

白化病家系 OCA2 基因变异分析及产前诊断

吴轲¹ 朱沅珍^{2*}

(1. 义乌市妇幼保健院 产前诊断中心, 浙江 义乌 322000; 2. 义乌市妇幼保健院 检验科, 浙江义乌 322000)

【摘要】 目的 通过二代测序技术对 1 例白化病家系的先证者进行基因变异检测, 并分析胎儿基因携带情况, 为胎儿提供产前诊断。方法 对该家系中白化病患者进行二代测序, 分析相关基因变异情况, 孕妇在知情同意后对其羊膜腔穿刺获取羊水, 利用 Sanger 测序验证分析胎儿的基因变异位点。结果 先证者的 OCA2 基因存在 2 处杂合变异位点(NM_000275.3), 一处为 c.406C>T(p.R136*) 来源于父亲; 另一处为 c.1560_1562del(p.L521del), 来源于母亲。胎儿的 OCA2 基因变异位点验证结果与先证者一致。结论 白化病的危害主要是眼部损害和易患皮肤癌。二代测序技术为白化病患者的产前诊断、遗传咨询和婚育提供技术支持, 可以有效地预防重型患儿的出生。

【关键词】 白化病; OCA2 基因; 产前诊断

【中图分类号】 R714.55 **【文献标识码】** A

Mutation analysis and prenatal diagnosis of a family with albinism

Wu Ke¹, Zhu Yuanzhen^{2*}

1. Prenatal Diagnosis Center, Yiwu Maternity and Child Health Care Hospital, Yiwu 32200, Zhejiang, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Yiwu Maternity and Child Health Care Hospital, Yiwu 32200, Zhejiang, China

* Corresponding author: Zhu Yuanzhen, Email: 754299058@qq.com

【Abstract】 Objective Mutations analysis of the pathogenic variants of a family with albinism by next-generation sequencing, to detect the genome variants of the fetus and provide genetic prenatal diagnosis.

Methods Next-generation sequencing was used to detect and analyze the pathogenic variants of a family with albinism. The gravida signed an informed consent for amniocentesis, amniotic fluid was used for analyzing the genome variation of the fetus by Sanger sequencing. **Results** The proband had two heterozygous variants of OCA2 gene, one was c.406C>T(p.R136*) (derived from father); another was c.1560_1562del(p.L521del) (derived from mother). The variants of the fetus were the same with the proband, and both parents showed a normal karyotype. **Conclusion** The major hazard of albinism are eye damage and skin cancer. Next-generation sequencing provides technical support for prenatal diagnosis, genetic counseling and marriage and childbearing of patients with albinism, and also it can effectively prevent and control birth defects.

【Key words】 Albinism; OCA2 gene; Prenatal diagnosis

白化病(albinism)是一组与黑色素合成或转运相关的基因变异引起的单基因遗传病。根据临床表

现分为眼皮肤白化病(oculocutaneous albinism, OCA), 表现为眼、毛发、皮肤等色素缺乏; 眼白化病(ocular albinism, OA), 仅眼部色素缺乏。患者除了眼皮肤白化病的表型, 还伴有其他器官或系统的异

DOI: 10.13470/j.cnki.cjpd.2022.02.006

* 通信作者: 朱沅珍, E-mail: 754299058@qq.com

常,为综合征型白化病,如会引起肺纤维化或心肌病的 Hermansky-Pudlak 综合征、会引起免疫功能低下的 Chediak-Higashi 综合征。白化病累及眼睛,造成先天性视力减低或几近丧失,而综合征型白化病还会累及多个器官和系统,甚至导致死亡。因此白化病的鉴别诊断,特别是严重的综合征型白化病的产前诊断,是防治出生缺陷的重要工作之一。本研究通过二代测序技术对一个白化病家系进行基因变异检测,在明确该白化病家系的致病性变异的前提下,采用 Sanger 测序进行胎儿产前基因诊断,为孕妇提供遗传咨询。

1 对象与方法

1.1 研究对象 先证者,3岁,出生时表现为头发根部发白,发梢淡黄;现在表现为满头金黄色头发,眉毛、睫毛白色,四肢、面部皮肤白色,浅棕色虹膜,眼球轻度震颤,有闪光。孕妇,28岁,孕16周,孕2产1,平素月经规律,非近亲结婚,孕期体健,无化学物质、农药、放射性物质、毒物等接触史,孕期B超未见异常。孕妇因生育白化病患儿来本院产前诊断中心咨询。本研究经义乌市妇幼保健院伦理委员会审查批准(0000042)。

1.2 方法

1.2.1 二代测序 先证者及其父母均签署知情同意书,每人各抽取2.0ml外周血,提取DNA,进行全外显子组测序,按照遗传病二代测序数据分析流程^[1],分析患者基因变异数据。

1.2.2 获取胎儿DNA 孕妇知情同意后,在B超引导下经母腹羊膜腔穿刺,无菌抽取羊水15ml,提取胎儿DNA,用于Sanger测序验证白化病相关基因的致病性变异。

1.2.3 变异的致病性解读 基因变异解读的标准和规范参考《美国医学遗传学和基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)和美国分子病理学会(Association for Molecular Pathology, AMP)序列变异解读标准和指南(2015版)》^[2]。

1.2.4 胎儿、先证者及父母 Sanger 测序验证 应用 Primer3 Input (<http://primer3.ut.ee/>)设计引

物,再按照以下条件进行PCR扩增:2×KAPA 2G Fast HotStart Ready Mix 10 μl,10 μM 正反引物各1 μl,DNA 2 μl,ddH₂O 6 μl;PCR反应条件为:PCR反应条件为95℃预变性3 min;95℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,按此进行30个循环,最后72℃延伸10 min。最后PCR产物送杭州金诺医学检验所进行Sanger测序。

2 结果

2.1 二代测序结果 先证者OCA2基因分别在Exon4和Exon15两处发生杂合变异(NM_000275.3),一处为c.406C>T(p.R136*)来源于父亲;另一处为c.1560_1562delCCT(p.L521del),来源于母亲。

2.2 变异的致病性分析 根据美国医学遗传学和基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics,ACMG)对遗传变异解读的指南,将c.406C>T(p.R136*)判定为致病性变异(1个PVS1证据+PM2/3证据+PP4/5证据):①PVS1:OCA2基因c.406C>T(p.R136*)为零效变异(属于无义变异),使得OCA2蛋白氨基酸序列的第136位精氨酸变成终止密码子,自此之后氨基酸翻译提前终止,产生截短蛋白。②PM2:该变异在人群数据库(GnomAD、ExAC、1000 Genomes Project)记载的频率均<1%。③PM3:在隐性遗传病中,在反式位置上检测到致病变异。④PP4:变异位点与患者的表型或家族史具有很高的匹配性。⑤PP5:定义变异为致病的研究单位可靠,多项研究报道次位点变异^[3,4]。将另一处c.1560_1562delCCT(p.L521del)判定为疑似致病性变异(PM2/3/4证据+PP4证据):①PM2:该变异在人群数据库(GnomAD、ExAC、1000 Genomes Project)均未记载。有1篇文献报道在1例OCA2患者中检测到此变异^[5],该变异收录于HGMD数据库(CD112626)。②PM3:在隐性遗传病中,在反式位置上检测出致病性变异c.406C>T(p.R136*)。③PM4:非重复区框内碱基缺失导致蛋白质长度变化,缺失了第521位的亮氨酸。④PP4:变异位点与患者的表型或家族史具有很高的匹配性。综上,先证者检出的OCA2基因c.406C>T和c.1560_1562del为复合杂合变异,

以上变异可解释为先证者白化病的遗传学病因。

2.3 Sanger 测序验证结果 先证者结果与二代测

序结果一致(见图 1)。胎儿的 Sanger 测序验证结果与先证者一致(见图 2)。

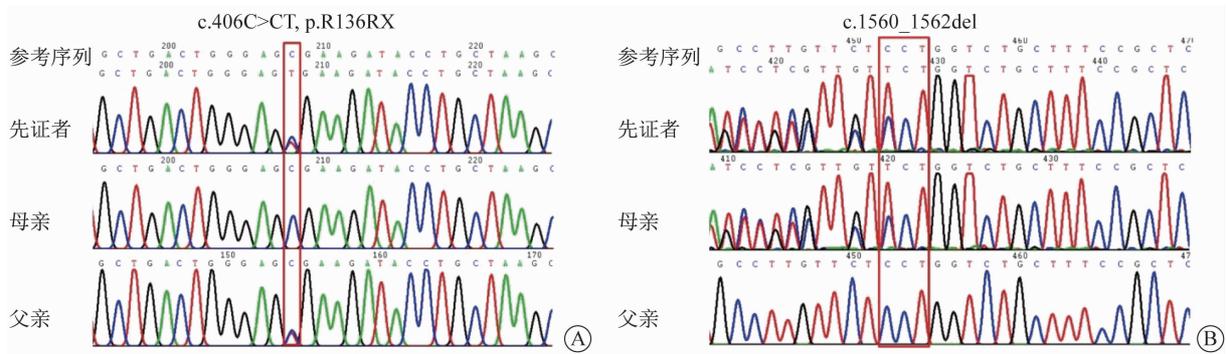


图 1 先证者测序结果与二代测序结果

A. 先证者 c.406C>T 的 Sanger 测序验证;B. 先证者 c.1560_1562del 的 Sanger 测序验证。

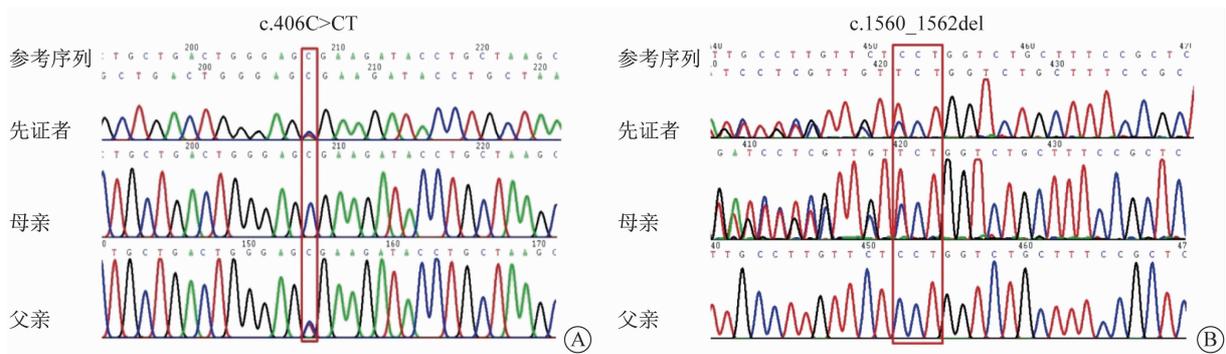


图 2 胎儿的 Sanger 测序验证结果与先证者 Sanger 测序验证结果

A. 胎儿 c.406C>T 的 Sanger 测序验证;B. 先证者 c.1560_1562del 的 Sanger 测序验证。

2.4 遗传咨询 根据 Sanger 测序结果,可知胎儿与先证者 OCA2 基因变异位点一致,基本可以明确胎儿出生即为非综合征型白化病患者。该型白化病的主要危害是视力降低,甚至丧失,并增加罹患皮肤癌的风险。此外白化病患者由于外貌异于常人,可能会引起内心的自卑感,发生性格和情绪的改变,会对今后个人的工作、学习及社交活动产生不良影响。

在充分告知的情况下,建议孕妇结合自身家庭情况和检测结果,自行决定是否终止妊娠。

3 讨论

在北美和欧洲,白化病发病率约为 1/17 000^[6]。根据 OCA 致病基因不同,分为 8 种亚型 OCA1-8 (见表1)。OCA-1是白种人群中最常见的亚型,患

表 1 眼皮肤白化病类型

类型	基因	染色体定位	OMIM 编号	遗传方式	基因编码的蛋白及功能
OCA-1A	TYR	11q14.3	203100	AR	酪氨酸酶,参与黑色素生物合成
OCA-1B	TYR	11q14.3	606952	AR	酪氨酸酶,参与黑色素生物合成
OCA-2	OCA2	15q12-q13	203200	AR	黑色素跨膜蛋白,参与酪氨酸的转运
OCA-3	TYRP1	9p23	203290	AR	5,6-二羟基吡啶-2-羧酸氧化酶,参与黑色素生物合成
OCA-4	SLC45A2	5p13.2	606574	AR	膜相关转运蛋白,参与黑色素生物合成相关物质的转运
OCA-5	/	4q24	615312	AR	/
OCA-6	SLC24A5	15q21.1	113750	AR	钠/钾/钙交换蛋白,参与黑色素细胞内的离子交换
OCA-7	LRMDA	10q22.2-q22.3	615179	AR	富亮氨酸黑色素细胞分化相关蛋白,参与黑色素细胞分化
OCA-8	DCT	13q32.1	619165	AR	L-多巴色素异构酶,黑色素生物合成

病率约为1/4000,约占全球病例的50%^[7]。我国学者对179例白化病的分子流行病学调查表明,OCA-1是我国白化病的主要类型,约占64.3%,OCA-2占11.7%^[8]。

OCA2基因(OMIM#611409)位于染色体15q12-q13,共有24个外显子(NM_000275.3),cDNA全长为3143bp。OCA2基因编码的P蛋白(UniProtKB-Q04671-1)由838个氨基酸残基组成,在皮肤、甲状腺、睾丸等组织高表达^[9]。在黑素细胞内,参与酪氨酸的运输,调控黑色素小体的pH值和黑色素小体的成熟^[10]。P蛋白是决定种族肤色和眼睛棕色和(或)蓝色的主要因素^[11]。先证者检出的OCA2基因c.406C>T(p.R136*)和c.1560_1562del(p.L521del),引起P蛋白氨基酸序列缺失和结构异常,从而造成黑色素生物合成途径障碍。

白化病目前由于缺乏有效的治疗,特别是HPS和CHS等症状严重的综合征型白化病,需要通过产前诊断预防患儿出生。而非综合征型白化病症状相对较轻,在充分告知的情况下,由夫妻双方根据自身情况自主决定是否进行产前诊断或终止妊娠。2020年《白化病的临床实践指南》^[12]指出,如遇白化病家系基因型未明或变异位点的致病性不确定的情况,可于20~26周通过胎儿镜直接观察胎儿头发的颜色。需要注意的是胎儿镜虽直观,但流产率相对较高(3%~5%),且受主观因素影响较大,仍有15%~20%胎儿得不到确诊。本例胎儿与先证者OCA2基因变异位点一致,基本可以明确胎儿出生即为非综合征型白化病患儿。在充分告知的情况下,孕妇从自身心理和经济负担以及患儿出生后的成长考虑,结合自身家庭情况和产前基因诊断结果,自行决定终止妊娠。

参 考 文 献

- [1] 孙隽,黄颀,王小冬,等.遗传病二代测序临床检测全流程规范化共识探讨(3)—数据分析流程[J].中华医学遗传学杂志,2020,37(3):345-351.
- [2] 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.
- [3] 曾玉坤,刘玲,余丽华,等.二代测序技术在白化病家系检测中的应用及突变分析[J/CD].中国产前诊断杂志(电子版),2018,10(03):35-38.
- [4] ZHONG Z, GU L, ZHENG X, et al. Comprehensive analysis of spectral distribution of a large cohort of Chinese patients with non-syndromic oculocutaneous albinism facilitates genetic diagnosis[J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2019,32(5):672-686.
- [5] WEI A, YANG X, LIAN S, et al. Implementation of an optimized strategy for genetic testing of the Chinese patients with oculocutaneous albinism[J]. J Dermatol Sci, 2011, 62(2):124-127.
- [6] MONTOLIU L, GRONSKOV K, WEI A H, et al. Increasing the complexity: new genes and new types of albinism[J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2014,27(1):11-18.
- [7] HUTTON SM, SPRITZ RA. Comprehensive analysis of oculocutaneous albinism among non-Hispanic caucasians shows that OCA1 is the most prevalent OCA type[J]. J Invest Dermatol, 2008,128(10):2442-2450.
- [8] WEI A, WANG Y, LONG Y, et al. A comprehensive analysis reveals mutational spectra and common alleles in Chinese patients with oculocutaneous albinism[J]. J Invest Dermatol, 2010,130(3):716-724.
- [9] FAGERBERG L, HALLSTRÖM BM, OKSVOLD P, et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics[J]. Mol Cell Proteomics, 2014,13(2):397-406.
- [10] WIRIYASERMKUL P, MORIYAMA S, NAGAMORI S. Membrane transport proteins in melanosomes: Regulation of ions for pigmentation[J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2020,1862(12):183318.
- [11] STURM RA, FRUDAKIS TN. Eye colour: portals into pigmentation genes and ancestry[J]. Trends Genet, 2004,20(8):327-332.
- [12] 中华医学会医学遗传学分会遗传病临床实践指南撰写组.白化病的临床实践指南[J].中华医学遗传学杂志,2020,37(3):252-257.

(收稿日期:2021-06-20)

编辑:宋文颖