

· 专家建议与推荐 ·

眼遗传病基因诊断方法专家共识

中国眼遗传病诊疗小组 中国眼科遗传联盟



扫一扫下载指南原文

通信作者:睢瑞芳, Email: hrfsui@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.07.001

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程经费资助项目(2016-I2M-1-002); 国家重点研发计划项目(2016YFC0901500)

眼遗传病是一组由于基因缺陷导致的眼部疾病。2018 年 4 月 27 日在人类孟德尔遗传在线数据库(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)(<http://www.omim.org/>)中以“eye”作为关键词搜索疾病表型可得到 440 种疾病条目。临床常见的眼遗传病有视网膜变性、先天性青光眼、先天性白内障、遗传性视神经病变、先天性眼外肌异常及累及眼部的一些综合征等。遗传方式包括常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传、X 性连锁遗传、双基因遗传及线粒体遗传等。此外,眼遗传病同样存在着等位基因异质性和基因座异质性。同时,不同地域、不同民族之间的基因变异和表型均存在着较大的差异,这些因素为眼遗传病的临床诊断和分子检测带来了巨大的挑战。随着人类基因组参考序列的完成、基因芯片和高通量测序等技术的问世以及生物信息技术对海量生物数据高效分析和处理技术的发展,近几年来单基因遗传病的分子诊断效率迅速提升,技术方法取得了很大的突破,为患者和临床医师的遗传咨询提供了技术保障,更为将来的基因治疗奠定了基础。目前,在众多基因组技术中二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术以其特有的优势在包括眼遗传病在内的单基因遗传病的研究中发挥重要作用,并越来越多地用于眼遗传病的分子检测。然而,由于基因检测技术的应用和方法选择在技术层面有一定的难度,更由于眼遗传性疾病有较大的基因突变异质性和临床表型异质性,在临床实践中我们发现对 NGS 的应用存在偏差,给遗传性眼病诊断结果和患者成本-效益带来一定的问题。为规范基因检测在眼遗传病分子诊断中的应用,我们组织了有关专家根据目前我国的实际情况,在深入分析及了解各种遗传性眼病表型的复杂性和致病基因变异复杂性的基础上进行反复讨论,提出眼遗传性疾病基因分子诊断规范化推荐意见,以供眼

科相关临床人员和实验室检测人员在实践中参照应用。

本共识专家组成员由国内外人类眼遗传病专家和全国眼遗传病研究专家组成,共识的制定基于人类遗传性疾病基因分子诊断技术方法的科学性和适用范围,总结相关的推荐意见和观点,注重眼遗传性疾病基因分子诊断的临床实践可操作性和指导性,重点回答以下重要问题:(1) NGS 的技术特点、适用范围及其优势和潜在局限性。(2) 眼遗传性疾病如何遵循基因检测流程。(3) 如何根据眼遗传性疾病的临床特征合理选择基因检测方法。(4) 眼遗传病基因分子检测的目的及意义。

1 NGS 技术及其应用

使用 NGS 技术可同时进行大量基因序列的平行测序。NGS 分为靶向基因测序(target gene sequencing, TGS)(或称 panel 测序)、全基因组外显子组测序(whole exome sequencing, WES)和全基因组测序(whole genome sequencing, WGS)。Panel 测序和 WES 的基本流程为目标区域基因片段的获得和富集、对捕获片段的扩增和高通量测序、生物信息学分析及验证,最后确定致病突变。WGS 是对全基因组的序列进行测序,故没有捕获这一步骤,可直接将基因组片段打断后进行高通量测序。这 3 种方法原理相似,但又有各自的特点,此外成本还存在差异,因而在应用范围上也各有优势。目前 panel 测序和 WES 广泛用于单基因遗传病的分子检测。

NGS 技术对检测人员、实验室标准、试剂及项目选择、实验室质量管理等均有严格的要求,具体可参照《中华病理学杂志》在 2017 年 3 月发表的“临床分子病理实验室二代基因测序检测专家共识”。临床基因检测报告作为连接受检者、实验室技术人员和临床医师的重要依据,其内容在国内也有了行业共识,具体可参考 2018 年 2 月《中华医学遗传学杂志》刊出的“临

床基因检测报告规范与基因检测行业共识探讨”。该文对遗传病基因检测报告的原则、规范化和标准化提出了建议。结合基本规范,针对眼遗传性疾病已知的相关致病基因采用相应的优化检测模块,选择对外显子及已知内含子突变全面覆盖的检测方法是提高检测结果可靠性的关键。

每种技术的临床应用过程中都存在不足,NGS 也存在一些缺点:(1)测序错误率高于传统的一代测序技术,需要增加测序深度、提高覆盖率等方法来补偿。(2)由于技术局限,对基因组鸟嘌呤和胞嘧啶所占比例高(GC 含量)的目标区域捕获率达不到 100%。(3)如果测序片段较短,高重复区域检测准确度下降。(4)对拷贝数变异(copy number variants, CNVs)、动态突变、复杂结构重排等变异类型的检测存在局限性。总之,在了解 NGS 优缺点的基础上,使其在临床单基因遗传病的分子检测中得到更合理的应用是目前基因检测过程中检测人员和临床医师面临的挑战^[1]。

2 眼遗传病基因检测流程

依据眼遗传病的临床特征选取单个或多个候选基因进行检测,应保证检测结果可靠,并遵循在选择检测方法时注重时效和减少费用的原则。目前致病基因的检测方法多种多样,包括一代测序法(Sanger 测序)、实时荧光定量 PCR(quantitative PCR, qPCR)、多重连接探针依赖的扩增技术(multiplex ligation dependent probe amplification, MLPA)、DNA 微阵列、NGS 等,其中常用的 NGS 技术获得的基因位点改变结果的可靠性需要通过 Sanger 测序加以验证(图 1)。

3 常见眼遗传病及其临床和基因特征

3.1 视网膜色素变性

3.1.1 视网膜色素变性的临床特点 视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是常见的一类遗传性致盲视网膜变性疾病,一般情况下视杆细胞最早出现功能受损且最为严重,同时或随后出现视锥细胞功能异常以及视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞的损害。RP 的临床表现为夜盲、周边视野缺损和视力下降,最终成为法定盲^[2]。典型眼底改变包括视盘蜡黄、视网膜血管变细、中周部视网膜椒盐样改变和/或骨细胞样色素沉着。不同遗传方式、不同病因、不同年龄的 RP 患者其临床表现差异很大。部分患者在疾病早期因眼底表现不典型而易与其他眼病相混淆;RP 病变晚期及部分类型 RP 的早期病变还合并黄斑病变;有些基因型改变的患者还存在特殊的眼底改

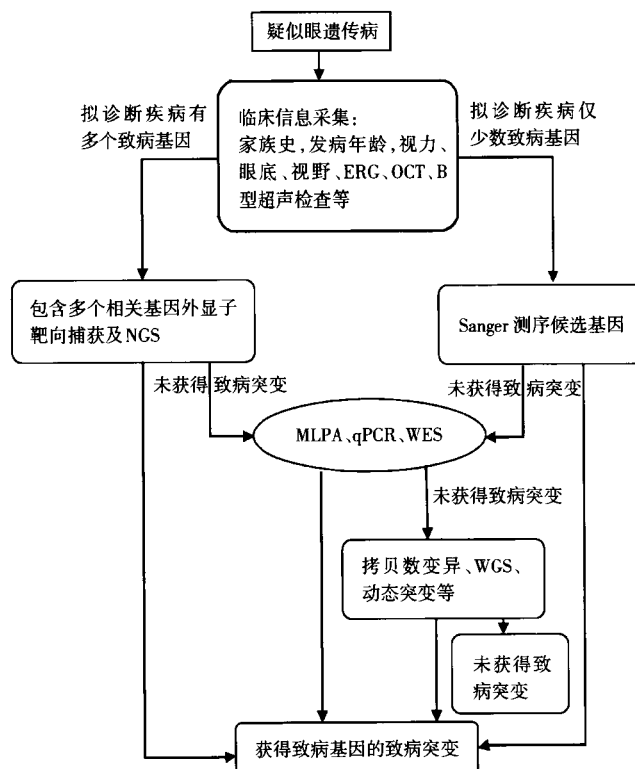


图 1 眼遗传病基因检测流程 ERG:视网膜电图;OCT:光相干断层扫描;NGS:二代测序;MLPA:多重连接探针依赖的扩增技术;qPCR:实时荧光定量 PCR;WES:全基因外显子组测序;WGS:全基因组测序

变。对于伴 RP 的相关综合征患者,当其他器官病变特征或相关特征缺乏、不典型或未留意时,在临床上也可能诊断为单纯性 RP。典型的 RP 患者借助于患者的主诉并结合眼底改变即可确诊。主要的辅助检查包括视网膜电图(electroretinogram, ERG)、视野和基因检测。荧光素眼底血管造影(fluorescein fundus angiography, FFA)、眼底自发荧光、光相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)及其他针对性检查有助于各种类型 RP 的鉴别。

3.1.2 RP 相关的致病基因 RP 具有高度的遗传异质性,已发现至少有 87 个基因可以导致 RP(参考 RetNet 网站: <https://sph.uth.edu/retnet/>及根据网站数据摘录的表 1)^[2-6]。此外,伴 RP 的综合征,如 Bardet-Biedl 综合征、Usher 综合征以及其他 RP 相关疾病基因的突变也有可能引起 RP 或类似 RP 的表现。这些基因的突变可分别导致常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传或 X 性连锁遗传 RP,部分基因的突变还可以导致其他类型的视网膜变性^[7-9]。约 60% 的 RP 患者可以在这些基因中检测到致病突变基因^[3,10-11],60% 以上的突变集中于 6 个基因,即 CYP4V2、RHO、USH2A、RPGR、CRB1 和 RP2^[3]。报道较多的致病突变基因可作为突变的鉴定依据,对一些突变报道很少的基因进一步开展遗传学研究很有必

要,对其临床基因检测要特别谨慎。已报道的部分 RP 基因也可能是错误的,尤其是一些有争议的或突变报道极少的基因,并不是所有明确的 RP 致病基因突变都是致病的,包括少数既往反复报道的或者在人类基因突变数据库 (Human Gene Mutation Database, HGMD) (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) 中记录的突变基因。在对 RP 患者突变进行检测的同时分析特定突变在家系成员 (尤其是父母) 中的存在情况及其表型、对比特定类型突变在本民族人群及各数据库的频率、单个基因变异的系统梳理等均有助于提高临床基因检测的可靠性。目前除了极少数基因外,大多难以通过特征性表型,如特异眼底改变来明确致病基因,因而对 RP 患者进行基因检测通常需对一组或全部相关基因进行系统分析。需要特别指出的是,由于 *RPGR* 基因 ORF15 区域的高度重复性,不易为大多数二代捕获测序覆盖,因此易造成假阴性结果。鉴于 *RPGR* 基因 ORF15 突变高发的情况,有必要针对该区域采取优化捕获。

3.2 视锥细胞或锥杆细胞营养不良

3.2.1 视锥细胞或锥杆细胞营养不良的临床特点

目前我国尚缺乏视锥细胞或锥杆细胞营养不良 (cone and cone rod dystrophy, CRD) 的流行病学调查资料,欧洲的 CRD 发病率为 1/40 000^[12-13]。CRD 表现为儿童期或成年早期进行性视力下降、畏光和色觉异常。疾病早期眼底检查接近正常,或仅有黄斑区色素不均或不同程度黄斑区萎缩,病变晚期出现整个视网膜脉络膜萎缩及骨细胞样色素沉着。疾病早期视野即可呈现中心暗点,ERG 显示为视锥细胞功能受损,随疾病的进展可逐步发展为视杆细胞、视锥细胞功能的损伤。此外,眼底自身荧光、OCT、FFA 可为 CRD 的诊断提供有用信息。

3.2.2 CRD 的遗传特点 CRD 的遗传方式有常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传和 X 性连锁遗传。目前已确定的单纯性 CRD 致病基因有 30 余种,其中 *ABCA4* 为常染色体隐性 CRD 的主要致病基因^[14], *GUCY2D* 是常染色体显性 CRD 的主要致病基因^[15]。

3.3 黄斑营养不良

3.3.1 黄斑营养不良的临床特点 黄斑营养不良 (macular dystrophy, MD) 主要包括青少年 MD/眼底黄色斑点症 (Stargardt disease/fundus flavimaculatus, STGD1)、卵黄样黄斑营养不良 (Best vitelliform macular dystrophy, BVMD) 及常染色体隐性卵黄样变 (autosomal recessive bestrophinopathy, ARB) 等。MD 多因青少年视力进行性下降、色觉异常和中心暗点等引起注意,在

疾病的不同阶段眼底可出现相应的特征性改变,如黄斑区特征性黄色斑点或卵黄样外观。ARB 患者可伴有闭角型青光眼。STGD 早期 ERG 各波形正常,随着疾病的进展逐渐出现视锥细胞或视锥细胞、视杆细胞功能异常,表现为明视 ERG a、b 波的异常或最大混合光反应、暗视 ERG 和明视 ERG a、b 波的明显异常。BVMD 和 ARB 患者眼底图 (electro-oculogram, EOG) Arden 比值通常 <1.5。眼底自身荧光、OCT 及 FFA 对疾病的诊断有一定帮助。

3.3.2 MD 的遗传特点 MD 的遗传方式有常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传和 X 性连锁遗传。目前已确定的单纯性 MD 致病基因有 20 余种,其中 *ABCA4* 是 STGD1 的唯一致病基因^[16], *BEST1* 是 BVMD 的致病基因^[17]。

3.4 Leber 遗传性视神经病变

3.4.1 Leber 遗传性视神经病变的临床特点 欧洲 Leber 遗传性视神经病变 (Leber hereditary optic neuropathy, LHON) 的发病率为 1/31 000 ~ 50 000^[18-19],我国目前尚无 LHON 相关的流行病学调查资料。无痛、无诱因的双眼先后或同时突发性视力下降是 LHON 的主要特征。约 98% 患者视力可降至 0.1,但少有全盲者,部分患者视力可自行恢复。LHON 可分为急性期和慢性期,发病年龄从几岁到几十岁,男性青壮年者多发,约 50% 的男性突变携带者和 10% 的女性携带者会发病。多数 LHON 患者为急性发病,之后双眼相继视力下降者约占 75%,双眼同时发生视力障碍者约占 25%,从视力下降到视力严重受损病程一般不超过 8 周。LHON 急性期可见视网膜血管形态改变及充血、视神经纤维层水肿、视网膜动静脉迂曲扩张等,但约 20% 的患者无上述表现。LHON 的视野异常呈多样性,中心暗点和旁中心暗点者多见。LHON 的色觉障碍常为后天获得性,红绿色盲多见,病情好转后色觉障碍也随之改善。家系中未发病者如有色觉障碍应定期随访。视觉诱发电位 (visual evoked potential, VEP) 检查有助于了解亚临床型或隐匿型 LHON 患者的视神经功能状况。

3.4.2 LHON 遗传特点 LHON 属线粒体母系遗传,主要为男性发病,但未见其直接遗传后代者,女性为遗传基因携带和传递者,但本身很少发病^[20]。母亲将线粒体 DNA 传递给子女,但只有女儿将线粒体 DNA 传递给下一代。目前已发现 18 种基因突变与 LHON 有关,常见的 3 种为 *G11778A*、*G3460A* 和 *T14484C*,90% 以上的患者为此 3 种基因突变^[21]。LHON 属典型线粒体遗传性眼病,大部分患者进行 Sanger 测序筛查

mtDNA 突变即可确诊,是基因诊断的第一步。未检测到突变基因时应排除假阴性结果(低于 15% 一代测序可能测不出来),排除假阴性结果后须进行线粒体 DNA 环检测。

3.5 常染色体显性遗传性视神经萎缩

3.5.1 常染色体显性遗传性视神经萎缩临床特点

常染色体显性遗传性视神经萎缩 (autosomal dominant optic atrophy, ADOA) 的发病率为 1/10 000 ~ 50 000^[22],主要表现为不同程度的视力下降,多在儿童期隐匿发病。ADOA 的色觉障碍主要为蓝黄色觉异常,视野通常表现为中心盲点性暗点。眼底检查可见视盘颞侧苍白,病理改变主要表现为视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 凋亡和视神经纤维丢失。患眼图形 VEP 记录不到或峰时延长,图形 ERG N₉₅ 波和 P₅₀ 波振幅比值降低。OCT 检查提示 *OPA1* 基因突变携带者神经纤维层和 RGCs 层变薄。

3.5.2 ADOA 的遗传特点 ADOA 是常染色体显性遗传性视神经疾病中最常见的一种,外显率为 40% ~ 90%^[23],可表现为一种独立的疾病,也可伴不同程度的听力下降、白内障、眼外肌麻痹、上睑下垂等。基因检查显示其突变候选位点包括 *OPA1* (3q28-29)、*OPA3* (19q13.2-13.3)、*OPA4* (18q12.2-12.3) 和 *OPA5* (22q12.1-13.1) 等,其中 *OPA1* 与 *OPA3* 位点均已克隆出相应的同名基因。ADOA 家系或者散发病例多以 *OPA1* 基因突变为主。临床上疑似 ADOA 时诊断的第一步可选择一代测序筛查 *OPA1*,未检测到突变时应先排除假阴性结果,然后进行 WES 或 WGS 测序。

3.6 家族性渗出性玻璃体视网膜病变

3.6.1 家族性渗出性玻璃体视网膜病变的临床特点

家族性渗出性玻璃体视网膜病变 (familial exudative vitreoretinopathy, FEVR) 是一种罕见的遗传性玻璃体视网膜疾病,由 Criswick 等^[24]于 1969 年首次报道,目前国内外尚无明确的流行病学调查资料。FEVR 进展缓慢,双眼病情可呈不对称发展,是导致青少年视网膜脱离的原因之一。FEVR 临床表现呈多样性,轻者表现为周边视网膜无灌注和新生血管,重者发生牵拉性视网膜脱离。根据病程特点可将 FEVR 分为 3 期:1 期表现为玻璃体后脱离合并雪花状混浊;2 期为玻璃体膜增厚,周边视网膜有新生血管及纤维膜形成;3 期由于玻璃体纤维化和纤维血管增生而发生牵拉性或并发性孔源性视网膜脱离。FEVR 应与早产儿视网膜病变进行鉴别诊断,二者眼底表现类似,主要区别在于 FEVR 患者无早产史及出生后吸氧史。结合眼底检查、FFA 及家族史可明确诊断。

3.6.2 FEVR 的遗传特点 FEVR 具有高度遗传异质性,外显率不完全,按照遗传方式可分为常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传及 X 性连锁遗传,其中由单倍剂量不足引起的常染色体显性遗传模式最为常见。目前已报道的致病基因包括 *LRP5*、*FZD4*、*TSPAN12*、*NDP*、*ZNF408* 和 *KIF11*,已证实其中的前 4 种基因参与 Wnt/Norrin 信号通路转导途径,从而在视网膜血管生成过程中发挥重要作用^[25]。Robitaille 等^[26]在 FEVR 并发小头畸形家系中发现了 *KIF11* 基因突变,其在视网膜血管发育中的作用机制有待进一步研究。

3.6.3 FEVR 基因检测的关注点 对已报道的 FEVR 病例进行上述基因筛查可实现近 40% 的突变检测阳性率^[27]。疑似 FEVR 时诊断的第一步是通过 NGS 进行包含上述基因的 panel 测序筛查。未检测到突变时应先排除假阴性结果,之后可进行 WES 或 WGS 测序。

3.7 斜视与遗传

3.7.1 斜视的临床特点 从眼球运动角度可将斜视分为共同性斜视和非共同性斜视。共同性斜视为常染色体显性遗传,已确定的相关基因位点位于 4q23 和 7p22.1 上,但致病基因尚未发现^[28-29]。非共同性斜视中的先天性颅神经发育异常综合征 (congenital cranial dysinnervation disorders, CCDDs) 是一组先天性颅神经核团、颅神经以及眼外肌肌组织发育异常导致的疾病,包括眼外肌广泛纤维化综合征 (congenital fibrosis of extraocular muscles, CFEOM)、Duane 眼球后退综合征 (Duane retraction syndrome, DRS) 等。CFEOM 至少包括 8 种临床表型和遗传模式各异的亚型,典型的 CFEOM 临床表现是 1A 型,约占 CFEOM 的 90%,临床表现为双眼位于外下转位、上转不过中线、双上睑下垂、双眼上转时出现异常集合运动等。此外,患者还有较大度数的散光和弱视。DRS 主要表现为眼球外展受限或并发相对的内转受限、眼球内转时睑裂缩小、眼球后退。

3.7.2 斜视的遗传特点 *KIF21A* 基因突变与 CFEOM1A 和 CFEOM3B 有关,*PHOX2A* (或 *ARIX*) 基因突变与 CFEOM2 相关,*TUBB3* 基因突变与 CFEOM3A 和 CFEOM1B 相关,*TUBB2* 基因突变与 CFEOM3A 和伴有多脑回的 CFEOM3 型相关。DRS 为常染色体显性遗传,其中 DRS1 型约占 77%,DRS2 型约占 8%,DRS3 型约占 15%。除发现 *CHN1* 基因突变与 DRS2 型斜视有关外,与 DRS1 型和 3 型有关的致病基因未发现,只发现与 DRS1 型有关的基因位点位于 8q13。

3.8 先天性特发性眼球震颤

3.8.1 先天性特发性眼球震颤的临床特点 先天性

眼球震颤是指生后早期(通常为出生后 3~6 个月内)出现的非自主性、有节律的眼球往返运动。运动缺陷型眼球震颤又称为先天性特发性眼球震颤或婴儿型眼球震颤,7%~30%的患者具有家族遗传史,其中 90% 为 X 性连锁遗传,仅约 10% 为常染色体显性遗传。

3.8.2 先天性特发性眼球震颤的遗传特点 目前发现 7 个与先天性眼球震颤相关的致病基因位点,其中与常染色体显性遗传眼球震颤有关的致病基因为 *MANBA*^[30]。*NYS1* 基因位于 X 染色体 q26-q27, *FRMD7* 基因为先天性特发性眼球震颤相关致病基因^[31-32]。

3.9 眼睑疾病与遗传

典型的眼睑遗传疾病为先天性小睑裂综合征(blepharophimosis, ptosis and epicanthus inversus, BPES), 临床表现为上睑下垂、小睑裂以及反向内眦赘皮。除眼睑征外, BPES 还合并卵巢发育异常。BPES 主要由 *FOXL2* 基因突变所致^[33]。

3.10 原发性先天性青光眼

3.10.1 原发性先天性青光眼的临床特征 原发性先天性青光眼(primary congenital glaucoma, PCG)(OMIM:231300)由于胚胎期发育障碍,致使房角结构先天异常或胚胎组织残留,阻塞房水排出通道而导致眼压升高,整个眼球不断增大。约 40% 的先天性青光眼患者初生时即有青光眼表现。

3.10.2 PCG 的遗传特征 PCG 以常染色体隐性遗传最为多见,目前已知的致病基因有 2 个,分别为 *CYP11B1* 和 *LTBP2*。*TEK* 基因突变也能够引起常染色体显性遗传 PCG。

3.10.3 PCG 的基因检测关注点 Sanger 测序检测单核苷酸突变及小片段插入/缺失突变,借助 qPCR 或 MLPA 检测大片段插入/缺失突变。常染色体隐性遗传及散发患者的检测顺序为:*CYP11B1* 基因单核苷酸突变→*CYP11B1* 基因插入/缺失突变→*LTBP2* 基因单核苷酸突变→*LTBP2* 基因插入/缺失突变;常染色体显性遗传患者应检测 *TEK* 基因突变。未检测到突变基因时应先排除假阴性结果,然后可进行 WES 或 WGS 测序。

3.11 先天性白内障

3.11.1 先天性白内障的临床特征 先天性白内障是指在出生前后即已存在或在儿童期罹患的白内障。先天性白内障可表现为单纯性白内障,也可伴发眼部及其他全身发育异常。

3.11.2 先天性白内障的遗传特征 约 1/3 的先天性白内障患者存在遗传致病因素,遗传模式包括常染色体显性遗传(占 76%~89%)、常染色体隐性遗传(约

占 7%)及性连锁遗传(占 2%~10%)^[34]。目前已知的致病基因超过 30 个^[35-37]。

3.11.3 先天性白内障的基因检测关注点 先天性白内障患者的遗传检测可选择:(1)靶基因捕获测序设计并构建含有上述先天性白内障致病基因及其他可疑致病基因,或鉴别诊断相关基因的靶基因捕获芯片,可参考 Cat-Map 数据库(<http://cat-map.wustl.edu/>);(2)目前先天性白内障的遗传检出率较低,仍有大量患者无法明确致病突变基因,这类患者可采用 WES 或 WGS 测序。

3.12 视网膜母细胞瘤

3.12.1 视网膜母细胞瘤的临床特点 新生儿视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)的发病率为 1/15 000~20 000,无种族和地域差异^[38]。白瞳症是 RB 最多见的初发症状,眼部 B 型超声和眼眶 CT 检查可发现眼内及眼眶内的占位病变,常伴钙化斑^[39]。

3.12.2 RB 的遗传特点 6% 的 RB 患者为常染色体显性遗传,94% 为散发病例。遗传型患者多为双眼发病,外显率约为 90%,由生殖细胞突变引起,变异存在于每个体细胞中;非遗传型患者多为单眼发病,散发型,基因突变仅发生于视网膜细胞^[40]。

3.12.3 RB 的基因突变位点 RB 的致病基因 *RB1* 属于抑癌基因,位于染色体 13q14,一对 *RB1* 等位基因同时缺失或突变即导致 RB。1971 年,Knudson^[41]提出二次基因突变假说,即第一次基因突变发生于生殖细胞中,所有体细胞均携带突变基因,第二次基因突变发生于视网膜细胞并导致肿瘤的发生;非遗传型 RB 2 次突变均发生于视网膜细胞。此外, *RB1* 的失活引起染色体不稳定(chromosome instability, CIN)而导致其他基因的改变可能是 RB 患者易发生其他部位原发性恶性肿瘤的原因之一^[42]。除 *RB1* 基因的突变外,染色体核型分析及比较基因组杂交技术(comparative genomic hybridization, CGH)证实多种基因的重复或缺失参与 RB 的发生^[43],包括染色体 6q22.3 的 *DEK* 和 *E2F3* 基因、染色体 1q32.1 的 *KIF14* 和 *MDM4* 基因、染色体 2p24.3 的 *MYCN* 基因、染色体 13q32 的 miR-17~92 cluster 的重复突变及染色体 16q21 的 *CDH11* 基因的缺失突变等^[44-47]。

3.12.4 RB 的基因检测关注点 一代测序筛查 *RB1* 可以确定 70%~75% 的 RB 患者,另有 8%~16% 为中、大片段插入/缺失。一代测序检测阴性可以通过 qPCR、MLPA 或者基因特异的微阵列检测而确定。通过以上检测未发现致病基因变异时可进行 WES 或 WGS 测序^[48]。

3.13 Leber 先天黑矇

3.13.1 Leber 先天黑矇 Leber 先天黑矇 (Leber congenital amaurosis, LCA) 是一种严重致盲的遗传性视网膜疾病,患儿在出生时或出生后不久即有严重的视力障碍,可伴有眼球震颤、黑矇瞳孔、畏光等,ERG 各波记录不到或者严重降低^[49]。LCA 的眼底表现呈现多样性,存在一定的基因型-表型相关性^[50-52]。

3.13.2 LCA 的遗传特征 目前确定 25 个基因与 LCA 发病相关,这些基因编码的蛋白具有多种功能,能解释约 70% 的病例。多数 LCA 患者为常染色体隐性遗传,少数患者为常染色体显性遗传。西方人群中多见的致病基因为 *CEP290*、*GUCY2D* 和 *CRB1*,分别占 15%、12%、10%^[53],而我们先前的统计结果显示 *CRB1*、*GUCY2D* 和 *RPGRI1* 是常见的致病基因,分别占 23%、14% 和 10%^[54]。

3.13.3 LCA 的基因检测关注点 LCA 的遗传检测方案可选择:(1)靶基因捕获测序设计并构建含有上述 LCA 致病基因及其他可疑致病基因,或鉴别诊断相关基因的靶基因捕获芯片。(2)单个基因检测对于临床表型具有明显指向性的患者可用一代测序检测可疑候选基因单核苷酸突变及小片段插入/缺失突变,用 qPCR 或 MLPA 检测大片段插入/缺失突变。(3)对于靶基因捕获测序阴性的患者可采用 WES 或 WGS 测序方法。

3.14 无脉络膜症

3.14.1 无脉络膜症的临床特征 无脉络膜症 (choroideremia, CHM) 是一种 X 连锁隐性遗传视网膜营养不良眼病,以进行性光感受器细胞、RPE 及脉络膜毛细血管萎缩为特征。国外文献报道 CHM 患病率为 1/50 000 ~ 100 000^[55],我国尚无流行病学调查资料。男性患者儿童期即可出现夜盲,随后出现进行性周边视野缺损,病变累及黄斑时出现中心视力下降和色觉异常。眼底可见广泛的脉络膜萎缩以及对应区域的 RPE 萎缩。

3.14.2 CHM 的遗传特点 CHM 致病基因为 *CHM* 基因,其编码的 REP-1 蛋白参与细胞内囊泡转运^[56]。已报道的 *CHM* 基因突变有 200 余种。北京协和医院的数据显示,约 85% 的 *CHM* 基因突变为无义/错义突变、剪接突变、小片段缺失、小片段插入及小插入缺失,约 20% 的基因突变为大片段缺失及大片段插入/重复^[57]。此类突变很难被传统的 Sanger 测序所发现。

3.14.3 CHM 的基因检测关注点 首先可借助 Sanger 测序对 *CHM* 基因的 15 个外显子和外显子-内含子结合区进行测序,未发现突变位点者可进一步用

MLPA 或 qPCR 检测大片段突变^[58]。上述检测结果阴性者可采用 WES 或 WGS 测序方法。

3.15 视网膜劈裂症

3.15.1 视网膜劈裂症的临床特征 X 性连锁隐性遗传视网膜劈裂症 (X-linked retinoschisis, XLRS) 是一种视网膜营养不良疾病,国外文献报道其患病率为 1/5 000 ~ 20 000^[59],我国尚无流行病学资料。男性患者儿童期即可出现视力下降,但视力下降的程度差异大,多数患者的视力为 0.15 ~ 0.30。XLRS 的典型眼底特征包括黄斑轮辐样改变(黄斑劈裂)和周边视网膜劈裂。视网膜劈裂主要发生于视网膜神经纤维层,OCT 检查可确定劈裂程度。XLRS 患者 ERG 呈负波形,即 a 波振幅正常或轻度下降,b 波振幅明显下降。XLRS 可并发玻璃体出血和视网膜脱离,加重视力下降。

3.15.2 XLRS 的遗传特点 XLRS 致病基因为 *RS1* 基因,主要在视网膜光感受器细胞和双极细胞中表达,其编码的 retinoschisin 蛋白与细胞黏附和细胞间的相互作用有关,在维持视网膜结构和功能的完整性方面起重要作用^[60]。目前已报道 *RS1* 基因的相关变异有 200 余种,其中约 81% 的变异为错义变异,其他变异类型包括无义突变、小片段缺失插入和大片段重复^[61]。

3.15.3 XLRS 的基因检测关注点 首先可借助 Sanger 测序对 *RS1* 基因的 6 个外显子和外显子-内含子结合区进行测序,未发现变异者可进一步用 MLPA 或 qPCR 检测大片段变异。上述检测结果阴性的患者可采用 WES 或 WGS 测序方法。

4 眼遗传病基因检测的意义

眼遗传病基因检测的意义在于多数眼遗传病是严重不可逆的致盲眼病,患者罹患后终生受累。无论父母有无该病,其同胞及后代均有发病的风险。若能通过基因检测确定致病基因及其突变有重要的临床意义:(1)协助明确诊断,排除其他相关疾病;(2)了解疾病的基因特异自然病程,指导患者提前进行相关学习和生活技能的培训,对可能的并发症采取针对性防治措施;(3)以此为指标开展遗传咨询和生育指导,避免再发风险;(4)患者有可能及时参与针对该基因突变的基因治疗。

声明 本共识涉及的内容与任何商业公司、诊断设备厂商及销售商不存在任何经济利益关系

参与共识意见形成的专家小组成员:

姚凤霞 中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院 临床遗传学实验室

雷 博 河南省人民医院 河南省立眼科医院 河南省眼科研究所

李 杨 首都医科大学附属北京同仁医院 北京市眼科研究所

李宁东 北京市儿童医院

王 慧 杭州师范大学生命与环境科学学院

肖 锐 美国贝勒医学院遗传学系

罗学廷 上海市第一人民医院

金子兵 温州医科大学附属眼视光医院

赵 晨 复旦大学眼耳鼻喉医院

陈 睿 美国贝勒医学院遗传学系

张清炯 广州中山大学中山眼科中心

睢瑞芳 中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院眼科 中国医学科学院罕见病研究中心

参考文献

- [1] Richards S, Aziz N, Bale S, 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]. Genet Med, 2015, 17 (5): 405-424. DOI: 10.1038/gim.2015.30.
- [2] Zhang Q. Retinitis pigmentosa: progress and perspective [J]. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2016, 5 (4): 265-271. DOI: 10.1097/apo.0000000000000227.
- [3] Xu Y, Guan L, Xiao X, et al. Mutation analysis in 129 genes associated with other forms of retinal dystrophy in 157 families with retinitis pigmentosa based on exome sequencing [J]. Mol Vis, 2015, 21: 477-486.
- [4] Xu M, Yamada T, Sun Z, et al. Mutations in POMGNT1 cause non-syndromic retinitis pigmentosa [J]. Hum Mol Genet, 2016, 25 (8): 1479-1488. DOI: 10.1093/hmg/ddw022.
- [5] Huang XF, Wu J, Lv JN, et al. Identification of false-negative mutations missed by next-generation sequencing in retinitis pigmentosa patients: a complementary approach to clinical genetic diagnostic testing [J]. Genet Med, 2015, 17 (4): 307-311. DOI: 10.1038/gim.2014.193.
- [6] Zhang J, Wang C, Shen Y, et al. A mutation in ADIPOR1 causes nonsyndromic autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. Hum Genet, 2016, 135 (12): 1375-1387. DOI: 10.1007/s00439-016-1730-2.
- [7] Huang L, Xiao X, Li S, et al. Molecular genetics of cone-rod dystrophy in Chinese patients: new data from 61 probands and mutation overview of 163 probands [J]. Exp Eye Res, 2016, 146: 252-258. DOI: 10.1016/j.exer.2016.03.015.
- [8] Xu Y, Xiao X, Li S, et al. Molecular genetics of Leber congenital amaurosis in Chinese: new data from 66 probands and mutation overview of 159 probands [J]. Exp Eye Res, 2016, 149: 93-99. DOI: 10.1016/j.exer.2016.06.019.
- [9] Zhou L, Xiao X, Li S, et al. Frequent mutations of RetNet genes in eoHM: further confirmation in 325 probands and comparison with late-onset high myopia based on exome sequencing [J]. Exp Eye Res, 2018, 171: 76-91. DOI: 10.1016/j.exer.2018.02.007.
- [10] Dockery A, Stephenson K, Keegan D, et al. Target 5000: Target capture sequencing for inherited retinal degenerations [J/OL]. Genes (Basel), 2017, 8 (11): E304 [2018-03-04]. http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/290997981. DOI: 10.3390/genes8110304.
- [11] Ge Z, Bowles K, Goetz K, et al. NGS-based molecular diagnosis of 105 eyeGENE((R)) probands with retinitis pigmentosa [J/OL]. Sci Rep, 2015, 5: 18287 [2018-03-25]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26667666/. DOI: 10.1038/srep18287.
- [12] Hamel CP, Griffioen JM, Bazalgette C, et al. Molecular genetics of pigmentary retinopathies: identification of mutations in CHM, RDS, RHO, RPE65, USH2A and XLR1 genes [J]. J Fr Ophthalmol, 2000, 23 (10): 985-995.
- [13] Thiadens AA, Phan TM, Zekveld-Vroon RC, et al. Clinical course, genetic etiology, and visual outcome in cone and cone-rod dystrophy [J]. Ophthalmology, 2012, 119 (4): 819-826. DOI: 10.1016/j.optha.2011.10.011.
- [14] Ducroq D, Rozet JM, Gerber S, et al. The ABCA4 gene in autosomal recessive cone-rod dystrophies [J]. Am J Hum Genet, 2002, 71 (6): 1480-1482.
- [15] Kitaritschky VB, Wilke R, Renner AB, et al. Mutation analysis identifies GUCY2D as the major gene responsible for autosomal dominant progressive cone degeneration [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49 (11): 5015-5023. DOI: 10.1167/iov.08-1901.
- [16] Zaneveld J, Siddiqui S, Li H, et al. Comprehensive analysis of patients with Stargardt macular dystrophy reveals new genotype-phenotype correlations and unexpected diagnostic revisions [J]. Genet Med, 2015, 17 (4): 262-270. DOI: 10.1038/gim.2014.174.
- [17] MacDonald IM, Lee T. Best vitelliform macular dystrophy [M/OL]// Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. Gene Reviews. Seattle (WA): University of Washington, 2003 Sep 30 [updated 2013 Dec 12]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1167/.
- [18] Gorman GS, Schaefer AM, Ng Y, et al. Prevalence of nuclear and mitochondrial DNA mutations related to adult mitochondrial disease [J]. Ann Neurol, 2015, 77 (5): 753-759. DOI: 10.1002/ana.24362.
- [19] Puomila A, Hamalainen P, Kivioja S, et al. Epidemiology and penetrance of Leber hereditary optic neuropathy in Finland [J]. Eur J Hum Genet, 2007, 15 (10): 1079-1089. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201828.
- [20] Carelli V, La Morgia C, Iommarini L, et al. Mitochondrial optic neuropathies: how two genomes may kill the same cell type? [J]. Biosci Rep, 2007, 27 (1-3): 173-184. DOI: 10.1007/s10540-007-9045-0.
- [21] Tonska K, Kodron A, Bartnik E. Genotype-phenotype correlations in Leber hereditary optic neuropathy [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1797 (6-7): 1119-1123. DOI: 10.1016/j.bbabi.2010.02.032.
- [22] Kjer B, Eiberg H, Kjer P, et al. Dominant optic atrophy mapped to chromosome 3q region. II. Clinical and epidemiological aspects [J]. Acta Ophthalmol Scand, 1996, 74 (1): 3-7.
- [23] Han J, Thompson-Lowrey AJ, Reiss A, et al. OPA1 mutations and mitochondrial DNA haplotypes in autosomal dominant optic atrophy [J]. Genet Med, 2006, 8 (4): 217-225. DOI: 10.109701.gim.0000214299.61930.co.
- [24] Criswick VG, Schepens CL. Familial exudative vitreoretinopathy [J]. Am J Ophthalmol, 1969, 68 (4): 578-594.
- [25] Sizmaz S, Yonekawa Y, Trese MT. Familial exudative vitreoretinopathy [J]. Turk J Ophthalmol, 2015, 45 (4): 164-168. DOI: 10.4274/tjo.67699.
- [26] Robitaille JM, Gillett RM, LeBlanc MA, et al. Phenotypic overlap between familial exudative vitreoretinopathy and microcephaly, lymphedema, and chorioretinal dysplasia caused by KIF11 mutations [J]. JAMA Ophthalmol, 2014, 132 (12): 1393-1399. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2014.2814.
- [27] Rao FQ, Cai XB, Cheng FF, et al. Mutations in LRP5, FZD4, TSPAN12, NDP, ZNF408, or KIF11 genes account for 38.7% of Chinese patients with familial exudative vitreoretinopathy [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017, 58 (5): 2623-2629. DOI: 10.1167/iov.16-21324.
- [28] Parikh V, Shugart YY, Doheny KF, et al. A strabismus susceptibility locus on chromosome 7p [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100 (21): 12283-12288. DOI: 10.1073/pnas.2035118100.
- [29] Shaaban S, Matsuo T, Fujiwara H, et al. Chromosomes 4q28.3 and 7q31.2 as new susceptibility loci for comitant strabismus [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50 (2): 654-661. DOI: 10.1167/iov.08-2437.
- [30] Yu P, Cui Y, Cai W, et al. Lysosomal storage disease in the brain: mutations of the beta-mannosidase gene identified in autosomal dominant nystagmus [J]. Genet Med, 2015, 17 (12): 971-979. DOI: 10.1038/gim.2015.10.

- [31] Tarpey P, Thomas S, Sarvananthan N, et al. Mutations in FRMD7, a newly identified member of the FERM family, cause X-linked idiopathic congenital nystagmus [J]. *Nat Genet*, 2006, 38 (11) : 1242-1244. DOI: 10.1038/ng1893.
- [32] Kerrison JB, Giorda R, Lenart TD, et al. Clinical and genetic analysis of a family with X-linked congenital nystagmus (NYS1) [J]. *Ophthalmic Genet*, 2001, 22 (4) : 241-248.
- [33] Verdin H, de Baere E. Blepharophimosis, ptosis, and epicanthus inversus [M//OL]. Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. *GeneReviews*. Seattle (WA) : University of Washington, Seattle, 2004 Jul 8 [updated 2015 Feb 5]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1441/>.
- [34] Foster A. Cataract - a global perspective; output, outcome and outlay [J]. *Eye (Lond)*, 1999, 13 (Pt 3b) : 449-453. DOI: 10.1038/eye.1999.120.
- [35] Francois J. Genetics of cataract [J]. *Ophthalmologica*, 1982, 184 (2) : 61-71. DOI: 10.1159/000309186.
- [36] Haargaard B, Wohlfahrt J, Fledelius HC, et al. A nationwide Danish study of 1027 cases of congenital/infantile cataracts: etiological and clinical classifications [J]. *Ophthalmology*, 2004, 111 (12) : 2292-2298. DOI: 10.1016/j.ophtha.2004.06.024.
- [37] Wirth MG, Russell-Eggitt IM, Craig JE, et al. Aetiology of congenital and paediatric cataract in an Australian population [J]. *Br J Ophthalmol*, 2002, 86 (7) : 782-786.
- [38] Grossniklaus HE. Retinoblastoma. Fifty years of progress. The LXXI Edward Jackson Memorial Lecture [J]. *Am J Ophthalmol*, 2014, 158 (5) : 875-891. DOI: 10.1016/j.ajo.2014.07.025.
- [39] Vasalaki M, Fabian ID, Reddy MA, et al. Ocular oncology: advances in retinoblastoma, uveal melanoma and conjunctival melanoma [J]. *Br Med Bull*, 2017, 121 (1) : 107-119. DOI: 10.1093/bmb/ldw053.
- [40] Cassoux N, Lumbroso L, Levy-Gabriel C, et al. Retinoblastoma: update on current management [J]. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*, 2017, 6 (3) : 290-295. DOI: 10.22608/apo.201778.
- [41] Knudson AG, Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1971, 68 (4) : 820-823.
- [42] Velez-Cruz R, Johnson DG. The retinoblastoma (RB) tumor suppressor: Pushing back against genome instability on multiple fronts [J//OL]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 (8) : E1776 [2018-02-20]. <http://www.mdpi.com/1422-0067/18/8/1776>. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18081776>
- [43] Benavente CA, Dyer MA. Genetics and epigenetics of human retinoblastoma [J]. *Annu Rev Pathol*, 2015, 10 : 547-562. DOI: 10.1146/annurev-pathol-012414-040259.
- [44] Ewens KG, Bhatti TR, Moran KA, et al. Phosphorylation of pRb: mechanism for RB pathway inactivation in MYCN-amplified retinoblastoma [J]. *Cancer Med*, 2017, 6 (3) : 619-630. DOI: 10.1002/cam4.1010.
- [45] Nittner D, Lambertz I, Clermont F, et al. Synthetic lethality between Rb, p53 and Dicer or miR-17-92 in retinal progenitors suppresses retinoblastoma formation [J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14 (9) : 958-965. DOI: 10.1038/ncb2556.
- [46] O'Hare M, Shadmand M, Sulaiman RS, et al. Kif14 overexpression accelerates murine retinoblastoma development [J]. *Int J Cancer*, 2016, 139 (8) : 1752-1758. DOI: 10.1002/ijc.30221.
- [47] Pajovic S, Corson TW, Spencer C, et al. The TAg-RB murine retinoblastoma cell of origin has immunohistochemical features of differentiated Müller glia with progenitor properties [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (10) : 7618-7624. DOI: 10.1167/iov.11-7989.
- [48] Zhang J, Benavente CA, McEvoy J, et al. A novel retinoblastoma therapy from genomic and epigenetic analyses [J]. *Nature*, 2012, 481 (7381) : 329-334. DOI: 10.1038/nature10733.
- [49] Franceschetti A, Dieterle P. Diagnostic and prognostic importance of the electroretinogram in tapetoretinal degeneration with reduction of the visual field and hemeralopia [J]. *Confin Neurol*, 1954, 14 (2-3) : 184-186.
- [50] Koenekoop RK, Lopez I, den Hollander AI, et al. Genetic testing for retinal dystrophies and dysfunctions: benefits, dilemmas and solutions [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2007, 35 (5) : 473-485. DOI: 10.1111/j.1442-9071.2007.01534.x.
- [51] Dharmaraj S, Leroy BP, Sohocki MM, et al. The phenotype of Leber congenital amaurosis in patients with AIPL1 mutations [J]. *Arch Ophthalmol*, 2004, 122 (7) : 1029-1037. DOI: 10.1001/archoph.122.7.1029.
- [52] Galvin JA, Fishman GA, Stone EM, et al. Evaluation of genotype-phenotype associations in Leber congenital amaurosis [J]. *Retina*, 2005, 25 (7) : 919-929.
- [53] den Hollander AI, Roepman R, Koenekoop RK, et al. Leber congenital amaurosis: genes, proteins and disease mechanisms [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2008, 27 (4) : 391-419. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2008.05.003.
- [54] Wang H, Wang X, Zou X, et al. Comprehensive molecular diagnosis of a large Chinese Leber congenital amaurosis cohort [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56 (6) : 3642-3655. DOI: 10.1167/iov.14-15972.
- [55] van den Hurk JA, Schwartz M, van Bokhoven H, et al. Molecular basis of choroideremia (CHM): mutations involving the Rab escort protein-1 (REP-1) gene [J]. *Hum Mutat*, 1997, 9 (2) : 110-117. DOI: 10.1002/(sici)1098-1004(1997)9:2<110::aid-humu2>3.0.co;2-d.
- [56] Zerial M, McBride H. Rab proteins as membrane organizers [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2 (2) : 107-117. DOI: 10.1038/35052055.
- [57] MacDonald IM, Russell L, Chan CC. Choroideremia: new findings from ocular pathology and review of recent literature [J]. *Surv Ophthalmol*, 2009, 54 (3) : 401-407. DOI: 10.1016/j.survophthal.2009.02.008.
- [58] Zhou Q, Yao F, Han X, et al. Rep1 copy number variation is an important genetic cause of choroideremia in Chinese patients [J]. *Exp Eye Res*, 2017, 164 : 64-73. DOI: 10.1016/j.exer.2017.07.016.
- [59] George ND, Yates JR, Moore AT. X linked retinoschisis [J]. *Br J Ophthalmol*, 1995, 79 (7) : 697-702.
- [60] Molday LL, Hicks D, Sauer CG, et al. Expression of X-linked retinoschisis protein RSI in photoreceptor and bipolar cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42 (3) : 816-825.
- [61] Molday RS, Kellner U, Weber BH. X-linked juvenile retinoschisis: clinical diagnosis, genetic analysis, and molecular mechanisms [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2012, 31 (3) : 195-212. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2011.12.002.

(收稿日期: 2018-04-25 修回日期: 2018-05-15)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)

读者 · 作者 · 编者

本刊对来稿中组织病理学彩色图片及电子显微镜图片中标尺的要求

如果作者稿件中包含有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、电子显微镜图片, 为了反映组织标本大小的最精确尺度, 请在电子版图片的左下方附注标尺。

(本刊编辑部)