

# EVC基因的复合杂合突变致Ellis-van Creveld综合征的家系遗传学分析：1例报告并文献复习

孙东兰, 陈文琪, 张晶, 彭园园, 袁玉凡, 王朝希, 郭清, 张静\*

石家庄市妇产医院产前诊断分中心/河北省母胎医学重点实验室/石家庄市生殖健康重点实验室, 河北石家庄 050011

[中图分类号] R715.5 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.0966.2024.1017

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 孙东兰, 陈文琪, 张晶, 等. EVC基因的复合杂合突变致Ellis-van Creveld综合征的家系遗传学分析:1例报告并文献复习[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(2): 168-175.

[收稿日期] 2023-08-24 [录用日期] 2023-12-28 [上线日期] 2024-10-17

**[摘要]** **目的** 报告1例超声提示为室间隔缺损、四肢长骨短、多指等疑似Ellis-van Creveld(EVC)综合征, 分析其胎儿的家系遗传学, 并进行文献复习, 以明确其致病原因。**方法** 纳入1例于2021年10月就诊于石家庄市妇产医院产前诊断中心的孕妇, 27岁, 孕1产0, 宫内单胎妊娠, 孕17周时超声检测发现胎儿存在多发畸形。将胎儿先证者的羊水细胞及其父母外周血的基因组DNA依次采用染色体核型分析、染色体微阵列分析(CMA)和全外显子组测序(WES)技术进行遗传学检测。对疑似的致病突变进行先证者及父母的Sanger测序验证。继而利用Minigene体外实验对1个剪接变异进行分析。同时检索PubMed等数据库, 结合文献报道进行分析。**结果** 本例胎儿的染色体核型分析结果未见异常, CMA未检测出具有临床意义的拷贝数变异(CNV)。WES检测结果显示, 胎儿的EVC基因(NM\_153717.2)存在两个突变: 10号外显子的c.1405G>T(p.E469X)无义突变和13号内含子的c.1886+5G>A剪接突变。家系验证: Sanger测序结果显示父亲为10号外显子c.1405G>T(p.E469X)携带者, 母亲为13号内含子c.1886+5G>A携带者, 胎儿的复合杂合突变遗传于父母。根据美国医学遗传学与基因组学学会遗传变异分类标准指南, 判定c.1405G>T(p.E469X)为疑似致病突变(PVS1+PM2), c.1886+5G>A为疑似致病突变(PM2+PM3\_Strong)。Minigene实验结果显示c.1886+5G>A突变造成了13号内含子一段115 bp的滞留, 进一步支持了其致病性。复习文献可知, EVC的典型临床表现为四肢短小、肋骨短、轴后多指、指甲和牙齿发育不良、先天性心脏发育缺陷等, 通过全外显子组检测发现EVC/EVC2的基因突变为其主要的致病原因, 突变类型包括错义突变、大片段的重复/缺失、框内微缺失、无义突变、移码突变、剪接突变等。**结论** EVC基因的复合杂合突变是本例胎儿的致病原因, 该突变的检出扩展了Ellis-van Creveld综合征的基因变异谱。

**[关键词]** 骨骼发育不良; Ellis-van Creveld综合征; 基因; EVC; 全外显子组测序

## Genetic analysis of a family with Ellis-van Creveld syndrome caused by compound heterozygous mutations in the EVC gene: A case report and literature review

Sun Dong-Lan, Chen Wen-Qi, Zhang Jing, Peng Yuan-Yuan, Yuan Yu-Fan, Wang Zhao-Xi, Guo Qing, Zhang Jing\*

Prenatal Diagnostic Center, Shijiazhuang Obstetrics and Gynecology Hospital/Key Laboratory of Maternal and Fetal Medicine of Hebei Province/Shijiazhuang Key Laboratory of Reproductive Health, Shijiazhuang, Hebei 050011, China

\*Corresponding author, E-mail: zhangjing\_hbyd\_81@126.com

This work was supported by the Medical Science Research Project of Hebei Provincial Health Commission (20231661) and the Science and Technology Research and Development Plan of Shijiazhuang (221460465)

**[Abstract]** **Objective** To report the genetic analysis of a family with a fetus suspected of Ellis-van Creveld (EVC) syndrome based on ultrasound findings such as ventricular septal defect (VSD), short long bones in the limbs and polydactyly, and to conduct a literature review to clarify the pathogenic cause. **Methods** A 27-year-old pregnant woman, who was pregnant for the first time and

[基金项目] 河北省卫生健康委医学科学研究课题(20231661); 石家庄市科学技术研究与发展计划(221460465)

[作者简介] 孙东兰, 硕士研究生, 主要从事产前诊断及遗传学方面的研究

[通信作者] 张静, E-mail: zhangjing\_hbyd\_81@126.com

had no prior deliveries, was admitted to the prenatal diagnosis center of Shijiazhuang Obstetrics and Gynecology Hospital in October 2021. At 17 weeks of gestation, ultrasound detected multiple fetal malformations. The genomic DNA of the fetal proband's amniotic fluid cells and the parents' peripheral blood samples were sequentially subjected to chromosomal karyotype analysis, chromosomal microarray analysis (CMA), and whole exome sequencing (WES). Suspected pathogenic mutations were verified by Sanger sequencing in the proband and its parents. Subsequently, a Minigene *in vitro* experiment was used to analyze one splicing mutation. Meanwhile, databases such as PubMed were searched, and literature reports were combined for genetic analysis. **Results** Chromosomal karyotype analysis of the fetus showed no abnormalities, and CMA did not detect any copy number variation (CNV) with clinical significance. WES results revealed two mutations in the *EVC* gene (NM\_153717.2) of the fetus: a nonsense mutation c.1405G>T(p.E469X) in exon 10 and a splicing mutation c.1886+5G>A in intron 13. Family verification using Sanger sequencing showed that the father was a carrier of the c.1405G>T(p.E469X) mutation in exon 10, and the mother was a carrier of the c.1886+5G>A mutation in intron 13. The compound heterozygous mutation of the fetus was inherited from the parents. According to the guidelines of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) for classifying genetic variations, c.1405G>T (p.E469X) was classified as likely pathogenic mutation (PVS1+PM2), and c.1886+5G>A was classified as likely pathogenic mutation (PM2+PM3\_Strong). The Minigene experiment results showed that the c.1886+5G>A mutation caused a 115-bp segment retention in intron 13, further supporting its pathogenicity. Review of the literature showed that the typical clinical manifestations of *EVC* syndrome include short limbs, short ribs, postaxial polydactyly, nail and tooth dysplasia, and congenital heart defects. Gene mutations in *EVC/EVC2* were found to be the main pathogenic cause through whole exome sequencing, with mutation types including missense mutations, large-scale duplications/deletions, in-frame microdeletions, nonsense mutations, frameshift mutations, and splicing mutations. **Conclusions** The compound heterozygous mutations in the *EVC* gene are the pathogenic cause of the fetus. The detection of these mutations expands the genetic variation spectrum of Ellis-van Creveld syndrome.

**[Key words]** skeletal dysplasia; Ellis-van Creveld syndrome; gene, *EVC*; whole exome sequencing

Ellis-van Creveld(*EVC*)综合征(OMIM数据库编号#225500)是一种严重的骨骼发育不良疾病,又名软骨外胚层发育不良(chondroectodermal dysplasia)、中/外胚层发育不良(mesoectodermal dysplasia),最早于1940年由Richard W. B. Ellis和Simon van Creveld命名并详细描述了此病的临床特征<sup>[1]</sup>。*EVC*的典型指征包括四肢短小、肋骨短、轴后多指、指甲和牙齿发育不良等,约60%的患者存在先天性心脏缺陷<sup>[2]</sup>。*EVC*在全球新生儿中的发生率为1/200 000~1/60 000,但在美国宾夕法尼亚州的Amish人群中和西澳大利亚的原住民中发生率较高<sup>[3]</sup>。迄今为止,已有多个基因被报道与*EVC*及其相似疾病有关,包括*EVC*基因(OMIM \*604831)、*EVC2*基因(OMIM \*607261)、*DYNC2H1*基因(OMIM \*603297)、*DYNC2L1*基因(OMIM \*617083)、*SMO*基因(OMIM \*601500)、*PRKACB*基因(OMIM \*176892)等,其中*EVC/EVC2*基因的双等位基因突变导致的病例占比达70%以上<sup>[2]</sup>。根据人类基因突变数据库(human genetic mutation database, HGMD; <https://www.hgmd.cf.ac.uk/>)载录,*EVC*和*EVC2*均有约100个致病性突变被报道,且其数目仍在不断增加。本研究采集1例在孕20周经产前超声诊断为发育落后、多发畸形的胎儿羊水细胞,以及其父母的外周血样本,利用序贯式遗传学诊断方法检测其致病突变,以明确EvC的诊断,旨在为该病的家庭遗传咨询和再生育指导提供帮助。

## 1 病例介绍

**1.1 病史** 本家系籍贯为河北省,于2021年10月就诊于石家庄市妇产医院产前诊断中心。孕妇27岁,孕1产0,宫内单胎妊娠,初诊孕周17<sup>+</sup>周;孕17周超声检测发现:胎儿心脏完全型房间隔缺损,股骨长1.85 cm,肱骨长1.71 cm,双手多指可能。夫妻双方体健,否认近亲婚配史,否认遗传病家族史。胎儿产前超声指征见图1。

**1.2 羊水染色体核型分析及结果** 采用常规羊膜腔穿刺术抽取羊水25 ml,其中20 ml羊水用于细胞培养染色体核型分析。根据美国细胞遗传学协会实验室手册(第2版)<sup>[4]</sup>标准方法制备羊水细胞染色体G显带核型,利用Imager Z.2核型采集分析及配套的iKarus软件(德国Zeiss公司)进行分析,参考人类细胞基因组学命名国际体系(2016)<sup>[5]</sup>的判读标准完成核型分析。经分析,胎儿羊水细胞染色体核型未见异常(图2A)。

**1.3 染色体微阵列分析(chromosomal microarray analysis, CMA)及结果** 采用TIANamp Genomic DNA Kit离心柱式血液gDNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)对剩下的5 ml羊水完成细胞gDNA提取。同时采集胎儿父母3 ml EDTA抗凝血提取gDNA。取2 μl利用紫外分光光度计检测DNA浓度及纯度。使用Cytoscan HD平台(美国Affymetrix公司)进行CMA分析,包括全基因组阵列中的拷贝数变异(copy number variation, CNV)和单核苷酸多态性

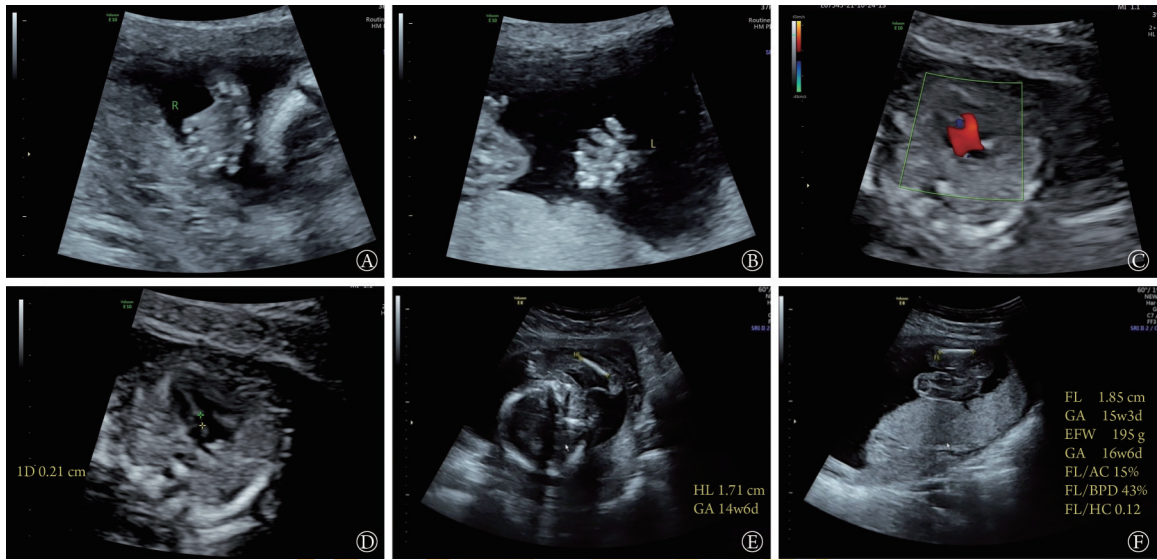


图1 Ellis-van Creveld综合征胎儿1例产前三维超声结果  
A. 胎儿右手呈现轴后多指; B. 胎儿左手呈现轴后多指; C. 胎儿心脏完全型房间隔缺损的血流图; D. 胎儿心脏完全型房间隔缺损的大小; E. 胎儿的肱骨长度明显短小; F. 胎儿的股骨明显短小

图1 Ellis-van Creveld综合征胎儿1例产前三维超声结果

Fig.1 Results of prenatal three-dimensional ultrasound on a fetus with Ellis-van Creveld syndrome

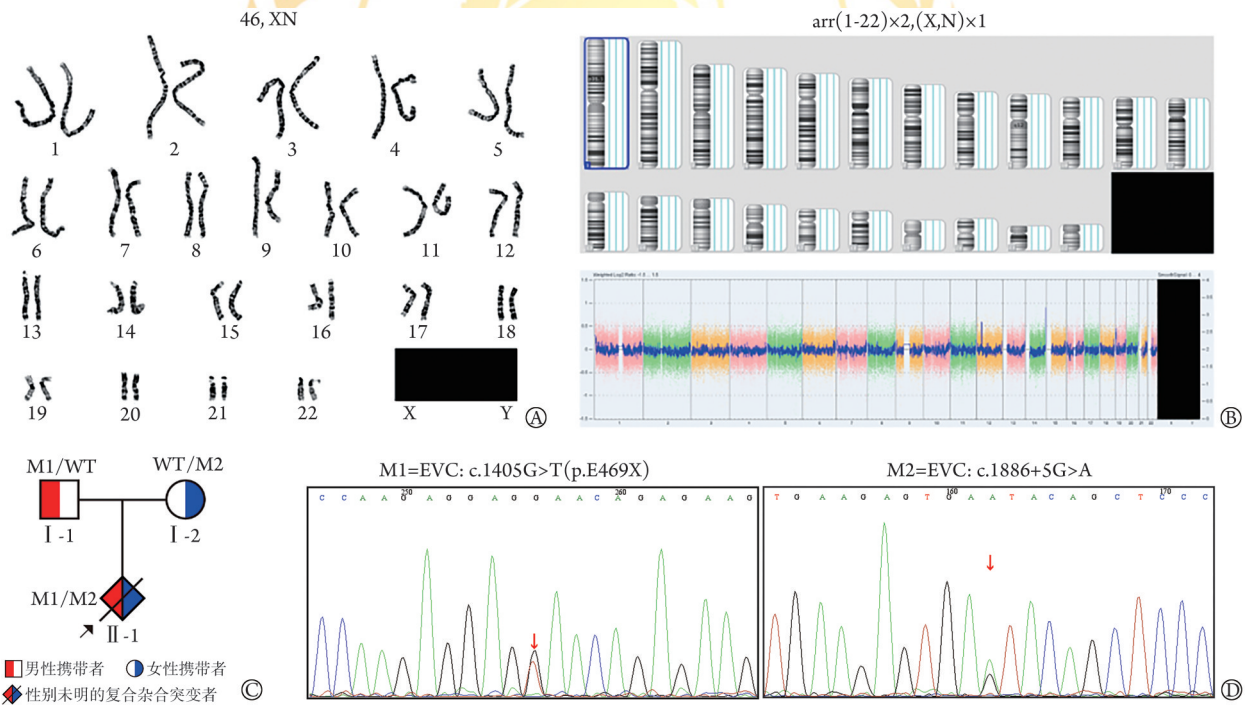


图2 Ellis-van Creveld综合征胎儿的遗传学检测结果  
A. 胎儿染色体核型未见异常; B. 胎儿染色体微阵列分析(CMA)未检出具有临床意义的拷贝数变异; C. 胎儿的家系图(红色为EVC c.1405G>T突变, 用M1表示, 蓝色为EVC c.1886+5G>A突变, 用M2表示, WT为野生型, 箭头指代先证者); D. 两个变异(M1及M2)的Sanger测序峰图结果(箭头所指为突变位点的位置)

图2 Ellis-van Creveld综合征胎儿的遗传学检测结果

Fig.2 Results of fetal genetic testing for Ellis-van Creveld syndrome

(single nucleotide polymorphism, SNP); 按照制造商的标准操作程序进行样品制备及上机; 然后用随机自带的ChAS软件分析数据, 进行变异筛选。依据美国医学遗传学与基因组学协会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)发布的拷贝数变异解读报告标准指南<sup>[6]</sup>判定可能的致病性突变。

经分析, 胎儿来源羊水样本未检测到>100 kb的致病性或疑似致病性CNV(图2B)。

1.4 全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)及结果 采用xGenExome Research Panel进行外显子区序列杂交捕获, 采用定量荧光PCR测试文库富集情况、大小分布及浓度。应用NovaSeq 6000测序平

台完成检测, Picard v 软件(1.57)去除 PCR 重复, 采用 Burrows-Wheeler Aligner 软件将原始数据比对人类基因组参考序列(GRCh38 版本)。通过 Verita Trekker<sup>®</sup> Variants Detection system v2.0(北京贝瑞基因和康生物技术有限公司)和 Genome Analysis Toolkit 软件进行变异发掘(calling), 再利用 ANNOVAR(v2.0)<sup>[7]</sup>和 Enliven<sup>®</sup> Variants Annotation Interpretation 系统(北京贝瑞基因和康生物技术有限公司)根据 ACMG 发布的通用指南进行序列变异注释解读<sup>[8]</sup>。经分析, 胎儿 *EVC* 基因(转录本 NM\_153717.2)存在两个突变, 分别为 10 号外显子的 c.1405G>T(p.E469X)无义突变和 13 号内含子的 c.1886+5G>A 剪接突变。

**1.5 Sanger 测序验证及结果** 针对各疑似致病的位点利用 Primer 3 在线软件(<http://frodo.wi.mit.edu/primer3>)进行引物设计。采用 PCR 法扩增, 利用 Qiagen 纯化试剂盒对产物进行纯化; 使用 ABI-3500 (美国 ThermoFisher 公司)基因分析系统进行上机测序, 通过系统软件进行结果分析显示, c.1405G>T 遗传自父亲, 而 c.1886+5G>A 遗传自母亲。以先证者为核心, 使用 Cyrillic、Adobe Illustrator 软件绘制家系谱图(图 2C、D)。根据 ACMG 遗传变异分类标准指南, 判定 c.1405G>T(p.E469X)为疑似致病突变(证据等级 PVS1+PM2\_Supportting), c.1886+5G>A 为疑似致病突变(证据等级 PM2\_Supportting+PM3\_Strong)。

**1.6 Minigene 体外实验及结果** 利用 pMini-CopGFP 质粒(北京海创科业生物技术有限公司)分别构建 *EVC* 基因野生型和 *EVC*: c.1886+5G>A 突变型的

Minigene 表达载体, 包含 12—14 号外显子及 12、13 号内含子的部分区段。首先, 12 号内含子原始长度 9843 bp, 13 号内含子原始长度 3304 bp, 由于 12 号及 13 号内含子序列较长, 采用 PCR 扩增法截取野生型 *EVC* 基因在该区段邻近外显子的部分区段, 构建后的 12 号内含子长度为 936 bp, 13 号内含子长度为 826 bp, 并通过片段相互连接构成 Mini 片段, 连同 12—14 号外显子序列构入表达载体, 载体构建过程模式图见图 3A。然后, 以该“野生型 Mini 载体”为模板, 利用表 1 中的突变引物构建 c.1886+5G>A 点突变载体。使用的引物序列见表 1, 退火温度 60—62 °C; 克隆筛选及质粒鉴定过程略。野生型、突变型载体分别转染 293T 细胞, 48 h 后提取总 RNA, 并反转录为 cDNA。然后使用 PCR 扩增目的片段 (MiniRT-F: 5'-GGCTAACTAGAGAACCCACTGCTT-A-3'; *EVC*-RT-R: 5'-TGCTCCAGTGCACGCTGTTTC-3'。退火温度为 60 °C)。通过分析 PCR 片段大小及相应的 Sanger 测序, 综合分析结果显示野生型质粒转录 mRNA 序列与预期相符, 包含完整的 12—14 号外显子。c.1886+5G>A 突变型质粒转染后共转录 1 种 mRNA 产物, PCR 扩增和 Sanger 测序结果见图 3B、C, 13 号内含子部分滞留 115 bp 序列在成熟的 mRNA 中, mRNA 的表示方式为 c.1886+1\_1886+115ins; 在未发生无义介导的 mRNA 衰变 (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) 的情况下, 蛋白提前终止形成截短蛋白, 蛋白的表示方式为 Ser630X。野生型与突变型的剪接机制模式图见图 3D。

表 1 Minigene 载体构建使用的引物序列

Tab.1 Primer sequence used for Minigene vector construction

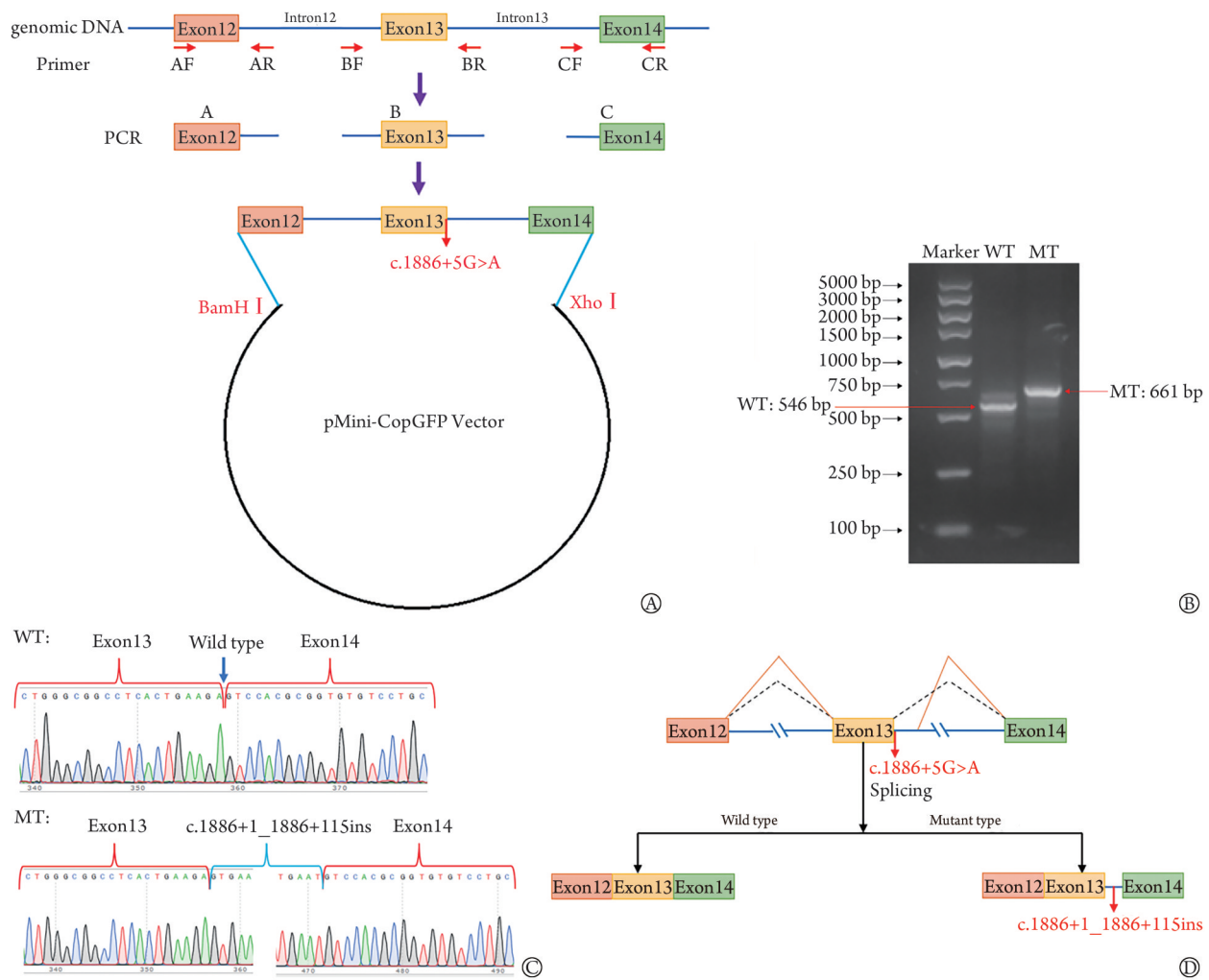
基因	引物序列(5'-3')
<i>EVC</i> -A	正向: AAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCACTTCAGCACCGTGGACACTTCCAGAAG
	反向: ACTAATGTAGGTCCTTCACTCAACCGCACCTGCCTT
<i>EVC</i> -B	正向: AGTGAAGGACCTACATTAGTAAGCATGGTATTGGT
	反向: GTGATTCATGCTTTCCAGCAAATTGGAAAGACCATA
<i>EVC</i> -C	正向: TGCTGGAAGCATGAATCACTGAAATAGGAACTCA
	反向: TTAAACGGGCCCTCTAGACTCGAGCAGGGCCCTGAGCAGCTGCCACTGATGC
<i>EVC</i> -MT	正向: AGAGTGAATACAGCTCCCTGAAGGCCAGGGCTTTG
	反向: CAGGGAGCTGTATTCACTCTTCAGTGAGGCCGCCAGT

*EVC*. Ellis-Van Creveld 综合征; MT. 突变型

## 2 文献复习

在 PubMed 文献数据库中以“Ellis-van Creveld syndrome”“*EVC*”“variant”为关键词检索到相关的英文文献 15 篇并获取全文, 在万方数据库和中国知网检索到 3 篇中文并获取全文, 包括 14 篇个案报道(包括 1~5 例)文献<sup>[9-22]</sup>, 4 篇队列研究的系列病例报

道<sup>[2,23-25]</sup>。研究对象共 166 例, 包括产前超声诊断多发畸形胎儿 37 例, 新生儿 15 例(11 例夭折), 婴幼儿-成人 78 例, 其他 36 例未详细介绍年龄和性别。个案报道所涉及的患者基本资料、突变基因及位点详见表 2; 系列病例报道所涉及的患者基本资料、*EVC*/*EVC2* 基因检出率及突变类型汇总表 3。



A. Minigene 设计模式图; B. 对野生型(WT)及突变型(MT)载体转染后细胞的RNA进行扩增后, 琼脂糖凝胶电泳结果; C. WT及MT细胞的cDNA测序结果; D. c.1886+5G>A突变导致的异常剪接模式图

图3 Ellis-van Creveld综合征胎儿Minigene体外实验结果

Fig.3 Results of fetal Minigene *in vitro* experiment for Ellis-van Creveld syndrome

### 3 讨论

EVC是一种常染色体隐性遗传病, 以先天骨发育不良、外胚层发育不良为核心指征, 有超过一半的患者存在先天性心脏异常, 为常见的致死原因<sup>[1]</sup>。EVC患者的临床表型大多为前臂、小腿、肋骨较短, 胸廓窄, 多指/趾, 指/趾甲畸形, 牙齿发育不良<sup>[21]</sup>; 但在家族间及家族内可出现较强的临床异质性<sup>[2,22,26-27]</sup>。

Ruiz-Perez等<sup>[28-29]</sup>发现, EVC、EVC2基因均位于染色体4p16区域, EVC与EVC2在基因组上以头对头(head-to-head)的结构排列, 而EVC、EVC2基因突变可导致EVC综合征或Weyers颅面骨发育不全两种遗传病<sup>[28-30]</sup>。这两个基因能够直接产生相互作用, 共同形成位于细胞纤毛基底部的一个蛋白复合体, 参与Hedgehog信号通路以及原生纤毛的发育和功

能<sup>[31-32]</sup>, 而该功能破坏是EVC的核心发病机制<sup>[32]</sup>。同时, EVC-EVC2复合体功能失活还可造成Wnt信号通路的异常上调<sup>[33]</sup>, 影响骨骼的正常发育。随着基因组学技术的进步, 越来越多的基因被揭示与EVC有关, 进一步丰富了对EVC致病机制及纤毛相关骨发育疾病的认识<sup>[23,34-36]</sup>。

本研究针对经产前超声诊断为发育落后、多发畸形的1例胎儿, 利用序贯式遗传学检测方法检出其EVC基因存在一复合杂合突变, 包含c.1405G>T(p. E469X)和c.1886+5G>A两个突变体。其中, c.1405G>T突变体是未曾报道过的新突变, 属无义突变(零效突变), 可能会发生NMD机制(无义介导的mRNA衰变)使截断的mRNA降解, 导致蛋白表达水平降低, 满足PVS1证据等级; 且该突变在健康人群数据库中的频率为0, 属低频突变, 满足PM2\_Supportting证据等级。D'Asdia等<sup>[37]</sup>在两个近亲家系

表2 个案病例中EVC/EVC2基因检测的突变位点

Tab.2 Mutations identified in the EVC/EVC2 gene from the case report

文献	病例数	国家	性别	年龄	是否近亲	基因	突变位点
Wang <sup>[9]</sup>	1	中国	产前	孕23 <sup>+</sup> 4周	否	EVC	c.153_174+42del 纯合突变
Umair <sup>[10]</sup>	3(姐弟)	巴基斯坦	男1/女2	10岁/14岁/16岁	是	EVC2	c.30dupC 纯合突变
		科索沃	男1/女1	9岁/2岁	否	EVC	c.919T>C/c.2894+3A>G 复合杂合突变
Dekker <sup>[11]</sup>	1	坦桑尼亚	男	22个月	否	EVC2	c.653_654del/c.2710C>T 复合杂合突变
Eftekhariyazdi <sup>[12]</sup>	1	伊朗	产前(男)	孕18周	是	EVC2	c.942G>A 纯合突变
Huang <sup>[13]</sup>	1	中国	女	42岁	是	EVC	c.2014C>T 纯合突变
Negrete-Torres <sup>[14]</sup>	1	墨西哥	女	14岁	否	EVC2	c.519_519+1delinsT/c.2161delC 复合杂合突变
			女	15岁	否	EVC2	c.645G>A/c.273up 复合杂合突变
León-Madero <sup>[15]</sup>	1	墨西哥	男	8个月	否	EVC2	c.1195C>T/c.2161delC 复合杂合突变
Sato <sup>[16]</sup>	1	日本	男	43天	否	EVC2/EVC	EVC2 c.1991dup/EVC exon1 和 EVC2 exon1-7 的大片段缺失的复合杂合
Zhuang <sup>[17]</sup>	1	中国	产前	孕23 <sup>+</sup> 5周	否	EVC2	c.2484G>A/c.871-2_894del 复合杂合突变
Nguyen TQ <sup>[18]</sup>	1	越南	女	17个月	是	EVC2	c.769G>T/c.2476C>T 复合杂合突变
			男	32个月	否	EVC	c.1717C>G/16.4kb 缺失的复合杂合
张蔓丽 <sup>[19]</sup>	1	中国	产前	孕30 <sup>+</sup> 3周	否	EVC	c.884C>G/c.982C>T 复合杂合突变
吴琴 <sup>[20]</sup>	1	中国	产前	孕24周	否	EVC2	c.682G>C(p.A228P)/loss1(Exon: 2-22)all 复合杂合突变
王金铭 <sup>[21]</sup>	1	中国	产前	孕18周	否	EVC2	c.519+1G>C/c.903delG 复合杂合突变
Zaka <sup>[22]</sup>	3(姐弟)	巴基斯坦	男2/女1	6岁/9岁/12岁	是	EVC	c.731_757del 纯合缺失

中发现了 c.1886+5G>A 纯合突变，其中 1 例为胎儿，超声检测显示轴后多指畸形、四肢短、肋骨短、肺发育不全及房间隔缺损，另外 1 例为 1 岁男孩，表型为轴后多指畸形，因此可确定该突变与 EVC 相关，满足 PM3\_Strong 证据等级；该突变在健康人群数据库中频率为 0.0000319，属低频突变，满足 PM2\_Supporting 证据等级。因此，根据 ACMG 变异解读的标准指南，这两个突变均被判读为“可能致病性”<sup>[8]</sup>。

D'Asdia 等<sup>[37]</sup>发现，c.1886+5G>A 突变可能引起 EVC 综合征，由于该突变并非位于经典的剪接位点(±1 或 2 位)，因此通过功能实验进一步了解其生物学效应是有必要的。为此，本研究参照先前研究的方法<sup>[38]</sup>，设计并执行的一组 Minigene 体外验证实验，结果提示该突变介导 13 号内含子上 c.1886+1\_1886+115ins 的 115 bp 滞留在成熟的 mRNA 中，最终导致了翻译提前终止，形成截短蛋白，造成功能丧失。因此，根据 ACMG 变异解读指南，该突变满足 PVS1 (RNA) 证据等级，即“剪接实验证明突变导致异常剪接，适用 PVS1\_Strength (RNA)”<sup>[39]</sup>。

综上所述，本研究在 1 例产前表现为发育落后、多发畸形的胎儿中检出 EVC 基因的复合杂合突变 c.1405G>T(p.E469X) 和 c.1886+5G>A，并通过体外实验佐证了 c.1886+5G>A 突变的可能致病性，扩充了 EVC 基因突变谱。但本研究尚缺乏对 c.1405G>T

(p.E469X) 突变位点的功能实验研究，后续将会继续开展基因翻译水平、蛋白结构改变等方面的相关研究。

#### 【参考文献】

- [1] Ellis RW, van Crefeld S. A syndrome characterized by ectodermal dysplasia, polydactyly, chondro-dysplasia and congenital morbus cordia[J]. Arch Dis Child, 1940, 15(82): 65-84.
- [2] Aubert-Mucca M, Huber C, Baujat G, et al. Ellis-van Creveld syndrome: clinical and molecular analysis of 50 individuals[J]. J Med Genet, 2023, 60(4): 337-345.
- [3] McKusick VA. Ellis-van Creveld syndrome and the Amish[J]. Nat Genet, 2000, 24(3): 203-204.
- [4] Arsham MS, Barch MJ, Lawce HJ. The AGT cytogenetics laboratory manual[M]. New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2017.
- [5] McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M. An international system for human cytogenomic nomenclature (2016) [M]. Basel (Switzerland): Karger, 2016.
- [6] Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen)[J]. Genet Med, 2020, 22(2): 245-257.
- [7] Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(16): e164.
- [8] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and

表3 系列病例中EVC/EVC2基因检出率及突变类型

Tab.3 Detection rate and mutation types of EVC/EVC2 genes in a series of case studies

文献	病例数	国家	性别	年龄范围	近亲占比(%)	EVC/EVC2检出率(%)	突变类型汇总
Aubert-Mucca <sup>[2]</sup>	50(45个家庭)	欧洲(n=15)、法国(n=6)、摩洛哥(n=4)、黎巴嫩(n=3)、非洲(n=2)、阿尔及利亚(n=2)、马里(n=2)、突尼斯(n=2)、中国(n=1)、圭亚那(n=1)、塞内加尔(n=1)、车臣(n=1)、土耳其(n=1)、多哥/法国(n=1)	男(n=27)/女(n=23)	17例存活者从第1天到62岁(中位年龄6岁), 8例夭折, 25例产前	36.4	77.8	EVC基因突变17种: 5个无义突变, 2个移码突变, 3个剪接突变, 2个非编码区, 5个拷贝数变异; EVC2基因突变25种: 7个无义突变, 8个移码突变, 3个剪接突变, 3个错义突变, 4个拷贝数变异
Zhang <sup>[23]</sup>	10	美国	产前(n=6)/新生儿(n=4)[(夭折(n=3))]	孕33/24/22/21/20/16周/(新生儿无具体年龄)	0	100	EVC突变4例, EVC2突变6例, 共鉴定出14种不同的突变(文献未详细描述)
Altunoglu <sup>[24]</sup>	46(43个家庭)	土耳其(n=28), 丹麦(n=1), 埃及(n=11), 立陶宛(n=1), 西班牙(n=1), 墨西哥(n=1)	男(n=19)/女(n=27)	从出生至63岁	79.1	95.3	EVC基因突变24种: 包括1个错义突变、2个大片段的重复/缺失、2个框内微缺失、5个无义突变、7个移码突变和7个剪接突变; EVC2基因突变21种: 包括1个错义突变、2个大片段的缺失、5个移码突变、5个剪接突变和8个无义突变。
Valencia <sup>[25]</sup>	36	土耳其(n=5), 西班牙(n=12), 墨西哥(n=1), 埃及(n=6), 巴西(n=2), 约旦(n=4), 以色列(n=1), 卡塔尔(n=1), 荷兰(n=1), 巴基斯坦(n=1), 阿尔及利亚人(n=1), 美国(n=1)	-	-	63.9	100	18例患者中发现EVC突变20种, 包括7个微缺失, 5个无义突变, 4个剪接位点突变, 2个单核苷酸重复和2个错义突变; 18例患者中发现EVC2突变17种, 包括8个无义突变, 4个微缺失, 2个外显子的缺失, 1个单核苷酸重复, 1个错义突变和1个剪接位点突变

- Genomics and the Association for Molecular Pathology[J]. Genet Med, 2015, 17(5): 405-424.
- [9] Wang J, Wang X, Jia Y, et al. A homozygous EVC mutation in a prenatal fetus with Ellis-van Creveld syndrome[J]. Mol Genet Genomic Med, 2023;11(8):e2183.
- [10] Umair M, Seidel H, Ahmed I, et al. Ellis-van Creveld syndrome and profound deafness resulted by sequence variants in the EVC/EVC2 and TMC1 gene[J]. J Genet, 2017, 96(6):1005-1014.
- [11] Dekker MCJ, Sadiq AM, Jusabani MA, et al. Ellis-van Creveld syndrome in a patient from Tanzania[J]. Am J Med Genet A, 2019, 179(10):2034-2038.
- [12] Eftekhariyazdi M, Meshkani M, Moslem A, et al. Ellis-van Creveld syndrome: Report of a case and recurrent variant[J]. J Gene Med, 2020, 22(6):e3175.
- [13] Huang X, Guo Y, Xu H, et al. Identification of a novel EVC variant in a Han-Chinese family with Ellis-van Creveld syndrome[J]. Mol Genet Genomic Med, 2019, 7(9):e885.
- [14] Negrete-Torres N, Chima-Galán MDC, Sierra-López EA, et al. Identification of Compound Heterozygous EVC2 Gene Variants in Two Mexican Families with Ellis-van Creveld Syndrome[J]. Genes (Basel), 2023, 14(4):887.
- [15] León-Madero LF, Fregoso-Ron CH, De León-Carbajal JC, et al. Mexican patient with Ellis-van Creveld syndrome and cleft palate: Importance of functional hemizygoty and phenotype expansion[J]. Mol Genet Genomic Med, 2024, 12(5):e2451.
- [16] Sato H, Suga K, Suzue M, et al. Novel large deletion involving EVC and EVC2 in Ellis-van Creveld syndrome[J]. Hum Genome Var, 2022, 9(1):15.
- [17] Zhuang J, Liu S, Wang J, et al. Prenatal whole exome sequencing identified two rare compound heterozygous variants in EVC2 causing Ellis-van Creveld syndrome[J]. Mol Genet Genomic Med, 2023, 11(10):e2242.
- [18] Nguyen TQ, Saitoh M, Trinh HT, et al. Truncation and microdeletion of EVC/EVC2 with missense mutation of EFCAB7 in Ellis-van Creveld syndrome[J]. Congenit Anom (Kyoto), 2016, 56(5):209-216.
- [19] 张蔓丽, 卢彦平, 李芮冰, 等. 目标外显子捕获技术在胎儿骨骼畸形基因检测中的应用[J]. 中华围产医学杂志, 2015, 18(5): 334-338.
- [20] 吴琴, 冯暄, 周秉博, 等. 一例埃利伟综合征胎儿 EVC2 基因致病变异分析[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2023, 42(5): 366-370.
- [21] 王金铭, 霍晓东, 杨科, 等. 一个 Ellis-van Creveld 综合征家系的遗传分析及产前诊断[J]. 郑州大学学报(医学版), 2022, 57(5): 704-708.
- [22] Zaka A, Shahzad S, Rao HZ, et al. An intrafamilial phenotypic

- variability in Ellis-Van Creveld syndrome due to a novel 27 bps deletion mutation[J]. *Am J Med Genet A*, 2021, 185(10): 2888-2894.
- [23] Zhang W, Taylor SP, Ennis HA, *et al.* Expanding the genetic architecture and phenotypic spectrum in the skeletal ciliopathies[J]. *Hum Mutat*, 2018, 39(1): 152-166.
- [24] Altunoglu U, Palencia-Campos A, Güneş N, *et al.* Variant characterisation and clinical profile in a large cohort of patients with Ellis-van Creveld syndrome and a family with Weyers acrofacial dysostosis. *J Med Genet*. 2024 Jun 20;61(7):633-644.
- [25] Valencia M, Lapunzina P, Lim D, *et al.* Widening the mutation spectrum of EVC and EVC2: ectopic expression of Weyer variants in NIH 3T3 fibroblasts disrupts Hedgehog signaling. *Hum Mutat*. 2009 Dec;30(12):1667-1675.
- [26] Picci-Sparascio F, Palencia-Campos A, Soto-Bielicka P, *et al.* Common atrium/atrioventricular canal defect and postaxial polydactyly: a mild clinical subtype of Ellis-van Creveld syndrome caused by hypomorphic mutations in the EVC gene[J]. *Hum Mutat*, 2020, 41(12): 2087-2093.
- [27] Hills CB, Kochilas L, Schimmenti LA, *et al.* Ellis-van Creveld syndrome and congenital heart defects: presentation of an additional 32 cases[J]. *Pediatr Cardiol*, 2011, 32(7): 977-982.
- [28] Ruiz-Perez VL, Tompson SWJ, Blair HJ, *et al.* Mutations in two nonhomologous genes in a head-to-head configuration cause Ellis-van Creveld syndrome[J]. *Am J Hum Genet*, 2003, 72(3): 728-732.
- [29] Ruiz-Perez VL, Ide SE, Strom TM, *et al.* Mutations in a new gene in Ellis-van Creveld syndrome and Weyers acrofacial dysostosis[J]. *Nat Genet*, 2000, 24(3): 283-286.
- [30] Galdzicka M, Patnala S, Hirshman MG, *et al.* A new gene, EVC2, is mutated in Ellis-van Creveld syndrome[J]. *Mol Genet Metab*, 2002, 77(4): 291-295.
- [31] Yang C, Chen W, Chen Y, *et al.* Smoothened transduces Hedgehog signal by forming a complex with Evc/Evc2[J]. *Cell Res*, 2012, 22(11): 1593-1604.
- [32] Ruiz-Perez VL, Goodship JA. Ellis-van Creveld syndrome and Weyers acrofacial dysostosis are caused by cilia-mediated diminished response to hedgehog ligands[J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2009, 151C(4): 341-351.
- [33] Kantaputra P, Dejkhamron P, Sittiwangkul R, *et al.* Dental anomalies in ciliopathies: lessons from patients with BBS2, BBS7, and EVC2 mutations[J]. *Genes (Basel)*, 2022, 14(1):84.
- [34] Huber C, Cormier-Daire V. Ciliary disorder of the skeleton[J]. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2012, 160C(3): 165-174.
- [35] Handa A, Voss U, Hammarsjö A, *et al.* Skeletal ciliopathies: a pattern recognition approach[J]. *Jpn J Radiol*, 2020, 38(3): 193-206.
- [36] Niceta M, Margiotti K, Digilio MC, *et al.* Biallelic mutations in DYNC2LI1 are a rare cause of Ellis-van Creveld syndrome[J]. *Clin Genet*, 2018, 93(3): 632-639.
- [37] D'Asdia MC, Torrente I, Consoli F, *et al.* Novel and recurrent EVC and EVC2 mutations in Ellis-van Creveld syndrome and Weyers acrofacial dysostosis[J]. *Eur J Med Genet*, 2013, 56(2): 80-87.
- [38] Scotti MM, Swanson MS. RNA mis-splicing in disease[J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17(1): 19-32.
- [39] Walker LC, Hoya M, Wiggins GAR, *et al.* Using the ACMG/AMP framework to capture evidence related to predicted and observed impact on splicing: recommendations from the ClinGen SVI splicing subgroup[J]. *Am J Hum Genet*, 2023, 110(7): 1046-1067.

(责任编辑: 张小利)

解放军医学杂志®