

# TERT 基因单核苷酸多态性与年龄相关性黄斑变性的关联研究

李宝华, 刘平, 王新

引用: 李宝华, 刘平, 王新. TERT 基因单核苷酸多态性与年龄相关性黄斑变性的关联研究. 国际眼科杂志 2019; 19(11): 1919-1921

作者单位: (450003) 中国河南省郑州市, 郑州人民医院眼科

作者简介: 李宝华, 硕士, 主治医师, 研究方向: 眼视光学。

通讯作者: 刘平, 主任医师, 眼科主任, 研究方向: 角膜病.

lxylp2388@sina.com

收稿日期: 2019-02-19 修回日期: 2019-10-10

## 摘要

**目的:** 探讨端粒酶逆转录酶 (TERT) 基因单核苷酸多态性 (SNP) 与年龄相关性黄斑变性 (ARMD) 发生风险的关联性。

**方法:** 采用高通量基因质谱技术检测 191 例 ARMD 患者 (病例组) 和 197 例健康体检者 (对照组) TERT 基因 7 个已报道的与端粒长度有关的 SNP 位点, 通过 Logistic 回归评估其等位基因、基因型与 ARMD 发病风险的关系。

**结果:** TERT 基因 SNP 位点 rs10069690 基因型 CC、CT、TT 在病例组和对照组受检者中的分布频率分别为 64.4%、31.4%、4.2% 和 74.6%、22.8%、2.5%, 人群分布存在显著差异; 携带 CT+TT 基因型的人群发生 ARMD 的风险显著增加 ( $OR=1.63, 95\%CI 1.05\sim 2.53$ )。

**结论:** TERT 基因 SNP 位点 rs10069690 与 ARMD 发病风险存在显著关联。

**关键词:** 端粒酶逆转录酶; 单核苷酸多态性; 年龄相关性黄斑变性; 发病风险

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2019.11.24

## Association between genetic polymorphisms of TERT with susceptibility of age-related macular degeneration

Bao-Hua Li, Ping Liu, Xin Wang

Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan Province, China

**Correspondence to:** Ping Liu, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan Province, China. lxylp2388@sina.com

Received: 2019-02-19 Accepted: 2019-10-10

## Abstract

• **AIM:** To investigate the relationship between single nucleotide polymorphism (SNP) in the TERT gene and risk of age-related macular degeneration (ARMD).

• **METHODS:** Seven reported SNPs in TERT were selected and genotyped using SEQUENOM MassArray technology

in 191 ARMD patients and 197 healthy normal controls. The correlations of the alleles, genotypes and the susceptibility of ARMD were evaluated by Logistic regression analysis.

• **RESULTS:** The frequencies of SNP rs10069690 CC, CT, TT genotypes in ARMD patients were 64.4%, 31.4%, 4.2% compared with 74.6%, 22.8%, 2.5% in normal controls, respectively. Genetic model analysis revealed that SNP rs10069690 CT+TT genotypes were significantly associated with an increased risk of ARMD patients ( $OR=1.63, 95\%CI=1.05\sim 2.53$ ).

• **CONCLUSION:** SNP rs10069690 in the TERT gene is associated with the risk of ARMD.

• **KEYWORDS:** TERT; single nucleotide polymorphism; age-related macular degeneration; risk

**Citation:** Li BH, Liu P, Wang X. Association between genetic polymorphisms of TERT with susceptibility of age-related macular degeneration. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(11): 1919-1921

## 0 引言

年龄相关性黄斑变性 (ARMD) 是严重威胁老年人身体健康的一种重要疾病。随着年龄的增加, 视网膜色素上皮细胞和神经视网膜发生退行性病变, 造成不可逆性视力下降或丧失。ARMD 在西方国家已成为第一位致盲性眼病, 在亚洲其发病率亦逐渐增多<sup>[1]</sup>。因其病因不明, 目前仍未找到阻止其病程进展的有效方法, 因此临床中加强该病的诊断与治疗对于降低其发病率, 提高预后效果具有重要的研究意义。

端粒是位于真核生物染色体末端的核蛋白复合体, 其主要作用是保证染色体完整和基因组稳定性。端粒长度进行性缩短最终可导致细胞分裂停止, 迫使细胞衰老及死亡<sup>[2]</sup>。已有研究发现端粒长度与 ARMD 发病之间存在一定关联<sup>[3]</sup>。端粒酶的活化是端粒长度维持或延长的主要机制, 端粒酶逆转录酶 (TERT) 是端粒酶催化亚基, 可通过合成染色体末端 DNA 而延长端粒, 致使细胞异常增殖甚至永生化<sup>[4]</sup>。单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 是基因组中重要的遗传变异之一, 已有研究发现 TERT 基因遗传变异与冠心病、肺癌、肾癌等多种重大疾病发生密切相关<sup>[5-7]</sup>, 而目前 TERT 基因 SNP 与 ARMD 发病风险的关联仍未见报道。基于此, 本文通过高通量遗传变异基因分型技术, 探讨 TERT 基因 SNP 与 ARMD 患者发病风险的相关性, 评估其作为 ARMD 患者早期诊断新型分子标志物的可行性。

## 1 对象和方法

1.1 对象 选取 2017-03/2019-01 于我院眼科就诊并确

表1 TERT 基因 SNP 等位基因基因型与 ARMD 发病风险的关联

SNP 编号	基因区域	等位基因型	MAF		P <sup>a</sup>	OR(95%CI)	P <sup>b</sup>
			病例组	对照组			
rs2075786	内含子	A/G	0.165	0.160	0.999	1.03(0.85~1.25)	0.767
rs10069690	内含子	C/T	0.199	0.140	0.789	1.24(1.02~1.50)	0.029
rs2242652	内含子	G/A	0.204	0.175	0.149	1.10(0.92~1.31)	0.319
rs2853677	内含子	A/G	0.372	0.365	0.978	1.01(0.87~1.17)	0.873
rs2853676	内含子	C/T	0.178	0.155	0.926	1.08(0.90~1.31)	0.415
rs2736098	外显子	C/T	0.387	0.381	0.743	1.01(0.87~1.17)	0.892
rs2736122	内含子	G/A	0.081	0.076	0.686	1.04(0.80~1.35)	0.774

注:a:Hardy-Weinberg 平衡分析 P 值;b:非条件性 Logistic 回归计算 P 值,并通过年龄和性别校正。

诊为 ARMD 的患者 191 例为病例组,其中男 101 例,女 90 例;年龄 68.0±4.6 岁。纳入标准:(1)经眼底血管荧光造影及 OCT 检查确诊为 ARMD;(2)年龄不小于 45 岁;(3)均为汉族。排除患有除 ARMD 以外的其它眼部疾病,既往有眼外伤史、眼部手术史,合并高血压、心血管疾病、糖尿病、肿瘤等全身性疾病患者。选取同期来我院体检的健康体检者 197 例为对照组,其中男 109 例,女 88 例;年龄 67.1±6.0 岁。两组受检者性别构成、年龄相匹配,差异无统计学意义( $\chi^2=0.235, P=0.628; t=1.618, P=0.107$ )。本研究经过本院伦理委员会审查通过,所有受检者均同意参加本研究并签署知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 血样 DNA 提取** 采集受检者空腹静脉血 4mL,分离血浆后,进行血细胞 DNA 提取(全血基因组小量抽提试剂盒,北京百泰克生物技术有限公司),操作步骤按照试剂盒说明书进行,定量后标记并置于-80℃冰箱冻存备用。

**1.2.2 SNP 位点选择和基因分型** 通过 PubMed 数据库筛选目前已报道的 TERT 基因中与端粒长度相关的 SNP 位点作为候选 SNP 位点<sup>[6,8-9]</sup>,并且在中国汉族人群中次等位基因型频率>0.05,候选位点中连锁不平衡相关程度>0.8 的位点只保留 1 个,最终选择 7 个位点(rs2075786、rs10069690、rs2242652、rs2853677、rs2853676、rs2736098、rs2736122)进行基因分型。基因分型实验采用 Sequenom Mass Array 高通量技术平台(Sequenom Inc., San Diego, CA, USA)完成。

统计学分析:采用 SPSS 21.0 软件进行数据统计分析。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。计数资料采用 *n* 表示,组间比较采用卡方检验;根据基因型频率计算次等位基因频率(MAF),采用卡方检验分析对照组受检者 SNP 基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。应用非条件 Logistic 回归模型分析 SNP 基因型与 ARMD 发病风险的关联,并通过年龄、性别因素进行校正,计算 OR 值和 95%置信区间(CI)。P<0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 TERT 基因 SNP 不同等位基因型与 ARMD 发病风险的关联** 对照组受检者 7 个 SNP 位点基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡(P>0.05,表 1)。分析每个位点不同等位基因型人群的 ARMD 发病风险发现,rs10069690 等位基因型为 T 型的人群与 C 型相比发病风险显著提高[OR(95%CI)=1.24(1.02~1.50),P=0.029],其它位点不同等位基因型与 ARMD 发病风险无显著相关性。

表2 TERT 基因 SNP 不同基因型的人群分布 例

SNP 位点	基因型	病例组(n=191)	对照组(n=197)	$\chi^2$	P
rs2075786	AA	134	139	0.035	0.851
	AG	51	53		
	GG	6	5		
rs10069690	CC	123	147	4.69	0.03
	CT	60	45		
	TT	8	5		
rs2242652	GG	121	138	0.996	0.318
	GA	62	49		
	AA	8	10		
rs2853677	AA	73	80	0.033	0.856
	AG	94	90		
	GG	24	27		
rs2853676	CC	129	140	0.761	0.383
	CT	56	53		
	TT	6	4		
rs2736098	CC	69	73	0.039	0.843
	CT	96	98		
	TT	26	26		
rs2736122	GG	164	169	0.059	0.807
	GA	23	26		
	AA	4	2		

**2.2 TERT 基因 SNP 不同基因型的人群分布** 进一步分析每个 SNP 位点 3 种基因型在两组受检者中的分布发现,SNP 位点 rs10069690 突变基因型(CT、TT)在病例组的比例显著高于对照组(P=0.03,表 2),其它位点 3 种基因型的人群分布在两组间无显著差异。

**2.3 TERT 基因 SNP 位点 rs10069690 基因型与 ARMD 发病风险的关联** 利用最常用的 3 种遗传模型进一步对 SNP 位点 rs10069690 不同基因型与 ARMD 发病风险的关联进行分析发现,显性模型得到结果最为显著,即与 rs10069690 野生型(CC)人群相比,包含突变型(CT+TT)的人群 ARMD 发病风险提高了 63%[OR(95%CI)=1.63(1.05~2.53),P=0.03],通过隐性模型分析,纯合突变型人群(TT)与野生型及杂合型人群相比,ARMD 发病风险无显著差异,见表 3。

## 3 讨论

本研究通过已发表文献筛选出 TERT 基因中 7 个与端粒长度存在关联的 SNP 位点,利用基因分型技术和统计学分析首次发现 SNP 位点 rs10069690 不同基因型与

表3 TERT 基因 SNP 位点 rs10069690 基因型与 ARMD 发病风险的关联

例

遗传模型	基因型	病例组 (n=191)	对照组 (n=197)	OR(95%CI)	P <sup>a</sup>
加性模型	CC	123	147	1	0.032
	CT	60	45	1.59(1.01~2.52)	
	TT	8	5	1.93(0.61~6.08)	
显性模型	CC	123	147	1	0.03
	CT+TT	68	50	1.63(1.05~2.53)	
隐性模型	CC+CT	183	192	1	0.366
	TT	8	5	1.69(0.54~5.28)	

注:a:非条件性 Logistic 回归计算 P 值,并通过年龄和性别校正。

ARMD 发病风险存在显著关联,包含突变基因型的人群发病风险显著提高,其它位点在本研究中未观察到与 ARMD 发病风险相关的证据。

TERT 基因位于人类染色体 5p15.33,作为端粒酶的核心组成部分,是调节端粒酶活性的关键<sup>[10]</sup>。已有大量研究发现 TERT 基因 SNP 与多种疾病发生及进展密切相关,尤其在肿瘤研究领域,多项研究发现 TERT 基因 SNP 与肿瘤密切相关,然而与 ARMD 的相关性仍未见报道。Duan 等<sup>[11]</sup>通过病例对照研究发现 TERT 基因 SNP 位点 rs2853676 与胃癌发病风险升高有关。另有研究发现,SNP 位点 rs2853677 与非小细胞肺癌及胰腺癌易感性密切相关<sup>[6,12]</sup>。而在本研究中,rs2853676 和 rs2853677 与 ARMD 发病风险无显著相关性。SNP 位点 rs2736098 位于 TERT 基因第二外显子上,国内外多项研究表明 rs2736098 多态性与膀胱癌易感性相关。Rafnar 等<sup>[13]</sup>通过全基因组关联研究发现 rs2736098 与欧洲人群膀胱癌易感性密切相关。另一项研究发现,TERT 基因 rs2736098 位点多态性与美国洛杉矶人群膀胱癌易感性无关,而与中国上海人群膀胱癌易感性相关<sup>[14]</sup>。本研究中 rs2736098 多态性与 ARMD 发病无显著关联。也有研究发现 rs2242652 与黑色素瘤发病风险密切相关<sup>[15]</sup>。

SNP 位点 rs10069690 位于 TERT 基因第四内含子,目前已发现 rs10069690 基因型与乳腺癌、胶质瘤、卵巢癌等多种肿瘤发病或预后密切相关<sup>[16-19]</sup>,提示该位点在疾病发生及进展中可能发挥一定作用。本研究首次证实了 rs10069690 与 ARMD 发病风险密切相关,但其具体机制仍需进一步研究。我们推测 SNP 位点 rs10069690 不同基因型可能通过影响 TERT 基因表达活性,从而改变端粒长度促进 ARMD 发生。虽然 rs10069690 位点位于基因内含子区,但极有可能通过强连锁的 SNP 位点发挥基因表达调控作用,因此 rs10069690 不同基因型影响 ARMD 发生的功能机制有待进一步开展。

ARMD 是一种衰老相关疾病,目前对 ARMD 的治疗主要是阻止早期 ARMD 向晚期 ARMD 的发展,而对于晚期 ARMD 的治疗手段有限,因此识别 ARMD 的危险因素对于 ARMD 的早期预防及延缓进展具有重要意义,找到可以用于 ARMD 临床诊断的遗传变异标志物仍需筛选新的位点以及大样本量研究验证。

#### 参考文献

- Friedman DS, O'Colmain BJ, Munoz B, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch Ophthalmol* 2004; 122(4):564-572
- Vinagre J, Pinto V, Celestino R, et al. Telomerase promoter mutations in cancer: an emerging molecular biomarker? *Virchows Arch* 2014; 465(2):119-133

3 Weng X, Zhang H, Kan M, et al. Leukocyte telomere length is associated with advanced age-related macular degeneration in the Han Chinese population. *Exp Gerontol* 2015; 69:36-40

4 Cifuentes-Rojas C, Shippen DE. Telomerase regulation. *Mutat Res* 2012; 730(1-2):20-27

5 Han H, Zhang J, Hou J, et al. Association of TERT polymorphisms and risk of coronary heart disease in a Chinese Han population. *Oncotarget* 2017; 8(40):67519-67525

6 Li C, Wang X, Li Y, et al. Genetic polymorphisms in the TERT gene and susceptibility to non-small cell lung cancer in a Chinese Han population. *Cancer Manag Res* 2018; 10:1487-1495

7 Wu D, Zhu G, Zeng J, et al. Genetic variations in TERC and TERT genes are associated with renal cell carcinoma risk in a Chinese Han population. *Oncotarget* 2017; 8(44):76832-76842

8 Bojesen SE, Pooley KA, Johnatty SE, et al. Multiple independent variants at the TERT locus are associated with telomere length and risks of breast and ovarian cancer. *Nature Genetics* 2013; 45(4):371-384

9 Melin BS, Nordfjall K, Andersson U, et al. hTERT cancer risk genotypes are associated with telomere length. *Genet Epidemiol* 2012; 36(4):368-372

10 Greider CW. Telomerase activity, cell proliferation, and cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(1):90-92

11 Duan X, Cao W, Wang L, et al. Genetic variants in TERT are associated with risk of gastric cancer in a Chinese Han population. *Oncotarget* 2016; 7(50):82727-82732

12 Xing YL, Liu F, Li JF, et al. Case-Control Study on Impact of the Telomerase Reverse Transcriptase Gene Polymorphism and Additional Single Nucleotide Polymorphism (SNP)-SNP Interaction on Non-Small Cell Lung Cancers Risk in Chinese Han Population. *J Clin Lab Anal* 2016; 30(6):1071-1077

13 Rafnar T, Sulem P, Stacey SN, et al. Sequence variants at the TERT-CLPTM1L locus associate with many cancer types. *Nature Genetics* 2009; 41(2):221-227

14 Gago-Dominguez M, Jiang X, Conti DV, et al. Genetic variations on chromosomes 5p15 and 15q25 and bladder cancer risk: findings from the Los Angeles-Shanghai bladder case-control study. *Carcinogenesis* 2011; 32(2):197-202

15 Campa D, Martino A, Varkonyi J, et al. Risk of multiple myeloma is associated with polymorphisms within telomerase genes and telomere length. *Int J Cancer* 2015; 136(5):E351-358

16 Li ZY, Dong YL, Feng Y, et al. Polymorphisms in the telomerase reverse transcriptase promoter are associated with risk of breast cancer: A meta-analysis. *J Cancer Res Ther* 2016; 12(2):1040-1044

17 Lee AW, Bomkamp A, Bandera EV, et al. A splicing variant of TERT identified by GWAS interacts with menopausal estrogen therapy in risk of ovarian cancer. *Int J Cancer* 2016; 139(12):2646-2654

18 Hosen I, Rachakonda PS, Heidenreich B, et al. TERT promoter mutations in clear cell renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2015; 136(10):2448-2452

19 Mosrati MA, Malmstrom A, Lysiak M, et al. TERT promoter mutations and polymorphisms as prognostic factors in primary glioblastoma. *Oncotarget* 2015; 6(18):16663-16673