

卵黄样黄斑营养不良家系的 VMD2 基因诊断

王春霞, 于紫燕, 孙琦, 周文凯, 吴迪, 张劲松

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81000402)
作者单位:(110005)中国辽宁省沈阳市,中国医科大学附属第四医院眼科 中国医科大学眼科医院 辽宁省晶状体重点实验室
作者简介:王春霞,博士,讲师,研究方向:遗传性眼病。
通讯作者:王春霞, cxwang@mail. cmu. edu. cn
收稿日期:2011-08-24 **修回日期:**2011-10-20

Genetic diagnosis of VMD2 gene in Best vitelliform macular dystrophy pedigree

Chun-Xia Wang, Zi-Yan Yu, Qi Sun, Wen-Kai Zhou, Di Wu, Jin-Song Zhang

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81000402)

Department of Ophthalmology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Eye Hospital of China Medical University, Key Lens Research Laboratory of Liaoning Province, Shenyang 110005, Liaoning Province, China.

Correspondence to: Chun-Xia Wang, Department of Ophthalmology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Eye Hospital of China Medical University, Key Lens Research Laboratory of Liaoning Province, Shenyang 110005, China. cxwang@mail. cmu. edu. cn

Received:2011-08-24 Accepted:2011-10-20

Abstract

• **AIM:** To definitively diagnose a Best vitelliform macular dystrophy (BVMD) pedigree by molecular genetic examination of vitelliform macular dystrophy 2 (VMD2) gene, and to provide the basis for gene diagnosis of Best disease.

• **METHODS:** Ophthalmological examinations were performed. Mutations in the coding regions of VMD2 gene was analyzed by polymerase chain reaction (PCR) and direct DNA sequencing. VMD2 mutation screening was performed in 100 normal controls.

• **RESULTS:** Funduscopic examination of the proband revealed vitelliform lesions in the maculae of both eyes. Fundus angiography didn't show choroidal neovascularization. Mutation analyses found a heterozygous mutation c. 886A > G (Asn296Asp) in exon 8 of VMD2 gene.

• **CONCLUSION:** A novel disease-causing mutation in VMD2 gene (Asn296Asp) is found in a Best disease family. Mutation screening of VMD2 gene can be used for definite diagnosis and genetic consultation of Best disease. The possibility of Best disease should not be neglected when a case has macular abnormality.

• **KEYWORDS:** Best disease; vitelliform macular dystrophy; VMD2; gene diagnosis

Wang CX, Yu ZY, Sun Q, et al. Genetic diagnosis of VMD2 gene in Best vitelliform macular dystrophy pedigree. *Guji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(12):2148-2150

摘要

目的:通过 VMD2 基因的分子遗传学检查确诊卵黄样黄斑营养不良家系,为 Best 病的基因诊断和遗传咨询提供依据。

方法:对家系成员进行系统的眼科检查,同时采用聚合酶链反应(PCR)和 DNA 直接测序法对 VMD2 基因的编码区进行基因组测序和突变筛查,并在 100 例正常对照者中对 VMD2 基因突变的检测结果进行验证。

结果:先证者双眼底均可见黄斑部卵黄样改变,但眼底荧光造影检查未见脉络膜新生血管。VMD2 基因变异分析结果,在外显子 8 中检出第 886 位碱基的 A > G 错义突变(Asn296Asp)。

结论:本家系中检出的 VMD2 基因的 Asn296Asp 变异是包括欧美各国在内没有报道过的新变异。VMD2 基因突变筛查可用于 Best 病的诊断和遗传咨询。对待黄斑部有异常的病例,应充分考虑 Best 病的可能性,慎重地进行诊疗工作。

关键词: Best 病;卵黄样黄斑营养不良;VMD2;基因诊断
DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2011.12.028

王春霞,于紫燕,孙琦,等.卵黄样黄斑营养不良家系的 VMD2 基因诊断.国际眼科杂志 2011;11(12):2148-2150

0 引言

卵黄样黄斑营养不良(Best vitelliform macular dystrophy, BVMD)又称 Best 病,1905 年由 Best^[1]首次报道,多在学龄期发病,且进展缓慢,中年以后也能保持相对良好的视力^[2,3]。双眼黄斑部病灶在长期随诊观察中逐步缓慢变化,眼底改变从几乎无异样的卵黄病变前期、经卵黄病变期、假性蓄脓期,最终进入萎缩、瘢痕期^[4]。Best 病是一种遗传性黄斑变性,表现为不规则的常染色体显性遗传,致病基因是 VMD2(vitelliform macular dystrophy 2)基因^[5-7]。VMD2 基因位于常染色体 11q13,由 11 个外显子组成。针对 Best 病基因变异方面的研究一直以来都以欧美国家的病例为主,亚洲人中比较少见。我们通过 VMD2 基因的分子遗传学检查得以明确诊断了一个 Best 病家系,现报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象 该家系的先证者为 50 岁女性,6a 前起自觉双眼易疲劳,于当地诊为双眼黄斑变性,定期随诊复查,今以双眼视物变形 1a 为主诉来诊。38 岁时曾因子宫癌行子宫卵巢切除术。该患者为兄弟 5 人中的末子,母亲和 2 个哥哥以前曾被诊断为黄斑变性。26 岁的长女眼底检查中发现黄斑部稍有异常,妊娠中,眼科随诊(图 1)。

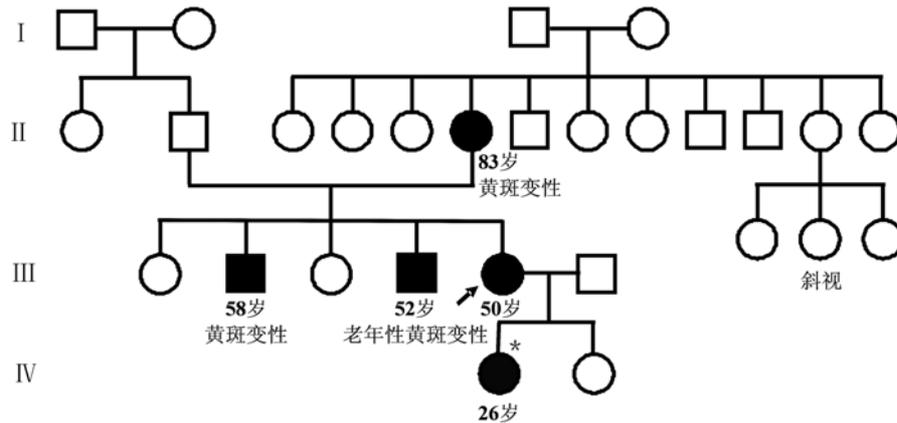


图1 家系图 ➤:先证者;■,●:患者;□,○:正常者;*:先证者的长女。

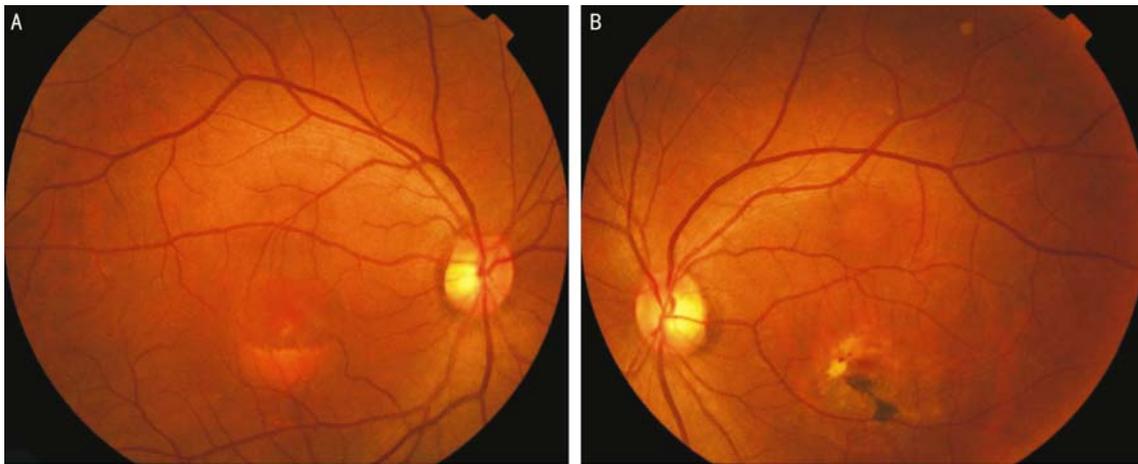


图2 初诊时的眼底照片双眼黄斑部异常 A:右眼假性蓄脓期;B:左眼瘢痕期。

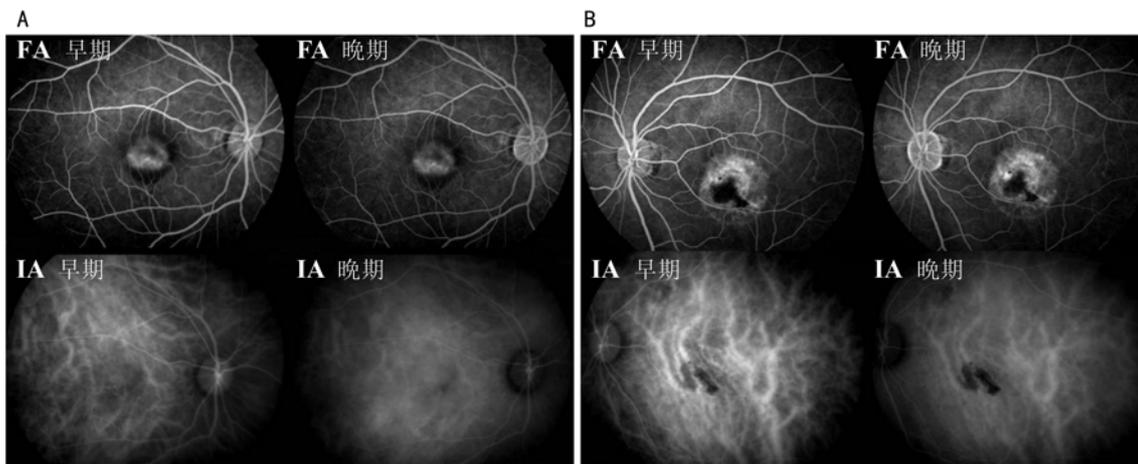


图3 FA及IA检查结果 A:右眼;B:左眼。

1.2 方法

1.2.1 眼科检查 对家系成员进行系统的眼科检查,包括视力、眼压、裂隙灯检查、眼底照相、眼底荧光血管造影和眼科电生理检查。

1.2.2 变异分析 在获得知情同意的前提下,抽取家系成员外周静脉血 2mL,使用 QIAamp DNA Blood Kit 提取基因组 DNA,参照文献报道合成引物^[5],采用聚合酶链反应(PCR)扩增 VMD2 基因的蛋白质编码区域(外显子 2-11),通过 DNA 直接测序法对精制后的 PCR 产物进行基因组测序和突变分析,并在 100 例正常对照者中对 VMD2 基因突变的检测结果进行验证。

2 结果

2.1 眼科检查所见 先证者右眼视力 0.5(1.2×S+1.25D),左眼视力 0.4(0.8×S+1.25D=C-0.50D A×130°)。双眼压分别为右眼 18mmHg,左眼 14mmHg。双眼前节未见异常,双眼底可见黄斑部病变(右眼假性蓄脓期、左眼瘢痕期,图 2)。荧光素钠血管造影检查(FA)结果,双眼黄斑部可见荧光透见(window defect),右眼假性蓄脓期及左眼色素沉着部可见荧光遮蔽(block)。与吲哚青绿血管造影检查(IA)结果相结合观察,均未发现脉络膜新生血管(图 3)。EOG 检查出现 Arden 比值的降低。

2.2 VMD2 基因变异分析 测序结果显示,在外显子 8 中

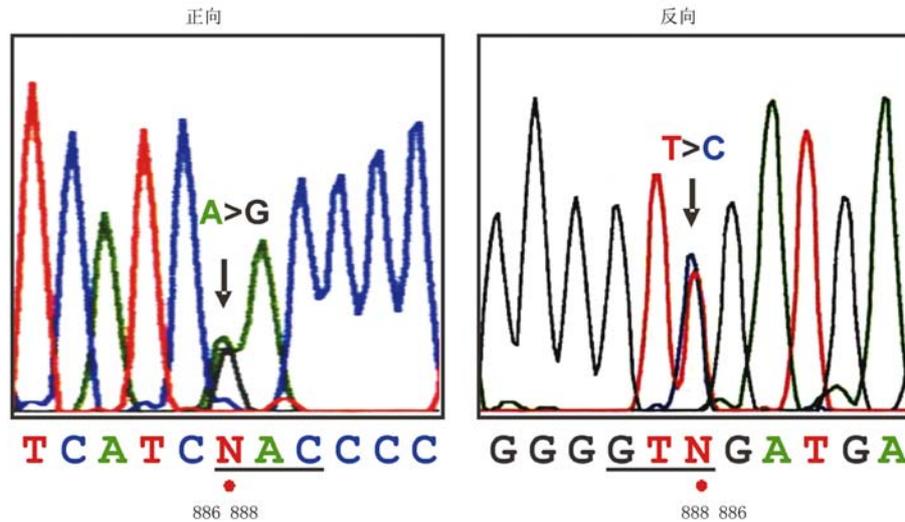


图4 VMD2 基因外显子8的测序结果 如箭头所示,检测出第886位碱基的A-G 错义突变。

检测出 错义突变 c. 886A > G (Asn296Asp) (图4), 而该种点突变在 100 例正常对照中未能检出。因 Best 病呈现显性遗传, 故患者只要保有 VMD2 基因 1 处外显子区域的杂合型突变, 即可发病。另外, 在编码区内还发现了 3 个同源多型 c. 109T > C (Leu37Leu), c. 219C > A (Ile73Ile) 和 c. 1608T > C (Thr536Thr)。

3 讨论

VMD2 基因是唯一与 Best 病相关的基因。由 VMD2 基因编码的 Bestrophin 蛋白是由 585 个氨基酸构成的含有 4 个跨膜区域的氯离子跨膜通道蛋白, 在视网膜色素上皮 (RPE) 细胞膜上特异性表达^[8]。至今为止已有很多关于 VMD2 变异的报道, 这些变异绝大多数为错义突变, 且多集中在蛋白质前半部分特定的 4 个区域内 (位于外显子 2, 4, 6, 8)^[6,9], 因这些部位在物种间具有高度保守性, 由此推测这 4 个区域中含有重要的功能部分。本家系中发现的 VMD2 基因的 Asn296Asp 变异 (c. 886A > G) 是包括欧美在内从未报道过的新变异, 为错义突变, 且位于蛋白质功能部位之一的外显子 8 内, 这两点均符合以往报道的病变特点。

根据 Krämer 等^[10] 的报道, 在有家族史的 Best 病患者中 VMD2 变异的检出率为 96%, 而在没有家族史的患者中为 69%。在症状不典型患者的明确诊断、高危家族的发病前筛查及遗传咨询方面, VMD2 基因检测有着重要作用。但目前关于 VMD2 基因的突变研究在中国人乃至亚洲人中开展的很少^[9,11]。

已知 Best 病的发病年龄多为学童期, 但本家系的先证者在 40 岁之后才被诊断为双眼黄斑变性。但是, 与成年型卵黄样黄斑营养不良在临床表现上又存在明显的不同。成年型卵黄样黄斑不良多以双眼黄斑部的约 1/4 ~ 1/3 视盘直径大的卵黄样病变为特征, 比 Best 病 (视盘直径 0.5 ~ 4mm) 的小; 另外, 有报道其多见单眼发病, 且没有家族史^[2]。本病例在中年时期发病的理由推测可能是, 年轻时病变处于卵黄期, 视力未受影响而未就诊。因 26 岁的长女也仅被检查出黄斑部存在轻度改变, 推测此种变异的临床表现型可能比较轻。在本病的家系中包含了诊断为老年黄斑变性并接受治疗的病例, 这些患者考虑也有 Best 病的可能。对这些患者也应进行相同的基因检测, 有助于确诊。另一方面, 即使无法进行基因诊断, 若能细致收集家族史, 在发现家族内有黄斑变性患者存在时能及时与 Best 病相鉴别, 在临床上也有重要意义。

现阶段, Best 病还没有根本性的治疗方法, 除了需要

定期进行眼科检查, 随诊观察眼底的变化外, 根据不同的症状, 使用遮光眼镜、弱视眼镜及读书用放大镜等辅助用具也有一定的作用。通常, 对于出现脉络膜新生血管和出血的患者, 可以行视网膜激光光凝术治疗, 但 Marano 等^[12] 通过 2 例视力改善的经验, 提示了保守治疗对于脉络膜新生血管的有效性。在日常诊疗中, 遇到黄斑部有异常的病例, 特别是家族中同时存在黄斑部异常者时, 一定要充分考虑 Best 病的可能性, 慎重地进行临床工作。

参考文献

- 1 Best F. Über eine hereditäre Maculaaffection; Beiträge zur Vererbungslehre. *Z Augenheilkd* 1905; 13: 199-212
- 2 欧阳艳玲, 张勇进. 卵黄状黄斑营养不良. *国际眼科纵览* 2007; 31 (2): 110-113
- 3 Booi JC, Boon CJ, van Schooneveld MJ, et al. Course of visual decline in relation to the Best1 genotype in vitelliform macular dystrophy. *Ophthalmology* 2010; 117 (7): 1415-1422
- 4 侯兵, 陈伟奇, 陈伟民, 等. 卵黄样黄斑营养不良基因三个新的点突变与散发性 Best 病表现型关系的分析. *中华眼底病杂志* 2009; 25 (2): 146-148
- 5 Petrukhin K, Koisti MJ, Bakall B, et al. Identification of the gene responsible for Best macular dystrophy. *Nat Genet* 1998; 19: 241-247
- 6 White K, Marquardt A, Weber BH. VMD2 mutations in vitelliform macular dystrophy (Best disease) and other maculopathies. *Hum Mutat* 2000; 15: 301-308
- 7 Schatz P, Klar J, Andrasson S, et al. Variant phenotype of Best vitelliform macular dystrophy associated with compound heterozygous mutations in VMD2. *Ophthalmic Genet* 2006; 27 (2): 51-56
- 8 Marmorstein AD, Marmorstein LY, Rayborn M, et al. Bestrophin, the product of the Best vitelliform macular dystrophy gene (VMD2), localizes to the basolateral plasma membrane of the retinal pigment epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12758-12763
- 9 Li Y, Wang G, Dong B, et al. A novel mutation of the VMD2 gene in a Chinese family with best vitelliform macular dystrophy. *Ann Acad Med Singapore* 2006; 35 (6): 408-410
- 10 Krämer F, White K, Pauleikhoff D, et al. Mutations in the VMD2 gene are associated with juvenile-onset vitelliform macular dystrophy (Best disease) and adult vitelliform macular dystrophy but not age-related macular degeneration. *Eur J Hum Genet* 2000; 8: 286-292
- 11 Yanagi Y, Sekine H, Mori M. Identification of a novel VMD2 mutation in Japanese patients with Best disease. *Ophthalmic Genet* 2002; 23: 129-133
- 12 Marano F, Deutman AF, Leys A, et al. Hereditary retinal dystrophies and choroidal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2000; 38: 760-764