

论著·临床研究

眼脑肾综合征一家系调查及 OCRL 基因突变分析

史瑞明 卞旭华 李立敏 刘小红

(西安交通大学第一附属医院儿科, 陕西 西安 710061)

[摘要] 眼脑肾综合征是一种 X 连锁隐性遗传病。该研究对一个眼脑肾综合征家系进行病史调查, 并应用 DNA 直接测序技术对致病候选基因 OCRL 进行分析。在家系患者 OCRL 基因第 15 号外显子发现了 1736 号碱基 A/G 突变, 导致该基因氨基酸第 507 号由组氨酸(H)变为精氨酸(R), 即发生了 OCRL 基因 H507R 错义突变。患者母亲为 X 染色体突变基因杂合子携带者。该研究发现的 OCRL 基因 H507R 突变在国内属首次报道。

[中国当代儿科杂志, 2014, 16(4): 366-369]

[关键词] 眼脑肾综合征; 基因; 突变; 儿童

Investigation and OCRL mutation analysis of a family with oculocerebrorenal syndrome of Lowe

SHI Rui-Ming, BIAN Xu-Hua, LI Li-Min, LIU Xiao-Hong. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China (Email: liuxiaoh@mail.xjtu.edu.cn)

Abstract: Oculocerebrorenal syndrome of Lowe (OCRL) is an X-linked recessive disorder. This study investigated the history of a Chinese family with OCRL and used direct DNA sequencing to screen all exons of OCRL gene for mutations. A missense mutation (1736 A→G) in exon 15 was revealed, which resulted in the change of His (H) 507 to Arg (R). The patient's mother was the carrier of the heterozygous mutation in X-chromosome. To our knowledge, H507R mutation in OCRL gene has not been reported in Chinese people. [Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(4): 366-369]

Key words: Oculocerebrorenal syndrome of Lowe; Gene; Mutation; Child

眼脑肾综合征(oculocerebrorenal syndrome of Lowe)是一种罕见的 X 连锁隐性遗传病, 临床上以先天性白内障、肾脏损害、智力低下、肌张力减低等为特点^[1]。眼脑肾综合征也称 Lowe 综合征, 发病率约 1/50 万, 一般为男性发病, 患者多在婴幼儿或儿童时期即出现症状。多数病人预后差, 可死于感染、肾功能衰竭、电解质紊乱、脱水等^[2]。OCRL 基因是目前唯一确定的眼脑肾综合征致病基因, 位于 Xq25-q26 区域内, 编码磷脂酰肌醇 4,5-磷酸氢盐 5-磷酸酶^[3]。本研究对一个眼脑肾综合征家系进行调查, 并在临床诊断的基础上应用 DNA 直接测序法进行 OCRL 基因突变筛查, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 1 个 3 代共 7 人的眼脑肾综合征家系(图 1)资料。先证者, 男, 2 岁 1 个月。患儿系足月顺产, 第 1 胎第 1 产。生后 3 个月家长发现患儿双瞳孔区发白, 不追光。生后 6 个月确诊为双眼先天性白内障, 即行双眼白内障超声乳化摘除术。1 岁 8 个月时因肺炎住院, 尿常规检查发现尿蛋白(2+), 其后多次复查尿常规示蛋白(2+~3+)。体查: 体重 10.5 kg, 身高 80 cm。精神可, 不能独走。方颅, 前囟闭合, 前额隆起。眼窝深陷, 双眼内斜视, 眼球水平震颤, 可追光追物。马鞍鼻。

[收稿日期] 2013-08-31; [接受日期] 2014-03-05

[作者简介] 史瑞明, 女, 博士, 副主任医师。

[通信作者] 刘小红, 女, 主任医师。

肋缘外翻。心肺腹无异常。脊柱无畸形。四肢肌张力低下，膝腱反射减弱。右侧隐睾。实验室检查：贝利婴幼儿智力发育量表测评智力发育指数及精神运动发育指数均<50分。头颅CT扫描未见异常。双肾B超提示双肾实质光点增多。24h尿蛋白定量1.45g。尿蛋白(3+)，尿pH6.5，尿比重1.012，尿糖阴性，尿 β_2 微球蛋白增高(2500 $\mu\text{g/L}$)。血pH降低(7.30)，血钙降低(1.98mmol/L)，血磷降低(1.5mmol/L)，血氯正常(108.7mmol/L)，血钠降低(132.1mmol/L)，血钾降低(3.2mmol/L)，二氧化碳结合力降低(12.1mmol/L)，骨碱性磷酸酶升高(270U/L)，碱性磷酸酶升高(612.7U/L)，乳酸脱氢酶升高(448.1U/L)。血常规检查示Hb93g/L，MCV69.9fL，MCH19.7pg，MCHC284g/L。

细胞免疫CD3⁺63.07(参考值61.1~77.0)，CD3⁺CD4⁺16.91(参考值25.8~41.6)，CD3⁺CD8⁺32.97(参考值18.1~29.6)，CD4⁺/CD8⁺0.51(参考值0.8~2.1)。肾功能正常。

患儿母亲体健，无明显眼部症状，行眼裂隙灯显微镜检查可见晶状体点线状浑浊(图2)。尿常规、血气分析、血电解质检查均无异常。其余家庭成员体健，尿常规检查均正常。

1.2 OCRL 基因筛查

1.2.1 基因组DNA的提取 抽取家系成员每人外周血6mL(EDTA抗凝)，采用Gentra公司提供的全血基因组纯化试剂盒提取DNA，1 $\times$ TB溶

解，-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2.2 引物设计 根据参考文献^[4]合成OCRL基因引物共21对。扩增产物包括全部外显子序列和部分内含子序列。

1.2.3 目的基因的扩增 以提取的基因组DNA为模板，在9700PCR仪上扩增目的基因。反应条件如下：50 μL 反应体系中含DNA模板1.5 μL (浓度90ng/ μL)，上下游引物各1.5 μL (浓度10mmol/L)，dNTP4 μL (浓度各2.5mmol/L)，TaqDNA聚合酶0.5 μL (浓度5U/ μL)，镁离子2.0mmol/L。95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5min后，94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30s，60~66 $^{\circ}\text{C}$ 退火30s，72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸55s，循环30~35次，最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10min。PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.4 基因突变检测 PCR产物用Promega公司提供的WizardTMPCR产物纯化试剂盒纯化。以PCR反应的引物为测序引物，用PE公司提供的Bigdye末端标记测序反应试剂盒，用4色荧光标记4种脱氧核苷酸，按Sanger双脱氧终止法进行测序反应。PCR反应条件：96 $^{\circ}\text{C}$ 变性10s，56 $^{\circ}\text{C}$ 退火5s，60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸5min，共30个循环。反应产物用70%乙醇沉淀，95 $^{\circ}\text{C}$ 变性5min后，在美国PE公司的ABI377测序仪上进行测序，上机电泳。采用PolyPhred软件对测序结果进行分析，根据测序结果识别突变位点。

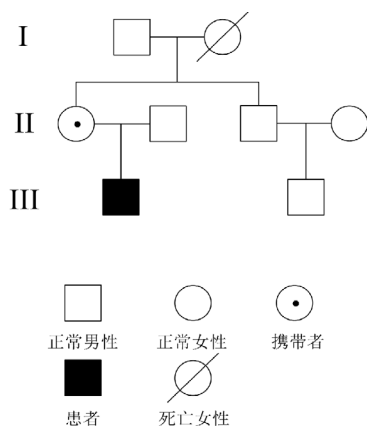


图1 家系图谱

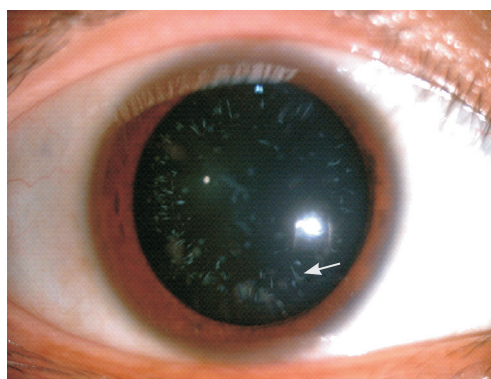


图2 患者母亲眼裂隙灯显微镜检查 晶状体可见点线状浑浊(箭头所示)。

2 结果

该家系先证者为男性，表现为以先天性白内障、肾小管性酸中毒、大量蛋白尿、精神运动发育迟滞为主要特点的多样临床表现。家系其他成员未见类似临床表现。患儿母亲眼裂隙灯显微镜检查见晶状体点线状浑浊，无其他明显异常。家

系表现符合眼脑肾综合征的临床特点。

基因检测在患者 OCRL 基因 15 号外显子发现第 1736 号碱基发生了 A/G 突变，导致编码蛋白第 507 号氨基酸由组氨酸（H）变为精氨酸（R），即发生了 OCRL 基因 H507R 错义突变，家系中患者母亲为突变基因杂合携带者（图 3）。家系其他成员未检出该基因异常。

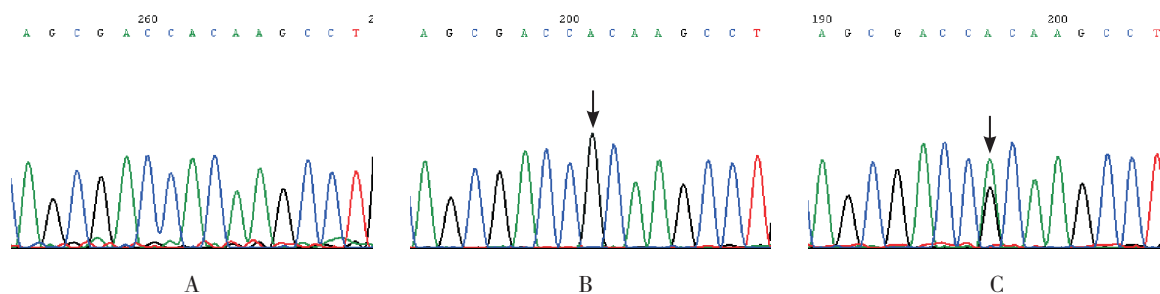


图3 OCRL 基因 15 号外显子测序图 A: 正常人 15 号外显子测序; B: 患者, 第 1736 号碱基发生了 A/G 突变 (箭头所示); C: 患儿母亲, 第 1736 号碱基为 A、G 双峰 (箭头所示)。

3 讨论

眼脑肾综合征首先由 Low 等人于 1952 年报道，临床表现主要有眼部症状、神经系统症状和肾小管功能障碍等。眼部症状包括双眼先天性白内障、可伴有先天性青光眼、视力障碍，常有畏光、粗大的眼球震颤、小眼球和眼球内陷等。神经系统症状主要是智力发育迟缓，还有肌张力低下，腱反射减弱或消失、癫痫等。肾小管功能障碍主要是肾小管性酸中毒，尿检可见蛋白尿、尿红细胞、白细胞，还存在电解质、酸碱平衡紊乱。其他表现主要有隐睾、脐疝、马鞍鼻等畸形^[5]。

本家系患者有较为典型的眼脑肾综合征临床表现，包括双眼先天性白内障、双眼斜视、眼球震颤、明显的精神运动发育迟滞、四肢肌张力低下、腱反射减弱、肾小管性酸中毒、大量蛋白尿及隐睾、佝偻病。家系调查显示家系其他成员无类似临床表现。因该病是 X 连锁隐性遗传病，故推测患者母亲为突变基因携带者。有报道对该病携带者行眼裂隙灯显微镜检查，可发现晶状体浑浊以协助早期诊断^[4]。本家系患儿母亲行眼裂隙灯显微镜检查，可见晶状体点线状浑浊。故本研究家系临床表现较为典型，患者可临床诊断为眼脑肾综合征。

OCRL 基因是唯一已知的眼脑肾综合征致病基

因，其编码的蛋白呈两种异构体，分别长 901 和 893 个氨基酸。OCRL 通过水解磷脂酰肌醇 4,5-磷酸氢盐，参与调解肌动蛋白聚合过程，进而影响细胞迁移、细胞间接触，在眼晶状体、脑组织、肾小管等发育中起重要作用^[6]。目前报道的致眼脑肾综合征 OCRL 基因突变达 200 余种，主要有无义突变、移码突变、缺失突变、错义突变^[7]。突变主要影响编码蛋白的折叠、表达数量、与受体结合等，从而影响其正常功能。已经报道的错义突变占有已知突变的 30%，而其中的 70% 位于 15 号外显子，该外显子编码区域是氨基酸高度保守区域^[8]。

为进一步明确家系致病基因突变点，本研究进行了 OCRL 基因筛查，发现的错义突变位于基因的 15 号外显子，系第 1736 号碱基发生了 A/G 突变，导致编码蛋白第 507 号氨基酸由组氨酸（H）变为精氨酸（R），即发生了 OCRL 基因 H507R 错义突变，家系中先证者的母亲为突变基因杂合携带者。OCRL 基因位于 X 染色体 q25-q26 区域内，男性先证者表现症状，其母亲携带突变基因但不表现症状，符合 X 连锁隐性遗传的特点。国外已有眼脑肾综合征家系第 1736 号碱基发生 H507R、H507L（亮氨酸）、H507Q（谷氨酰胺）突变的报道^[9]，国内尚未见相同位点发现突变的报道。

眼脑肾综合征的女性患者十分罕见，其遗传基础是 X 常染色体异位且断裂点累及 OCRL 基因，或是 OCRL 基因突变发生于活性 X 染色体^[10]。眼脑肾综合征也可由新生的基因突变引起，无家族史的先证者可能是家族唯一的受累者。

眼脑肾综合征比较罕见，临床医生应加强对本病的认识，根据患者临床表现作出早期初步诊断，以免漏诊误诊，有条件时应进一步进行基因检测。因为眼脑肾综合征尚无有效治疗方法，对于有患者的家族，母亲再次妊娠应进行产前基因检测以提供优生优育指导。

[参 考 文 献]

- [1] Addis M, Meloni C, Congiu R, et al. A novel interstitial deletion in Xq25, identified by array-CGH in a patient with Lowe syndrome [J]. *Eur J Med Genet*, 2007, 50(1): 79-84.
- [2] Ruellas AC, Pithon MM, Oliveira DD, et al. Lowe syndrome: literature review and case report [J]. *J Orthod*, 2008, 35(3): 156-160.
- [3] Hou X, Hagemann N, Schoebel S, et al. A structural basis for Lowe syndrome caused by mutations in the Rab-binding domain

- of OCRL1 [J]. *EMBO J*, 2011, 30(8): 1659-1670.
- [4] Roschinger W, Muntau AC, Rudolph G, et al. Carrier assessment in families with lowe oculocerebrorenal syndrome: novel mutations in the OCRL1 gene and correlation of direct DNA diagnosis with ocular examination [J]. *Mol Genet Metab*, 2000, 69(3): 213-222.
- [5] Tasic V, Lozanovski VJ, Korneti P, et al. Clinical and laboratory features of Macedonian children with OCRL mutations [J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(4): 557-562.
- [6] Pirruccello M, De Camilli P. Inositol 5-phosphatases: insights from the Lowe syndrome protein OCRL [J]. *Trends Biochem Sci*, 2012, 37(4):134-143.
- [7] Luo N, West CC, Murga-Zamalloa CA, et al. OCRL localizes to the primary cilium: a new role for cilia in Lowe syndrome[J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(15): 3333-3344.
- [8] Maia ML, do Val ML, Genzani CP, et al. Lowe syndrome: report of five cases [J]. *J Bras Nefrol*, 2010, 32(2): 216-222.
- [9] Satre V, Monnier N, Berthoin F, et al. Characterization of a germline mosaicism in families with Lowe syndrome, and identification of seven novel mutations in the OCRL1 gene [J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 65(1): 68-76.
- [10] Gau M, Addis M, Congiu R, et al. A locus for familial skewed X chromosome inactivation maps to chromosome Xq25 in a family with a female manifesting Lowe syndrome [J]. *J Hum Genet*, 2006, 51(11): 1030-1036.

(本文编辑: 邓芳明)

· 消息 ·

新生儿颅脑超声诊断学习班通知

为提高对围产期脑损伤及其他中枢神经系统疾病的诊断水平，充分利用已有的医疗资源，推广颅脑超声检查诊断技术，北京大学第一医院儿科按计划于 2014 年 8 月 26 日至 8 月 30 日举办为期 5 天的新生儿颅脑超声诊断学习班。本班属国家级教育项目，授课教师为本科及北京市著名专家教授。学习结束授予 10 学分。主要授课内容包括：中枢神经系统解剖；新生儿不同颅脑疾病超声诊断；胎儿中枢神经系统的超声诊断。招收学员对象：儿科新生儿专业医师，超声专业医师及技师。学费：1300 元。报名截止日期 2014 年 8 月 8 日（上课前 2 周）。欲参加者请联系：北京大学第一医院儿科（邮编 100034）王红梅，刘黎黎。电话：010-83573461 或 83573213。E-mail: bdy2002@163.com。我们将在开班前 2 个月寄去正式通知及提供网上报名方法。

北京大学第一医院儿科
2014 年 3 月 6 日