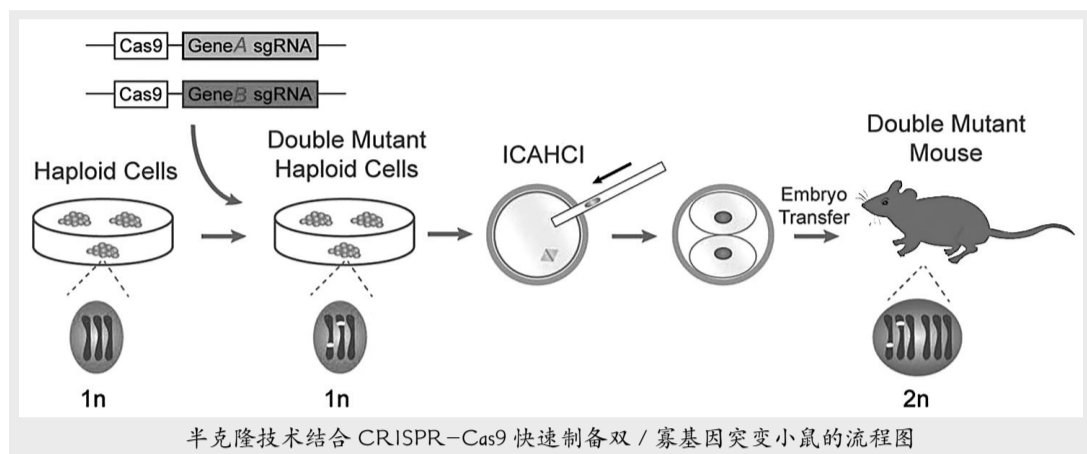




复旦大学附属妇产科医院华克勤教授团队合作研究结硕果

## 在女性生殖系统发育畸形遗传领域取得新突破



**本报讯** 近日，复旦大学附属妇产科医院华克勤教授团队联手附属妇产科医院张锋教授团队、中科院上海生化与细胞研究所李劲松教授团队，提出并证明了“GEN1+WNT9B”双基因突变的协同叠加效应是导致女性苗勒管发育不良的重要原因。该研究成果论文以《遗传分析和半克隆技术双剑合璧，揭示苗勒管发育不良的双基因突变致病模式》(Joint utilization of genetic analysis and semi-cloning technology reveals a digenic etiology of Müllerian anomalies)为题，前不久在线发表于《细胞研究》杂志(Cell Research, IF=17.8)。

### 临床诉求

#### 探究实现源头杜绝的可能

女性苗勒管发育不良是子宫、宫颈、阴道等女性生殖系统发育畸形或缺陷的统称，常合并泌尿系统发育异常，是一种复杂的

先天性疾病。华克勤指出，临床上，女性苗勒管发育不良患者表现为严重程度不一的生殖系统形态结构异常，无子宫无阴道、单角子宫、残角子宫、宫颈阴道闭锁等都属于女性苗勒管发育不良。该疾病听起来陌生，事实上并非罕见。其中，仅阴道发育异常，临床上有文献报道的发生率就占出生女孩数 1/4500。女性苗勒管发育异常严重影响了青少年女性的身心健康和发育成长，并且对该人群长期的健康与生活带来系列问题。

近十年来，华克勤团队已为 100 余例女性生殖道畸形患者进行了微创修复技术，曾完成国际首例腹腔镜下单角和残角子宫融合，成全了患者为人之母的心愿；也曾创新性地使用生物网片及自体组织来代宫颈代阴道，全维度地考虑患者隐私、经济承受力以及生理心理需求。

尽管很多女性经过治疗取得

了满意的疗效，但疾病带来的身心创伤在很大程度上往往弥久难愈。既然女性苗勒管发育异常是一项先天性的疾病，那么能否将防控的关口前移，从源头入手杜绝苗勒管发育不良的可能呢？

### 强强联合

#### 临床与科研的完美碰撞

临床需求往往是基础研究灵感与驱动力的源泉，而基础研究的成果一旦有效转化入临床实践往往也能为临床提供全新的诊疗思路，甚至于创造性地改变疾病的治疗路径。多年来，世界各国研究人员一直都在积极尝试寻找女性苗勒管发育不良的遗传致病机制，国内外学者们已发现许多基因可能参与苗勒管的发育，这些基因也被列为导致该疾病的候选基因。

然而对于复杂人类疾病来说，单基因突变通常很难解释疾病的发生。探究该疾病双基因还

是寡基因模式迫在眉睫。为此，华克勤团队联合张锋团队和李劲松团队，共同对女性苗勒管发育不良问题开展了研究。张锋一直致力于人类基因组拷贝数变异等遗传变异及其致不孕不育、出生缺陷等疾病的基础和转化研究。李劲松曾建立了精子来源的单倍体胚胎干细胞，并将其与 CRISPR-Cas9 基因编辑技术相结合，实现了建立模拟人类疾病的小鼠模型、在体筛选决定胚胎发育的关键基因、在体筛选决定蛋白质功能的关键氨基酸、开展基因组标签计划等。三支精良团队强强联合，对女性苗勒管发育不良共同展开了深入研究。

### 抽丝剥茧 致病基因水落石出

本研究基于华克勤团队收集的 125 例苗勒管发育不良的患者血液样本并展开进一步的表型分型。张锋团队利用实时定量 PCR 技术(qPCR)、全基因组杂交芯片进行了样本分析，发现 9 例携带有罕见的基因组拷贝数变异(copy number variants, CNVs)。

据张锋介绍，在家系遗传分析中，其团队发现部分患者的母亲携带相应的 CNV。这些结果提示单一的遗传变异不足以导致苗勒管发育不良。研究人员进一步利用全外显子测序技术对上述 9 例 CNV 携带者进行了全外显子测序，发现其中 1 例 GEN1/2p24.2 缺失患者还携带有 WNT9B 基因突变、1 例 TBX6/16p11.2 缺失

患者还携带有 GATA3 基因突变。由此推测“GEN1+WNT9B”和“TBX6+GATA3”2 个突变组合可能是导致人类女性苗勒管发育不良的致病原因。

为了更科学、有利的验证女性苗勒管发育不良的双基因致病性，李劲松课题组利用半克隆技术结合 CRISPR-Cas9 基因编辑技术构建了模拟人类疾病的多基因突变小鼠模型。值得一提的是，该团队此次是世界首次应用半克隆技术和 CRISPR-Cas9 基因编辑技术针对 MA 开展实验研究。

研究中，团队利用半克隆技术、CRISPR-Cas9 基因编辑技术快速构建了“Gen1+Wnt9b”和“Tbx6+Gata3”双突变小鼠模型。通过分析发现，“Gen1+Wnt9b”突变组合可以导致小鼠苗勒管发育不良。在 MA 家系和小鼠模型中，GEN1 或 WNT9B 单基因突变都不足以致病，但是两个基因突变的叠加则具有致病性。该实验模型结果证明了“GEN1+WNT9B”双基因突变组合是导致 MA 的致病原因之一。

该研究成果为遗传咨询和筛查提供了重要的理论指导。据悉，今后研究团队将搜寻更多的致病性基因突变组合，为将来生殖道畸形患者接受辅助生殖技术，提供精准的胚胎移植前基因诊断和指导，为该项遗传病的生殖阻断提供更多科学证据，从基因层面指导优生优育，助力“健康中国”战略。

文 / 沈艳 李敏

### 枫林医事

## 国内首例 PIK3CD 基因缺陷罕见病患儿经干细胞移植成功获治

**本报讯** 12 岁的浩浩自出生后出现反复的腹泻、肝脾淋巴结肿大和肺部感染，又逐渐出现了肾脏损害、甲状腺功能异常的脏器损害。反复在国内多家医院住院检查，却始终不能明确病因，直到来到复旦大学附属儿科医院，浩浩被确诊患有 PIK3CD 基因缺陷，这是一种原发免疫缺陷的罕见病。

作为国家儿童医学中心，附属儿科医院已诊断了 25 例此类疾病的患者，成为国内最早诊断并且累积病例最多的医院，具有丰富的治疗经验。附属儿科医院干细胞移植团队和免疫科在发现浩浩对靶向药物治疗不敏感后，决定采取干细胞移植治疗。浩浩接受干细胞回输，经过近四周的移植后反应及排异反应，新的细胞在他的身体里一点一点地成长，随着浩浩顺利走出移植仓，他也成为国内首例 PIK3CD 基因缺陷经干细胞移植治疗成功的患儿。附属儿科医院副院长、血液科学科带头人翟晓文教授表示，该院近年来一直关注着

如何将干细胞移植用于治疗儿科罕见病，这一思路为更多的罕见病患者带去新希望。

### ◆ 两兄弟患有同一罕见病

浩浩自出生后 3 个月起就反复腹泻，1 岁多时又出现了肝脾淋巴结肿大和肺部感染，多次在国内各医院住院检查，还接受了肠镜、气管镜和淋巴结活检等手术，始终无法明确病因，随着病情的进展，还逐渐出现了肾脏损害、甲状腺功能异常的脏器损害。长期反复的住院、检查和用药，令浩浩从小无法和同龄孩子一起玩耍和上学。不幸的是，比浩浩小 5 岁的弟弟萱萱出生后不久也出现了同样的病症，且病情比哥哥还要严重，辗转多地却一直无法确诊。

浩浩和萱萱最终在附属儿科医院免疫科得到了确诊和治疗，他们患 PIK3CD 基因缺陷。附属儿科医院临床免疫科王晓川教授介绍，浩浩和萱萱患有同一种罕见病，这种病是 2013 年才被发现的一种原发性免疫缺陷病，由于先天基因

缺陷导致机体免疫功能异常，患儿主要表现为反复感染、自身免疫性疾病和易患肿瘤。附属儿科医院免疫科已诊治 25 例此类疾病的患儿，并在国际上报道了靶向治疗的有效性。但仍有部分患儿像浩浩和萱萱一样难以控制病情。整合现代各种医疗手段，系统诊治原发性免疫缺陷病，一直是附属儿科医院多学科团队合作的重要工作内容。

在明确诊断后，两兄弟就开始了靶向药物治疗，但不幸的是，两兄弟对药物治疗不敏感，病情仍有反复，最后只剩下干细胞移植治疗可以试试。附属儿科医院血液科副主任钱晓文教授表示，干细胞移植是用健康人的干细胞替代患者的，使罕见病患者存在先天缺陷的血细胞和免疫细胞变成健康供者的细胞，这样先天缺陷的血液病和免疫系统疾病可以被根治。

钱晓文教授坦言，移植需要经历化疗、输注干细胞、移植后感染、移植后排异和其他并发症，这些过程都存在风险，且此前国内还没有

此类疾病干细胞移植的经验。附属儿科医院干细胞移植团队和免疫科在经过多次反复讨论后，最终决定采取干细胞移植来挽救两兄弟的生命。遗憾的是，萱萱在移植前准备的时候就因病情加重不幸去世了。

### ◆ 好心人捐献造血干细胞

不幸中的万幸，浩浩在中华骨髓库上海分库成功配型了一位 37 岁的好心上海大哥哥，他同意为这个不幸的家庭捐献自己的造血干细胞，这一好消息使刚刚承受丧子之痛的父母又重燃起了希望。

在上海市第一人民医院特需病房，附属儿科医院血液科医生从上海市第一人民医院血液科医生的手里接过了还带着志愿者体温的造血干细胞。当这位志愿者听说他的血液会用来救治一个受病痛折磨 12 年的小男孩，拯救一个刚刚失去一个孩子的家庭时，他激动地哭了起来。

带着这位志愿者全家的嘱托，附属儿科医院血液科医生将干细

胞送回医院，顺利地输入了浩浩的体内，国内首例 PIK3CD 缺陷病的干细胞移植手术顺利完成。据钱晓文教授介绍，输入供者采集好的外周血干细胞后，整个移植过程非常顺利。目前，浩浩正在附属儿科医院康复中。

### ◆ 儿科罕见病治疗有了新希望

近年来，附属儿科医院一直关注着如何使用干细胞移植治疗儿科罕见病。翟晓文教授表示，医院积极搭建造血干细胞移植多学科诊疗团队和平台，临床专科团队与诊断团队使罕见病诊断定位到分子水平，血液移植团队实施移植手术，护理、感染、重症、外科等团队密切配合，使有移植指征的罕见病患儿通过这个平台获得根治性治疗。自 2014 年起，附属儿科医院已完成近 200 例儿童罕见病的干细胞移植治疗，治疗成功率为 70%-80%，挽救了很多常规药物和手术治疗无望的罕见病患者，其中原发免疫缺陷病最多。

文 / 罗燕倩