

# 先天性无虹膜症 PAX6 致病基因分析及其分子诊断研究

魏谭伟

(武汉市普仁医院眼科,湖北 武汉 430081)

**摘要:**先天性无虹膜症是一种眼部虹膜组织高度发育不良导致视功能严重异常的遗传病,其发病机制非常复杂,主要与调控虹膜发育的基因表达有关,其中最重要的调控基因是人类配对盒基因6(PAX6)。在眼部发育过程,PAX6由于各种原因发生基因突变导致表达异常,引起虹膜组织先天发育不良,导致无虹膜症的发生,严重影响人类视觉功能。随着分子生物学技术的发展,对于先天性无虹膜症致病基因PAX6的研究有很大的进展,本文对先天性无虹膜症的主要致病基因PAX6基因及其分子诊断方法作一综述,以期先天性无虹膜症的基因靶向治疗提供理论基础。

**关键词:**先天性无虹膜症;PAX6基因;分子诊断;基因突变

**中图分类号:**R773.1

**文献标识码:**A

**DOI:**10.3969/j.issn.1006-1959.2022.10.019

**文章编号:**1006-1959(2022)10-0078-05

## A PAX6 Pathogenic Gene Analysis and Molecular Diagnosis of Congenital Aniridia

WEI Tan-wei

(Department of Ophthalmology,Wuhan Puren Hospital,Wuhan 430081,Hubei,China)

**Abstract:** Congenital aniridia is a genetic disease with highly dysplasia of the iris tissue leading to severe abnormal visual function. The pathogenesis of congenital aniridia is very complex, mainly related to the expression of genes regulating iris development, among which the most important regulation gene is PAX6 gene. In the process of eye development, PAX6 gene mutation leads to abnormal expression due to various reasons, resulting in congenital dysplasia of iris tissue, which seriously affects human visual function. With the development of molecular biology technology, great progress has been made in the study of the pathogenic gene PAX6 of congenital aniridia. This paper reviews the main pathogenic gene PAX6 and its molecular diagnosis methods, providing a theoretical basis for gene targeted therapy of congenital aniridia.

**Key words:** Congenital aniridia;PAX6;Molecular diagnosis;Gene mutation

先天性无虹膜症(congenital aniridia)典型表现为虹膜组织部分或全部缺失或者高度发育不良,多为双侧发病,严重影响视功能,可伴有眼球震颤其他眼部并发症,如先天性白内障、青光眼及角膜混浊等,同时无虹膜导致的眩光引起黄斑及其附近视网膜发育不良也会加重视功能受损。据报道<sup>[1]</sup>,先天性无虹膜症的发生率为1:70 000,20岁以下人群中发生率高达1:47 000,发病无种族及性别差异。先天性无虹膜症的发病机制非常复杂,包括常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传,其中约1/3为散发,2/3有家族遗传史,其中约85%为常染色体显性遗传,13%伴发于WAGR综合症,该综合症表现为患者同时患有Wilms肿瘤、先天性无虹膜、生殖器发育异常和智力发育迟缓,同时呈常染色体显性遗传;约2%为常染色体隐性遗传,常伴发于Gillespie's综合症,表现为无虹膜、小脑共济失调和智力发育迟缓<sup>[2]</sup>。先天性无虹膜症主要与遗传有关,其致病基因和基因突变位点相继被发现。到目前为止,分子遗传学的研究证明与先天性无虹膜症有关的致病基因主要有PAX6基因(人类配对盒基因,paired box gene,OMIM607108,GenBank:AH014790)、FOXC1基因(叉头框转录因子C1,forkhead box C1,OMIM601090,GenBank:NM\_001453)、PITX2基因

(OMIM601542,GenBank:KR710429)、FOXE3基因(叉头框转录因子E3,forkhead box E3,OMIM601094,GenBank:NC\_000001)、NF1基因(神经纤维瘤蛋白1,neurofibromin 1,OMIM613113,GenBank:NC\_000017)、OTX2基因(邻位齿状同源盒基因,orthodenticle homeobox 2,OMIM600037,GenBank:NC\_000014)等,约46多个基因位点与先天性无虹膜症有关。其中,最重要的致病基因是PAX6基因,80%~90%的先天性无虹膜症与PAX6基因突变有关,它的很多基因位点已被定位,基因编码蛋白质的致病机制也被阐明,这使先天性无虹膜症的分子诊断成为可能,也为临床基因靶向治疗先天性无虹膜症提供了理论基础。本文就PAX6基因及其分子诊断方法作一综述。

### 1 PAX6 基因概述

人类PAX6基因长22 Kb,共有14个外显子,位于11P13位置,在眼、鼻、大脑、内分泌腺、中枢神经系统等的发育中发挥着关键作用,是眼部发育的主要控制基因。它的编码产物属于DNA结合蛋白类,由配对盒结构域(paired domain,PD)和同源结构域(homeodomain,HD)组成,PD结构域具有选择性剪切功能,HD结构域则可以调节下游基因表达,在功能上二者都属于高度保守的转录因子,在眼部发育早期广泛参与眼球各组织(包括视网膜、晶状体、睫状体、角膜、虹膜等)的正常发育和分化。而人类眼部发育是在多种转录因子(eye-field transcription

作者简介:魏谭伟(1987.2-),男,湖北武汉人,硕士,主治医师,主要从事眼底病、眼眶病及眼遗传病的分子诊断工作

factors,EFTFs)共同调控作用下进行的,所以当 PAX6 基因发生突变时可导致 PAX6 整体蛋白活性降低大约 50%,并使 PAX6 单倍体剂量严重不足,最终引发各种眼部发育异常,其中最常见的是先天性无虹膜症。先天性无虹膜症患者多为 PAX6 基因单独突变,个别患者突变涉及 PAX6 基因和相邻的 WT1 基因,

表现为先天性无虹膜伴肾母细胞瘤、泌尿生殖系统异常和精神发育迟缓<sup>[3]</sup>。PAX6 基因突变有多种形式,与表型严重程度相关。迄今为止已发现三百余种突变,有 20%~40%患者携带 PAX6 基因大片段缺失,目前发现的主要突变 PAX6 基因见表 1。

表 1 人类 PAX6 基因突变

碱基位置	碱基改变	氨基酸位置	氨基酸改变	突变类型(参考文献)
1286	CTCC 复制	外显子 11	-	移码突变 <sup>[3]</sup>
1311	C→T	外显子 11	-	终止密码子 <sup>[3]</sup>
888	插入碱基 A	外显子 10	-	- <sup>[4]</sup>
50	A 碱基复制	外显子 9	-	剪切位点缺失导致终止密码子 <sup>[5]</sup>
765	GT 缺失	外显子 9	-	剪切位点缺失导致终止密码子 <sup>[5]</sup>
277	G 缺失	外显子 6	Glu93SerfsX31	氨基酸改变 <sup>[6]</sup>
718	C→T	外显子 9	Arg240X/Gly36X	无义突变 <sup>[6]</sup>
95-105	11 个碱基杂合复制	-	G36X	非功能性截短蛋白 <sup>[7]</sup>
745	C 缺失	-	-	无义突变 <sup>[8]</sup>
435-445	TAGCGAAAAGC 缺失	外显子 7	Ser146ThrfsX9	杂合缺失 <sup>[9]</sup>
-	1.3Mb 碱基缺失	-	P118R(脯氨酸→精氨酸)	干扰 PAX6 转录和在大脑中的表达 <sup>[10]</sup>
				无义突变 <sup>[11]</sup>
474	C 碱基复制	外显子 5	-	常染色体显性遗传 <sup>[12]</sup>
879-880	CA 缺失	-	S294Cfs*46	杂合双突变 <sup>[13]</sup>
1124	C→G	-	P375R	杂合双突变 <sup>[13]</sup>
308	G 缺失	-	P103Qfs*21	杂合移码突变 <sup>[13]</sup>
1192	T 缺失	-	S398Pfs*126	杂合移码突变 <sup>[13]</sup>
183	C→G	-	Y61*	致病变种 <sup>[14]</sup>
718	C 缺失	-	R240Efs*3	致病变种 <sup>[14]</sup>
1149-1152	TCAG 缺失	-	P385Wfs*139	致病变种 <sup>[14]</sup>
257-266	AAATAGCCCCA 缺失	-	K86Sfs*35	致病变种 <sup>[14]</sup>
836-843	GCAACACA 复制	-	P282Afs*86	致病变种 <sup>[14]</sup>
1032+2_1032+3	插入碱基 T	外显子 6	-	无义突变 <sup>[14]</sup>
141+2	T>A	外显子 9	-	无义突变 <sup>[14]</sup>
277	G 缺失	-	Glu93SerfsX31	杂合移码突变 <sup>[15]</sup>
718	C>T	-	Arg240X	无义突变 <sup>[15]</sup>
658	G>T	-	Glu220*	PAX6 蛋白翻译提前终止 <sup>[16]</sup>
464	G 缺失	-	Ser155Thrfs*52	PAX6 蛋白翻译提前终止 <sup>[16]</sup>
87-90	TGTA 复制	PST 区	Glu31Cysfs*26	PAX6 蛋白翻译提前终止 <sup>[16]</sup>
642	A>C	外显子 5	Arg214Ser	无义突变 <sup>[16]</sup>
1410	C 缺失	-	-	致病变种 <sup>[17]</sup>
112	C 缺失	外显子 7	Arg38GlyfsX16	移码突变导致提前终止密码子 <sup>[18]</sup>
362	C>T	外显子 5	Ser121LeuQ225H/G387E	无义突变 <sup>[18,19]</sup>
475-491	17 个碱基缺失	外显子 14	Arg38ProfsX12Ser122*	移码突变导致提前终止密码子 <sup>[20]</sup> 无义突变 <sup>[21]</sup>
1290	A>T	外显子 8	X437L	杂合不间断突变 <sup>[22]</sup>
529-535	TATCCGG 缺失	外显子 10	-	移码突变 <sup>[22]</sup>
527-533	GGTATCC 缺失	外显子 10	-	移码突变 <sup>[22]</sup>
796	G 缺失	-	A266 fs	无义介导的 mRNA 衰减 <sup>[23]</sup>

注:\*表示终止密码子;-表示未确定,从编码序列开始(从 ATG 开始);PST 代表富含脯氨酸-丝氨酸-苏氨酸的结构域

表1(续)

碱基位置	碱基改变	氨基酸位置	氨基酸改变	突变类型(参考文献)
357-3	C>G	HD 区	Ser119fsX	剪切位点突变 <sup>[24]</sup>
643	T>C	3, PAX6	S216P	无义突变 <sup>[24]</sup>
242	-	3, PAX6	R242T	无义突变 <sup>[25]</sup>
76	G>A	TRIM44	-	核苷酸替换 <sup>[26]</sup>
2977	C>A	TRIM44	-	核苷酸替换 <sup>[26]</sup>
191	C>A	TRIM44	S64Y	无义突变 <sup>[26]</sup>
463	G>A	外显子 14	G155R	无义突变 <sup>[26]</sup>
1251-1353	103 个碱基缺失	编码区	Pro418Serfs*87	移码突变和-COOH 端的延长 <sup>[27]</sup>
307	C>T	-	R103X	终止密码子 <sup>[28]</sup>
1024	C>T	下游区	R203X	终止密码子 <sup>[29]</sup>
1378	G>A	外显子 4	A321T	无义突变 <sup>[29]</sup>
-	469 kb 碱基缺失	-	-	连锁分析 <sup>[30]</sup>
2	T>A	连接区	M1K	稀有突变 <sup>[31]</sup>
566-2	A>G	-	-	杂合突变 <sup>[32]</sup>
-	-	同源结构域	R203*/E220Gfs*23	终止密码子 <sup>[33]</sup>
-	-	PST 区	R240*	终止密码子 <sup>[33]</sup>
-	-	外显子 8、9、11	R317*	终止密码子 <sup>[33]</sup>
659	A 缺失	外显子 9、7	E220Gfs*23	移码突变 <sup>[33]</sup>
1080	C>T	外显子 10	Arg240Ter	终止密码子 <sup>[34,35]</sup>
857	G 缺失	-	-	移码突变 <sup>[36]</sup>
796	G 缺失	-	A266 fs	移码突变和-COOH 端的延长 <sup>[37]</sup>

注:\* 表示终止密码子;-表示未确定,从编码序列开始(从 ATG 开始);PST 代表富含脯氨酸-丝氨酸-苏氨酸的结构域

## 2 先天性无虹膜症的分子诊断方法

遗传病是现代医学遗传学研究的主要关注点,其中最重要的是寻找与研究人类致病基因。通过研究人类遗传病可以将致病基因与临床症状联系起来,是阐明人类基因功能最重要的方法之一,而且目前通过对遗传病致病基因的研究,可以了解这些基因对应的蛋白质的功能位点或功能区域,为未来基因遗传病靶向治疗提供理论基础。有研究发现<sup>[38]</sup>,不同的分子遗传性研究策略可发现无虹膜症的致病基因,其中部分先天性无虹膜症的主要致病原因是外显子的缺失或基因拷贝数变化。多重连接探针扩增技术、实时定量 PCR 技术及 Southern 印迹杂交或荧光原位杂交等技术均可应用于基因拷贝数检测或外显子缺失<sup>[39]</sup>。

2.1 多重连接探针扩增技术 (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) MLPA 是检测 DNA 大片段拷贝数异常的最新方法,具有高通量、操作简单易行、可重复性高、结果简洁等优点。MLPA 的主要原理不是扩增 DNA 靶序列,而是通过 PCR 扩增与 DNA 靶序列杂交的探针,同时 MLPA 的探针又携带了侧翼序列,该序列可以通过携带荧光的通用引物进行 PCR 扩增,使整个实验过程只需要一

对引物,就能达到同时扩增多个片段的目的。该实验主要有 4 个基本步骤:①DNA 变性及与 MLPA 探针的杂交反应;②连接反应;③探针的 PCR 反应;④扩增产物的毛细管电泳及数据分析。通过 MLPA 技术可以提高检测先天性无虹膜症基因的拷贝数,可以发现 PAX6 基因的大片段丢失,在外显子测序未发现基因突变的患者中应用 MLPA 检测外显子或基因片段单拷贝缺失可提高先天性无虹膜的分子诊断水平,提高临床检测先天性无虹膜症家系突变基因的阳性率。

2.2 家系连锁分析 在家系内,位于同一条染色体上 2 个位点(致病基因与遗传分子标记)在减数分裂的过程中会发生交换与重组,染色体上的 2 个位点间相距越远,发生遗传重组的几率越高,2 个位点在一起传给后代的机会就越小。因此,可以利用家系中的遗传分子标记与疾病位点间的重组率来估算两者之间的距离及连锁程度。位点间的距离的大小可以用重组分数进行估计,它通常用  $\theta$  表示, $\theta$  定义为重组配子数与总配子数的比值,其取值范围是 0~0.5。计算连锁程度,目前最常用的计算方法是优势对数计分(lod score, LODS)法,LOD 值代表两位点连锁的机率与不连锁的机率比的对数值,LOD 值大于 3 表

示肯定连锁, LOD 值小于-2 表示否定连锁, LOD 值介于-2 与 1 之间则需增加家系材料。依据家系连锁分析的定位候选克隆是以二代或二代以上的家系材料为基础, 对家系成员进行遗传分子标记基因分型后, 根据家系中成员提供的减数分裂事件, 对致病基因所在的区域进行定位。家系连锁分析对呈孟德尔遗传、外显率高的单基因遗传病研究具有明显的优势。已有研究表明<sup>[40]</sup>, 该方法是寻找致病基因重要的方法之一。当然, 连锁分析也有缺点, 它需要完整的系谱材料, 这就要求临床尽可能对家系成员的样本进行采集。另外在计算时, 需要给出很多参数, 如基因频率、群体发病率、外显率等, 如果参数设定与实际情况不符合, 则可能会得出错误结论。总之, 家系连锁分析可以提高先天遗传性疾病候选致病基因的鉴定率, 对先天性虹膜症高危胎儿的产前诊断具有重大意义, 有利于人类优生优育的发展。

**2.3 外显子组测序** 外显子组是一个物种基因组中全部外显子区域的总和, 该区域包含着合成蛋白质所需要的信息, 涵盖了与个体表型相关的大部分的功能性变异。外显子组测序是以高效捕获为前提, 相对于全基因组测序, 外显子组测序的覆盖度更深, 数据准确性更高。目前, 外显子组测序不仅在孟德尔疾病<sup>[41]</sup>、歌舞伎面谱综合征<sup>[42]</sup>、重型颅脑畸形<sup>[43]</sup>、家族低 $\beta$ -脂蛋白血症<sup>[44]</sup>等研究中取得成功应用, 还发现了一些新的致病基因突变。这些结果表明外显子组测序可用于寻找单基因疾病、复杂疾病(如糖尿病、肥胖症等代谢综合征)、甚至是癌症的致病基因或易感基因, 但在先天性白内障的研究中尚未得到应用。外显子组测序是一种选择基因组的编码序列的高效策略, 相对于全基因组测序成本较低, 它只对基因组的约 1% 测序, 更加经济、高效, 在相同预算情况下, 可提供更高深度测序; 同时它可以用来发现外显子区的绝大部分的疾病相关变异, 以及常见变异和频率<5%的低频突变。因此, 对某种特殊类型及遗传方式复杂的遗传病, 外显子组测序是一种更好的尝试, 例如检测阿尔茨海默病风险相关的 apoE4 基因中的突变就是将内含子中的一部分插入了蛋白<sup>[45]</sup>, 这是其他检测手段无法发现的。综上, 通过外显子测序可以提高无虹膜症 PAX6 基因突变的发现率, 为临床遗传咨询和产前诊断提供帮助。

### 3 总结

先天性无虹膜症的分子诊断是基因靶向治疗的前提, 但目前仍面临诸多困难, 如先天性无虹膜症的高度遗传异质性、遗传方式多样性、致病基因 PAX6 编码蛋白质的多样性和临床表现型的复杂性。随着

分子生物学的不断发展, 先天性无虹膜症的基因诊断和基因靶向治疗终将成为可能。

### 参考文献:

- [1]丛日昌, 韩丽川, 宋书娟. PAX6 基因突变至先天性无虹膜一家系的临床相关性研究[J]. 眼科新进展, 2008(11): 829-831, 849.
- [2]张陆希. 中国一先天性无虹膜家系基因突变位点的测序及遗传分析[D]. 郑州: 郑州大学, 2017.
- [3]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[J]. Ophthalmic Res, 2012, 47(1): 27-31.
- [4]Cao X, Zhou XM, Gan R, et al. A novel mutation of PAX6 identified in a Chinese twin family with congenital aniridia complicated with nystagmus [J]. Genet Mol Res, 2014, 13 (4): 8679-8685.
- [5]Zhang R, Linpeng S, Wei X, et al. Novel variants in PAX6 gene caused congenital aniridia in two Chinese families [J]. Eye (Lond), 2017, 31(6): 956-961.
- [6]Lin Y, Gao H, Zhu Y, et al. Two Paired Box 6 mutations identified in Chinese patients with classic congenital aniridia and cataract[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(5): 4439-4445.
- [7]Zhuang J, Chen X, Tan Z, et al. A novel de novo duplication mutation of PAX6 in a Chinese family with aniridia and other ocular abnormalities[J]. Sci Rep, 2014(4): 4836.
- [8]Ying M, Han R, Hao P, et al. Inherited KIF21A and PAX6 gene mutations in a boy with congenital fibrosis of extraocular muscles and aniridia[J]. BMC Med Genet, 2013(14): 63.
- [9]Qiu JJ, Zhang Q, Geng ZX, et al. Identification of a novel PAX6 mutation in a Chinese family with aniridia[J]. BMC Ophthalmol, 2019, 19(1): 10.
- [10]Wawrocka A, Budny B, Debicki S, et al. PAX6 3' deletion in a family with aniridia[J]. Ophthalmic Genet, 2012, 33(1): 44-48.
- [11]Sonoda S, Isashiki Y, Tabata Y, et al. A novel PAX6 gene mutation (P118R) in a family with congenital nystagmus associated with a variant form of aniridia [J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2000, 238(7): 552-558.
- [12]Goswami S, Gupta V, Srivastava A, et al. A novel duplication in the PAX6 gene in a North Indian family with aniridia[J]. Int Ophthalmol, 2014, 34(6): 1183-1188.
- [13]Bai Z, Kong X. Extension of the mutation spectrum of PAX6 from three Chinese congenital aniridia families and identification of male gonadal mosaicism [J]. Mol Genet Genomic Med, 2018, 6 (6): 1053-1067.
- [14]Pérez-Solórzano S, Chacón-Camacho OF, Astiazarán MC, et al. PAX6 allelic heterogeneity in Mexican congenital aniridia patients: expanding the mutational spectrum with seven novel pathogenic variants [J]. Clin Exp Ophthalmol, 2017, 45 (9): 875-883.
- [15]Lin Y, Gao H, Zhu Y, et al. Two Paired Box 6 mutations identified in Chinese patients with classic congenital aniridia and cataract[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(5): 4439-4445.

- [16] Park SH, Kim MS, Chae H, et al. Molecular analysis of the PAX6 gene for congenital aniridia in the Korean population: identification of four novel mutations[J]. *Mol Vis*, 2012(18):488–494.
- [17] Sale MM, Craig JE, Charlesworth JC, et al. Broad phenotypic variability in a single pedigree with a novel 1410delC mutation in the PST domain of the PAX6 gene [J]. *Hum Mutat*, 2002, 20(4):322.
- [18] 张钊, 郝胜菊, 张庆华, 等. PAX6 基因新突变导致先天性无虹膜一例[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2019, 36(6):616–619.
- [19] 陈靖, 朱思泉. 先天性无虹膜合并先天性白内障家系致病基因突变分析[J]. *国际眼科杂志*, 2019, 19(8):1396–1399.
- [20] Cai F, Zhu J, Chen W, et al. A novel PAX6 mutation in a large Chinese family with aniridia and congenital cataract[J]. *Mol Vis*, 2010(16):1141–1145.
- [21] Han KH, Lee HJ, Ha IS, et al. A nonsense PAX6 mutation in a family with congenital aniridia[J]. *Korean J Pediatr*, 2016, 59(Suppl 1):S1–S4.
- [22] Giray Bozkaya O, Ataman E, Aksel Kilicarslan O, et al. Identification of a novel frameshift heterozygous deletion in exon8 of the PAX6 gene in a pedigree with aniridia [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(3):2150–2154.
- [23] Liu Q, Wan W, Liu Y, et al. A novel PAX6 deletion in a Chinese family with congenital aniridia[J]. *Gene*, 2015, 563(1):41–44.
- [24] Zhang X, Tong Y, Xu W, et al. Two novel mutations of the PAX6 gene causing different phenotype in a cohort of Chinese patients[J]. *Eye (Lond)*, 2011, 25(12):1581–1589.
- [25] Shukla S, Mishra R. Predictions on impact of missense mutations on structure function relationship of PAX6 and its alternatively spliced isoform PAX6(5a) [J]. *Interdiscip Sci*, 2012, 4(1):54–73.
- [26] Zhang X, Qin G, Chen G, et al. Variants in TRIM44 Cause Aniridia by Impairing PAX6 Expression [J]. *Hum Mutat*, 2015, 36(12):1164–1167.
- [27] Chen JH, Lin W, Sun G, et al. A novel PAX6 deletion in a Chinese family with congenital aniridia [J]. *Mol Vis*, 2012(18):989–995.
- [28] Jin C, Wang Q, Li J, et al. A recurrent PAX6 mutation is associated with aniridia and congenital progressive cataract in a Chinese family[J]. *Mol Vis*, 2012(18):465–470.
- [29] Chao LY, Mishra R, Strong LC, et al. Missense mutations in the DNA-binding region and termination codon in PAX6 [J]. *Hum Mutat*, 2003, 21(2):138–145.
- [30] Liu X, Wu Y, Miao Z, et al. A novel deletion downstream of the PAX6 gene identified in a Chinese family with congenital aniridia[J]. *Ophthalmic Genet*, 2018, 39(4):428–436.
- [31] He F, Liu DL, Chen MP, et al. A rare PAX6 mutation in a Chinese family with congenital aniridia [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4):13328–13336.
- [32] Beby F, Dieterich K, Calvas P. A [c.566–2A>G] heterozygous mutation in the PAX6 gene causes aniridia with mild visual impairment[J]. *Eye (Lond)*, 2011, 25(5):657–658.
- [33] Syrimis A, Nicolaou N, Alexandrou A, et al. Molecular analysis of Cypriot families with aniridia reveals a novel PAX6 mutation [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(2):1623–1627.
- [34] Zhang Y, Ding J, Wang S, et al. Reassessing the pathogenicity of c.2858G>T(p.(G953V)) in COL4A5 Gene: report of 19 Chinese families[J]. *Eur J Hum Genet*, 2020, 28(2):244–252.
- [35] 耿仁芳, 郑洁, 周青, 等. 先天性无虹膜家系致病基因的突变检测[J]. *安徽医科大学学报*, 2015, 50(9):1312–1315.
- [36] Lee PC, Lam HH, Ghani SA, et al. Investigation of a PAX6 gene mutation in a Malaysian family with congenital aniridia[J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(2):3553–3559.
- [37] Liu Q, Wan W, Liu Y, et al. A novel PAX6 deletion in a Chinese family with congenital aniridia[J]. *Gene*, 2015, 563(1):41–44.
- [38] Huang L, Li W, Tang W, et al. A Chinese family with Oguchi's disease due to compound heterozygosity including a novel deletion in the arrestin gene[J]. *Mol Vis*, 2012(18):528–536.
- [39] 董世栖, 董素芳, 乔晨, 等. PAX6 基因突变的鉴定与中国国家系无虹膜症合并妊娠期糖尿病的产前诊断[J]. *国际眼科杂志*, 2019, 19(9):1457–1461.
- [40] 肖紫云, 邢怡桥. 土家族中一个先天性无虹膜家系的临床特点和 PAX6 基因突变位点分析[J]. *中华眼视光学与视觉科学杂志*, 2018, 20(2):109–113.
- [41] Ewans LJ, Schofield D, Shrestha R, et al. Whole-exome sequencing reanalysis at 12 months boosts diagnosis and is cost-effective when applied early in Mendelian disorders [J]. *Genet Med*, 2018, 20(12):1564–1574.
- [42] Kaiwar C, Krusselbrink TM, Kudva YC, et al. Exome sequencing confirms diagnosis of kabuki syndrome in an adult with hodgkin lymphoma and unusually severe multisystem phenotype[J]. *Clin Immunol*, 2019(207):55–57.
- [43] Duerinckx S, Jacquemin V, Drunat S, et al. Digenic inheritance of human primary microcephaly delineates centrosomal and non-centrosomal pathways[J]. *Hum Mutat*, 2020, 41(2):512–524.
- [44] Fan LL, Liu JS, Huang H, et al. Whole exome sequencing identified a novel mutation (p.Ala1884Pro) of  $\beta$ -spectrin in a Chinese family with hereditary spherocytosis [J]. *J Gene Med*, 2019, 21(2–3):e3073.
- [45] Fan KH, Feingold E, Rosenthal SL, et al. Whole-Exome Sequencing Analysis of Alzheimer's Disease in Non-APOE\*4 Carriers[J]. *J Alzheimers Dis*, 2020, 76(4):1553–1565.

收稿日期:2021-10-27;修回日期:2021-11-18

编辑/杜帆