

# 1 例斑驳病大家系临床表型及基因突变研究

葛宏松<sup>1</sup> 李越<sup>2</sup> 张成<sup>1</sup> 漏琼<sup>1</sup> 李明<sup>2</sup>

**摘要** 目的 研究 1 例中国汉族斑驳病大家系临床表型及其 KIT 基因的突变情况。方法 收集 1 例斑驳病家系 3 代 14 人所有患者及健康个体的临床资料和血样, 提取所有样本以及 100 例健康对照的外周血基因组 DNA, 用 PCR 扩增 KIT 基因所有的外显子并进行 Sanger 测序。结果 先证者前额可见菱形分布的白斑横跨发际线, 白斑处头发发白, 前胸、腹部、四肢可见脱色素斑, 部分白斑周边可见数个色素沉着斑; 此外, 左小腹部可见深褐色咖啡斑。先证者外公、大姨及姐姐有不同程度发病, 先证者母亲未见皮损; 在该家系患者中均检测到 KIT 基因的错义突变 c.272A > T (p. Asn91Ile)。在家系内的先证者健康母亲也检测到 KIT 基因的错义突变 c.272A > T。100 例健康对照及家系内其他健康者中均未发现上述突变。c.272A > T 未见文献报道。结论 斑驳病患者的临床表型存在不一致性, 一种新的 KIT 基因突变 (c.272A > T, p. Asn91Ile) 可能是引起该斑驳病家系临床表型的原因, 该家系存在遗传异质性。

**关键词** 斑驳病; KIT 基因; 突变

中图分类号 R 785.5

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2019)06 - 0954 - 03  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2019.06.025

斑驳病的最具特征的临床表现是额部、发际部呈三角形或菱形白斑, 常伴有横跨发际的白色额发; 此外白斑常见于上胸、腹部及四肢, 偶见于面部、手足、背部等部位。白斑出生后即发生, 终生稳定存在, 部分患者的白斑周边、甚至中央可以出现不同程度和大小色素沉着斑<sup>[1]</sup>。组织病理学显示, 白斑部位黑素细胞完全缺失。临床上表现各异, 尽管是同一个家系成员, 其临床表现也不完全相同。斑驳病是一种罕见的常染色体显性遗传性皮肤病, 由于黑素细胞先天性发育不良导致的色素脱失性疾病

病<sup>[2]</sup>。位于人类染色体 4q12 上的编码肥大/干细胞因子 (stem cell factor, SCF) 细胞表面跨膜受体 KIT 的基因突变 (也称 c-kit 或 CD117 基因), 导致胚胎发育期黑素母细胞的增殖、分化和迁移发生障碍, 从而引起斑驳病的发生<sup>[3]</sup>。到目前为止在斑驳病中, 已有 70 多个 KIT 基因突变被报道<sup>[2-7]</sup>。该研究报道 1 例斑驳病大家系中存在新的 KIT 基因突变位点及外显不全表现。

## 1 材料与方法

**1.1 家系情况** 1 家 3 代 14 位成员, 其中患者 4 例, 见家系图 1。先证者 (III:2), 男 2 月, 父母非近亲结婚。查体: 一般情况良好, 发育正常。皮肤科专科检查: 先证者出生时即发现前额可见菱形分布的白斑横跨发际线, 白斑处头发为白发, 前胸、腹部、四肢可见弥漫性分布且相互融合的大片状脱色素斑, 部分白斑周边可见数个类圆形钱币大小的淡褐色色素沉着斑, 面积超过 50%。此外, 左小腹部可见深褐色咖啡斑。家系其他成员调查: 先证者外公及大姨前额、双小腿有大面积界限清晰的白斑, 部分白斑内可见少许散在的色素斑, 先证者姐姐双小腿有大面积界限清晰的白斑, 先证者母亲未见明显皮损; Wood 灯下可见大片状界清的脱色素白斑, 同时白斑区内可见弥漫分布、程度不均的类圆形色素沉着斑。见图 2。

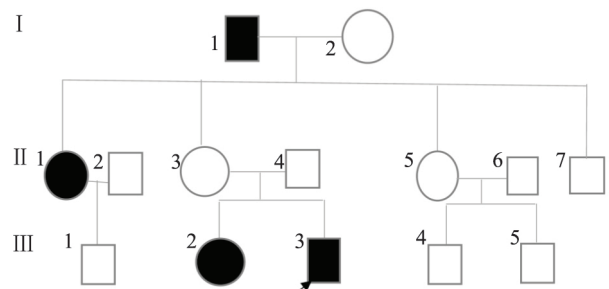


图 1 家系图

**1.2 外周血基因组 DNA 提取** 研究遵照赫尔辛基宣言, 并由安徽省儿童医院伦理委员会审查通过。在征得所有患者以及正常人的知情同意后, 采集所

2019 - 05 - 07 接收

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (编号: 81472867)

作者单位: <sup>1</sup>安徽医科大学儿科临床学院 (安徽省儿童医院) 皮肤科, 合肥 230032

<sup>2</sup>上海交通大学医学院附属新华医院皮肤科, 上海 200092

作者简介: 葛宏松, 男, 硕士, 副主任医师

李明, 男, 博士, 副主任医师, 责任作者, E-mail: Liming01@xihuamed.com.cn



图2 典型病例的临床表现

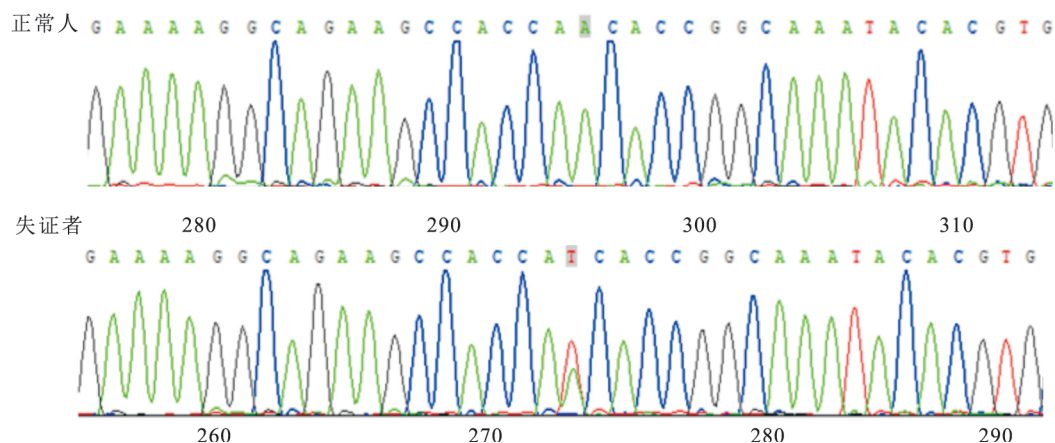


图3 KIT 基因突变图

有家系成员及 100 例与本家系无关正常人的外周静脉血 3 ml。用 DNA 提取试剂盒(购自美国普罗米加公司)提取基因组 DNA。

**1.3 PCR 扩增在线查取 KIT 基因 mRNA 序列**  
经 BLAST 比对得到 KIT 基因的基因组序列(<http://www.genome.ucsc.edu/>) ,应用 Primer3.0 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3/>) 在线平台设计针对 KIT 基因全部编码外显子的特异性引物进行 PCR 扩增,包括外显子及内含子交界 50 bp 的序列。采用 25  $\mu$ l 的反应体系: 10x 缓冲液 2.5  $\mu$ l, 10 mmol/L dNTP 0.5  $\mu$ l, 50 pmol/L 双向引物混合物 0.5  $\mu$ l, TaqDNA 聚合酶 1.0 U, DNA 模板 1.0  $\mu$ l (20 ng) 加双蒸水至 25  $\mu$ l。PCR 扩增程序如下: 5 min 升温至 94  $^{\circ}$ C, 并在 94  $^{\circ}$ C 变性持续 30 s, 于 55 ~ 60  $^{\circ}$ C 退火 持续 30 s, 于 72  $^{\circ}$ C 延伸 持续 45 s, 共 38 个循环, 72  $^{\circ}$ C 终极延伸 45 s。所有 PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测验证。

**1.4 DNA 直接测序** PCR 产物送上海安百隆生物技术有限公司进行正向测序, 测序结果与人类基因组 KIT 基因序列比较, 如发现突变再行反向测序进行验证。

## 2 结果

成功扩增了 KIT 基因内所有外显子以及外显子与内含子交界区的基因序列。先证者的测序结果显示 KIT 基因外显子内第 272 位碱基 A 突变为 T (c. 272A > T); 在家系内另 3 例患者及家系中正常成员先证者母亲也都检测到了该突变, 而在家系中其他正常成员及 100 名正常对照经测序均未发现以上两个突变, 因此排除了以上碱基改变为单核苷酸多态性的可能。见图 3。

## 3 讨论

目前研究表明, 斑驳病主要是由编码 SCF 受体的 KIT 基因突变引起, 该突变导致受体功能的部分缺失<sup>[1]</sup>。人类 KIT 基因组位于 4 号染色体长臂区 (4q12), DNA 全长大约 89 kb, 包括 21 个外显子。SCF 受体是一种受体酪氨酸激酶, 斑驳病患者的 KIT 基因发生突变后, SCF 受体功能下降, 从而影响其介导的多条信号分子通路, 进一步抑制胚胎期的成黑素细胞的增殖, 导致胎儿出生后的色素形成异常, 引起斑驳病。

目前被检测出 KIT 基因的突变类型有:点突变、不同位点发生碱基缺失或缺失、核苷酸剪接位点突变等,以上所有基因突变的结果均可导致 KIT 受体功能不同程度的改变,从而造成酪氨酸激酶功能的部分丧失或缺失,引起斑驳病特有临床症状的发生。迄今报道 KIT 基因突变约有 70 多种,大多数为无义或错义突变,其次是该基因的剪切位点突变。研究发现斑驳病临床表型的轻重与 KIT 基因突变的位点密切相关,KIT 基因突变对 SCF/KIT 信号传导途径功能损害越大,其临床表型越严重。

近年来,国内外相继报道了一些 KIT 基因的错义突变,即 c.1861G>A、c.1872G>A、c.860T>A、c.1861G>A 和 c.2017T>G 等<sup>[2-7]</sup>。本例家系于第 91 位密码子出现错义突变 c.272A>T(p. Asn91Ile),即属于此种突变,家系中患者之间显示出了较大的表型变异,其中最为严重的是先证者,先证者、家系内另 3 例患者及家系中正常成员先证者母亲也都检测到了 KIT 基因外显子内第 272 位碱基 A 突变为 T(c.272A>T)存在该突变,此突变位点经文献检索未发现类似报道。该家系中先证者母亲携带该突变,但目前为止未发现皮肤及毛发色素异常,可能为外显不全,原因可能在于除了 KIT 基因之外,可能存在其他调控基因影响疾病的发生,

当然先证者的母亲随着随访的时间延长,也会出现轻症的临床表现。KIT 基因该位点的突变致病分子机制值得我们进一步研究。

### 参考文献

- [1] Hemati P, du Souich C, Boerkoel C F. 4q12-4q21.21 deletion genotype - phenotype correlation and the absence of piebaldism in presence of KIT haploinsufficiency [J]. *Am J Med Genet A*, 2015, 167A(1): 231-7.
- [2] 程艳艳, 陈少锋, 黄燕君. 斑驳病患者 KIT 基因突变的检测 [J]. *皮肤性病诊疗学杂志* 2014, 21(3): 189-91.
- [3] 邓伟平, 彭琛, 陈敏华, 等. 一例重型斑驳病患者的 KIT 基因突变检测 [J]. *中山大学学报(医学科学版)* 2017, 38(6): 949-54.
- [4] Saleem M D. Biology of human melanocyte development, Piebaldism, and Waardenburg syndrome [J]. *Pediatr Dermatol*, 2019, 36: 72-84.
- [5] 李艳红, 汪慧君, 陈官芝, 等. 斑驳病并发多发性咖啡斑 1 例 KIT 基因突变检测 [J]. *临床皮肤科杂志* 2017, 46(6): 409-12.
- [6] 王蓉蓉, 舒适, 张益, 等. 一个斑驳病家系的 KIT 基因新突变鉴定 [J]. *中华医学遗传学杂志* 2016, 33(5): 637-9.
- [7] 赖永贤, 赵子君, 周倩, 等. 两个汉族家系的五例斑驳病患者的 KIT 基因突变筛查 [J]. *中华医学遗传学杂志* 2018, 35(3): 366-70.

## Study on the clinical phenotype and genotype of a case of mottle disease

Ge Hongsong<sup>1</sup>, Li Yue<sup>2</sup>, Zhang Cheng<sup>1</sup>, et al

<sup>1</sup>Dept of Dermatology Dept of Pediatrics Anhui Medical University(Anhui Provincial Children's Hospital) Hefei 230032;

<sup>2</sup>Dept of Dermatology Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine Shanghai 200092)

**Abstract Objective** To investigate the clinical phenotype and KIT gene mutation in a Chinese Han pedigree with piebaldism. **Methods** Clinical data and blood samples were collected from 14 individuals from 3 generations of the piebaldism family. Peripheral blood genomic DNA of all samples and 100 healthy controls were extracted. All exons of the KIT gene were amplified by PCR and sequenced by Sanger sequencing. **Results** There were rhomboid distribution of white spots across the hairline on the forehead of the proband, white hair on the white spots, depigmentation spots on the chest, abdomen and limbs, and several pigmentation spots around some white spots. In addition, dark brown coffee spots can be seen in the left midsection. The grandfather, aunt and sister of the proband had different degrees of disease, and the mother of the proband had no skin lesions. Missense mutation c.272A>T(p. sn91ile) of KIT gene was detected in all patients and the healthy mother of the proband in this pedigree with piebaldism. No mutations were found among 100 healthy controls and other healthy members of this pedigree. The mutation c.272A>T(p. Asn91Ile) of KIT gene had not been reported in the literature. **Conclusion** The clinical phenotype of patients with piebaldism is inconsistent, and a novel KIT gene mutation (c.272A>T, p. sn91ile) may be the cause of the clinical phenotype this pedigree with piebaldism, which has genetic heterogeneity.

**Key words** piebaldism; KIT gene; mutation