

中国一先天性无虹膜家系在 PAX6 基因的突变位点

林玉华,代海燕,邱璐璐,朴天华,徐颖

作者单位:(150001)中国黑龙江省牡丹江市,牡丹江医学院红旗医院一门诊眼二科

作者简介:林玉华,女,硕士研究生,主治医师,研究方向:斜弱视、角膜病。

通讯作者:代海燕,女,主治医师,研究方向:眼整形、角膜病。
wang.jinsheng@yahoo.cn

收稿日期:2012-07-30 修回日期:2013-02-20

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.03.73

引用:林玉华,代海燕,邱璐璐,等.中国一先天性无虹膜家系在 PAX6 基因的突变位点.国际眼科杂志 2013;13(3):639-640

0 引言

先天性无虹膜是一种临床罕见的眼发育性疾病,以全部或部分虹膜缺失为特征,并伴有其它眼部异常,包括眼球震颤、白内障、青光眼、中心凹发育不良等,发病形式为常染色体显性遗传。另外 1/3 的病例是没有家族遗传史的散发病例^[1,2]。

1 临床资料

选自牡丹江医学院红旗医院就诊的一个具有显性遗传性特点的先天性无虹膜家系,两代共 6 人,其中患者 3 例。在征得此家系所有成员的同意后,对所有患者进行全面的体格检查,排除其他疾病,行视力检查并详细记录,复方托吡卡胺滴眼液散瞳后进行裂隙灯和眼底镜检查,对患者的混浊晶状体进行数码图像采集。方法:(1) DNA 的提取:抽取该家系成员外周血 8~10mL,在牡丹江医学院红旗医院以高盐沉淀法提取血液中的 DNA。紫外分光光度计和琼脂糖凝胶电泳检测样本 DNA 的浓度和纯度,并于 -20℃ 保存备用。(2) PAX6 基因的突变筛查:根据 PAX6 基因的序列设计 7 对引物(表 1),应用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)分别扩增 PAX6 基因的目标片段。PCR 反应的总体系为:Taq Premix 25μL,引物(每个 10nmol/L) 2μL/个;模板 DNA (50ng) 2μL;去离子水补足至 50μL。PCR 反应过程为:95℃ 预变性 10min;然后 30 个循环,每个循环为 94℃ 变性 30s~1min,50℃~60℃ 退火 30s~1min,72℃ 延伸 40s~1min;循环后 72℃ 延伸 5~10min。把 PCR 扩增产物在 15g/L 琼脂糖凝胶上,恒压 100V 电泳 40min。在紫外透射仪下观察到目的基因片段扩增成功,如扩增出目的基因片段的量很好,无杂带和引物二聚体出现,则继续下面的实验步骤,且避光在冰上操作。产物纯化后,测序在华大基因实验室进行,测序仪的型号为 CEQ8800。结果:(1) 家系特点:系谱调查发现,该家系患者在两代中均连续出现,而且患者双亲有 1 例发病,其子女中有 1/2 患病,男女患病的几率相等,这符合常染色体显性遗传的特点。家系中患者共 3 例,其中男 1 例,女 2 例(图 1),对家系成员进行全面的眼科检查,均

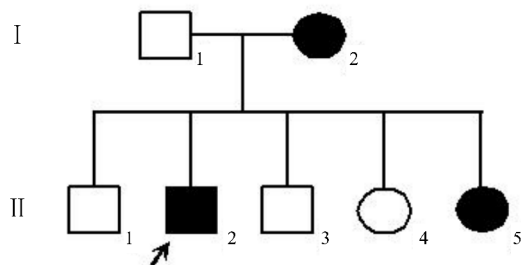


图 1 先天性无虹膜家系 方形代表男性,圆形代表女性,黑色代表发病的患者,箭头指示为先证者。

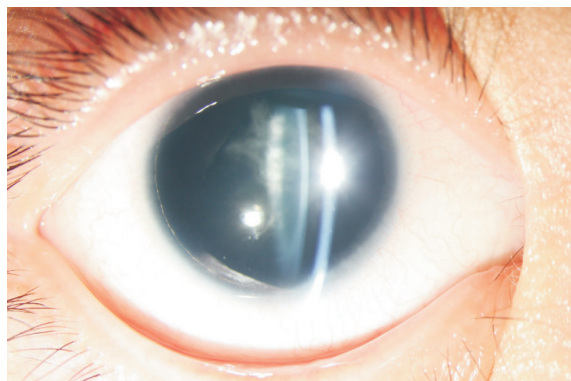


图 2 先天无虹膜家系先证者裂隙灯下照片。

是双眼发病,呈现虹膜全部缺损(图 2),患者都有不同程度的白内障,但是晶状体混浊的程度不一,形态也各异;每个患者不同眼别之间的混浊程度也有不同。(2) 试验结果:将该家系中所有患者的基因测序结果与网上基因组数据库对比,发现 PAX6 基因的外显子以及临近的内含子的剪接位点序列都同 Genbank 提供的序列相同,从而表明该先天性无虹膜家系并非是由这 PAX6 基因的外显子突变引起。

2 讨论

PAX6 基因在人类位于 11p13,为一个编码 422 个氨基酸的转录因子,包括 14 个外显子,其 cDNA 序列包含了一个庞大的 5' 端非编码区(5'UT)和大约 750bp 的 3' 端非编码区(3'UT),该基因的起始密码位于第 4 外显子,终止密码位于第 13 外显子^[3-5]。

据研究,眼球的发育很大程度上受 PAX6 基因的调节,PAX6 基因是眼球组织表达的重要控制基因,在发育中的眼球各种组织中,包括视盘、视泡、视网膜、晶状体和角膜中都有 PAX6 基因的表达^[3,6,7],对组织的演化起重要作用。在体表外胚层,PAX6 的表达最初范围很宽,随后局限于晶状体和鼻基板^[6,8]。

PAX6 基因编码转录因子在眼球的发育过程中起重要作用,其突变通常会导致先天性无虹膜^[6,9]。目前 PAX6 基因数据库中已经收录超过 400 个突变,主要是无义突变(38%)、移码突变(25.23%)和剪切突变(15.3%)导致典型的无虹膜表型。错义突变导致的无虹膜较少,占 PAX6 基因突变的 10.6%,且临床表型轻。框内移码突变和连续突变最少,均为 5% 左右^[10]。

表1 PAX6 引物序列

外显子序号	正向 (5'-3')	反向 (5'-3')	产物大小 (bp)	退火温度(°C)
4	TGCAGCTGCCCCGAGGATTA	GCACCCCGAGCCCGAAGTC	144	65
5	TCCCTCTTCTTCCCTTCTTCACT	GGGGTCCATAATTAGCATC	301	59
5a,6	GCTCTCTACAGTAAGTTCTC	AGGAGAGAGCATTGGGCTTA	457	59
7	AATCCACCCACTGTCCCG	CCAGCCACCTTCATACCG	542	60
8	TCAGGTAACATAACATCGCA	GTTGACTGTACTTGGAAGAA	719	53
9,10,11	GAGGTGGGAACCAGTTTGTATG	CAAGCCAATCTCTGTAGTGCG	890	52
12	GCTGTGTGATGTGTTCTCA	AAGAGAGATCGCCTCTGTG	245	58
13	CATGTCTGTTTCTCAAAGGG	CCATAGTCACTGACTGAATTAACAC	202	58

本研究选择 PAX6 基因的外显子作为候选基因进行突变筛查,未发现基因突变。该家系的突变也可能发生在其他基因,或者该基因的内含子,有待进一步查找。

参考文献

1 Hingorani M, Hanson I, van Heyningen V. Aniridia. *Eur J Hum Genet* 2012; 20(10):1011-1017
 2 Luo F, Zhou L, Ma X, et al. Mutation Analysis of PAX6 in a Chinese Family and a Patient with a Presumed Sporadic Case of Congenital Aniridia. *Ophthalmic Res* 2011;47(1):27-31
 3 Beby F, Dieterich K, Calvas P. A [c. 566-2A>G] heterozygous mutation in the PAX6 gene causes aniridia with mild visual impairment. *Eye (Lond)* 2011;25(5):657-658
 4 Kang Y, Yuan HP, Li X, et al. A novel mutation of the PAX6 gene in a Chinese family with aniridia. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2010;27(4):376-380
 5 Lee H, Khan R, O'Keefe M. Aniridia: current pathology and

management. *Acta Ophthalmol* 2008;86(7):708-715
 6 Aggarwal S, Jinda W, Limwongse C, et al. Run-on mutation in the PAX6 gene and chorioretinal degeneration in autosomal dominant aniridia. *Mol Vis* 2011;17:1305-1309
 7 Zhang X, Li S, Xiao X, et al. Mutational screening of 10 genes in Chinese patients with microphthalmia and/or coloboma. *Mol Vis* 2009; 15:2911-2918
 8 Chien YH, Huang HP, Hwu WL, et al. Eye anomalies and neurological manifestations in patients with PAX6 mutations. *Mol Vis* 2009;15:2139-2145
 9 Khan AO, Aldahmesh MA. PAX6 analysis of two unrelated families from the Arabian Peninsula with classic hereditary aniridia. *Ophthalmic Genet* 2008;29(3):145-148
 10 Villarreal CE, Villanueva-Mendoza C, Orozco L, et al. Molecular analysis of the PAX6 gene in Mexican patients with congenital aniridia: report of four novel mutations. *Mol Vis* 2008;14:1650-1658

· 短篇报道 ·

两种支撑物在泪小管断裂修复术中的效果探讨

米尔沙力¹, 古扎丽努尔¹, 莫阿里木·木台力甫²

作者单位:¹(844000)中国新疆维吾尔自治区喀什市,喀什地区第二人民医院眼科;²(844000)中国新疆维吾尔自治区喀什市玉敦眼科诊所

作者简介:米尔沙力,副主任医师,研究方向:眼表疾病、眼外伤、眼部整形。

通讯作者:米尔沙力. mirsalio@yahoo.com.cn

收稿日期:2012-11-16 修回日期:2013-02-04

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.03.74

引用:米尔沙力,古扎丽努尔,莫阿里木·木台力甫.两种支撑物在泪小管断裂修复术中的效果探讨.国际眼科杂志 2013;13(3):640-641

0 引言

泪小管断裂是常见的眼科急诊病之一,如处理不当患

者将出现泪溢症及眼睑畸形。泪小管断端吻合不仅需要良好地解剖复位,以减少术后眼睑畸形,而且要求泪道功能得到恢复。泪小管断裂吻合术的成功,除了需要术中找到泪小管鼻侧断端外,支撑物的种类及植入固定方式也是至关重要的^[1]。我院过去处理这类患者时采用硬膜外麻醉导管半环状支撑,即一端留在泪小管外,一端经鼻下鼻道,其上端在面部用胶布粘贴固定或眉弓区缝合结扎固定,但长期留置易引起泪点外翻、泪点及泪小管撕裂,影响眼睑外观和泪道的虹吸及导泪功能等。后来用广州博视医疗保健研究所特制的医用线形硅胶管取代后,治愈率明显提高,并发症明显减少,现报道如下。

1 临床资料

选取 1997-10/2012-09 我院收治的泪小管断裂伤患者 148 例 148 眼,其中男 135 例 135 眼,女 13 例 13 眼,年龄 20~50(平均 35)岁。受伤原因:拳击伤、摔伤、碰伤、车祸伤、玻璃划伤等。受伤到接受手术时间 2h~2d,平均 1.04d,多数在伤后 2h 内接受治疗。泪小管损伤情况:右下泪小管断裂 65 例 65 眼,左下泪小管断裂 83 例 83 眼。患者以庆大霉素 8 万 U 加入生理盐水后冲洗伤口,清理伤口内异物,常规消毒后,结膜表面麻醉,患者均为筛前神经、滑车下神经、眶下神经阻滞麻醉,以免周围组织肿胀影响手术操作。泪小管断端的寻找:术前在裂隙灯下按泪道的解剖路径寻找鼻侧断端,一般在泪阜下缘容易找到,呈