27例雄激素不敏感综合征患儿AR基因突变

王毅¹, 巩纯秀^{1,2*}, 王希欧³, 秦淼¹

1. 国家儿童医学中心, 首都医科大学附属北京儿童医院内分泌遗传代谢中心, 北京 100045;

2. 北京市出生缺陷重点实验室, 北京 100045;

3. 首都儿科研究所附属医院内分泌科, 北京 100045

* 联系人, E-mail: chunxiugong@sina.com

收稿日期: 2018-07-20; 接受日期: 2018-08-15; 网络版发表日期: 2018-09-07

北京市科学技术委员会首都市民健康项目培育(批准号: z15110200390000)资助

摘要 雄激素受体(AR)基因突变是雄激素不敏感综合征(AIS)的主要直接原因, 本研究是为了了解中国病人AR基因突变谱. 本研究根据病史、查体、激素检测、染色体核型分析及影像学检查结果, 确诊AIS患儿27例. 收集患儿及其部分家属静脉抗凝血, 提取DNA, 合成外显子1~8及外显子和内含子剪切处引物, PCR扩增, 扩增产物送公司测序, 分析AR基因突变情况. 结果提示, 27例AIS患儿共发现突变23个, 10例携带5个相同突变(p.R841H, p.P914S, p.S176R, p.Y572S和p.Y782N), 未报道突变11个. 8/27例家族史阳性. 12个已知突变中, 仅1个为内含子4的剪切突变: c.2173+1G>T; 余均为点突变, 含1个已报道的第6外显子的新生突变: p.R775C. 2例病人具有相同第8外显子突变: p.P914S, 患者均表现为CAIS, 与报道的PAIS不符; 其余临床分型与已经报道的分型一致. 未报道突变中, 点突变为8/11个, 另有2个碱基缺失导致的移码突变: p.345fs和p.828_829del, 1个碱基插入导致的移码突变: p.885fs, 1例病人携带两个点突变: p.Y365C和p.E898D. 突变由多至少在外显子的分布: 外显子7有6例患儿5个不同突变; 外显子8有5例患儿4个突变, 外显子1和5各有3个突变; 外显子2, 3, 4和6各有2个不同突变. 23个突变在功能区的分布情况: 16个突变位于LBD, 4个位于DBD, 3个位于NTD. 本研究报道了不同AIS表型AR的突变谱, 50%为未报道突变, 进一步丰富了AR数据库. 错义突变是主要形式, 且大部分位于LBD区. 携带相同突变的病人可呈现不同表型.

关键词 雄激素不敏感综合征, 雄激素受体, 基因突变

雄激素不敏感综合征(androgen insensitivity syndrome, AIS, OMIM #300068)是46, XY性发育异常(disorders of sex development, DSD)最常见的病因^[1], 是X-连锁隐性遗传病. 其特点是XY核型的个体不同程度的女性化表现型, 睾丸产生与年龄相当的正常浓度的雄激素. 由于目标研究人群不同, 目前报道的AIS发病率不尽相同. Jagiello和Atwell^[2]基于伦敦的表型

女性伴腹股沟疝而遗传特征为男性患者的研究, 评估完全型AIS (complete AIS, CAIS)发病率为1/62400. 丹麦的一组研究者评估AIS在遗传学男性中的发病率为1/20400^[3]. 荷兰学者的一项仅包含检测到AR突变的病例研究, 评估AIS发病率为1/99000^[4].

根据靶组织对雄激素的敏感性不同, 可分为CAIS、部分型AIS (partial AIS, PAIS)和轻型AIS (mild

引用格式: 王毅, 巩纯秀, 王希欧, 等. 27例雄激素不敏感综合征患儿AR基因突变. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 1012–1019, doi: [10.1360/N052018-00127](https://doi.org/10.1360/N052018-00127)
英文版见: Wang Y, Gong C X, Wang X O, et al. AR mutations in 28 patients with androgen insensitivity syndrome (Prader grade 0–3). Sci China Life Sci, 2017, 60: 700–706, doi: [10.1007/s11427-017-9084-9](https://doi.org/10.1007/s11427-017-9084-9)

AIS, MAIS)^[1]. CAIS患者可表现为完全正常女性外阴, 到了青春期乳房正常发育, 但出现原发性闭经, 阴毛或腋毛稀疏或缺乏. PAIS患者表型多样, 外阴呈男性伴小阴茎和/或尿道下裂、隐睾症、阴囊分叉等, 外生殖器模糊, 或女性外阴伴阴蒂肥大. MAIS患者多为正常男性表型, 出现青春期男子女性型乳房发育或成年后不育.

目前发现的唯一跟AIS明确有关的基因是雄激素受体(androgon receptor, *AR*)基因^[5], 已有超过800种*AR*基因突变引起AIS, 数量仍在继续增加. 人类*AR*基因位于染色体Xq11-12^[6], 基因长度超过90 kb, 但是仅有2760个核苷酸编码919个氨基酸残基组成的AR, 由8个外显子组成, 属于转录因子和核受体亚家族, *AR*结构见图1. *AR*基因分为4个功能区^[7,8]: 氨基端区域(N-terminal transcription domain, NTD, exon 1编码, 包括1~555位氨基酸残基), DNA结合区(DNA binding domain, DBD, exon 2和3编码, 包括556~624位氨基酸残基), 羧基端配体结合区(ligand binding domain, LBD, exon 4~8编码, 包括669~919位氨基酸残基). 在DNA和配体结合区域存在铰链区或由两部分组成的核定位区信号(有exon 4的5'端编码, 包含625~668位氨基酸). NTD包含多态的多聚谷氨酸(CAG)、多聚甘氨酸(GGN)重复^[5]. 晶体结构显示由12个 α -螺旋和2个 β -折叠(sheet)组成, 包含一个位于分子中心的疏水口袋. 已知它的重复长度可影响*AR*基因转录活性. DBD在核受体家族高度保守, 晶体结构显示有2个锌指模块^[9], 它的稳定依赖于

半胱氨酸与锌离子相互作用. 半胱氨酸残基的任何一个突变都会严重破坏锌指模块结构, 即使雄激素与LBD结合正常, 也会导致CAIS.

性腺门诊是我院内分泌科的特色门诊, 每年有大量因性腺发育异常而就诊或复诊患者, 根据病史、查体、激素检测、染色体核型分析及影像学检查结果, 确诊AIS 27例, 其*AR*基因突变情况是怎样的? 是否能发现未报道新发突变? 本研究选取这27例临床确诊为AIS患儿, 分析*AR*基因突变情况.

1 研究对象和方法

本研究征得患者监护人同意, 并签署了患者知情同意书, 也得到首都医科大学附属北京儿童医院伦理委员会批准. 收集2013.1~2015.8在我院就诊, 根据病史、查体、激素检测、染色体核型分析及影像学检查结果, 临床诊断及基因证实为AIS患儿. 除例19和20、例23和24为同胞外, 余均无血缘关系.

纳入标准: (i) 染色体核型为46, XY, 性腺为睾丸, SRY(+); (ii) 临床表现为严重程度的男性化不全, Prader 0~2级尿道下裂; (iii) 实验室检查提示睾酮和/或双氢睾酮高于/处于正常水平; (iv) 影像学检查或性腺组织活检未发现子宫、卵巢、输卵管、上端阴道等苗勒氏管结构; (v) 青春期后发毛生长稀疏并伴不同程度乳房女性化, 青春期前年龄的儿童忽略此条; (vi) *AR*基因检测确定AIS同时排除其他引起男性假两性畸形

图1 *AR*基因及蛋白结构

黑色箭头代表本研究中发现的*AR*突变位点的分布情况

疾病,如肾上腺疾病。

本研究临床表型分型标准: CAIS, 生后完全正常女性外阴, 阴蒂长度1 cm以下; PAIS, 有不同程度的兼性外阴表现。

1.1 临床资料收集

(1) 一般信息收集. 病人姓名、年龄、社会性别、性格倾向、家族史. 患者性格倾向判定根据家长提供: 患者兴趣喜好、参与活动、社交习惯及性格等信息粗略判定。

(2) 临床特征收集. 主诉、体征(生殖器外观、阴蒂/阴茎长度、睾丸位置、尿道及阴道开口、腋毛及阴毛发育). 患者外生殖器评估采用Prader分级; 乳房、阴毛、腋毛等第二性征发育判定采用Tanner分期; 使用Prader睾丸模型比拟法测量睾丸容积. 所有患者体格检查评估均由同一名专业的儿科内分泌医师测量。

1.2 实验室及影像学检查

所有患者进行染色体核型分析、*SRY*基因检测、性激素、肝肾功能、电解质等, 为进一步评价睾丸间质细胞分泌睾酮功能, hCG刺激试验, 检测试验后睾酮水平. 肾上腺、盆腔及睾丸B超等影像学检查。

1.3 基因检测

征得患者及其家属知情同意后, 抽取患儿及部分家属的含乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝血2 mL. 方法采用FlexiGene DNA Kit提取试剂盒(货号512206, Qiagen, 德国)提取DNA, 采用Nanodrop 2000超微量分光光度计(Thermo Fisher Scientific, 美国)测定DNA浓度, -80°C 保存待用. 根据文献报道的AR基因的8个外显子及内含子引物(北京康旭医学检验所合成), 25 μL 反应体系包括100 ng DNA 1 μL , 10 $\mu\text{mol/L}$ 正反向引物各1 μL , 2 $\times$ Master-Mix (北京艾德莱生物科技有限公司) 12.5 μL , 双蒸水 9.5 μL . 94°C 预热5 min, 94°C 扩增1 min, 60°C 退火30 s, 72°C 延伸1 min, 共35个循环, 72°C 再延伸5 min. 分别对样本DNA外显子及外显子和内含子连接处进行PCR扩增(美国ABI ProFlexTM PCR仪)^[10,11]. PCR产物送北京康旭医学检验所, 在自动测序仪(ABI PRISM3100 Genetic Analyzer; Applied Biosystems, 美国)测序, 测序所使用引物与PCR引物相同, 用可免费下载的BioEdit

Sequence Alignment Editor软件分析测序结果。

AR基因突变位点与NCBI上AR的转录本1 (NM_000044.3)序列比对, 用PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), SIFT (<http://sift.jcvi.org/>)和MutationTaster (<http://www.mutationtaster.org/>)在线预测软件预测突变后蛋白功能. PolyPhen-2评分在0.85以上提示这种多态性很可能破坏蛋白功能, 0.15以上是可能破坏, 评分0.15以下认为是良性改变. SIFT是预测某蛋白一个氨基酸改变对表型的影响, 分数 <0.05 认为是致病的, 而 ≥ 0.05 认为是良性的. MutationTaster可预测点突变、碱基缺失或插入突变对疾病的影响, 分值越接近1提示致病的可能性越大. 预测结果分为disease-causing, polymorphism.

2 结果

确诊27例AIS患儿, 就诊年龄5月~12岁, 8例家族史阳性, 病人多来自我国长江以北地区的汉族人群, 24/27例. 发现23个AR基因突变, 其中11个未报道. 总体发现外显子7有5个突变, 外显子8有4个突变, 外显子1和5各有3个突变, 外显子2, 3, 4和6各有2个突变. 16个突变位于LBD, 4个位于DBD, 3个位于NTD, LBD突变位点分布见图2。

14例AR基因已知突变情况见表1. 其中1例新生突变, 另1例为剪切突变. 4例病人携带有2个相同的点突变。

从表中可看出, 例1, 2, 3, 5, 6, 8, 11和12均为单个碱基替换导致氨基酸改变, 相同突变导致不同AIS表型. 其中例6有2位姨姥姥均不育, 但拒绝行染色体核型分析及基因检测. 例4为剪切突变: c.2173+1G>T, 发生在内含子4的第一位碱基G突变为T. 例7为已报道新生突变: p.R775C; 患儿及母亲测序图见图3. 例9和10携带相同点突变: p.R841H. 而例13和14均携带p.P914S, 为位于外显子8编码的LBD的已知突变; 其中例14的母亲和妹妹为杂合携带者. 例13和14采用polyphen-2软件预测分数为0.998, MutationTaster预测突变致病, 而SIFT软件预测分述为0.08, 致病性可疑. 本研究例13和例14均诊断为CAIS, 均可见阴道口、尿道口, 例13性格似男孩, 按男性抚养, 例14按女性抚养。

未报道突变情况见表2. 13例病人携带11个AR基因突变: 8例点突变, 2例缺失和1例插入导致移码突变。

图 2 LBD点突变分布

DHT: 双氢睾酮, 从图中可以看出, 多数突变位于配体DHT与受体结合位点附近, 所用图形PDB编号: 1E3G

1例病人携带2个点突变; 6例携带3个两两相同的突变。

例15和16, 例19和20 (单卵双胞胎姐妹)以及例23和24 (同胞兄弟)分别携带相同点突变: p.S176R, p.Y572S和p.Y782N。例17为碱基缺失引起的移码突变: c.1033-1036del/p.345fs, 患儿母亲携带相同的碱基缺失, 其2个舅老爷曾行腹股沟斜疝手术, 并不孕不育。例18携带2个新发点突变: p.Y365C, p.E898D, 临床诊断为PAIS, 患儿母亲是2个突变的杂合携带者, 舅姥爷尿道下裂, 未婚。例21, 23和24的致病性预测均出现矛盾。例25为碱基缺失引起的移码突变: c.2484_2486del/p.828_829del。例27为碱基插入导致的移码突变: c.2654_2655insCA/p.885fs, 在2654和2655插入2个碱基CA, 导致从885位氨基酸开始出现移码突变, 患儿母亲携带相同突变, 妹妹正常。

3 讨论

目前已知800多个AR基因突变引起CAIS, PAIS和MAIS。突变包括点突变、缺失、插入、复制和剪切位点改变等(<http://androgendb.mcgill.ca>)。AR数据库中, 点突变760个(占84%), 缺失突变87个, 剪切突变22个, 插入和复制突变各14个。可见, 点突变是AR基因突变引起AIS的主要形式。突变位于LBD者603个(占67%),

NTD者138个, DBD者117个, 提示突变主要发生在LBD。本研究26例AIS病人, 共发现AR基因突变22个, 未报道突变11个, 占50%。单个碱基替换导致氨基酸改变19个(占86%, 含1个已知新生突变), 1个剪切突变, 3个插入或缺失导致的移码突变, 以点突变为主。15个突变位于LBD, 4个位于DBD, 3个位于NTD。这与AR数据库中记录的大部分是点突变, 且绝大多数突变位于LBD是一致的。

DBD第二个锌指结构区域突变所导致的功能变化尚不明确, 然而附近区域的氨基酸残基D605Y突变曾在PAIS病人中报道。本研究的例2携带此突变, 诊断为PAIS。提示该位点突变对受体蛋白活性影响较小, 在某些情况下, 基因型可预测表型。

例4为剪切突变: c.2173+1G>T, 内含子4第一个位点的碱基G参与构成正常的剪切位点, G突变导致正常剪切受阻, 由于1个或多个隐藏的剪切位点活化导致异常的剪切产物产生。G突变为T使得从原始剪切位点产生了一个核苷酸^[12], 但是在体内, 该AR基因位点突变导致蛋白没有活性, 突变可能破坏了配体结合凹槽的结构从而影响受体折叠。本例患者临床表型表现为CAIS, 提示该剪切位点突变导致AR受体蛋白活性严重降低或完全失活。

例6, 点突变p.A766T位于LBD, 在体内和体外试验中均证实AR转录活性完全丧失^[13-15], 提示该突变对蛋白结构或LBD的关键功能区域有特殊破坏作用。766位丙氨酸被分子量更大、极性更强的苏氨酸替代, 苏氨酸与螺旋1和3及螺旋3内部残存氨基酸相互接触, 这种替代对立体化学稳定性来说是不利的, 也许会破坏一侧配体结合凹形槽的 β -折叠结构。反过来, 这会影响配体受体结合亲和力或者破坏LBD的折叠^[16]。本病例诊断为CAIS, 也证实该突变导致了AR转录活性的完全或大部分丧失。

例7为已知新生突变, 患儿表现为女性外阴, 可见尿道口和阴道口, 双睾丸位于腹股沟内环, 从患儿母亲血液白细胞提取DNA, PCR测序后分析为野生型。Hiort等人^[17]在1998年也曾报道1例病人携带该新生突变, 同样从血液白细胞提取DNA, 并利用单链构象分析技术提示母亲为野生型序列。利用限制性内切酶Kpn I 对外显子6进行酶切后, 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析提示病人同时携带野生型和突变型的AR基因序列, 即提示为体细胞嵌合突变, 突变发生在合子后阶

表 1 已报道病人临床特点和基因突变

病例	社会性别	就诊年龄	突变基 因位点	氨基酸改变	突变类型	polyphen2 预测	SIFT预测	MutationTaster 预测	外显子/功 能区域	文献报道 分型	AR报道频 率(次)	本例诊断 分型	家族史	突变来源
1	男	2岁1月	c.G1705T	p.G569W	点突变	1	0	Disease-causing	2/DBD	PAIS	2	PAIS	阴性	母源
2	女	2岁	c.G1813T	p.D605Y	点突变	0.999	0	Disease-causing	3/DBD	PAIS	2	PAIS	阴性	母源
3	女	2岁	c.G1847A	p.R616H	点突变	0.998	0	Disease-causing	3/DBD	CAIS/ PAIS/ MAIS	11	CAIS	阴性	父母未验证
4	女	4岁1月	c.2173 +1G>T	-	剪切 突变	-	-	-	4/LBD	CAIS	1	CAIS	阴性	父母未验证
5	男	4月	c.T2237C	p.M746T	点突变	0.978	0.01	Disease-causing	5/LBD	CAIS/ PAIS	2	PAIS	阴性	母源
6	女	5岁4月	c.G2296A	p.A766T	点突变	0.999	0	Disease-causing	5/LBD	CAIS/ PAIS	12	CAIS	阳性	父母未验证
7	女	7月	c.C2323T	p.R775C	新生 突变	0.999	0	Disease-causing	6/LBD	CAIS	11	CAIS	阴性	父母正常
8	女	4岁1月	c.T2482G	p.F828V	点突变	0.999	0.03	Disease-causing	7/LBD	CAIS	1	CAIS	阴性	母源
9	女	4岁	c.G2522A	p.R841H	点突变	0.997	0	Disease-causing	7/LBD	CAIS/ PAIS	16	PAIS	阴性	父母未验证
10	男	9月	c.G2522A	p.R841H	点突变	0.997	0	Disease-causing	7/LBD	CAIS/ PAIS	16	PAIS	阴性	母源
11	女	2岁9月	c.G2567A	p.R856H	点突变	0.997	0	Disease-causing	7/LBD	CAIS/ PAIS/ MAIS	22	PAIS	阴性	父母未验证
12	男	1岁6月	c.T2610G	p.I870M	点突变	0.966	0.2	Disease-causing	8/LBD	PAIS	2	PAIS	阳性	母源
13	女	2岁	c.C2740T	p.P914S	点突变	0.998	0.08	Disease-causing	8/LBD	PAIS	2	CAIS	阴性	父母未验证
14	女	2岁5月	c.C2740T	p.P914S	点突变	0.998	0.08	Disease-causing	8/LBD	PAIS	2	CAIS	阴性	母源, 妹妹杂合

表 2 未报道突变病人临床特点和基因突变

病例	社会性别	就诊年龄	突变基因位点	氨基酸改变	突变类型	Polyphen2 预测	SIFT 预测	MutationTaster 预测	外显子/功能区域	本例诊断分型	家族史	突变来源
15	男	8 月	c.C528A	p.S176R	点突变	0.981	0.01	Disease-causing	1/NTD	PAIS	阴性	母源
16	男	10 月	c.C528A	p.S176R	点突变	0.981	0.01	Disease-causing	1/NTD	PAIS	阴性	父母未验证
17	女	1 岁	c.1033-1036del	p.345fs	缺失突变	-	-	Disease-causing	1/NTD	CAIS	阳性	母源
18	男	5 月	c.A1094G	p.Y365C	点突变	0.997	0	Disease-causing	1/NTD	PAIS	阳性	母源
19	女	11 月	c.G2694T	p.E898D	点突变	0.977	0	Disease-causing	8/LBD	CAIS	阴性	父母未验证
20	女	11 月	c.A1715C	p.Y572S	点突变	0.998	0	Disease-causing	2/DBD	CAIS	阴性	父母未验证
21	男	1 岁	c.G2056C	p.V686L	点突变	0.975	0.16	Disease-causing	4/LBD	PAIS	阴性	母源
22	女	8 岁	c.T2304A	p.D768E	点突变	0.99	0	Disease-causing	5/LBD	PAIS	阴性	母源
23	男	12 岁	c.T2344A	p.Y782N	点突变	0.998	0.09	Disease-causing	6/LBD	PAIS	阳性	母源
25	男	4 岁 5 月	c.2484_2486del	p.828_829del	缺失突变	-	-	Disease-causing	7/LBD	PAIS	阴性	母源
26	男	1 岁 2 月	c.C2473G	p.Q825E	点突变	0.96	0	Disease-causing	7/LBD	PAIS	阴性	母源
27	女	2 岁 5 月	c.2654_2655insCA	p.885fs	插入突变	-	-	Disease-causing	8/LBD	CAIS	阴性	母源, 妹妹正常

段,且在第一个细胞分裂的极早期阶段,并再次证实母亲为野生型。突变一般从表型正常女性携带者遗传给下一代,但极少数情况下会发生新生突变,后者可能大部分源于母亲的单个生殖细胞或生殖细胞嵌合,也可能来源于先证者合子后阶段发生体细胞嵌合。由于母系生殖细胞较难获得,到目前为止,仅有2例报道证实生殖细胞嵌合^[18,19]。Prior等人^[18]也曾证实该新生突变为体细胞-生殖细胞嵌合。遗憾的是,该病人拒绝做进一步检查,故未能做进一步分析。目前不能确定是否同样为体细胞嵌合突变所导致的新生突变。

10例病人(例9和10, 13和14, 15和16, 19和20、23和24)携带有5个相同突变(p.R841H, p.P914S, p.S176R, p.Y572S和p.Y782N),其中,中国^[20]、日本^[21]曾各报道1个p.R841H突变的家系,中国台湾^[22]也有1例报道,提示该突变可能是亚洲人群的热点突变。而例12携带的p.I870M突变,例13和14携带的p.P914S突变,软件预测致病性出现矛盾,但已有文献报道这两种突变可导致PAIS^[1,23,24],例12诊断为PAIS,而例13和14诊断为CAIS,与文献报道表型不同。AR数据库目前有45个相同突变引起不同表型^[25],可能的解释包括体细胞嵌合^[26],其他因素如合并基因或辅助调节因子参与AIS发病或影响表型^[5]。

例11, p.R856H,位于由外显子7编码的LBD,文献报道在2 nmol/L米博龙(mibolerone)时,残存79% AR活性^[16],虽然提示该突变对LBD结构影响较小,但临床表型CAIS, PAIS和MAIS均有报道。

例17缺失突变位于NTD,临床表现为外阴呈女性,可见尿道口和阴道口、隐睾,临床诊断为CAIS。提示该突变对N-端CAG和GGN重复长度可能影响较大,从

而导致严重表型。

例18携带2个未报道突变,患儿母亲是2个突变的杂合携带者,点突变p.Y365C位于外显子1编码的N-端区域,预测软件均提示该突变的致病性。点突变p.E898D位于exon8编码的LBD, AR数据库中,记录类似点突变p.E898G,两种突变均导致了898位的谷氨酸发生改变,不同的是,点突变发生位点不同,所导致的氨基酸改变也不同,但都因通过影响突变影响配体受体的亲和力或配体稳定性而可能致病。

例19和20的相同点突变p.Y572S,相同的突变位点有报道,但由于不同的碱基替换,导致氨基酸改变不同,文献报道突变为p.Y572C,与文献相比,1715位碱基A突变为C,导致编码氨基酸由丝氨酸改为半胱氨酸。例21突变p.V686L位于LBD,3种预测软件致病性预测出现矛盾,及例23和24也出现类似情况,其突变致病情况需要后续进一步功能验证。

例22的突变p.D768E,其相同的突变位点和蛋白改变均有报道,不同的是,突变位点碱基替换不同,文献报道突变为p.D768E,源于GAA和GAG都编码Glu,所以,T突变为A或G,其编码的氨基酸相同,体现了密码子编码氨基酸简并性的特点。

总之,本研究数据进一步丰富了AR突变数据库,反映了AIS相关的AR基因突变的多样性。p.R841H可能是亚洲人群的热点突变。基因型和表型的关系不明确,进一步证实可能存在转录后修饰或者辅助调节因素参与AIS发病。本研究的突变谱与目前报道的突变结构一致,也是以点突变为主,多发生在LBD功能区。本研究仅反映了中国北方汉族的AIS资料,仍需扩大样本量进一步研究中国人群的热点突变情况。

致谢 感谢所有参与到本研究中的患儿及其家属,感谢国家儿童医学中心、首都医科大学附属北京儿童医院曹冰燕、秦淼,首都儿科研究所附属儿童医院王希欧医生为收集病例所做的工作,感谢国家儿童医学中心、首都医科大学附属北京儿童医院杨威、苏畅、李小乔医生提供遗传方面的指导。

参考文献

- 1 Audi L, Fernandez-Cancio M, Carrascosa A, et al. Novel (60%) and recurrent (40%) androgen receptor gene mutations in a series of 59 patients with a 46, XY disorder of sex development. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95: 1876–1888
- 2 Jagiello G, Atwell J D. Prevalence of testicular feminisation. *Lancet*, 1962, 279: 329
- 3 Bangsbo S, Qvist I, Lebech P E, et al. Testicular feminization syndrome and associated gonadal tumors in Denmark. *Acta Obstet Gynecol*

[Scand](#), 1992, 71: 63–66

- 4 Boehmer A L, Brinkmann A O, Nijman R M, et al. Phenotypic variation in a family with partial androgen insensitivity syndrome explained by differences in 5 α dihydrotestosterone availability. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86: 1240–1246
- 5 Jääskeläinen J. Molecular biology of androgen insensitivity. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 352: 4–12
- 6 Brown C J, Goss S J, Lubahn D B, et al. Androgen receptor locus on the human X chromosome: Regional localization to Xq11-12 and description of a DNA polymorphism. *Am J Hum Genet*, 1989, 44: 264–269
- 7 Shaffer P L, Jivan A, Dollins D E, et al. Structural basis of androgen receptor binding to selective androgen response elements. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 4758–4763
- 8 Kumar R, Thompson E B. The structure of the nuclear hormone receptors. *Steroids*, 1999, 64: 310–319
- 9 Hughes I A, Davies J D, Bunch T I, et al. Androgen insensit syndrome. *Lancet*, 2012, 380: 1419–1428
- 10 Audi L, Fernández-Cancio M, Carrascosa A, et al. Novel (60%) and recurrent (40%) androgen receptor gene mutations in a series of 59 patients with a 46,XY disorder of sex development. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95: 1876–1888
- 11 Imai A, Ohno T, Iida K, et al. A frame-shift mutation of the androgen receptor gene in a patient with receptor-negative complete testicular feminization: comparison with a single base substitution in a receptor-reduced incomplete form. *Ann Clin Biochem*, 1995, 32: 482–486
- 12 Ris-Stalpers C, Kuiper G G J M, Faber P W, et al. Aberrant splicing of androgen receptor mRNA results in synthesis of a nonfunctional receptor protein in a patient with androgen insensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 7866–7870
- 13 Ahmed S F, Cheng A, Dovey L, et al. Phenotypic features, androgen receptor binding, and mutational analysis in 278 clinical cases reported as androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85: 658–665
- 14 Avila D M, Wilson C M, Nandi N, et al. Immunoreactive AR and genetic alterations in subjects with androgen resistance and undetectable AR levels in genital skin fibroblast ligand-binding assays. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87: 182–188
- 15 Ledig S, Jakubiczka S, Neulen J, et al. Novel and recurrent mutations in patients with androgen insensitivity syndromes. *Horm Res*, 2005, 63: 263–269
- 16 Hannema S E, Scott I S, Hodapp J, et al. Residual activity of mutant androgen receptors explains wolffian duct development in the complete androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89: 5815–5822
- 17 Hiort O, Sinnecker G H, Holterhus P M, et al. Inherited and *de novo* androgen receptor gene mutations: investigation of single-case families. *J Pediatr*, 1998, 131: 939–943
- 18 Prior L, Bordet S, Trifiro M A, et al. Replacement of arginine 773 by cysteine or histidine in the human androgen receptor causes complete androgen insensitivity with different receptor phenotypes. *Am J Hum Genet*, 1992, 51: 143–155
- 19 Boehmer A L, Brinkmann A O, Niermeijer M F, et al. Germ-line and somatic mosaicism in the androgen insensitivity syndrome: implications for genetic counseling. *Am J Hum Genet*, 1997, 60: 1003–1006
- 20 Wang X, Wang X R, Liu M G, et al. Genetic analysis of a family with 46, XY “female” associated with infertility. *Acta Genet Sin*, 2006, 33: 19–25
- 21 Imasaki K, Hasegawa T, Okabe T, et al. Single amino acid substitution (840Arg → His) in the hormone-binding domain of the androgen receptor leads to incomplete androgen insensitivity syndrome associated with a thermolabile androgen receptor. *Eur J Endocrinol*, 1994, 130: 569–574
- 22 Yen J L, Chang K H, Sheu J C, et al. Partial androgen insensitivity syndrome with R840H mutation in androgen receptor: report of one case. *Acta Paediatr Taiwan*, 2005, 46: 101–105
- 23 Bevan C L, Brown B B, Davies H R, et al. Functional analysis of six androgen receptor mutations identified in patients with partial androgen insensitivity syndrome. *Hum Mol Genet*, 1996, 5: 265–273
- 24 Deeb A, Mason C, Lee Y S, et al. Correlation between genotype, phenotype and sex of rearing in 111 patients with partial androgen insensitivity syndrome. *Clin Endocrinol*, 2005, 63: 56–62
- 25 Gottlieb B, Beitel L K, Nadarajah A, et al. The androgen receptor gene mutations database: 2012 update. *Hum Mutat*, 2012, 33: 887–894
- 26 Gottlieb B, Beitel L K, Trifiro M A. Somatic mosaicism and variable expressivity. *Trends Genet*, 2001, 17: 79–82