集患者的病史资料,对患者及其家系成员进行最佳矫正视力(BCVA)测定,采用裂隙灯显微镜和前置镜检查眼前节和眼底,采用客观和主观验光法对受检者进行屈光度检查,采用孟塞尔色觉测试工具 Munsell FM 100 进行色觉检查,采用国际标准化 5 项全视野闪光视网膜电图(FERG)评估视网膜功能,采用眼底照相仪进行眼底照相,采用频域光相干断层扫描成像(SD-OCT)观察受检者视网膜结构。采集先证者(Ⅲ1)及其胞弟(Ⅲ2)、父母的外周静脉血各 4 ml 提取全基因组 DNA,采用包含 441 个致病基因的遗传眼病捕获芯片进行靶向捕获富集高通量测序。由于未检测到有意义的致病基因及突变,因此将Ⅲ1、Ⅲ2 及其父母的 DNA 进行人全基因组测序。测序数据通过与疾病相关的数据库进行比对,对受检者的 DNA 进行 Sanger 测序并对其结果进行生物信息学分析。结合家系图与先证者进行共分离分析。**结果** 该全色盲家系包括三代 10 名成员,患病者 2 例,遗传方式符合常染色体隐性遗传模式。Ⅲ1 及Ⅲ2 均表现为自幼发生的、与年龄增长无关的视力低下和畏光;眼底检查可发现视网膜色素沉积;SD-OCT 检查示双眼黄斑区外界膜及椭圆体带反射信号欠规则;色觉检查示双眼全色盲。FERG 示患者双眼暗视 0.01、3.0 和 10.0 ERG a、b 波振幅及振荡电位轻度下降,明视 ERG a、b 波振幅及 30 Hz ERG 各波振幅严重下降。Ⅲ1 和Ⅲ2 存在 *CNGB3* 基因 1 个新的突变位点 c. 129+1G>A 和 1 个已知的突变位点 c. 1285dupT 组成的复合杂合突变。**结论** *CNGB3* 基因 c. 129+1G>A 和 c. 1285dupT 的复合杂合突变可能是本家系的致病原因,该家系成员在 *CNGB3* 基因 2 个位点同时出现变异时才表现出临床症状。

【关键词】 全色盲; 基因突变; *CNGB3* 基因; 家系**基金项目:** 国家自然科学基金项目(82071008); 河南省人民医院 23456 人才工程项目

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20191217-00549

A novel mutation of *CNGB3* gene in a Chinese achromatopsia family

Zhou Zhongqiang, Peng Haiying, Shi Pingling, Tang He, Wei Yuanmeng, Li Miao, Lei Bo, Huang Aiguo

Henan Eye Institute, Henan Eye Hospital, People's Hospital of Zhengzhou University, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, China

Corresponding author: Peng Haiying, Email: angelphy@163.com

[Abstract] **Objective** To identify the pathogenic gene mutations in a Chinese achromatopsia family.

Methods A pedigree investigation was performed. A Chinese Han pedigree from Luoyang city of China was enrolled in Henan Eye Hospital in November 2018. The medical history of the patients was collected. The best corrected visual acuity (BCVA) of the families was examined. The manifestations of the anterior segment and fundus were obtained via slit lamp biomicroscope and slit lamp lens. The diopter was determined by objective and subjective refraction. Color vision was examined by Farnsworth-Munsell Hue Test. Retinal function was evaluated by international standard electroretinogram (ERG). Retina was observed by color photography, and its structural image was obtained by spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT). The peripheral blood sample was collected from the proband (Ⅲ1) and her younger brother (Ⅲ2) and parents for whole blood DNA extraction, and a whole genome sequencing (WGS) was performed to identify the pathogenic genes and mutation sites, and the sequencing data was compared through disease-related databases such as the Human Genome Databases due to a negative detective result of specific hereditary eye disease enrichment panel based on targeted exome capture technology. Sanger sequencing and bioinformatics analysis was carried out with softwares. The cosegregation analysis was performed. This study

protocol was approved by an Ethics Committee of Henan Eye Hospital (No. HNEECKY-2019[15]) and complied with Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from each subject or the guardian before any medical examination. **Results** This family included 2 patients and 8 members with normal phenotypes in 3 generations and showed an autosomal recessive inheritance model. Poor vision and photophobia appeared after birth in both III 1 and III 2, and these symptoms did not deteriorate with aging. Pigmentary mottling and atrophic changes could be seen in the retinas of the patients. Reflection bands of external membrane and ellipsoid line in macula of patients were irregular on the OCT image. Color vision examination showed achromatopsia of the patients. ERG indicated that the amplitudes of a-, b-waves of scotopic 0.01, 3.0, 10.0 ERG and oscillatory potentials were slightly reduced, and the amplitudes of a-, b-waves of photopic ERG and wavelets of 30 Hz were seriously reduced in both eyes of III 1 and III 2. WGS showed that heterozygous mutations of a novel mutation c. 129+1G>A and a known mutation c. 1285dupT of *CNGB3* gene in III 1 and III 2. The mutations were confirmed by Sanger sequencing. **Conclusions** The compound heterozygous mutation in c. 129+1G>A/c. 1285dupT of *CNGB3* gene may be responsible for the achromatopsia pathogenesis in this Chinese Han pedigree. The abnormal phenotype of the patients is the result of both *CNGB3* c. 129+1G>A and *CNGB3* c. 1285dupT mutations simultaneously.

[Key words] Achromatopsia; Gene mutation; *CNGB3* gene; Pedigree

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82071008); 23456 Talent Engineering Program of Henan Provincial People's Hospital

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20191217-00549

全色盲又称典型性全色盲或视杆细胞单色视, 是一种罕见的、常染色体隐性遗传视锥细胞功能障碍疾病, 主要表现为畏光、眼球震颤、视力下降和色觉异常^[1-5]。目前已发现 6 个全色盲致病基因, 分别是环核苷酸门控通道 α3 (cyclic nucleotide gated channel alpha 3, *CNGA3*)、环核苷酸门控通道 β3 (cyclic nucleotide gated channel beta 3, *CNGB3*)、鸟嘌呤结合蛋白 α 转导活性肽 2 (G protein subunit alpha transducin 2, *GNAT2*)、磷酸二酯酶 6C (phosphodiesterase 6C, *PDE6C*)、磷酸二酯酶 6H (phosphodiesterase 6H, *PDE6H*) 和抗体活化转录因子 6 (activating transcription factor 6, *ATF6*)^[1-6]。*CNGA3*、*CNGB3* 和 *GNAT2* 基因编码的蛋白在视锥细胞的光传导通路中发挥重要作用, *PDE6C* 和 *PDE6H* 基因编码视锥细胞环鸟核苷酸 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) PDE 亚单位, 使 cGMP 转化为 5'-GMP, 在视锥细胞的视觉传导方面发挥重要作用。*ATF6* 与蛋白正确折叠有着密切关系, 其活性减弱会造成内质网氧化应激增加, 甚至引起细胞凋亡, 与视网膜退行性疾病, 包括 *CNGA3* 和 *CNGB3* 基因缺陷引起的全色盲有着密切关系。这些基因在光传导通路中相互关联, 其中任何环节的异常都可能导致全色盲的发生^[1-4]。目前已有的全色盲家系研究多为高加索人种, 尚缺少中国人群的研究。本研究对 1 个中国全色盲家系进行遗传学研究, 以进行鉴别诊断并确定该家系的致病基因突变。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用家系调查研究方法, 对 2018 年 11 月在河南省立眼科医院收集的 1 个来自河南省洛阳市的汉族全色盲家系进行研究。本研究经河南省立眼科医院伦理委员会审核批准 [批文号: HNEECKY-2019(15 号)], 研究过程严格遵循《赫尔辛基宣言》。成年受试者及未成年受试者监护人均了解本研究方法及目的并自愿签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 眼科临床检查 详细询问并记录该家系家族史, 进行详细的眼科专科检查。家系所有成员均接受最佳矫正视力 (best-corrected visual acuity, BCVA) 检查; 采用裂隙灯显微镜和前置镜检查患者眼前节和眼底情况; 采用阿托品眼用凝胶点眼扩瞳后经电脑自动验光仪验光、检影验光和主观验光确定受检眼屈光度; 采用 CR-2 AF 型自动免扩瞳眼底照相机 (日本佳能公司) 进行眼底照相; 采用频域光相干断层扫描成像 (spectral-domain optical coherence tomography, SD-OCT) 仪 (RTVue XR 100-2 型, 美国 Optovue 公司) 检查黄斑区结构; 采用孟塞尔色觉测试工具 (Munsell FM 100, 美国爱色丽公司) 进行色觉检查; 采用全视野闪光视网膜电图 (flash electroretinography, FERG) (RETI-Port 21 型眼电生理仪, 德国罗兰公司) 评估受检眼视网膜功能。由于裂隙灯显微镜和前置镜检查发现 III 1 双眼黄斑颞侧、赤道及赤道前视网膜可见斑片状萎缩灶, 且赤

道部及赤道前视网膜可见明显色素沉着,故补充全景眼底照相仪(Daytona P200T型激光扫描检眼镜,意大利 Optos Plc 公司)照相。**III 2** 因无法配合进行 FM100 孟塞尔色觉检查及 FERG 检查,改为色盲检查图检查和 RETeval 便捷式视觉电生理系统(美国 LKC 公司)检查。

1.2.2 DNA 提取 采集所有家系成员外周静脉血各 4 ml,保存于乙二胺四乙酸处理过的抗凝管中。采用血液基因组 DNA 提取试剂盒(美国 Omega 公司),按照标准操作流程提取全基因组 DNA,用紫外分光光度计(美国 Nanodrop 公司)进行定量及质量控制。

1.2.3 遗传眼病捕获芯片靶向捕获富集高通量测序 根据中国眼遗传病诊疗小组、中国眼科遗传联盟制定的《眼遗传病基因诊断方法专家共识》^[7],首先采用包含 441 个致病基因的遗传眼病捕获芯片(北京中因科技有限公司)进行靶向捕获富集高通量测序。从先证者(**III 1**)及其胞弟(**III 2**)、父母外周血中提取基因组 DNA,构建全基因组文库,通过 Illumina HiSeq 高通量测序平台进行 DNA 测序,二代 panel 的平均测序深度为 500 X,数据量为 1 G,对明确的致病性变异采用 Sanger 测序进行验证。测序仪下机原始数据使用 bcl2fastq 将.bcl 文件转换成.fastq 文件,并使用 BWA、Samtools 和 Picard 软件将 reads 比对到人类参考基因组 GRCh37/hg19,生成的.bam 文件采用 GATK 系列软件进行局部重新比对和重复序列去除并进行变异检测。采用 Annovar 对.vcf 变异文件进行变异注释。致病变异位点筛选原则:(1)筛选 ExAC、1000 Genomes、gnomAD 等数据库中未见正常人携带或携带频率小于 5% 的变异。(2)使用 SIFT、Polyphen2、MutationTaster 等多种蛋白功能预测软件进行基因变异位点分析。(3)参考 OMIM、HGMD、ClinVar 等多种数据库对变异位点进行致病性评估。

1.2.4 人全基因组测序 由于应用包含 441 个致病基因的遗传眼病捕获芯片进行靶向捕获富集高通量测序未获得有意义的致病基因及突变位点,故对**III 1** 及其父母、**III 2** 共 4 人的 DNA 进行全基因组测序(whole-genome sequencing,WGS)。从受检者外周血中提取基因组 DNA,构建全基因组文库,通过 Illumina HiSeq 高通量测序平台测序,平均测序深度为 30 X,数据量为 90 G。对明确的致病性变异采用 Sanger 测序进行验证。测序仪下机原始数据使用 bcl2fastq 将.bcl 文件转换成.fastq 文件,并使用 BWA、Samtools 和 Picard 软件

将 reads 比对到人类参考基因组 GRCh37/hg19,生成的.bam 文件采用 GATK 系列软件进行局部重新比对,重复序列去除并进行变异检测。使用 Annovar 对.vcf 变异文件进行变异注释。致病变异位点筛选原则:(1)筛选 ExAC、1000 Genomes、gnomAD 等数据库中未见正常人携带或携带频率小于 5% 的变异。(2)使用 SIFT、Polyphen2、MutationTaster 等多种蛋白功能预测软件进行基因变异位点分析。(3)参考 OMIM、HGMD、ClinVar 等多种数据库对变异位点进行致病性评估。

1.2.5 生物信息学分析 对除**III 1** 以外的其他家系成员进行 Sanger 测序,验证 WGS 确定可疑致病基因及突变位点,并对发现的可疑基因变异在 HGMD 中查看是否为已报道致病突变,在 1000 Genome (<http://browser.1000genomes.org/index.html>)、EVS (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>) 和 ExAC (<http://exac.broadinstitute.org/>) 数据库中查看变异在人群中的基因频率;采用 Polyphen-2 和 SIFT 软件预测 c. 1285dupT 对蛋白功能的影响;采用 dbSNP 和 SPIDEV 软件预测分析 c. 129+1G>A 对蛋白质翻译的影响;结合家系图与先证者进行共分离分析。

2 结果

2.1 全色盲家系成员临床特征

该家系共 3 代 10 位成员,其中全色盲患者 2 例,分别为**III 1** 及**III 2**,其他家系成员表型均正常,符合常染色体隐性遗传(图 1)。**III 1**,女,14 岁,视力右眼 -4.25/-2.75×180→0.3,左眼 -3.50/-3.50×175→0.3;**III 2**,男,5 岁,视力右眼 +3.75/-1.75×30→0.2+,左眼 +1.25/-1.75×160→0.3-。2 例患儿均自幼视力低下、畏光,随着年龄增长症状无明显变化。患者均为中心凹注视,未见眼球震颤,眼球运动正常,双眼眼前节正常,玻璃体透明。**III 1** 双眼视盘色稍淡,视网膜呈豹纹状,动脉稍细,黄斑颞侧、赤道及赤道前视网膜可见斑片状萎缩灶,赤道及赤道前视网膜可见明显色素沉着,黄斑中心凹反光可见;SD-OCT 检查显示双眼黄斑区外界膜及椭圆体带反射信号欠规则;FERG 检查示双眼暗视 0.01 刺激 ERG b 波、暗视 3.0 和暗视 10.0 刺激下 ERG a、b 波振幅均轻度下降,明视 3.0 刺激下 ERG a、b 波振幅严重下降,30 Hz ERG 各波记录不到;FM100 孟塞尔色觉检查示双眼为全色盲。**III 2** 双眼视盘色泽尚可,视网膜动、静脉及后极部视网膜未见明显异常,赤道及赤道前视网膜可见明显色素沉着,黄斑中心凹反光可见;SD-OCT、FERG 检查结果与**III 1** 表现一致,色盲检查图检查提示为全色盲(图 2~5)。

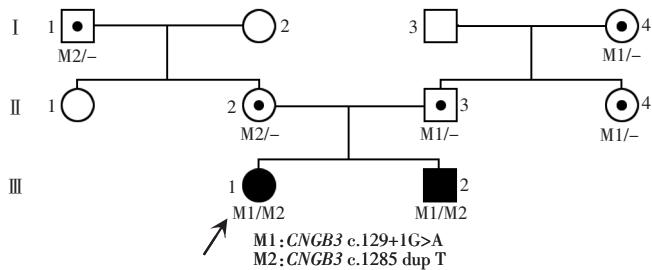


图1 先证者家系图 *CNGB3* 基因突变位点 c. 129+1G>A 和 *CNGB3* c. 1285dupT 在该家系中患儿、携带者和正常表型成员之间共分离
□: 正常男性; ○: 正常女性; □: 男性携带者; ○: 女性携带者; ■: 男性患者; ●: 女性患者; ↗: 先证者

Figure 1 Pedigree of the family with achromatopsia The compound heterozygous mutations, c. 129+1G>A and c. 1285dupT, in *CNGB3* were segregated among patients, carriers and unaffected family members
□: normal male; ○: normal female; □: male carrier; ○: female carrier;
■: male patient; ●: female patient; ↗: proband

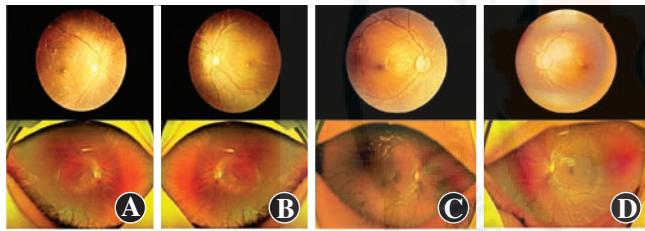


图2 III 1 和 III 2 双眼免扩瞳眼底照相及全景眼底照相 III 1 双眼视盘色稍淡, 视网膜动脉稍细, 后极部视网膜呈豹纹状; 可见后极部、赤道及赤道前斑片状萎缩灶及色素沉着。III 2 双眼视盘色泽尚可, 视网膜动静脉未见明显改变; 赤道及赤道前视网膜可见明显色素沉着
A: III 1 右眼眼底彩色照相和全景眼底照相 B: III 1 左眼眼底彩色照相和全景眼底照相 C: III 2 右眼眼底彩色照相和全景眼底照相 D: III 2 左眼眼底彩色照相和全景眼底照相

Figure 2 Fundus color photography and ultra widefield fundus color photography of III 1 and III 2 Fundus color photography of both eyes of III 1 showed that optic nerve heads were pale, and retinal arteries were thinned, and the retina of the posterior pole turned into leopard-like. Ultra widefield fundus color photography of III 1 displayed patchy atrophy in the temporal lateral retina of macula and pigmentary mottling at the posterior pole and the equator and in the perequatorial retina. Fundus color photography of both eyes of III 2 showed normal fundus in both eyes, and pigmentary mottling could be seen at the equator and in the perequatorial retina A: Images of the right eye of III 1 B: Images of the left eye of III 1 C: Images of the right eye of III 2 D: Images of the left eye of III 2

2.2 全色盲家系 *CNGB3* 基因检查

WGS 测序发现, III 1 和 III 2 在 *CNGB3* 基因上存在 c. 129+1G>A 和 c. 1285dupT 的复合杂合突变。Sanger 测序验证证实 III 1 和 III 2 存在 *CNGB3* 基因 c. 129+1G>A 和 c. 1285dupT 复合杂合突变(图 6)。

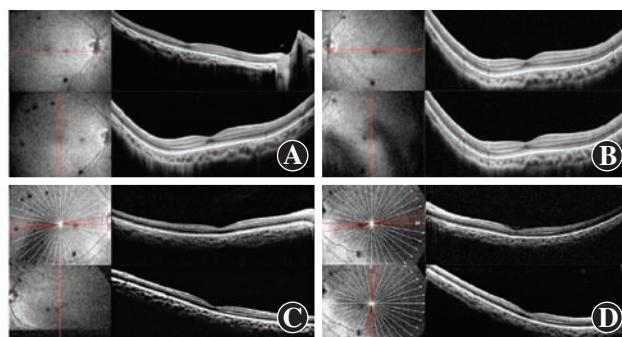


图3 III 1 和 III 2 双眼黄斑区 SD-OCT 检查 III 1 和 III 2 双眼黄斑区外界膜及椭圆体带反射信号欠规则 A: III 1 右眼 B: III 1 左眼 C: III 2 右眼 D: III 2 左眼

Figure 3 The SD-OCT findings in macula of III 1 and III 2 Reflection bands of external membrane and ellipsoid line were irregular in the two patients A: The right eye of III 1 B: The left eye of III 1 C: The right eye of III 2 D: The left eye of III 2

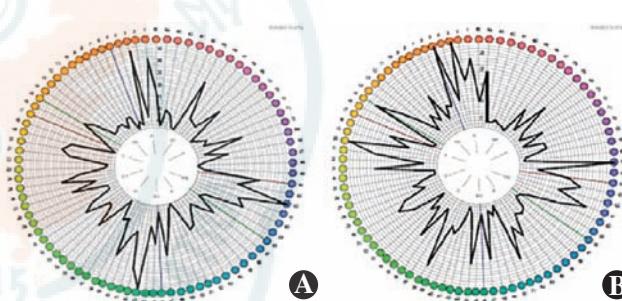


图4 III 1 双眼 FM100 孟塞尔色觉检查 右眼检查总错误得分为 776, 左眼为 880, 双眼均不能分辨红、绿和蓝色 A:右眼 B:左眼

Figure 4 Farnsworth Munsell 100 hue test results of both eyes of III 1 The total error scores of her right and left eyes were 776 and 880, respectively, which meant that the eyes could not discriminate red, green and blue A: Right eye B: Left eye

2.3 基因突变致病性和共分离分析

经过生物信息学软件分析 *CNGB3* 基因 c. 129+1G>A 和 c. 1285dupT 均为致病突变。*CNGB3* 的突变 c. 129+1G>A 在 1 号外显子后的内含子的第 1 个碱基, 其在千人汉族人群及千人东亚人群中的突变频率为 0。*CNGB3* 突变 c. 1285dupT 在 11 号外显子上, 其在千人汉族人群及千人东亚人群中的突变频率为 0。

DNA 样本测序表明, *CNGB3* 基因的杂合突变 c. 129+1G>A 遗传自祖母 I 4, 杂合突变 c. 1285dupT 遗传自外祖父 I 2。家系中表型正常者 I 4、II 3 和 II 4 仅携带杂合突变 c. 129+1G>A, II 1 和 II 2 仅携带杂合突变 c. 1285dupT。家系成员 I 2、I 3 和 II 1 中 2 个突变都不存在。该家系符合常染色体隐性遗传规律和家系共分离(图 1)。

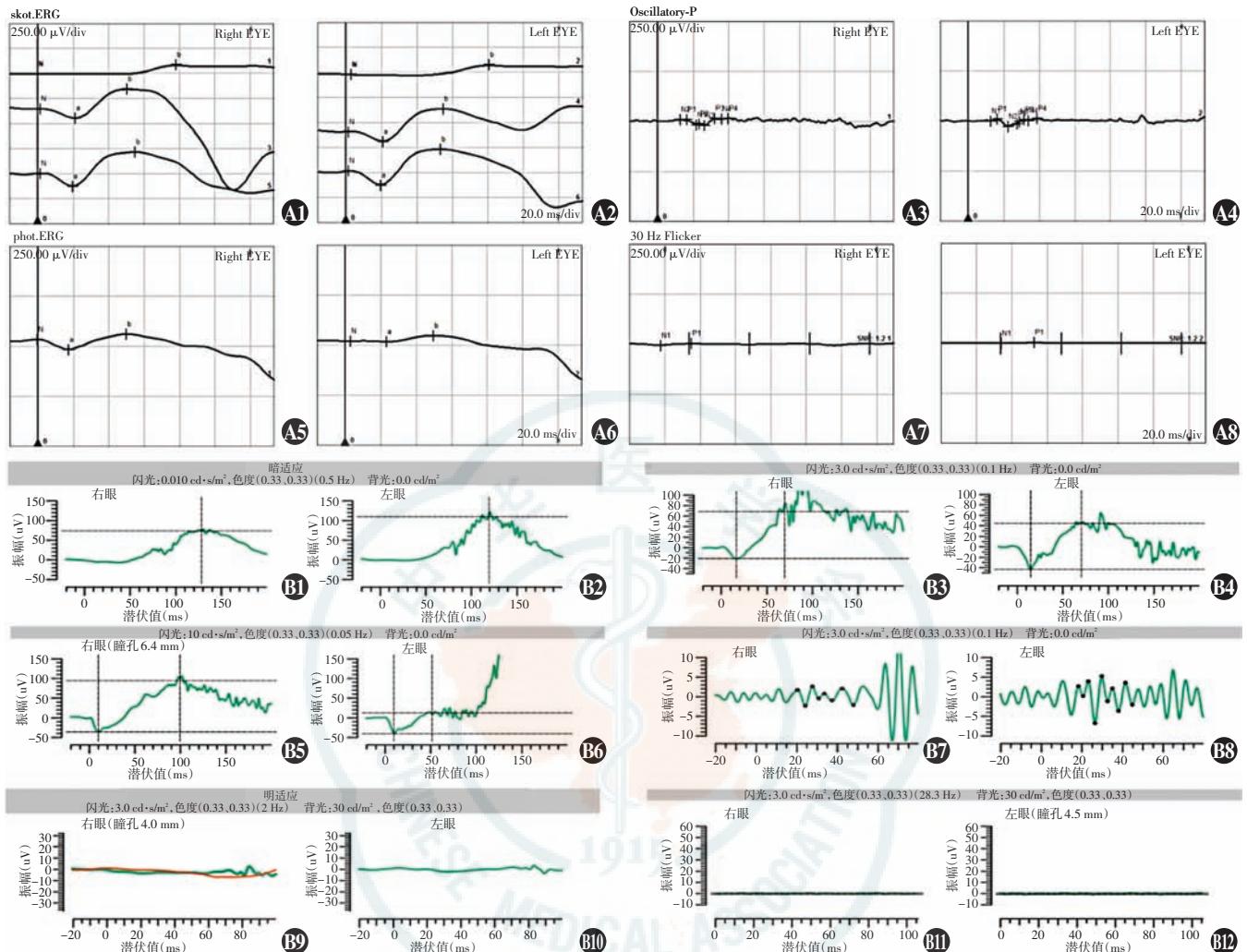


图5 III1和III2双眼FERG表现 A:Ⅲ1双眼FERG波形 A1为右眼暗视0.01、3.0和10.0ERG波形;A2为左眼暗视0.01、3.0和10.0ERG波形;A3为右眼暗视3.0振荡电位;A4为左眼暗视3.0振荡电位;A5为右眼明视3.0ERG波形;A6为左眼明视3.0ERG波形;A7为右眼明视3.0闪烁光ERG;A8为左眼明视3.0闪烁光ERG B:患者Ⅲ2双眼FERG B1为右眼暗视0.01ERG;B2为左眼暗视0.01ERG;B3为右眼暗视3.0ERG;B4为左眼暗视3.0ERG;B5为右眼暗视10.0ERG;B6为左眼暗视10.0ERG;B7为右眼暗视3.0闪烁光ERG;B8为左眼暗视3.0闪烁光ERG;B9为右眼明视3.0ERG;B10为左眼明视3.0ERG;B11为右眼明视3.0闪烁光ERG;B12为左眼明视3.0闪烁光ERG

Figure 5 The FERG findings of III1 and III2 A: FERG findings of III1 A1 was a-and b-waves of scotopic 0.01, 3.0 and 10.0 ERG of the right eye; A2 was a-and b-waves of scotopic 0.01, 3.0 and 10.0 ERG of the left eye; A3 was wavelets of scotopic 3.0 oscillatory potentials of the right eye; A4 was wavelets of scotopic 3.0 oscillatory potentials of the left eye; A5 was a-and b-waves of photopic 3.0 ERG of the right eye; A6 was a-and b-waves of photopic 3.0 ERG of the left eye; A7 was wavelets of photopic 30Hz ERG of the right eye; and A8 was wavelets of photopic 30Hz ERG of the left eye B: FERG findings of III2 B1 was a-and b-waves of scotopic 0.01 ERG of the right eye; B2 was a-and b-waves of scotopic 0.01 ERG of the left eye; B3 was a-and b-waves of scotopic 3.0 ERG of the right eye; B4 was a-and b-waves of scotopic 3.0 ERG of the left eye; B5 was a-and b-waves of scotopic 10.0 ERG of the right eye; B6 was the a-and b-waves of scotopic 10.0 ERG of the left eye; B7 was wavelets of scotopic 30 HZ ERG of the right eye; B8 was wavelets of scotopic 30 HZ ERG of the right eye; B9 was a- and b-waves of photopic 3.0 ERG of the right eye; B10 was a- and b-waves of photopic 3.0 ERG of the left eye; B11 was wavelets photopic 30Hz ERG of the right eye; and B12 was wavelets photopic 30Hz ERG of the left eye

3 讨论

目前已发现全色盲的致病基因有6个,其中CNGB3基因为最常见的致病基因^[8]。迄止目前已经发现,全色盲患者CNGB3基因突变的致病方式至少包括114种复合杂合突变、32种纯合突变、1种杂合突变及其他方式^[5,8-11]。本家系中Ⅲ1和Ⅲ2均存在CNGB3基因c.129+1G>A和c.1285dupT复合杂合突

变,根据《ACMG 遗传变异分类标准中文版专家共识指南》,该复合杂合突变为该全色盲家系的致病突变,且本研究发现的CNGB3基因c.129+1G>A和c.1285dupT复合杂合突变不同于已报道的114种复合杂合突变,为新发致病突变。

CNGB3基因定位于8q21-22,由18个外显子组成,编码809个氨基酸^[1]。视锥细胞CNG阳离子通道位于光级联传导通路的末端,直接被cGMP激活,控制

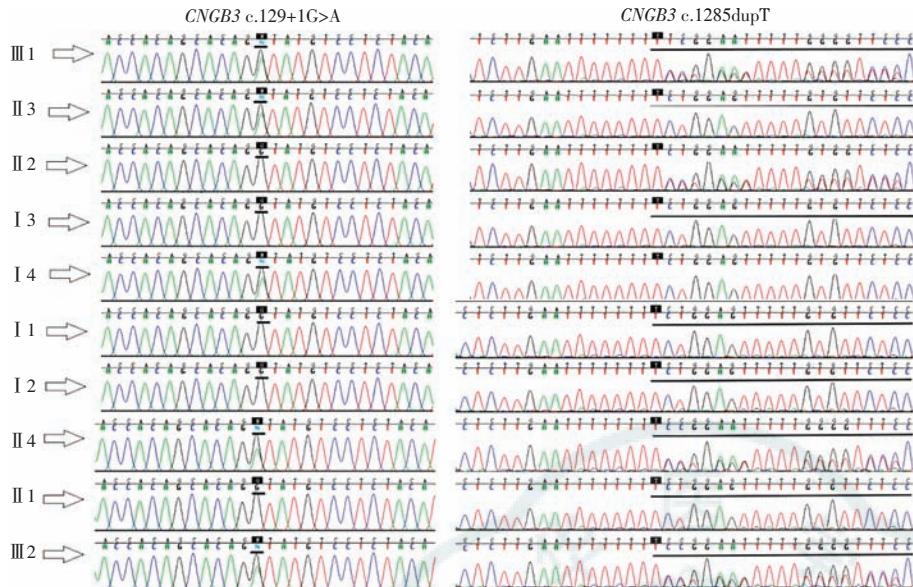


图 6 CNGB3 基因突变位点 CNGB3 基因在全色盲家系Ⅲ 1 及Ⅲ 2 存在 c. 129+1G>A 和 c. 1285dupT 复合杂合突变, 家系中表型正常成员Ⅰ 4、Ⅱ 3 和Ⅱ 4 仅存在杂合突变 c. 129+1G>A, Ⅰ 1 和Ⅱ 2 仅存在杂合突变 c. 1285dupT

Figure 6 Mutations of CNGB3 gene In this pedigree, both Ⅲ 1 and Ⅲ 2 carried both CNGB3 c. 129+1G>A and CNGB3 c. 1285dupT, while Ⅰ 4, Ⅱ 3 and Ⅱ 4 carried CNGB3 c. 129+1G>A, and Ⅰ 1 and Ⅱ 2 carried CNGB3 c. 1285dupT

光感受器细胞外节质膜的离子流, 在光激发红、绿、蓝敏感的视锥细胞产生的生物电反应方面发挥重要作用^[1], 该通道的 β 亚单位即为 CNGB3 基因编码的蛋白之一, CNGB3 基因的多种突变均可导致视锥细胞的光传导通路异常, 导致全色盲的发生^[1]。本研究发现的 CNGB3 基因剪切位点杂合突变 c. 129+1G>A 使第 1 个内含子无法正常剪切, 从而导致蛋白翻译提前终止, 使视锥细胞 CNG 阳离子通道的 β 亚单位不能正常合成, 最终对视锥细胞的光传导通路产生影响, 这种影响会像其他突变一样导致全色盲的发生。虽然 CNGB3 基因 c. 129+1G>A 纯合突变会导致视锥、视杆细胞营养不良^[12], 但同源染色体中仅存在 1 个该突变, 是否会导致全色盲以及通过何种机制导致全色盲还有待进一步研究。本研究发现的另 1 个突变 c. 1285dupT 在编码区的第 1285 位处多了 1 个核苷酸 T, 造成移码突变, 蛋白翻译提前终止, 最终产生 1 个只有 460 个氨基酸的错误蛋白产物。虽然在 Mayer 等^[11]的研究中该突变为其中 3 个家系的致病突变, 并且无论是 CNGB3 基因 c. 1285dupT 纯合突变还是 c. 1148delC 和 c. 1285dupT 复合杂合突变均可致病, 但仅 1 条同源染色体携带致病基因而另 1 条同源染色体为野生型是否会导致全色盲, 以及致病基因导致全色盲的机制还有待进一步研究。

由于本研究家系中的致病突变携带者无临床表

现, 因此我们推断 CNGB3 基因 c. 129+1G>A 或 c. 1285dupT 分别与野生型杂合并不具备致病性, 因为携带者还有 1 个野生型等位基因可以用来合成正常蛋白。当 CNGB3 基因同时存在 c. 129+1G>A 和 c. 1285dupT 突变, 2 个等位基因都无法产生功能正常的蛋白时即会致病。

虽然Ⅲ 1 和Ⅲ 2 全色盲的诊断明确, 但要对其进行分类非常困难。根据既往研究, 全色盲分为完全型和不完全型^[1-4]。部分完全型全色盲患者会在视网膜中周部出现视网膜色素上皮异常, 可表现为色素增生或萎缩。全色盲患者 FERG 显示视锥细胞反应记录不到而视杆细胞反应基本正常^[1-4]。本家系的患者表现为视锥系统功能严重下降, 而视杆系

统功能轻度下降, 因此本研究认为虽然 2 例患儿 ERG 的表现与文献报道的 ERG 表现并不完全相符^[1-4], 但仍符合全色盲的 ERG 表现。Ⅲ 1 和Ⅲ 2 的双眼 BCVA 分别为 0.3 和 >0.2, 除眼底赤道部及赤道前视网膜有色素沉着, Ⅲ 1 还存在黄斑颞侧、赤道及赤道前视网膜斑片状萎缩灶, 导致很难对其进行分类, 既往研究发现完全型全色盲 BCVA 一般低于 0.1^[1-4], 中周部视网膜色素上皮异常往往出现在完全型全色盲者, 而本家系患者视力和视网膜色素沉着部位均不能归为完全型全色盲, 其机制仍待进一步研究。

本家系 2 例患儿因视力低下和畏光就诊, 眼部检查均提示其视锥系统功能异常, 虽然色盲图检查Ⅲ 1 为色盲, 但就诊时未能确定究竟是视锥细胞营养不良还是全色盲。为了进一步进行鉴别诊断, 本研究首先采用包含 441 个致病基因的遗传眼病捕获芯片进行靶向捕获富集高通量测序以进行基因诊断, 虽然选取的 panel 包含所有已知的眼部遗传疾病的致病基因, 但未能获得本家系的有意义的致病基因。为找到致病突变, 本研究进一步通过 WGS 确定了致病突变。

本研究发现了全色盲患者 1 个新的突变位点及 1 种新的致病方式, 补充了全色盲的基因突变谱。但本研究仍存在以下局限性:(1)仅调查了 1 个家系, 研究的外推性欠佳;(2)本研究既采用了免扩瞳眼底照相, 也采用了全景眼底照相, 但在实际工作中免扩瞳眼底

照相加拼图可以替代全景眼底照相;(3)本家系在进行基因检测时未先采用仅针对眼底遗传性疾病的靶向基因测序,而直接采用了包含 441 个致病基因的遗传眼病捕获芯片进行靶向捕获富集高通量测序,且在测序未得到理想结果时又未先进行全基因外显子组测序,而直接进行了 WGS,这未能很好地遵循眼遗传病基因检测流程,如果本研究最初选取的是更精准的眼底遗传疾病的 panel,或先对有疑问的位点单独设计引物进行测序,也许实验过程会更优化、更经济,也更符合遗传疾病研究的最优诊断路径,不仅能增强检测的实效性,还会降低检测费用。

虽然本研究存在一些不足,但是本研究发现了全色盲 *CNGB3* 基因 1 个新的致病突变位点及 1 个新的复合杂合突变方式,扩大了 *CNGB3* 基因的突变谱,对更深入地了解全色盲的发病机制提供了有价值的信息,同时也为将来全色盲的靶向基因治疗及患者家族成员的优生优育选择提供了一定的依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 梁小芳,睢瑞芳,董方田.全色盲遗传学研究进展[J].中华实验眼科杂志,2015,33(8):764-767. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.08.020.
- Liang XF, Sui RF, Dong FT. Advances in genetic study of achromatopsia[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2015, 33(8) : 764-767. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.08.020.
- [2] Tsang SH, Sharma T. Rod monochromatism (achromatopsia)[J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1085 : 119 - 123. DOI: 10.1007/978-3-319-95046-4_24.
- [3] Hirji N, Aboshisha J, Georgiou M, et al. Achromatopsia: clinical features, molecular genetics, animal models and therapeutic options [J].
- Ophthalmic Genet, 2018, 39(2) : 149-157. DOI:10.1080/13816810.2017.1418389.
- [4] Pascual-Camps I, Barranco-Gonzalez H, Aviñó-Martínez J, et al. Diagnosis and treatment options for achromatopsia: a review of the literature[J]. J Pediatr Ophthalmol Strabismus, 2018, 55(2) : 85-92. DOI:10.3928/01913913-20171117-01.
- [5] Burkard M, Kohl S, Kräitzig T, et al. Accessory heterozygous mutations in cone photoreceptor *CNGA3* exacerbate CNG channel-associated retinopathy[J]. J Clin Invest, 2018, 128(12) : 5663-5675. DOI:10.1172/JCI96098.
- [6] Kohl S, Zobor D, Chiang WC, et al. Mutations in the unfolded protein response regulator *ATF6* cause the cone dysfunction disorder achromatopsia[J]. Nat Genet, 2015, 47(7) : 757-765. DOI:10.1038/ng.3319.
- [7] 中国眼遗传病诊疗小组,中国眼科遗传联盟.眼遗传病基因诊断方法专家共识[J].中华实验眼科杂志,2018,36(7) : 481-488. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.07.001.
- [8] Kohl S, Varsanyi B, Antunes GA, et al. *CNGB3* mutations account for 50% of all cases with autosomal recessive achromatopsia[J]. Eur J Hum Genet, 2005, 13(3) : 302-308. DOI:10.1038/sj.ejhg.5201269.
- [9] Nishiguchi KM, Sandberg MA, Gorji N, et al. Cone cGMP-gated channel mutations and clinical findings in patients with achromatopsia, macular degeneration, and other hereditary cone diseases[J]. Hum Mutat, 2005, 25(3) : 248-258. DOI:10.1002/humu.20142.
- [10] Wawrocka A, Kohl S, Baumann B, et al. Five novel *CNGB3* gene mutations in Polish patients with achromatopsia[J]. Mol Vis, 2014, 20 : 1732-1739.
- [11] Mayer AK, Van Cauwenbergh C, Rother C, et al. *CNGB3* mutation spectrum including copy number variations in 552 achromatopsia patients[J]. Hum Mutat, 2017, 38(11) : 1579-1591. DOI:10.1002/humu.23311.
- [12] Huang L, Zhang Q, Li S, et al. Exome sequencing of 47 Chinese families with cone-rod dystrophy: mutations in 25 known causative genes [J/OL]. PLoS One, 2013, 8(6) : e65546 [2020-03-09]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0065546>. DOI:10.1371/journal.pone.0065546.

(收稿日期:2020-07-27 修回日期:2021-02-01)

(本文编辑:尹卫靖 骆世平)

读者·作者·编者

本刊稿件处理流程

本刊实行以同行审稿为基础的三级审理制度(编辑初审、专家外审、编委会终审)稿件评审。编辑部在稿件审理过程中坚持客观、公平、公正的原则,郑重承诺审稿过程中尊重和保护审稿专家、作者及稿件的私密权。专家审理认为不宜刊用的稿件,编辑部将告知作者专家的审理意见,对稿件处理有不同看法的作者有权向编辑部申请复议,但请写出申请理由和意见。

稿件审理过程中作者可通过“中华医学会杂志社远程稿件管理系统”查询稿件的审理结果。作者如需要采用通知或退稿通知可与编辑部联系。编辑部发给作者修改再审的稿件,如 2 个月没有修回,视为作者自行撤稿。编辑部的各种通知将通过 Email 发出,投稿后和稿件审理期间请作者留意自己的电子信箱。作者自收到采用通知之日起,即视为双方建立合约关系,作者如撤稿必须向编辑部申诉理由并征得编辑部同意。一旦稿件进入编排阶段,作者不应提出自撤稿件,在此期间因一稿两投或强行撤稿而给本刊造成不良影响和/或经济损失者,编辑部有权给以公开曝光、通报并实施经济赔偿,作者自行承担一切责任和后果。

根据《中华人民共和国著作权法》的相关条文,本刊编辑可对待发表的来稿按照编辑规范和专业知识进行文字加工、修改和删减,修改后的稿件作者须认真校对核实,修改涉及文章的核心内容时双方应进行沟通并征得作者同意。除了编辑方面的技术加工以外,作者对已经发表论文的全部内容文责自负。稿件编辑流程中编辑退回作者修改的稿件逾期 2 个月不修回者,视作自行撤稿。

(本刊编辑部)