

中国汉族人群蚕蚀性角膜溃疡与 HLA-Cw 等位基因的相关性研究

王青松 袁 进 周世有 陈家祺

Association of Mooren's ulcer and HLA-Cw alleles in Chinese Han population

Wang Qingsong, Yuan Jin, Zhou Shiyou, Chen Jiaqi. State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China

Abstract Objective Our previous study verified the close correlation of human leucocyte antigens (HLA)-DR17(3), HLA-DQ2, HLA-A33, HLA-B58, HLA-DQ0303 and Mooren's ulcer in Chinese Han nationality. However, there still is no the study on whether HLA-Cw is associated with Mooren's ulcer or not. This study was to investigate the association between Mooren's ulcer and HLA-Cw alleles in Chinese Han nationality population. **Methods** A total of 17 patients with Mooren's ulcer from the same ethnic nationality (Han nationality) in different parts of China. The diagnosis of Mooren's ulcer was determined by the typical ulcer manifestation, detail relevant disease history, ocular examination, and outcome of comprehensive laboratory tests. HLA-Cw was typed by polymerase chain reaction(PCR) using sequence specific primers (PCR-SSP). The HLA typing result was compared with published data from control populations of the same ethnic nationality. **Results** The gene frequency of HLA-Cw-01, Cw-02, Cw-03, Cw-04, Cw-07, Cw-08, Cw-12, Cw-14 and Cw-15 in Mooren's ulcer patients was 20.59%, 2.94%, 26.47%, 5.88%, 11.76%, 17.65%, 5.88%, 2.94% and 2.94%, respectively. Compared with control population, there was no statistically significant difference between these two groups population. **Conclusion** Our data suggested that HLA-Cw is probably not associated with Mooren's ulcer in Chinese Han population.

Key words Mooren's ulcer; human leucocyte antigens-Cw; Chinese Han nationality; alleles

摘要 目的 探讨中国汉族人群蚕蚀性角膜溃疡与人类白细胞抗原(HLA)-Cw基因的相关性。**方法** 收集17例中国汉族蚕蚀性角膜溃疡患者血样,提取基因组DNA。采用序列特异性引物-聚合酶链反应(PCR-SSP)方法来进行HLA-Cw基因分型。正常对照组来源于已知的研究资料。**结果** 蚕蚀性角膜溃疡组HLA-Cw01、Cw02、Cw03、Cw04、Cw07、Cw08、Cw12、Cw14和Cw15的基因频率分别为20.59%、2.94%、26.47%、5.88%、11.76%、17.65%、5.88%、2.94%和2.94%,与正常对照组相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 在中国汉族人群中,HLA-Cw与蚕蚀性角膜溃疡致病无相关性。

关键词 蚕蚀性角膜溃疡; 人类白细胞抗原(HLA)-Cw; 中国汉族人群; 等位基因

分类号 R 772.21 Q 812 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)06-0514-03

蚕蚀性角膜溃疡与自身免疫有关^[1-3],但其发病机制尚不清楚。关于人类白细胞抗原(human leucocyte antigen, HLA)等位基因DR17(3)、DQ2、DQ5与蚕蚀性角膜溃疡发病的关系已有报道^[4-5]。我们近期研究发现,在中国汉族人群中,HLA-DR17(3)、HLA-DQ2、HLA-A33、HLA-B58、HLA-DQ0303与蚕蚀性角膜溃疡的发病密切相关,而HLA-DQ5与蚕蚀性角膜溃疡的

发病无相关性^[6]。而HLA-Cw与蚕蚀性角膜溃疡的发病是否相关至今未见研究报道。本研究检测临床确诊为蚕蚀性角膜溃疡的中国汉族患者的HLA-Cw等位基因,并进行分析,报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样本采集 中国汉族进行性蚕蚀性角膜溃疡患者17例,年龄31~65岁,平均(44.6±10.9)岁。其中男13例,女4例;北方患者5例,南方患者12例;单眼12例,双眼5例。蚕蚀性角膜溃疡的确诊是根据角膜周边部溃疡向中央方向的浸润缘呈穿凿状的典型形

本课题为国家自然科学基金(30700929)、卫生部临床重点学科项目(2004-468)资助

作者单位:510060 广州,中山大学中山眼科中心 国家眼科重点实验室

通讯作者:陈家祺 (Email: gdeyeb@mail.sysu.edu.cn)

态,结合详细的病史、体格检查和实验室检查(抗溶血性链球菌素 O、抗核抗体、抗双链 DNA 抗体等),并排除可引起周边性角膜溃疡的全身疾患。

1.1.2 主要试剂及仪器 DNA 快速抽提试剂盒、人类基因组 DNA 提取纯化试剂盒(德国 QiaGen 公司);PCR-SSP 基因分型试剂盒(德国 Biotest 公司);PCR 扩增仪、Syngene 凝胶成像分析系统(美国 PE 公司);Clintyper 分析软件(美国 PEL-FREEZ 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验方法 每个样本取 500 μL EDTA 抗凝全血提取基因组 DNA。采用序列特异性引物-聚合酶链反应(polymerase chain reaction using sequence specific primers,PCR-SSP)方法进行 HLA-Cw 基因低分辨率分型,具体 PCR 扩增条件、HLA 分型结果判读按照试剂盒说明书操作,出现分型结果有疑问的样本,用与原分型试剂不同批号或其他厂家试剂进行复核。

1.2.2 结果判定 HLA 基因频率采用直接计数法计数:pi = 基因型数/2N(pi 为相应基因频率,N 为观察数)^[7]。正常对照组 HLA-Cw 基因频率采用已知的 1 285 例健康汉族人的 HLA-Cw 基因频率资料^[8]。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件对数据进行分析,蚕蚀性角膜溃疡组和健康对照组 HLA-Cw 基因频率比较采用四格表 χ^2 双侧检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

蚕蚀性角膜溃疡组的 HLA-Cw 等位基因的基因型数和基因频率分布见表 1。与健康对照组比较,HLA-Cw 基因频率差异均无统计学意义($P > 0.05$)(表 2)。

表 1 HLA-Cw 等位基因在蚕蚀性角膜溃疡组(n = 17)和健康对照组(n = 1 285)的分布

Table 1 Distribution of HLA-Cw alleles in Mooren's ulcer patients and controls

HLA-Cw Alleles	MU group		Control	
	Genotype count	Gene frequency (GF) ($\times 10^{-2}$)	Genotype count	GF ($\times 10^{-2}$)
01	7	20.59	393	15.29 ^a
02	1	2.94	23	0.89 ^a
03	9	26.47	612	23.81 ^a
04	2	5.88	167	6.50 ^a
07	4	11.76	449	17.47 ^a
08	6	17.65	258	10.04 ^a
09	1	2.94	0	0
12	2	5.88	158	6.15 ^a
14	1	2.94	128	4.98 ^a
15	1	2.94	103	4.01 ^a

^a $P > 0.05$

表 2 蚕蚀性角膜溃疡组和健康对照组 HLA-Cw 基因频率的比较
Table 2 Comparison of gene frequency of HLA-Cw in Mooren's ulcer patients and controls

HLA-Cw	GF of MU group ($\times 10^{-2}$)	GF of control ($\times 10^{-2}$)	χ^2	P	RR(95% CI)
01	20.59	15.29	0.724	0.395	1.436(0.621-3.321)
02	2.94	0.89	1.539	0.215	3.356(0.440-25.585)
03	26.47	23.81	0.130	0.718	1.152(0.535-2.481)
04	5.88	6.50	0.021	0.885	0.899(0.214-3.785)
07	11.76	17.47	0.760	0.383	0.630(0.221-1.797)
08	17.65	10.04	2.132	0.144	1.920(0.788-4.681)
12	5.88	6.15	0.004	0.949	0.954(0.227-4.017)
14	2.94	4.98	0.296	0.586	0.578(0.078-4.261)
15	2.94	4.01	0.100	0.752	0.726(0.098-5.359)

3 讨论

HLA-Cw 分子属于 HLA-I 类抗原,广泛分布于细胞表面。其与杀伤细胞免疫球蛋白样受体结合调节自然杀伤细胞和部分 T 细胞的细胞杀伤作用;HLA-Cw 相容性与肾移植急性排斥、干细胞移植 GVH/GVL 相关;与 HIV 感染、银屑病发病相关等。HLA-Cw 基因已经成为免疫遗传学研究的热点之一。

蚕蚀性角膜溃疡也称为 Mooren 氏角膜溃疡,临床上较常见。其病理进程初始于角膜周边部,前缘呈潜掘状沿角膜周边部延伸并向中央匍行发展,最终累及全角膜。角膜溃疡的另一特点是边进行边修复,修复的病变部位被新生上皮覆盖,伴大量新生血管生长。病变向深部发展者可发生穿孔、瘢痕化及血管化,同时角膜变薄,受到外伤后易导致穿孔。该病无特效的治疗方法,且易复发,治疗一直较为棘手,故其病因学研究也一直是眼科的研究热点之一。感染学说之一认为其与丙型肝炎病毒感染有关,但我们近期的研究明确否定了丙型肝炎病毒感染与蚕蚀性角膜溃疡致病的相关性^[9]。其他的病因学说还包括体内毒素说、局部营养代谢障碍说、胶原酶说、自体免疫说等。近年来国内外学者对不同种族的蚕蚀性角膜溃疡患者的 HLA 基因频率进行研究,提示蚕蚀性角膜溃疡发病与 HLA-DR17(3)、HLA-DQ2 及 HLA-DQ5 的密切关系^[4-5,10]。

我们最新的研究证实,在中国汉族人群中,HLA-DR17(3)、HLA-DQ2、HLA-A33、HLA-B58、HLA-DQ0303 与蚕蚀性角膜溃疡致病密切相关,而 HLA-DQ5 与蚕蚀性角膜溃疡致病无相关性^[6]。本研究发现,在中国汉族人群中,HLA-Cw 与蚕蚀性角膜溃疡致病无相关性。由于 HLA 基因系统的特点,不同人种、不同民族、不同地域以及更大样本条件下的研究结果与目前研究结论是否吻合,有待于进一步的研究。

参考文献

1 Lopez JS, Price FW, Jr, Whitcup SM, et al. Immunohistochemistry of Terrien's and Mooren's corneal degeneration [J]. Arch Ophthalmol, 1991, 109: 988 - 992

2 Brown SI, Mondino BJ, Rabin BS. Autoimmune phenomenon in Mooren's ulcer [J]. Am J Ophthalmol, 1976, 82: 835 - 840

3 Gottsch JD, Liu SH, Minkovitz JB, et al. Autoimmunity to a cornea-associated stromal antigen in patients with Mooren's ulcer [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1995, 36: 1541 - 1547

4 Taylor CJ, Smith SI, Morgan CH, et al. HLA and Mooren's ulceration [J]. Br J Ophthalmol, 2000, 84: 72 - 75

5 Liang CK, Chen KH, Hsu WM, et al. Association of HLA type and Mooren's ulcer in Chinese in Taiwan [J]. Br J Ophthalmol, 2003, 87:

797 - 798

6 王青松, 袁进, 周世有, 等. 中国汉族人群蚕蚀性角膜溃疡与 HLA 等位基因的相关性研究 [J]. 眼科研究, 2009, 27(4): 316 - 318

7 赵桐茂. 人类血型遗传学 [M]. 北京: 科技出版社, 1987: 235 - 236

8 刘金锋, 孙玉英, 金荔, 等. 造血干细胞移植供受体人群 HLA-Cw 基因遗传多态性研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2006, 23(5): 528 - 531

9 Wang QS, Yuan J, Zhou SY, et al. Chronic hepatitis C virus infection is not associated with Mooren's ulcer [J]. Eye, 2008, 22(5): 697 - 700

10 Zelefsky JR, Taylor CJ, Srinivasan M, et al. HLA-DR17 and Mooren's ulcer in South India [J]. Br J Ophthalmol, 2008, 92: 179 - 181

(收稿: 2009-02-16 修回: 2009-03-22)

(本文编辑: 刘艳)

· 病例报告 ·

Tolosa-Hunt 综合征一例

章余兰 叶波

Tolosa-Hunt 综合征又称痛性眼肌麻痹, 发病率较低, 临床上少见, 现将我院收治的 1 例报告如下。

患者, 男, 55 岁。因右眼胀痛伴睁眼困难反复发作 4 个月余于 2008 年 6 月 5 日在我院住院治疗。患者诉 4 个月前无明显诱因出现右眼胀痛, 睁眼困难伴眼球活动障碍、同侧头痛, 在当地市医院曾诊为炎性假瘤, 给予糖皮质激素治疗, 症状缓解, 停药后复发。入院时全身检查及甲状腺功能未见异常。血常规: 白细胞 $7.18 \times 10^9/L$, 中性粒细胞比值 95%。眼科检查: 双眼视力 1.0, 右眼睑活动无障碍, 平视时上睑缘遮盖角膜上缘约 1 mm, 眼前节检查正常, 晶状体皮质轻度混浊, 眼底视盘边界清, 色泽红, 视网膜无出血、渗出, 黄斑中心凹反光可见。左眼未见异常。眼眶 CT 提示右眼球后高密度影。入院后给予地塞米松 15 mg 静脉滴注 3 d, 自觉症状好转, 改为地塞米松 10 mg, 2 d 后出现右眼上睑下垂, 球结膜水肿, 眼球突出、固定。6 月 10 日 MRI 提示为 Tolosa-Hunt 综合征 (图 1, 2)。给予地塞米松 15 mg 静脉滴注 3 d, 症状无改善, 考虑患者糖皮质激素依赖, 加

用苯丁酸氮芥口服, 每日 2 mg, 第 7 天患者因消化道出血转入普外科治疗, 停用地塞米松, 症状好转后出院。

讨论: Tolosa-Hunt 综合征是一种原因不明、由于海绵窦及眶上裂的非特异性肉芽肿所致的痛性眼肌麻痹, 为一种免疫性疾病。本病临床诊断的主要依据: (1) 眼眶后疼痛。可在眼肌麻痹前或后出现, 疼痛常为持续性钻痛。(2) 病变累及海绵窦、眶上裂, 侵犯第 III、IV、VI 颅神经及第 V 颅神经的第一支, 瞳孔和视神经可有损害, 临床表现为复视、眼球运动障碍或固定、上睑下垂, 偶有视力下降。(3) 症状可持续数周或数月, 并可自行缓解, 有时可遗留神经系统体征。(4) 可间隔数月发作 1 次, 可以同侧或对侧复发。(5) 糖皮质激素治疗有效。(6) 应排除相应部位的占位性病变、颅内感染性疾病及眼肌麻痹型偏头痛等疾病。

Tolosa-Hunt 综合征很少能得到组织病理学诊断, MRI 对于本病的诊断和鉴别诊断具有重要意义^[1]。本病的 MRI 表现有一定的特征性, 表现为病变侧海绵窦较健侧增宽, 可见近似梭形的软组织影, T1WI 呈等信号或稍低信号, T2WI 为等信号或稍高信号, 边缘较清楚, 海绵窦周围间隙变窄或消失, 在冠状位 T1WI 上显示最清楚, 轴位 T2WI 能较好地显示颈内动脉的改变, 依据病变范围和病程不同可表现为移位、管腔变窄等。增强扫描病灶呈较明显的均匀强化, 而健侧海绵窦仅轻度强化。

本病的确切病因目前尚不清楚, 糖皮质激素治疗有效, 一旦确诊应及时应用并定期复查。对糖皮质激素治疗失败者, 可试用免疫抑制剂治疗, 部分可缓解。

参考文献

1 陈旺生, 李建军, 李长清, 等. Tolosa-Hunt 综合征的 MRI 诊断及其临床价值 [J]. 临床放射学杂志, 2008, 27(2): 175 - 176

(收稿: 2008-12-23 修回: 2009-04-06)

(本文编辑: 尹卫靖)

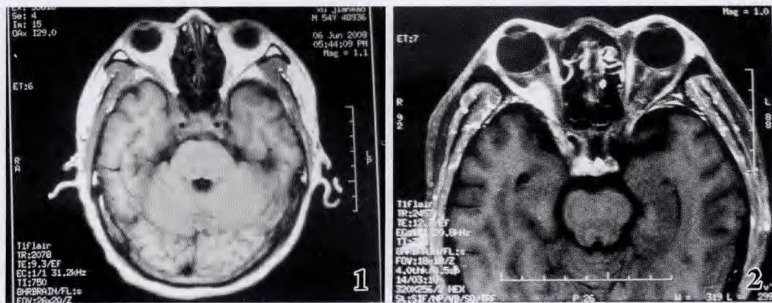


图 1, 2 患者眼眶 MRI 右眼外直肌中后段内侧面内占位性病变, 并沿眶外侧壁后方累及右侧海绵窦 (图 1, 2 均为 T₁ 加权, 图 2 为增强扫描)