

## 综述

## 遗传性主动脉疾病基因检测的应用

杨航、罗明尧、殷昆仑、陈前龙综述, 常谦、周洲审校

**摘要** 遗传性主动脉疾病以主动脉扩张、主动脉瘤/夹层为特征,可发生于马凡综合征、Loeys-Dietz 综合征、血管型 Ehlers-Danlos 综合征、家族性胸主动脉瘤/夹层等多种疾病,其共同特点是主动脉瘤发生破裂的风险高,必须通过手术置换损伤部位动脉而避免发生致命性动脉瘤破裂。这些疾病有着不同程度的临床表型重合,仅靠临床症状往往难以区分确诊。这种情况下,基因检测在患者症状完全表现之前即可明确诊断,显示出无可比拟的优势。针对遗传性主动脉疾病基因检测,主要采用基因组合测序的方法,其检测结果对于患者的早期、明确诊断和家属筛查具有重要意义,对于患者手术方案的选择及预后判断也有一定的指导作用。

**关键词** 综述;主动脉疾病;基因

自 20 世纪 90 年代起,随着人类基因组计划的开展,生物医学领域涌现出许多新的理论与技术,疾病的分子诊断作为一个新兴的临床诊断方向逐渐得到广泛应用。近年来,测序平台与技术的不断进步和完善,极大地推动了分子诊断的应用进程。基于 Sanger 双脱氧链终止法的一代测序,对于致病基因单一且外显子数较少的疾病筛查,仍不失为一个好的方法。相比一代测序技术,二代测序技术以其高通量、低成本的优势很快得到了广泛应用。目前临床上应用比较多的是基因组合检测,对相关疾病的一组基因进行检测,旨在筛查已知致病基因是否存在突变。随着测序费用的降低、数据库的积累以及研究者对数据结果解读经验的加深,全外显子组测序的方法已越来越多地应用于复杂疾病或新致病基因的探索研究,并逐步应用于临床诊断。越来越多的遗传异质性疾病的相关致病基因被检出,2010 年~2015 年间,利用全外显子测序技术已经检测出 550 多个疾病相关致病基因<sup>[1]</sup>。经过近二十年的快速发展与积累,分子诊断技术已成为推动当代医学发展的重要前沿领域之一。本文所述的遗传性主动脉疾病分子诊断的成功应用就是基因检测使临床获益的一个很好案例。

遗传性主动脉疾病以主动脉扩张、主动脉瘤/夹层为特征,可发生于马凡综合征(MFS)、Loeys-Dietz 综合征(LDS)、血管型 Ehlers-Danlos 综合征(vEDS)、家族性胸主动脉瘤/夹层(FTAAD)等多种疾病。这些疾病有着不同程度的临床表型重合,又有着各自的疾病特征,早期时候仅依靠临床症状加以区分和诊断。它们的共同特点是主动脉瘤发生破裂的风险高,必须通过手术置换损伤部位动脉而避免发生致命性动脉瘤破裂<sup>[2]</sup>。这些综合征临床异质性很强,患者往往难以具有非常典型的疾病特征,诊断相对困难。因此,基因检测可在患者症状完全表现之前明确诊断,显示出无可比拟的优势。

此外,还可能影响患者手术时机的选择。通常情况下,当患者主动脉直径达到 5.0~5.5 cm 时,医生会建议进行预防性手术干预<sup>[3]</sup>。然而研究结果显示,多达 60% 的急性 A 型主动脉夹层在直径 <5.5 cm 时即发生了破裂<sup>[4]</sup>。在过去十年对 MFS 及相关疾病的研究中,人们已经积累了一定的经验,了解到特定基因的突变可预示着患者主动脉直径 <5.0 cm 时即有发生破裂的风险,以及患者预后情况<sup>[5,6]</sup>。下面就以基因检测在遗传性主动脉疾病诊断和预后评估中的应用为例,阐述基因检测在临床中的重要作用。

## 1 主动脉疾病的遗传学研究

### 1.1 MFS

MFS 是一种常染色体显性遗传的结缔组织疾病,发病率约为 1:3 000~1:5 000<sup>[7]</sup>。病变累及多个器官系统,主要涉及心血管、骨骼和眼睛。其中,心血管系统异常包括主动脉瘤/夹层,是导致 MFS 患者死亡的最主要原因。若无干预,患者平均寿命约为 32 岁。若得到适当干预和治疗,其平均寿命可接近于正常人<sup>[8]</sup>。

鉴于 MFS 临床表现的高度异质性,国际上对于 MFS 的诊断标准也在不断修改和完善。目前国际上普遍采用的是 2010 年修订版 Ghent 标准<sup>[9]</sup>,它更加重视主动脉根部瘤/夹层和晶体异位这两大表现。同时,该诊断标准首次将分子诊断(致病性基因突变筛查)纳入主要诊断条件,并赋予其重要意义。*FBNI* 是 MFS 唯一致病基因,编码原纤维蛋白(fibrillin)-1,是细胞外微纤维的重要组成部分<sup>[10]</sup>。

目前已发现的 *FBNI* 突变已有上千个,多数是单个家庭特有的。其中,错义突变是最常见类型,半胱氨酸的单碱基置换占绝大多数。现有的 *FBNI* 基因型-表型关联分析提示,*FBNI* 基因半胱氨酸发生错义突变的患者发生晶体异位的几率高于其它突变类型<sup>[11]</sup>。此外,早发严重的 MFS(新生儿

作者单位:100037 北京市,中国医学科学院 北京协和医学院 国家心血管病中心 阜外医院 实验诊断中心 心血管疾病分子诊断北京市重点实验室 心血管疾病国家重点实验室(杨航、殷昆仑、陈前龙、周洲),血管外科中心(罗明尧、常谦)

作者简介:杨航 实习研究员 博士 主要从事心血管病分子诊断和病理机制研究 Email:chrisyang\_1999@163.com 通讯作者:周洲 Email:fwcomd@126.com 中图分类号:R541.4 文献标识码:A 文章编号:1000-3614(2016)03-0304-03 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2016.03.024

MFS) 患者, *FBNI* 突变多发生在 24-32 号外显子<sup>[12]</sup>, 具体机制还有待深入研究。

越来越多的临床数据显示, MFS 患者主动脉直径 <5.5 cm 时发生急性破裂的风险较小, 其它动脉发生动脉瘤的几率较低<sup>[13]</sup>。有趣的是, *FBNI* 基因的常见变异位点(基因多态性位点)可增加普通人群患胸主动脉瘤的风险<sup>[14]</sup>, 有研究正在尝试探索是否可以据此判断哪些患者可以采用与 MFS 患者相似的方案进行治疗。

## 1.2 LDS

LDS 是一种常染色体显性遗传的结缔组织疾病, 很多心血管系统和骨骼异常与 MFS 有着相似表现, 曾被定义为 2 型 MFS。2005 年, Loeys 等<sup>[5]</sup>首次将其报道为一个独立的疾病, 患者平均死亡年龄只有 26 岁。除了表现出与 MFS 患者相似的心血管和骨骼异常外, 此类患者还可能表现出一些特有的特征, 如眼距过宽、悬雍垂/腭裂、颅缝早闭等。与 MFS 患者相比, LDS 患者主动脉瘤/夹层临床进展更为迅猛, 患者平均发病年龄和死亡年龄更早, 除主动脉根部外, 其它部位发生动脉瘤和动脉扭曲的风险较高。

美国心脏病协会建议, LDS 患者主动脉直径达到 4.2 cm 时, 即可进行预防性手术<sup>[3]</sup>。然而许多欧洲国家对 MFS 和 LDS 进行类似处理, 待患者主动脉直径达到 5.0 cm 时才进行手术治疗, 却并未发现 LDS 患者出现更早的动脉瘤/夹层破裂<sup>[15]</sup>。因此, LDS 患者在主动脉直径 <5.0 cm 时发生急性动脉瘤/夹层破裂的风险, 可能还需要更大样本量的研究验证。

因为 LDS 的诊断不存在最小诊断标准, 因此致病基因的检测在 LDS 诊断中起着重要作用。*TGFBR1* 和 *TGFBR2* 是最早发现的 LDS 致病基因, 两者引起的患者表型并无明显差别。随着研究的深入, 人们发现 *SMAD3* 和 *TGFBR2* 突变也可引发 LDS, 它们均可导致转化生长因子  $\beta$  ( $TGF\beta$ ) 信号通路增强<sup>[16-18]</sup>。其中, *SMAD3* 突变引发的 LDS 患者, 发生骨关节炎的风险较高<sup>[16]</sup>。

## 1.3 vEDS

vEDS 是一种常染色体显性遗传疾病, 主要表现为除主动脉根部外, 全身中到大血管都容易发生动脉瘤/夹层。骨骼系统异常包括关节松弛(常局限于小关节), 新生儿患者可能出现畸形足、髋关节脱位等。此类患者血管脆弱, 发生器官破裂(脾、肠、妊娠子宫)的风险较高。有数据显示, 患有 vEDS 的妊娠妇女约有 12% 的风险发生围产期动脉破裂或子宫破裂而导致死亡<sup>[19]</sup>。25% 的 vEDS 患者在 20 岁之前表现出明显的症状, 80% 以上在 40 岁以前表现出明显症状, 患者中位死亡年龄为 48 岁<sup>[20]</sup>。*COL3A1* 是目前已知的唯一致病基因<sup>[21]</sup>。

## 1.4 Shprintzen-Goldberg 综合征(SGS)

SGS 与 MFS 和 LDS 均有表型重合, 包括细长指、胸廓畸形、脊柱侧弯等, 最显著特征表现为颅缝早闭。患者少见主动脉膨大, 另外可能出现发育迟缓、智力障碍等特征。*SKI* 是目前已知的唯一致病基因<sup>[22]</sup>。

## 1.5 FTAAD

20% 的非综合征型胸主动脉瘤/夹层(TAAD)患者具有家族史, 意味着是由遗传因素导致的疾病。针对这些 FTAAD 家系进行分析, 发现 FTAAD 主要是常染色体显性遗传、外显度不高的单基因疾病。不同家系乃至同一家系不同患者

间疾病表现程度可能有所不同, 主要表现在发病年龄、直径 <5.0 cm 时升主动脉破裂的风险、病变累及主动脉根部或升主动脉或两者都累及等方面。另外, 患者还可不同程度地具有心血管系统其它并发症, 如二叶主动脉瓣、动脉导管未闭和其它血管疾病(如颅内动脉瘤、闭塞性动脉疾病)等<sup>[23]</sup>。目前已发现 11 个基因与 FTAAD 有关:*FBNI*、*TGFBR1*、*TGFBR2*、*SMAD3* 和 *TGFBR2* 突变已在 6%~8% 的无 MFS 或 LDS 特征的 FTAAD 家系中发现<sup>[24-27]</sup>, 提示这些综合征和 FTAAD 的主动脉瘤形成可能有着相似的病理机制。*ACTA2*、*MYH11*、*MYLK*、*PRKG1*、*SMAD4*、*NOTCH1* 等基因也被发现与 FTAAD 有关<sup>[28]</sup>, 其中 *ACTA2* 是最为常见的 FTAAD 致病基因, 约占患者人数的 14%<sup>[29]</sup>。*ACTA2* 突变除了引起 TAAD 外, 还易引起小动脉闭塞性疾病, 如早发性冠状动脉疾病、中风以及原发性肺动脉高压等。

*ACTA2* 突变患者主动脉瘤常常同时累及主动脉根部和升主动脉, 与 MFS 患者相比, 此类患者更容易发生急性动脉瘤破裂。1/3 的患者主动脉直径 <5.0 cm 时发生了动脉破裂<sup>[6]</sup>。因此对携带 *ACTA2* 突变的 TAAD 患者, 当主动脉直径达到 4.5 cm 时, 即可考虑进行预防性手术。

## 2 遗传性主动脉疾病基因检测方法

针对遗传性主动脉疾病的基因检测, 通常采用基因组合(gene panel)的方法, 即用二代测序的方法对疾病相关的若干基因的外显子及其侧翼序列进行检测, 查找致病性点突变或较小的插入/缺失。国内外市场已出现多个检测主动脉疾病 gene panel 试剂盒, 包含的基因从数个到十几个不等。阜外医院实验诊断中心目前开展遗传性主动脉疾病基因检测项目, 组合中包括了 MFS、LDS、vEDS、SGS、FTAAD 等相关的 15 个基因。到目前为止, 阜外医院实验诊断中心已对近 200 例主动脉瘤患者进行了基因组合检测, 其中症状较为典型的 MFS 患者诊断率高达 90%。另外还对若干容易混淆、难以鉴别诊断的相似病例给予了明确诊断。未找到可能致病突变的 MFS 患者, 若临床症状典型或有明显家族史, 我们会进行大片段插入/缺失检测。对于此类型变异, 二代测序方法本身存在局限性, 难以检测到, 而有报道表明, 未检测到点突变或小片段插入/缺失的 MFS 患者中, 高达 7% 的人存在 *FBNI* 大片段缺失。对于仍未找到致病突变的 MFS 患者以及其它有明显家族史但未找到致病突变的主动脉瘤患者, 我们将进行全外显子组测序, 尝试寻找新致病基因。

## 3 基因检测的意义

首先, 基因检测使得症状前诊断成为可能, 这就为预防性干预和及时的监测及治疗提供了时机。有研究表明, 发生急性动脉破裂(AAD)的 MFS 患者, 即便首次手术成功, 主动脉其它节段需要再次干预的频率也大于未发生 AAD 的患者<sup>[30]</sup>。因此, 疾病的早期诊断尤为重要, 基因检测在此方面显示出了其特有优势。第二, 因为 2010 年修订版 Ghent 标准<sup>[7]</sup>首次将分子诊断(致病性 *FBNI* 基因突变筛查)纳入主要诊断条件, 所以结合基因检测结果, 一些疑似但不满足诊断标准的 MFS 患者得以确诊。第三, 通过基因检测, 临床表型有重合、容易混淆的疾病, 可以得到准确诊断。如 LDS 因疾病罕见, 再加上国内医生对此疾病认识不足, 往往会误诊成 MFS。通过基因检测, 不仅患者得到准确诊断, 临床医生也加深了对相关疾病的认识。第四, 针对某些特定

疾病的基因检测,还可能指导治疗方案,更好地对患者预后进行评估。如 LDS,手术指征(主动脉直径  $>4.2$  cm)要严于 MFS(主动脉直径  $>5.0$  cm)<sup>[3]</sup>;再如 vEDS,妊娠期发生子宫破裂的风险高于其它主动脉瘤患者<sup>[9]</sup>,应予以重视。此外,单基因疾病的基因检测结果,还可指导患者进行生殖选择,通过早期孕检或移植前胚胎诊断等方法,避免将疾病传给下一代,减轻社会和家庭经济和精神的双重负担。

总之,基因检测对于遗传性主动脉疾病患者的早期、明确诊断和家属筛查具有重要意义,对于患者手术方案的选择及预后判断也有一定的指导作用。随着基因检测技术的广泛应用,人们有望发现遗传性主动脉疾病新的致病基因,探索更多、更为确凿的基因型-表型关联,同时结合其它组学技术,如全外显子组、转录组、microRNA 组学分析等<sup>[31]</sup>,进一步剖析遗传性主动脉疾病的发病机理,为患者临床治疗方案的选择提供更为可靠、有力的个性化指导。

#### 参考文献

- [1] Chong JX, Buckingham KJ, Jhangiani SN, et al. The genetic basis of mendelian phenotypes: Discoveries, Challenges, and Opportunities. *Am J Hum Genet*, 2015, 97: 199-215.
- [2] Erbel R, Aboyans V, Boileau C, et al. 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases: Document covering acute and chronic aortic diseases of the thoracic and abdominal aorta of the adult The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Aortic Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 2014, 35: 2873-2926.
- [3] Hiratzka LF, Bakris GL, Beckman JA, et al. 2010 ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with Thoracic Aortic Disease. *Circulation*, 2010, 121: e266-369.
- [4] Pape LA, Tsai TT, Isselbacher EM, et al. Aortic diameter 5.5 cm is not a good predictor of type A aortic dissection: observations from the International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD). *Circulation*, 2007, 116: 1120-1127.
- [5] Loeys BL, Chen J, Neptune ER, et al. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2. *Nat Genet*, 2005, 37: 275-281.
- [6] Disabella E, Grasso M, Gambarin FI, et al. Risk of dissection in thoracic aneurysms associated with mutations of smooth muscle alpha-actin 2 (ACTA2). *Heart*, 2011, 97: 321-326.
- [7] Judge DP, Dietz HC. Marfan's syndrome. *Lancet*, 2005, 1965-1976.
- [8] Silvermann DI, Burton KJ, Gray J, et al. Life expectancy in the Marfan syndrome. *Am J Cardiol*, 1995, 75: 157-160.
- [9] Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, et al. Therevised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet*, 2010, 47: 476-485.
- [10] Handford PA, Downing AK, Reinhardt DP, et al. Fibrillin: from domain structure to supramolecular assembly. *Matrix Biol*, 2000, 19: 457-470.
- [11] Rommel K, Karck M, Haverich A, et al. Identification of 29 novel and nine recurrent fibrillin-1 (FBN1) mutations and genotype-phenotype correlations in 76 patients with Marfan syndrome. *Hum Mutat*, 2005, 26: 529-539.
- [12] Robinson PN, Booms P, Katzke S, et al. Mutations of FBN1 and genotype-phenotype correlations in Marfan syndrome and related fibrillinopathies. *Hum Mutat*, 2002, 20: 153-161.
- [13] Milewicz DM, Dietz HC, Miller DC. Treatment of aortic disease in patients with Marfan syndrome. *Circulation*, 2005, 111: e150-157.
- [14] Lemaire SA, McDonald ML, Guo DC, et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for thoracic aortic aneurysms and aortic dissections spanning FBN1 at 15q21.1. *Nat Genet*, 2011, 43: 996-1000.
- [15] Attias D, Stheneur C, Roy C, et al. Comparison of clinical presentations and outcomes between patients with TGFBR2 and FBN1 mutations in Marfan syndrome and related disorders. *Circulation*, 2009, 120: 2541-2549.
- [16] van de Laar IM, Oldenburg RA, Pals G, et al. Mutations in SMAD3 cause a syndromic form of aortic aneurysms and dissections with early-onset osteoarthritis. *Nat Genet*, 2011, 43: 121-126.
- [17] Boileau C, Guo DC, Hanna N, et al. TGFBR2 mutations cause familial thoracic aortic aneurysms and dissections associated with mild systemic features of Marfan syndrome. *Nat Genet*, 2012, 44: 916-921.
- [18] 李金, 项海燕, 唐燕华. 转化生长因子- $\beta$ /Smad 信号通路在胸主动脉瘤中的研究进展. *中国循环杂志*, 2014, 29: 32-34.
- [19] Germain DP, Herrera-Guzman Y. Vascular Ehlers-Danlos syndrome. *Ann Genet*, 2004, 47: 1-9.
- [20] Pepin M, Schwarze U, Superti-Furga A, et al. Clinical and genetic features of Ehlers-Danlos Syndrome type IV, the vascular type. *N Engl J Med*, 2000, 342: 673-680.
- [21] Superti-Furga A, Gugler E, Gitzelmann R, et al. Ehlers-Danlos syndrome type IV: a multi-exon deletion in one of the two COL3A1 alleles affecting structure, stability, and processing of type III procollagen. *J Biol Chem*, 1988, 263: 6226-6232.
- [22] Doyle AJ, Doyle JJ, Bessling SL, et al. Mutations in the TGF- $\beta$  repressor SKI cause Shprintzen-Goldberg syndrome with aortic aneurysm. *Nat Genet*, 2012, 44: 1249-1254.
- [23] Guo DC, Papke CL, Tran-Fadulu V, et al. Clinical and genetic features of Ehlers-Danlos Syndrome type IV the vascular type. Mutations in smooth muscle alpha-actin (ACTA2) cause coronary artery disease, stroke, and Moyamoya disease, along with thoracic aortic disease. *Am J Hum Genet*, 2009, 84: 617-627.
- [24] Milewicz DM, Michael K, Fisher N, et al. Fibrillin-1 (FBN1) mutations in patients with thoracic aortic aneurysms. *Circulation*, 1996, 94: 2708-2711.
- [25] Tran-Fadulu V, Pannu H, Kim DH, et al. Analysis of multigenerational families with thoracic aortic aneurysms and dissections due to TGFBR1 or TGFBR2 mutations. *J Med Genet*, 2009, 46: 607-613.
- [26] Regalado ES, Guo DC, Villamizar C, et al. Exome sequencing identifies SMAD3 mutations as a cause of familial thoracic aortic aneurysm and dissection with intracranial and other arterial aneurysms. *Circ Res*, 2011, 109: 680-686.
- [27] Boileau C, Guo DC, Hanna N, et al. TGFBR2 mutations cause familial thoracic aortic aneurysms and dissections associated with mild systemic features of Marfan syndrome. *Nat Genet*, 2012, 44: 916-921.
- [28] Campens L, Renard M, Callewaert B, et al. New insights into the molecular diagnosis and management of heritable thoracic aortic aneurysms and dissections. *Pol Arch Med Wewn*, 2013, 123: 693-700.
- [29] Guo DC, Pannu H, Tran-Fadulu V, et al. Mutations in smooth muscle alpha-actin (ACTA2) lead to thoracic aortic aneurysms and dissections. *Nat Genet*, 2007, 39: 1488-1493.
- [30] Schoenhoff FS, Jungi S, Czerny M, et al. Acute aortic dissection determines the fate of initially untreated aortic segments in Marfan syndrome. *Circulation*, 2013, 127: 1569-1575.
- [31] 王晓建, 黄毕, 樊晓寒, 等. 急性主动脉夹层患者主动脉组织和血浆中微小核糖核酸的差异表达. *中国循环杂志*, 2015, 30: 154-158.

(收稿日期: 2015-10-13)

(编辑: 梅平)