

先天性白内障 12 个家系基因突变分析

白周现¹ 邵敬芝² 刘莉娜¹ 孔祥东¹

¹郑州大学第一附属医院遗传与产前诊断中心, 郑州 450000; ²郑州大学第一附属医院眼科, 郑州 450000

通信作者: 孔祥东, Email: kongxd@263.net

【摘要】 目的 分析 12 个先天性白内障家系的临床表型和基因变异型。方法 采用家系调查研究方法, 收集 2018 年 1 月至 2019 年 12 月于郑州大学第一附属医院就诊的 12 个中国汉族先天性白内障家系 27 例患者的临床资料, 采集患者及家系成员外周血, 提取基因组 DNA。采用二代测序筛查、Sanger 测序验证目标基因变异位点。通过检索基因组整合数据库 gnomAD 获取变异位点的人群频率。通过人类基因变异数据库 (HGMD)、单核苷酸多态性数据库 (dbSNP) 和 PubMed 数据库检索变异位点的致病性和报道情况。利用蛋白质功能预测软件 SIFT、PolyPhen_2、MutationTaster 阐释其功能。采用 GERP++ 软件工具分析变异位点的氨基酸序列保守性。结合患者眼科检查结果、病史和基因变异型进行分析、确诊。结果 纳入的 12 个家系均找到致病基因变异。其中 9 个家系为已知致病变异, 包括 *MIP* 基因 c. 97C>T、*GJA8* 基因 c. 593G>A、*CRYBA4* 基因 c. 277T>C、*CRYBB2* 基因 c. 563G>A 和 c. 436G>C、*CRYGC* 基因 c. 470G>A、*CRYGD* 基因 c. 70C>A、*PAX2* 基因 c. 70dupG、*OCRL* 基因 E5-E16dup; 3 个家系为潜在致病性新变异, 包括 *CRYGD* 基因 c. 422delG、*ELP4* 基因 c. 886C>A 和 *CRYBB2* 基因 c. 434G>C。*CRYGD* 基因 c. 422delG 变异可使产物蛋白提前终止翻译, 为致病变异。*ELP4* 基因 c. 886C>A 和 *CRYBB2* 基因 c. 434G>C 对应的氨基酸位点在物种间均高度保守, 蛋白质功能分析软件预测其有害。12 个家系各基因变异型和疾病表型全部共分离。结论 *CRYGD* 基因 c. 422delG、*ELP4* 基因 c. 886C>A 和 *CRYBB2* 基因 c. 434G>C 可能为先天性白内障的致病性新变异位点。

【关键词】 先天性白内障; 基因突变; 靶向测序; 分子诊断

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1002206-2); 郑州大学第一附属医院院内青年创新基金项目 (YNQN2017008)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20200408-00246

Gene mutation analysis of 12 families with congenital cataract

Bai Zhouxian¹, Shao Jingzhi², Liu Lina¹, Kong Xiangdong¹

¹Genetic and Prenatal Diagnosis Center, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China; ²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China
Corresponding author: Kong Xiangdong, Email: kongxd@263.net

【Abstract】 **Objective** To analyze the clinical manifestations of congenital cataract in 12 families and gene variants causing the disease. **Methods** The method of pedigree investigation was adopted. Clinical data of 27 patients from 12 Chinese Han families with congenital cataract were collected, and genomic DNA was extracted from peripheral blood samples of patients and family members. Candidate variants were screened by next generation sequencing and were verified by Sanger sequencing. Population frequency of the variants were obtained through the Genome Aggregation Database (gnomAD). Pathogenicity of variants was analyzed through the Human Gene Mutation Database (HGMD), Database of Single Nucleotide Polymorphism (dbSNP) and PubMed, and the mutation effect was interpreted by protein prediction softwares including SIFT, PolyPhen_2 and MutationTaster. The conservation analysis of amino acid sequences of variants was performed by GERP++ software. Diagnosis was confirmed by clinical ophthalmic phenotype, medical history and mutation analysis. This study adhered to the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University (No. KS-2018-KY-36). Written informed consent was obtained from all subjects and their guardians. **Results** Pathogenic genetic variants were found in all the 12 families, 9 of which had known pathogenic variants including *MIP* c. 97C>T, *GJA8* c. 593G>A, *CRYBA4* c. 277T>C, *CRYBB2* c. 563G>A and c. 436G>C, *CRYGC* c. 470G>A, *CRYGD* c. 70C>A, *PAX2* c. 70dupG as well as *OCRL* E5-E16dup, and 3 novel potential pathogenic variants including *CRYGD* c. 422delG, *ELP4* c. 886C>A and *CRYBB2* c. 434G>C. *CRYGD* c. 422delG could lead to the early termination of translation of protein products, which was pathogenic. The nucleotide and amino acid sites of *ELP4* c. 886C>A and *CRYBB2* c. 434G>C were highly conserved among species, and were predicted as harmful. The 12 families were

consistent with co-segregation. **Conclusions** *CRYGD* c. 422delG, *ELP4* c. 886C>A and *CRYBB2* c. 434G>C may be novel pathogenic variants of congenital cataract.

[**Key words**] Cataract, congenital; Gene mutation; Targeted sequencing; Molecular diagnosis

Fund program: National Key Research Program of China (2018YFC1002206-2); Youth Innovation Fund of The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University (YNQN2017008)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200408-00246

先天性白内障是主要的儿童致盲眼病之一,婴幼儿出生时或 1 岁前可出现部分或全部晶状体混浊,严重影响患儿视力发育。先天性白内障可分为仅有晶状体混浊的单纯白内障和伴有其他眼部及全身其他系统异常的综合征;单纯白内障也可伴或不伴其他眼部异常,如小角膜、小眼球和虹膜缺损等^[1]。先天性白内障与遗传关系密切,遗传性白内障常见的遗传方式为常染色体显性遗传,少数为常染色体隐性遗传及 X 染色体连锁隐性遗传^[2]。先天性白内障大多数是单纯型,通常双眼受累,单眼受累较少见^[3]。目前已报道有数十个基因的相关变异可导致先天性白内障,包括晶状体蛋白基因、膜蛋白基因、调节眼球发育的基因、热休克蛋白等,其中晶状体蛋白基因数量最多^[4]。然而,目前已知的致病性基因变异并不能完全解释所有的遗传相关先天性白内障,高通量测序技术在遗传性眼病临床检测中的实践为发现更多的致病性变异提供了有效手段。本研究拟通过分析先天性白内障患者的临床表现和致病变异,为先天性白内障患者产前诊断提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用家系调查研究,纳入 2018 年 1 月至 2019 年 12 月于郑州大学第一附属医院就诊的 12 个无血缘关系的中国汉族先天性白内障家系,收集其既往病史及相关检查。纳入本研究的 27 例患者均为检出致病基因的先天性白内障患者。本研究遵循《赫尔辛基宣言》,研究方案经郑州大学第一附属医院伦理委员会批准(批文号:KS-2018-KY-36),受试者或其监护人均对本研究知情并自愿签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 捕获测序及变异位点分析 采集患者和家系成员外周血各 4 ml。外周血基因组 DNA 使用 Blood DNA Midi Kit D3494 试剂盒(美国 Omega Bio-Tek 公司),通过 epMotion 全自动核酸提取纯化工作站(德国 Eppendorf 公司)抽提。利用 Agilent SureSelect 外显子靶向序列富集系统进行序列捕获(含 153 个白内障致病基因,北京贝瑞和康公司设计),采用 Illumina NextSeq 500(美国 Illumina 公司)测序。目标序列测序深度平均

为 100×。变异注释选择 GRCh37 版人类基因组参考序列,筛选分析得到候选致病变异位点。入选本研究候选致病变异的条件为患者疾病表型、家族史、相关致病基因的遗传方式均符合先天性白内障。

候选变异致病性分析通过人类基因变异数据库(human gene mutation database, HGMD)、单核苷酸多态性数据库(database of single nucleotide polymorphisms, dbSNP)查询目标变异收录情况。变异的人群频率检索基因组整合数据库 gnomAD。候选变异报道情况和致病性研究通过 PubMed 数据库查询。由 GERP++ 软件工具分析变异位点的氨基酸序列保守性;采用 SIFT、PolyPhen_2、MutationTaster 蛋白功能分析软件预测错义变异的影响,判断其致病性,其中 SIFT 预测值范围为(0,1),值越小越有害;PolyPhen_2 和 MutationTaster 预测值范围为(0,1),值越大越有害。

1.2.2 变异验证 参照本研究团队前期研究结果,采用实时荧光定量 PCR 法验证家系 12 致病基因外显子缺失重复^[5]。其他家系的候选变异行 Sanger 测序法验证。采用 Taq DNA 聚合酶(立陶宛 Fermentas 公司)和特异引物(GeneTool 设计)对受试者基因组 DNA 目标序列进行扩增,其中 3 个新突变家系的引物设计见表 1。PCR 扩增条件:95 °C 预变性 5 min;95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 循环 32 次;72 °C 终延伸 10 min, 纯化(乙醇/醋酸钠法按 BigDyeV3.1 操作)DNA 片段产物变性后,通过 3130xl 型测序仪(美国 ABI 公司)用 dGTP BigDye[®] Terminator Sequencing Kit(美国 ABI 公司)进行检测,反应条件为 96 °C 1 min;96 °C 10 s, 50 °C 5 s, 60 °C 4 min, 循环 25 次。

2 结果

2.1 12 个家系患者临床特点

12 个家系家系图见图 1,其主要临床表现见表 2,其中单纯白内障共 9 个家系(家系 1~9),先天性白内障伴无虹膜症 1 个家系(家系 10),综合征型白内障 2 个家系(家系 11 和 12)。除家系 11 患者 II 1 为单眼白内障外,其他患者均双眼患病。家系 6 患者 II 1 和家系 10 的各个患者除白内障外,还表现出眼球震颤,家系 7 的每例患者均表现出小眼球症(图 2)。

表 1 3 个新变异的 Sanger 测序验证引物
Table 1 Primers for identification of novel variations by Sanger sequencing

家系	基因	位点	正向引物序列 (5'-3')	反向引物序列 (5'-3')	产物长度 (bp)
5	CRYGD	c. 422	GAGGACTACAGAGGCCAGATGATA	TGCCAGGAACACACAGAAAATATT	305
7	CRYBB2	c. 434	CGTAGTGGGTGCACTGGG	CAGAGGTCAGCAGAGCACACT	405
10	ELP4	c. 886	GGGAGACGATATTTGCTGTGC	GCAAATGGCCAGAAAGCACCT	264

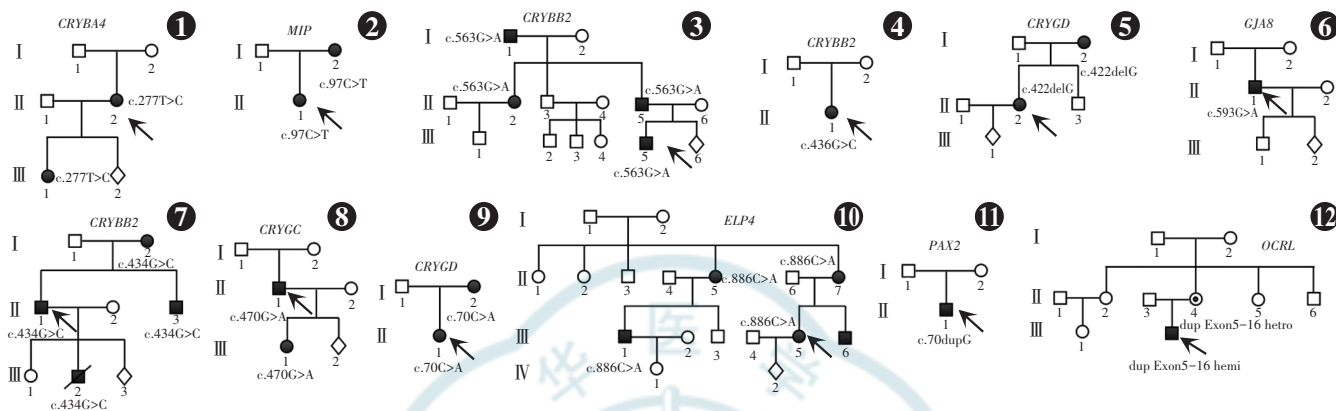


图 1 12 个先天性白内障家系系图 □:正常男性;○:正常女性;■:男性患者;●:女性患者;◇:性别未知胎儿;⊙:女性携带者;/:已故;↗:先证者
Figure 1 Pedigrees of 12 families with congenital cataract □: normal male; ○: normal female; ■: male patient; ●: female patient; ◇: fetus of unknown sex; ⊙: female carrier; /: deceased; ↗: proband

表 2 12 个先天性白内障家系患者临床表现
Table 2 Clinical manifestations of patients with congenital cataract in 12 collected pedigrees

家系	患者例数	患者主要临床表现
1	2	患者 II 2, 女, 32 岁, 双眼先天性中央核性白内障; 患者 III 1, 女, 4 岁, 双眼先天性白内障
2	2	患者 II 1, 女, 19 岁, 出生 3 d 发现双眼白内障, 4 月龄时行白内障手术, 术后视力基本正常; 患者 I 2, 女, 44 岁, 双眼先天性白内障(晶状体外周点状混浊)、视力障碍
3	4	患者 III 5, 男, 7 岁, 1 岁发现双眼先天性白内障, 行白内障摘出术; 患者 I 1、II 2 和 II 5 双眼先天性白内障
4	1	患者 II 1, 女, 29 岁, 双眼先天性白内障
5	2	患者 II 2, 女, 26 岁, 双眼先天性白内障; 患者 I 2 双眼先天性白内障
6	1	患者 II 1, 男, 42 岁, 双眼先天性白内障、眼球震颤、斜视、弱视
7	4	患者 II 1, 男, 37 岁, 双眼先天性白内障、双眼小眼球; 患者 I 2 和 II 3 双眼先天性白内障、双眼小眼球; 患者 III 2, 胎儿期经基因产前诊断为先天性白内障患者即引产
8	2	患者 II 1, 男, 28 岁, 双眼先天性白内障; 患者 III 1 双眼先天性白内障
9	2	患者 II 1, 女, 26 岁, 双眼先天性白内障; 患者 I 2 双眼先天性白内障
10	5	患者 III 5, 女, 22 岁, 双眼先天性白内障、眼球钟摆样震颤、虹膜缺损; 患者 II 5、II 7、III 1 和 III 6 双眼先天性白内障、虹膜缺损、眼球震颤
11	1	患者 II 1, 男, 3 岁, 右眼先天性白内障, 左眼视盘发育异常, 肾脏发育异常
12	1	患者 III 2, 男, 2 岁, 双眼先天性白内障, 蛋白尿, 脑发育迟缓

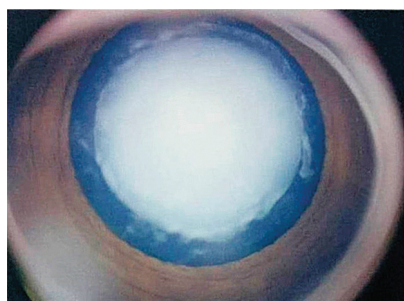


图 2 家系 11 患者 II 1 右眼白内障照片
Figure 2 Right eye with cataract of patient II 1 in family 11

2.2 二代测序筛查

经 Illumina NextSeq 500 测序平台 DNA 靶向测序, 12 个家系患者分别检测到与其表型高度相关的基因变异(表 3)。

2.3 候选变异验证

各个基因变异验证结果均与二代测序一致, 3 个新变异 Sanger 测序验证结果见图 3。12 个家系各基因变异型和疾病表型全部共分离。12 个家系受试者的相关变异携带情况见图 1。

表 3 先天性白内障 12 个家系基因变异概况
Table 3 Genetic variations of 12 families with congenital cataract included

家系	基因	核酸改变	氨基酸改变	合子状态	人群频率	致病性预测	遗传方式	疾病[OMIM number]	新变异(文献)
1	<i>CRYBA4</i>	c. 277T>C	p. S93P	Het	-	+++	AD	白内障 23 型[610425]	否 ^[6]
2	<i>MIP</i>	c. 97C>T	p. R33C	Het	-	+++	AD	白内障 15 型[615274]	否 ^[7]
3	<i>CRYBB2</i>	c. 563G>A	p. R188H	Het	-	+++	AD	白内障 3 型[601547]	否 ^[8]
4	<i>CRYBB2</i>	c. 436G>C	p. V146L	Het	-	+++	AD	白内障 3 型[601547]	否 ^[9]
5	<i>CRYGD</i>	c. 422delG	p. G141Dfs * 6	Het	-	///	AD	白内障 4 型[115700]	是
6	<i>GJA8</i>	c. 593G>A	p. R198Q	Het	-	+++	AD	白内障 1 型[116200]	否 ^[10]
7	<i>CRYBB2</i>	c. 434G>C	p. R145P	Het	-	+++	AD	白内障 3 型[601547]	是
8	<i>CRYGC</i>	c. 470G>A	p. W157X	Het	-	+++	AD	白内障 2 型[604307]	否 ^[11]
9	<i>CRYGD</i>	c. 70C>A	p. P24T	Het	-	---	AD	白内障 4 型[115700]	否 ^[12]
10	<i>ELP4</i>	c. 886C>A	p. L296I	Het	-	+++	AD	无虹膜 2 型[617141]	是
11	<i>PAX2</i>	c. 70dupG	p. V26Gfs * 28	Het	0.000 2	///	AD	RCS[120330]	否 ^[13]
12	<i>OCRL</i>	E5-E16dup	-	Hemi	-	///	XR	Lowe 综合征[309000]	否 ^[5]

注:OMIM:人类在线孟德尔遗传数据库;Het:杂合变异;Hemi:半合子变异;AD:常染色体显性遗传;XR:X 染色体连锁隐性遗传;RCS:肾视神经乳头缺损综合征 致病性分别由 SIFT、PolyPhen_2、MutationTaster 预测,+表示预测有害或致病,-表示预测良性,/表示无结果

Note:OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man; Het: heterozygous variation; Hemi: hemizygous variation; AD: autosomal dominant inheritance; XR: X-linked recessive inheritance; RCS: renal coloboma syndrome The pathogenicity was predicted by SIFT, PolyPhen_2 and MutationTaster, respectively, and + indicated damaging, - for benign, / for NA

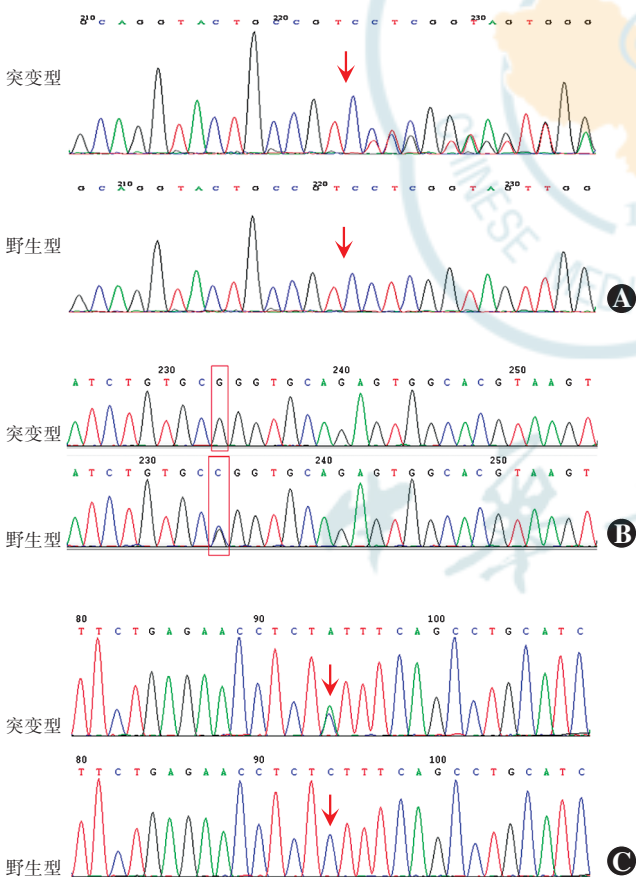


图 3 3 个新变异 Sanger 测序验证结果 A:家系 5 *CRYGD* 基因 c. 422delG 突变型与野生型 B:家系 7 *CRYBB2* 基因 c. 434G>C 突变型与野生型 C:家系 10 *ELP4* 基因 c. 886C>A 突变型与野生型
Figure 3 Sanger sequencing analysis for validation of 3 new variations A: Mutant and wild-type *CRYGD* c. 422delG in family 5 B: Mutant and wild-type *CRYBB2* c. 434G>C in family 7 C: Mutant and wild-type *ELP4* c. 886C>A in family 10

2.4 变异致病性分析

12 个先天性白内障家系共检出 12 个不同候选致病变异(表 3),其中 *ELP4* 基因 c. 886C>A、*CRYBB2* 基因 c. 434G>C、*CRYGD* 基因 c. 422delG 在 PubMed 数据库和 HGMD 专业版均未见报道,为新发现的变异位点。*CRYBA4* 基因 c. 277T>C 和 *OCRL* 基因 E5-E16dup 为本课题组已报道变异^[5-6]。*CRYGD* 基因 c. 422delG 为移码变异,依据《遗传变异分类标准与指南》和 2015 年版《ACMG Standards and Guidelines》判断其致病性非常强,等级为 PVS1,为致病性变异,主要表现为翻译过程提前终止而产生了截短的无功能产物蛋白。

ELP4 基因 c. 886C>A 和 *CRYBB2* 基因 c. 434G>C 位点在 dbSNP 数据库中无记录编号,不属于多态性位点,人群发生频率极低。gnomAD 数据库查询该变异在人群中发生频率未记录。蛋白功能分析软件对这 2 个变异位点进行预测,SIFT 预测值为 0,提示为有害变异,PolyPhen_2 和 MutationTaster 预测值均为 1,提示为有害和致病变异。*ELP4* 基因 c. 886C>A 变异导致第 296 位氨基酸由非极性二级结构趋向 α 螺旋的脂肪族亮氨酸替换为非极性二级结构趋向 β 折叠的异亮氨酸,*CRYBB2* 基因 c. 434G>C 变异导致第 145 位氨基酸由极性带正电无二级结构趋向的脂肪族精氨酸替换为非极性二级结构趋向 β 转角的杂环脯氨酸。*CRYBB2* 基因 c. 436G>C (p. V146L) 是与 c. 434G>C 位置紧邻的已知致病性错义变异^[9],c. 434G>C 有害的可能性大。*ELP4* 基因 c. 886C>A (p. L296I) 和 *CRYBB2* 基因 c. 434G>C (p. R145P) 位点氨基酸序列在物种间高度保守(图 4),变异有害的可能性大。

Species	Match	Gene	AA Alignment
Human			296 LVVLRGLLRTSLSACIITMPHTLI
mutated	all conserved		296 LVVLRGLLRTSLSACI
Ptrogodytes	all identical	ENSPTRG00000003473	297 LVVLRGLLRTSLSAC
Mmulatta	all identical	ENSMUG00000016807	295 LVVLRGLLRTSLSACI
Fcatus	all identical	ENSFCAG00000030334	296 LVVLRGLLRTSLSACM
Mmusculus	all identical	ENSMUSG00000027167	294 LYVLRGLLRSSLASACI
Ggallus	all identical	ENSGALG00000012127	417 LVVLRGLLRSSLASACIITMPHSL
Trubripes	all identical	ENSTRUG00000007181	281 LYGLRALLRSSLVAVVTVPSHL
Drerio	all identical	ENSARG00000008852	276 LYALRGLLRTSLSVAMMTVPSHL
Dmelanogaster	not conserved	FBgn0031711	316 LTLMLASVRNNSVCLITPMHML
Celegans	not conserved	WBGene00016128	223 LCCLRSLARSSYIMIVYITANSFR
Xtropicalis	all identical	ENSXETG00000008176	280 LYALRGLLRTSLSVCVITVPTHL
Species	Match	Gene	AA Alignment
Human			145 AHGYQEKVSSVRLVSGTWVGYQP
mutated	not conserved		145 AHGYQEKVSSVRLVSGTWVGYQY
Ptrogodytes	all identical	ENSPTRG00000014185	43 AHGYQEKVSSVRLVSGTWVGYQY
Mmulatta	all identical	ENSMUG00000006853	145 AHGYQEKVSSVRLVSGTWVGYQY
Fcatus	all identical	ENSFCAG00000013788	145 AHGYQEKVSSVRLVSGTWVGYQY
Mmusculus	all identical	ENSMUSG00000042240	145 AHGYQEKVSSVRLVSGTWVGYQY
Ggallus	all identical	ENSGALG00000026086	145 AHGYQEKVSSVRLVSGTWVGYQY
Trubripes	all identical	ENSTRUG00000019932	148 AHGYQEKVSSVRLVSGTWVGYQY
Drerio	all identical	ENSARG000000053512	148 AHGYHEKVSSVRLVSGTWVGYQY
Dmelanogaster	no homologue		
Celegans	no homologue		
Xtropicalis	all identical	ENSXETG00000001512	144 AHGYQEKVSSVRLVSGTWVGYQY

图 4 *ELP4* 基因 296 位和 *CRYBB2* 基因 145 位氨基酸序列在物种间的保守性 2 个位点均高度保守

Figure 4 Conservation of amino acid sequences at position 296 of *ELP4* and position 145 of *CRYBB2* among species Both loci were highly conserved

3 讨论

本研究 12 个先天性白内障家系包括 9 个单纯白内障家系、1 个先天性白内障伴无虹膜症家系和 2 个综合征型白内障家系。这些家系中仅 RCS 为单眼白内障,其余均为双眼发病;依据孟德尔遗传定律,仅眼脑肾综合征为 X 染色体连锁隐性遗传,其余均为常染色体显性遗传。针对晶状体致病基因靶向捕获测序进行的分析发现,12 个家系致病基因变异可分为 3 个组,即晶状体蛋白类变异(家系 1、3、4、5、7、8、9)、膜转运蛋白类变异(家系 2、6、12)和转录因子复合体类变异(家系 10、11)。本研究通过临床表型结合遗传学分析确诊了 12 个先天性白内障家系的致病基因及变异位点。

晶状体蛋白占人晶状体湿重的 30%~40%,占晶状体干重的 90%。 α 、 β 、 γ 晶状体球蛋白均为遗传性突变的靶蛋白,这些蛋白的基因变异可导致蛋白质结构异常和晶状体混浊^[14],从而引起先天性白内障。本研究检出的晶状体球蛋白类变异基因包括 *CRYBA4*、*CRYBB2*、*CRYGC* 和 *CRYGD*。*CRYBA4* 基因编码 β 晶状体球蛋白 A4 亚基, β 晶状体球蛋白是一种复杂的蛋白聚合体,通常同种亚基结合为同二聚体或不同亚基聚合为异二聚体。*CRYBA4* 为 β 晶状体球蛋白酸性基

团成员,是与 β -B1、 β -B2 和 β -B3 组成的基因簇的一部分^[15]。*CRYBB2* 基因编码 β 晶状体球蛋白 B2 亚基。*CRYGC* 为 γ 晶状体球蛋白家族的成员之一,据报道其变异与核性粉状白内障和板层白内障有关^[12,16]。*CRYGD* 基因变异可以出现更多的表型变异。 γ 晶状体球蛋白是一组由高度对称的单体蛋白组成的同源基因,通常缺乏连接肽和末端延伸。 γ 晶状体球蛋白家族包括 4 个基因(γ -A、 γ -B、 γ -C、 γ -D)和 3 个假基因(γ -E、 γ -F、 γ -G),在基因组序列中以基因簇的形式排列。晶状体的透明特性是组织结构高度有序的结果,这些结构的维持依赖于水合作用和单个细胞容积的控制。而各种相关膜转运蛋白就承担着这样的任务,其基因变异可导致先天性白内障^[14]。本研究检出的膜转运蛋白类变异基因包括 *MIP*、*GJA8* 和 *OCRL*。*MIP* 基因编码晶状体纤维的主要内在蛋白 AQP0,是成熟晶状体内最

多的连接膜蛋白,作为水通道蛋白涉及快速的水跨膜运动。*GJA8* 基因编码缝隙连接蛋白 α -8,作为缝隙连接蛋白的一部分,连接素 Cx50 是晶状体纤维细胞生长和成熟必需的。*OCRL* 基因编码肌醇多磷酸盐 5-磷酸酶,涉及调节膜转运过程,也定位于多个亚细胞膜。研究表明,*OCRL* 基因产物定位于视网膜色素上皮细胞、成纤维细胞和肾小管细胞的初级纤毛,*OCRL* 变异导致纤毛缩短、纤毛功能障碍^[17],从而使眼、肾脏出现相应症状。初级纤毛信号通路也介导眼压感觉^[18]。最新的 RNA 测序研究在 *OCRL* 变异导致的眼脑肾综合征中发现了与眼部白内障相关的差异表达基因^[19]。晶状体的发育是由多种基因在时间和空间上相互作用共同协调完成的,转录因子基因变异会导致一定程度的眼前节,如角膜和晶状体发育异常^[20]。本研究检出的转录因子复合体类变异基因有 *ELP4* 和 *PAX2*。*ELP4* 基因编码延伸子乙酰转移酶复合物亚基 4,在转录延伸期间直接与 RNA 聚合酶 II 接合。*ELP4* 基因对 *PAX6* 的表达有下游转录调控作用^[21],*PAX6* 为已知的无虹膜症致病基因,可导致无虹膜及白内障表型。*ELP4* 基因变异可间接通过调控 *PAX6* 影响白内障表型。*PAX2* 基因编码配对盒 2,该转录因子基因家族的核心特征是保守的 DNA 结合配对盒结构域。

靶向测序能够辅助先天性白内障遗传病因的确诊

及亚型鉴别。Astiazarán 等^[22]对 11 个墨西哥先天性白内障家系进行了靶向捕获测序研究,Zhai 等^[23]对 27 个中国先天性白内障家系进行了外显子组靶向捕获测序研究,其结果同样涉及本研究结果所属的 3 类基因,分别达到了 55% (6/11, 墨西哥人) 和 63% (17/27, 中国人) 的分子诊断率。本研究分子诊断率约为 71% (12/17), 这可能与根据临床表型纳入的白内障受试者和靶向捕获基因的优化有关。本研究 12 个家系患者的临床表现显示了异质性,家系 11、12 为伴有白内障的综合征患者,家系 7 白内障 3 型患者均双眼球缩小,而家系 3、4 患者无此症状。家系 10 无虹膜 2 型患者均虹膜缺损轻微,以白内障表现为主。一些白内障患者还表现出眼球震颤。本研究结果表明,不同基因型的先天性白内障表现有差异,即使相同基因型的先天性白内障表现也可不同。

本研究汇总分析了 12 个不同家系先天性白内障患者的临床表现和致病基因变异,报道了导致先天性白内障的 3 个新变异并分析了变异致病性。本研究结果拓展了常染色体显性遗传及 X 染色体连锁隐性遗传的先天性白内障致病基因变异谱,丰富了先天性白内障相关表型谱,有助于进一步理解该病的分子机制,为先天性白内障的确诊、遗传咨询和产前诊断提供了理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 白周现:参与选题、酝酿和设计试验、起草文章;邵敬芝:实施研究、采集数据;刘莉娜:分析/解释数据;孔祥东:对文章知识性内容的审阅和智力性内容的修改及定稿

参考文献

- [1] Hejtmanck JF. Congenital cataracts and their molecular genetics [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2008, 19 (2): 134–149. DOI: 10.1016/j.semedb.2007.10.003.
- [2] Santana A, Waiswo M. The genetic and molecular basis of congenital cataract [J]. *Arq Bras Oftalmol*, 2011, 74 (2): 136–142. DOI: 10.1590/s0004-27492011000200016.
- [3] Rahi JS, Dezateux C; British Congenital Cataract Interest Group. Measuring and interpreting the incidence of congenital ocular anomalies: lessons from a national study of congenital cataract in the UK [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42 (7): 1444–1448.
- [4] Chen C, Sun Q, Gu M, et al. A novel Cx50 (GJA8) p. H277Y mutation associated with autosomal dominant congenital cataract identified with targeted next-generation sequencing [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2015, 253 (6): 915–924. DOI: 10.1007/s00417-015-3019-x.
- [5] 白周现, 刘莉娜, 胡爽, 等. 一例基因外显子重复变异所致的眼脑肾综合征患儿的临床及遗传学分析 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2020, 37 (1): 28–32. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2020.01.008. Bai ZX, Liu LN, Hu S, et al. Clinical and genetic analysis of an infant with Lowe syndrome caused by exonic duplication of *OCRL* gene [J]. *Chin J Med Genet*, 2020, 37 (1): 28–32. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2020.01.008.
- [6] 白周现, 胡爽, 梅世月, 等. 一个导致先天性白内障的 *CRYBA4* 基因新突变鉴定及产前诊断 [J]. *国际遗传学杂志*, 2017, 40 (6): 338–343. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4386.2017.06.003. Bai ZX, Hu S, Mei SY, et al. Identification of a novel *CRYBA4* mutation in a congenital cataract family and its prenatal diagnosis [J]. *Int J Genet*, 2017, 40 (6): 338–343. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4386.2017.06.003.
- [7] Gu F, Zhai H, Li D, et al. A novel mutation in major intrinsic protein of the lens gene (*MIP*) underlies autosomal dominant cataract in a Chinese family [J]. *Mol Vis*, 2007, 13: 1651–1656.
- [8] Zhang K, Zhao WJ, Leng XY, et al. The importance of the last strand at the C-terminus in β B2-crystallin stability and assembly [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842 (1): 44–55. DOI: 10.1016/j.bbdis.2013.10.001.
- [9] Li L, Fan DB, Zhao YT, et al. Two novel mutations identified in ADCC families impair crystallin protein distribution and induce apoptosis in human lens epithelial cells [J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 17848 [2022-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29259299/>. DOI: 10.1038/s41598-017-18222-z.
- [10] Devi RR, Vijayalakshmi P. Novel mutations in *GJA8* associated with autosomal dominant congenital cataract and microcornea [J]. *Mol Vis*, 2006, 12: 190–195.
- [11] Zhang L, Fu S, Ou Y, et al. A novel nonsense mutation in *CRYGC* is associated with autosomal dominant congenital nuclear cataracts and microcornea [J]. *Mol Vis*, 2009, 15: 276–282.
- [12] Santhiya ST, Shyam Manohar M, Rawley D, et al. Novel mutations in the gamma-crystallin genes cause autosomal dominant congenital cataracts [J]. *J Med Genet*, 2002, 39 (5): 352–358. DOI: 10.1136/jmg.39.5.352.
- [13] Thomas R, Sanna-Cherchi S, Warady BA, et al. *HNF1B* and *PAX2* mutations are a common cause of renal hypodysplasia in the CKiD cohort [J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26 (6): 897–903. DOI: 10.1007/s00467-011-1826-9.
- [14] Francis PJ, Moore AT. Genetics of childhood cataract [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2004, 15 (1): 10–15. DOI: 10.1097/00055735-200402000-00003.
- [15] Lampi KJ, Ma Z, Shih M, et al. Sequence analysis of β A3, β B3, and β A4 crystallins completes the identification of the major proteins in young human lens [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272 (4): 2268–2275. DOI: 10.1074/jbc.272.4.2268.
- [16] Ren Z, Li A, Shastry BS, et al. A 5-base insertion in the γ C-crystallin gene is associated with autosomal dominant variable zonular pulverulent cataract [J]. *Hum Genet*, 2000, 106 (5): 531–537. DOI: 10.1007/s004390000289.
- [17] Luo N, West CC, Murga-Zamalloa CA, et al. *OCRL* localizes to the primary cilium: a new role for cilia in Lowe syndrome [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21 (15): 3333–3344. DOI: 10.1093/hmg/dds163.
- [18] Luo N, Conwell MD, Chen X, et al. Primary cilia signaling mediates intraocular pressure sensation [J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111 (35): 12871–12876 [2022-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25143588/>. DOI: 10.1073/pnas.1323292111.
- [19] Liu H, Barnes J, Pedrosa E, et al. Transcriptome analysis of neural progenitor cells derived from Lowe syndrome induced pluripotent stem cells: identification of candidate genes for the neurodevelopmental and eye manifestations [J/OL]. *J Neurodev Disord*, 2020, 12 (1): 14 [2022-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32393163/>. DOI: 10.1186/s11689-020-09317-2.
- [20] Burdon KP, McKay JD, Wirth MG, et al. The *PITX3* gene in posterior polar congenital cataract in Australia [J]. *Mol Vis*, 2006, 12: 367–371.
- [21] Balay L, Totten E, Okada L, et al. A familial pericentric inversion of chromosome 11 associated with a microdeletion of 163 kb and microduplication of 288 kb at 11p13 and 11q22.3 without aniridia or eye anomalies [J]. *Am J Med Genet A*, 2016, 170A (1): 202–209. DOI: 10.1002/ajmg.a.37388.
- [22] Astiazarán MC, García-Montañón LA, Sánchez-Moreno F, et al. Next generation sequencing-based molecular diagnosis in familial congenital cataract expands the mutational spectrum in known congenital cataract genes [J]. *Am J Med Genet A*, 2018, 176 (12): 2637–2645. DOI: 10.1002/ajmg.a.40524.
- [23] Zhai Y, Li J, Yu W, et al. Targeted exome sequencing of congenital cataracts related genes: broadening the mutation spectrum and genotype-phenotype correlations in 27 Chinese Han families [J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 1219 [2022-02-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28450710/>. DOI: 10.1038/s41598-017-01182-9.

(收稿日期:2022-03-25 修回日期:2022-08-08)

(本文编辑:刘艳 施晓萌)

