

· 临床研究 ·

# 一汉族先天性眼外肌纤维化家系 KIF21A 基因检测和影像分析

王 玥,陈雪娟,刘 虎\*

南京医科大学第一附属医院眼科,江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的:收集一汉族先天性眼外肌纤维化1型家系,分析临床及影像学特征,明确眼外肌病理改变,检测该家系致病突变基因并讨论遗传学基础。方法:对所有参与研究的家系成员进行详细眼科检查、眼眶及颅神经高分辨核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查,通过眼外肌组织切片 Masson 染色明确眼外肌病理改变,利用 Sanger 直接测序技术对该家系行 KIF21A 基因全部外显子及剪接位点区域测序,获取候选突变并分析。结果:该家系为3代先天性眼外肌纤维化1型家系,家系中患者临床表现为双眼中至重度上睑下垂,眼球垂直运动完全受限,水平运动不同程度部分受限。眼眶 MRI 示患者双侧上直肌提上睑肌复合体发育不良,左眼内、外直肌萎缩,多支眼外肌纤维化样改变。颅神经 MRI 示患者双侧动眼神经神经细,左侧外展神经缺如。眼外肌 Masson 染色示蓝染胶原纤维取代红染肌纤维,眼外肌发生纤维化样改变。Sanger 直接测序获得致病突变 KIF21A c.2860C>T(p.R954W),该杂合错义突变在该家系中呈共分离。结论:KIF21A c.2860C>T(p.R954W)是该家系的致病突变,这一突变会造成较为少见的单侧外展神经缺如的表型。应用高分辨 MRI 检查有助于了解眼外肌纤维化患者特异性颅神经和眼外肌改变协助临床诊断和处理。

**[关键词]** 先天性眼外肌纤维化;KIF21A 基因;突变

**[中图分类号]** R777.4

**[文献标志码]** B

**[文章编号]** 1007-4368(2019)04-574-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20190421

先天性眼外肌纤维化(congenital fibrosis of extraocular muscles, CFEOM)属于先天性颅神经异常支配眼病(congenital cranial dysinnervation disorders, CCDDs),后者是一组先天性、非进行性斜视综合征,呈家族性遗传或散发。主要病因为1条或多条颅神经发育异常或完全缺失,从而引起的原发或继发性肌肉异常神经支配。主要包括 CFEOM、Duane 综合征(Duane retraction syndrome, DRS)、Moebius 综合征和水平注视性麻痹伴进行性脊柱侧弯等<sup>[1]</sup>。此类疾病大多预后较差,且多以家族性发病,对社会和患者生活影响较为严重。

目前根据临床诊断特点和分子遗传学研究进展,CFEOM 主要分为以下5个亚型:CFEOM1、CFEOM2、CFEOM3、Tukel 综合征和伴多小脑回的 CFEOM3。这类疾病共同特点是先天性非进行性眼外肌麻痹,可伴随上睑下垂。CFEOM1 具有高度临床和遗传异质性,在遗传学上表现为常染色体显性遗传和无家族史的散发病例,已明确的致病基因主

要是 KIF21A<sup>[2-3]</sup>。高分辨 MRI 能够清楚地显示 CFEOM 患者相关颅神经和眼外肌的功能解剖结构<sup>[4]</sup>。

本文对 CFEOM1 家系所有成员行详细临床评估,眼眶及颅神经高分辨 MRI 检查,眼外肌病理检查,利用 Sanger 直接测序技术对该家系行 KIF21A 基因全部外显子及剪接位点区域测序及分析,以探讨 CFEOM1 患者临床特征、眼外肌结构和病理改变、相关颅神经走行及改变并探索遗传学基础。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

本研究选取南京医科大学第一附属医院就诊的1个中国汉族3代 CFEOM 家系(SXC 家系),共纳入3例患者和1例家系中正常成员。对参与研究的家系成员行详细病史采集、眼科检查、影像学检查、手术患者眼外肌病理检查以及分子遗传学检测和分析。本研究遵守赫尔辛基宣言进行,所有受检者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 眼科、影像学 and 病理检查

观察并记录参与研究的所有家系成员的头位、

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81673198)

\*通信作者(Corresponding author),E-mail:liuhu@njmu.edu.cn

第一眼位、眼球运动情况并测量睑裂宽度。通过观察患者上睑缘遮盖角膜的程度判定上睑下垂程度:患者双眼平视前方,在排除额肌作用下,上睑缘遮盖角膜 > 2 mm 且 ≤ 4 mm,判定为轻度上睑下垂;遮盖 > 4 mm 且 ≤ 6 mm,判定为中度上睑下垂;遮盖 > 6 mm,达到瞳孔中央,判定为重度上睑下垂<sup>[5]</sup>。影像学检查行高分辨 MRI 扫描:采用 Siemens Magnrtom Trio Tim 3.0T 超导型磁共振成像仪和头颅 12 通道相控阵线圈,行 FSE T2WI 横断位扫描。3D-SPACE 扫描具体参数:TR/TE 1 000 ms/131 ms,反转角 120°,Averages 2,FOV 200 mm×200 mm,矩阵 384×384,层厚/层间距 0.5 mm/0 mm。扫描结束上传所得 SPACE 序列数据至后处理工作站,使用多平面重建(multiplanar reconstruction,MPR)分别做冠状位、矢状位和轴位重建,重建层厚为 0.5 mm,层间距为 0.8~1.2 mm。重点观察动眼神经、滑车神经和外展神经走行及改变。眼外肌组织 Masson 染色胶原纤维染为蓝色,肌纤维染为红色,用于揭示眼外肌组织病理改变。

### 1.2.2 遗传学检查

采集所有受检者外周静脉血 5 mL,乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid,EDTA)抗凝,使用 Tiangen 血液基因组 DNA 提取试剂盒(北京天根公司)提取全基因组 DNA,按照说明书操作步骤进行,样本-20℃保存备用。

参考美国国家生物技术信息中心(NCBI, ID: 55605)和 Ensemble Genome Server 数据库获取 KIF21A 基因序列,利用在线软件 Primer 3.0 对该基因的全部外显子及剪接位点区域序列设计引物,引物信息详见表 1。使用 PrimerSTAR<sup>®</sup>HS DNA Polymerases 试剂盒(TaKaRa 公司,日本)行聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR),按说明书设定反应条件和体系。引物合成及 Sanger 测序均由南京金斯瑞生物技术有限公司完成。所得测序结果采用 4Peaks 软件分析。

### 1.2.3 突变致病性评估

致病性预测:利用 SIFT(<http://sift.jcvi.org/>), PolyPhen-2(<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)以及 mutationtaster(<http://www.mutationtaster.org/>)软件在线评估候选突变致病性。

氨基酸保守性分析:利用 Ensemble Genome Server 数据库 BLAST/BLAT Tools 对该突变氨基酸行保守性分析。选择人(*Homo sapiens*)、猩猩(*Gorilla gorilla*)、马(*Equus caballus*)、家犬(*Canis lupus famil-*

*iaris*)、牛(*Bos taurus*)和褐家鼠(*Rattus norvegicus*)共 6 种哺乳动物进行分析。

## 2 结 果

### 2.1 家系基线资料及临床、影像、病理特征

SXC 家系为来自山西大同的 3 代 CFEOM1 家系,家系中共有 4 位患者,其中能够纳入研究的患者共有 3 位(Ⅱ:1、Ⅱ:3 和 Ⅲ:1),均具有 CFEOM1 典型临床表现:第一眼位固定在下转位,双眼垂直方向眼球运动完全受限,双眼试图上转时出现集合,水平方向运动不同程度部分受限,先天性非进展性上睑下垂,在日常和临床检查时表现为下颌上抬的代偿头位。家系中患者临床资料详情见表 2,图 1A。

先证者 Ⅲ:1 眼眶 MRI 检查示:与正常人 MRI 结果相比(图 1B、C),先证者双侧上直肌提上睑肌复合体以及左侧内、外直肌显著变细萎缩,多支眼外肌内出现条索状影提示眼外肌发生纤维化样改变(图 1D);颅神经 MRI 检查显示患者双侧动眼神经纤细,经测量先证者动眼神经直径约 0.9 mm,而在同年龄正常男性中测量值约为 1.5 mm;患者左侧外展神经缺如(图 1E)。

先证者手术后眼外肌 Masson 染色示红染肌纤维几乎完全消失,出现大量蓝染胶原纤维,提示眼外肌发生纤维化样改变(图 1F)。

### 2.2 受检者分子遗传学检测突变位点

本研究利用 Sanger 直接测序首先对先证者 Ⅲ:1 进行 KIF21A 基因的全外显子和剪接位点区域测序,获得候选突变 KIF21A c.2860C>T(p.R954W)(图 2A)。突变造成第 954 位精氨酸改变为色氨酸。对该家系其他成员行此突变位点测序验证,证实该错义突变在家系中呈共分离状态,家系中所有患者(Ⅱ:1、Ⅱ:3 和 Ⅲ:1)均携带该杂合错义突变,而正常家系成员(Ⅱ:2)不携带该突变(图 2B)。

本研究进一步在 100 位中国健康对照人群中对照 KIF21A c.2860C>T 突变进行筛查,结果在所有健康对照中均未获得阳性结果。

进一步利用 3 个在线错义突变功能预测软件对 KIF21A c.2860C>T 突变进行致病性分析,结果分别为 PolyPhen-2(Probably damaging/1.00)、SIFT(Damaging /0.00)、mutationtaste(disease causing),均提示突变非常有害。

通过 6 种哺乳动物氨基酸序列比对发现,954 号精氨酸(arginine, R)在哺乳动物中呈高度保守(图 2C)。

表1 KIF21A 基因全部外显子和剪接位点区域引物序列

外显子序号	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')	解链温度(°C)	产物大小(bp)
1	CACCTTCCATTTCAGTCGCC	AGTTTCCTCAGCCGCAGAA	60	346
2	ACTGAGTGTCTACCTCTTACAGA	TGAAAGCGCAACTGAATTAACA	60	599
3	TGTTAATTCAGTTGCGCTTTC	TGCCATTACACTCCAACCTG	60	579
4	GCACATGTTTCTAGGGTTTGC	TTCCATGTTCATGCTTCAGGAT	60	586
5	AGCCATTACCTCAGACTTTGG	TGACCAGCTTCAACTTAACTAGG	60	367
6	CGCAAGGTAGGTTAGGAGGA	AGGAGATTGGAGATTTCAGTGCA	60	398
7	TGATGCTCTGATAATTCTAGGGG	CAAGGGATGCTAGGATTATGTGA	60	600
8	AGTCTTCAAGTACAGGGGCT	TCCAAAAGGAAGGAGGACACT	60	477
9	AGGATTTCTTTTGCCTTGGGG	ACATGAGCAGACCACAAGATAA	60	546
10	TCTTGTGGTCTGCTCATGTAAT	TGACATCAAGGAAAAGTAAGT	60	387
11	TGGAGATGGATGGTGGTGAC	TGAATGGAATGCAAAAAGCAGC	60	656
12	CATCCAAGCATGCCTAATCCT	AGCATTACTTTTAGGAGCAGCC	60	478
13	GCTTGTCTCAGTTAAGTGACCA	CTGACTCCCCAACACAATGC	60	441
14	GCATTGTGTTGGGGAGTCAG	AGGTCAGTGGTCACAGAAGT	60	455
15	TCTGATATTTTGGCCTAGCACC	CCTAGGCAGATATCGGTATGAAA	60	509
16	TGAGATGTGGGTGTTTGGGA	AGGCTTGGATGAGGAATGACT	60	494
17	TTGCCCACTTTAAACGTGCA	GCAACTAGTTTCCTTGGTCATCC	60	553
18	GGTGTGACTCAAAGATTCTGC	TTGCAGCAAAGGTTGACTCA	60	296
19	CGTCGCAAAACTGAAGAGGT	GGCCAAGAAGATTACATCAGCA	60	378
20	TTTGGCAGTGCACAATCAAA	ACCCAGGGAACAAAATTGGA	60	294
21	TCCAATTTTGTTCCTGGGT	GCAAGCAGGAAGTGGCATAAC	60	474
22	GCTGTTGCCTTCTGTTTTCA	GGGCACGGTTTTCTTACAGG	60	595
23	TCTGTTCTTATGCCATCTCACTT	AGCATCTATTTCAGTCAAGCCA	60	548
24	TCTGCGTATCTCACTGCCTT	GTGTGTTTGTGGGCATGGAT	60	342
25	TGACTCAGTACATTAAGGAGGC	GCTCCTCTATATCAACGACTACA	60	761
26	TCTGGCTTGTCACTATCTCACA	TCCATCTCCTGACCTCCTGA	60	488
27	GGCACACCTAGGAAAAGACAC	GGGGAGACAACACCTAGCAA	60	487
28	TTGCTGAGCTTCCATCAACT	ATTAGACCACCGAGCCAAGC	60	467
29	TGGCCAATGTAACAAAATCCAGT	TTGGCTGCATGGTTCCCTTTC	60	490
30	GCAAGTAGAAAAGCAGGGCA	CAACAAGTGATGCATGCAACA	60	289
31	TCTAATGCCTCAAAGTGTGTGA	TGGCAAATTTGTACAACAGACTT	60	510
32	TCGTTAAACCTTGGAGAGATGAA	TTTACTTGCTGCTCAACTATGC	60	600
33	TGTTGCAGAGGGTCAAGGAT	AGTCACCGATCAAATATGGCT	60	587
34	ACACTGTTCTTGTGTTGCCT	TCCCCAGCAACGGAGATTAA	60	486
35	TGTTGAGGCTTAGTCCCATCA	AGTGAGAATGCATGATTGAACAA	60	374
36	AGCCTGGAAACATAGTGAGA	TGTTTCCTTCTCCAGTGA	60	550
37	ACTTTCTCCAGCCAATTCCA	GCCTAAATTCAGTGCCACACA	60	500
38	GGTAACAATGCCTGGCTCAC	ACGTTTTGCCTAGTAAGTACAGG	60	398

### 3 讨论

CFEOM 是 CCDDs 的重要组成部分,该病曾在早年研究中被认为是肌源性疾病,目前多数学者认为 CFEOM 的原发病理改变出现于第 3、4 颅神经(动眼神经和滑车神经)、神经核以及它们所支配的肌肉,包括上直肌、下直肌、内直肌、下斜肌,提上睑肌

(动眼神经支配)和上斜肌(滑车神经支配),但其具体发病机制目前尚没有完全阐明<sup>[6]</sup>。CFEOM 多以家族性发病,疾病表型多变而严重,对患者和社会有严重影响。对于该病分子遗传学的研究和理解可辅助临床和产前诊断,具有很大的临床价值和社会意义。

本研究 SXC 家系共连续传递 3 代,临床表型属于 CFEOM1,呈现双眼中至重度上睑下垂,眼球垂直

表2 家系患者眼部临床表现

患者	年龄(岁)	性别	矫正视力		下颌上抬	上睑下垂	眼球运动
			右	左			
Ⅱ:1	53	女	0.4	0.5	+	重度	右眼内转,外转可,其余方向均受限;左眼各方向转动均受限;试图上转时双眼出现集合
Ⅱ:3	47	男	0.6	0.5	+	中度	右眼内转,外转可,其余方向均受限;左眼各方向转动均受限;试图上转时双眼出现集合
Ⅲ:1	27	男	0.8	0.5	+	重度	右眼内转,外转可,其余方向均受限;左眼各方向转动均受限;试图上转时双眼出现集合

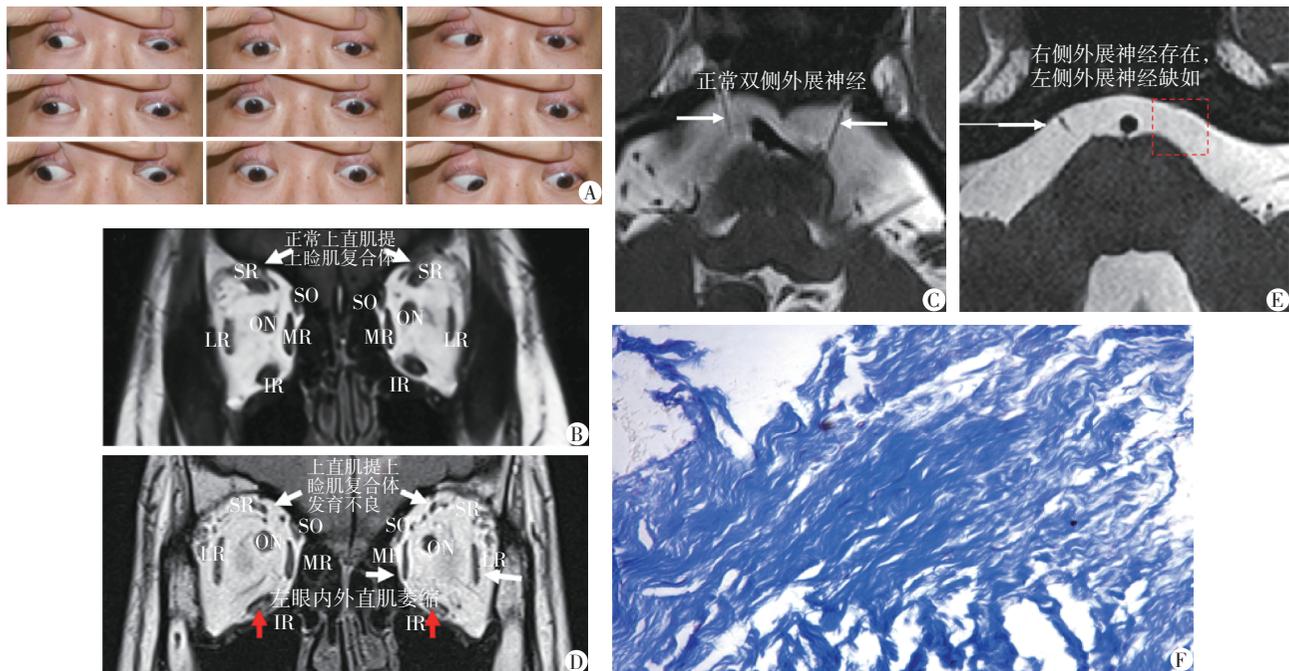


图1 患者临床、影像、病理资料  
A:先证者Ⅲ:1九诊断眼位照;B:正常人眼眶MRI示正常眼外肌;C:正常人颅神经MRI平扫示双侧正常外展神经;D:先证者Ⅲ:1眼眶MRI示双侧上直肌提上睑肌复合体,左眼内、外直肌显著变细萎缩(白色箭头);双侧下直肌明显纤维化样改变(红色箭头);E:先证者Ⅲ:1颅神经MRI平扫显示左侧外展神经缺如(红色方框),可见右侧外展神经(白色箭头);F:先证者术后眼外肌Masson染色示红染肌纤维消失,出现大量蓝染的胶原纤维。SR:上直肌;IR:下直肌;LR:外直肌;MR:内直肌;SO:上斜肌;ON:视神经。

图1 患者临床、影像、病理资料

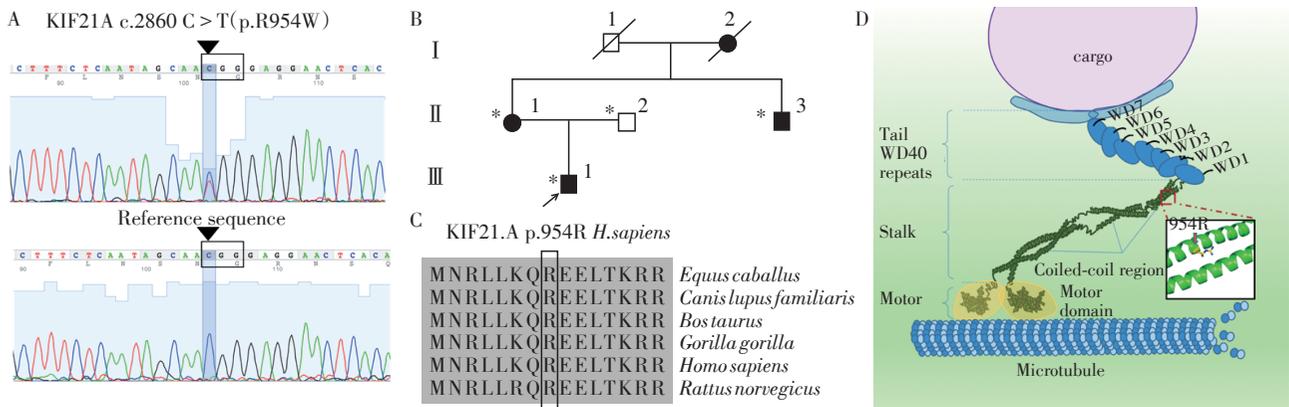


图2 CFEOM1家系图、基因及保守性分析、KIF21A 蛋白结构示意图  
A:KIF21A c.2860G>T 错义突变 Sanger 测序图;B:一汉族 CFEOM1 家系图,\*:采集外周血的家系成员;C:KIF21A 蛋白 954 号精氨酸在 6 种哺乳动物中高度保守;D:KIF21A 蛋白结构示意图。

图2 CFEOM1家系图、基因及保守性分析、KIF21A 蛋白结构示意图

运动完全受限,水平运动不同程度部分受限改变并在双眼间存在差异,右眼内、外转可,而左眼内、外转均受限。先证者Ⅲ:1眼眶MRI显示双侧上直肌提上睑肌复合体发育不良,左侧内、外直肌明显变细萎缩,多支眼外肌呈纤维化样改变。头颅MRI示其动眼神经较正常人更为纤细,伴有左侧外展神经缺如。这是该家族患者双眼垂直运动受限和水平运动存在较大差异的原因,患者颅神经异常支配与异常眼外肌改变相对应。

CFEOM1在遗传学上既有常染色体显性遗传,亦有无家族史的散发病例。目前在针对CFEOM1的家系遗传研究中,KIF21A被认为是最常见的致病突变基因<sup>[2-3]</sup>。KIF21A编码由1674个氨基酸组成的驱动蛋白。该蛋白含有3个特征性的结构域:N端头部球形运动马达(motor domain, MD)结合于微管,利用ATP水解释放的能量在微管上运动;中央茎部超螺旋区域(stalk domain)包含有3个卷曲螺旋结构(coiled-coil domain),其反向结合在MD结构域上,使KIF21A表现为自我抑制的状态;C端尾部含有7个WD40重复序列(图2D)<sup>[7-9]</sup>。

本研究SXC家系突变KIF21A c.2860C>T(p.R954W),造成KIF21A蛋白第3个卷曲螺旋区域954号精氨酸突变为色氨酸。该错义突变最初由Yamada等<sup>[2]</sup>在CFEOM1家系中报道,随后研究发现该突变是CFEOM1最常见的致病突变,发病率在72%和75%之间。大量研究表明KIF21A蛋白是微管生长的抑制因子,KIF21A基因上的杂合错义突变通常引起N端运动马达或中央茎部中第3个卷曲螺旋结构特定氨基酸改变<sup>[2,10]</sup>。其可能致病机制为突变后减弱了KIF21A的第3个卷曲螺旋和运动马达之间的分子内相互作用,破坏了KIF21A自我抑制,导致KIF21A活性增强,抑制微管生长,改变神经元轴突和生长锥形态<sup>[11]</sup>。既往研究者通过建立Kif21a p.R943W(与人类KIF21A p.R954W相对应)knockin小鼠模型,在胚胎小鼠中观察到动眼神经发育走行近侧形成隆起,远侧神经变薄,可见动眼神经上支缺失同时伴有下支的异常分支。进一步研究发现隆起部分包含动眼神经上支轴突提前停滞的生长锥,表明动眼神经上支不能做出正确的导向决定<sup>[12]</sup>。但是该动物模型却没有表现出本研究中外展神经缺失的表型。事实上,外展神经缺如的表型与CCDDs中另一类分支疾病眼球后退综合症的表型有相似之处。DRS被认为主要和编码 $\alpha$ 2-chimaerin的CHN1基因突变相关<sup>[13-14]</sup>。尽管二者发病原因均

涉及颅神经发育和轴突生长及导向异常,但二者涉及分子不同,目前并无研究证明二者之间存在相同的疾病通路。KIF21A突变带来外展神经缺如的具体机制还有待进一步研究。

本研究报道了一汉族先天性眼外肌纤维化1型KIF21A c.2860C>T(p.R954W)家系,分析了患者临床特征及眼眶和颅神经影像学改变。通过sanger测序技术鉴定了该家系致病突变,探讨了基因型-表型的关联性,该突变造成较为少见的单侧外展神经缺如的表型。本研究增加了中国CFEOM1遗传基础的理解,有助于产前诊断和基因治疗在未来的应用。

#### [参考文献]

- [1] Gutowski N, Bosley T, Engle E. 110th ENMC International Workshop: the congenital cranial dysinnervation disorders (CCDDs): Naarden, The Netherlands, 25-27 October, 2002 [J]. *Neuromuscul Disord*, 2003, 13(7-8): 573-578
- [2] Yamada K, Andrews C, Chan WM, et al. Heterozygous mutations of the kinesin KIF21A in congenital fibrosis of the extraocular muscles type 1 (CFEOM1) [J]. *Nat Genet*, 2003, 35(4): 318-321
- [3] Tiab L, Manzi VdA, Borruat FX, et al. Mutation analysis of KIF21A in congenital fibrosis of the extraocular muscles (CFEOM) patients [J]. *Ophthalmic Genet*, 2004, 25(4): 241-246
- [4] Demer JL, Clark RA, Engle EC. Magnetic resonance imaging evidence for widespread orbital dysinnervation in congenital fibrosis of extraocular muscles due to mutations in KIF21A [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(2): 530-539
- [5] 杨军. 上睑下垂诊治专家共识 [J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(6): 406-411
- [6] Coymans P, Al-Zuhaibi S, Al-Senawi R, et al. Congenital fibrosis of the extraocular muscles [J]. *Oman J Ophthalmol*, 2010, 3(2): 70-74
- [7] Wang W, Cao L, Wang C, et al. Kinesin, 30 years later: Recent insights from structural studies [J]. *Protein Sci*, 2015, 24(7): 1047-1056
- [8] Woehlke G, Schliwa M. Walking on two heads: the many talents of kinesin [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(1): 50
- [9] Bianchi S, Van Riel WE, Kraatz SH, et al. Structural basis for misregulation of kinesin KIF21A autoinhibition by CFEOM1 disease mutations [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 30668
- [10] Chan WM, Andrews C, Dragan L, et al. Three novel mutations in KIF21A highlight the importance of the third

(下转第584页)

据以往研究测量消融范围,未通过病理进行确定;另外,未进行循环水温度的监测及其温度场分布的测定。因此本研究所提示结果仍需大量重复实验以期得到更为准确的冰水冷却循环状态下功率、时间与类圆率的关系及临床应用来反映其消融效果。

综上所述,该创新性实验初步提示,使用冰水冷却循环进行微波消融,可能可以通过缩短消融纵径从而提高消融区域的正圆率,尤其是在低功率短时间的情况下效果可能更好,这对于临床上特殊位置如靠近包膜、胆道系统的病灶消融以及减少正常肝组织损伤等方面有较大的临床价值,但是仍需要进一步的实验来验证。

[参考文献]

[1] Sun AX, Cheng ZL, Wu PP, et al. Clinical outcome of medium-sized hepatocellular carcinoma treated with microwave ablation[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(10): 2997-3004

[2] Song P, Sheng L, Sun Y, et al. The clinical utility and outcomes of microwave ablation for colorectal cancer liver metastases[J]. Oncotarget, 2017, 8(31):51792-51799

[3] Giorgio A, Gatti P, Montesarchio L, et al. Microwave ablation in intermediate hepatocellular carcinoma in cirrhosis: an Italian multicenter prospective study[J]. J Clin Transl Hepatol, 2018, 6(3):251-257

[4] 伏旭,何健,史炯,等. 肝细胞癌大体形态分型的临床意义[J]. 中华消化外科杂志, 2015, 14(2): 120-126

[5] Kuang M, Lu MD, Xie XY, et al. Liver cancer: Increased microwave delivery to ablation zone with cooled-shaft antenna—experimental and clinical studies[J]. Radiology, 2007, 242(3):914-924

[6] Ziemlewicz TJ, Hinshaw JL, Lubner MG, et al. Percutaneous microwave ablation of hepatocellular carcinoma with a gas-cooled system: initial clinical results with 107 tu-

mors[J]. J Vasc Interv Radiol, 2015, 26(1):62-68

[7] Shock SA, Meredith K, Warner TF, et al. Microwave ablation with loop antenna: *in vivo* porcine liver model[J]. Radiology, 2004, 231(1): 143-149

[8] Lubner MG, Ziemlewicz TJ, Hinshaw JL, et al. Creation of short microwave ablation zones: *in vivo* characterization of single and paired modified triaxial antennas laboratory investigation [J]. J Vasc Interv Radiol, 2014, 25(10): 1633-1640

[9] Burdfo F, Navarro A, Berjano EJ, et al. Radiofrequency hepatic ablation with internally cooled electrodes and hybrid applicators with distant saline infusion using an *in vivo* porcine model [J]. Eur J Surg Oncol, 2008, 34(7): 822-830

[10] Lubner MG, Brace CL, Hinshaw JL, et al. Microwave tumor ablation: mechanism of action, clinical results, and devices [J]. J Vasc Interv Radiol, 2010, 21(8 Suppl):S192-S203

[11] Wright AS, Sampson LA, Warner TF, et al. Radiofrequency versus microwave ablation in a hepatic porcine model [J]. Radiology, 2005, 236(1): 132-139

[12] Ringe KI, Lutat C, Rieder C, et al. Experimental evaluation of the heat sink effect in hepatic microwave ablation [J]. PLoS One, 2015, 10(7):e0134301

[13] Teratani T, Yoshida H, Shiina S, et al. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma in so-called high-risk locations[J]. Hepatology, 2006, 43(5): 1101-1108

[14] Yang W, Yan K, Wu GX, et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma in difficult locations: Strategies and long-term outcomes [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(5): 1554-1566

[15] Dou JP, Yu J, Yang XH, et al. Outcomes of microwave ablation for hepatocellular carcinoma adjacent to large vessels: a propensity score analysis [J]. Oncotarget, 2017, 8(17): 28758-28768

[收稿日期] 2018-11-05

(上接第578页)

coiled-coil stalk domain in the etiology of CFEOM1 [J]. BMC Genet, 2007, 8:26

[11] van der Vaart B, van Riel WE, Doodhi H, et al. CFEOM1-associated kinesin KIF21A is a cortical microtubule growth inhibitor[J]. Dev Cell, 2013, 27(2): 145-160

[12] Cheng L, Desai J, Miranda CJ, et al. Human CFEOM1 mutations attenuate KIF21A autoinhibition and cause oculomotor axon stalling[J]. Neuron, 2014, 82(2): 334-349

[13] Miyake N, Chilton J, Psatha M, et al. Human CHN1 mutations hyperactivate alpha2-chimaerin and cause Duane's retraction syndrome[J]. Science, 2008, 321(5890): 839-843

[14] Nugent AA, Park JG, Wei Y, et al. Mutant alpha2-chimaerin signals via bidirectional ephrin pathways in Duane retraction syndrome[J]. J Clin Invest, 2017, 127(5): 1664-1682

[收稿日期] 2018-10-22