

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.11.017

论著·临床研究

1 个有汗性外胚层发育不良家系的基因研究

乔文兴^{1,2} 刘俐¹

(1. 西安交通大学第一附属医院新生儿科, 陕西 西安 710061; 2. 榆林市第一医院儿科, 陕西 榆林 719000)

[摘要] **目的** 探讨有汗性外胚层发育不良(HED)的临床特点和分子机制。**方法** 对1例HED先证者进行其家系5代91人的临床及基因特点研究。抽取家系中7名患者及3名正常对照进行GJB6基因检测。**结果** 家系5代91人中, HED患者17例, 表现为不同程度的指(趾)甲发育不良、毛发或体毛稀少甚至缺如; 家系中男性患者毛发稀少程度重于女性; 随着代数增加, 指(趾)甲损害渐减轻。系谱中每一代均有发病者, 患者的父母中必有一人发病; 男女都可患病; 遗传方式为常染色体显性遗传。家系中所有患者的GJB6基因均存在一个杂合错义突变31G→A, 家系中无HED临床表现的未检测到此突变。**结论** HED为常染色体显性遗传性疾病, 以指(趾)甲发育不良、掌跖角化过度、毛发或体毛稀少甚至缺如为临床特点; 男性毛发稀少重于女性; 且随着代数的增加, 指(趾)甲损害逐渐减轻。GJB6基因错义突变(31G→A)是HED的分子机制之一。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(11): 1141-1144]

[关键词] 有汗性外胚层发育不良; GJB6基因; DNA测序; 基因诊断; 家系

A gene study of a family with hidrotic ectodermal dysplasia

QIAO Wen-Xing, LIU Li. Department of Neonatology, First Affiliated Hospital, Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China (Liu L, Email: liuli918@163.com)

Abstract: Objective To investigate the clinical features and molecular mechanism of hidrotic ectodermal dysplasia (HED). **Methods** A clinical and gene study was performed for five generations (91 people) in the family of one proband with HED. GJB6 gene detection was performed for 7 patients and 3 normal people in this family. **Results** Among the 91 people in this family, there were 17 HED patients, who were manifested as having dysplasia of the fingernails and toenails and sparse or absent hair or body hair. The male patients had a greater degree of sparse hair compared with female patients. In the younger generations, damage to the fingernails and toenails was gradually alleviated. There were patients in each generation, the patient's mother or father definitely had this disease. Both males and females developed this disease, and the inheritance pattern was autosomal dominant inheritance. A heterozygous missense mutation, 31G→A, in GJB6 gene was detected in all patients in this family, but this mutation was not detected in family members without the clinical manifestations of HED. **Conclusions** HED is a hereditary disease with autosomal dominant inheritance and has the clinical features of dysplasia of the fingernails and toenails, hyperkeratosis of palms and soles, and sparse or absent hair or body hair. Male patients have a greater degree of sparse hair. In the younger generations, damage to the fingernails and toenails is gradually alleviated. The missense mutation 31G→A in the GJB6 gene may be one of the molecular mechanisms for HED.

[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(11): 1141-1144]

Key words: Hidrotic ectodermal dysplasia; GJB6 gene; DNA sequencing; Genetic diagnosis; Family

先天性外胚层发育不良(congenital ectodermal dysplasia syndrome)是外胚层发育不良导致的皮肤及皮肤附件(汗腺、皮脂腺、毛发)发育异常的一类遗传性疾病^[1], 分为无汗性外胚层发育不良

(anhidrotic ectodermal dysplasia, AED)和有汗性外胚层发育不良(hidrotic ectodermal dysplasia, HED)^[2-3]。HED的发病率约为十万分之一^[4], 为常染色体显性遗传病, 具有高度外显率。HED不但给患者带

[收稿日期] 2016-07-26; **[接受日期]** 2016-09-14

[作者简介] 乔文兴, 男, 本科, 副主任医师。

[通信作者] 刘俐, 女, 教授, 主任医师。

来躯体痛苦,而且患者有一定的自卑心理,影响其生活质量^[5-6],本病没有有效的治疗措施,产前诊断是阻断突变基因传递的有效途径。因此,HED家系的研究对于完善该疾病临床症状及基因库和指导产前诊断具有非常重要的意义。本文就一例HED先证者进行其家系5代91人的临床及基因特点研究,报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

先证者:女,14岁,自出生发现指(趾)甲增厚,而且随年龄增长而加重、颜色变黄,并逐渐出现脱发,眉毛稀疏,腋毛、阴毛稀少,出汗正常。查体:头发稀少,眉毛、睫毛、阴毛、腋毛等体毛缺如;指(趾)甲发育不良、增厚、污褐色,甲下充满污秽物;余查体无异常。

家系调查:该家系5代共91人,其中17人经临床诊断为有汗性外胚层发育不良,其中男性7例、女性10例。所有患者均在新生儿期出现指(趾)甲增厚,并逐渐加重;成长过程中逐渐出现脱发,伴眉毛、腋毛脱落。查体均可见指(趾)甲呈污褐色,甲下满布角质物;毛发稀少(部分为全秃),细软,质脆;眉毛纤细或缺如,腋毛、阴毛稀疏。家系中的患者还表现出一些特殊的临床表现:男性患者毛发稀少重于女性,见图1;随着代数的增加,指甲异常逐渐减轻,见图2。



图1 家系中患者毛发稀少 男性(A)毛发稀少的程度重于女性(B)。

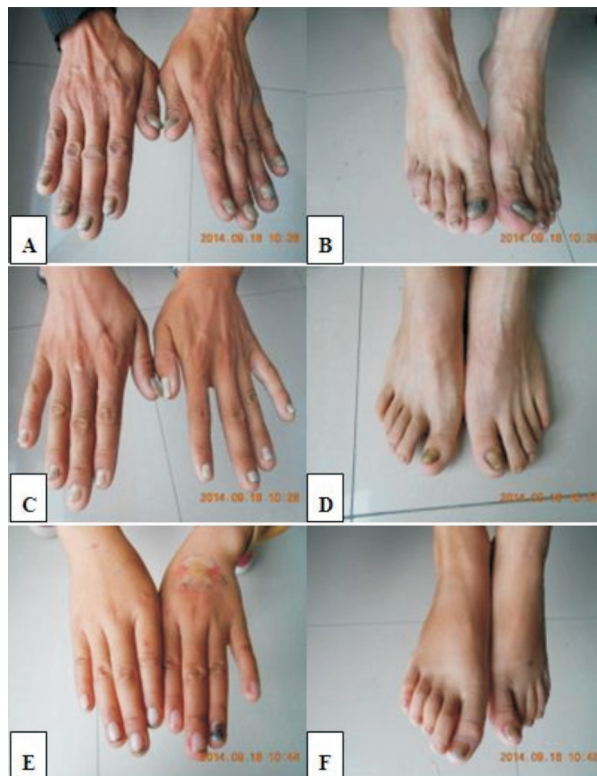


图2 家系中不同代患者的指、趾甲表现 A、B为第3代中同一患者的指、趾甲表现,C、D为第4代患者的指、趾甲表现,E、F为第5代患者的指、趾甲表现。指、趾甲增厚的程度随代数增加而减轻。

1.2 基因组DNA提取

经患者及家属知情同意,抽取家系中7名患者(男性3人、女性4人)及3名无临床表现亲属(男性2人、女性1人)的静脉血2 mL置于EDTA抗凝管。采用TIANGEN公司的血液基因组DNA抽提试剂盒提取基因组DNA。

1.3 PCR扩增及测序

根据文献合成GJB6基因引物:(1)5'-GAGCAGGAAGGGTCAGGGTGAGT-3'(上游),5'-GATGCATGAAGAGGGCGTACAAGTT-3'(下游);(2)5'-GGGAATGAAGAAAACTACCCACAA-3'(上游),5'-AGTCGGGGAGTCTGCATAGATAAAAA-3'(下游);(3)5'-TGGCTTCAGTCTGTAATATCACCGT-3'

(上游), 5'-CAAAAGCACCGAACCCACTCA-3' (下游)。采用PCR扩增GJB6基因的整个编码区序列。PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳检测。电泳鉴定后产物送Invitrogen测序,所有的测序结果进行组装、分析,并用SeqMan II程序与野生型序列进行比对,确定突变位点和突变方式,确定编码氨基酸序列的改变。

2 结果

2.1 家系谱分析

家系系谱发现：（1）患者的父母中必有 1 人发病，系谱中每代均有发病；（2）男女均可患病；（3）遗传方式为常染色体显性遗传。见图 3。

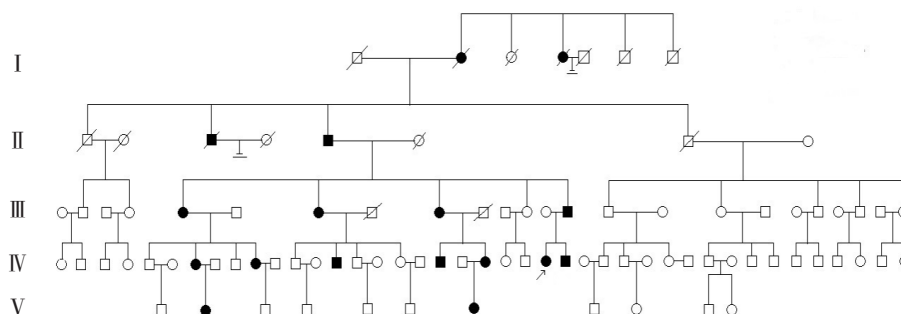


图3 有汗性外胚层发育不良家系谱 图注: □正常男性, ○正常女性, ■男性患者, ●女性患者, ▨已故正常男性, ▩已故正常女性, ■已故男性患者, ●已故女性患者, = 无儿女, ●先证者。

2.2 测序结果

所有患者 GJB6 基因外显子 Exon1、Exon2 无突变, 在 Exon3 上第 31 位碱基发生杂合突变, 鸟嘌呤 (G) 被腺嘌呤 (A) 取代 (图 4); 由此, 第 11 位氨基酸密码子由 GGG 突变成 AGG, 导致正常的甘氨酸 (G) 被精氨酸 (R) 替代, 即 G11R 突变。而家系中未发病者没有该突变, 也没有发现其它突变 (图 5)。

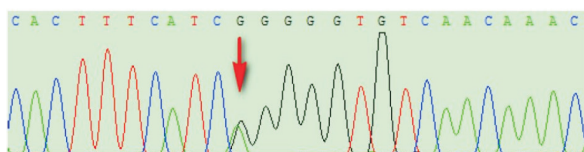


图4 突变 GJB6 序列 7 位患者在 Exon3 同一区域均存在杂合错义突变, 即 31 位鸟嘌呤核苷酸 (G) 突变为腺嘌呤脱氧核苷酸 (A) (箭头所示)。

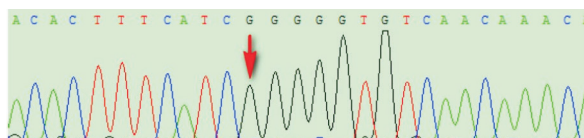


图5 家系中未发病者GJB6序列 家系中未发病者在GJB6 Exon3第31位碱基序列为鸟嘌呤核苷酸(G)(箭头所示)。

3 讨论

HED 是一种常染色体显性遗传性皮肤病，具有高度外显率，临床上非常少见。临床特点为甲发育不良、掌跖角化过度、毛发稀疏或完全缺如，称为三联症，部分患者可有白内障、斜视、骨骼改变、听力减退、智力障碍及指（跖）畸形，临床表现具有多样性^[1]。本研究中患者仅表现为毛发发育不良和指（趾）甲发育不良。在该家系中不同患者表现度不同，毛发发育异常存在性别差异，男性头发稀少、缺如的程度重于女性；不同代患者的指（趾）甲发育异常程度不同，随着代数增加，患者的指（趾）甲异常渐减轻。由于该病的发病率很低，在该家系中发现的这两个特点尚未见报道。探寻上述现象背后的原因，对控制该病的发生以及症状控制，具有重要意义，值得进一步深入研究。

随着分子生物学技术及人类基因组计划的进展, 基因诊断已经成为诊断遗传性皮肤病的重要手段。GJB6 基因是 HED 的致病基因^[7-8]。GJB6 表达于外胚层来源的组织中, 特别是人类的耳蜗和皮肤^[9-10]。GJB6 基因组定位于 13q11-12.1, DNA 全长 9544 bp, 被两个内含子分成两个非编码的上

游外显子和一个较大的含有完整编码序列的第三外显子。5'非翻译区(untranslated region, UTR)在第一外显子上游,开放阅读框架在第三外显子,mRNA全长786 bp。3'UTR在第三外显子下游。GJB6产物为连接蛋白Connexin30,是缝隙连接蛋白中最重要的成员之一,在细胞间的相互联系中起重要作用。迄今为止,在HED患者中共发现4种GJB6基因突变:G11R、V37E、D50N和A88V,这4种突变都造成氨基酸替换^[11-12]。国内报道的HED多为G11R突变引起,亦有报道A88V突变^[13-15]。在本研究中,我们也发现该家系是由于G11R突变引起的,再次证明了G11R突变是HED的热点突变,为HED的确诊提供了分子依据。

本研究通过基因测序、家系分析及临床观察,进一步验证了GJB6基因G11R错义突变是导致HED的分子机制之一。对患病家系进行产前诊断,有助于减少该病的发生。

[参 考 文 献]

- [1] Bhalla G, Agrawal KK, Chand P, et al. Effect of complete dentures on craniofacial growth of an ectodermal dysplasia patient: a clinical report[J]. J Prosthodontics, 2013, 22(6): 495-500.
- [2] Rojas LV, Silvab GDd. Hypohidrotic ectodermal dysplasia: clinical and radiographic characteristics[J]. Revista Odontológica Mexicana, 2015, 19(4): e249-e253.
- [3] Vasconcelos Carvalho M, Romero Souto de Sousa J, Paiva Correa de Melo F, et al. Hypohidrotic and hidrotic ectodermal dysplasia: a report of two cases[J]. Dermatol Online J, 2013, 19(7): 18985.
- [4] Sitton JE, Reimund EL. Extramedullary hematopoiesis of the cranial dura and anhidrotic ectodermal dysplasia[J]. Neuropediatrics, 1992, 23(2): 108-110.
- [5] 崔绍山, 陆洪光, 王书平, 等. 皮肤病患者的心理健康状况及其影响因素[J]. 中华皮肤科杂志, 2008, 41(11): 758-759.
- [6] 陈晓霞, 蒲晓英, 代喆, 等. 皮肤疾病患者心理健康状况分析[J]. 实用医院临床杂志, 2009, (3): 74-75.
- [7] Radhakrishna U, Blouin JL, Mehenni H, et al. The gene for autosomal dominant hidrotic ectodermal dysplasia (Clouston syndrome) in a large Indian family maps to the 13q11-q12.1 pericentromeric region[J]. Am J Med Genet, 1997, 71(1): 80-86.
- [8] Lamartine J, Laoudj D, Blanchet-Bardon C, et al. Refined localization of the gene for Clouston syndrome (hidrotic ectodermal dysplasia) in a large French family[J]. Br J Dermatol, 2000, 142(2): 248-252.
- [9] Di WL, Rugg EL, Leigh IM, et al. Multiple epidermal connexins are expressed in different keratinocyte subpopulations including connexin 31[J]. J Invest Dermatol, 2001, 117(4): 958-964.
- [10] Xia A, Katori Y, Oshima T, et al. Expression of connexin 30 in the developing mouse cochlea[J]. Brain Res, 2001, 898(2): 364-367.
- [11] Smith FJ, Morley SM, McLean WH. A novel connexin 30 mutation in Clouston syndrome[J]. J Invest Dermatol, 2002, 118(3): 530-532.
- [12] Baris HN, Zlotogorski A, Peretz-Amit G, et al. A novel GJB6 missense mutation in hidrotic ectodermal dysplasia 2 (Clouston syndrome) broadens its genotypic basis[J]. Br J Dermatol, 2008, 159(6): 1373-1376.
- [13] Zhang XJ, Chen JJ, Yang S, et al. A mutation in the connexin 30 gene in Chinese Han patients with hidrotic ectodermal dysplasia[J]. J Dermatol Sci, 2003, 32(1): 11-17.
- [14] 陈建军, 杨森, 崔勇, 等. 有汗性外胚层发育不良一家系的连接蛋白30基因突变检测[J]. 中华皮肤科杂志, 2003, (11): 5-7.
- [15] 李汶, 高伯笛, 李麓芸, 等. 有汗性外胚层发育不良一家系的Cx30基因突变检测及产前诊断[J]. 中华医学遗传学杂志, 2006, 23(6): 618-621.

(本文编辑: 俞燕)