

病理性近视基因学研究进展

黄立 张丰菊

病理性近视指屈光度高于 $-6.0D$ 、视力进行性下降、且多伴有眼轴的延长和眼基质的改变等并发症的致盲性眼病。高度近视占近视人群的 27%~33%，有明显的遗传倾向，存在种族差异。黄种人比白种人患病率高^[1]。

对于近视眼病因学的研究已有二百余年的历史，涉及种族遗传因素、环境因素、眼的解剖、生理、血供、营养和植物神经系统、免疫系统、内分泌系统等，包括遗传倾向，相关基因定位，巩膜胶原自体免疫学说，视网膜生物活性物质失调学说等。从最初的调节学说现代到现代的生化研究、基因研究，将近视眼的研究从宏观拓展到微观。虽然仍无肯定的结论，但仍以遗传因素和环境因素为主，是目前近视眼研究的两大主要方向。

一、环境因素：环境因素是指不同的视觉信息环境，如：工作距离，用眼时间，照明条件等。主要包括调节学说、外加屈光度实验等。大量动物实验表明^[2]：调节不是产生近视的直接原因，而可能是借助其他机制参与近视形成的危险因素之一，另外，对幼年动物眼施加正负球镜、形觉剥夺等干预，均改变了正常的视觉信息，并诱发了近视。可见环境因素参与近视的形成过程。

二、遗传因素：遗传因素在近视中的作用已在流行病学调查中得以体现，而病理性近视在病因学上有更为明显的遗传因素，高度近视在不同文化程度和不同职业的人群中发生基本相同，这一点和中、低度近视相比具有明显的差别^[3]。近年来许多研究都肯定了高度近视的遗传性，认为高度近视是单基因遗传。高度近视的遗传模式有性连锁隐性遗传(XR)，常染色体隐性遗传(AR)和常染色体显性遗传(AD)，有遗传异质性^[4-6]。

近年来，随着分子生物学的发展，国内外学者对高度近视的遗传学研究进一步深入，目前已开始应

用全基因组扫描和候选基因筛查、连锁分析等技术进行高度近视的基因定位和候选基因的克隆筛查工作，至今已肯定的高度近视基因位点有 6 个，包括 MYP1、MYP2、MYP3、MYP4、MYP5 和 MYP11。

1. MYP1 基因：1990 年 Schwartz 等^[4]对一个 X 连锁遗传的丹麦裔高度近视家系进行分析，根据 X 染色体上的 DNA 标记及 Lod 值分析，将 MYP1 基因(人类基因命名协会)定位在 Xq28，与色盲基因及视网膜萎缩基因相连锁。2004 年 Young TL 等^[9]对另两个丹麦裔家系进行研究并将两个家系的 MYP1 基因分别进一步定位在 Xq28 的 34.4 和 6.8 厘摩尔根(cM)的区域内。

2. MYP2 基因：1998 年 Young 等^[11]应用全基因组扫描法对 8 个常染色体显性遗传(AD)的高度近视家系(其中一个是华裔)进行基因的连锁和定位分析。用 DNA 多态标记分析 8 个家系中高度近视基因位点。最后通过 Lod 值分析将 MYP2 基因定位在 18p11.31 7.6cM 的范围内(D 18S118-D18S59)，该范围包括有腺苷酸环化酶激活多肽、胸腺嘧啶合成酶、酪氨酸蛋白质磷酸酶受体、鸟苷酸连接蛋白的 A 单位基因、酪氨酸蛋白质磷酸酶、Niemann-Pick C 病蛋白、LAMA α 单位基因。其中 LAMA α 基因被认定为可能与高度近视有关的候选基因，因为它编码眼巩膜壁的结构糖蛋白。Marshall 认为 Laminin 可以连接微纤维形成的胶原纤维，因为 Laminin 已显示有几个关于胶原蛋白质在的细胞外基质的连接点。2001 年，Young TL 等^[6]用 TDT (transmission disequilibrium test 遗传不平衡试验)法将 MYP2，即 18p11.31 更精确地定位。他们发现 18p11.31 最接近 D18s52，且位于 D18s63 和 D18s52 之间，间距为 0.8cm。这为进一步在 MYP2 进行定位克隆和候选基因分析奠定了基础。Lam 等^[10]发现中国人病理性近视家系的致病基因位于 18p11.3。因此对 MYP2 的研究成为近年来国内外研究的热点。易军晖、李疆、张清炯等^[11-13]已筛查了 18p11.31 区域内的多个基因，如：视网膜特异性表达簇样蛋白

样蛋白 1 基因 (cluserin like 1, CLUL1)、TGF- β 诱导基因 (TGF β -induced factor gene, TGIF)、甲基转移酶样 4 (methyltransferase like 4, METTL4) 基因、RAB31 基因等, 并未发现高度近视的致病基因。最近 Young 等^[1,6] 利用人类眼组织的 cDNA 文库、微点阵实验、逆转录等技术对高度近视患者位于 MYP2 D18s63 和 D18s52 之间的所有已知基因 CLUL1、EMILIN2、LPIN2、MYOM1、MRCL3、MRLC2、TGIF β 、DLGAP1、ZFP161 进行序列分析, 序列变化和 SNP 数据库相比较。结果显示: 对这 9 个基因进行的突变分析没有发现和病理性近视表型相关的序列改变。

3. MYP3 基因: 1998 年 Young 等^[5] 对 1 个德国-意大利族混血常染色体显性遗传的高度近视大家系进行研究, 应用连锁分析和全基因组扫描分析, 发现常染色体上第二个高度近视基因位点 (MYP3), 并将其定位于 12q21-q23, 在 30.1cm 的范围内 (D12S1684-D12S1605)。重要的候选基因是定位在该区的与眼结构相关联的基因 Decorin 和 Lumican, 它们是表达在各种细胞外基质中小间隙蛋白多糖类中的蛋白质部分, 与胶原相互作用限制纤维直径的增长。2001 年张清炯等^[14] 已初步排除了 Decorin 基因与病理性近视的相关性。2004 年 Young 等对 MYP3 内的 lumican 和 fibromodulin 基因进行研究, 证明 lumican 和 fibromodulin 基因不是和 MYP3 相关性病理性近视的致病基因。

4. MYP4: Naiglin 等^[4] 与 2002 年在对 21 个法国和 2 个阿尔及利亚高度近视家系的研究中发现的 (MYP4) 7q36, 其多位点 Lod 评分 (优势对数评分) 为 2.81, 其关键区域定位于遗传标记 D7s798 到染色体末端, 间距为 11.7cm。它的遗传方式为外显率较低的常染色体显性遗传。

5. MYP5: 2003 年 Paluru 等^[8] 报道的在常染色体显性遗传的一个英国和加拿大人混血的高度近视家系中发现的 MYP5 (17q21~q22), 其关键区域定位于遗传标记 D17S787 和 D17S1811 之间, 间距为 7.71cm。其 LOD 值为 3.17。此研究中针对性的对位于该区域内的 COL1A1 和 CHAD 基因进行分析, 发现 COL1A1 和 CHAD 基因编码区内并未出现与高度近视相关的突变。对该区域内的其他基因的筛选工作正在进一步的研究中。

6. MYP11: 2005 年张清炯等对 1 个常染色体显性遗传的高度近视的大家系进行连锁分析、全基因组扫描分析及 Lod 值分析, 发现常染色体上的另

一个高度近视基因位点 (MYP11), 并将其定位于 4q22-q27。其关键区域定位于遗传标记 D4S1578 和 D4S1612 之间, 间距为 20.4cm, 其 LOD 值为 3.61。

某些眼部及全身疾病与高度近视有着密切关联, 现将与高度近视相关联的常见眼部及全身疾病的候选基因的定位及分析的研究现状加以综述。

1. 青少年原发性开角型青光眼^[15]: 候选基因 GLCIA 定位于 1q21-q31, D1S44-D1S218 之间的 8cm 范围内。

2. Stickler 综合征^[16]: Stickler 综合征 I 型是由胶原 2A 1 基因突变引起, 该基因基因定位于 12q13.1-q13.1, 高度近视症状的出现多与胶原 2A 1 基因的突变相关联。Stickler 综合征 II 型由 Collagen11A 2 基因的突变引起, 该基因定位于 6q21.3-q22.3 位于 D6S276-D6S299 之间。

3. Marfan 综合征^[17]: 致病基因是位于 15q21.1 的 Fibrillin 基因。

4. Marshall 综合征^[18]: 致病基因为位于 1p21 编码 X1 型胶原纤维的 COL11A 1 基因。

5. Knobloch 综合征^[10]: 主要候选基因 COL6A1 基因位于 21q22.3 约 4.3cm 的范围内。

6. Smith-Magenis 综合征^[20]: 是由于 17p11.2 中间缺失引起, 包括 2~5M b 的范围。现认为 SMS 表型是由该范围内几个基因的单倍型缺乏引起, 目前研究多集中在其主要候选基因: FL1、KIR2.2V、ZNF179、HUGL1、RNU3 等。

另外, 有学者认为病理性近视是一种自身免疫性疾病。Wang 等^[21] 发现病理性近视与 HLA 抗原的 B 15 抗原呈负相关, 与 HLA B 8 呈正相关。HLA II 类 DQA1 基因分型未检出相关性等位基因, 但张克雄等^[22] 发现, HLA0501/0501 纯合子频率增高, 在其附近存在胶原基因 COL11A2, 可能为部分病理性近视的致病基因。李寿玲等^[23] 发现 HLA-DQB1 基因中的 0301 等位基因与病理性近视有明显的相关性, 也提示自身免疫在病理性近视发病中可能起一定作用。由于致病胶原基因的表达, 导致生长期巩膜胶原代谢的紊乱, 表现出病理性近视眼的巩膜异常。高度近视眼巩膜胶原的改变与破坏与自体免疫反应也有关。Lazuk 等^[24] 发现在各种类型近视眼患者的血清中, 50%~70% 存在自身胶原抗体, 说明高度近视眼的发病机理中有胶原自体免疫反应存在。

对于人类病理性近视的基因学研究, 目前仅能对患者进行全基因组扫描、单核苷酸多态性及遗传异质性等方面的研究, 以期确定基因突变和病理性

近视的关系。但对于后选基因在其靶组织中的表达是否异常、所翻译出的蛋白量或其在组织中的分布等是否异常方面的研究甚少。主要原因是靶组织来源困难。在这些方面近年来很多学者进行了动物实验,作动物模型诱导高度近视后取动物巩膜、视网膜进行研究,从转录水平找出差异基因进一步分析研究各差异基因的结构变化,以及所编码蛋白的量和功能的变化;取动物巩膜针对某种蛋白用免疫组化或电镜观察的方法分析该蛋白与正常巩膜组织中分泌量或功能的变化;研究某些生物活性物质的变化,探讨生物活性物质与高度近视的关系。尽管在动物实验上有了长足进步,但仍然存在很多问题,如:在实验动物的选择上,目前最常选用小鸡,因其具有生长周期短,易饲养和便于研究等优点,但其眼球结构及神经支配等与人类相去甚远。且实验动物诱导近视的方法主要是形觉剥夺和镜片诱导,对于其与遗传的关系无法研究。另外,目前研究方法主要有:ELISA、RT-PCR, Northern Blot等,但这些方法只能研究单一因素,有一定的局限性。因此在动物实验上需要更多的研究,促使动物模型更接近于人类近视。

虽然在高度近视致病基因领域的研究已取得一些突破性成果,但这一领域仍存在许多悬而未决的问题,譬如:环境因素是否对基因表达产生作用以及如何起作用;高度近视致病基因的定位及克隆工作尚未完成;高度近视致病基因的突变、表达及调控尚不清楚;致病基因与巩膜胶原代谢及视网膜生物活性物质之间有无联系以及如何相互作用;如何将多种因素串联起来综合分析来进一步解释高度近视的发生机制等。这些都将成为我们在今后的工作中应重点攻克的课题。

参 考 文 献

- Young TL. Evidence that a locus for familial high myopia maps to chromosome 18p. *Am J Hum Genet*, 1998, 63: 109-119
- Schaeffel F. Local changes in eye growth induced by imposed local refractive error despite active accommodation. *Vision Res*, 1997; 37(6):659-68
- Rose KA, Morgan IG, Smith W et al. High heritability of myopia does not preclude rapid changes in prevalence. *Clin Experiment Ophthalmol* 2002,30 (3): 168 - 72
- Schwartz M, Haim M, Skarsholm D. X-linked myopia: Bornholm eye disease-linkage to DNA markers on the distal part of Xq. *Clin Genet*, 1990,38: 281 - 286
- Young TL, Ronan SM, Alvear AB, et al. A second locus for familial high myopia maps to chromosome 12q. *Am J Hum Genet*, 1998, 63: 1419 - 1424
- Young TL, Atwood LD, Ronan SM et al. Further refinement of the MYP2 locus for autosomal dominant high myopia by linkage disequilibrium analysis. *Ophthalmic Genet*. 2001, 22(2):69-75
- Naiglin L, Gazagne C, Dallongeville F et al. A genome wide scan for familial high myopia suggests a novel locus on chromosome 7q36. *J Med Genet* 2002; 39:118-24
- Paturu P, Ronan SM, Heon E. New locus for autosomal dominant high myopia maps to the long arm of chromosome 17. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44: 1830 - 1836
- Young TL, Deeb SS. X-linked high myopia associated with cone dysfunction. *Arch Ophthalmol* 2004; 122:897-908
- Lam D, Leung Y, Fan D, et al. To locate a gene for familial high myopia by linkage analysis. *Clin Exp Ophthalmol*, 2002, 30: 480
- 李疆, 张清炯, 肖学珊等. TG相互作用因子基因编码区域的单核苷酸多态在中国高度近视人群与正常人群中的分布. *中华医学遗传学杂志*, 2003, 20(5):454-456
- 易军晖, 郭向明, 张清炯等. 高度近视人群 METTL4 基因的单核苷酸多态分析. *中国病理生理杂志*, 18. 2004, 20(6): 1035-1037
- 易军晖, 郭向明, 张清炯等. RAB31 基因的单核苷酸多态与高度近视的相关性. *Chin Ophthalm Res*, 2004(22):344-346
- 张清炯, 易军晖, 郭向明. 90例高度近视先证者中核心蛋白聚糖基因突变筛查. *中华医学遗传学杂志* 2001 (18) 327-328
- Edwin M. Stone, John H. Fingert, Wallace L. M. et al. Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science*. 1997;275:668-670
- NN Ahmad, DM McDonald-McGinn, P Dixon et al. PCR assay confirms diagnosis in syndrome with variably expressed phenotype: mutation detection in Stickler syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 1996(33): 678-681
- Kainulainen K, Karttunen L, Puhakka L et al. Mutations in the fibrillin gene responsible for dominant ectopia lentis and neonatal Marfan syndrome. *Nat Genet* 1994;6:64-69
- Annunen SJ, Korkko. Splicing mutations of 54-bp exons in the COL11A1 gene cause Marshall syndrome, but other mutations cause overlapping Marshall/Stickler phenotypes. *Am J Hum Genet* 1999, 65(4): 974-83.
- Passos-Bueno MR, Marie SK, Monteiro M et al. Knobloch syndrome in a large Brazilian consanguineous family: confirmation of autosomal recessive inheritance. *Am J Med Genet* 1994 52: 170-173
- Elsa S. H, Fritz E, Schoener-Scott R et al. Gene for topoisomerase III maps within the Smith-Magenis syndrome critical region: analysis of cell-cycle distribution and radiation sensitivity. *Am. J. Med. Genet*. 1998, 75: 104-108
- Wang RF, Chu RY, Guo BK. HLA-A, B antigens and the relation between high myopia and high myopia with glaucoma. *Chin Med J*, 1986, 99:775-776
- 张克雄, 张咸宁, 褚仁远. 病理性近视与 HLA-DQB1 基因相关性的初步探讨. *中华眼科杂志*, 1997, 453-456
- 李寿玲, 褚仁远. 病理性近视与 HLA-DQB1 基因关联的家系研究. *眼科新进展* 2001 (21) 78-80
- lazuk AV, Slepova OS. Study of immune reactions to collagen in patients with myopia. *Vestn oftalmol*, 1995, 111(2):14-16

(收稿时间: 2006-03)