

· 临床研究 ·

中国汉族常染色体显性遗传多灶性 BVMD 一家系临床表型和遗传学特征分析

蒋永强 韩金凤 丁慧芳 郭浩轶

河南省人民医院眼科 河南省立眼科医院, 郑州 450003

通信作者: 郭浩轶, Email: haoyiguo2000@aliyun.com

【摘要】 目的 分析多灶性 Best 卵黄样黄斑营养不良 (BVMD) 一家系的临床特征及致病原因, 并探讨候选变异对蛋白结构的影响。 **方法** 采用家系调查研究方法, 收集 2024 年 8 月于河南省立眼科医院就诊的中国汉族多灶性 BVMD 一家系共 4 人, 其中患者 1 例。收集家系成员病史, 并进行详细的眼科检查, 包括视力、眼压、彩色眼底照相、荧光素眼底血管造影 (FFA)、吲哚菁绿血管造影 (ICGA)、眼底自发荧光 (FAF)、光学相干断层扫描和眼电图 (EOG) 检查。收集该家系成员外周静脉血, 对患者进行全外显子组测序, 筛选致病变异; 其他成员采用 Sanger 测序验证, 并对发现的变异位点进行致病性分析和蛋白结构预测。 **结果** 先证者双眼最佳矫正视力 0.5, 眼压正常, 黄斑及血管弓周围可见多个卵黄样病变, 边界清晰; FAF 检查发现先证者双眼黄斑区卵黄样物质呈高荧光, 且可见多个病灶; OCT 显示双眼黄斑区视网膜神经上皮层与视网膜色素上皮 (RPE) 层分离, 黄斑中心凹下方区域高反射物质沉积于 RPE, 脉络膜增厚, 脉络膜大血管扩张; FFA 检查发现双眼后极部黄斑强荧光区, 边界欠清, 黄斑区外可见散在点状强荧光, 造影晚期点状强荧光不随背景荧光衰退而减弱; ICGA 检查显示双眼造影早期脉络膜血管强荧光, 伴点状弱荧光灶, 造影晚期可见点状强荧光集中于黄斑区; EOG 检查显示双眼 Arden 比值下降 (右眼为 1.2, 左眼为 1.1), 双眼光反应峰值显著降低 (右眼为 332.6 $\mu\text{V}/\text{div}$, 左眼为 354.6 $\mu\text{V}/\text{div}$)。先证者临床表型符合多灶性 BVMD; 先证者父母和胞姐临床表型未见明显异常。全外显子组测序显示, 先证者及其母亲 *BEST1* 基因外显子 2 存在杂合错义变异 c.37C>T (p.Arg13Cys), 导致第 13 位精氨酸变异为半胱氨酸, 遗传模式符合常染色体显性遗传。经美国医学遗传学与基因组学学会序列变异解读标准和指南评估, 该变异被分类为可能致病性变异。蛋白结构预测显示, p.Arg13Cys 变异导致残基的空间构象发生改变。 **结论** 在中国汉族一家系中发现 *BEST1* 基因 c.37C>T (p.Arg13Cys) 变异与多灶性 BVMD 的关联性, 该变异可导致残基的空间构象发生改变。

【关键词】 多灶性 Best 卵黄样黄斑营养不良; 多模态影像; *BEST1* 基因; 遗传分析

基金项目: 河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20230658); 朗视界·沐光明白求恩科研发展项目 (BCF-KH-IIT-202306-19)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20250303-00064

Clinical phenotype and genetic characteristics in a Chinese Han family affected by autosomal dominant multifocal BVMD

Jiang Yongqiang, Han Jinfeng, Ding Huifang, Guo Haoyi

Department of Ophthalmology, Henan Provincial People's Hospital, Henan Eye Hospital, Zhengzhou 450003, China

Corresponding author: Guo Haoyi, Email: haoyiguo2000@aliyun.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinical characteristics and pathogenic causes of a family pedigree with multifocal Best vitelliform macular dystrophy (BVMD), and to analyze the impact of candidate variants on the protein structure. **Methods** A Chinese Han family of four individuals, including one patient diagnosed with BVMD, was identified and studied after the patient was admitted to Henan Eye Hospital in August 2024. A thorough medical history was obtained from the patient and their family members. Comprehensive ophthalmic examinations were conducted, including visual acuity testing, intraocular pressure measurement, color fundus photography, fundus fluorescein angiography (FFA), indocyanine green angiography (ICGA), fundus autofluorescence (FAF), optical coherence tomography (OCT), and electrooculography (EOG). Peripheral venous blood samples were collected from members of this family. Whole-exome sequencing (WES) was performed on the proband to screen for pathogenic variants. Sanger sequencing was used to verify the variants in other family members. Additionally, pathogenicity

analysis and protein structure prediction were conducted on the identified variant sites. This study adhered to the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Ethics Committee of Henan Eye Hospital (No. HNEEC-2024[34]). Written informed consent was obtained from each subject. **Results** The best corrected visual acuity of both eyes of the proband was 0.5, and the intraocular pressure was normal. Multiple vitelliform lesions with clear boundaries were observed around the macula and vascular arcades. FAF examination revealed that the vitelliform substances in the macular area of both eyes of the proband showed hyperfluorescence, with multiple lesions observed. OCT showed separation between the retinal neuroepithelial layer and the retinal pigment epithelium (RPE) layer in the macular area of both eyes, hyperreflective material deposition under the RPE in the macular fovea, choroidal thickening, and dilation of large choroidal vessels. FFA examination showed strong fluorescence areas in the macular region of posterior pole of both eyes with unclear boundaries, and scattered punctate strong fluorescence outside the macular area; the punctate strong fluorescence in the late stage of angiography did not fade with the regression of background fluorescence. ICGA examination showed strong fluorescence of choroidal vessels in the early stage of angiography in both eyes, accompanied by punctate hypofluorescent foci, and punctate strong fluorescence was concentrated in the macular area in the late stage of angiography. EOG examination showed a decrease in the Arden ratio of both eyes (right eye: 1.2, left eye: 1.1), and a significant reduction in the peak value of light response in both eyes (right eye: 332.6 $\mu\text{V}/\text{div}$, left eye: 354.6 $\mu\text{V}/\text{div}$). The clinical phenotype of the proband was consistent with multifocal BVMD; no obvious abnormality was found in the clinical phenotypes of the proband's parents and elder sister. WES showed that the proband and his mother carried a heterozygous missense variant c.37C>T (p. Arg13Cys) in exon 2 of the *BEST1* gene, resulting in the substitution of arginine at position 13 with cysteine, and the inheritance pattern was consistent with autosomal dominant inheritance. According to the Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants by the American College of Medical Genetics and Genomics, this variant was classified as a likely pathogenic variant. Protein structure prediction showed that the p. Arg13Cys variant caused changes in the spatial conformation of the residue. **Conclusions** The association between the c.37C>T (p. Arg13Cys) variant of the *BEST1* gene and multifocal BVMD is identified in a Chinese Han family, and this variant can cause changes in the spatial conformation of the residue.

[Key words] Multifocal; Best vitelliform macular dystrophy; Multimodal imaging; *BEST1* gene; Genetic analysis

Fund program: Joint Project of Henan Medical Science and Technology Project (LHGJ20230658); Bethune Research Development Program (BCF-KH-IIT-202306-19)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20250303-00064

BEST1 基因(11q13, NM_004183.4)编码一种跨膜转运蛋白 bestrophin-1, 主要表达于视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE), 具有 4 个跨膜区, 对眼球发育及视网膜功能维持至关重要。*BEST1* 基因变异可导致 Best 卵黄样黄斑营养不良(Best vitelliform macular dystrophy, BVMD)、常染色体隐性卵黄样黄斑营养不良(autosomal recessive bestrophinopathy, ARB)和成人卵黄样黄斑营养不良等, 其中 BVMD 较为常见^[1-4]。

BVMD 又称 Best 病, 发病率约为 1/10 000, 无明显性别差异, 主要表现为黄斑区卵黄样物质沉着, 眼电图(electrooculogram, EOG) Arden 比下降(<1.55), 视网膜电图正常; 其临床典型表现主要分为卵黄前期、卵黄样病变期、卵黄破裂期、萎缩期和瘢痕期; 其非典型临床表现为多灶性卵黄样病灶及黄斑区外受累^[5-10]。BVMD 多呈常染色体显性遗传, 少数为散发病例。尽管 BVMD 的临床特征和遗传模式已较为明确, 但有关

其多灶性表现的研究仍较为有限, 且在中国汉族人群中尚未见相关报道。BVMD 和 ARB 具有显著的临床异质性和遗传异质性, 因此对卵黄样黄斑营养不良的诊断带来了极大挑战^[10-11]。本研究拟对常染色体显性遗传多灶性 BVMD 一家系进行全外显子组测序, 确定该家系的基因型和临床表型关联, 为多灶性 BVMD 的临床诊断提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用家系调查研究方法, 纳入 2024 年 8 月在河南省立眼科医院就诊的中国河南地区汉族 BVMD 一家系。收集该家系共 2 代 4 人的临床资料, 包括 1 例先证者(图 1)。本研究遵循《赫尔辛基宣言》, 研究方案经河南省立眼科医院伦理委员会批准[批文号: HNEEC-2024(34)号], 所有受检者及法定监护人均了解本研究目的并自愿签署知情同意书。

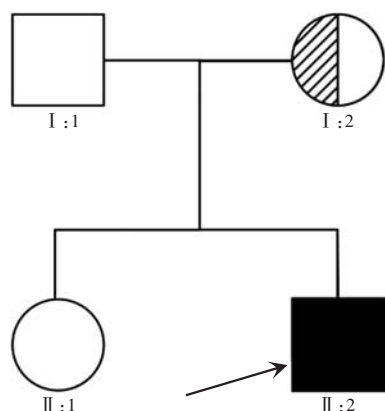


图1 BVMD 家系图 □:正常男性;○:正常女性;■:男性患者;◐:女性携带者;↗:先证者

Figure 1 Pedigree diagram of a BVMD family □: normal male; ○: normal female; ■: male patient; ◐: female carrier; ↗: proband

1.2 方法

1.2.1 家系成员临床检查 详细询问患者及其家系成员病史,并进行全面眼科检查。采用标准对数视力表测定裸眼视力和最佳矫正视力;采用双目间接检眼镜检查眼底;采用非接触式眼压计测量眼压;采用血管造影系统(SPECTRALIS HRA,德国海德堡公司)进行荧光素眼底血管造影(fluorescein angiography, FFA)和吲哚菁绿血管造影(indocyanine green angiography, ICGA);采用 CR-2AF 数字眼底照相机(日本 Canon 公司)进行眼底自发荧光(fundus autofluorescence, FAF)检查;采用超广角扫描激光眼底成像系统(英国 Optos 公司)观察眼底情况;采用光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)仪[v1.33.1,中国视微影像(河南)科技有限公司]检测黄斑结构;采用精准多焦电生理仪(德国 Roland 公司)进行 EOG 检查。

1.2.2 基因检测 采用 IDT xGen Exome Research Panel v1.0 外显子捕获试剂盒(美国 IDT 公司)对先证者外周血基因组 DNA 外显子区域进行富集,使用 NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (E7645L, 美国 NEB 公司)进行文库构建,使用 Illumina NovaSeq X Plus 测序平台(美国 Illumina 公司)进行双端 150 碱基对测序,目标区域覆盖度为 99.92%,平均有效测序深度为 334.16×;采用 SOAPnuke 软件(version 2.1.0)对测序数据进行接头处理和低质量数据过滤,过滤参数设置为—seqType 1 —J —lowQual 20 —qualRate 0.5 —nRate 0.02 —qualSys 2;采用 Burrows-Wheeler Aligner v0.7.17 软件将 clean data 与人类参考基因组(GRCh37/HG19)进行比对,使用 Genome Analysis Toolkit v4.1.1.0 中的 Mutect2 工具进行单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)及小片段插

入/缺失检测;采用 Annovar 软件(v201804)对检测得到的 VCF 文件进行变异注释。采用 Sanger 测序法验证相关致病性变异及其在该家系其他成员中的检出情况。

1.2.3 变异致病性分析 将所发现的 SNP 与人类基因突变数据库(human gene mutation database, HGMD)、临床变异数据库(clinical variation database, Clinvar)、在线人类孟德尔遗传数据库(online Mendelian inheritance in man, OMIM)进行比对,检索变异位点在 HGMD、ClinVar、千人基因组和 gnomAD 数据库的收录情况。采用 SIFT、PolyPhen-2、LRT 及 MutationTaster 软件(均为默认参数)分析候选变异的功能,采用 PhyloP 和 GERP 软件(均为默认参数)分析变异的保守性,采用 SMART(<https://smart.embl-heidelberg.de>)和 DeepTMHMM 软件模拟基因编码多肽的拓扑结构。依据美国医学遗传学与基因组学学会(American college of medical genetics and genomics, ACMG)发布的《序列变异解读标准和指南》进行变异分类^[12]。

1.2.4 蛋白结构影响分析 依据所得变异位点构建突变型氨基酸序列,并与野生型氨基酸序列进行比较。使用 SWISS-MODEL 在线分析工具(<https://swissmodel.expasy.org>)分别构建野生型和突变型蛋白三维结构,同时使用 SAVES 服务器(<https://saves.mbi.ucla.edu>)进行 Ramachandran 图分析以评估突变型蛋白三维结构模型的质量。

2 结果

2.1 临床表现

先证者(II-1)男,11岁,因双眼矫正视力差3年就诊,既往体健。全身体检未见明显异常。眼部检查:视力右眼为0.3, +1.00 DS/-0.50 DC×165°=0.5,左眼为0.4, +1.00 DS/-0.75 DC×165°=0.5;眼压右眼为17.8 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),左眼为19.0 mmHg。双眼结膜轻度充血、无水肿,角膜透明,前房中深,瞳孔正圆,直径约3 mm,对光反射灵敏,晶状体透明。眼底照相显示视盘色正、界清,视网膜在位,黄斑及血管弓周围可见多个卵黄样病变,边界清晰(图2);FAF检查发现先证者双眼黄斑区卵黄样物质呈高荧光,且可见多个病灶(图3);OCT显示双眼黄斑区视网膜神经上皮层与RPE层分离,黄斑中心凹下方区域高反射物质沉积于RPE,脉络膜增厚,脉络膜大血管扩张(图4);FFA检查发现双眼后极部黄斑强荧光区,边界欠清,黄斑区外可见散在点状强荧光,造影晚期点状强荧光不随背景荧光衰退而减弱;ICGA检查显示双眼造影早期

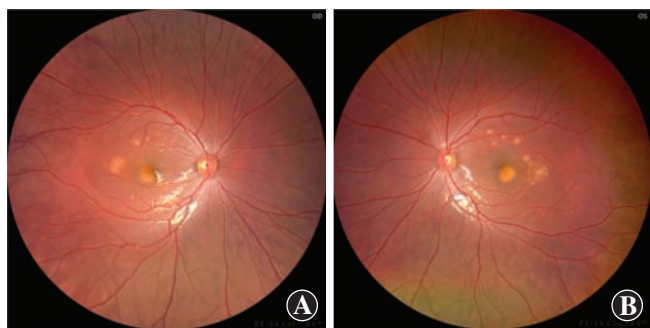


图 2 先证者双眼广角眼底照相 双眼黄斑区可见典型的卵黄样病变,且伴明显的多灶性病变,病灶大小不一 A:右眼 B:左眼

Figure 2 Wide-angle fundus images of both eyes of the proband

Both eyes showed typical vitelliform changes in the macular region, along with prominent multifocal lesions with the inconsistent sizes A: Right eye B: Left eye

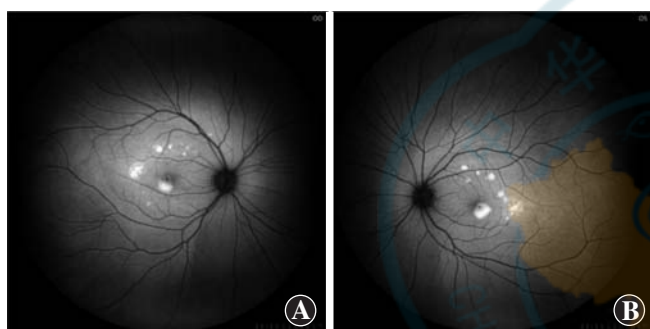


图 3 先证者双眼眼底自发荧光图 双眼黄斑区可见多处轮廓清晰的卵黄样病变,且呈强荧光 A:右眼 B:左眼

Figure 3 Fundus autofluorescence images of both eyes of the proband

Multiple well-defined vitelliform lesions with intense hyperfluorescence in the macular area of both eyes A: Right eye B: Left eye

脉络膜血管强荧光,伴点状弱荧光灶,造影晚期可见点状强荧光集中于黄斑区(图 5);EOG 检查显示双眼 Arden 比值下降(右眼为 1.2,左眼为 1.1),双眼光反

应峰值显著降低(右眼为 $332.6 \mu\text{V}/\text{div}$,左眼为 $354.6 \mu\text{V}/\text{div}$)(图 6)。随访期间病灶形态稳定,互不融合。先证者母亲表型正常,眼底检查未见明显异常(图 7)。先证者父亲及胞姐临床表现未见明显异常,EOG 均正常。

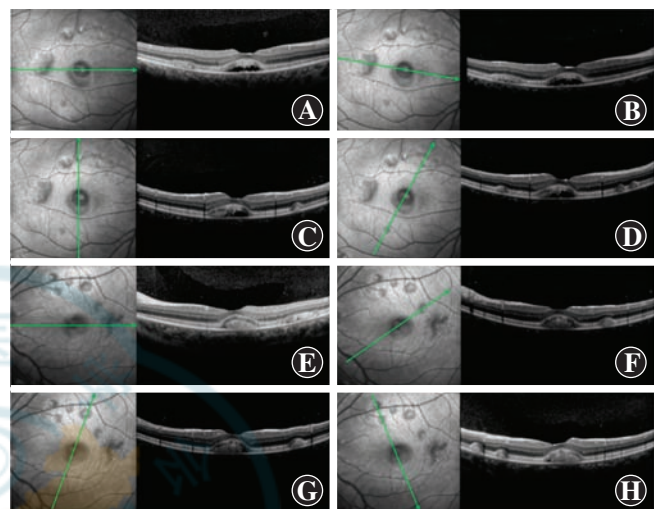


图 4 先证者双眼 OCT 图像 双眼黄斑中心凹陷起,椭圆体带和嵌合体带不同程度抬高,嵌合体带下方可见高反射信号,RPE 不连续且部分缺损 A~D:右眼 E~H:左眼 OCT:光学相干断层扫描;RPE 视网膜色素上皮

The macular fovea of both eyes was raised, the ellipsoid zone and chimeric band were raised in varying degrees with visible hyperreflective signal below the chimeric band, and the RPE was discontinuous and partially defective A-D: Right eye E-H: Left eye OCT: optical coherence tomography; RPE: retinal pigment epithelium

2.2 基因检测结果

基因检测结果显示,先证者 *BEST1* 基因外显子 2 存在杂合变异 c. 37C>T (p. Arg13Cys),导致该基因编

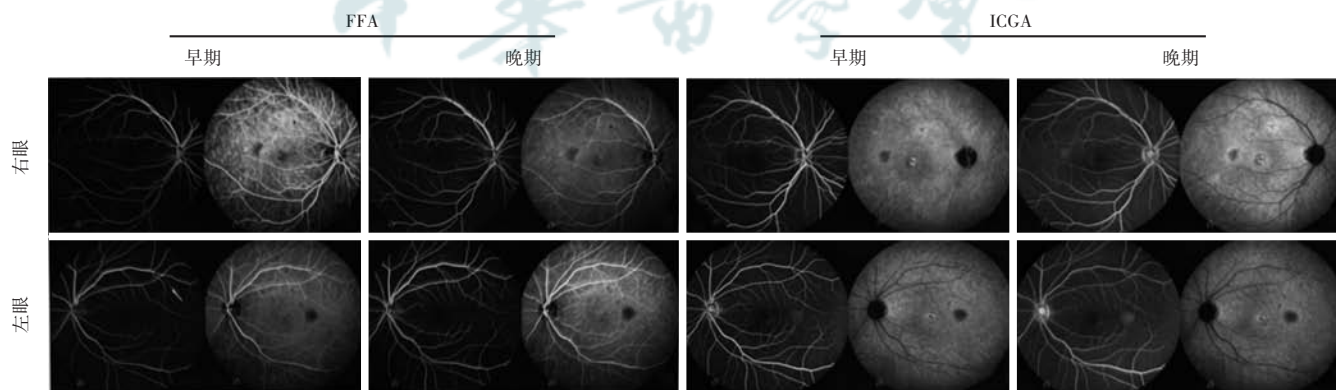


图 5 先证者双眼 FFA 和 ICGA 图 FFA 检查可见双眼后极部黄斑强荧光区,边界欠清,黄斑区外散在点状强荧光,且造影晚期不随背景荧光衰退而减弱;ICGA 检查显示双眼造影早期脉络膜血管强荧光,伴点状弱荧光灶,造影晚期点状强荧光集中在黄斑区 FFA:荧光素眼底血管造影;ICGA:吲哚菁绿血管造影

Figure 5 FFA and ICGA images of both eyes of the proband FFA images showed bilateral macular hyperfluorescence in the posterior pole with unclear borders, and scattered punctate hyperfluorescence outside the macula, which did not fade with background fluorescence attenuation in the late phase of angiography. ICGA images showed early choroidal hyperfluorescence with punctate hypofluorescent spots, and late punctate hyperfluorescence concentrated in the macular area FFA: fundus fluorescein angiography; ICGA: indocyanine green angiography

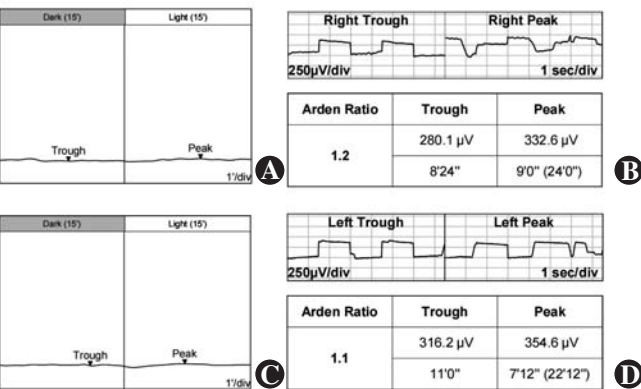


图 6 先证者双眼 EOG 图像 从左至右为暗谷和亮峰的波形, 双眼明视和暗视状态下 a 波和 b 波振幅均降低, 其中左眼降低更明显; 双眼 Arden 比值均下降 A、B: 右眼 C、D: 左眼 EOG: 眼电图

Figure 6 EOG images of both eyes of the proband The waveforms of dark valleys and light peaks were shown from left to right. The photopic and scotopic amplitudes of a- and b- waves reduced in bilateral eyes, and the left eye was more severe. The Arden ratios were decreased in bilateral eyes A, B: Right eye C, D: Left eye EOG: electrooculogram

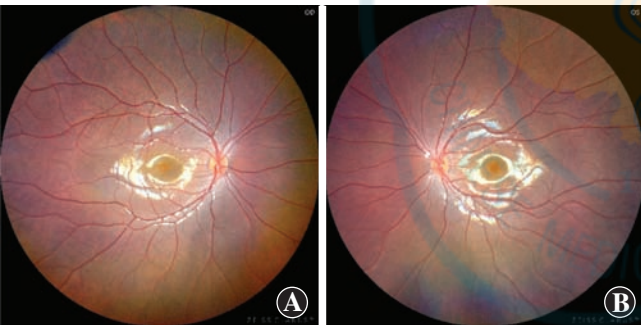


图 7 先证者母亲双眼广角眼底照相 双眼眼底未见明显异常 A: 右眼 B: 左眼

Figure 7 Wide-angle fundus photographs of both eyes of the proband's mother No obvious abnormalities were found in the fundus of both eyes A: Right eye B: Left eye

码蛋白的第 13 位氨基酸由精氨酸突变为半胱氨酸。该家系成员 Sanger 测序发现, 先证者的变异位点遗传自其母亲, 其父亲和胞姐均未携带该变异位点 (图 8)。

2.3 变异位点氨基酸保守性分析

BEST1 基因 c.37C>T 变异在千人基因组和 gnomAD 数据库均未收录 (PM2_supporting); 该变异在

多个家系 (含本家系) 的眼部异常患者中检出^[13-14], 符合家系共分离 (PP1_moderate); 通过 SMART 在线工具进行亚结构预测发现, 该变异位于跨膜结构域附近。氨基酸保守性分析结果显示, *BEST1* 基因编码的氨基酸序列第 13 位精氨酸在人、猕猴、小家鼠、大鼠、野猪、家牛等物种中高度保守, 为支持致病性证据 (PP3_moderate) (图 9)。先证者的临床表现高度符合 BVMD (PP4), 且 ClinVar 数据库收录该变异为可能致病性变异或致病性变异 (PP5)。经 ACMG 序列变异解读标准和指南评估, 该变异为可能致病性变异。

2.4 变异蛋白结构分析

通过对 *BEST1* 蛋白的三维结构进行模拟发现, p. Arg13Cys 变异蛋白显示出残基空间位阻的改变; 与野生型相比, 变异后产生的新残基尺寸更小, 这可能导致蛋白质错误折叠, 进而改变蛋白功能, 最终引发致病性 (图 10)。

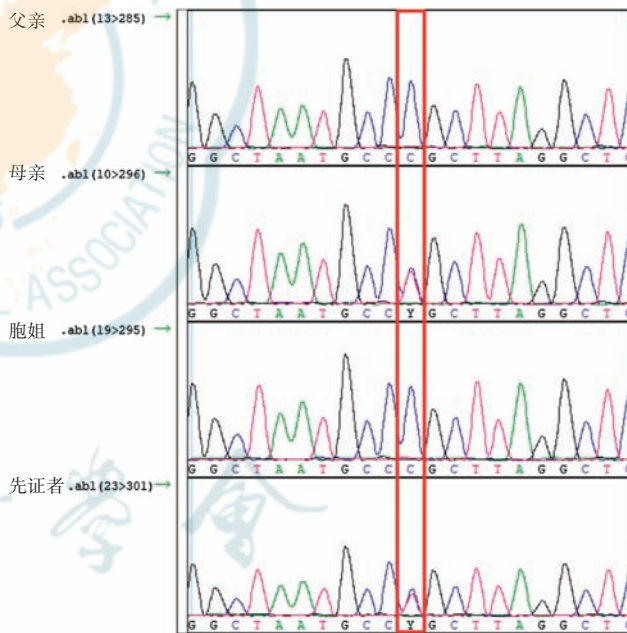


图 8 该家系成员 Sanger 测序结果 先证者及其母亲携带 *BEST1* 基因 c.37C>T 变异位点, 其父亲和胞姐未携带该变异位点 (方框)

Figure 8 Sanger sequencing results of the BVMD family members The proband and his mother had a *BEST1* gene c.37C>T variant site, and his father and biological sister did not carry this variant site (box)

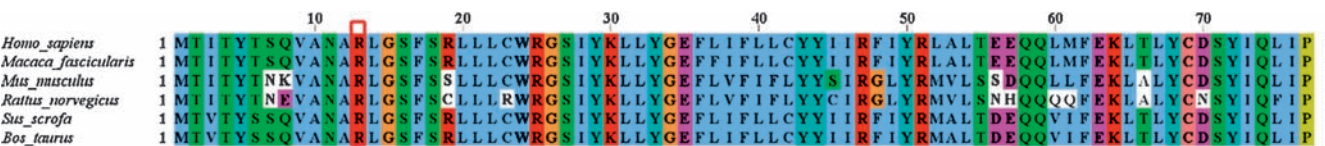


图 9 变异位点保守性分析 *BEST1* 蛋白第 13 位精氨酸在不同物种间高度保守 (方框)

Figure 9 Conservative analysis of variant site The position of Arg13 residue was highly conserved among different species (box)

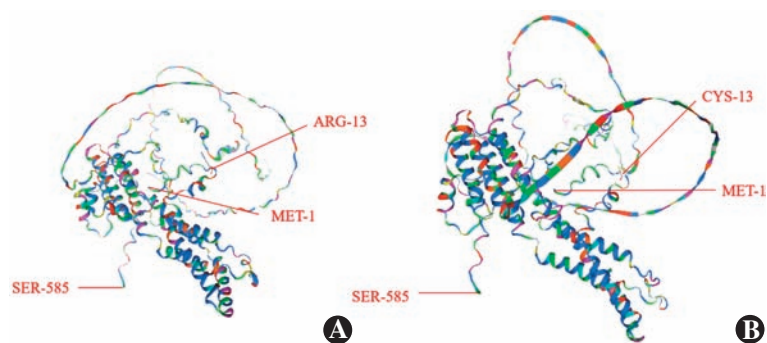


图 10 BEST1 野生型和突变型蛋白三维模型 A:野生型 B:突变型

Figure 10 Three-dimensional models of both wild type and mutant type of BEST1 protein A: Wild type B: Mutant type

3 讨论

BVMD 主要是由 bestrophin-1 蛋白氯离子转运功能障碍及钙离子信号传导过程异常,导致 RPE 细胞离子转运和液体平衡机制破坏,从而引起卵黄样物质的积累。*BEST1* 主要在 RPE 上表达,其与显性/隐性玻璃体视网膜脉络膜病变、视网膜色素变性 50 型、BVMD 等多种眼底疾病的发生有关,且可能影响整个眼球的发育^[15]。大多数 *BEST1* 基因变异为错义突变,少数为无义突变和移码突变,约 93% 的错义突变聚集在 N 端,而 C 端则相对多样^[16];对于 BVMD 而言,大部分变异位于外显子 2、4、6 和 8 的 4 个氨基酸区域 6~30、80~104、221~243 和 293~312^[17]。这 4 个区域均临近或存在于 RPE 细胞质膜中,推测与 bestrophin-1 的氯离子通道功能及电压门控钙通道调节功能密切相关。

本研究在 1 个多灶性卵黄样营养不良家系中发现了 1 个位于热点区域的 *BEST1* 错义变异 c. 37C>T,该变异在国内未见报道,且与常染色体显性遗传 BVMD 表型一致^[18-20]。由于该变异位于第一跨膜区,推测其可能导致氯离子通道功能障碍,减弱 β 亚基(如 $\beta 1$ -integrin)和钙调蛋白结合,引起膜定位异常和钙敏感性丧失,进而引发 RPE 液体转运失衡。家系共分离分析发现,先证者母亲携带该变异,呈常染色体显性遗传模式,然而其母亲未表现出明显临床症状,这与 Nguyen 等^[21]的研究结果相似。该家系中基因型和表型的不一致性,揭示了不规则显性遗传模式下 BVMD 家族内表型多样性的特异性。有研究发现 *BEST1* 突变蛋白若保留一定的残余功能(如氯离子电流保留 30%),可能达到维持 RPE 功能的临界阈值^[22];女性可能因雌激素对 RPE 代谢的调控而延缓疾病进展^[23];携带 *ANK2* 等基因的良好变异可能通过增强钙稳态调控补偿 *BEST1* 变异引起的钙依赖性氯离子电

流缺陷^[24];TMEM16A 或 CFTR 的上调也可能部分替代 *BEST1* 的氯离子转运功能^[25];叶黄素、玉米黄质等视网膜保护成分或可延缓氧化损伤^[26]。因此,推测这种独特的家族内表型多样性可能与不完全外显、其他基因对 *BEST1* 基因的修饰作用及表观遗传调控,或其他遗传因素有关,亦有可能是由于生物体内部和外部环境的影响。

现有研究认为多灶性 BVMD 与 *BEST1* 基因变异相关。相比典型 BVMD,多灶性 BVMD 表现为多个病灶,多于儿童期或青少年期发病,病灶融合后视力急剧下降。其多由 *BEST1* 错义突变引起,并可受其他基因或环境因素等调控,但其致病机制尚不明确,且影像学特征易与年龄相关性黄斑变性、多灶性脉络膜炎等炎症性疾病混淆。因此,多灶性 BVMD 是 BVMD 的关键亚型,由于其独特的临床表型、基因型关联及治疗挑战,需要通过基因检测和多模态影像如 EOG、FAF、OCT 等联合确诊^[27]。本研究中先证者眼底可见典型的卵黄样病变,且呈现出明显的多灶性病变,FAF 显示双眼黄斑区多发高荧光病灶,OCT 提示卵黄样物质位于 RPE 下,EOG 显示双眼 Arden 比<1.5,符合多灶性 BVMD 特征。

既往研究多将多灶性 BVMD 归为 ARB^[8],常合并浅前房,临床可表现为闭角型青光眼。本研究中先证者根据其遗传学分析,符合常染色体显性遗传模式,属于 BVMD。先证者母亲眼底正常,提示临床医师,对于携带有 *BEST1* 基因常染色体显性遗传变异的无症状患者,变异可在家系成员中继续传递,可能导致下一代出现症状。因此,开展广泛的遗传分析和全面的临床表型分析对于理解基因型-表型相关性及实现准确诊断至关重要。本研究样本量小、家系成员数较少,且不排除其他未检测出变异对结论的影响,但本研究首次报道了中国汉族人群中 1 例不规则常染色体显性遗传的多灶性 BVMD 家系,并通过全外显子组测序揭示了其基因-表型关联,填补了中国汉族人群中常染色体显性遗传多灶性 BVMD 的研究空白。此外,受限于小样本家系数据及体外模型的生理相关性不足,本次检出的 *BEST1*(c. 37C>T)变异评级为可能致病性变异。未来需通过患者诱导性多能干细胞来源的 RPE 模型验证氯离子电流缺陷,建立包含修饰基因信息的 *BEST1* 变异动态数据库,并扩大东亚人群队列以评估该变异的族群特异性外显率,从而减少 ACMG 分类中的不确定性。

综上所述,*BEST1* 基因变异是该多灶性 BVMD 家

系的致病原因,该变异导致蛋白和等位基因表达失调,进而引发典型 BVMD 表型和多灶性特征,丰富了我国多灶性 BVMD 致病基因谱。本研究还强调了综合遗传分析对 BVMD 患者诊疗的重要性,尤其在具有显著家族内表型多样性的家系中,可为 BVMD 的表型评估提供新见解,并有助于明确患者的诊断、判断预后和制定治疗方案。后续将进一步研究 *BEST1* 基因变异的不同致病机制以更合理地解释其表型多样性,为未来改善该类患者的诊断和治疗提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 蒋永强:参与选题、设计试验、实施研究、采集数据、论文撰写;韩金凤、丁慧芳:分析/解释数据;郭浩铁:酝酿和设计试验、对文章知识性内容进行审阅和修改

参考文献

- [1] Georgiou M, Robson AG, Fujinami K, et al. Phenotyping and genotyping inherited retinal diseases: molecular genetics, clinical and imaging features, and therapeutics of macular dystrophies, cone and cone-rod dystrophies, rod-cone dystrophies, Leber congenital amaurosis, and cone dysfunction syndromes[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2024, 100: 101244. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2024.101244.
- [2] Lin S, Vermeirsch S, Pontikos N, et al. Spectrum of genetic variants in the most common genes causing inherited retinal disease in a large molecularly characterized United Kingdom cohort [J]. *Ophthalmol Retina*, 2024, 8(7): 699–709. DOI: 10.1016/j.oret.2024.01.012.
- [3] Singh Grewal S, Smith JJ, Carr AF. Bestrophinopathies: perspectives on clinical disease, Bestrophin-1 function and developing therapies[J]. *Ther Adv Ophthalmol*, 2021, 13: 2515841421997191. DOI: 10.1177/2515841421997191.
- [4] Wood SR, McClements ME, Martinez-Fernandez de la Camara C, et al. A quantitative chloride channel conductance assay for efficacy testing of AAV.BEST1[J]. *Hum Gene Ther Methods*, 2019, 30(2): 44–52. DOI: 10.1089/hgtb.2018.267.
- [5] Marmorstein AD, Johnson AA, Bachman LA, et al. Mutant *best1* expression and impaired phagocytosis in an iPSC model of autosomal recessive bestrophinopathy[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 4487. DOI: 10.1038/s41598-018-21651-z.
- [6] Yang S, Li Z, Cheng W, et al. BEST1 novel mutation causes Bestrophinopathies in six families with distinct phenotypic diversity [J/OL]. *Mol Genet Genomic Med*, 2023, 11(1): e2095 [2025-04-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36378562/>. DOI: 10.1002/mgg3.2095.
- [7] Tsang SH, Sharma T. Best vitelliform macular dystrophy[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1085: 79–90. DOI: 10.1007/978-3-319-95046-4_16.
- [8] 杨尚英, 盛迅伦. Best 病临床表现及 *BEST1* 基因突变研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2022, 40(10): 976–980. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200921-00659.
Yang SY, Sheng XL. Progress in the research on clinical features of Bestrophinopathies and mutations in *BEST1* gene [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2022, 40(10): 976–980. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200921-00659.
- [9] Baxter CR, Abbas A, Lin AL. Multifocal macular lesions in a middle-aged woman [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2022, 140(4): 428–429. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2021.4983.
- [10] Bianco L, Arrigo A, Antropoli A, et al. Multimodal imaging in best vitelliform macular dystrophy: literature review and novel insights [J]. *Eur J Ophthalmol*, 2024, 34(1): 39–51. DOI: 10.1177/11206721231166434.
- [11] Lin Y, Li T, Liu B, et al. Multimodal imaging and genetic analysis of adult-onset best vitelliform macular dystrophy in Chinese patients [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(3): 1034. DOI: 10.3892/etm.2021.10466.
- [12] 盛迅伦. 《ACMG 遗传变异分类标准与指南》解读 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2023, 41(9): 898–903. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20230419-00142.
Sheng XL. Interpretation of 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]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2023, 41(9): 898–903. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20230419-00142.
- [13] Birtel J, Eisenberger T, Gliem M, et al. Clinical and genetic characteristics of 251 consecutive patients with macular and cone/cone-rod dystrophy [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 4824. DOI: 10.1038/s41598-018-22096-0.
- [14] Khan AO. Phenotype-guided genetic testing of pediatric inherited retinal disease in the United Arab Emirates [J]. *Retina*, 2020, 40(9): 1829–1837. DOI: 10.1097/IAE.0000000000002675.
- [15] Crincoli E, Zhao Z, Querques G, et al. Deep learning to distinguish Best vitelliform macular dystrophy (BVMD) from adult-onset vitelliform macular degeneration (AVMD) [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 12745. DOI: 10.1038/s41598-022-16980-z.
- [16] Milenkovic VM, Langmann T, Schreiber R, et al. Molecular evolution and functional divergence of the bestrophin protein family [J]. *BMC Evol Biol*, 2008, 8: 72. DOI: 10.1186/1471-2148-8-72.
- [17] Kolawole OU, Huang A, Gregory-Evans CY, et al. Molecular genetic diagnostics for inherited retinal dystrophies in the clinical setting [J/OL]. *Can J Ophthalmol*, 2024, 59(5): e575–e581 [2025-04-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37678418/>. DOI: 10.1016/j.jcjo.2023.08.006.
- [18] Boon CJ, van den Born LI, Visser L, et al. Autosomal recessive bestrophinopathy: differential diagnosis and treatment options [J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(4): 809–820. DOI: 10.1016/j.ophtha.2012.09.057.
- [19] Chawla A, Sreenivasan J, Bhende M. The "Best" masquerader [J]. *Indian J Ophthalmol*, 2024, 72(5): 627–628. DOI: 10.4103/IJO.IJO_2630_23.
- [20] Kiel C, Biasella F, Stöhr H, et al. 18-years of single-centre DNA testing in over 7000 index cases with inherited retinal dystrophies and optic neuropathies [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 25529. DOI: 10.1038/s41598-024-77014-4.
- [21] Nguyen TT, Poornachandra B, Verma A, et al. Next generation sequencing identifies novel disease-associated BEST1 mutations in Bestrophinopathy patients [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 10176. DOI: 10.1038/s41598-018-27951-8.
- [22] Zhao Q, Kong Y, Kittredge A, et al. Distinct expression requirements and rescue strategies for BEST1 loss- and gain-of-function mutations [J/OL]. *Elife*, 2021, 10: e67622 [2024-12-11]. <https://elifesciences.org/articles/67622>. DOI: 10.7554/eLife.67622.
- [23] 张红兵, 张仙娇, 汪耀, 等. 雌激素对视网膜主要细胞功能的影响



- [J]. 中华眼底病杂志, 2015, 31(3): 314-317. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2015.03.030.
- Zhang HB, Zhang XJ, Wang Y, et al Effect of estrogen on the function of main retinal cells[J]. Chin J Fundus Dis, 2015, 31(3): 314-317. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2015.03.030.
- [24] Donato L, Scimone C, Alibrandi S, et al. New omics-derived perspectives on retinal dystrophies: could ion channels-encoding or related genes act as modifier of pathological phenotype?[J]. Int J Mol Sci, 2020, 22(1): 70. DOI: 10.3390/ijms22010070.
- [25] Owji AP, Ragi S, Tsang SH, et al. Calcium-activated chloride channels[M]//Calcium Signals: from single molecules to physiology. Bristol: IOP Publishing, 2023: 24-25.
- [26] Johra FT, Bepari AK, Bristy AT, et al. A mechanistic review of β -carotene, lutein, and zeaxanthin in eye health and disease [J]. Antioxidants (Basel), 2020, 9(11): 1046. DOI: 10.3390/antiox9111046.
- [27] Parodi MB, Arrigo A, Calamuneri A, et al. Multimodal imaging in subclinical best vitelliform macular dystrophy [J]. Br J Ophthalmol, 2022, 106(4): 564-567. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2020-317635.
- (收稿日期: 2025-05-05 修回日期: 2025-12-31)
- (本文编辑: 张宇)

· 病例报告 ·

经巩膜视网膜下注射 t-PA 联合 PPV 治疗 PCV 相关视网膜下出血 1 例

黄金好好¹ 姚依¹ 季姝婷¹ 邹晶² 许惠卓²

¹中南大学湘雅医院眼科中心 湖南省眼科重点实验室, 长沙 410008; ²中南大学湘雅医院眼科中心
湖南省眼科重点实验室 中南大学湘雅医院国家老年病临床研究中心, 长沙 410008

通信作者: 许惠卓, Email: xhz1030@csu.edu.cn

Subretinal t-PA injection via scleral surface combined PPV for PCV related subretinal hemorrhage: a case report

Huang Jinhaohao¹, Yao Yi¹, Ji Shuting¹, Zou Jing², Xu Huizhuo²¹Eye Center of Xiangya Hospital, Central South University, Hunan Key Laboratory of Ophthalmology, Changsha 410008, China;²Eye Center of Xiangya Hospital, Central South University, Hunan Key Laboratory of Ophthalmology,

National Clinical Research Center for Geriatric Disorders, Changsha 410008, China

Corresponding author: Xu Huizhuo, Email: xhz1030@csu.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20250306-00072

患者男, 70 岁, 因左眼视力突然下降一周余就诊。既往无特殊眼病史。眼部检查: 视力右眼 0.5, 左眼无光感; 双眼眼压均在正常范围。裂隙灯显微镜检查示左眼晶状体混浊, 余眼前节未见明显异常, 晶状体后方隐约可见脱离的视网膜。眼部 B 型超声检查示左眼视网膜全脱离, 视网膜下呈高回声影像 (图 1A)。诊断: 左眼视网膜下出血 (subretinal hemorrhage, SRH)、左眼出血性视网膜脱离 (hemorrhagic retinal detachment, HRD)、左眼息肉状脉络膜血管病变 (polypoidal choroidal vasculopathy, PCV) 可能性大。入院后首先对患者行左眼视网膜下注射组织型纤溶酶原激活剂 (tissue plasminogen activator, t-PA), 使用 30 G 针在距角巩膜缘后 10 mm 处经巩膜进针, 分别于左眼眼底 2:00、5:00、8:00、11:00 方位向视网膜下注射 t-PA, 每个部位注射 25 μ g/0.05 ml, 以促进视网膜下出血溶解。视网膜下注射 24 h 后, 沿角膜缘剪开球结膜, 悬吊四直肌, 行白内障超声乳化吸除术联合玻璃体切割术 (pars plana vitrectomy, PPV)。于角巩膜缘插入 23 G 套管, 前房放置灌注管维持眼压; 切除玻璃体后皮质, 于颞上象限行巩膜切开, 用 20 G 穿刺刀放出液化的视网膜下积血; 向玻璃体腔注入重水, 辅助清除视网膜下积血; 切除前部玻璃体, 于鼻下象限行巩膜切开, 用 20 G 穿刺刀放出残留的视网膜下积血; 行气液交换, 置换重水, 检查周边视网膜, 发现颞上象限医源性视网膜裂孔, 术中行激光光凝封闭

裂孔; 玻璃体腔注入 C3F8 气体, 缝合巩膜和结膜, 于角膜缘后 3.5 mm 向玻璃体腔注射抗 VEGF 药物 (雷珠单抗 0.5 mg)。术后 1 周, 广角眼底照相显示视网膜下出血已基本清除 (图 1B)。术后 1 个月, 左眼视力提高至 0.05; 广角眼底照相和光学相干断层扫描显示 SRH 完全清除, 视网膜平伏, 黄斑部视网膜下新生血管化团块 (图 1C、1D)。

讨论: PCV 是一种渗出性脉络膜视网膜疾病, 可引发 SRH 和 HRD 等严重并发症, 导致光感受器和外核层的不可逆损伤^[1-2]。局限性 SRH 多累及黄斑区, 而大范围 SRH 可导致全视网膜脱离。SRH 多呈泥沙样, 术中难以彻底清除。t-PA 是一种溶栓药物。1991 年, Peyman 等^[3]首次通过视网膜下注射 t-PA 治疗 SRH, 证实了其疗效。

目前针对 SRH 和 HRD 的主要手术方式包括视网膜切开内引流术^[4-5]和巩膜切开外引流术^[6-7]。Oshima 等^[5]采用玻璃体腔注射 t-PA 24 h 后, 联合 PPV+视网膜切开内引流术+惰性气体填充, 成功治疗 PCV 相关 SRH。Choi 等^[4]则通过 PPV 联合大范围或小范围视网膜切开内引流术, 成功治疗了年龄相关性黄斑病变患者巨大 HRD。在巩膜切开外引流方面, Liu 等^[6]采用 PPV 联合巩膜切开外引流术治疗 PCV 引发的 SRH, 并利用重水辅助排出 SRH, 最后填充硅油, 取得良好的治疗效果。Saito-Uchida 等^[7]通过 PPV 联合巩膜切开外引流术治疗巨大