

11q24.1 单核苷酸多态性与高度近视遗传易感性相关研究

王昕华, 张晓宇, 毕涵思, 赵 畅, 李若溪

基金项目: 辽宁省科学技术计划(No. 2011225014)

作者单位: (110031) 中国辽宁省沈阳市第四人民医院眼科

作者简介: 王昕华, 女, 毕业于大连医科大学, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 眼底病、基因研究。

通讯作者: 王昕华. wxheye@163.com

收稿日期: 2013-08-25 修回日期: 2013-11-15

Correlation between single nucleotide polymorphism in 11q24.1 chromosome and high myopia hereditary susceptibility

Xin-Hua Wang, Xiao-Yu Zhang, Han-Si Bi, Chang Zhao, Ruo-Xi Li

Foundation item: Science and Technology Project of Liaoning Province (No. 2011225014)

Department of Ophthalmology, Shenyang the Fourth Hospital of People, Shenyang 110031, Liaoning Province, China

Correspondence to: Xin-Hua Wang. Department of Ophthalmology, Shenyang the Fourth Hospital of People, Shenyang 110031, Liaoning Province, China. wxheye@163.com

Received: 2013-08-25 Accepted: 2013-11-15

Abstract

• **AIM:** To study the correlation between genetic susceptibility to high myopia and single nucleotide polymorphisms (SNPs) in 11q24.1 chromosome among Chinese college students.

• **METHOD:** A total of 254 blood samples were obtained from Chinese college students who were often engaged in near work. The students were divided into high myopia group (42 cases), low to moderate myopia group (61 cases) and non-myopic group (151 cases). Genotyping technology was utilized to analyze the frequency of mutation of the SNPs alleles of four mononucleotides in the 11q24.1 chromosome, including rs577948, rs11218544, rs10892819 and rs11218553. And the Chi-square test was performed to test the difference of such mutation with myopia.

• **RESULTS:** The frequency of the SNP alleles mutation of the mononucleotide rs577948 site in the high myopia group was significantly different from that in the low-to-moderate myopia group and the non-myopic group ($P=2.28 \times 10^{-7}$).

• **CONCLUSION:** There is no significant correlation between genetic susceptibility and the four variations of SNPs between mild myopic population and normal population and there is no significant difference between

the two populations, either. However, A - G mutation of Rs577948 site in 11q24.1 chromosome in university students with high myopia group is closely associated with high myopia hereditary susceptibility.

• **KEYWORDS:** single nucleotide polymorphism; hereditary susceptibility; high myopia

Citation: Wang XH, Zhang XY, Bi HS, *et al.* Correlation between single nucleotide polymorphism in 11q24.1 chromosome and high myopia hereditary susceptibility. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(12):2482-2484

摘要

目的: 研究中国大学生高度近视遗传易感性与 11q24.1 染色体上 4 个单核苷酸多态性的相关性。

方法: 收集经常近距离作业的中国大学生血液样本 (254 例), 分为高度近视组 (42 例)、低中度近视组 (61 例) 和无近视眼的对照组 (151 例), 利用基因分型技术分析位于 11q24.1 染色体 4 个单核苷酸 rs577948, rs11218544, rs10892819, rs11218553 的 SNPs 位点的等位基因突变频率, 利用卡方检验检测其与三组样本之间的差异及相关性。

结果: 大学生高度近视组一个单核苷酸 SNP 位点即 11q24.1 染色体区域 rs577948 的变异与正常对照组和低中度近视组有显著差异 ($P=2.28 \times 10^{-7}$)。

结论: 轻度近视和无近视的中国大学生遗传易感性和 4 个 SNPs 均无明显关联, 且两组之间亦无显著差异。大学生中高度近视人群 11q24.1 染色体区域 rs577948 位点 A→G 变异与高度近视遗传易感性密切相关。

关键词: 单核苷酸多态性; 遗传易感性; 高度近视

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2013.12.35

引用: 王昕华, 张晓宇, 毕涵思, 等. 11q24.1 单核苷酸多态性与高度近视遗传易感性相关研究. 国际眼科杂志 2013;13(12):2482-2484

0 引言

全世界有 30% 的人口因为近视造成视力下降, 而在一些东方亚洲城市比率达到 50% ~ 70%^[1]。近年来高度近视呈现扩大的趋势, 尤其在东亚地区的一些城市高度近视与教育程度息息相关, 像读书和写字等近距离作业比较多的人群高度近视的发展非常迅速, 而经常户外作业的人群则高度近视发展非常慢^[2]。鉴于近视眼是一种多因素复杂疾病, 与遗传与环境密切相关, 我们选择在校大学生作为研究对象, 分析大学生近视眼的遗传易感性。

全基因组关联研究中虽然大多数基因还不确定哪些

表1 三组研究对象的特征

分组	例数	年龄(岁)	性别(例)		眼轴长度(mm)		屈光度(D)	
			男	女	右眼	左眼	右眼	左眼
高度近视组	42	25±3.5	17	25	29.36±1.12	29.55±1.37	-14.43±4.88	-14.75±4.12
低中度近视组	61	24±5.6	39	22	25.62±1.12	24.76±1.68	-4.4±1.7	-3.8±2.1
对照组	151	27±6.1	82	69				

表2 中国大学生中病理性近视患者 11q24.1 染色体连锁不平衡模块中 4 个 SNPs 的变异

SNP ID	位点	参考	突变	等位基因频率			P	OR (95% CI)
				高度近视组	低中度近视组	对照组		
rs577948	121535400	A	G	0.39	0.51	0.49	2.28×10 ⁻⁷	1.35(1.21 ~ 1.54)
rs11218544	121544262	T	G	0.68	0.58	0.59	5.46×10 ⁻⁶	1.32(1.18 ~ 1.51)
rs10892819	121579254	T	G	0.71	0.78	0.77	4.2×10 ⁻²	1.15(1.01 ~ 1.31)
rs11218553	121590345	A	G	0.61	0.68	0.67	8.18×10 ⁻³	1.18(1.04 ~ 1.34)

序列的改变导致近视,但是已经证明基因位点的改变与近视眼的发生密切相关^[3],在研究多因素复杂疾病方面取得了一些令人瞩目的成就,在眼科的多基因复杂疾病领域如年龄相关性黄斑变性、剥脱综合征就已经做出了部分疾病遗传学相关的详尽介绍^[4,5]。因此我们对中国在校的大学生近视眼尤其是高度近视发生的 SNPs 变异的基因遗传学危险因素进行检测和评估,研究读书和写字等近距离作业多的人群高度近视遗传易感性与单核苷酸多态性位点变异的相关性,进一步探讨病理性近视的发生机制。

近来有研究显示利用全基因组关联研究 11q24.1 染色体单核苷酸多态性与日本人高度近视发生有密切关系^[6],并且与中国成人的高度近视亦有关^[7],那么它与中国在校大学生近视眼的关系如何呢?我们选取已经报告过的与日本人近视眼密切相关的位于 11q24.1 染色体上连锁不平衡模块的 4 个 SNPs 位点 rs577948,rs11218544,rs10892819,rs11218553,研究其变异与中国大学生近视眼的关系。

1 对象和方法

1.1 对象 收集辽宁中医硕士研究生近视眼 23 例,大连医科大学硕士研究生近视眼 21 例,沈阳第四人民医院眼科住院近视眼学生患者 59 例,共 103 例近视眼病例,年龄 23 ~ 28 岁,为正在读书或刚刚毕业学生,全部为中国汉族。另外收集年龄 23 ~ 30 岁的无近视眼学生 101 例,及无近视眼住院学生患者 50 例,共 151 例无近视眼病例,全部为中国汉族。样本分为三组,其中低中度近视眼组 61 例(近视度数-6.00D 以下,眼轴长度 26mm 以下),高度近视眼组 42 例(近视度数-10.00D 以上,眼轴长度 28mm 以上),对照组 151 例(眼轴长度 24mm 左右,无明显近视),共 254 例。

1.2 方法

1.2.1 血样 DNA 提取 抗凝血抽取后经红细胞裂解液处理(QIAamp DNA Mini kit 试剂盒),方法按说明进行。

1.2.2 11 号染色体单核苷酸多态性选择 我们选取已经报告过的与日本人近视眼密切相关的位于 11q24.1 染色体上连锁不平衡模块的 4 个 SNPs 位点:rs577948,rs11218544,rs10892819,rs11218553。引物设计使用 Primer3 v. 0.4.0 设计,由大连宝生物公司合成。引物序列:rs577948:正向 5'-AGGGGACTGTCAGAACTCAACTCCC-3',反向 5'-TTTCACTCAGGGTTTGAATAAACC-3';

rs11218544:正向 5'-GGCAAATCACTAACCTTCCAGAATA-3',反向 5'-AGTTTCTTCTCTACAATGTAGTGA;rs10892819:正向 5'-CGCAGTCCTCAGTGCCTGGAGGTCTC-3',反向 5'-GGGTCCAGGTGAGTGTGGTGTGAGT-3';rs11218553:正向 5'-GAATGGCATGGATTGGAATGGAATGG-3',反向 5'-ATGGAATCAACCCGAGTACAGGGGA-3'。

1.2.3 基因分型 运用 RFLP-PCR 法按照制造商说明(Applied Biosystems)进行定向测序。测序操作运用 ABI PRISM 3130xl 测序仪(Applied Biosystems)。序列的踪迹运用 Mutation Surveyor (Soft Genetics Inc., State College, PA)软件以及 DNASTAR 软件的 SeqMan 程序进行检测。

统计学分析:用卡方检验以及费舍尔精密检验来检测等位基因,基因型频率经 Hardy-Weinberg 平衡检验。运用 Golden Helix SVS7.5.2 软件进行检测。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 三组研究对象的特征 全部样本里,高度近视眼组 42 例,其中来自住院患者 36 例;低中度近视组 61 例,其中来自住院患者 23 例;对照组 151 例其中来自住院患者共 50 例。患者住院期间分别行白内障、视网膜脱离手术以及角膜炎、葡萄膜炎、虹膜炎的治疗。高度近视组样本眼轴均大于 28mm,屈光度大于-10.0D,与低度近视组和正常组形成鲜明对比,受遗传因素影响非常明显(表 1)。

2.2 三组等位基因频率的统计学比较 低度近视组与对照组无明显差异($P > 0.05$),表 2 中的 P 值为高度近视组与对照组的等位基因频率差异,二者相比在 rs577948 位点 A→G 突变有明显差异($P = 2.28 \times 10^{-7}$),而 rs11218544,rs10892819,rs11218553 位点突变 P 值虽然 < 0.05 ,但相对于 rs577948 的 2.28×10^{-7} 差距仍然显著。

3 讨论

高度近视是多基因、多因素控制的疾病,具有遗传异质性,不同种族、不同生活习惯人群的高度近视可能有不同的致病基因,近来高度近视在亚洲地区的一些城市呈现扩大的趋势,有研究者认为高度近视人群近视发展程度与用眼程度息息相关,像读书、写字等近距离作业比较多的人群高度近视的发展非常迅速,而经常从事户外作业的人群则高度近视发展非常慢。鉴于这一点我们选择与用眼程度密切相关的中国大学生作为研究对象,来研究从事近距离作业的高度近视的病例遗传易感性与单核苷酸多态

性的关系。我们所选的研究对象无论是高度近视组、低度近视组还是正常组,无论是从学生中还是从住院患者中选取的均为近距离用眼程度很高的大学生,因此试验结果代表的是环境因素相同且有均等易高发近视群体的不同近视程度的遗传易感性与单核苷酸多态性的相关关系。试验选取的4个SNP位点是基于目前有研究显示4个SNP位点(rs577948,rs11218544,rs10892819,rs11218553)在东亚人尤其是日本人和中国人近视中有明显突变^[7],但是没有试验表明对于中国大学生群体高度近视眼的遗传易感性与4个点突变有关,本试验结果中低度近视与正常对照组的4个SNPs变异的等位基因频率均无明显差异,说明轻度近视和无近视的学生遗传易感性和4个SNPs均无明显关联,且两组之间亦无显著差异,-6.0D以下的近视眼在11q24.1染色体区域的4个SNPs变异程度与无近视眼的大学生的变异程度无差别,而目前所知-6.0D以下的近视眼学生受遗传因素影响非常小,说明4个SNPs与低中度近视的遗传因素关系不大。

在多种参与控制高度近视的遗传因素中有两类遗传因子对高度近视的形成起决定作用:(1)决定眼轴长度的基因;(2)决定角膜屈光度的基因。即屈光度大和眼轴长度值高被认为是高度近视的基本特征。我们所选的高度近视即病理性近视眼轴大于28mm,屈光度大于-10.0D,与低度近视组和正常组形成鲜明对比,受遗传因素影响非常明显,因此在4个SNPs中有一个SNP(rs577948)变异与正常对照组有显著性差异($P=2.28\times 10^{-7}$),与其他三个(rs11218544,rs10892819,rs11218553)亦有明显区别,说明rs577948单核苷酸多态性的A→G变异与病理性近视密切相关。

在当前的研究中我们确定11q24.1染色体区域rs577948的等位基因A→G显示了显著的差异($P=2.28\times 10^{-7}$)。我们研究发现只有一个等位基因显示了显著差异,这可能主要是由于样本量的研究不是足够的,因为我们收集病理性近视患者比较困难,而普通近视可能无法与正常对照组有明显差异,我们设计样本时高度近视采取眼轴大于28mm,屈光度大于-10.0D,这可能是我们获取一个成功的SNP异常的关键。OMIM数据库中有24个MYP区域的易患基因位点与病理性近视有关,而这24个异常区域没有一个在11q上。尽管我们的研究和连锁分析数据库有差别可能与我们的样本量不足有关,另外还可能还有其他的原因。首先定义病理性近视有两个基本的标准即眼轴长度和屈光度,我们的研究中病理性近视患者双眼眼轴均大于26mm,而不仅仅是屈光度大于-6.0D,而这些患者均有眼底高度近视变性改变,我们的患者平均屈光度是 -14.56 ± 4.44 D(其中包括行白内障手术及视网膜脱离等

手术的患者)属于典型的病理性近视范畴,与遗传因素密切相关,而连锁分析数据库中的易患基因位点样本范畴与我们的不一致可能也是造成我们研究中的新的基因位点的出现的原因。其次还可能是样本的种族差异导致不同的结果,我们的研究中所有的样本和对照组都是中国人,全基因组连锁分析大部分是外国人。同时我们的结果也与日本人、新加坡人高度近视SNP变异位点相同,说明rs577948的等位基因变异与亚洲人种相关。

11q24.1染色体区域rs577948包括的一个基因是BLID,BLID基因^[8]是一种存在于细胞质和线粒体中和多种突变的人类癌症细胞内诱导细胞死亡密切相关的基因,有研究显示BLID基因起到与诱导caspase酶依赖性线粒体细胞凋亡传导通路的BH3样区域的凋亡作用,与病理性近视的细胞凋亡密切相关,然而BLID基因上那些功能区域与病理性近视的具体哪些环节有关还需要更多的研究。

开展单核苷酸多态性与特定近视群体的基因遗传易感性研究,对了解高度近视发生发展的分子遗传性机制,基因诊断、治疗及预防高度近视有很大的意义。我们通过对中国的大学生病理性近视群体的研究发现了一个单核苷酸SNP位点的变异即11q24.1染色体区域rs577948,对进一步了解高度近视遗传易感性与单核苷酸多态性的相关关系做出了贡献。

参考文献

- 1 Sawada A, Tomidokoro A, Araie M, et al. Tajimi Study Group. Refractive errors in an elderly Japanese population: the Tajimi study. *Ophthalmology* 2008;115:363-370
- 2 Young TL, Metlapally R, Shay AE. Complex trait genetics of refractive error. *Arch Ophthalmol* 2007;125:38-48
- 3 Li YJ, Goh L, Khor CC, et al. Genome-wide association studies reveal genetic variants in CTNND2 for high myopia in Singapore Chinese. *Ophthalmology* 2011;118:368-375
- 4 Dewan A, Liu M, Hartman S, et al. HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science* 2006;314:989-992
- 5 Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, et al. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science* 2007;317:1397-1400
- 6 Nakanishi H, Yamada R, Gotoh N, et al. A Genome-Wide Association Analysis Identified a Novel Susceptible Locus for Pathological Myopia at 11q24.1. *PLoS Genet* 2009;5(9):e1000660
- 7 Yu Z, Zhou J, Chen X, et al. Polymorphisms in the CTNND2 gene and 11q24.1 genomic region are associated with pathological myopia in a Chinese population. *Ophthalmological* 2012;228(2):123-129
- 8 Zhao F, Bai J, Chen W, et al. Evaluation of BLID and LOC399959 as candidate genes for high myopia in the Chinese Han population. *Mol Vis* 2010;16:1920-1927