

论著·临床研究

1 例遗传性多发性骨软骨瘤家系 EXT1 基因分析

王薇 邱正庆 宋红梅

(中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院儿科, 北京 100005)

[摘要] **目的** 遗传性多发性骨软骨瘤(HME)是一种常染色体单基因显性遗传骨发育异常疾病, 超过70%为EXT1、EXT2突变所致。该文目的是分析一HME家系(3代24名成员, 6名HME患者)临床特征及致病基因与突变; 并通过文献复习统计分析中国人种基因突变情况。**方法** 收集、整理、分析该家系临床资料; 应用PCR及直接测序进行EXT1基因分析; 应用Pubmed及万方数据库检索中国人种HME基因突变文献。**结果** (1)该家系起病年龄逐代变早, 骨软骨瘤发作部位及数量逐代增多, 身体变形逐代严重。(2)患者均发现EXT1基因杂合剪切突变IVS5+1G>A, 该突变在中国人中首次发现。(3)至今中国HME家庭(含该家系)基因突变构成为EXT1为29%(26/90), EXT2为43%(39/90)。**结论** (1)该HME家系呈现病情逐代加重情况。(2)该家系由EXT1基因剪切突变IVS5+1G>A导致发病。(3)中国人种EXT1、EXT2突变构成比与西方人不一致。**[中国当代儿科杂志, 2014, 16(2): 174-180]**

[关键词] 遗传性多发性骨软骨瘤; EXT1剪切突变; 中国EXT突变谱; 儿童

A splicing mutation of EXT1 in a Chinese pedigree with hereditary multiple exostoses

WANG Wei, QIU Zheng-Qing, SONG Hong-Mei. Department of Pediatrics, Peking Union Medical College Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005 (Song H-M, Email: songhm1021@hotmail.com)

Abstract: Objective Hereditary multiple exostoses (HME) is an autosomal dominant monogenic disorder of paraplasia ossium. Mutations in EXT1 and EXT2 have been suggested to be responsible for over 70% of HME cases. This study aimed to analyze the clinical features and pathogenic mutations in a Chinese family with HME (6 patients in 24 members of 3 generations) and to review the relative literature regarding mutations in EXT1 and EXT2 in the Chinese population. **Methods** Clinical pedigree data from a Chinese family of HME were collected and analysed. EXT gene mutations in this pedigree assessed by PCR and sequencing. Pubmed and Wanfang (a Chinese database) were searched for the literature related to gene mutations in Chinese HME patients. **Results** In the pedigree analyzed, the age of onset of HME was becoming younger, the disease was becoming more severe, and the number of osteochondromas was increasing, in successive generations. A splicing mutation IVS5+1G>A, first identified in Chinese population, was found in all diseased members of this pedigree. According the currently available literature, EXT1 and EXT2 mutations have been detected in 29% (26/90) and 43% (39/90) Chinese families with HME. **Conclusions** HME starts earlier and becomes more severe and extensive with each successive generation in members of the pedigree analyzed. A splicing mutation, IVS5+1G>A, of EXT1, first identified in Chinese population, may be responsible for HME in the studied pedigree. EXT1 and EXT2 mutation rates may be different between the Chinese and Western populations.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(2): 174-180]

Key words: Hereditary multiple exostoses; Splicing mutation of EXT1; Chinese EXT mutation spectrum; Child

遗传性多发性骨软骨瘤(hereditary multiple exostoses, HME)是一种先天性骨发育异常疾病, 主要累及软骨化骨的骨骼, 以长骨干骺端多发性

外生骨疣为特征^[1]。该病为常染色体单基因显性遗传病, 与EXT抑癌基因突变有关, 现已发现与HME有关的有EXT1、EXT2, 其中>70%的HME

[收稿日期] 2013-09-03; **[接受日期]** 2013-12-09

[作者简介] 王薇, 女, 硕士研究生, 研究实习员。

[通信作者] 宋红梅, 女, 教授。

可检测到 EXT1 或 EXT2 突变^[1]。EXT1 基因位于染色体 8q24.11~q24.13, 其 cDNA 由 3.4 kb 碱基组成, 编码 11 个外显子, 746 个氨基酸。EXT2 位于染色体 11p12-p11, 编码 16 个外显子^[1]。据人类基因突变数据库 (www.hgmd.cf.ac.uk) 检索, 至 2013 年 1 月共报道 EXT1 基因突变 420 种, 有错义/无义突变 (140 种)、剪切突变 (44 种)、调控区突变 (1 种)、微小缺失 (146 种)、微小插入 (49 种)、微小缺失插入 (8 种)、交叉缺失 (26 种)、复杂重排 (6 种) 等突变, 未见大片段重复; EXT2 突变 197 种, 包括错义/无义突变 (65 种)、剪切突变 (24 种)、调控区突变 (6 种)、微小缺失 (55 种)、微插入 (25 种)、微小缺失插入 (5 种)、交叉缺失 (17 种), 未见复杂重排及大片段重复。另根据多发性骨软骨瘤突变数据库 (MObd, Multiple Osteochondromas Mutation Database, http://medgen.ua.ac.be/LOVD) 所收集数据, 少数患者存在 EXT1 或 EXT2 的整个/部分基因缺失, 为拷贝数变异。至 2013 年 6 月 14 日, 共收录 EXT1 变异 429 种, EXT2 突变 223 种。该数据库不仅收录已报道突变, 同时收录未正式发表的数据, 所以突变种类及数量多于人类基因突变数据库所收录。

本研究通过对 1 例 HME 家系 3 代进行 EXT1 基因分析及临床资料整理, 以明确该家系临床特点及致病基因突变; 并回顾中国人种 EXT 基因报道文献, 统计分析中国人种 EXT 基因突变情况。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2010 年 7 月份 2 名患儿 (E、F) 以“多发关节部位肿物”于我院就诊, 进而收集汉族 HME 一家系 (家系图见图 1), 共 3 代 24 人, 其中患者 6 人 (A、B、C、D、E、F), 3 男 3 女, 随访至 2013 年 2 月。所有患者均表现为关节周围大小不等的多发肿物, 质硬, 无压痛, 界限清楚, 移动性差, 表面皮肤正常; 可同时伴有骨骼畸形及活动障碍, 无关节肿痛; 部分患者伴有矮小 (见表 1, 临床表现严重程度评分标准参考文献^[2], 具体标准如下: 发病年龄 <3 岁, 1 分; 身高 < 第 25 百分位, 1 分; 肿瘤累及 7 个关节以上或 6 个关节 + 累及其他扁骨, 1 分; 单个骨个肿瘤数量 >5, 1 分; 肢体有外观畸形及功能障碍, 1 分。≥ 3 分为重度, 3 分以下为轻度)。患者家属均签署知情同意书。

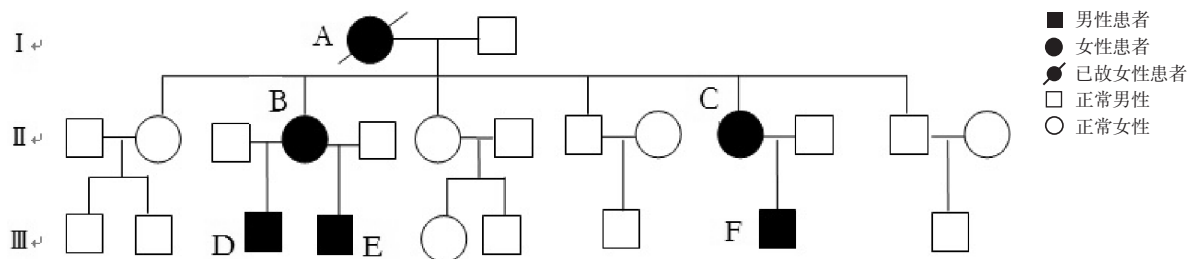


图 1 HME 家系图 A、B、C、D、E、F 为患者, 其中 E、F 为先证者。

表 1 HME 家系基本临床资料

患者	年龄 (岁)	性别	发病年龄 (岁)	身高 (cm)	骨骼畸形	活动受限	手术年龄	术后复发	严重程度评分
A	72	女	60	161	无	无	未手术	-	0
B	50	女	11	151*	双肩不等高	无	11 岁, 49 岁	否	2
C	44	女	16	158	右膝外翻	步态异常	16 岁	否	1
D	26	男	1	163*	髌关节畸形	无法全蹲	5 岁	否	3
E	13	男	1.5	154	右肩胛骨膨大、左肘内翻、小指屈曲、右膝外翻、右踝外翻、双下肢不等长	下蹲受限	11 岁, 13 岁	否	4
F	19	男	1~2	172	膝外翻、右足第 3 趾畸形、肩胛骨膨隆、双下肢不等长	步态异常	12 岁	是	4

注: * 表示身高 < 第 10 百分位。

1.2 研究方法

取外周抗凝血 2 mL, 应用威格拉斯 DNA 提取试剂盒提取 DNA。经 Primer 3.0 对 EXT1 全部 11 个外显子及外显子内含子交界处在线设计引物(引物序列及 PCR 产物长度见表 2), 由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。对 EXT1 全部 11 个外显子及外显子内含子交界处进行 PCR 扩增, PCR 体系: 博迈德® 2×PCR mix 12 μL, dd H₂O 11 μL, DNA 1 μL, 10 μmol/L 引物 1 μL。PCR 条件: 95℃ 5 min; 每个循环 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 45 s

(E1 1 min), 共 35 个循环; 72℃ 延伸 10 min; 4℃ 维持。PCR 产物经 2% 凝胶电泳分离, 纯化, 测序。

1.3 中国人种 EXT 基因突变谱统计

经 Pubmed 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) 及万方数据知识服务平台检索近 20 年中国人种 HME 基因突变报道的相关文献, 剔除重复报道病例, 总结中国人种 EXT1、EXT2 突变情况。

2 结果

2.1 临床资料分析结果

该家系所有成员均非近亲婚配, 6 名患者骨疣数量从 2~20 余个不等, 大小不等, 每名患者的最大骨疣皮面突出从约 1 cm 到 5 cm 不等(按照患者最大骨疣的体积排序: F>E>B>C>D>A), 骨软骨瘤分布情况见表 3。第三代发病年龄均在 1~2 岁之间, 第二代在 10 岁之后, 第一代 A 女士病情较轻, 无骨骼畸形, 无活动受限, 60 岁之前未察觉骨疣存在, 于 D 发病后仔细寻找, 发现两处, 隐隐突出皮面, 未进行任何处理, 于 2012 年因贲门癌去世。其余患者均存在不同程度的骨骼畸形(图 2), 且进行了骨软骨瘤切除术。除患儿 E 外, 其余患儿术前 X 片在我院就诊前均遗失。患者 E 的 X 线检查(图 3)提示: 左桡骨远端、尺骨远端密度不均肿物, 皮质完整; 右膝稍外翻, 双胫骨远端、股骨远端、腓骨头多个类圆形及指状肿物; 受累骨端膨大增粗; 未见皮质破坏、日光放射影。病理诊断为: 骨软骨瘤。该家系第一代及第二代均为轻度, 第三代均为重度。

表 2 EXT1 PCR 扩增引物序列

引物名称	引物序列	产物长度 (bp)
EXT1-E1_F	TTACAGCGCGGAAGATGGCG	1 180
EXT1-E1_R	AAGGGGAAAGAGGACTGAGGGC	
EXT1-E2_F	AGCTGCCTGCTGGTGGCTTT	337
EXT1-E2_R	CCTCAAGGGAACACACCTTCTC	
EXT1-E3_F	AGGCACTCCAGGATTCATGCAG	324
EXT1-E3_R	GAGCTGACCTTTTGGATTTCATCTTC	
EXT1-E4_F	TGCTAGAAGCCAAATGCTATGAAG	344
EXT1-E4_R	TGGTTTTGCCCACTGACCC	
EXT1-E5_F	GCCACCATCTTTTGAATTTGGAT	330
EXT1-E5_R	TGCAGGGTGTAGATGGACCCC	
EXT1-E6_F	AACATTTGCTCCAGCATGAGGC	342
EXT1-E6_R	CAGGGTATGATGTTAGAGAAGTCCCG	
EXT1-E7_F	TGTCTGCCGTTTTTGTCTTGCTG	307
EXT1-E7_R	CTAGGGCCAAGACCCAAAGTG	
EXT1-E8_F	GGGTGACATGATAGTAGCGCATT	314
EXT1-E8_R	ACTTCTGCCAAGGCACGGCT	
EXT1-E9_F	ATGTTTCGCCACAGTCCCGG	397
EXT1-E9_R	GCGGGGATACAGACTAATTTTCCTCA	
EXT1-E10_F	GACATGTTTAGGGATTCAAAGAATGGG	377
EXT1-E10_R	ATGCTCCTGGGTGGAACAGC	
EXT1-E11_F	CCCCAAGCTTTGCTGCTTGC	395
EXT1-E11_R	TGGCACAATCTGGCTCTGCTG	

表 3 骨软骨瘤部位分布

编号	严重分型	骨疣数量	受累关节	骨软骨瘤部位分布														
				股骨		胫腓骨		肱骨		尺桡骨		掌骨	指骨	锁骨	足	髌骨	肋骨	肩胛骨
				近端	远端	近端	远端	近端	远端	近端	远端							
A	轻	2	2			右侧	右侧											
B	轻	5	4		左侧	双侧					右侧							
C	轻	6	5		双侧	双侧										左侧		
D	重	3	2		右侧												右侧	
E	重	>20	10		双侧	双侧	右侧				左侧	左侧	右侧				右侧	右侧
F	重	>20	13		双侧	双侧	双侧	左侧			左侧			右侧			右侧	双侧



图2 患儿骨骼畸形 A、B: 患儿F右足第三趾短趾畸形及拇趾外翻(箭头所示); C: 患儿E左肘内翻; D: 患儿E站立位双下肢全长X线检查提示双下肢不等长。

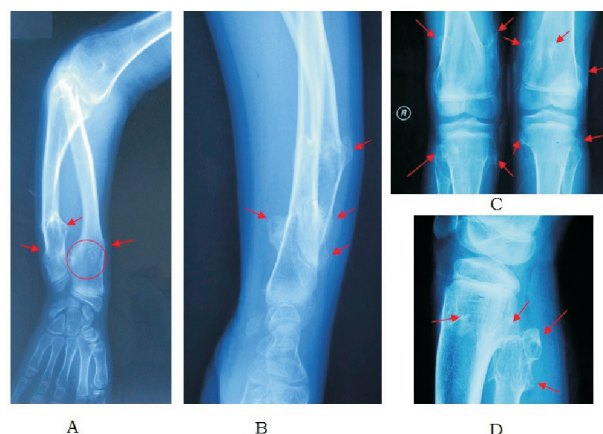


图3 患儿E多发骨软骨瘤X片 A、B: 左尺、桡骨远端可见多个骨疣(箭头所示), 受累骨端变粗大; C、D: 双膝关节正位及侧位X线提示双侧股骨远端、胫、腓骨近端多发骨疣(箭头所示)。

2.2 家系基因分析结果

HME患者均检测到EXT1基因杂合剪切突变IVS5+1G>A (c.1417+1G>A), 经人类基因数据库检索, 该突变曾在一英裔家系报道中被报道^[3], 为已知致病突变。家系中其他成员未检测到该突变。

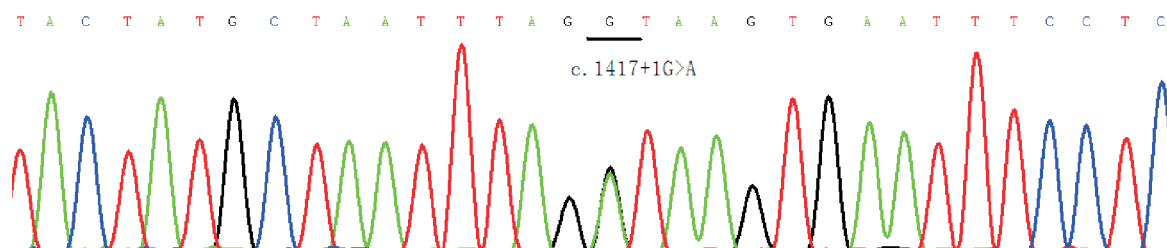


图4 EXT1基因杂合剪切突变[IVS5+1G>A (c.1417+1G>A)]

2.3 中国人EXT突变检索结果

共检索到涉及中国人种EXT基因检测的文献25篇^[2,4-27], 含中文文献13篇, 英文文献12篇, 涉及15家机构。剔除重复报道病例后, 加上本文所报道的家系, 共报道了中国人26种(26个家庭)EXT1突变: 每个家庭各发现了1种突变, 突变类型最多的是移码突变13种(11种缺失突变)、错义突变5种、无义突变4种, 剪切突变3种。30种(39个家庭)EXT2突变: 突变类型最多的是无义突变11种(16个家庭), 错义突变8种(10个家庭), 移码突变8种(8个家庭), 剪切突变3种(5个家庭)。EXT2最常见突变有4种,

每种都分别在3个家庭中发现, 为: c.1016G>A, p.Cys339Tyr^[2,12]; c.313A>T, p.Lys105X^[7,17,23]; c.1234C>T, p.Gln412X^[23]; IVS2+1G>A^[16,20]。25个家庭未发现EXT1或EXT2突变。

至今中国HME家庭(含该家系)基因突变EXT1为29%(26/90), EXT2为43%(39/90), 28%(25/90)未检测到EXT1或EXT2突变。

3 讨论

据国外文献报道, HME在总人群的发病率约为1:50000^[28], 男女比约为1.5:1^[29-30], 可能是由于

女性具有较轻的表型而被忽略。有统计 1984~2006 年国内已发表文献共报道 75 个家系 573 例 HME 患者, 男女患者比为 1.89:1^[31]。国外报道约 62% 的 HME 具有家族遗传史, 3 岁前发病者达 50%, 12 岁前为 96%~100%^[29]。在本研究家系中, HME 患者男女比例为 1:1, 前两代均为女性, 在临床分型中属于轻型, 发病年龄晚(均在 11 岁之后), 且累及关节部位少, 骨软骨瘤数量较少。第三代均为男性, 发病年龄早, 均为 1~2 岁间发病, 累及关节部位多, 单个关节所长骨疣数量多, 总量多, 身体畸形严重。本家系符合女性发病较轻的报道, 但 12 岁后发病率为 33% (2/6), 与报道^[29]不同。这可能是由于发病晚患者均为女性, 病情较轻, 早期医疗手段欠缺, 未及时发现。一般 HME 恶变率为 0.5%~5%^[32], 多数为软骨肉瘤, 本家系中未出现恶变病例。该病 73% 经父亲遗传^[31], 而本家系为经母遗传, 且第一代患者子女发病率为 33% (2/6), 第二代患者生子发病率为 100% (3/3)。

HME 患者的骨软骨瘤在 10 岁前随年龄增长而增长, 在青春期生长板闭合后停止生长^[33]。本家系中患者 B 11 岁时仅于股骨远端生长 1 个骨疣, 手术切除后未复发。15 岁时环绕双膝渐发大小不等 3 个骨疣(与原位置不同), 尺桡骨远端 1 个骨疣, 初不影响生活, 于 49 岁时因严重影响行走进行了膝盖部位第二次手术。患者 F 19 岁, 骨疣仍在继续增长, 而且出现了术后原位复发情况, 这与国外报道^[33]不同。

身材矮小是 HME 的本质特征^[31], 但很少引起侏儒症。李玉婵等^[2]通过对 11 个 EXT1 突变及 6 个 EXT2 突变患者的比较, 发现 8 例 EXT1 突变患儿(73%)身高<第 25 百分位, 认为 EXT2 身高相对较高。本家系中仅 2 例(33%)身高低于第 10 百分位, 其余身高基本正常。因此 EXT1 突变是否导致身材矮小有待于更大样本量的研究。HME 多位于软骨化骨, 尤其是四肢的长骨, 环膝盖最多, 不影响颅面骨骼^[32]。1/3~2/3 为肢体畸形, 主要为前臂变短弯曲、腕部尺偏畸形及踝部外翻畸形^[31]。关于发生畸形的原因尚不清楚^[31]。本家系中环膝关节骨疣最多, 5 名都出现了身体畸形, 涉及部位广泛, 畸形种类多样, 主要为膝外翻, 肩胛骨膨隆及双下肢不等长。

本研究报道的家系中, 前两代均为轻型, 第

三代均为重型, 临床表现随遗传代次增加而加重。回顾所报道的中国人种 HME 家系文献, 家系报道虽多, 但具有详细家系代次临床表现差异分析的文献较少。唐英杰等^[34]所报道一个 HME 家系, 4 代之间临床表现无显著差异, Xiao 等^[4]报道了一个 6 代 35 例 HME 家系, 32 例均表现为重型, 3 例(第 V 代 2 例, 第 VI 代 1 例)表现为轻型。9 篇文献^[5-6,34-40]共报道了 9 个家系(遗传代次 2~6 代)均出现了随遗传代次增加而病情加重现象。综合文献报道, 中国 HME 家系呈现临床表现随遗传代次增加而加重的趋势。该现象是否是该病的一个特点, 或者是否与基因型有关, 需要更多的资料以证实。同家系中虽然突变类型一致, 然而临床表现不同, 为何逐代加重, 需要进一步研究。

HME 为常染色体单基因显性遗传病, 外显率为 100%^[31]。该病与 EXT 抑癌基因突变有关, 现已发现与 HME 有关的 EXT1、EXT2, 另外染色体 19p 与该疾病的关联提示 EXT3 存在。EXT1、EXT2 已被克隆, 但 EXT3 尚未被确定, 其中 >70% 的 HME 可检测到 EXT1 或 EXT2 突变^[1]。国外文献中 EXT1 基因突变约占 44%~66%^[41-42] 的 HME 家庭, EXT2 约占 27%^[42]。由此可见, EXT1 与 EXT2 突变比率与国外报道不符。回顾 25 篇报道中国人种 HME 基因突变文献^[2,4-27], 并结合本家系的基因突变, 可见 EXT1 基因突变异质性较 EXT2 高, 迄今未见两个中国家庭具有同种 EXT1 突变的报道。EXT2 的常见突变有 4 种: c.1016G>A, p.Cys339Tyr^[2,12]; c.313A>T, p.Lys105X^[7,17,23]; c.1234C>T, p.Gln412X^[23]; IVS2+1 G>A^[16,20], 提示这些突变可能为中国人种的常见突变。缺失突变是中国人种 EXT1 最常见突变, 与之不同的是 EXT2 最常见的突变为无义突变。本家系中所检测到的 EXT1 剪切突变 c.1417+1G>A (IVS5+1 G>A), 在中国人中首次报道。中国人种 EXT1 基因报道过的剪切突变有两种 IVS8+2 T>G^[2,21] 及 c.1883+1G>A^[27]。

EXT1 及 EXT2 编码的蛋白质对于细胞表面及细胞外基质的蛋白聚糖表达起作用^[43-44]。EXT1 启动子结构为一典型的“看家”基因, 而且在许多组织内有表达, 其编码产物为一内质网固有的 II 型跨膜糖蛋白^[45], 它修饰和增加乙酰肝素氨基葡聚糖(GAGs)从分泌性细胞器向细胞表面分泌, 而该物质在细胞表面是一种细胞信号的重要辅助

部分^[31]。Hecht等^[33]注意到尽管EXT1蛋白在多种器官中表达,但EXT1失活或突变体仅在生长骨中有影响,伴随着骨生长,骨软骨瘤向骨干迁移。在青春期生长板闭合后,生长发育停止,且无新的骨软骨瘤形成。HME中EXT1突变后导致细胞生长、分化、黏附功能异常,致使骨干或骺端软骨细胞无限增殖,导致骨赘形成。EXT2与EXT1有30.9%的同源性,McCormick等^[46]研究提示EXT2在EXT1失活时不具备显著的糖基转移酶活性。值得注意的是高尔基体定位的EXT1/EXT2复合体氨基转移酶活性显著地高于EXT1或EXT2单独存在时。这解释了两者的任一基因失活都会导致HME的现象。

本研究家系中的突变位点处于剪接给位GT保守位点,该位点突变可能引起以下一种或几种pre-mRNA加工的异常:外显子跳跃、隐匿剪切位点应用或内含子保留。任一情况下,mRNA都会出现提前终止密码子,最终导致合成无功能的截短蛋白。本课题组今后将继续研究该家系的mRNA情况,以明确是何种类型。

综上所述,(1)本研究报道的家系临床资料提示:该家系为经母遗传,男性临床表现重于女性;发病年龄晚的临床表现较轻;青春期后骨疣数量及大小仍可增长,手术后可原位复发;临床表现逐代加重,骨疣大小增加、数量增多、发病部位增多(可对称,可不对称分布)、骨骼畸形逐代严重、畸形部位增多,子女发病率增高。

(2)综合文献报道,中国HME家系呈现临床表现随遗传代次增加而加重的趋势。该现象是否是该病的一个特点,或者是否与基因型有关,需要更多的资料以证实。同家系中虽然突变类型一致,但临床表现不同,为何逐代加重,需进一步研究。

(3)中国HME家庭基因突变EXT1为29%,EXT2为43%,28%未检测到EXT1或EXT2突变,EXT1及EXT2突变与国外报道可能呈倒置现象。中国人种EXT1最常见突变是缺失突变,EXT2最常见的突变为无义突变,EXT2突变热点有4种。本家系中所检测到的EXT1剪切突变c.1417+1G>A(IVS5+1 G>A),在中国人中首次报道。

HME虽对患者寿命可能不造成严重影响,但在重度情况下可造成患者的行动、生活不便,从儿童时期开始伴随一生的身体畸形、矮小造成患

者及其家庭巨大的心理压力。由于该病为常染色体显性遗传,该家系患者对于适婚青年患者的婚配、生子充满恐惧及自卑心理,恋爱受挫严重影响患者的心理健康。该家系致病基因的发现进一步补充了中国HME的基因突变资料,更重要的是对于该家系下一代的产前诊断将有可能提供帮助,为其家庭带来新的希望。

[参考文献]

- [1] Wuyts W, Van Hul W. Molecular basis of multiple exostoses: mutations in the EXT1 and EXT2 genes [J]. Hum Mutat, 2000, 15(3): 220-227.
- [2] 李玉婵,王志刚,王剑,等.遗传性多发性骨软骨瘤基因型和临床表型相关性分析[J].中华小儿外科杂志,2011,32(10): 769-773.
- [3] Philippe C, Porter DE, Emerton ME, et al. Mutation screening of the EXT1 and EXT2 genes in patients with hereditary multiple exostoses[J]. Am J Hum Genet, 1997, 61(3): 520-528.
- [4] Xiao CY, Wang J, Zhang SZ, et al. A novel deletion mutation of the EXT2 gene in a large Chinese pedigree with hereditary multiple exostosis[J]. Br J Cancer, 2001, 85(2): 176-181.
- [5] 屈波,罗卓荆,杨柳,等.中国遗传性多发性骨软骨瘤的临床资料及突变检测1例报告[J].中国临床康复,2004,8(5): 814-816.
- [6] Zhu HY, Hu YL, Yang Y, et al. Mutation analysis and prenatal diagnosis of EXT1 gene mutations in Chinese patients with multiple osteochondromas[J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124(19): 3054-3057.
- [7] Kang Z, Peng F, Ling T. Mutation screening of EXT genes in Chinese patients with multiple osteochondromas[J]. Gene, 2012, 506(2): 298-300.
- [8] Wang X, Li L, Li J, et al. Pathogenic gene screening and mutation detection in a Chinese family with multiple osteochondroma[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2012, 16(7): 827-832.
- [9] Wen W, Zhang Y, Wang Y, et al. A novel mutation in the EXT1 gene identified in a Han Chinese kindred with hereditary multiple exostosis[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2010, 14(3): 371-376.
- [10] 姚丰,王应太,廖世秀,等.一个遗传性多发性骨软骨瘤家系的基因突变检测[J].中华医学遗传学杂志,2010,27(1): 92-95.
- [11] Li Y, Wang J, Li H, et al. A novel EXT1 gene mutation causing hereditary multiple exostoses in a Chinese pedigree[J]. Pathology, 2010, 42(1): 91-93.
- [12] Li Y, Wang D, Wang W, et al. Identification of four novel EXT1 and EXT2 mutations in five Chinese pedigrees with hereditary multiple exostoses[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2009, 13(6): 825-830.
- [13] Liu SG, Lu DG, Liu ZQ, et al. A novel mutation in EXT2 gene in a Chinese family with hereditary multiple exostoses[J]. Genet Test, 2008, 12(3): 331-332.
- [14] Liu SG, Li FF, Huang SZ, et al. A novel mutation in the EXT2 gene identified in two unrelated Chinese families with hereditary

- multiple exostoses[J]. Genet Test, 2007, 11(4): 445-449.
- [15] 赵文秋, 宋书娟, 魏庆, 等. 遗传性多发性骨软骨瘤的基因诊断及产前诊断[J]. 中华医学遗传学杂志, 2009, 26(3): 241-244.
- [16] 张萌, 刘世国, 李飞峰, 等. 应用变性高效液相色谱技术检测三个遗传性多发性外生骨疣家系的 EXT1 与 EXT2 基因突变[J]. 中华医学遗传学杂志, 2007, 24(6): 646-651.
- [17] 何洪波, 胡正茂, 李贺君, 等. 变性梯度凝胶电泳在遗传性多发性外生性骨疣基因诊断中的应用[J]. 中南大学学报(医学版), 2007, 32(2): 323-327.
- [18] 李薇, 胡正茂, 谢志国, 等. EXT1 基因 Y271H 突变致多发性外生性骨疣[J]. 中南大学学报(医学版), 2007, 32(4): 546-550.
- [19] 谢志国, 胡正茂, 潘乾, 等. EXT1 基因 1633-26(C → A) 突变可能致多发性外生性骨疣[J]. 中华医学遗传学杂志, 2006, 23(2): 147-150.
- [20] 胡正茂, 郑多, 潘乾, 等. EXT2 基因 IVS2+1G>A 突变致遗传性多发性外生性骨疣[J]. 中华医学遗传学杂志, 2004, 21(2): 97-100.
- [21] 王剑, 李玉婵, 李怀远, 等. 遗传性多发性骨软骨瘤的基因突变筛查及基因型与表型关系的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(10): 926-930.
- [22] Shi YR, Wu JY, Tsai FJ, et al. An R223P mutation in EXT2 gene causes hereditary multiple exostoses[J]. Hum Mutat, 2000, 15(4): 390-391.
- [23] Xu L, Xia J, Jiang H, et al. Mutation analysis of hereditary multiple exostoses in the Chinese[J]. Hum Genet, 1999, 105(1-2): 45-50.
- [24] 傅启华, 李玉婵, 王剑, 等. 遗传性多发性骨软骨瘤 EXT 基因的一种新突变[J]. 诊断学理论与实践, 2008, 7(6): 625-627.
- [25] 钟良英, 丁红珂, 袁萍, 等. EXT2 基因突变引起的多发性骨软骨瘤的遗传学及表型分析[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(5): 980-984.
- [26] 李怀远, 李玉婵, 王剑, 等. 遗传性多发性骨软骨瘤基因突变检测: 附一家系报告[J]. 临床儿科杂志, 2009, 27(12): 1144-1146.
- [27] Wu Y, Xing X, Xu S, et al. Novel and recurrent mutations in the EXT1 and EXT2 genes in Chinese kindreds with multiple osteochondromas[J]. J Orthop Res, 2013, 31(9): 1492-1499.
- [28] Schmale GA, Conrad EU, Raskind WH. The natural history of hereditary multiple exostoses[J]. J Bone Joint Surg[Am], 1994, 76(7): 986-992.
- [29] Legeai M L, Munnich A, Maroteaux P, et al. Incomplete penetrance and expressivity skewing in hereditary multiple exostoses[J]. Clin Genet, 1997, 52(1): 12-16.
- [30] Wicklund LC, Pauli RM, Johnston D, et al. Natural history study of hereditary multiple exostoses[J]. Am J Med Genet, 1995, 55(1): 43-46.
- [31] 郭世炳, 冯卫. 遗传性多发性骨软骨瘤[J]. 中国医师进修杂志, 2007, 30(4): 72-74.
- [32] Bovee JV. Multiple osteochondromas[J]. Orphanet J Rare Dis, 2008, 3:3.
- [33] Hecht JT, Hogue D, Wang Y, et al. Hereditary multiple exostoses (EXT): mutational studies of familial EXT1 cases and EXT-associated malignancies[J]. Am J Hum Genet, 1997, 60(1): 80-86.
- [34] 唐英杰, 杨海平, 郝占平. 1 例遗传性多发性骨软骨瘤家系报道[J]. 实用放射学杂志, 2008, 24(9): 1239-1243.
- [35] 唐长友, 彭武治, 向清国, 等. 土家族遗传性多发性骨软骨瘤的临床特征观察与分析[J]. 中国骨肿瘤骨病, 2005, 5(4): 270-273.
- [36] 罗维礁, 聂南海. 遗传性多发性骨软骨瘤 3 例家系报告[J]. 青岛大学医学院学报, 2006, 42(4): 370.
- [37] 武斌. 遗传性多发性骨软骨瘤 9 例报告分析[J]. 中外健康文摘, 2011, 8(38): 78-79.
- [38] 林益良, 卢家灵. 遗传性多发性骨软骨瘤临床及 X 线表现(附 2 家系 35 例报告)[J]. 实用放射学杂志, 2011, 27(12): 1941-1943.
- [39] 张喜凤, 许玉刚, 陈文欣. 遗传性多发性外生骨疣一家系 3 代 5 例报告[J]. 中国当代儿科杂志, 2007, 9(3): 258-259.
- [40] 苏登, 王志强, 阳波, 等. 遗传性多发性骨软骨瘤一家系九例[J]. 解剖与临床, 2010, 15(1): 71-72.
- [41] Raskind WH, Conrad EU III, Matsushita M, et al. Evaluation of locus heterogeneity and EXT1 mutations in 34 families with hereditary multiple exostoses[J]. Hum Mutat, 1998, 11(3): 231-239.
- [42] Legeai M L, Margaritte JP, Lemdani M, et al. An extension of the admixture test for the study of genetic heterogeneity in hereditary multiple exostoses[J]. Hum Genet, 1997, 99(3): 298-302.
- [43] Hecht JT, Hogue D, Strong LC, et al. Hereditary multiple exostosis and chondrosarcoma: linkage to chromosome 11 and loss of heterozygosity for EXT-linked markers on chromosomes 11 and 8[J]. Am J Hum Genet, 1995, 56(5): 1125-1131.
- [44] Raskind WH, Conrad EU, Chansky H, et al. Loss of heterozygosity in chondrosarcomas for markers linked to hereditary multiple exostoses loci on chromosomes 8 and 11[J]. Am J Hum Genet, 1995, 56(5): 1132-1139.
- [45] McCormick C, Leduc Y, Martindale D, et al. The putative tumour suppressor EXT1 alters the expression of cell-surface heparan sulfate[J]. Nature Genet, 1998, 19(2): 158-161.
- [46] McCormick C, Duncan G, Goutsos KT, et al. The putative tumor suppressors EXT1 and EXT2 form a stable complex that accumulates in the Golgi apparatus and catalyzes the synthesis of heparan sulfate[J]. Proc Nat Acad Sci, 2000, 97(2): 668-673.

(本文编辑: 王庆红)