

· 临床研究 ·

ROBO3 基因变异致水平注视麻痹伴进行性脊柱侧弯两家系的临床特征和遗传学分析

刘婷¹ 王飞¹ 卢跃兵¹ 房仲奇² 李萍¹ 董世杰³ 白大勇⁴¹郑州大学附属儿童医院 河南省儿童医院郑州儿童医院眼科, 郑州 450018; ²郑州健康学院, 郑州 450064; ³郑州大学附属儿童医院 河南省儿童医院郑州儿童医院放射科, 郑州 450018;⁴首都医科大学附属北京儿童医院眼科 国家儿童医学中心, 北京 100045

通信作者: 白大勇, Email: bdy2389@139.com

【摘要】 目的 观察并分析 2 个水平注视麻痹伴进行性脊柱侧弯 (HGPPS) 家系的临床特征和致病基因。**方法** 采用家系调查研究, 纳入 2023 年 11 月至 2024 年 4 月于河南省儿童医院眼科检查确诊的 HGPPS 2 个家系各 2 代 3 人。详细询问先证者及家系成员病史及家族史, 并行视力、屈光度、眼前节、眼压、广角激光扫描眼底照相、光学相干断层扫描、视觉诱发电位 (VEP)、视网膜电图 (ERG)、眼部 B 型超声、全脊柱正位+侧位片、眼眶+头颅+颈椎+胸椎+腰骶椎磁共振成像 (MRI) 平扫。采集受试者外周静脉血 2 ml, 提取全基因组 DNA, 应用全外显子组测序 (WES) 技术进行基因测序。对可疑的致病变异位点通过 Sanger 测序进行验证, 并根据 ACMG 指南致病变异分级标准分析基因变异位点的致病性。**结果** 家系 1 先证者男, 3 岁 2 个月, 6 月龄时发现头向左歪, 脊柱以 T11-12 为中心右凸侧弯, VEP 和 ERG 检查未见明显异常; 家系 2 先证者男, 3 岁 4 个月, 左眼内斜视, 脊柱以 T12 为中心左凸侧弯。2 例先证者均出现水平注视麻痹, 眼球不能外转, 内转轻度受限, 左眼上斜视, 轻度水平眼球震颤, 垂直方向眼球运动正常, 大动作发育落后, 视力、眼前节及眼底正常; MRI 检查均显示延髓呈蝴蝶状, 延髓中央可见一处脑干裂隙。基因检测结果显示, 家系 1 先证者 ROBO3 基因第 7、8 号外显子分别存在 c. 1054delC (p. Gln352Serfs*90) (M1) 和 c. 1219G>T (p. Gly407Cys) (M2) 复合杂合变异; 先证者父亲携带 M1 变异, 母亲携带 M2 变异。家系 2 先证者 ROBO3 基因第 12、17 号外显子分别存在 c. 1888C>T (p. R630X) (M3) 和 c. 2684C>A (p. A895E) (M4) 复合杂合变异; 先证者父亲携带 M3 变异, 母亲携带 M4 变异。M1 和 M3 为可能致病性变异, M2 和 M4 为临床意义未明变异, 预测软件预测 M2 和 M4 均为有害变异。**结论** 2 个 HGPPS 家系均以水平注视麻痹和进行性脊柱侧弯为主要临床特征, 伴有眼球震颤和斜视, MRI 检查延髓中央有脑干裂隙。本研究新发现 4 个 ROBO3 基因变异, 增加了 HGPPS 的致病变异谱。

【关键词】 水平注视麻痹伴进行性脊柱侧弯; 基因变异; ROBO3 基因; 脑干裂隙**基金项目:** 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20220716)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20240530-00137

Clinical features and genetic analysis of horizontal gaze palsy with progressive scoliosis caused by ROBO3 gene variation in two families

Liu Ting¹, Wang Fei¹, Lu Yuebing¹, Fang Zhongqi², Li Ping¹, Dong Shijie³, Bai Dayong⁴¹Department of Ophthalmology, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Henan Children's Hospital, Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou 450018, China; ²Zhengzhou Health College, Zhengzhou 450064, China; ³Department of Radiology, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Henan Children's Hospital, Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou 450018, China; ⁴Department of Ophthalmology, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China

Corresponding author: Bai Dayong, Email: bdy2389@139.com

[Abstract] Objective To observe and analyze the ocular clinical features and pathogenic genes of horizontal gaze palsy with progressive scoliosis (HGPPS). **Methods** A pedigree study was conducted. Two families with HGPPS diagnosed by ophthalmology examination at Henan Children's Hospital from November 2023 to April 2024 were included, with 3 people from two generations in each family. Medical history and family history of the subjects were inquired. Vision acuity, diopter, anterior segment, intraocular pressure, wide-angle laser scanning ophthalmoscopy, optical coherence tomography, visual evoked potential (VEP), electroretinogram (ERG), ocular B-

ultrasound, full spine AP+lateral view, orbit+skull+cervical spine+thoracic spine+lumbosacral spine MRI plain scan were performed on the subjects. Whole genomic DNA was extracted from 2 ml of peripheral venous blood collected from the subjects, and gene sequencing was performed using whole exome sequencing (WES) technology. Suspicious pathogenic variant loci were verified by Sanger sequencing, and the pathogenicity of gene variant loci was analyzed according to the ACMG standards and guidelines for the interpretation of sequence variants. This study followed the Declaration of Helsinki. The study protocol was reviewed and approved by the Ethics Committee of Henan Children's Hospital (No. 2024-KY-0024). All subjects and guardians signed informed consent forms and were informed of relevant matters before genetic testing. **Results** The proband from family 1 was male, 3 years and 2 months old. At the age of 6 months, he was found to have head tilted to the left with a right scoliosis of the spine centered on T11–12 and no obvious abnormalities on VEP and ERG examinations. The proband from family 2 was male, 3 years and 4 months old, with a left scoliosis of the spine centered on T12. Both probands developed horizontal fixation paralysis, unable to rotate eye outward, slightly limited inward rotation, left eye hypertropia, mild horizontal nystagmus, normal vertical eye movement, backward development of major movements, and normal vision, anterior segment and fundus. MRI examination showed that the medulla oblongata was butterfly shaped, and a brainstem fissure could be seen in the center of the medulla oblongata. The genetic testing showed that the proband from family 1 had compound heterozygous variations c. 1054delC/p. Gln352Serfs*90 (M1) in exon 7 and c. 1219G>T/p. Gly407Cys (M2) in exon 8 of *ROBO3* gene. The father of the proband carried M1 and the mother of the proband carried M2. The proband from family 2 had compound heterozygous variations c. 1888C>T/p. R630X (M3) in exon 12 and c. 2684C>A/p. A895E (M4) in exon 17 of *ROBO3* gene. M1 and M3 were possible pathogenic, and M2 and M4 were of unknown clinical significance, and prediction software predicted M2 and M4 were harmful variations. **Conclusions** The main clinical features of two HGPPS pedigree are horizontal fixation paralysis and progressive scoliosis, accompanied by nystagmus and strabismus. MRI shows brainstem fissure in the central medullary area. Four variants are novel variants, which increases the variation spectrum of *ROBO3* gene.

[Key words] Horizontal gaze palsy with progressive scoliosis; Mutation; *ROBO3* gene; Brainstem fissure

Fund program: Henan Province Medical Science and Technology Research Plan Joint Construction Project (LHGJ20220716)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20240530-00137

水平注视麻痹伴进行性脊柱侧弯 (horizontal gaze palsy with progressive scoliosis, HGPPS) 是一种常染色体隐性遗传疾病, 其临床表现为出生时存在水平注视麻痹, 双眼不能向左侧和右侧注视, 部分伴有眼球震颤和斜视, 严重者可影响视力及视功能发育, 同时在儿童时期合并有进行性脊柱侧弯^[1]。HGPPS 发病原理为脑桥和小脑脚的发育缺陷, 伴有脑桥和髓质前后正中裂, 是一类与特定脑干神经系统神经交叉缺陷有关的综合征。该疾病致病突变位点多位于 11 号染色体 q23~q25 区间的 *ROBO3* 基因上, 编码的蛋白质在人类轴突引导中发挥重要作用^[2]。*ROBO3* 变异可导致后脑和脊髓中特定神经元群的轴突中线交叉缺陷, 导致协调运动的缺失和感觉信息整合的缺陷^[3-4]。目前国内关于 HGPPS 的报道较少, 本研究对 2 个 *ROBO3* 基因变异所致 HGPPS 家系患者的临床表现和遗传学特征进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用家系调查研究, 纳入 2023 年 11 月至 2024 年 4

月于河南省儿童医院就诊的 2 名来自不同家系的患者及其父母, 详细询问先证者及其家系成员病史及家族史。2 名先证者均经基因检测及临床检查确诊为 HGPPS (图 1)。本研究遵循《赫尔辛基宣言》, 研究方案经河南省儿童医院伦理委员会审核批准 (批文号: 2024-KY-0024), 所有受试者及未成年监护人检查前均获知情, 基因检测前均被告知相关事宜并签署知情同意书。

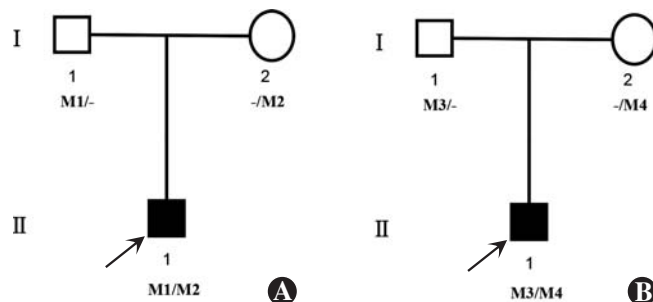


图 1 HGPPS 家系图 A: 家系 1 B: 家系 2 □: 正常男性; ○: 正常女性; ■: 男性患者; ↗: 先证者; M1: c. 1054delC; M2: c. 1219G>T; M3: c. 1888C>T; M4: c. 2684C>A

Figure 1 Pedigree of two HGPPS families A: Family 1 B: Family 2 □: normal male; ○: normal female; ■: male patient; ↗: proband; M1: c. 1054delC; M2: c. 1219G>T; M3: c. 1888C>T; M4: c. 2684C>A



1.2 方法

1.2.1 一般检查 采用 TY-G-C 点状视力表(北京同明眼科仪器开发有限责任公司)检查视力;采用手持式自动验光仪(MOPTIM,深圳市斯尔顿科技有限公司)测量屈光度;采用同视机(长春市光电仪器有限公司)拍摄 9 个诊断眼位评估眼球运动。所有家系成员均接受眼前节 OVS-Ⅲ裂隙灯显微镜检查(广州万灵帮桥医疗器械有限责任公司)、Pulsair intelliPuff 眼压计测量(英国睛乐有限责任公司)、广角激光扫描眼底照相(OPTOS PLC 欧堡,上海明望医疗器械有限公司)、光学相干断层扫描(河南视微影像科技有限公司)、视觉诱发电位(visual evoked potential, VEP)+视网膜电流图(electroretinogram, ERG)(深圳市科裕康医疗器械有限公司)、眼部 B 型超声(天津迈达医学科技股份有限公司)、全脊柱正位+侧位 DR 片(日本岛津公司)。采用 3.0T 系统磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)(德国西门子股份公司)对眼眶+头颅+颈椎+胸椎+腰椎进行平扫,头线圈,层厚为 2 mm,成像范围为 256 mm×256 mm。

1.2.2 基因检测及致病性分析 根据标准方案采集先证者及其父母外周静脉血 2 ml,提取基因组 DNA,应用全外显子组测序技术进行基因测序。基于高通量测序平台(MGISEQ-T7),采用定制探针进行捕获建库,双末端测序。利用 BWA 软件将 reads 数据与人类参考基因组 GRCh38 进行比对。使用基因检测智能操作系统进行变异注释和解读,根据人类基因变异数据库 ExAC、dbSNP、1000 genome、gnomAD、InterPro、ClinVar、OMIM、HGMD 等查找变异位点的收录情况。使用预测软件如 SIFT、Polyphen2、LRT、MutationTaster 预测基因变异位点对蛋白功能的影响。采用 Sanger 测序对变异位点进行验证。参考美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)变异分类标准与指南(2015)对变异位点进行致病性分析。

2 结果

2.1 临床特征

家系 1 先证者男,3 岁 2 个月,足月儿,智力发育正常,语言发育正常,运动功能落后于同龄儿。6 月龄时发现头向左歪,2 岁 8 月龄时发现双足扁平,2 岁 10 月龄时发现水平眼球震颤,左眼上斜视,头向左肩倾斜,双眼球不能外转,内转受限不过中线,垂直方向眼球运动正常(图 2)。点状视力右眼为 0.5,左眼为 0.5;屈光度右眼为 +1.25 DS/-0.75 DC×5°,左眼为

+0.50 DS/-1.50 DC×21°;双眼前节未见明显异常;眼底照相显示双眼底无明显异常;B 型超声显示双眼玻璃体及球壁无明显异常回声;眼轴长度右眼 22.47 mm,左眼 22.59 mm;闪光 VEP 显示双眼 P100 峰时无明显延迟,振幅降低;闪光 ERG 双眼暗适应 0.01 ERG 显示双眼 b 波振幅轻中度降低,暗适应 3.0 ERG 显示双眼 a、b 波振幅轻度降低,暗适应振荡电位显示振幅降低,明适应 3.0 和 30 HZ 闪烁光反应显示双眼振幅无明显降低;光学相干断层扫描检查显示双眼黄斑区视网膜各层结构及形态正常。MRI 显示左侧颞部局限性蛛网膜下腔略宽,左侧侧脑室较对侧略宽,双侧小脑上脚增粗,延髓呈蝴蝶状,延髓中央可见一处脑干裂隙;C1-T3 水平脊髓内小片状 T2 压脂稍高信号;双侧动眼神经及外展神经走行区未见异常。脊柱 DR 片显示脊柱以 T11-12 为中心右凸侧弯,椎体形态未见明显异常;脊柱后凸不明显,生理弯曲存在,Cobb 角为 30°。先证者 3 岁时开始佩戴外固定支具治疗脊柱侧弯,矫正治疗 4 个月后 Cobb 角为 11°。先证者父母非近亲结婚,眼部及全身检查均未见明显异常。

家系 2 先证者男,3 岁 4 个月,足月儿,智力发育正常,语言发育正常,大动作发育落后,1 岁 7 月龄时发现脊柱侧弯,眼科就诊发现轻度水平眼球震颤,左眼上斜视,左眼角膜映光+10°,不伴有歪头,双眼不能外转,内转受限不过中线,右眼上转轻度受限,垂直方向眼球运动正常。点状视力右眼为 0.5,左眼为 0.3;屈光度右眼为 -1.25 DC×95°,左眼为 -1.25 DS/-1.50 DC×74°;眼底照相显示双眼底无明显异常;B 型超声显示双眼玻璃体及球壁无明显异常;眼轴长度右眼为 22.97 mm,左眼为 22.58 mm。光学相干断层扫描检查显示双眼黄斑区视网膜各层结构及形态正常。MRI 显示脑干形态欠佳,第四脑室前部较尖,延髓呈蝴蝶状,延髓中央可见一处脑干裂隙,双侧动眼神经及外展神经走行区未见异常(图 3);脊柱呈 S 形侧弯畸形,脊髓外形可,其内未见异常信号,圆锥末端位于 L1 水平,各椎体及椎间盘未见明确异常信号,椎间隙未见狭窄,椎管未见增宽。脊柱 DR 片显示脊柱以 T12 为中心左凸,所见椎体骨质及形态完整,关节间隙正常,Cobb 角为 23°。先证者于 1 岁 7 月龄时开始佩戴外固定支具矫正治疗,矫正治疗 1 年 5 个月后 Cobb 角为 12°(图 4)。先证者父母非近亲结婚,眼部及全身检查均未见明显异常。

2.2 分子遗传学分析

经全基因组外显子测序和 Sanger 测序验证,发现家系 1 先证者 *ROBO3* 基因 2 个杂合变异, M1:c. 1054delC

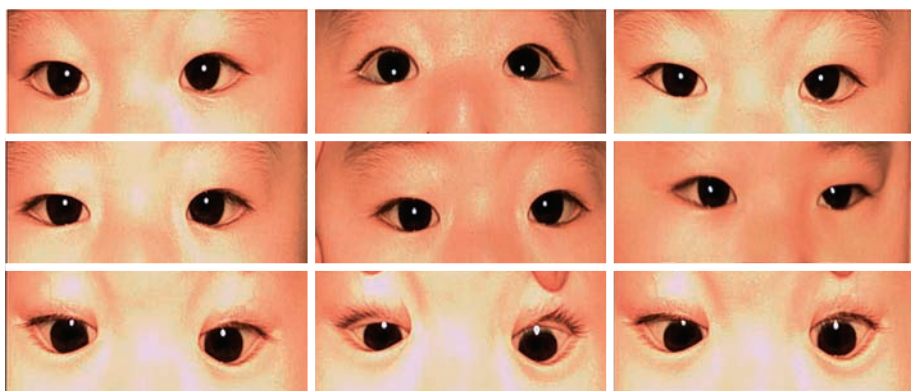


图 2 家系 1 先证者九方位眼位照相 双眼水平注视麻痹,不能外转,垂直方向运动正常
Figure 2 Nine gaze-directions photos of proband in family 1 Both eyes were paralyzed in horizontal fixation and unable to turn outward. Vertical movement was normal

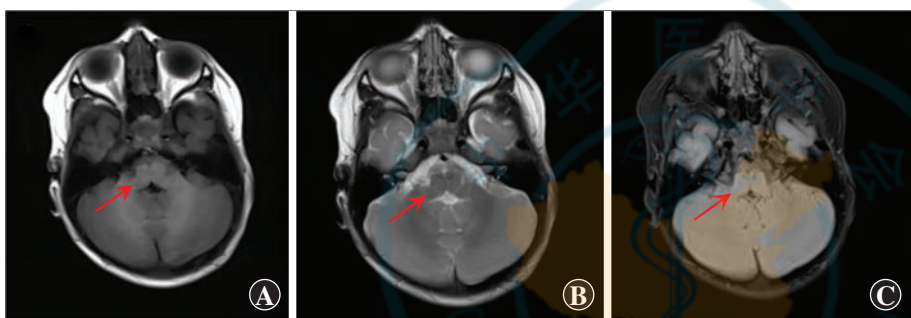


图 3 家系 2 先证者头颅 MRI 检查图像 A、B、C 分别示 T1WI、T2WI、T2WI-Flair 序列,均显示延髓呈蝴蝶状,中央可见脑干裂隙(红箭头)
Figure 3 Head MRI images of proband in family 2 A, B, and C showed T1WI, T2WI, and T2WI-Flair sequences respectively, all showing a butterfly-shaped medulla with a brainstem fissure (red arrow) in the center

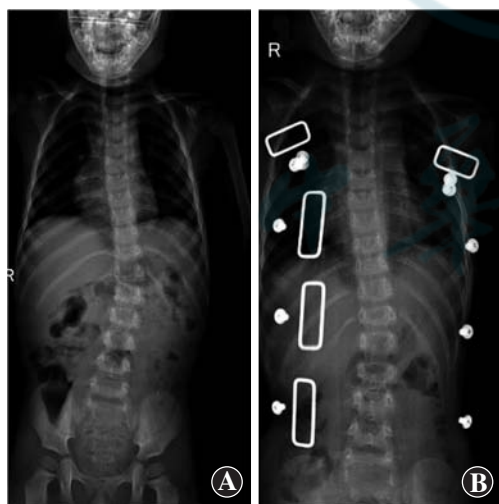


图 4 家系 2 先证者脊柱 DR 片 A:矫正前脊柱以 T12 为中心左凸, Cobb 角为 23° B:佩戴外固定支具矫正 1 年 5 个月 Cobb 角为 12°
Figure 4 Spine DR images of proband in family 2 A: Spine curved to left centered on T12, with the Cobb angle of 23° B: After 17 months of correction with external fixation braces, the Cobb angle of 12°

(p. Gln352Serfs*90)和 M2:c. 1219G>T (p. Gly407Cys)。M1 为第 7 外显子第 1 054 位碱基缺失,致第 352 位密码子编码蛋白由谷氨酰胺变为丝氨酸,移码提前产生

终止密码子。M2 为错义变异,第 8 外显子编码区第 1 219 位核苷酸由 G(鸟嘌呤)变异为 T(胸腺嘧啶),导致编码蛋白序列内第 407 位氨基酸由甘氨酸变为半胱氨酸。M1 和 M2 变异在人类基因变异数据库中的发生频率极低。Sanger 测序验证结果显示,先证者父亲和母亲分别携带 M1 和 M2 变异(图 5)。根据 ACMG 指南致病变异分级标准, M1 为可能致病性变异 (PVS1+ PM2 _ Supporting), M2 为临床意义未明变异 (PM3 + PM2 _ Supporting + PP3)。查阅文献及数据库暂未发现该 2 个位点相关报道,均为新发现的变异。

经全基因组外显子测序和 Sanger 测序验证,发现家系 2 先证者 *ROBO3* 基因 2 个杂合变异, M3: c. 1888C>T (p. R630X) 和 M4: c. 2684C>A (p. A895E)。M3 为无义变异,第 12 外显子第 1 888 位核苷酸由 C(胞嘧啶)变异为 T(胸腺嘧啶),导致编码蛋白序列内第 630 号精氨酸变为终止密码子,使翻译提前结束。M4 为错义变异,第 17 外显子编码区第 2 684 位核苷酸由 C(胞嘧啶)变异为 A(腺嘌呤),导致编码蛋白序列内第 895 位氨基酸由丙氨酸变为谷氨酸,导致多肽链的氨基酸序列变化。M3 和 M4 变异为人类基因变异数据库中正常对照人群中未发现(或隐性遗传方式中频率极低)的变异。Sanger 测序验证结果显示,父亲和母亲分别携带 M3 和 M4 变异(图 6)。根据 ACMG 指南致病变异分级标准, M3 为可能致病性变异 (PVS1+PM2_Supporting), M4 为临床意义未明变异 (PM2_Supporting+PM3)。查阅文献及数据库暂未发现该 2 个位点相关报道,均为新发现的变异。

3 讨论

遗传学研究证实, HGPPS 的发病机制与 *ROBO3* 基因变异有关, HGPPS 患者具有脑干发育异常和脑干神经元通路交叉的缺陷^[4]。ROBO 是由 Seeger 等^[5]最先于 1993 年从黑腹果蝇中克隆得到,是一种与发育相关的跨膜蛋白,其与配体 Slit 结合在神经系统发育中起

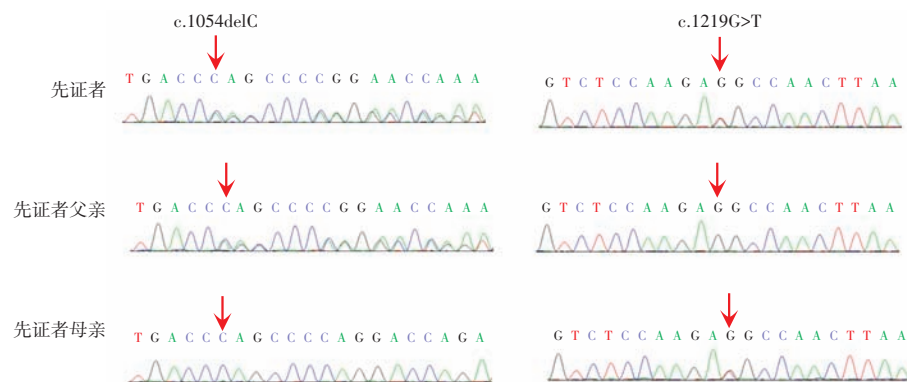


图 5 HGPPS 家系 1 成员 Sanger 测序图 先证者 *ROBO3* 基因第 7、8 号外显子分别存在 c. 1054delC (p. Gln352Serfs*90) (M1) 和 c. 1219G>T (p. Gly407Cys) (M2) 复合杂合变异; 先证者父亲仅携带 M1 变异位点; 先证者母亲仅携带 M2 变异位点; 箭头所示为变异位点

Figure 5 Sanger sequencing results of family 1 with HGPPS The proband had a compound heterozygous variations c. 1054delC (p. Gln352Serfs*90) (M1) in exon 7 and c. 1219G>T (p. Gly407Cys) (M2) in exon 8 of the *ROBO3* gene. The proband's father carried the M1 variant locus and the proband's mother carried the M2 variant locus. Arrows showed the variant site

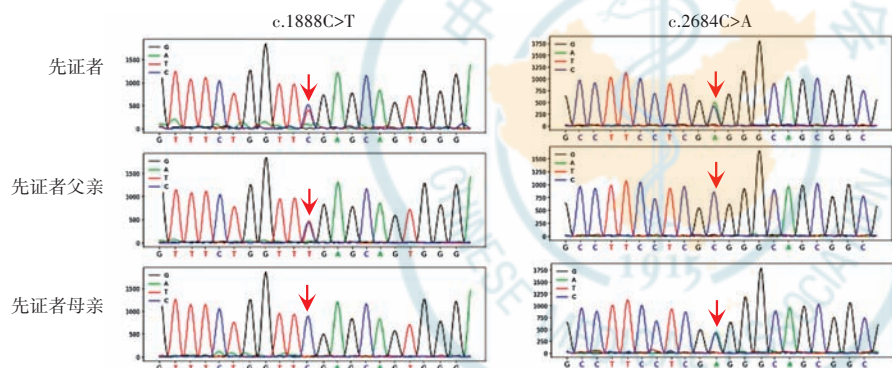


图 6 HGPPS 家系 2 成员 Sanger 测序图 先证者 *ROBO3* 基因第 12、17 号外显子分别存在 c. 1888C>T (p. R630X) (M3) 和 c. 2684C>A (p. A895E) (M4) 复合杂合变异; 先证者父亲仅携带 M3 变异位点; 先证者母亲仅携带 M4 变异位点; 红箭头所示为变异位点

Figure 6 Sanger sequencing results of family 2 with HGPPS The proband had a compound heterozygous variations c. 1888C>T (p. R630X) (M3) in exon 12 and c. 2684C>A (p. A895E) (M4) in exon 17 of the *ROBO3* gene. The proband's father carried the M3 variant locus and the proband's mother carried the M4 variant locus. Arrows showed the variant site

重要作用。ROBO 蛋白家族有 4 个成员, 包括 ROBO1、ROBO2、ROBO3 和 ROBO4, 其中 ROBO3 蛋白结构包括由具有 5 个免疫球蛋白样序列和 3 个 III 型纤维连接蛋白结构域组成的胞外区、跨膜区和 3 个保守的 ROBO 特异性序列 CC0、CC2 和 CC3 组成的胞内区^[6-10]。

ROBO3 基因包含 28 个外显子, 编码含 1 386 个氨基酸的跨膜受体蛋白, 在中脑、小脑和脊髓回路中广泛表达, 可竞争性抑制 *ROBO1* 与 Slit 的结合, 消除 *ROBO1* 对神经中线的排斥作用, 促进轴突穿越中线^[11-12]。*ROBO3* 通过阻断轴突对排斥性 Slit 受体的反应允许神经中线交叉, 这种作用机制决定了脑干神经轴突交叉以及由此产生的脑干形态变化, *ROBO3* 变

异会导致该功能丧失, 是 HGPPS 发生的关键因素^[10,13]。本研究中国家系 1 和家系 2 先证者头颅 MRI 显示脑干形态异常, 延髓均呈蝴蝶状, 延髓中央可见脑干裂隙, 脑干神经轴突未交叉至对侧, 是 HGPPS 的特征性表现, 也是其病理生理的发病基础。

本研究中家系 1 和家系 2 先证者双眼均呈水平注视麻痹, 表现为眼球不能外转, 内转受限。水平共轭眼球运动的神经机制取决于神经元之间的连接, 这些神经元支配双眼同时向同一方向运动。外展神经元和脑桥旁正中网状结构的神经元被视为脑桥被盖的水平凝视中心。外展核间神经元向上投射到对侧内侧纵束, 连接动眼神经核的运动神经元, 这是共轭运动的解剖学基础^[14]。2 例先证者的水平注视麻痹可能与脑桥网状结构以及内侧纵束中发育的轴突不能穿过中线从而导致信号无法向外展神经传达有关^[15]。

目前研究认为 *ROBO3* 变异通过改变配体识别或蛋白质折叠来影响蛋白质功能变化, 对神经纤维束的形成或对脊柱侧弯产生影响^[16]。Kurian 等^[17] 认为脊柱侧弯与脑桥网状结构异常以及

ROBO3 基因变异导致的肌肉骨骼系统的主要功能障碍有关。Lin 等^[18] 基于 MRI 纤维束成像的结果, 认为脊柱侧弯是由于小脑下脚和脑桥小脑束传入纤维的发育不全所致。本研究中家系 1 和家系 2 先证者均患有脊柱侧弯。家系 1 先证者 3 岁时检查发现脊柱侧弯, 佩戴矫正支具 4 个月后 Cobb 角由 30° 变为 11°, 但观察时间短, 目前仍在随访观察中。家系 2 先证者 1 岁 7 月龄时发现脊柱侧弯即开始治疗, 去除外固定支具后观察到脊柱侧弯呈进行性, 故需长期佩戴支具矫正治疗。

Xiu 等^[2] 通过检索 2004—2019 年发表的 HGPPS 相关文献报道及综述, 共收集 76 例患者信息, 发现大多数患者在婴儿早期就出现症状, 主要表现为水平眼

球运动障碍,或以斜视或斜颈为首发症状,大部分伴有水平眼球震颤,也可出现垂直眼球震颤。大部分患者脊柱侧弯出现的时间比水平注视麻痹晚,脊柱侧弯最早发病年龄为 2 个月,最晚发病年龄为 14 岁,中位年龄为 6 岁。大约 1/3 的患者出现运动迟缓,还可出现双侧早发性感音神经性耳聋、同侧脑卒中、智力障碍及言语迟缓。少数患者还可出现脑积水以及额叶和胼胝体发育不全。家系 1 先证者 6 月龄时即出现歪头,2 岁 10 月龄时发现水平注视麻痹、斜颈和斜视,脊柱 DR 片显示脊柱侧弯,运动发育落后,水平注视麻痹的出现早于脊柱侧弯。ERG 检查明适应振幅轻度降低,但患儿年龄尚小,需持续追踪视力发育情况。家系 2 先证者于 1 岁 7 月龄时发现脊柱侧弯,眼科常规检查时发现水平注视麻痹及斜视,不伴有歪头,脊柱侧弯的出现早于水平注视麻痹。家系 1 和家系 2 先证者均有特征性的水平注视麻痹和脊柱侧弯,MRI 检查延髓中央均可见脑干裂隙,伴有斜视和水平眼球震颤,没有出现听力及智力障碍等,基因检测均发现 *ROBO3* 基因变异,符合 HGPPS 的临床诊断。

既往研究尚未报道 HGPPS 患者基因型和表型之间存在相关性。目前发现 HGPPS 患者的 *ROBO3* 基因变异位点有 56 个,变异类型包括错义变异(48.8%)、缺失(20.9%)、重复(14.0%)、无义变异(12.8%)和剪接位点变异(3.5%);其中纯合变异 88.4%,杂合变异 11.6%。本文报道了 4 个 *ROBO3* 基因变异位点,包括 2 个可能致病性变异 c. 1054delC (M1) 和 c. 1888C>T (M3),2 个临床意义未明变异 c. 1219G>T (M2) 和 c. 2684C>A (M4)。M2 和 M4 的 REVEL 值分别为 0.848 和 0.493,多款预测软件提示其为有害变异。因此,推测这 2 个复合杂合变异可能是导致本研究 2 个家系发生 HGPPS 的原因。

HGPPS 属于先天性颅神经异常支配眼病的一种,此类常见疾病还包括先天性眼外肌纤维化 (congenital fibrosis of the extraocular muscles, CFEOM)、Duane 眼球后退综合征 (Duane retraction syndrome, DRS)、Mobius 综合征等。CFEOM 表现为双眼上睑下垂,固定性内斜视较外斜视多见,可出现不同程度垂直斜视。CFEOM 的致病基因包括 *KIF21A*、*ARIX/PHOX2A*、*TUBB3* 和 *TUBB2B*。DRS 的临床特征为眼球内转、外转或内外转均受限,患眼内转时眼球后退、睑裂缩小,外转时睑裂开大,部分患眼内转时伴有上射或下射现象。DRS 的致病基因包括 *SALL4*、*HOXA1* 和 *CHN1*。Mobius 综合征多为散发病例,遗传方式多样,以双侧展神经和双侧面神经麻痹为特征,表现为患眼内斜视,不能外转伴

有面具脸,部分患者合并舌部、肢体及胸部发育异常,目前其致病基因被定位于 13 号染色体 q12.2~q13 区间^[19]。HGPPS 几乎不表现上睑下垂,内转及外转时也不出现眼球后退及睑裂的变化,不伴有面具脸,且致病基因不相同,可予以鉴别。

Pina 等^[20] 报告了 1 例 13 岁女性 HGPPS 患者,基因检测显示存在 *ROBO3* 基因复合杂合变异,患儿患有双眼晚期圆锥角膜,右眼行穿透性角膜移植术、左眼行角膜胶原交联手术后双眼视力得到改善,提示临床应进行早期识别和干预,以改善患者的生活质量。既往报道未发现 *ROBO3* 基因和圆锥角膜存在相关性,可能存在未知的遗传关联,需要对 HGPPS 患者进行长期全面的眼科随访。Matera 等^[21] 首次报告了 1 例 6 岁女性 HGPPS 患者同时患有癫痫,智力正常,但阅读和写作存在严重困难,这可能提示 HGPPS 与颅脑疾病相关,目前相关研究报道不充分,有待进一步探索。

综上所述,HGPPS 在临床极为少见,本文报道的 2 个家系的先证者临床特征明显,包括水平注视麻痹和进行性脊柱侧弯,MRI 显示均有脑干裂隙,这些特征易与其他疾病相鉴别。脊柱侧弯常呈进行性,对患者的生活质量产生影响,需要长期进行矫正治疗。2 名先证者均为 *ROBO3* 基因复合杂合变异,其父母分别携带 1 个变异位点。4 个变异中 2 个为可能致病性变异、2 个为临床意义未明变异,但多款预测软件提示 2 个临床意义未明变异属于有害变异,因此推测这 2 个复合杂合变异可能导致了先证者 HGPPS 的发生。既往文献未报道这 4 个位点致病性,均为新发现的变异,扩充了 *ROBO3* 基因的变异谱,为临床 HGPPS 的诊疗工作提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 刘婷:参与选题、采集病例、资料分析及解释、论文撰写;王飞:采集病例、资料分析及解释;卢跃兵、房仲奇、李萍、董世杰:参与选题、采集数据;白大勇:参与选题、研究设计、疾病诊断及论文修改

参考文献

- [1] 赵堪兴. 斜视弱视学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2018:171.
- [2] Xiu Y, Lv Z, Wang D, et al. Introducing and reviewing a novel mutation of *ROBO3* in horizontal gaze palsy with progressive scoliosis from a Chinese family[J]. J Mol Neurosci, 2021, 71(2): 293-301. DOI: 10.1007/s12031-020-01650-4.
- [3] Huang L, Guo J, Xie Y, et al. Clinical features and genotypes of six patients from four families with horizontal gaze palsy with progressive scoliosis[J/OL]. Front Pediatr, 2022, 10: 949565 [2024-10-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36186627>. DOI: 10.3389/fped.2022.949565.
- [4] Bozdoğan ST, Dinç E, Sarı AA, et al. A novel mutation of *ROBO3* in horizontal gaze palsy with progressive scoliosis[J]. Ophthalmic Genet, 2017, 38(3): 284-285. DOI: 10.1080/13816810.2016.1188123.

- [5] Seeger M, Tear G, Ferres-Marco D, et al. Mutations affecting growth cone guidance in *Drosophila*: genes necessary for guidance toward or away from the midline [J]. *Neuron*, 1993, 10(3): 409–426. DOI: 10.1016/0896-6273(93)90330-t.
- [6] Kidd T, Brose K, Mitchell KJ, et al. Roundabout controls axon crossing of the CNS midline and defines a novel subfamily of evolutionarily conserved guidance receptors [J]. *Cell*, 1998, 92(2): 205–215. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80915-0.
- [7] Brose K, Bland KS, Wang KH, et al. Slit proteins bind Robo receptors and have an evolutionarily conserved role in repulsive axon guidance [J]. *Cell*, 1999, 96(6): 795–806. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80590-5.
- [8] Cho JH, Kam JW, Cloutier JF. Slits and Robo-2 regulate the coalescence of subsets of olfactory sensory neuron axons within the ventral region of the olfactory bulb [J]. *Dev Biol*, 2012, 371(2): 269–279. DOI: 10.1016/j.ydbio.2012.08.028.
- [9] Zhang HY, Zheng LF, Yi XN, et al. Slit1 promotes regenerative neurite outgrowth of adult dorsal root ganglion neurons *in vitro* via binding to the Robo receptor [J]. *J Chem Neuroanat*, 2010, 39(4): 256–261. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2010.02.001.
- [10] 黄唯, 徐忠祥. Robos 在神经精神疾病中的研究进展 [J]. *海南医学*, 2021, 32(12): 1604–1608.
- Huang W, Xu ZX. Research progress of Robos in neuropsychiatric diseases [J]. *Hainan Med J*, 2021, 32(12): 1604–1608.
- [11] Friocourt F, Kozulin P, Belle M, et al. Shared and differential features of Robo3 expression pattern in amniotes [J]. *J Comp Neurol*, 2019, 527(12): 2009–2029. DOI: 10.1002/cne.24648.
- [12] Rousan LA, Qased A, Audat ZA, et al. Horizontal gaze palsy and progressive scoliosis with two novel *ROBO3* gene mutations in two Jordanian families [J]. *Ophthalmic Genet*, 2019, 40(2): 150–156. DOI: 10.1080/13816810.2019.1592199.
- [13] Jen JC, Chan WM, Bosley TM, et al. Mutations in a human *ROBO* gene disrupt hindbrain axon pathway crossing and morphogenesis [J]. *Science*, 2004, 304(5676): 1509–1513. DOI: 10.1126/science.1096437.
- [14] Pinero-Pinto E, Pérez-Cabezas V, Tous-Rivera C, et al. Mutation in *ROBO3* gene in patients with horizontal gaze palsy with progressive scoliosis syndrome: a systematic review [J/OL]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(12): 4467 [2024–10–20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32580277>. DOI: 10.3390/ijerph17124467.
- [15] Dolar Bilge A. Horizontal gaze palsy with progressive scoliosis: a case report and literature review [J]. *Neuroophthalmology*, 2019, 43(5): 334–336. DOI: 10.1080/01658107.2018.1520901.
- [16] Ungaro C, Mazzei R, Sprovieri T. Horizontal gaze palsy with progressive scoliosis: is scoliosis linked to *ROBO3* mutations? [J]. *Neurol Sci*, 2019, 40(1): 207–208. DOI: 10.1007/s10072-018-3567-z.
- [17] Kurian M, Megevand C, De Haller R, et al. Early-onset or rapidly progressive scoliosis in children: check the eyes! [J]. *Eur J Paediatr Neurol*, 2013, 17(6): 671–675. DOI: 10.1016/j.ejpn.2013.05.011.
- [18] Lin CW, Lo CP, Tu MC. Horizontal gaze palsy with progressive scoliosis: a case report with magnetic resonance tractography and electrophysiological study [J/OL]. *BMC Neurol*, 2018, 18(1): 75 [2024–10–20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29843650>. DOI: 10.1186/s12883-018-1081-9.
- [19] 宁美真, 杨先, 孔庆兰, 等. 先天性颅神经异常支配眼病研究进展 [J]. *眼科新进展*, 2014, 34(1): 94–97. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2014.0026.
- Ning MZ, Yang X, Kong QL, et al. Research progress on congenital cranial dysinnervation disorders [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2014, 34(1): 94–97. DOI: 10.13389/j.cnki.rao.2014.0026.
- [20] Pina S, Pedrosa C, Feijóo B, et al. Horizontal gaze palsy with progressive scoliosis and severe keratoconus with a compound heterozygous mutation in *ROBO3* [J/OL]. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2014, 51 Online: e29–32 [2024–10–20]. <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26900705>. DOI: 10.3928/01913913-20140521-01.
- [21] Matera E, Petruzzelli MG, Tarantini M, et al. Horizontal gaze palsy with progressive scoliosis with overlapping epilepsy and learning difficulties: a case report [J/OL]. *Brain Sci*, 2022, 12(5): 613 [2024–10–20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35625000>. DOI: 10.3390/brainsci12050613.

(收稿日期: 2024-11-14 修回日期: 2025-06-20)

(本文编辑: 张宇 骆世平)

读者 · 作者 · 编者

本刊对论文关键词的著录要求

本刊投稿的论文请分别在中英文摘要下方标引 3~8 个关键词以便于编制文献索引。关键词应选取能反映文章主题概念的词或词组, 中英文关键词应一致。投稿作者可登陆 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh> 或 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=mesh> 网站从美国国立医学图书馆的 MeSH 数据库中选取关键词, 其中文译名可参照中国医学科学院信息研究所编撰的《医学主题词注释字顺表》。未被词表收录的新的专业术语(自由词)可直接作为关键词使用, 但应排序在最后。中医药关键词应从中国中医科学院中医药信息研究所编写的《中医药主题词表》中选取。关键词中的缩写词应按《医学主题词注释字顺表》还原为全称, 每个关键词之间用“;”分隔。

本刊征稿启事

《中华实验眼科杂志》是由中国科学技术协会主管、中华医学会主办、河南省眼科研究所 河南省立眼科医院承办的眼科专业学术期刊, 月刊, 每月 10 日出版。本刊的报道范围主要为眼科基础和临床研究领域领先的科研成果, 主要栏目设有专家述评、实验研究、临床研究、调查研究、综述、病例报告等, 学术内容涉及眼科疾病的基因学研究、基因诊断和基因靶向治疗、眼科遗传学研究、分子生物学研究、眼科微生物学研究、眼科药理学研究、眼科生物材料研究、眼科表观遗传研究、眼科疾病的动物模型、眼科疾病的流行病学研究、眼科疾病的多中心或单中心随机对照临床试验、循证医学临床实践及眼科疾病的临床研究等。本刊拟刊出海外学者的中文或英文原创性论文或评述类文章, 欢迎国内外眼科研究人员踊跃投稿。

(本刊编辑部)

中华医学杂志社
Chinese Medical Association Publishing House

版权所有 违者必究