

• 临床研究 •

先天性室间隔缺损致病基因 *SOX18* 新突变的发现及功能研究

徐惠玉 严梓 杨奕清 刘兴元

【摘要】 目的:探讨先天性室间隔缺损致病基因 *SOX18* 的新突变。 **方法:**收集 156 例先天性心脏病患儿和 216 名无先天性心脏病对照者的临床数据和血液样本,提取基因组 DNA,测序分析 *SOX18* 基因以识别新的致病突变。克隆 *SOX18* 基因,构建野生型 *SOX18* 表达载体,通过定点诱变产生突变型 *SOX18* 表达载体,转染 HeLa 细胞,应用双报告基因定量分析突变体的功能。 **结果:**在 1 例散发性先天性室间隔缺损患儿中发现 *SOX18* 基因新突变,即 NM_018419.3:c.430C>T;p.(Gln144*) 突变。该突变不存在于其他先天性心脏病和对照者患儿。双报告基因定量分析表明突变型 *SOX18* 对靶基因 *NR2F2* 的转录激活作用丧失。 **结论:** *SOX18* 基因功能缺失性突变可能是部分先天性室间隔缺损的分子病因,这对先天性室间隔缺损的精准防治具有潜在的临床意义。

【关键词】 先天性室间隔缺损;遗传学;转录调节; *SOX18* 基因;生化分析

doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2023.05.011

Discovery and functional exploration of a novel *SOX18* mutation predisposing to congenital ventricular septal defect XU Huiyu¹, YAN Zi², YANG Yiqing³, LIU Xingyuan². 1. Department of Pediatrics, Jiading Branch of Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 201803; 2. Department of Pediatrics, Tongji Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200065; 3. Department of Cardiology, Cardiovascular Research Laboratory, Central Laboratory, Shanghai Fifth People's Hospital, Fudan University, Shanghai 200240, China

【 Abstract 】 Objective: To explore a novel *SOX18* mutation contributing to congenital ventricular septal defect. **Methods:** In the present investigation, the clinical data and blood samples were collected from 156 children suffering from congenital heart disease and 216 control individuals without congenital heart disease. Genomic DNAs were extracted from the study participants' blood leucocytes. Sequencing analysis of the *SOX18* gene was conducted to identify a novel mutation responsible for congenital heart disease. The *SOX18* gene was cloned, and its wild-type expression plasmid was constructed. The mutant-type *SOX18* expression plasmid was yielded via site-targeted mutagenesis. HeLa cells were transiently transfected with various expression plasmids, and the function of the mutant-type *SOX18* was quantitatively explored with dual-luciferase reporters. **Results:** In a child affected with sporadic congenital ventricular septal defect, a novel *SOX18* mutation, NM_018419.3:c.430C>T;p.(Gln144*), was discovered, which was absent from the 216 control subjects. Reporter gene assays unveiled that the Gln144*-mutant *SOX18* lost the ability to transactivate its target gene *NR2F2*. **Conclusion:** *SOX18* loss-of-function mutation is probably a molecular etiology underpinning congenital ventricular septal defect in a subset of cases, suggesting potential clinical implications for the precise prevention and

基金项目:上海市自然科学基金(16ZR1432500)

作者单位:201803 上海市第一人民医院嘉定医院,上海市嘉定区江桥医院儿科(徐惠玉);200065 同济大学医学院附属同济医院儿科(严梓,刘兴元);200240 复旦大学附属上海市第五人民医院内科、心血管研究室、中心实验室(杨奕清)

通信作者:刘兴元, E-mail:liuxingyuan402@tongji.edu.cn

treatment of congenital ventricular septal defect.

【Key words】 Congenital ventricular septal defect; Genetics; Transcriptional regulation; *SOX18*; Biological assay

先天性心脏病是人类最常见的发育畸形,在新生儿中的发病率约为 1%,临床上可分为 20 种以上的不同类型,其中以室间隔缺损(VSD)最为常见,VSD 可导致脑损伤、脑发育迟缓、脑卒中、肺动脉高压、充血性心力衰竭、室上性及室性心律失常甚至死亡^[1-2]。既往研究表明,先天性心脏病主要是由遗传缺陷所致,已经发现了 100 多个基因与人类先天性心脏病有关,其中包括 *SOX7* 和 *SOX17* 基因^[3-5]。*SOX* 族 F 组转录因子基因总有 3 个成员,包括 *SOX7*、*SOX17* 和 *SOX18*,其表达与功能特点相似,有一定的相互代偿功能^[6],由此推测 *SOX18* 基因突变也很有可能导致先天性心脏病。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2017 年 4 月—2021 年 9 月,自同济大学医学院附属同济医院和上海市第一人民医院嘉定医院的就诊者中入选 156 例患儿(病例组),均根据心脏超声检查结果或心脏手术记录明确诊断为先天

性心脏病。来自同期体检者其中男性 82 例,女性 74 例,年龄为 1~11 岁,平均年龄为(6±4)岁。对照组为 216 名汉族无先天性心脏病儿童,来自同期体检者,其中男性 114 名,女性 102 名,年龄为 1~12 岁,平均年龄为(6±3)岁。病例组 8 例(5.1%)有家族史,对照组均无先天性心脏病家族史。2 组均无可诱发先天性心脏病的环境因素。本研究遵循人类医学伦理规范,并经过 2 所医院的伦理委员会的审核、批准。经研究对象的法定监护人知情同意后,收集其临床数据和血液标本,常规提取其基因组 DNA。

1.2 方法

1.2.1 *SOX18* 基因的扩增 采用聚合酶链反应(PCR)仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)特异性扩增 *SOX18* 基因整个编码区。所设计的扩增 *SOX18* 基因编码区即编码外显子 1 和 2 的引物序列见表 1(由于编码外显子较大,分别分成 2 段和 3 段进行扩增)。

表1 扩增*SOX18*基因编码外显子的引物序列

外显子	正向引物	反向引物	大小/bp
1-A	5'-GGCCCTGAGCCGCTATATCT-3'	5'-CTTTGCCACACCATGAAGG-3'	457
1-B	5'-CAGCTGGAATGCAGAGATCG-3'	5'-TCAGCTCCTTCCACGCTTTG-3'	583
2-A	5'-CAGCTGGAATGCAGAGATCG-3'	5'-CGGCCGGTACTTGTAGTTGG-3'	672
2-B	5'-AAGCGTGGAAGGAGCTGAAC-3'	5'-GGCTGCAGTTGAGGTACTGG-3'	642
2-C	5'-GCTCGCTGGCCTGTACTACG-3'	5'-TGTAACCCTGGCAACTCTGC-3'	622

以每位入选对象的基因组 DNA 为模板,应用化学合成的上述 *SOX18* 基因扩增引物及热启动 Taq DNA 聚合酶试剂盒(美国 NEB 公司),对 *SOX18* 基因片段进行 PCR 扩增。PCR 混合物的总体积定为 25 μL,包括 10× 标准 Taq 酶反应缓冲液 2.5 μL、dNTPs (10 mmol/L) 0.5 μL、正反向引物 (10 μmol/L) 各 0.5 μL、热启动 Taq DNA 聚合酶 (5 U/μL) 0.125 μL、基因组 DNA (30 ng/μL) 2 μL、双蒸水 18.875 μL。PCR 的热循环条件为:95 °C 预变性 30 s,随即进入 35 个热循环,即 95 °C 变性 30 s、62 °C 退火 45 s 和 68 °C 延伸 1 min,最后 68 °C 延伸 6 min。PCR 终产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离后切胶回收并用凝胶 DNA 纯化试剂盒(中国

Sangon Biotech 公司)纯化 PCR 终产物。

1.2.2 *SOX18* 基因的测序与序列比对分析 以纯化的 PCR 终产物为模板,用 1 条 *SOX18* 基因扩增引物和 DNA 测序试剂盒在 PCR 仪上进行测序反应。测序反应混合物的体积定为 20 μL,其中预混合液 8 μL、正向引物 (2 μmol/L) 2 μL、*SOX18* 基因片段 DNA (20 ng/μL) 2 μL、双蒸水 8 μL。测序反应的条件如前所述^[7]:总计 30 个循环,每个循环包括 95 °C 变性 20 s、50 °C 退火 15 s 和 60 °C 延伸 1 min。测序反应产物经纯化回收后在 DNA 测序仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)上进行测序。

对比分析所测的 *SOX18* 基因序列与核苷酸数

数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Nucleotide>) 中公布的 *SOX18* 基因序列 (登陆号: NM_018419.3) 以发现 *SOX18* 基因变异。一旦发现 *SOX18* 基因变异, 就测序分析 216 名对照者的 *SOX18* 基因, 同时检索 SNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>)、PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) 和万方数据库 (<https://c.wanfangdata.com.cn/periodical>), 以明确所发现的 *SOX18* 基因变异是否为新突变。

1.2.3 *SOX18* 基因变异的致病性预测 借助 2021 版在线软件 MutationTaster2021 (<https://www.mutationtaster.org/>) 预测 *SOX18* 基因变异是否为致病性突变。

1.2.4 构建真核表达质粒 以人类心脏 cDNAs 为模板, 设计合成 1 对特异性扩增 *SOX18* 基因全长 cDNA 的引物 (正向引物为 5'-GACGAATCCGC GCTCCCGCGCTCCGTTC-3', 反向引物为 5'-GTC CTCGAGGAGGAAGCGCTGCAGGGACC-3'), 使用高保真 Phusion[®] DNA 聚合酶试剂盒 (美国 NEB 公司) 在 PCR 仪 (德国 Eppendorf MasterCycler 公司) 上通过 PCR 生成 *SOX18* 基因全长 cDNAs。PCR 混合物的总体积定为 50 μ L, 包括 5 \times Phusion HF 缓冲液 10 μ L、dNTPs (10 mmol/L) 1 μ L、正反向引物 (10 μ mol/L) 各 2.5 μ L、Phusion DNA 聚合酶 (2 U/ μ L) 0.5 μ L、cDNAs (10 ng/ μ L) 2 μ L、双蒸水 31.5 μ L。PCR 的热循环条件为: 98 $^{\circ}$ C 预变性 30 s 后, 进入 30 个热循环, 每个热循环包括 98 $^{\circ}$ C 变性 10 s、62 $^{\circ}$ C 退火 30 s 和 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

使用核酸内切酶 *Eco*RI 和 *Xho*I 分别双酶切纯化后的 *SOX18* 基因全长 cDNAs 和真核表达质粒 pcDNA3.1, 纯化后用 T4 DNA 连接酶将 *SOX18* 基因全长 cDNAs 与 pcDNA3.1 连接即可构建野生型 *SOX18* 的真核表达质粒 *SOX18*-pcDNA3.1, 然后通过测序证实。以野生型 *SOX18*-pcDNA3.1 为模板, 应用 1 对以突变点为中心、长各为 31 个碱基的互补引物和定点诱变试剂盒 (美国 Agilent 公司), 通过 PCR 获得突变型 *SOX18*-pcDNA3.1。用 DNA 酶 Dpn I (美国 NEB 公司) 切除模板即野生型 *SOX18*-pcDNA3.1 并经测序证实获得突变型 *SOX18*-pcDNA3.1。

类似地, 设计、合成 1 对特异性扩增长度为 1 545 bp 的 *NR2F2* 基因 (登录号 NC_000015.10) 启动子区域 (转录起始位点上游 1 544 bp~转录

起始位点即 -1 544 bp~+1 bp) 的引物 (正向引物为 5'-GTGGCTAGCTGGTTGGTTTACCGGCA TG-3', 反向引物为 5'-CACCTCGAGCCGCGATCA GCTCACTGAGC-3'), 以人基因组 DNA 为模板, 使用高保真 Phusion[®] DNA 聚合酶试剂盒 (美国 NEB 公司) 在 PCR 仪 (德国 Eppendorf MasterCycler 公司) 上通过 PCR 生成 *NR2F2* 基因启动子片段, 通过 *Nhe*I 和 *Xho*I 双酶切 *NR2F2* 基因启动子片段和无启动子的萤火虫荧光素酶表达质粒 pGL3-Basic (美国 Promega 公司), 然后通过连接反应构建 *NR2F2* 基因启动子驱动萤火虫荧光素酶表达的质粒 *NR2F2*-luc 并经测序证实。

1.2.5 *SOX18* 基因突变体的功能分析 常规培养 HeLa 细胞, 多种表达质粒共转染的方法如文献所述^[5]。每次细胞质粒转染实验采用脂质体 Lipofectamine 3000 (美国 Invitrogen 公司) 转染 0.6 μ g pcDNA3.1 空质粒或 0.6 μ g 野生型 *SOX18*-pcDNA3.1 质粒或 0.6 μ g Gln144*-突变型 *SOX18*-pcDNA3.1 质粒或 0.3 μ g pcDNA3.1 空质粒 + 0.3 μ g 野生型 *SOX18*-pcDNA3.1 质粒或 0.3 μ g 野生型 *SOX18*-pcDNA3.1 质粒 + 0.3 μ g Gln144*-突变型 *SOX18*-pcDNA3.1 质粒, 同时共转染 1.5 μ g *NR2F2*-luc 质粒和 20 ng pGL4.75 质粒 (美国 Promega 公司)。共转染海肾荧光素酶表达质粒 pGL4.75 作为内对照以平衡转染效率。转染后 48 h 收集、裂解 HeLa 细胞。采用荧光分析仪 (美国 Promega 公司), 应用双荧光素酶分析试剂盒 (美国 Promega 公司) 定量分析细胞裂解液中 2 种荧光素酶的活性, 以萤火虫与海肾荧光素酶活性之比表示靶基因 *NR2F2* 启动子的转录活性。

1.3 统计学分析

连续数据如入选者年龄、靶基因 *NR2F2* 启动子的转录活性等用均数 \pm 标准差表示; 分类数据如入选者的性别、种族等用数字 (百分比) 表示。2 组连续数据的比较用非配对 Student's *t* 检验; 2 组分类数据的比较用 Fisher's 精确概率检验或 Pearson's χ^2 检验。双侧检验 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

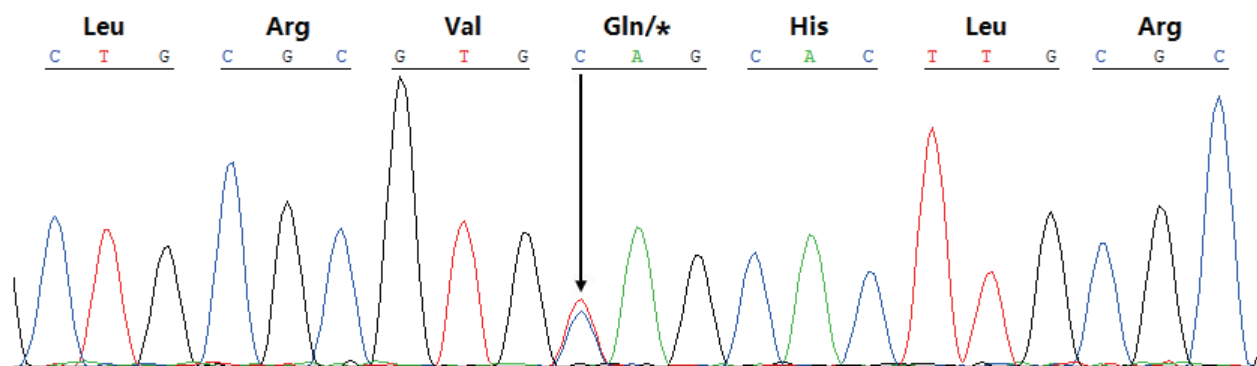
2.1 发现 *SOX18* 基因新突变

本研究 2 组入选者均为中国汉族人, 组间的性别构成差异无统计学意义 (经 Pearson's χ^2 检验 $P > 0.05$), 年龄差异也无统计学意义 (经 Student's *t*

检验 $P>0.05$)。通过对 156 例先天性心脏病患儿的 *SOX18* 基因的编码区进行测序分析,在其中 1 例 4 岁男性散发性先天性 VSD 患儿发现了 1 种 *SOX18* 基因杂合突变,即 NM_018419.3:c.430C>T;p.(Gln144*) 突变。该 *SOX18* 基因无义突变不存在于 216 例对照组,在 SNP、PubMed 和万方数据库也

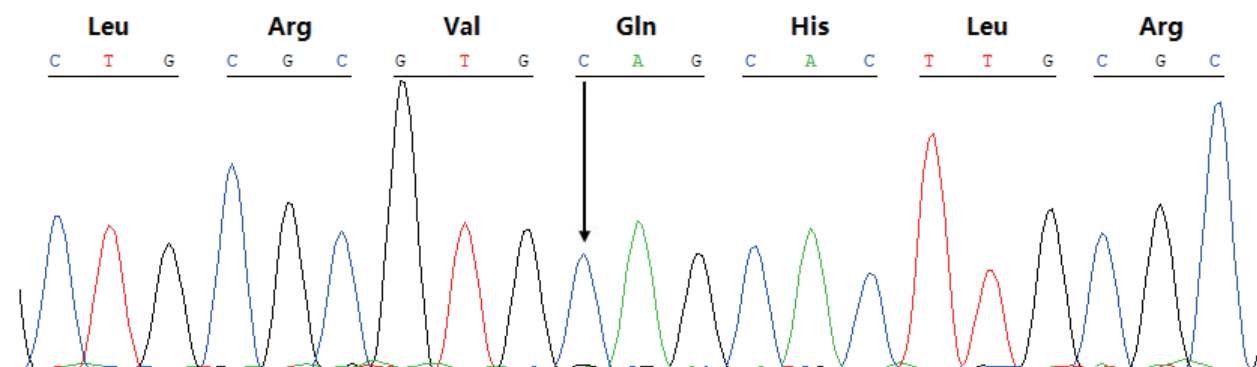
未见报道,表明该 *SOX18* 基因突变是新发现的突变。该例先天性 VSD 患儿的 *SOX18* 基因 c.430C>T 杂合突变 DNA 序列见图 1。

该例先天性 VSD 患儿的 *SOX18* 基因 c.430C>T 杂合突变的纯合野生型 C/C 对照 DNA 序列见图 2。



注:箭头指向*SOX18*基因c.430C>T杂合突变C/T

图1 *SOX18*基因c.430C>T杂合突变



注:箭头指向*SOX18*基因c.430C>T杂合突变的纯合野生型对照C/C碱基

图2 *SOX18*基因c.430C>T杂合突变的纯合野生型C/C对照DNA序列

2.2 *SOX18*基因突变c.430C>T是致病突变

SOX18 基因突变 c.430C>T 被在线软件 MutationTaster2021 预测为致病性突变,该预测的正确率>99.99%。

2.3 Gln144*-突变型*SOX18*对靶基因*NR2F2*的转录激活效应丧失

在转染了基因表达质粒的 HeLa 细胞中,0.6 μg 野生型 *SOX18*-pcDNA3.1 质粒和等量 (0.6 μg) 的 Gln144*-突变型 *SOX18*-pcDNA3.1 质粒对靶基因 *NR2F2* 启动子的转录激活作用分别约为 16 倍 (16.36 ± 1.92) 和 1 倍 (1.12 ± 0.57), 2 组间的转录激活作用有显著性差异 ($t=13.15$, $P=0.0002$); 而在同时转染 0.3 μg 野生型 *SOX18*-pcDNA3.1 和

等量 (0.3 μg) Gln144*-突变型 *SOX18*-pcDNA3.1 时,所诱导的转录激活作用约为 8 倍 (8.36 ± 0.73),显著低于 0.6 μg 野生型 *SOX18*-pcDNA3.1 对靶基因 *NR2F2* 启动子的转录激活作用,2 组间有显著性差异 ($t=6.73$, $P=0.0025$)。

3 讨论

本研究在 1 例男性散发性 VSD 患儿中检测出 1 种新的 *SOX18* 基因杂合突变,即 NM_018419.3:c.430C>T;p.(Gln144*) 突变。该 *SOX18* 基因无义突变不存在于 216 名无先天性心脏病儿童中。计算机软件 MutationTaster2021 模拟分析表明该突变是致病突变。双报告基因定量分析显示 Gln144*-突变型 *SOX18* 对靶基因 *NR2F2* 启动

子的转录激活效应完全丧失,而 *NR2F2* 基因功能障碍已经被证实可导致多种类型的先天性心脏病,包括 VSD^[8-10]。因此, *SOX18* 基因新突变 c.430C>T 即 p.(Gln144*) 很可能是该例 VSD 患儿的分子病因。

人类 *SOX18* 基因定位于 20 号染色体 20q13.33 区域,编码由 384 个氨基酸残基组成的转录因子,属于 SOX 家族 F 组^[11]。*SOX18* 在胚胎发育期间大量表达于心脏、血管和淋巴管系统,主要通过单独或与其转录合作伙伴如 *NKX2.5* 或 *MEF2C* 协同调控心血管发育相关靶基因如 *NR2F2* 或 *GATA4* 的表达,对心血管的正常发育发挥关键影响^[4-6,11-13]。不仅如此, *NR2F2*、*GATA4*、*NKX2.5* 和 *MEF2C* 基因功能丧失性突变均被发现可导致先天性心脏病^[8-10,14-15]。本研究发现 *SOX18* 基因功能丧失性突变可导致 VSD,显示人类 *SOX18* 基因单倍型不足是 VSD 发生的分子机制之一。

在脊椎动物中,目前已经克隆了至少 20 个 *SOX* 族基因,这些 *SOX* 族基因被分为 10 个组(从 A 组到 I 组),其中 F 组的 *SOX7*、*SOX17* 和 *SOX18* 均在胚胎发育时期共表达于心血管系统,调节细胞特化和组织分化,从而在心血管形态发生方面发挥重要作用^[6,16]。在蟾蜍中,敲减 *Sox18* 或 *Sox7* 可部分抑制心脏发育,而同时敲减 *Sox18* 和 *Sox7* 则可显著增强对心脏发育的抑制;*Sox18* mRNA 可以拯救 *Sox7* 敲减的效应,反之亦然,表明 *Sox18* 和 *Sox7* 在功能上的冗余作用^[17]。在斑马鱼中,敲减 *Sox18* 或 *Sox7* 可导致轻微的血管发育畸形,而同时敲减 *Sox18* 和 *Sox7* 则可导致严重的动静脉血管发育畸形;单独敲减 *Sox18* 或 *Sox7* 时,只有一部分斑马鱼表现出血管畸形(部分外显),而在 *Sox18* 和 *Sox7* 双基因同时敲减时,所有斑马鱼均表现出血管畸形(完全外显),显示这 2 个基因功能上的互补作用^[6]。在小鼠中, *Sox17* 基因敲除可导致胎心环化异常和动静脉畸形,而 *Sox17* 和 *Sox18* 双基因敲除则导致严重的胚胎心血管发育畸形^[16]。在人类中, *Sox7* 和 *Sox17* 基因功能丧失性突变均已发现可导致先天性心脏病^[4-5]。这些研究结果提示 *SOX18* 基因功能丧失性突变可导致人类先天性心血管畸形。

值得一提的是,此前已有报道 *SOX18* 基因突变可导致毛发稀少-淋巴水肿-毛细血管扩张综合征以及主动脉扩张、肺动脉高压和肾功能衰竭^[18]。

本研究发现 *SOX18* 基因功能丧失性新突变可导致 VSD,扩大了 *SOX18* 基因突变的表型谱。

总之,本研究发现 1 个新的 *SOX18* 基因功能缺失性突变可导致 VSD,为部分 VSD 的早期精准医学防治提供了新的分子靶标,具有一定的临床意义。

参 考 文 献

- [1] Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, et al. Heart disease and stroke statistics—2018 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2018, 137(12):e67-e492.
- [2] Abhinav P, Zhang GF, Zhao CM, et al. A novel *KLF13* mutation underlying congenital patent ductus arteriosus and ventricular septal defect, as well as bicuspid aortic valve[J]. Exp Ther Med, 2022, 23(4):311.
- [3] Diab NS, Barish S, Dong WL, et al. Molecular genetics and complex inheritance of congenital heart disease[J]. Genes (Basel), 2021, 12(7):1020.
- [4] Huang RT, Guo YH, Yang CX, et al. *SOX7* loss-of-function variation as a cause of familial congenital heart disease[J]. Am J Transl Res, 2022, 14(3):1672-1684.
- [5] Zhao L, Jiang WF, Yang CX, et al. *SOX17* loss-of-function variation underlying familial congenital heart disease[J]. Eur J Med Genet, 2021, 64(5):104211.
- [6] Lilly AJ, Lacaud G, Kouskoff V. SOXF transcription factors in cardiovascular development[J]. Semin Cell Dev Biol, 2017, 63: 50-57.
- [7] 乔祺, 杨晨曦, 顾佳宁, 等. *KLF15* 基因突变导致心房颤动的机制[J]. 国际心血管病杂志, 2021, 48(1):53-57.
- [8] Al Turki S, Manickaraj AK, Mercer CL, et al. Rare variants in *NR2F2* cause congenital heart defects in humans[J]. Am J Hum Genet, 2016, 98(3):592.
- [9] Qiao XH, Wang Q, Wang J, et al. A novel *NR2F2* loss-of-function mutation predisposes to congenital heart defect[J]. Eur J Med Genet, 2018, 61(4):197-203.
- [10] Wang J, Abhinav P, Xu YJ, et al. *NR2F2* loss-of-function mutation is responsible for congenital bicuspid aortic valve[J]. Int J Mol Med, 2019(4):1839-1846.
- [11] Azuma T, Seki N, Yoshikawa T, et al. cDNA cloning, tissue expression, and chromosome mapping of human homolog of *SOX18*[J]. J Hum Genet, 2000, 45(3):192-195.
- [12] Swift MR, Pham VN, Castranova D, et al. Sox factors and Notch regulate *NR2F2* gene expression during venous differentiation in zebrafish[J]. Dev Biol, 2014, 390(2):116-125.
- [13] Hosking BM, Wang SC, Chen SL, et al. *SOX18* directly interacts with *MEF2C* in endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 287(2):493-500.
- [14] Qiao XH, Wang F, Zhang XL, et al. *MEF2C* loss-of-function mutation contributes to congenital heart defects[J]. Int J Med Sci, 2017, 14(11):1143-1153.

- [15] Li YJ, Yang YQ. An update on the molecular diagnosis of congenital heart disease: focus on loss-of-function mutations[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2017, 17(4):393-401.
- [16] Sakamoto Y, Hara K, Kanai-Azuma MS, et al. Redundant roles of *Sox17* and *Sox18* in early cardiovascular development of mouse embryos[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 360(3):539-544.
- [17] Chi Z, Basta T, Klymkowsky MW. *SOX7* and *SOX18* are essential for cardiogenesis in *Xenopus*[J]. Dev Dyn, 2005, 234(4):878-891.
- [18] Coulie R, Niyazov DM, Gambello MJ, et al. Hypotrichosis-lymphedema-telangiectasia syndrome: report of ileal atresia associated with a *SOX18* de novo pathogenic variant and review of the phenotypic spectrum[J]. Am J Med Genet A, 2021, 185(7):2153-2159.

(收稿:2022-06-22 修回:2023-06-25)

(本文编辑:丁媛媛)

To cure sometimes,
to relieve often,
to comfort always.

—Edward Livingston Trudeau

有时，去治愈，
常常，去帮助，
总是，去安慰。

——爱德华·利文斯顿·特鲁多

