

# NF1 新突变致 I 型神经纤维瘤病的遗传学分析

王一丹,杜润璇,石雪冬,赵兵依,高健

(河北省人民医院生殖遗传科,河北 石家庄 050051)

关键词: I 型神经纤维瘤病;NF1 基因;移码突变;全外显子组测序;遗传咨询

中图分类号:R715.5

文献标志码:B

神经纤维瘤病是影响神经、皮肤、骨骼等多系统的遗传性、肿瘤易感性疾病,最常见的类型为 I 型神经纤维瘤病(neurofibromatosis type 1, NF1),约占 96%<sup>[1]</sup>。NF1 是由编码神经纤维瘤蛋白(NF1 蛋白)的 NF1 基因突变所致,遵循常染色体显性遗传,发病率为 1/3 000~1/2 500<sup>[2]</sup>。该病以皮肤牛奶咖啡斑、周围神经多发性神经纤维瘤、腋窝或腹股沟雀斑、脊柱畸形、胫骨假结节和虹膜 Lisch 结节等为典型临床表现,还与恶性肿瘤(如视神经胶质瘤、白血病、嗜铬细胞瘤、胃肠道间质瘤)和神经精神疾病(如癫痫、智力障碍、注意力缺陷多动症、自闭症)密切相关<sup>[3-6]</sup>。NF1 基因是人体突变率较高的基因之一,突变类型多样,迄今为止 HGMD 数据库收录的该基因突变已超过 3 000 种<sup>[7]</sup>,包括由插入/缺失导致的移码突变、错义突变、无义突变等。本研究报告河北省人民医院收治的 1 例家族性遗传性 NF1 患者,应用全外显子测序对先证者及其父母进行基因检测,Sanger 测序对先证者胎儿进行验证,以期丰富 NF1 基因变异谱,为本病的遗传咨询提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 病例资料

先证者,女,27 岁,自诉全身有多发皮下软组织肿块和牛奶咖啡斑,出现时间不详,随年龄增长逐渐增多,目前孕 22 周要求遗传咨询。查体:神志清楚,言语欠流利,注意力不集中,反应迟缓。躯干及四肢遍布大小不等、呈半球形的软疣和牛奶咖啡斑(见图 1),无触痛。脊柱无畸形、无侧弯,各椎体无压痛和叩击痛,四肢肌力正常。先证者父亲及弟弟有相

似症状,先证者母亲未见异常(家系图见图 2)。



图 1 先证者皮肤囊状纤维软瘤及牛奶咖啡斑

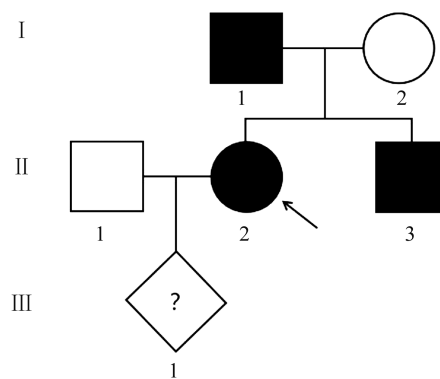


图 2 先证者家系图(黑色箭头指示先证者,圆圈表示女性,方框表示男性,空心表示正常个体,实心表示 NF1 患者)

### 1.2 方法

#### 1.2.1 基因组 DNA 提取

抽取先证者及其父母静脉血各 5 ml 置于 EDTA-K2 抗凝管中,采用血液基因组 DNA 提取试剂盒(德国希尔登凯杰公司)提取静脉血标本中的基

因组 DNA。先证者于孕 26 周在超声引导下羊膜腔穿刺术,抽取羊水 10 mL,离心后留取细胞沉淀,采用基因组 DNA 提取试剂盒提取羊水标本中的基因组 DNA。受试者均签署基因检测知情同意书。

### 1.2.2 全外显子组测序

以受检者血液基因组 DNA 为检测材料,将 DNA 打断并制备文库,通过芯片对目标基因编码区及邻近剪切区的 DNA 进行捕获和富集,后使用 MGISEQ-2000 高通量测序仪(华大基因科技有限公司,中国深圳)进行突变检测。平均测序深度约为 140×,20×覆盖度 99%,30×覆盖度 98%。测序数据采用 NextGene V2.3.4 软件与 UCSC Genome Browser (<http://genome-asia.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks>) 数据库提供的 GRCh37/hg19 人类参考基因组序列进行比对和鉴别遗传变异。

### 1.2.3 生物信息学分析

在 ClinVar (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>)、HGMD (<https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>)、OMIM (<https://omim.org/>) 及 PubMed 数据库中对该突变进行检索。在 ESP 数据库 (<https://evs.gs.washington.edu/EVS/>)、千人数据库 (<https://www.1000genomes.org>) 及 ExAC 数据库 (<https://www.exac.broadinstitute.org>) 中对突变行群体突变频率分析。应用 SWISS-MODEL 软件构建蛋白模型并分析突变前后蛋白结构变化。应用 Mutation Taster (<https://www.mutationtaster.org/>

ChrPos.html) 等多种蛋白功能预测软件对该突变进行危害性预测。应用 UCSC 软件 (<http://genome-asia.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks>) 分析该基因编码蛋白序列在物质间的保守性。依据美国医学遗传学与基因组学学会 (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) 相关指南对变异进行致病性评级分析。

### 1.2.4 Sanger 验证

应用 Primer v3.0 软件针对 NF1 基因 (NM\_001042492.2) 验证位点设计特异性引物。正向引物 5'-TTTCATCTTCCACCATCTTCT -3',反向引物 5'-TCCTTCCATCTATGCCTCCTA-3'。对先证者胎儿的基因组 DNA 样品进行 PCR 扩增并纯化 PCR 扩增产物。PCR 纯化扩增产物经 ABI 3730 自动测序仪(美国 Applied Biosystems 公司)进行正反双向测序,测序结果与 NF1 基因 (NM\_001042492.2) 进行序列比对。

## 2 结果

本家系先证者及其父亲全外显子测序结果显示,位于 17 号染色体长臂 1 区 1 带 2 亚带 (17q11.2) 上的 NF1 基因第 48 位外显子发生 1 处移码突变 c.7177\_7178insT (p.His2393Leufs \* 29),针对该位点对先证者父母进行 Sanger 验证,先证者 NF1 基因的移码突变遗传自父亲,先证者母亲未携带此突变(图 3)。

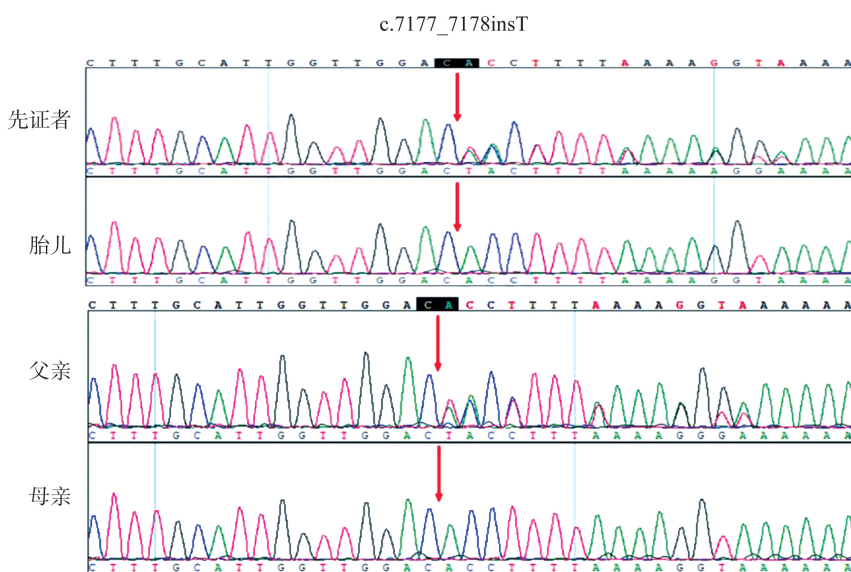


图 3 NF1 基因第 48 号外显子 Sanger 测序图(红色箭头标记突变位点)

该突变在 ClinVar、HGMD、OMIM 以及 PubMed 等数据库中暂无报道,是首次发现的新突变。应用 SWISS-MODEL 分别构建正常 NF1 蛋白模型和突

变蛋白模型。与正常蛋白相比,突变蛋白缺失 398 个氨基酸并失去其正常结构(图 4)。应用 Mutation Taster 对该突变进行危害性预测,结果显示为有害



速度等方面都有较大差异,但总体来说 *NF1* 基因突变完全外显且病情在个体一生中逐渐进展。

*NF1* 累及全身不同系统,临床表现复杂,目前尚无有效的根治措施,只能通过对症治疗缓解局部症状<sup>[19]</sup>。牛奶咖啡斑和真皮神经纤维瘤无恶变倾向,一般无需特殊处理,当神经纤维瘤瘤体较大影响躯体功能时可采取手术切除或激光消融治疗<sup>[20]</sup>。丛状神经纤维瘤具有恶变风险,首选治疗措施为早期手术切除。此外,一些靶向药物也可诱导肿瘤体积缩小,减轻疼痛,延缓丛状神经纤维瘤的进展<sup>[20-22]</sup>。*Ras* 通路抑制剂替吡法尼虽不能用于神经纤维瘤的治疗,但可通过作用于大脑海马体,改善患者情绪<sup>[23]</sup>。其他如癫痫、认知障碍、骨骼异常等,需进行专科评估后制定个体化的诊疗方案<sup>[20]</sup>。

综上所述,本研究对先证者及其家系的 *NF1* 基因突变位点和表型进行了分析,为该家族的遗传咨询和产前诊断提供了帮助,同时也为患者未来的健康管理提供了重要参考。该家系中 *NF1* 基因移码突变 c.7177\_7178insT (p.His2393Leufs \* 29) 为首次报道,丰富了 *NF1* 基因突变谱,为 *NF1* 发病机制、基因型-表型相关性的研究提供了依据,加强了临床医生对该病的认识。

## 参考文献:

- [1] Kresak JK, Walsh M. Neurofibromatosis: a review of *NF1*, *NF2*, and schwannomatosis [J]. *J Pediatr Genet*, 2016, 5(2): 98-104.
- [2] Napolitano F, Dell'Aquila M, Terracciano C, et al. Genotype-phenotype correlations in neurofibromatosis type 1: identification of novel and recurrent *NF1* gene variants and correlations with neurocognitive phenotype [J]. *Genes (Basel)*, 2022, 13(7): 1130.
- [3] Cimino PJ, Gutmann DH. Neurofibromatosis type 1 [J]. *Handb Clin Neurol*, 2018, 148: 799-811. doi:10.1016/b978-0-444-64076-5.00051-x.
- [4] Legius E, Brems H. Genetic basis of neurofibromatosis type 1 and related conditions, including mosaicism [J]. *Child's Nerv Syst*, 2020, 36(10): 2285-2295.
- [5] Vogel AC, Gutmann DH, Morris SM. Neurodevelopmental disorders in children with neurofibromatosis type 1 [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2017, 59(11): 1112-1116.
- [6] Ece Solmaz A, Isik E, Atik T, et al. Mutation spectrum of the *NF1* gene and genotype-phenotype correlations in Turkish patients: seventeen novel pathogenic variants [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2021, 208: 106884. doi:10.1016/j.clineuro.2021.106884.
- [7] 王楷, 王强. 神经纤维瘤病 I 型一家系 *NF1* 基因突变分析及文献复习 [J]. *实用皮肤病学杂志*, 2022, 15(3): 151-154.
- [8] Wang Kai, Wang Qiang. Gene mutation analysis in a Chinese pedigree with neurofibromatosis I and literature review [J]. *Journal of Practical Dermatology*, 2022, 15(3): 151-154.
- [9] Guo XH, Jin X, Wang B, et al. Identifying a novel frameshift pathogenic variant in a Chinese family with neurofibromatosis type 1 and review of literature [J]. *Int J Ophthalmol*, 2023, 16(1): 47-52.
- [10] Bergoug M, Doudeau M, Godin F, et al. Neurofibromin structure, functions and regulation [J]. *Cells*, 2020, 9(11): E2365.
- [11] Welti S, Kühn S, D'Angelo I, et al. Structural and biochemical consequences of *NF1* associated nontruncating mutations in the Sec14-PH module of neurofibromin [J]. *Hum Mutat*, 2011, 32(2): 191-197.
- [12] Scheffzek K, Welti S. Pleckstrin homology (PH) like domains - versatile modules in protein-protein interaction platforms [J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(17): 2662-2673.
- [13] Luo G, Kim J, Song K. The C-terminal domains of human neurofibromin and its budding yeast homologs Iral and Ira2 regulate the metaphase to anaphase transition [J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(17): 2780-2789.
- [14] Anastasaki C, Orozco P, Gutmann DH. RAS and beyond: the many faces of the neurofibromatosis type 1 protein [J]. *Dis Model Mech*, 2022, 15(2): dmm049362.
- [15] Guo HF, Tong JY, Hannan F, et al. A neurofibromatosis-1-regulated pathway is required for learning in *Drosophila* [J]. *Nature*, 2000, 403: 895-898. doi:10.1038/35002593.
- [16] Brown JA, Diggs-Andrews KA, Gianino SM, et al. Neurofibromatosis-1 heterozygosity impairs CNS neuronal morphology in a cAMP/PKA/ROCK-dependent manner [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2012, 49(1): 13-22.
- [17] Ko JM, Sohn YB, Jeong SY, et al. Mutation spectrum of *NF1* and clinical characteristics in 78 Korean patients with neurofibromatosis type 1 [J]. *Pediatr Neurol*, 2013, 48(6): 447-453.
- [18] Kehrer-Sawatzki H, Cooper DN. Classification of *NF1* microdeletions and its importance for establishing genotype/phenotype correlations in patients with *NF1* microdeletions [J]. *Hum Genet*, 2021, 140(12): 1635-1649.
- [19] Peduto C, Zanobio M, Nigro V, et al. Neurofibromatosis type 1: pediatric aspects and review of genotype-phenotype correlations [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(4): 1217.
- [20] 刘妍, 袁裕衡, 马明圣, 等. *NF1* 基因突变致 I 型神经

- 纤维瘤病 8 例临床分析[J]. 临床儿科杂志, 2016, 34(11): 819-824.
- LIU Yan, YUAN Yuheng, MA Mingsheng, et al. NF1 mutation analysis in 8 Chinese patients with neurofibromatosis type 1[J]. Journal of Clinical Pediatrics, 2016, 34(11): 819-824.
- [20] 吴凡, 姬辛娜, 陈倩. 1 型神经纤维瘤病发病机制及治疗进展[J]. 中华儿科杂志, 2023, 61(8): 757-760.
- WU Fan, JI Xinna, CHEN Qian. Research progress on pathogenesis and treatment of neurofibromatosis type 1[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2023, 61(8): 757-760.
- [21] Pellerino A, Verdijk RM, Nichelli L, et al. Diagnosis and treatment of peripheral and cranial nerve tumors with expert recommendations: an European network for RARE CANcers (EURACAN) initiative[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(7): 1930.
- [22] Robertson KA, Nalepa G, Yang FC, et al. Imatinib mesylate for plexiform neurofibromas in patients with neurofibromatosis type 1: a phase 2 trial[J]. Lancet Oncol, 2012, 13(12): 1218-1224.
- [23] Widemann BC, Dombi E, Gillespie A, et al. Phase 2 randomized, flexible crossover, double-blinded, placebo-controlled trial of the farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in children and young adults with neurofibromatosis type 1 and progressive plexiform neurofibromas[J]. Neuro Oncol, 2014, 16(5): 707-718.

(编辑:徐苗蓁)

读者·作者·编者

## 数字使用中的注意事项

a. 数值的修约按照 GB 8170-87《数值修约规则》进行,其简明口诀为“4 舍 6 入 5 看齐,5 后有数进上去,尾数为零向左看,左数奇进偶舍弃”。例如:修约到一位小数,12.149 修约为 12.1;12.169 修约为 12.2;12.150 修约为 12.2,12.250 修约为 12.2。b. 附带长度单位的数值相乘,每个数值后单位不能省略。例如:5 cm×8 cm×10 cm,不能写成 5×8×10 cm 或 5×8×10 cm<sup>3</sup>。c. 一系列数值的计量单位相同时,可以仅在最末一个数字后写出单位符号。例如:60、80、100 mol/L,不必写作 60 mol/L、80 mol/L、100 mol/L。

(本刊编辑部)