

G11778A 位点突变的 9 例 Leber 遗传性视神经病变患者的临床特征

王 瑛¹, 樊 宁², 刘旭阳², 莫劲松²

作者单位:¹(518000)中国广东省深圳市,深圳大学光电工程学院 光电子器件与系统(教育部/广东省)重点实验室;
²(518000)中国广东省深圳市眼科医院 深圳眼科学重点实验室
深圳大学眼视光学院

作者简介:王瑛,博士,博士后,住院医师,研究方向:青光眼。
通讯作者:莫劲松,硕士,主任医师,研究方向:白内障、青光眼。
mojs@163.com

收稿日期:2016-06-08 修回日期:2016-09-05

Clinical feature of 9 patients harboring mtDNA G11778A mutation with Leber hereditary optic neuropathy

Ying Wang¹, Ning Fan², Xu - Yang Liu², Jin - Song Mo²

¹Key Laboratory of Optoelectronic Devices and Systems of Ministry of Education and Guangdong Province, College of Optoelectronic Engineering, Shenzhen University, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China;²Shenzhen Eye Hospital, Shenzhen Key Laboratory of Ophthalmology, College of Optometry, Shenzhen University, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China

Correspondence to: Jin - Song Mo. Shenzhen Eye Hospital, Shenzhen Key Laboratory of Ophthalmology, College of Optometry, Shenzhen University, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China. mojs@163.com

Received:2016-06-08 Accepted:2016-09-05

Abstract

• **AIM:** To evaluate the clinical feature of 9 patients harboring mitochondrial DNA (mtDNA) G11778A mutation with Leber hereditary optic neuropathy (LHON).

• **METHODS:** Nine LHON patients were enrolled and followed-up between 2012 to 2015 in Shenzhen Eye Hospital, clinical data were collected and analyzed.

• **RESULTS:** Six cases had maternal inheritance history (67%). Three were sporadic cases. The patients aged from 9 to 43 years old, with average age of (22.00±9.42) years. Simultaneous onset with both eyes was in 5 cases (56%). Successively onset was in other 4 cases (44%). The ratio between male and female was 2:1. In the last follow-up, the visual acuity was finger counted in 2 eyes (11%), 0.01-0.1 in 12 eyes (67%), 0.12-0.4 in 2 eyes (11%), ≥0.4 in 2 eyes (11%). All patients had pale disc and clear boundary. In the Humphrey visual field examination, 10 eyes had typically cecocentral or

paracentral scotoma, 8 eyes had diffuse visual field defect.

• **CONCLUSION:** In the 9 LHON patients with mtDNA G11778A mutation, simultaneous onset cases were more than successively onset cases within 1y cases. In most cases, LHON patients kept stable visual acuity. Rare cases had a raise in visual acuity within 1y. Majority patients had typically cecocentral or paracentral visual field scotoma. In the last stage of LHON, visual field present diffused defect. The secondary affected eye was similar performed defect as the former one.

• **KEYWORDS:** Leber hereditary optic neuropathy; Humphrey visual field test; mitochondrial; gene mutation

Citation: Wang Y, Fan N, Liu XY, et al. Clinical feature of 9 patients harboring mtDNA G11778A mutation with Leber hereditary optic neuropathy. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2016;16(10):1952-1955

摘要

目的:探讨经线粒体 DNA 分析(mtDNA)确诊为 G11778A 位点突变阳性的 9 例 Leber 遗传性视神经病变(LHON)患者的临床特征。

方法:收集 2012-12/2015-12 就诊于深圳市眼科医院门诊行 mtDNA 检测均为 G11778A 突变的 9 例 LHON 患者的临床资料,随访并总结其临床特征。

结果:所选 9 例患者中,有母系遗传者 6 例(67%),散发病例 3 例(33%)。就诊年龄 9~43(平均 22.00±9.42)岁。其中双眼同时发病 5 例(56%);双眼先后发病 4 例(44%)。发病者男女比例为 2:1。末次随访时,数指 2 眼(11%);0.01~0.1 者 12 眼(67%);0.12~0.4 者 2 眼(11%);≥0.4 者 2 眼(11%)。所有患者均表现为视盘色苍白、边界清楚。视野检查表现为中心暗点或者旁中心暗点 10 眼,表现为弥漫性视野损害 8 眼。

结论:此次收集的 9 例 G11778A 位点突变的 LHON 患者中,双眼同时发病较 1a 内单眼先后发病的患者情况更为多见。病程末期视力稳定病例较视力持续损害病例多。少数患者在 1a 内患眼有视力提高的情况。视野缺损表现多见中心暗点或者旁中心暗点,病程末期可见视野弥漫性缺损。继发眼的视野损害与先发作眼视野表现类似。

关键词:Leber 遗传性视神经病变;视野检查;线粒体;基因突变

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2016.10.44

引用:王瑛,樊宁,刘旭阳,等. G11778A 位点突变的 9 例 Leber 遗传性视神经病变患者的临床特征. 国际眼科杂志 2016; 16 (10):1952-1955

0 引言

Leber 遗传性视神经病变 (LHON) 是线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 突变引起的一类母系遗传性视神经病变,发病人群以青年男性为主。表现为双侧相继发生或者同时起病的急性、亚急性无痛性中心视力下降、色觉障碍^[1-2]。mtDNA 的位点突变为 LHON 病理机制的分子遗传学基础,主要病变部位为视网膜神经节细胞层以及视神经,其中编码呼吸链复合体 I 亚基的 G3460A、G11778A、T14484C 被认为是 LHON 的高危突变位点^[3-4]。在不同种族背景下,约有 80% ~ 95% 的 LHON 由这三个 mtDNA 位点突变引起。中国人群中 LHON 患者中 G11778A 突变较多,约占 90.9%,其临床预后最差^[5-6]。本文纳入我院门诊 2012-12/2015-12 收治的 9 例经 mtDNA 确诊 G11778A 位点突变阳性的 LHON 患者,初步总结临床资料,探讨其临床特征。

1 对象和方法

1.1 对象 选取 2012-12/2015-12 在深圳市眼科医院确诊为 LHON 且 G11778A 位点突变阳性的 9 例患者纳入本研究,其中男 6 例,女 3 例。发病年龄 9 ~ 43 (平均 22.00 ± 9.42) 岁。6 例有母系遗传史,家系图谱见图 1,散发病例 3 例。

1.2 方法 所有患者均详细询问病史、家族史以及药物史,行验光、裂隙灯检查、直接检眼镜、眼底照相检查、Humphrey 视野检查 (Humphrey visual field, HVF) (绝大部分使用 III 号视标,少数患者因视力差使用 V 号视标),头颅磁共振 (magnetic Resonance Image, MRI) 检查。所有临床检查和基因检测均获得本研究纳入者的知情同意,并经过深圳市眼科医院伦理委员会讨论通过。

LHON 诊断标准为^[1,5]:(1) 双眼无痛性视力先后急性或亚急性下降。(2) mtDNA 检测 ND4 G11778A、ND6 T14484C、ND1 G3460A 至少一个位点阳性,或者其他已报道 LHON 相关基因突变阳性。(3) 急性期视盘充血,周围毛细血管扩张、迂曲,神经纤维层肿胀,但荧光素眼底血管造影 (fundus fluorescein angiography, FFA) 检查无荧光渗漏。(4) 早期眼底可正常,晚期视神经萎缩。(5) 视野缺损可表现为中心、旁中心暗点。(6) 视觉诱发电位 (visual evoked potential, VEP) 振幅和潜伏期异常。(7) 排除颅内肿物及中枢神经系统疾病,排除中毒性、缺血性、放射性等其他遗传学视神经疾病。(8) 母系家族遗传史。

遗传学检查:对所有家系成员进行了 mtDNA 突变位点检测。抽取外周静脉血 2mL,用血 DNA 抽提试剂盒 (德国 Qiagen 公司) 按说明书进行基因组 DNA 的提取。与 LHON 相关的 mtDNA 突变位点 (G3460A、G11778A、T14484C) 引物序列由华大基因合成。PCR 体系:30μL 反应体系中,加入 15μL 2×Taq Master Mix PCR 混合物 (含有聚合酶、缓冲液、dNTP 等),12μL ddH₂O,1.4μL 模板 DNA (30 ~ 40ng),各 0.8μL 10pmol/L 的正向引物和反向引物。PCR 反应使用 My Cycler Thermocycler (Bio-Rad, Hercules, CA) PCR 仪。反应条件:预变性:94℃ 3min;变性:94℃ 30s,退火温度:56℃ 45s,延伸:72℃ 2min,循

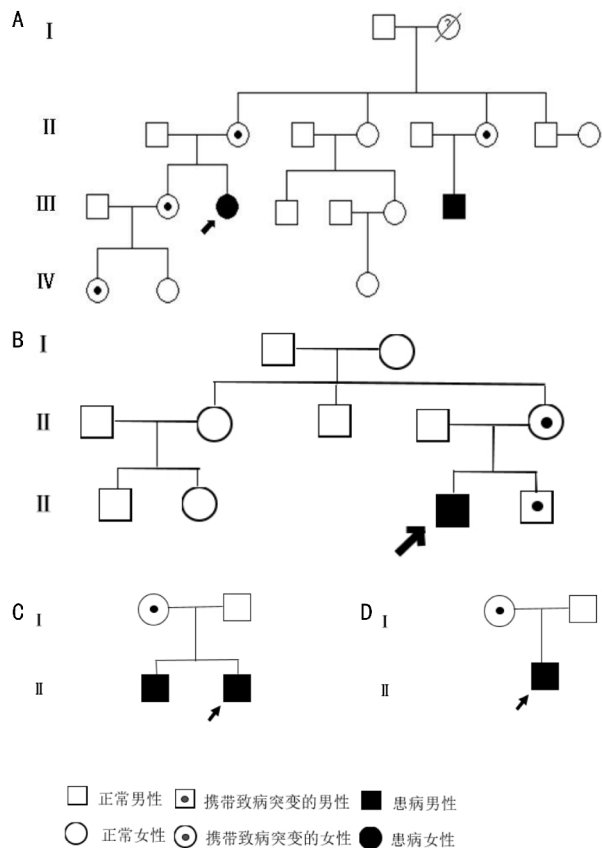


图 1 6 例存在母系遗传的 LHON 患者家系图谱。主要表现为女性携带突变、男性发病,也有少数病例表现为女性发病的情况 A:家系一中有 2 例确诊患者和 4 例携带者; B:家系二中有 1 例患者及 2 例携带者; C:家系三中有 2 例确诊患者和 1 例携带者; D:家系四中有 1 例确诊患者和 1 例携带者。

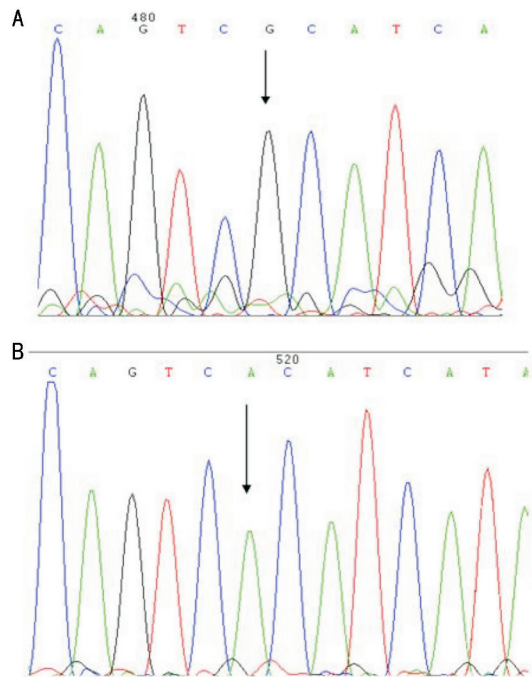


图 2 mtDNA G11778A 位点基因测序结果 A:家系正常成员测序结果; B:患者测序结果;箭头所指的是 G→A 突变位点。

环 10 次;再变性:94℃ 30s,退火温度:61℃ 45s,延伸:72℃ 2min,循环 25 次,最后 72℃ 延伸 7min,反应产物保存于 4℃。使用 10g/L 浓度琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产

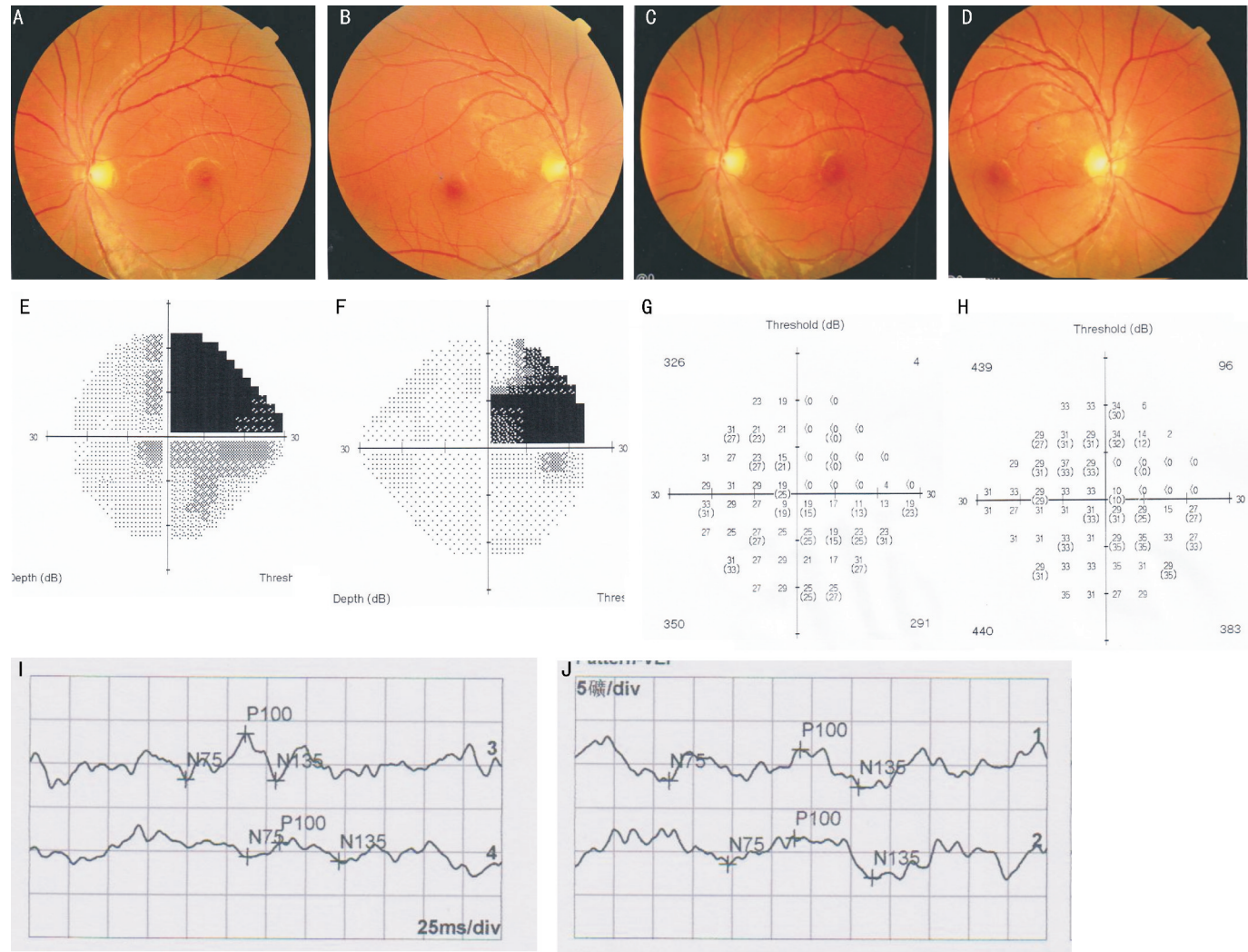


图3 图2中家系三(II:1)患者临床资料 A,B:发病后、治疗前眼底彩照;C,D:治疗后眼底彩照,右眼表现为视盘苍白;E,F:V号视标,视野表现为同向偏盲;G,H:对应视野数值图,数值图中各个点的数字是各个点测得的光敏感度(dB);I,J:双眼VEP,双眼P100明显延迟、振幅下降,中度异常。

物鉴定。送至测序公司进行 Sanger 测序分析,采用 ABI3730XL DNA 自动测序仪测序。将测序结果与公共数据库中人类基因组中相应序列进行比对分析,测序峰图见图2。

随访时间 5mo ~ 1a(平均 8)mo。期间予以患者营养神经药物、局部针灸治疗、改善眼部微循环等对症治疗措施。观察患者的视力、眼底改变以及 HVF 变化情况。以视力提高两行及以上为视力提高。提高或下降一行或视力无变化者为视力稳定,下降两行及以上为视力下降。视力低于 0.1 者每提高 0.02 作为提高一行统计。视野资料扫描存档。

2 结果

经临床检查诊断为 LHON 且筛查为 G11778A 位点突变阳性的 9 例患者。9 例患者中,检出有母系遗传者 6 例(67%),散发病例 3 例(33%)。既往有头颅外伤史者 1 例,双眼同时发病 5 例(56%);双眼先后发病 4 例(44%)。双眼先后发病的间隔时间为 2 ~ 5mo。头颅 MRI 检查中,仅 1 例既往外伤史患者结果显示右侧脑角缺血灶,其余纳入患者 MRI 未见异常。

首次随访时视力情况见表 1,其中视力 1.0 者 3 眼(17%)。18 眼中瞳孔对光反射正常 12 眼(67%),瞳孔传

表 1 9 例患者视力变化情况 眼(%)

时间	眼数	光感	数指	0.01 ~ 0.1	0.12 ~ 0.4	≥ 0.4
首次随访时	18	0	4(22)	8(44)	2(11)	4(22)
末次随访时	18	0	2(11)	12(67)	2(11)	2(11)

入障碍 6 眼(33%)。视盘颜色淡红、界清 10 眼(56%),视盘充血、边界模糊 5 眼(28%),视盘色淡、边界清楚 3 眼(17%),部分眼底表现参见图 3。HVF 检查表现为中心暗点或者旁中心暗点 8 眼,表现为弥漫性视野损害 7 眼,表现为管状视野者 1 眼。

末次随访时视力情况见表 1,4 眼表现为视力提高,视力分别由 0.02、数指提高至 0.4、0.01;双眼视力从数指水平视力提高到 0.05。瞳孔传入障碍 10 眼(56%)。视盘色淡、边界清楚 18 眼。末次随访行 HVF 检查中,表现为中心暗点或者旁中心暗点 10 眼;表现为弥漫性视野损害 8 眼。

3 讨论

本组患者全部为 G11778A 位点突变,根据统计 G11778A 位点突变的患者视力下降最严重,预后最差。本研究中平均年龄 20.00 ± 9.42 岁,男女比例为 2:1,6 例检出有母系家族遗传史。除 2 例 4 眼有微弱的视力提高

的情况之外,其余患者随访末期视力均无波动的情况发生。78%的患眼视力低于0.1。眼底表现为发病眼早期视盘表面毛细血管扩张,其后视盘颜色逐渐变淡白(图3患者眼底彩照示右眼治疗前后典型的眼底改变)。视野主要表现为中心暗点或旁中心暗点,也有少数病例视野缺损表现特异(图3视野表现为同向偏盲),其后发展为弥漫性视野缺损。另外,电生理等反映视神经传导的功能学检查也可表现异常,以上这些临床表现均符合LHON的发病特征^[7-8]。另外,本例中有3例女性患者,其中1例为19岁年轻女性(图2中家系Ⅲ:3),双眼同时发病,矫正视力仅为0.05,4a前视野表现为右眼中心巨大暗点,左眼视野弥漫性视野缺损,其在2.5a前的视野表现为双眼中心巨大暗点。同时该先证者的母亲及姐姐(均携带G11778A位点突变)没有明显临床症状,仅HVF、VEP检查有轻微异常,这进一步表明该突变是导致LHON严重视力丧失的必须条件而非充分条件^[9]。Qu等^[10]报道,两个中国原发mtDNA G11778A位点突变的汉族家系中9例患者均为女性,表现出X连锁或者常染色体隐性遗传模式,其认为这是由于线粒体单倍体特定变异,与表观遗传学以及环境因素的共同作用下带来的特殊表现型。另有研究确定X染色体上的特定区域包含某个高风险单倍体,使得mtDNA G11778A、mtDNA T14484C位点突变的患者丧失视力的风险增加35倍^[11]。这可能与家系一中女性先证者(Ⅲ:3)发病年龄早、病程较重有关,还需做进一步研究分析。Sadun等^[12]对一个有336例成员G11778A位点突变的LHON家系随访5a,随访观察75例携带者眼底表现时发现亚临床携带者眼底多见弓状纤维束局灶性水肿,与视野旁中心弓形暗点相对应。mfVER和mfERG表现出中心反应降低,并具有异常的双眼不对称情况,其观察的家系中2例携带者最终进展成为典型LHON病程。本研究中家系一(图2)中2例携带者(Ⅱ:2,Ⅲ:2)为家系中先证者确诊LHON后,筛查到的有轻微眼科功能学检查异常表现的亚临床携带者,应注意其也有发病的可能性,应特别注意眼底有无神经纤维层水肿现象,以及进展情况。

Oostra等^[13]报道,LHON在发病后6~12mo可逐渐恢复视力,G11778A位点基因突变者在平均发病36mo后仅有4%的患者视力有所恢复。常永业^[14]报告其收集的9例LHON患者患眼视力提高率约50%。说明LHON患者视力提高的比例在各个报告中不尽相同。本研究中,有视力波动最终表现为提高表现的有4眼(22%)。Lin等^[15]报道台湾地区相关视力恢复的案例,在三种位点突变中,mtDNA T14484C位点突变的患者恢复视力的可能性最高(37%~50%);起病年龄介于15~35岁之间的患者相对视力恢复的可能性较大。因本研究纳入群体为G11778A位点突变的LHON患者,但同样本研究中我们观察到2例青少年患者视力不同程度的提高,其起病年龄分别为14、17岁,符合前者所总结的规律。

综上所述,LHON患者的远期视力可能与基因突变类型及起病年龄密切相关。LHON患者典型早期视野表现为典型的中心或旁中心暗点,晚期为弥漫性视野缺损,除此之外,因眼底病理改变不同,有特殊视野表现的可能。对于家系中携带致病突变的成员,应定期随访,观察眼底改变,及时对症治疗。另外,本研究中所表现出的女性患者比例较高、LHON患者视力提高的分子生物学原因还有待于进一步研究。限于由于本研究样本量较小、患者就诊较晚,确诊后患者依从性差等不足,有关疾病病程、临床特点还需进一步研究总结。

参考文献

- 1 刘祖国. 眼科学基础. 北京:人民卫生出版社 2004;188-200
- 2 Yu WMP, Chinnery PF. Leber hereditary optic neuropathy. *Mag Res Myelina Myelin Dis* 2002; 39(3):162-169
- 3 Yu WMP, Griffiths PG, Chinnery PF. Mitochondrial optic neuropathies—disease mechanisms and therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res* 2011; 30(2):81-114
- 4 Salvatore DM, Schon EA. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Am J Med Genetics* 2005;106(1):18-26
- 5 韦企平,孙艳红,宫晓红,等. 中国人Leber遗传性视神经病变线粒体DNA突变的主要类型和临床特征. *中华眼底病杂志* 2004;20(2):78-80
- 6 Jiang P, Liang M, Zhang J, et al. Prevalence of mitochondrial ND4 mutations in 1281 Han Chinese subjects with Leber's hereditary optic neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56(8):4778-4788
- 7 Khetan V, Zanolli M, Levin AV. Acute Bilateral Leber Hereditary Optic Neuropathy. *J Pediatric Ophthalmol Strabismus* 2015; 52(4):256
- 8 张阳阳. Leber遗传性视神经病变研究进展. *中华实验眼科杂志* 2015;33(8):755-759
- 9 Kirkman MA, Yu WMPA, Leonhardt M, et al. Gene-environment interactions in Leber hereditary optic neuropathy. *Brain* 2015;132(9):2317-2326
- 10 Qu J, Wang Y, Tong Y, et al. Leber's hereditary optic neuropathy affects only female matrilineal relatives in two Chinese families. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(10):4906-4912
- 11 Shankar SP, Fingert JH, Carelli V, et al. Evidence for a novel x-linked modifier locus for leber hereditary optic neuropathy. *Ophthalmic Genet* 2008;29(1):17-24
- 12 Sadun AA, Salomao SR, Berezovsky A, et al. Subclinical carriers and conversions in Leber hereditary optic neuropathy: a prospective psychophysical study. *Trans Am Ophthalmol Society* 2006;104:51-61
- 13 Oostra RJ, Bolhuis PA, Wijburg FA, et al. Leber's hereditary optic neuropathy: correlations between mitochondrial genotype and visual outcome. *J Med Genet* 1994; 31(4):280-286
- 14 常永业. 30岁以后发病的Leber遗传性视神经病变患者的临床特征. *中华眼底病杂志* 2014;30(3):270-273
- 15 Lin HZ, Pang CY, Chen SP, et al. Vision improvement in a Taiwanese (Han Chinese) family with Leber's hereditary optic neuropathy. *Kaohsiung J Med Sci* 2012; 28(12):679-682