

马凡综合征患儿新发现 FBN1 基因剪切突变 1 例与超声心动图表型分析及文献复习

周言博¹ 王月丽²

(1 虎林市人民医院超声科,黑龙江 虎林 158400; 2 首都医科大学附属北京安贞医院超声心动图科,北京市心肺血管疾病研究所心血管重塑相关疾病教育部重点实验室)

[摘要] 目的 对 1 例马凡综合征(MFS)患儿的原纤维蛋白基因-1(FBN1)进行基因检测与超声心动图检查,分析其分子发病机制并探讨超声心动图表型。**方法** 收集 1 例 MFS 患儿及家系成员临床资料,经超声心动图检查后,利用二代基因测序技术对 FBN1 基因进行外显子测序,用 Sanger 测序对筛查出来的可能致病突变位点进行家系验证,通过预测软件预测突变位点致病性,结合文献对突变位点致病性与超声心动图表型进行分析。**结果** 患儿超声心动图检查表现为以二尖瓣脱垂并重度关闭不全为显著特征的心血管异常。测序结果发现 FBN1 基因存在杂合突变 c.6496+1G>C,为未报道过的新突变,而患儿家系正常成员均未检出该突变。该突变位于经典剪切位点上,可能影响 mRNA 剪切。同时 Mfold、MaxEntScan 和 MutationTaster 软件分析预测该突变为致病性突变。综合分析,该患儿可诊断为以二尖瓣脱垂为显著特征的 MFS,且 c.6496+1G>C(exon53)剪切突变可推测为新发致病性突变。**结论** 本文首次报道 c.6496+1G>C(exon53)剪切突变,扩展了 FBN1 基因突变谱,结合心血管表型与文献分析,为 MFS 的突变基因型与心血管表型研究提供了新的思路,并进一步为临床精准医疗提供一定的理论基础。

[关键词] 马凡综合征;原纤维蛋白 1;基因;突变;超声心动描记术

[中图分类号] R682;R541.1;R445.1 **[文献标志码]** A

A NOVEL FBN1 GENE SPLICING MUTATION AND ECHOCARDIOGRAPHIC PHENOTYPE OF A CHILD WITH MARFAN SYNDROME: A CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW ZHOU Yanbo, WANG Yueli (Department of Ultrasound, Hulin People's Hospital, Hulin 158400, China)

[ABSTRACT] **Objective** To perform fibrillin-1 (FBN1) gene detection and echocardiography for a child with Marfan syndrome (MFS), and to investigate the molecular pathogenesis and echocardiographic phenotype of MFS. **Methods** The clinical data of a child with MFS and family members were collected, and after echocardiography, next-generation sequencing was used to perform exon sequencing for the FBN1 gene, and Sanger sequencing was used for the validation of possible pathogenic mutation sites in this family. A prediction software was used to predict the pathogenicity of mutation sites, and the pathogenicity of mutation sites and echocardiographic phenotype were analyzed with reference to related articles. **Results** The child had the echocardiographic manifestation of cardiovascular anomalies characterized by mitral valve prolapse with severe mitral insufficiency. The results of sequencing showed a novel heterozygous mutation, c.6496+1G>C, in the FBN1 gene, which was not detected in normal family members. This mutation was located on a classical splice site and might affect mRNA splicing. Mfold, MaxEntScan, and MutationTaster predicted that this novel splicing mutation was a pathogenic mutation. Therefore, the child was diagnosed with MFS manifesting as mitral valve prolapse, and the c.6496+1G>C (exon53) splicing mutation was predicted to be a novel pathogenic mutation. **Conclusion** The c.6496+1G>C (exon53) splicing mutation reported in this article for the first time expands the mutation spectrum of the FBN1 gene. Further exploration of the association between cardiovascular phenotypes and splicing mutation through literature review provides new ideas for the research on the genotype and cardiovascular phenotype of MFS and a theoretical basis for precision medicine in clinical practice.

[KEY WORDS] Marfan syndrome; Fibrillin-1; Genes; Mutation; Echocardiography

马凡综合征(MFS)是一种常见的常染色体显性结缔组织疾病,临床上以骨骼畸形和心血管病变为最常见表现。其中心血管病变主要侵犯主动脉、主动脉瓣和二尖瓣、三尖瓣,为致死的主要原因。既往文献证实主动脉窦部扩张是其特征性的超声心动图表型^[1-2]。研究表明原纤维蛋白基因-1(FBN1)由 65 个外显子及基因 5'端的 4 个选择性剪接外显子和 47 个内含子组成,突变位点随机地分布在整个 FBN1 基因中,无明显的热点突变^[3-4],因此 MFS 病人临床表型呈多样化,个体差异较大,近期研究证实大部分病人的超声心动图表现以二尖瓣、三尖瓣脱垂为显著特点,特别是处于发育期的儿童^[5]。因此当超声医师遇到此类病人时,应注意与瓣膜脱垂综

[收稿日期] 2019-01-22; [修订日期] 2019-02-16

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81501486)

[通讯作者] 王月丽,Email:wayu1li@126.com

合征等相似临床表现的疾病进行鉴别,提高超声诊断 MFS 的临床价值。本研究针对 1 例 MFS 病人及家系成员的 FBN1 基因全部 65 个外显子进行序列分析,探讨其可能致病突变与超声心动图表型,以期为进一步临床诊断和进一步探索致病机制提供思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

先证者为 9 岁女性患儿,主诉为活动后胸闷气短 3 月,无胸痛、咯血及双下肢水肿。曾在当地诊断为二尖瓣脱垂并重度反流,考虑为二尖瓣脱垂综合征,为进一步明确诊断前来北京安贞医院超声科就诊。

1.2 超声心动图检查

采用 PHILIP IE33 彩色多普勒超声诊断仪进行检查,探头频率 5.0 MHz。依据小儿超声心动图检查标准及测量规范^[6]进行心脏切面检查及测量。依据体表面积的回方程^[7]计算主动脉窦部内径 Z 值。主动脉窦部内径: $2 < Z \text{ 值} \leq 3$,为主动脉窦部增宽; $Z \text{ 值} > 3$,为主动脉窦部扩张^[8]。二尖瓣、三尖瓣受累表现为瓣叶松散、冗长、增厚,厚度 $> 5 \text{ mm}$,瓣膜脱垂定义为在胸骨旁切面或四腔心切面收缩期瓣叶超过房室瓣环连线水平 2 mm 以上^[9]。同时依据 2003 年美国超声心动图学会推荐标准评估心脏瓣膜反流程度^[10]。MFS 诊断依据“根特标准”(Ghent nosology)^[8]。

1.3 基因组 DNA 的提取及目标基因测序

取先证者及其父母外周静脉血 2 mL(EDTA 抗凝),采用 QIAamp 全血 DNA 提取试剂盒(德国 Qiagen 公司)提取基因组 DNA 后进行目标基因测序,平均深度 100X。应用 GenCap 液相捕获目标基因技术对患儿 FBN1 全部 65 个外显子以及内外显子交界区域进行捕获^[11-12]。针对 FBN1 65 个外显子非重复区设计生物素化的单链捕获探针。将 1 μg DNA 文库与 BL 缓冲液和设计的探针混合后,95 $^{\circ}\text{C}$ 加热 7 min,65 $^{\circ}\text{C}$ 加热 2 min 后,加入 23 mL 预热至 65 $^{\circ}\text{C}$ 的 HY 缓冲液,65 $^{\circ}\text{C}$ 杂交 22 h。采用 500 μL 1 \times 结合缓冲液清洗 50 μL MyOne 磁珠(美国 Life Technology 公司)3 次,重悬于 80 μL 1 \times 结合缓冲液中。加入 64 μL 2 \times 结合缓冲液至杂交混合物中,转移至含有 80 μL MyOne 磁珠的试管中。旋转混匀 1 h。用 WB1 缓冲液室温清洗磁珠 15 min 后,用 WB3 缓冲液 65 $^{\circ}\text{C}$ 再清洗 3 次,每次 15 min。然后采用洗脱缓冲液将结合的 DNA 洗脱下来。洗脱的 DNA 进行 PCR 反应,反应相关条件如下:98 $^{\circ}\text{C}$ 预

变性 30 s;98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 25 s,65 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,共进行 15 个循环;最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。根据产品说明书用 SPRI beads(美国 Beckman Coulter)纯化 PCR 产物。富集的文库用 Illumina HiSeq 2000 第二代测序仪进行双端测序,读长为 90 bp。

1.4 Sanger 测序验证

根据需要测序的 DNA 片段合成引物,用 PCR 方法扩增,用 ABI 3730xl 测序仪(美国 Applied Biosystems 公司)以 Sanger 测序法进行测序,测序结果与目标区域捕获测序后的结果进行比对。

2 结果

2.1 体格检查结果

患儿,女,9 岁,身高 160 cm,体型瘦长,指(趾)修长,双眼晶状体脱位,但无明显面部轮廓特征,胸廓呈现不典型的轻度漏斗胸,脊柱轻度侧弯,系统评分为 8 分(表 1)。患儿父亲,男,38 岁,身高 172 cm。患儿母亲,女,32 岁,身高 160 cm,余未见明显异常相关体征。患儿父母系统评分均为 0 分。

2.2 超声心动图检查结果

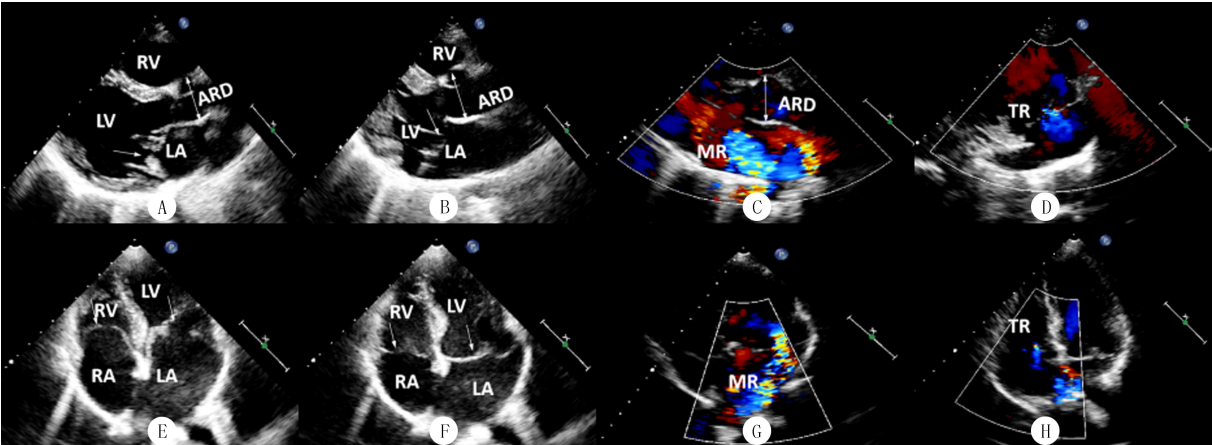
患儿检查过程中心率为 113 次/min。超声心动图检查结果提示左心室内径轻度增大(左心室舒张末期内径 51 mm,收缩末期内径 34 mm),左心室射血分数 60%;二尖瓣叶增厚、脱垂合并重度反流,三尖瓣叶增厚、脱垂合并轻度反流;主动脉窦部形态尚可,内径 34 mm,计算主动脉窦部内径 Z 值为 3.1。患儿术前超声心动图表现见图 1。

2.3 目标基因捕获结合第二代测序数据分析结果

二代测序结果显示,先证者在 FBN1 基因处发现剪切位点杂合突变 c.6496+1G>C(exon53),该位点是 52 号内含子中第 1 位核苷酸由 G 突变为 C(图 2A、B)。上述基因突变经过 OMIM 数据库、FBN1 基因 SNP 数据库检索,推测为 FBN1 新的突变。应用 Sanger 测序进行家系验证发现其父母未发现该变异。变异位点解读参考美国医学遗传学和基因组学学院(American College of Medical Genetics and Genomics,ACMG)指南。测序结果另外发现了 1 个位于第 57 外显子的错义突变 c.6987C>G(p.D2392E)(图 2C),该变异在数据库中虽然有疾病相关性报道^[13]。但在表型正常的父亲中也检出该突变。

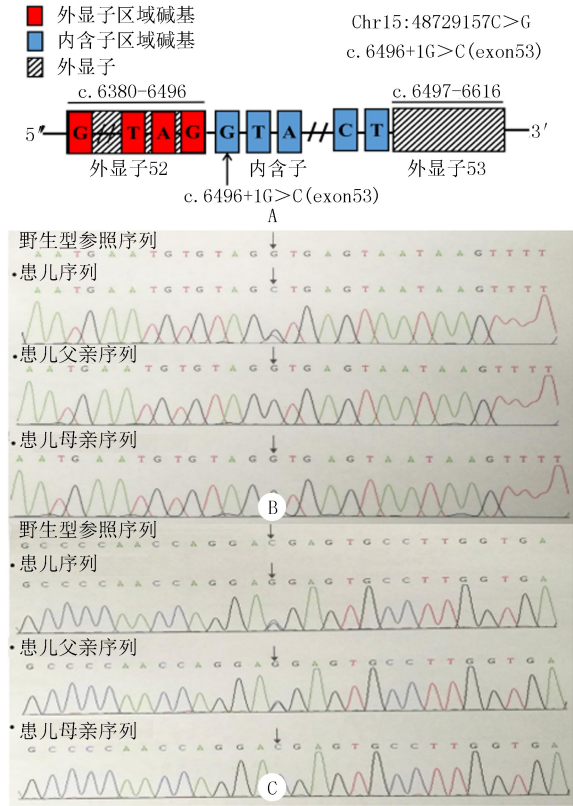
2.4 突变位点功能预测及分析结果

应用生物信息学网站 Mfold 来预测变异位点对 FBN1 基因复制后的 cDNA 二级结构的影响,发



A:舒张期左心室长轴切面示二尖瓣松散、瓣叶增厚(箭头);B:收缩期左心室长轴切面示二尖瓣松散、瓣叶增厚脱向左心房侧(箭头),主动脉窦部内径增宽 34 mm,Z=3.1;C:左心室长轴切面示二尖瓣大量反流;D:胸骨旁右心两腔心切面示三尖瓣少量反流;E:舒张期四腔心切面示二尖瓣及三尖瓣瓣叶增厚、冗长、松散(箭头);F:收缩期四腔心切面示二尖瓣及三尖瓣瓣体脱向心房侧;G:四腔心切面示二尖瓣大量反流;H:四腔心切面示三尖瓣少量反流(ARD:主动脉窦部,LA:左心房,RA:右心房,LV:左心室,RV:右心室,TR:三尖瓣反流,MR:二尖瓣反流)。

图 1 患儿术前超声心动图表现



A:本研究中突变位点 c.6496+1G>C(exon53)定位的 FBN1 示意图;B:患儿家系突变位点 c.6496+1G>C(exon53)cDNA 序列片段;C:患儿家系突变位点 c.6987C>G cDNA 序列片段。

图 2 患儿 FBN1 突变的定位和定性分析结果

现该变异位点所在的二级结构(Chr15:48729144- chr15:48729172 位点)与野生型的 cDNA(Chr15: 48729144- chr15:48729172 位点)的结构明显不同 (图 3A)。进一步使用分析网站 MaxEntScan 对突 变后进行可变剪切预测,提示相对于正常参考序列,

突变后位点 c.6496+1 的评分下降 85.7%(图 3B)。 MutationTaster 分析预测该突变为致病性突变(图 3C),并通过改变剪切位点的变化,致含有钙结合的 保守序列的 cbEGF 结构域异常,由于结合钙可以限 制结构域弹性,易化蛋白质间的相互作用,保护蛋白 免于水解,对于维持 FBN1 的稳定十分重要。因此推 测该剪切位点突变可影响患儿 FBN1 蛋白的稳定性。

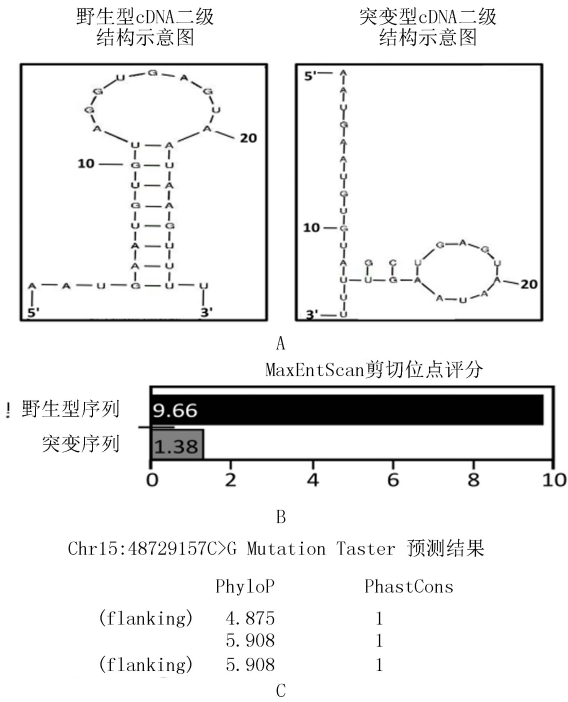


图 3 突变位点功能预测结果

3 讨论

MFS 是一种影响结缔组织的多系统常染色体遗传性疾病。目前研究表明 FBN1 基因定位于染色体 15q21.1 区,编码的糖蛋白由 2 871 个氨基酸构成。由于 FBN1 基因无明显热点突变,任一点突变引起的蛋白结构域的改变都有可能导致病人临床表型呈多样化。病人预期寿命缩短,很大程度上取决于以主动脉夹层为显著特点的心血管并发症。然而,以二尖瓣脱垂为特征性表现的病人相对较少^[1-3]。本文通过对 1 例马凡综合征患儿的 FBN1 基因突变与超声心动图表型分析,结合文献复习,分析其突变位点与心血管表型相关性,为患儿提早诊断、个体化治疗及遗传咨询提供新的依据。

本研究对该患儿 FBN1 基因全部 66 个外显子的序列进行了测定分析,检测出剪切位点杂合突变 c.6496+1G>C(exon53),其父母均未检出该突变。应用 OMIM 数据库、FBN1 基因 SNP 数据库检索后确证该突变为未报道过的新突变,52 号内含子中第一个内含子碱基存在点突变,即 G 突变为 C,通过生物信息学网站预测变异位点,Mfold 和 Max-EntScan 预测结果示该患儿 FBN1 变异后的 cDNA 二级结构与野生型明显不同,且突变后 cDNA 中剪切位点评分明显下降,同时 MutationTaster 预测该突变为致病性突变。因此研究者认为该突变为经典剪切位点的突变,改变了剪切供体序列,使第 21633 位天冬氨酸变为丙氨酸,提高了突变位点破坏转录体剪切的可能性。

既往有文献报道,剪切突变占 FBN1 突变的 18.5%,尽管该类突变的分子发病机制及其特征性心血管表型尚不完全清楚。进一步查阅文献,国内外已有较多关于 MFS 患者 FBN1 剪切突变的研究,共检索到超声心动图资料相对完整的中、英文文献 9 篇^[14-22],其中中文文献 1 篇,英文文献 8 篇。综合整理文献报道的 18 例剪切相关突变显示,18 例突变均与 MFS 患者的主动脉异常相关,其中 6 例提示与二尖瓣异常相关^[15-17,19-21]。BAUDHUIN 等^[17]在发生剪切突变的 6 例主动脉异常的先证者中发现,有 4 例发生主动脉夹层事件,并且 1 例死于主动脉夹层。特别是在检出 c.2167+1G>A 突变的家系中,先证者 3 位亲属均在青壮年时死于主动脉夹层。因此研究者推测 FBN1 的剪切突变可致外显子遗漏,翻译蛋白结构发生变异,继而提出剪切突变在 MFS 患者中更易发生主动脉事件这一观点。LU

等^[21]在一个以主动脉病变为显著特征的 MFS 家系中发现了一个位于 61 号内含子的剪切位点突变 c.7570+5G>A,该突变使 61 号外显子遗漏,第 39cb EGF 结构域丢失,FBN1 蛋白截断。在纯合子突变的先证者及杂合突变的先证者母亲中均表现为主动脉扩张。同样 GILLIS 等^[16]报道了另一个以主动脉异常为显著特点的 MFS 5 代家系,该家系有 19 例患者受累,年龄中位数为 37 岁,其中 9 例死亡(年龄最小者猝死时仅 21 岁),9 例接受过主动脉相关外科手术,仅 1 例在行主动脉瓣及主动脉根部手术时,同时接受了二尖瓣及三尖瓣成形手术。然而,另外 3 项低年龄组的先证者研究提示剪切突变导致患者出现以二尖瓣异常改变为显著特点的心血管表型,其中与 c.4211-32_-13del7 突变相关的患儿于 7 月龄时死于二尖瓣及三尖瓣关闭不全导致的心肺衰竭^[15,19-20]。对比发现,尽管文献复习中病人与本研究患儿均为剪切突变,且心血管表现较为严重,但大部分年长患者以主动脉事件为主,本研究患儿与 3 例低年龄先证者相关的报道,均以二尖瓣异常改变为主,提示不同位置的剪切突变所导致的心血管表型也会有所不同。JARADAT 等^[23]在一 MFS 家系中检测出 1 个相近位置突变 c.6650G>A (p.Cys2217Tyr),该突变导致半胱氨酸突变为酪氨酸,先证者及其妹妹的二尖瓣及三尖瓣均出现了瓣膜脱垂,以及主动脉窦部增宽,同时先证者父亲 49 岁死于心血管事件。对比分析,该研究报道的突变位点与本研究中患儿突变位点位置相近,且均涉及 cbEGF 结构域的变化,提示 FBN1 蛋白的稳定性发生异常。但是先证者及其亲属心血管表型较目前本研究患儿表现相对较轻,因此其治疗效果及预后也会有所不同。提示在相同或相近位置的不同突变类型所引起的心血管表型的异常,其临床表现也会有所不同。当前患儿突变位点为涉及 cbEGF 结构域的剪切位点突变,因此,我们推测这可能也是该突变致患儿重症二尖瓣脱垂并关闭不全的心血管表型的主要原因。本研究在分析该患儿基因测序结果时,同时检测出另外一个位于第 53 外显子的错义突变 c.6987C>G(p.D2392E),该变异在数据库中虽然有疾病相关性报道^[10],但在本研究中由于患儿表型正常的父亲也检出该突变,因此提示 c.6987C>G(p.D2392E)为疑似良性突变。

回顾本例患儿的诊断过程可以看出,患儿面部轮廓及胸廓特点不突出,初次超声心动图检查结果为二尖瓣脱垂并重度反流,极易误诊为二尖瓣脱垂

综合征,由于二尖瓣脱垂是重度二尖瓣反流最常见的原因^[24],且与患儿临床症状相符。二尖瓣脱垂综合征,又称 Barlow 综合征,是一种超声心动图表现为伴有二尖瓣黏液样变性的原发性二尖瓣脱垂的结缔组织疾病,以年轻女性最为多见^[25-26]。有基因学研究指出二尖瓣脱垂与 MFS 等结缔组织相关疾病有关系^[27-28],二尖瓣脱垂的病人中约有 0.25 % 患有 MFS,按照二尖瓣脱垂诊断标准,该比例有可能会更高^[29-30]。继续多切面观察,尽管患儿主动脉窦部的形态并未呈现经典的“蒜头样”改变(图 1),但进一步计算主动脉窦部内径 Z 值为 3.1,明显高于正常范围,符合 MFS 的超声心动图表现。最后结合患儿临床体征及基因检测结果最终诊断为 MFS。因此,本病例表明在行患儿超声心动图检查过程中观察到明显二尖瓣、三尖瓣脱垂时应当特别注意观察主动脉窦部内径,尤其是 Z 值 ≥ 2 时,更应仔细观察患儿是否有晶状体异位、胸廓畸形,以避免误诊。

综上所述,本研究首次报道了位于 FBN1 基因 c.6496+1G>C(exon53)位点的新发剪切位点杂合突变的致病性可能,结合文献初步分析了突变点位置和突变类型两方面与患儿以二尖瓣脱垂为著的心血管异常表型的关系。此外,由于二尖瓣脱垂导致的重度反流是 MFS 病人主动脉夹层之外最重要的心血管并发症,不仅严重降低病人的预期寿命,而且影响手术策略和预后,因此在以二尖瓣脱垂并重度反流就诊的患儿中 MFS 的鉴别诊断具有重要意义。我们目前的研究结果对于 MFS 突变位点与心血管表型的的研究和个体化的精准治疗提供了一定的策略和依据。

[参考文献]

- WANG Y, LI X, LI R, et al. Identification of novel causal FBN1 mutations in pedigrees of Marfan syndrome[J]. Int J Genomics, 2018,1246516.
- WYPASEK E, POTACZEK D P, HYDZIK M, et al. Detection and a functional characterization of the novel FBN1 intronic mutation underlying Marfan syndrome: Case presentation [J]. Clin Chem Lab Med, 2018,56(4):87-91.
- COLLOD-BÉROUD G, LE BOURDELLES S, ADES L, et al. Update of the UMD-FBN1 mutation database and creation of an FBN1 polymorphism database[J]. Hum Mutat, 2003,22(3):199-208.
- BIERY N J, ELDADAH Z A, MOORE C S, et al. Revised genomic organization of FBN1 and significance for regulated gene expression[J]. Genomics, 1999,56(1):70-77.
- WOZNIAK-MIELCZAREK L, SABINIEWICZ R, DREZEK-NOJOWICZ M, et al. Differences in cardiovascular manifestation of Marfan syndrome between children and adults[J]. Pediatr Cardiol, 2019,40(2):393-403.
- LOPEZ L, COLAN S D, FROMMELT P C, et al. Recommendations for quantification methods during the performance of a pediatric echocardiogram: A report from the pediatric measurements writing group of the american society of echocardiography pediatric and congenital heart disease council[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2010,23(5):465-495.
- GAUTIER M, DETAINT D, FERMANIAN C, et al. Nomograms for aortic root diameters in children using two-dimensional echocardiography[J]. Am J Cardiol, 2010,105(6):888-894.
- LOEYS B L, DIETZ H C, BRAVERMAN A C, et al. The revised ghent nosology for the Marfan syndrome[J]. J Med Genet, 2010,47(7):476-485.
- GU X, HE Y, LI Z, et al. Echocardiographic versus histologic findings in Marfan syndrome[J]. Tex Heart Inst J, 2015,42(1):30-34.
- ZOGHBI W A, ENRIQUEZSARANO M, FOSTER E, et al. Recommendations for evaluation of the severity of native valvular regurgitation with two-dimensional and doppler echocardiography[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2003,16(7):777-802.
- HE J, WU J, JIAO Y, et al. IgH gene rearrangements as plasma biomarkers in non-hodgkin's lymphoma patients[J]. Oncotarget, 2011,2(3):178-185.
- WU J, MATTHAEI H, MAITRA A, et al. Recurrent GNAS mutations define an unexpected pathway for pancreatic cyst development[J]. Sci Transl Med, 2011,3(92):92ra66.
- GUO J, CAI L, JIA L, et al. Wide mutation spectrum and frequent variant Ala27Thr of FBN1 identified in a large cohort of chinese patients with sporadic TAAD[J]. Sci Rep, 2015,5:13115.
- 王雪涛,伍严安. 29 例汉族马凡综合征患者的 FBN1 基因突变分析[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2012,4(4):240-244.
- SÍPEK A, GRODECKÁ L, BAXOVÁ A, et al. Novel FBN1 gene mutation and maternal germinal mosaicism as the cause of neonatal form of Marfan syndrome[J]. Am J Med Genet A, 2014,164(6):1559-1564.
- GILLIS E, KEMPERS M, SALEMINK S, et al. An FBN1 deep intronic mutation in a familial case of Marfan syndrome: An explanation for genetically unsolved cases[J]. Hum Mutat, 2014,35(5):571-574.
- BAUDHUIN L M, KOTZER K E, LAGERSTEDT S A. Increased frequency of FBN1 truncating and splicing variants in Marfan syndrome patients with aortic events[J]. Genet Med, 2015,17(3):177-187.
- YANG H, LUO M, CHEN Q, et al. Genetic testing of the FBN1 gene in chinese patients with Marfan/Marfan-like syndrome[J]. Clin Chim Acta, 2016,459:30-35.
- LE GLOANL, HAUET Q, DAVID A, et al. Neonatal Marfan syndrome: Report of a case with

〔参考文献〕

[1] 王小青,王晓禾,谢灵媛,等. 组织学绒毛膜羊膜炎发生的高危因素及其对母儿围产结局的研究[J]. 现代妇产科进展, 2014, 23(5):415-416.

[2] 王颖,柳萍,时春艳. 胎盘组织学绒毛膜羊膜炎对早产的影响[J]. 中华围产医学杂志, 2015,18(8):606-609.

[3] MENDZ G L, KAAKOUSH N O, QUINLIVAN J A. Bacterial aetiological agents of intra-amniotic infections and preterm birth in pregnant women[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2013,3:58.

[4] 单若冰. 宫内感染与新生儿肺疾病[J]. 中国小儿急救医学, 2016,23(5):304-307,311.

[5] 邵肖梅,叶鸿瑁,丘小汕. 实用新生儿学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.

[6] 中华医学会急诊学分会儿科学组. 新生儿危重病例评分法(草案)[J]. 中国实用儿科杂志, 2001,16(11):694-695.

[7] 谢永丽,姜晓晓,陈强,等. 宫内感染致新生儿相关并发症的研究[J]. 世界最新医学信息文摘(电子版), 2016,16(87):1-2.

[8] 王艳,丁传刚,何敏华. 新生儿感染性肺炎的诊治进展[J]. 医学综述, 2010,16(22):3460-3462.

[9] JONES M H, CORSO A L, TEPPER R S, et al. Chorioamnionitis and subsequent lung function in preterm infants[J]. PLoS One, 2013,8(12):e81193.

[10] KYOZUKA H, YASUDA S, HIRAIWA T, et al. Histological chorioamnionitis as a risk factor for preterm birth without disturbing fetal heart rate: A case-control study[J]. Tohoku J Exp Med, 2017,243(4):289-295.

[11] HARTLING L, LIANG Y Y, LACAZE-MASMONTEIL T. (上接第 130 页)

an inherited splicing mutation outside the neonatal domain[J]. Mol Syndromol, 2016,6(6):281-286.

[20] MAEDA J, KOSAKI K, SHIONO J, et al. Variable severity of cardiovascular phenotypes in patients with an early-onset form of Marfan syndrome harboring FBN1 mutations in exons 24-32[J]. Heart Vessels, 2016,31(10):1717-1723.

[21] LU X X, XIE Q, WANG R, et al. Marfan syndrome with a homozygous FBN1 splicing mutation[J]. Am J Med Genet A, 2017,173(9):2435-2438.

[22] TORRADO M, MANEIRO E, TRUJILLOQUINTERO J P, et al. A novel heterozygous intronic mutation in the FBN1 gene contributes to FBN1 RNA missplicing events in the Marfan syndrome[J]. Biomed Res Int, 2018;3536495.

[23] JARADAT S A, ABUJAMOUS L A, ALHAWAMDEH A A, et al. Two novel mutations of FBN1 in jordanian patients with Marfan syndrome[J]. Int J Clin Exp Med, 2015,8(10):18786-18792.

[24] SONGIA P, PORRO B, CHIESA M, et al. Identification of patients affected by mitral valve prolapse with severe regurgi-

Chorioamnionitis as a risk factor for bronchopulmonary dysplasia: A systematic review and meta-analysis[J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2012,97(1): F8-F17.

[12] KEMP M W, MOLLOY T J, USUDA H, et al. Outside-in? Acute fetal systemic inflammation in very preterm chronically catheterized sheep fetuses is not driven by cells in the fetal blood[J]. Am J Obstet Gynecol, 2016,214(2):281.e1-e10.

[13] KEMP M W. Preterm birth, intrauterine infection, and fetal inflammation[J]. Front Immunol, 2014,5:574.

[14] MCADAMS R M, VANDERHOEVEN J, BEYER R P, et al. Choriodecidual infection downregulates angiogenesis and morphogenesis pathways in fetal lungs from *Macaca nemestrina* [J]. PLoS One, 2012,7(10):e46863.

[15] MAROUS H ANDREA L ROBERT S. Chorioamnionitis and subsequent lung function in preterm infants[J]. J Plosone, 2013,8(12):e81193.

[16] 吴璠. 早产胎膜早破患者发生新生儿宫内感染性肺炎的相关因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2016,31(21):4472-4475.

[17] KIM S M, ROMERO R, PARK J W, et al. The relationship between the intensity of intra-amniotic inflammation and the presence and severity of acute histologic chorioamnionitis in preterm gestation [J]. Journal of Maternal-Fetal Medicine, 2015,28(13):1500-1509.

[18] 谢永丽,孙莹,陈强,等. 绒毛膜羊膜炎和脐带炎与早产儿肺部损伤的关系研究[J]. 中华新生儿科杂志(中英文), 2018,33(2):109-112.

[19] 高世泉,杨宇艳,杨静,等. 胎膜早破绒毛膜羊膜炎发生及对新生儿预后的影响观察[J]. 人民军医, 2016(10):1047-1050.

(本文编辑 耿波 厉建强)

tation: A multivariable regression model[J]. Oxid Med Cell Longev, 2017;6838921.

[25] 刘建明. 二尖瓣脱垂综合征患者的超声诊断分析[J]. 中国保健营养, 2016,26(12):109.

[26] 唐玉英,杨碧. 二尖瓣脱垂综合征的超声诊断[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017,4(44):8580.

[27] PARWANI P, AVIERINOS J, LEVINE R A, et al. Mitral valve prolapse: Multimodality imaging and genetic insights[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2017,60(3):361-369.

[28] LE TOURNEAU T, MEROT J, RIMBERT A, et al. Genetics of syndromic and non-syndromic mitral valve prolapse[J]. Heart, 2018,104(12):978-984.

[29] WEYMAN A E, SCHERRER-CROSBIE M. Marfan syndrome and mitral valve prolapse[J]. J Clin Invest. 2004,114(11):1543-1546.

[30] THACOR, A. Mitral valve prolapse and Marfan syndrome [J]. Congenit Heart Dis, 2017,12(4):430-434.

(本文编辑 耿波 厉建强)