

基因检测在诊断儿童呼吸系统遗传病中的应用

王 峡, 符 州, 李 莹*

重庆医科大学附属儿童医院呼吸科, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 儿科学重庆市重点实验室, 重庆

收稿日期: 2022年3月28日; 录用日期: 2022年4月21日; 发布日期: 2022年4月29日

摘 要

近年来基因检测技术不断发展, 逐渐在罕见病的诊断中开展应用。儿童呼吸系统罕见病多与遗传相关, 但其临床表型异质性大, 临床上容易误诊、漏诊。本文对儿童呼吸系统常见单基因病的临床特征、基因诊断的应用进行综述, 旨在提高儿科医生对呼吸系统遗传病的认识, 并合理应用基因检测技术。

关键词

基因检测, 呼吸系统, 儿童

Application of Genetic Testing in the Diagnosis of Respiratory Genetic Diseases in Children

Xia Wang, Zhou Fu, Ying Li*

Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Department of Respiration, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Mar. 28th, 2022; accepted: Apr. 21st, 2022; published: Apr. 29th, 2022

Abstract

In recent years, genetic testing technology has been continuously developed and gradually applied in the diagnosis of rare diseases. Rare diseases of the respiratory system in children are mostly related to genetics, but their clinical phenotypes are highly heterogeneous and are easily mis-

*通讯作者。

diagnosed and missed clinically. This article reviews the clinical characteristics and application of genetic diagnosis of common monogenic diseases of the respiratory system in children, aiming to improve pediatricians' understanding of genetic diseases of the respiratory system and rationally apply genetic testing technology.

Keywords

Genetic Testing, Respiratory System, Children

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着基因检测技术的发展，二代测序成本不断降低，对疾病的潜在遗传病因的认识正在以惊人的速度增长。由于呼吸系统疾病的遗传因素较少被关注、以呼吸系统受累起病或为主要表现的遗传病临床表型不具有特异性等因素，基因检测技术在诊断儿童呼吸系统疾病中的应用仍处于探索阶段。本文旨在对遗传学概念、儿童呼吸系统常见遗传病的临床特征及基因检测技术的应用进行概述，提高儿科医生对呼吸系统遗传性疾病的认识，在临床中合理使用基因检测方法。

2. 遗传概念

了解遗传模式有助于根据患者的家族史明确诊断，然而一些显性遗传疾病存在外显不全的现象，即由于修饰基因或环境因素的影响，使某基因的预期性状没有表现出来。在评估遗传状况时，除了需要考虑遗传模式，疾病外显性也不能忽视。外显性(携带致病基因变异的个体患病的比例)降低很常见，尤其是在常染色体显性遗传疾病中，这会使确定遗传模式变得更加困难[1]。遗传条件通常表现出不同的表达率，这意味着并不是所有具有特定遗传条件的人都有相同的临床特征，这使患者的遗传评估进一步复杂化。有些遗传病的表现和严重程度可能差别很大，即使在家庭成员之间也是如此，例如 SFTPC 基因变异导致间质性肺病可表现为严重的足月儿呼吸窘迫综合征或轻微的活动后气促[2]。

呼吸系统单基因病存在临床异质性、基因异质性和基因突变异质性[3]，增加了临床诊断难度。临床异质性指同一疾病即使是由相同位点突变所致，也可产生不同的临床表现；基因异质性指一种疾病可由多个不同的基因变异引起，如目前研究证明原发性纤毛运动障碍(primary ciliary dyskinesia, PCD)与 40 余个基因位点异常有关[4]；基因突变异质性指一种疾病可由某一基因的不同位点突变引起，这种突变可为移码突变、剪接突变、错义突变、无义突变等。

3. 常见的呼吸系统单基因病

呼吸系统单基因病包括直接起源于呼吸系统的疾病和累及肺部的其他遗传病，其发病率暂无确切统计数据。原发于肺部的包括起源于气道、肺间实质、肺部血管淋巴管的疾病[3]，以呼吸系统症状起病或累及呼吸系统的遗传病包括神经肌肉病、原发性免疫缺陷、遗传代谢病及其他综合征等。

3.1. PCD

是一组源于气道的遗传性疾病，由呼吸道纤毛结构发育缺陷导致纤毛运动障碍引起。在儿童期主要

表现为呼吸道症状,如反复呼吸道感染、慢性咳嗽、慢性鼻窦炎以及支气管扩张等[5]。当同时出现鼻窦炎、内脏反位和支气管扩张时,被称为 Kartagener 综合征,约见于 50%的 PCD 患者[6]。目前报道有 40 余个基因与其发病有关,其中最常见的是 DNAH5、DNAAF1、DNAI1、CCDC39、CCDC40 以及 DNAH11 等,多为常染色体隐性遗传,部分为 X 连锁隐性遗传[7] [8]。对于某些特定基因致病时纤毛超微结构正常(如 DNAH11),或某些致病基因仅会导致纤毛数目减少(如 CCNO),这与感染等继发因素难以区分,此时基因检测则有重要的诊断作用。PCD 致病基因多,越来越多的致病突变的发现可帮助我们从分子层面理解发病机制,也方便了解基因型和表型的关系。目前尚无根治 PCD 的方法,但如果能早期诊断,延缓病情进展,大多可以维持较好的生活质量[9]。

3.2. 囊性纤维化(Cystic Fibrosis, CF)

是由 CFTR 基因突变引起的一种单基因病,为常染色体隐性遗传,目前已报道 2000 多个位点变异[10]。CFTR 基因突变导致氯离子通道失调,引起外分泌腺功能障碍,可累及呼吸、消化、生殖等多系统。呼吸系统的表现主要为慢性咳嗽、咳脓痰、反复呼吸道感染。CF 在高加索人群中多见,一些西方国家已广泛开展新生儿筛查。典型的 CF 表现为汗液氯离子升高、胰腺功能不全及慢性肺部疾病。汗液试验对于 CF 的诊断至关重要。由于我国发病率低、汗液试验开展较少,CF 的诊断主要依靠家族史、典型的临床表现及基因检测。Ivacaftor 是一种 CFTR 调节器增效剂,已于 2012 年获得美国 FDA 批准上市,其可延长 CFTR 通道开放时间,主要用于特定突变 G551D 的治疗[11]。CF 患儿肺部病变的治疗主要是清除呼吸道分泌物和控制感染。

3.3. 弥漫性肺间质疾病(Interstitial Lung Disease, ILD)

是一大类以肺间质广泛受累为主的疾病,其中部分单基因病包括肺泡蛋白沉积症、肺表面活性物质代谢障碍等。以肺表面活性物质代谢障碍为例,1 型(SMDP1)是由 SFTPB 基因突变导致的常染色体隐性遗传疾病,表现为足月儿呼吸窘迫综合征,病情重、常常需要长时间辅助通气治疗,基本在生后数月内死亡;2 型(SMDP2)是由 SFTPC 基因突变导致的常染色体显性遗传病,至今已有报道 40 余个位点与其发病相关,临床表现变异度很大,从新生儿期致死性呼吸窘迫到无症状的成年人均可发生[12];3、4、5 型则分别由 ABCA3、CSF2RA 和 CSF2RB 基因突变导致[13]。此外,SFTPC 基因突变还可导致婴儿肺泡蛋白沉积症[14]。ILD 的治疗仍以对症为主,糖皮质激素、阿奇霉素、羟氯喹等的疗效及安全性需进一步研究[15]。

3.4. 遗传性出血性毛细血管扩张症(Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia, HHT)

是一种血管发育异常的染色体显性遗传病,主要表现为反复鼻出血、皮肤黏膜毛细血管扩张、内脏器官动静脉畸形,表现在呼吸系统的症状为肺动静脉畸形、低氧血症、咯血等。目前已经发现的致病基因包括 ENG、ACVRL1、GDF2 和 Smad4 基因,其中分别导致 HHT1 型和 HHT2 型的 ENG 和 ACVRL1 基因致病性突变最常见,约见于 85%的 HHT 患者[16]。HHT 在儿童期症状常不典型,常缺乏皮肤黏膜毛细血管扩张,可以无或仅有轻微鼻衄,诊断较为困难。对于有阳性家族史的儿童,基因检测是诊断的金标准。在儿童呼吸科,当遇到不明原因低氧血症、肺部同一部位反复病变不吸收的患儿,应想到肺动静脉畸形的可能。当合并肺动静脉瘘或其他脏器动静脉畸形时,则需高度警惕 HHT [17] [18]。HHT 没有根治方法,治疗主要是抗血管生成药物。包括抗 VEGF 抗体(贝伐单抗)、酪氨酸激酶抑制剂(帕唑帕尼)、谷氨酸衍生物(沙利度胺)等,也有新型免疫抑制剂(如他克莫司、雷帕霉素)治疗有效的报道[19]。

4. 检测方法的选择

基因检测是一种强大的临床工具,但其非常复杂。目前儿科使用的方法包括针对某一遗传病的特定

基因检测、全外显子组测序、全基因组测序、拷贝数变异分析等。当选择检测方法时,有许多因素需要考虑,以确保选择合适的检测,达到以较少的花费、尽可能短的时间明确诊断,指导临床治疗。目前,国内以外送基因检测公司为主,应严格把控基因检测指征,避免不必要的医疗负担。一些遗传病本质上是特定遗传条件的临床表现,例如多发动静脉畸形是 HHT 的特征表现[20]。然而许多其他表型,包括呼吸窘迫、支气管扩张和间质性肺疾病,具有广泛而复杂的鉴别诊断。因此,对于动静脉畸形患者,选择一个包括所有已知相关基因变异的 HHT 基因包可能很容易,但对于新生儿呼吸窘迫、支气管扩张等可能有各种遗传和非遗传病因的情况,则需要临床医生收集更多的表型信息来指导选择检测方法。

在选择基因检测时,通常建议首先检测临床怀疑度最高的相对常见的遗传疾病,必要时再扩展到更全面的遗传检测,如全外显子组或全基因组测序。当高度怀疑某一特定的遗传疾病时,一般建议将靶向基因检测或单基因测序作为初始检测策略。特定基因变异致病的单基因病可选择性检测单个基因序列(例如 CF),已知数个基因致病则可选择性检测多个基因组成的基因包检测(例如,肺表面活性物质代谢障碍可检测由 SFTPB、SFTPC、ABCA3 等基因组成的基因包)。全外显子组测序检测所有的编码(外显子)区域,全基因组测序检测整个基因组,当对疾病没有明确的诊断方向或有广泛的鉴别诊断的情况下可作为选择。从整个外显子组和全基因组测序产生的大量数据中提取有利信息需要参考临床资料,因此详细的表型分析尤为重要。

另一种在儿科常用的检测方法是染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA),特别是当出现难以鉴别的综合征或存在神经发育障碍时[21]。CMA 是一种高分辨率的全基因组拷贝数变异(CNVs)检测技术,能够检测大于 1 kb 的各种微缺失/重复,发现基因组致病区域或该区域内的候选致病基因。CMA 可以独立于二代测序使用,也可以作为基因包或全外显子组测序的补充。当通过测序分析在常染色体隐性遗传的基因中检测到单个可能的致病变异时,进一步应用 CMA 或其他检测拷贝数变异的方法来确定其等位基因上是否存在缺失或重复,可明确其致病性。当通过二代测序检测到 CNVs 时,CMA 也可以用来阐明缺失或重复的基因片段。此外,还有一些额外的测试(例如甲基化研究、核型分析和聚合酶链式反应等)可以更准确地检测某些类型的突变,帮助我们了解导致特定遗传病的变异类型或突变谱。

除了基因检测的内容和方法之外,另一个需要考虑的重要问题是检测的适应症。由于其费用昂贵、等待结果的时间长,需严格把控适应症,避免滥用。根据现有的指南及循证医学证据,不同疾病进行基因检测的适应症有所不同。例如,囊性纤维化在欧美国家发病率高,许多国家已经将 CFTR 基因的特定位点变异检测作为新生儿免费筛查项目[10]。在 PCD 的诊断中,过去 TEM 下典型的超微结构缺陷是金标准,然而近年来研究发现约 1/3 PCD 患者纤毛超微结构正常,PCD 的分子诊断不断发展[22]。在 ILD 的诊断中,国外指南已经推荐其作为肺活检之前的检测手段[23]。总之,对于儿童呼吸系统遗传性疾病,进行基因检测的适应症包括:慢性咳嗽、反复呼吸道感染常规治疗效果不佳,不明原因支气管扩张或广泛肺间质改变等。

5. 结果的解读及应用前景

虽然基因检测在临床诊断罕见病中蓬勃开展,但随着测序技术的复杂性日益增加,我国遗传专业人员匮乏、且缺乏系统的遗传病诊断流程,在序列解读方面面临新的挑战。遗传变异是指不同于参考序列的遗传密码的改变,包括单核苷酸碱基对的替代、染色体片段的大量重复或缺失等。每个人都可能有数以千计的基因变异,但其中大多数都没有明确的临床意义。基因检测的目标是识别可能对健康产生影响的变异,并为这些具有特定临床特征的个体提供分子诊断。

遗传变异分为五类:致病的、可能致病的、意义不明确的、良性的和可能良性的变异[24]。对于临床医生来讲,应该对基因变异的分类依据和解释有所了解,以便用于临床,让患者能够得到准确有效的咨

询。然而，临床意义不确定的变异、或者没有足够证据证实良性或致病的变异经常被报道，对这些变异的过度解释可能会导致误诊和不恰当的治疗。虽然有变异解读的标准和指南，但随着越来越多的对遗传疾病的研究开展，关于基因和遗传变异与疾病的关联的认识逐步提高，过去认为没有临床意义的变异可能会在未来被证实是致病性的，以往被判定为致病的突变也可能被重新归类为良性变异。因此，基因检测结果需要定期跟进，以确定对结果的解释是否发生变化，必要时还需重新分析患者的测序数据。当检测结果的意义不确定时，检测其他家庭成员(尤其是父母)或进行额外的临床研究很有必要。在与常染色体隐性遗传相关的基因中，变异须出现在两条不同的染色体上才能引起疾病，通常源于父母，也可能是自发突变。当选择外显子组或基因组测序时，同时检测父母的样本有助于确定在同一基因中发现的两个变异是出现在不同的或同一条染色体上。

基因检测结果为阴性的意义在于，部分可能与严重预后或肺外病变相关的遗传疾病可以被排除，但即使是全外显子组或全基因组测序也不能完全排除患者可能存在潜在的遗传病因。因为由于测试分析技术的限制、尚未发现的基因与疾病的关联等因素，所有基因检测都有可能产生假阴性结果。临床医生应该提前告知患者这种局限性。例如，符合 PCD 临床诊断标准的个体中，仅约 70% 的患者有明确致病意义的基因变异，另外 30% 的患者即使做了基因检测，也可能无法获得确诊[25]。因此，在临床高度怀疑 PCD 的患儿中，基因检测结果为阴性时仍需完成包括纤毛活检在内的其他确诊试验。

在安排基因检测时，对家庭的影响是需要考虑的重要因素。尽管近年来费用已经大幅下降，但基因检测仍然相对昂贵。此外，遗传信息可能影响其他家庭成员，包括需要对高危亲属进行临床筛查或进行基因检测，以确定其后代患遗传病的风险。由于遗传信息是高度敏感的健康数据，有时在症状出现之前就可以预测个人的健康风险(如偶然发现易患某些癌症的基因变异)，因此可能存在基于遗传检测结果的歧视。

虽然基因检测复杂、有一定的局限性，但其有助于明确可能的疾病进展和预后，并指导治疗。随着精准医疗的发展，许多新的靶向治疗和基因治疗应用于罕见病。近年来，基因治疗已经成功应用于一些神经肌肉系统疾病(例如杜氏肌营养不良、脊髓性肌萎缩症)中[26] [27]。在呼吸系统遗传性疾病中，除了吸氧、辅助通气、抗感染等对症治疗以外，基因治疗也在不断发展。例如，Ivacaftor 可治疗具有特异性 CFTR 突变的 CF 患者，应用基因编辑技术在体外修复 DNAH11 变异可恢复纤毛运动功能[28]。随着药物开发的进展，更多的遗传变异在功能上得到验证，将为患者提供更有针对性的治疗，这也增加了对确定特定分子缺陷或致病基因变异的需求。

总之，尽管选择合适的基因检测方法、解读基因检测的结果可能很复杂，但随着测序技术的发展，越来越多的患者被诊断出患有遗传疾病，将遗传学纳入儿童呼吸科临床实践将有助于为这些患者提供更准确的诊断、预后、管理和治疗。未来需要进行更多研究，为呼吸系统遗传性疾病的临床分子诊断奠定基础。

参考文献

- [1] 代丹, 洪达, 时艳艳, 等. SFTPC 突变致儿童间质性肺病伴家系外显不全 3 例并文献复习[J]. 中国循证儿科杂志, 2017, 12(6): 446-451.
- [2] Gupta, A., et al. (2017) Genetic Disorders of Surfactant Protein Dysfunction: When to Consider and How to Investigate. *Archives of Disease in Childhood*, **102**, 84-90. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2012-303143>
- [3] 申昆玲, 姚瑶. 关注儿童呼吸系统单基因病[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(4): 247-249.
- [4] Lucas, J.S., Davis, S.D., Omran, H., et al. (2020) Primary Ciliary Dyskinesia in the Genomics Age. *The Lancet Respiratory Medicine*, **8**, 202-216. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30374-1](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30374-1)
- [5] Boon, M., Smits, A., Cuppens, H., et al. (2014) Primary Ciliary Dyskinesia: Critical Evaluation of Clinical Symptoms and Diagnosis in Patients with Normal and Abnormal Ultrastructure. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **9**, Article No. 11. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-9-11>
- [6] Damseh, N., Quercia, N., Rumman, N., et al. (2017) Primary Ciliary Dyskinesia: Mechanisms and Management. *The Application of Clinical Genetics*, **10**, 67-74. <https://doi.org/10.2147/TACG.S127129>

- [7] Guo, Z., Chen, W., Huang, J., *et al.* (2019) Clinical and Genetic Analysis of Patients with Primary Ciliary Dyskinesia Caused by Novel DNAAF3 Mutations. *Journal of Human Genetics*, **64**, 711-719. <https://doi.org/10.1038/s10038-019-0609-1>
- [8] Davis, S.D., Margaret, R., HyeSeung, L., *et al.* (2018) Primary Ciliary Dyskinesia: Longitudinal Study of Lung Disease by Ultrastructure Defect and Genotype. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **199**, 190-198.
- [9] Polineni, D., Davis, S.D. and Dell, S.D. (2016) Treatment Recommendations in Primary Ciliary Dyskinesia. *Paediatric Respiratory Reviews*, **18**, 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2015.10.002>
- [10] Bell, S.C., Mall, M.A., Gutierrez, H., *et al.* (2020) The Future of Cystic Fibrosis Care: A Global Perspective. *The Lancet Respiratory Medicine*, **8**, 65-124. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30337-6](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30337-6)
- [11] Harrison, M.J., Murphy, D.M., Plant, B.J., *et al.* (2013) Ivacaftor in a G551D Homozygote with Cystic Fibrosis. *New England Journal of Medicine*, **369**, 1280-1282. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1213681>
- [12] Turcu, S., Ashton, E., Jenkins, L., *et al.* (2013) Genetic Testing in Children with Surfactant Dysfunction. *Archives of Disease in Childhood*, **98**, 490-495. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2012-303166>
- [13] Nathan, N., Berdah, L., Delestrain, C., *et al.* (2020) Interstitial Lung Diseases in Children. *La Presse médicale*, **49**, Article ID: 103909. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.06.007>
- [14] Borie, R., Danel, C., Debray, M.P., *et al.* (2011) Pulmonary Alveolar Proteinosis. *The European Respiratory Review*, **20**, 98-107. <https://doi.org/10.1183/09059180.00001311>
- [15] Carolin, K., Reu, S., Teusch, V., *et al.* (2015) Genotype Alone Does Not Predict the Clinical Course of SFTPC Deficiency in Paediatric Patients. *European Respiratory Journal*, **46**, 197-206. <https://doi.org/10.1183/09031936.00129414>
- [16] Athena, K., Hanny, A.S. and Kuter, D.J. (2018) Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia: Diagnosis and Management from the Hematologist's Perspective. *Haematologica*, **103**, 1433-1443. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.193003>
- [17] 刘金荣, 刘辉, 王蓓, 等. 遗传性出血性毛细血管扩张症二例并文献复习[J]. 中华儿科杂志, 2020, 58(8): 674-678.
- [18] 黄艳, 刘沉涛, 郑湘榕. 遗传性出血性毛细血管扩张症 2 例报道[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(9): 1041-1042.
- [19] Robert, F., Desroches-Castan, A., Bailly, S., *et al.* (2020) Future Treatments for Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **15**, Article No. 4. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1281-4>
- [20] McDonald, J., Bayrak-Toydemir, P. and Pyeritz, R.E. (2011) Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia: An Overview of Diagnosis, Management, and Pathogenesis. *Genetics in Medicine*, **13**, 607-616. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3182136d32>
- [21] 胡婷, 朱红梅, 张竹, 等. 染色体微阵列分析在诊断核型分析未见异常智力低下/发育迟滞患儿中的应用[J]. 中华医学遗传学杂志, 2017, 34(2): 169-172.
- [22] Horani, A., Ferkol, T.W., Dutcher, S.K., *et al.* (2016) Genetics and Biology of Primary Ciliary Dyskinesia. *Paediatric Respiratory Reviews*, **18**, 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2015.09.001>
- [23] Kurland, G., Deterding, R.R., Hagood, J.S., *et al.* (2013) An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline: Classification, Evaluation, and Management of Childhood Interstitial Lung Disease in Infancy. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **188**, 376-394. <https://doi.org/10.1164/rccm.201305-0923ST>
- [24] 王秋菊, 沈亦平, 邬玲仟, 等. 遗传变异分类标准与指南[J]. 中国科学, 2017, 47(6): 668-688.
- [25] Paff, T., Kooi, I.E., Moutaouakil, Y., *et al.* (2018) Diagnostic Yield of a Targeted Gene Panel in Primary Ciliary Dyskinesia Patients. *Human Mutation*, **39**, 653-665. <https://doi.org/10.1002/humu.23403>
- [26] Waldrop, M.A. and Kolb, S.J. (2019) Current Treatment Options in Neurology-SMA Therapeutics. *Current Treatment Options in Neurology*, **21**, 25. <https://doi.org/10.1007/s11940-019-0568-z>
- [27] Leigh, F., Ferlini, A., Biggar, D., *et al.* (2018) Neurology Care, Diagnostics, and Emerging Therapies of the Patient with Duchenne Muscular Dystrophy. *Pediatrics*, **142**, S5-S16. <https://doi.org/10.1542/peds.2018-0333C>
- [28] Lai, M., Pifferi, M., Bush, A., *et al.* (2016) Gene Editing of DNAH11 Restores Normal Cilia Motility in Primary Ciliary Dyskinesia. *Journal of Medical Genetics*, **53**, 242-249. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103539>