

# Best 卵黄样黄斑营养不良临床特点及 BEST1 基因突变研究进展

刘婧姝, 张勇进

基金项目:上海市自然科学基金(No. 12ZR1404800)

作者单位:(200031)中国上海市,复旦大学附属耳鼻喉科医院眼科

作者简介:刘婧姝,在读硕士研究生,研究方向:眼底病。

通讯作者:张勇进,主任医师,博士研究生导师,研究方向:眼底病. yongjinzhang@yahoo.com

收稿日期:2014-01-14 修回日期:2015-03-25

关键词:Best 卵黄样黄斑营养不良;BEST1;bestrophin-1;临床表现;基因突变

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.4.13

引用:刘婧姝,张勇进. Best 卵黄样黄斑营养不良临床特点及 BEST1 基因突变研究进展. 国际眼科杂志 2015;15(4):621-624

## Progress in the research on clinical features of Best vitelliform macular dystrophy and mutations in BEST1 gene

Jing-Shu Liu, Yong-Jin Zhang

Foundation item:Shanghai Natural Foundation (No. 12ZR1404800)

Department of Ophthalmology, Eye and ENT of Fudan University, Shanghai 200031, Shanghai City, China

Correspondence to:Yong-Jin Zhang. Department of Ophthalmology, Eye and ENT of Fudan University, Shanghai 200031, Shanghai City, China. yongjinzhang@yahoo.com

Received:2014-01-14 Accepted:2015-03-25

### Abstract

• Best vitelliform macular dystrophy (BVMD) is an autosomal dominant disease mostly caused by mutations in BEST1 gene. These mutations change the normal physiological functions of BEST1-encoded bestrophin-1 protein, and finally lead to a reduction of visual acuity. This review is composed of the following aspects: the structure and functions of BEST1 gene, the characteristics of the mutations, clinical features of BVMD, genotype-phenotype correlations as well as possible gene therapy. Our contribution serves for further research on BVMD and BEST1 gene.

• KEYWORDS:best vitelliform macular dystrophy; BEST1; bestrophin-1; clinical feature; gene mutation

Citation: Liu JS, Zhang YJ. Progress in the research on clinical features of Best vitelliform macular dystrophy and mutations in BEST1 gene. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(4):621-624

### 摘要

Best 卵黄样黄斑营养不良 (Best vitelliform macular dystrophy, BVMD) 是常染色体显性遗传疾病,绝大多数由 BEST1 基因突变引起。突变基因导致其编码的 bestrophin-1 蛋白功能异常,患者表现出以视力下降为主的临床症状。本文从 BEST1 基因结构及功能、基因突变特点、BVMD 临床表现及其与 BEST1 突变的关系、可能的治疗手段等几个方面进行阐述,以期在此基础上对疾病及致病基因进行进一步研究。

### 0 引言

Best 卵黄样黄斑营养不良 (Best vitelliform macular dystrophy, BVMD) 又称 Best 病,是常染色体显性遗传视网膜营养不良病变,也有一些散发病例。病变主要影响黄斑区,典型表现为幼年期黄斑卵黄状病损,至晚期可形成瘢痕和萎缩<sup>[1]</sup>。BVMD 是由 BEST1 基因突变引起的疾病, BEST1 基因编码位于视网膜色素上皮层 (retinal pigment epithelium, RPE) 的 bestrophin-1 蛋白<sup>[2]</sup>。至今国内外已发现近 200 种与 BVMD 相关的 BEST1 突变 ([http://www-huge.uni-regensburg.de/BEST1\\_database/](http://www-huge.uni-regensburg.de/BEST1_database/)),且一系列研究提示, BEST1 基因突变与成人卵黄样黄斑变性 (adult-onset foveomacular vitelliform dystrophy, AFVD)、年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 等多种疾病有关<sup>[3,4]</sup>。本文旨在阐述 BEST1 基因突变特点、产物蛋白 bestrophin-1 的多种功能、BVMD 的临床表现,探讨基因型与表现型之间的相关性及可能的治疗策略,为今后的研究提供思路。

### 1 BEST1 基因结构与功能

1.1 BEST1 基因 人类 BEST1 基因,又称 VMD2,1998 年由 Petrukhin<sup>[2]</sup>证实,主要定位于常染色体 11q13,包含 11 个外显子,编码 bestrophin-1 蛋白。BEST1 基因主要在 RPE 中表达,此外在肾、脑、脊髓、睾丸中也有少量表达。

1.2 bestrophin-1 蛋白 bestrophin-1 是由 585 个氨基酸组成的膜整合蛋白,分子量约 68kDa,定位于 RPE 细胞膜基底侧,也可在细胞内表达。迄今为止,研究者已提出两种人类 bestrophin-1 拓扑模型。在由 Tsunenari 等<sup>[5]</sup>构建的模型中, bestrophin-1 有五个跨膜区;而在 Milenkovic 等<sup>[6]</sup>的模型中 bestrophin-1 有四个跨膜区。这两种模型的主要区别在于, Tsunenari 等认为第 199~233 位氨基酸位于一个细胞外环,而 Milenkovic 等认为这段氨基酸位于一个大的细胞质环中。最近 Guziewicz 等<sup>[7]</sup>通过电脑程序模拟犬类 cBest1 蛋白拓扑结构,支持了 Milenkovic 的模型。bestrophin-1 是一种多功能蛋白质,在 RPE 的细胞膜基底侧和胞质中均有活性。一系列证据充分显示, bestrophin-1 具有氯离子通道功能,由细胞内钙离子激活<sup>[8]</sup>。人类 bestrophin-1 对 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 也有很高的通透性,提示其可能具有 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 离子通道功能<sup>[9]</sup>。体外实验证实 bestrophin-1 氯离子通道也受细胞体积调控<sup>[10]</sup>。在许多由 BEST1 基因突变引起的 BVMD 中已观察到 bestrophin-1 氯离子通道的功能障碍<sup>[8,11-13]</sup>。此外, bestrophin-1 能够抑制细胞内电压依赖的钙离子通道 (Ca<sub>v</sub>)<sup>[14-16]</sup>。

一般认为,眼电图(electro-oculogram, EOG)的光峰反应是由对钙离子敏感的氯离子电流的激活所产生<sup>[17]</sup>。在BVMD患者中,EOG的光峰与暗谷比值(LP/DT或称Arden比)出现特征性的显著下降<sup>[18]</sup>,这可能是由bestrophin-1的功能障碍引发。Abramoff等<sup>[19]</sup>研究认为,正常人明适应后的EOG光峰期与感光细胞外节有效长度(outer segment equivalent length, OSEL)减少有关,而BVMD患者OSEL增加,导致EOG光峰缺乏,推断bestrophin-1的功能是激发感光细胞外节向RPE顶端靠近,促进吞噬作用。

bestrophin-1的氯离子通道功能及对胞内钙流的调节作用提示其可能影响一系列胞内反应过程,如RPE对感光细胞外节的吞噬作用及溶酶体功能<sup>[20]</sup>。bestrophin-1位于细胞质内的C末端,可被磷酸化并与蛋白磷酸酶2A(protein phosphatase 2A, PP2A)作用,参与胞内信号传导<sup>[21]</sup>。

## 2 BEST1 突变与 Best 卵黄样黄斑营养不良

**2.1 人类 BEST1 基因突变** BVMD表型以常染色体显性方式遗传,在几乎所有具有阳性家族史的BVMD病例中都检测出BEST1基因的突变。还有个别家系检测到PRPH2<sup>[22]</sup>及IMPG1<sup>[23]</sup>基因突变。在至今发现的二百余种BEST1突变中,大部分(约93%)是位于蛋白质N端的错义突变,这一部分呈现出高度进化保守性,而C端相对多样化<sup>[24]</sup>。此外有证据表明不同人种的基因突变可呈现出自身特点,例如Thr6Pro在荷兰人中出现频率明显更高<sup>[2,25]</sup>,Trp93Cys在瑞士人中常见<sup>[26]</sup>。我国学者在对BVMD家系的基因研究中发现多个与疾病发生相关的新的突变位点,提示中国人BEST1突变有其自身特点<sup>[27-29]</sup>。近年来的研究中还发现BEST1突变可以常染色体隐性方式遗传,如纯合子突变或复合杂合子突变,一些患者可表现为典型的BVMD,另一些则呈现出与BVMD不同的表现型,被称为常染色体隐性Best样病变(autosomal recessive bestrophinopathy, ARB)<sup>[11, 30-34]</sup>。

**2.2 Best 卵黄样黄斑营养不良** Best卵黄样黄斑营养不良在1905年由德国眼科专家Friedrich Best首次描述。多数BVMD患者以视力下降为主要表现,常有轻至重度远视,也可伴有畏光、视物变形、夜盲等症状,近年来有研究者发现BVMD可能提高闭角型青光眼的患病风险<sup>[35,36]</sup>。BVMD的发病年龄从10岁前到60岁后均有报道,平均发病年龄在40岁左右,发病年龄与视力下降程度显著相关。研究者根据眼底镜观察到的眼部损伤表现提出了几种分期方法,其中应用最广泛的是Mohler等<sup>[1]</sup>提出的分期:0期为黄斑区表现相对正常,而EOG异常;I期为黄斑区RPE轻度异常;II期为黄斑区典型卵黄样病损,后期可退变为“煎鸡蛋”样外观;III期黄斑区呈“假性前房积脓样”外观,病变可有液平面;IV期在上述黄斑病变的基础上并发RPE萎缩、瘢痕或脉络膜新生血管形成。

脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)在BVMD患者中的发生率为2%~9%,但难以及时发现,视网膜下出血和灰绿色瘢痕损伤常提示CNV的形成,伴或不伴眼底荧光素血管造影(fundus fluorescein angiography, FFA)渗漏。长期随访发现,视力下降与CNV普遍相关,但与AMD不同的是,未经治疗的BVMD患者多能保留20/50甚至更好的视力<sup>[37]</sup>。目前针对CNV有多种治疗方法,包括光动力疗法<sup>[26]</sup>以及玻璃体内注射血管内皮生长因子抑制剂贝伐单抗或雷珠单抗<sup>[38,39]</sup>;疗效基本可靠。

BVMD的一个特征性表现是EOG异常<sup>[18]</sup>,通常认为Arden比低于1.55是诊断BVMD的必要条件,这一异常在无症状携带者中也经常发现。但另有研究显示,即使在有典型临床表现的BEST1基因突变者中,EOG在最初或整个病程中也可保持正常<sup>[25,40,41]</sup>。因此,目前BEST1基因的突变分析才是BVMD临床诊断的唯一可靠依据。

眼底荧光素血管造影(FFA)早期由于不同程度的RPE和(或)脉络膜萎缩显示出高荧光,晚期病变部位呈少量荧光积聚。当有卵黄样物质积累或假性积脓形成时表现为荧光素遮蔽,在造影早期尤为明显<sup>[40,42]</sup>。在眼底自发荧光(fundus autofluorescence, FAF)检查中,视网膜下卵黄样物质表现为显著的FAF信号增强。随着病变向晚期进展,卵黄样物质的高信号以颗粒状在病损内扩散。这种自发荧光物质由脂褐素的毒性成分构成,是视觉循环中的代谢废物,如亚视黄基-N-视黄基-乙醇胺(N-retinylidene-N-retinyl ethanolamine, A2E)及它的前体和衍生物。在瘢痕和萎缩期,FAF信号减弱的区域则更多,这是由于RPE的萎缩和(或)瘢痕组织遮挡了信号,同时自发荧光物质也在减少。这种不规则的FAF信号减弱常与视力下降相关。因此,FAF是用于BVMD随访的有效手段,尤其是它能够观察到眼底镜无法清楚显示的异常改变<sup>[43]</sup>。

光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)能够提供BVMD病损前后轴截面的高清晰度图像,在病变2,3期,即卵黄样物质形成、假性积脓及卵黄破裂阶段,OCT表现为黄斑区视网膜神经上皮层的脱离。在RPE和视网膜神经上皮层之间可有高反射物质积聚,对应眼底镜观察到的卵黄样物质和(或)低反射物质,对应眼底镜观察到的透明液体<sup>[44]</sup>。瘢痕和CNV在OCT上也表现为高反射。我国学者将OCT用于BVMD患者的病情随访中,发现卵黄样物质积聚于光感受器内外节(IS/OS)层及RPE层之间,可观察患者病情的动态进展<sup>[45]</sup>。Kay等<sup>[46]</sup>应用频域相干断层成像术(SD-OCT)观察到BVMD的卵黄样物质沉积视网膜下间隙(RPE与外界膜间),感光细胞外节堆积在结构相对正常的RPE层上方,且感光细胞层厚度大于对照组。

随访研究显示,0期和1期的BVMD患者可以在相当长的时期内处于无明显临床表现的阶段,眼底状况也非常稳定,而2,3期的患者则可在几年时间内发展到下一个病变阶段,88%的患者在至少5a的随访过程中较好眼能够维持不低于20/40的视力。发病较早的BVMD患者视力通常在40岁以后开始恶化,尤其是那些长期存在瘢痕和(或)萎缩灶的患者。50岁以后大部分患者较好眼的视力下降到低于20/40。国外有学者应用自适应光学扫描激光检眼镜(adaptive optics scanning light ophthalmoscopy, AOSLO)发现活动性病损及其邻近部位的感光细胞结构基本保持正常,这解释了大多数患者可以在很长时期内保持较好的视力<sup>[47]</sup>。

BVMD患者眼底表现的多样性为临床诊断带来了困难,这不仅存在于那些RPE改变相对孤立的轻症患者,也同样存在于伴有瘢痕和(或)萎缩灶的重症患者,如BVMD的晚期损害易误诊为AMD。在携带相同BEST1突变的同一个家系中,有的患者可能只观察到EOG异常而没有临床症状,有的可以表现为典型的BVMD,甚至多灶BVMD,呈现出高度的多样性<sup>[48]</sup>。

## 2.3 BEST1 突变与 BVMD 的关系

### 2.3.1 BEST1 突变对 bestrophin-1 结构和功能的影响

如前所述,bestrophin-1 是 RPE 上一种多功能的蛋白质,它具有氯离子通道以及调节胞内 Ca<sub>v</sub> 通道等功能。一些体外实验重点研究了 BVMD 中 BEST1 突变对 bestrophin-1 氯离子通道功能的影响,结果显示,大多数突变都以显性抑制机制导致氯离子电流大大降低或缺失。还有一些突变引起单倍剂量不足效应,使氯离子电流降低到野生型的 10%~40%<sup>[13,16]</sup>。bestrophin-1 还能够抑制 Ca<sub>v</sub> 通道产生的钙离子电流,造成 bestrophin-1 氯离子通道功能损伤的突变对 Ca<sub>v</sub> 通道的作用不甚相同,有的突变与野生型 bestrophin-1 具有相似的 Ca<sub>v</sub> 通道抑制作用,有的抑制作用则比野生型更弱<sup>[16]</sup>。以上实验表明不同的突变会产生不同的作用,这一点我们也可以从疾病临床症状严重程度的差别和 EOG 的不同改变推断出来。然而,为什么有的突变引起 BVMD,而有的引起 AFVD? 为什么携带同一 BEST1 突变的家族成员表现型却出现显著差异? 目前的研究尚无法解释,推测可能与后天环境相关。

**2.3.2 基因型与表现型的相关性** 至今在 BVMD 患者中发现的 BEST1 突变几乎都是错义突变,只有极个别的无义突变和移码突变。BVMD 中的突变多集中在 6-30,80-104,221-243,293-312 氨基酸区域,这四个区域都临近或存在于 RPE 细胞质膜中,因此推测与 bestrophin-1 的氯离子通道功能和(或)Ca<sub>v</sub> 通道调节功能密切相关。目前国内对于本病基因型与表现型相关性的报道甚少,Booij 等<sup>[49]</sup>在研究了 53 位 VMD 患者携带的 14 种 BEST1 突变后发现,由 Ala10Val 引起的 BVMD 病情发展更快。Kousal 等<sup>[50]</sup>报道了一位无症状的 BEST1 突变携带者,并且认为该病患轻微的眼底表现异常及 EOG 的 Arden 比轻度下降与其所携带的 Arg218His 突变有关。在 BVMD 中,有一些突变显示出比其他突变更低的外显率,例如 Ile295del 及 Asn99Lys,它们存在于 11~42 岁的无症状携带者中<sup>[41]</sup>。

**2.3.3 BEST1 突变引起的眼部病理生理改变** BVMD 病损中液体及卵黄样物质的积聚源于上皮细胞离子转运和液体平衡机制的破坏<sup>[8]</sup>。这种破坏是由于 bestrophin-1 氯离子转运功能障碍和(或)钙离子信号传导过程异常导致。感光细胞与 RPE 的正常附着和相互作用有赖于 RPE 维持正常的胞内和胞外离子微环境,使 RPE 更有效地吞噬和降解感光细胞外节,并保证感光细胞与 RPE 连接处的液体顺利进入脉络膜。BVMD 中积聚在视网膜神经层和感光细胞间的液体将感光细胞与 RPE 分离,阻碍了 RPE 对感光细胞外节的吞噬,这些外节便沉积在视网膜神经层外,甚至流入脱离的视神经层下<sup>[51]</sup>,其中含有毒性的自发荧光物质,即由视黄醇衍生而来的脂褐素前体<sup>[52]</sup>。由于这种存在于视网膜下间隙的有毒的前体物质干扰了感光细胞外节的正常丢失,并使感光细胞周围长时间存在充满毒性代谢产物的未被吞噬的外节,这反过来造成了感光细胞的破坏,甚至在 RPE 萎缩前就引起中心视力的丧失。然而虽然缺少足够的接触,这些外节最终还是会被 RPE 吞噬,这使得 RPE 内有有毒的自发荧光脂褐素超负荷,影响了正常的 RPE 功能,导致 RPE 萎缩<sup>[53]</sup>。总而言之,感光细胞外节积聚于异常的视网膜下间隙是疾病发生发展的重要过程。

## 3 治疗手段展望

对于 BVMD 治疗方法的研究主要致力于恢复感光细胞与 RPE 的正常接触。然而仅仅在解剖学上恢复这种接触还不能解决问题,因为 BEST1 突变同时影响了细胞内

反应过程,并最终导致破坏效应。因此利用基因治疗消除 bestrophin-1 突变体的有害作用似乎更可取。由于多数 BVMD 患者的疾病进展非常缓慢,基因治疗有效性的发挥也需要很长的时间跨度。将野生型 BEST1 基因导入 RPE 对于治疗那些由单倍剂量不足效应引起的 BVMD 或许有效,因为他们只是缺少足够的野生型蛋白质。这种基因导入可以通过多种方式实现,例如视网膜下注射腺相关病毒载体或非病毒基因载体如 DNA 纳米粒子<sup>[54,55]</sup>。

然而很多 BEST1 突变通过显性抑制效应引发疾病。在这些患者中,破坏突变 mRNA 可能比增加野生型 BEST1 表达更加有效,这种破坏可以通过 RNA 干扰技术和核酶实现<sup>[56]</sup>。基因治疗的挑战在于是否有足够的传导和转染率,能否保持基因长期表达和药物的安全性控制。由于在 BVMD 中常出现外显率降低、表现型多样及相对轻微的临床症状,使得对治疗对象及治疗时机的选择面临困难。此外,基因治疗还有潜在的严重副作用,尤其在利用病毒作为载体时<sup>[57]</sup>。因此,基因治疗的开展需要制定严格的纳入标准来保证其安全性和有效性。

## 4 结语

BVMD 是由 BEST1 基因突变引起的常染色体显性遗传病,目前可以通过眼底表现、眼电图(EOG)、眼底自发荧光(FAF)和 OCT 及基因分析等多种检查方法进行诊断,但对于 bestrophin-1 蛋白功能及发病机制还不甚明确,治疗手段及治疗效果也非常有限,今后的研究将集中于对产物蛋白功能、基因型与表现型的联系以及基因治疗等方面。

### 参考文献

- Mohler CW, Fine SL. Long-term evaluation of patients with Best's vitelliform dystrophy. *Ophthalmology* 1981;88(7):688-691
- Petrukhin K, Bakall B, Xie GC, et al. Identification of the gene responsible for Best macular dystrophy. *Nature Genetics* 1998;19(3):241-247
- Allikmets R, Bernstein PS, Atkinson A, et al. Evaluation of the Best disease gene in patients with age-related macular degeneration and other maculopathies. *Human Genetics* 1999;104(6):449-453
- Lotery AJ, Fishman GA, Jacobson SG, et al. Allelic variation in the VMD2 gene in Best disease and age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(6):1291-1296
- Tsunenari T, Williams J, Smallwood P, et al. Structure-function analysis of the bestrophin family of anion channels. *J Bio Chem* 2003; 278(42):41114-41125
- Milenkovic VM, Horling F. Insertion and topology of normal and mutant bestrophin-1 in the endoplasmic reticulum membrane. *J Bio Chem* 2007;282(2):1313-1321
- Guziewicz KE, Aguirre GD, Zangerl B. Modeling the structural consequences of BEST1 missense mutations. *Adv Exp Med Biol* 2012; 723:611-618
- Hartzell HC, Qu ZQ, Yu K, et al. Molecular physiology of bestrophins: Multifunctional membrane proteins linked to best disease and other retinopathies. *Physiol Rev* 2008; 88(2):639-672
- Qu ZQ, Hartzell HC. Bestrophin Cl<sup>-</sup> channels are highly permeable to HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008;294(6):C1371-C1377
- Chien LT, Hartzell HC. Drosophila bestrophin-1 chloride current is dually regulated by calcium and cell volume. *J Gen Physiol* 2007; 130(5):513-524
- Burgess R, Millar ID, Leroy BP, et al. Biallelic mutation of BEST1 causes a distinct retinopathy in humans. *Am J Hum Genet* 2008;82(1):19-31
- Sun H, Yau KW. The vitelliform macular dystrophy protein defines a new family of chloride channels. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(6):4008-4013

13 Yu K, Cui YY. Chloride channel activity of bestrophin mutants associated with mild or late-onset macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(10):4694-4705

14 Marmorstein LY, McLaughlin P, Karl MO, et al. The light peak of the electroretinogram is dependent on voltage-gated calcium channels and antagonized by bestrophin (Best-1). *J Gen Physiol* 2006; 127(5):577-589

15 Rosenthal R, Kinnick T, Wimmers S, et al. Expression of bestrophin-1, the product of the VMD2 gene, modulates voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels in retinal pigment epithelial cells. *FASEB J* 2006;20(1):178-180

16 Yu K, Xiao QH, Cui GY, et al. The best disease-linked Cl<sup>-</sup> channel hBest1 regulates Ca(V)<sub>1</sub>(L-type) Ca<sup>2+</sup> channels via src-homology-binding domains. *J Neurosci* 2008; 28(22):5660-5670

17 Hartzell C, Qu Z, Putzier I, et al. Looking chloride channels straight in the eye: bestrophins, lipofuscinosis, and retinal degeneration. *Physiology (Bethesda)* 2005;20:292-302

18 Deutman AF. Electro-oculography in families with vitelliform dystrophy of fovea-detection of carrier state. *Arch Ophthalmol* 1969; 81(3):305-316

19 Abramoff MD, Mullins RF, Lee K, et al. Human photoreceptor outer segments shorten during light adaptation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(5):3721-3728

20 Karl MO, Kroeger W, Wimmers S, et al. Endogenous Gas6 and Ca<sup>2+</sup>-channel activation modulate phagocytosis by retinal pigment epithelium. *Cell Signal* 2008; 20(6):1159-1168

21 Marmorstein LY, McLaughlin PJ, Stanton JB, et al. Bestrophin interacts physically and functionally with protein phosphatase 2A. *J Biol Chem* 2002; 277(34):30591-30597

22 Meunier I, Senechal A, Dhaenens CM, et al. Systematic screening of BEST1 and PRPH2 in juvenile and adult vitelliform macular dystrophies: a rationale for molecular analysis. *Ophthalmology* 2011;118(6):1130-1136

23 Manes G, Meunier I, Avila-Fernandez A, et al. Mutations in IMPG1 cause vitelliform macular dystrophies. *Am J Hum Genet* 2013; 93(3):571-578

24 Milenkovic VM, Langmann T, Schreiber R, et al. Molecular evolution and functional divergence of the bestrophin protein family. *BMC Evol Biol* 2008;8:72

25 Boon C, den Hollander AI, Theelen T, et al. Clinical and genetic heterogeneity in multifocal vitelliform dystrophy. *Arch Ophthalmol* 2007; 125(8):1100-1106

26 Frennesson CI, Wadelius C, Nilsson SE. Best vitelliform macular dystrophy in a Swedish family: genetic analysis and a seven-year follow-up of photodynamic treatment of a young boy with choroidal neovascularization. *Acta Ophthalmol* 2014; 92(3):238-242

27 侯兵,陈伟民,陈伟奇,等. Best病家系卵黄样黄斑营养不良基因突变分析. *中华眼底病杂志* 2006;22(2):86-89

28 欧阳艳玲,张勇进,徐格致,等. Best卵黄样黄斑营养不良一家系的临床表型特征和基因研究. *中华眼科杂志* 2008;44(4):321-326

29 侯兵,陈伟奇,陈伟民,等. 卵黄样黄斑营养不良基因三个新的点突变与散发性Best病表现型关系的分析. *中华眼底病杂志* 2009;25(2):146-148

30 Macdonald IM, Gudiseva HV, Villanueva A, et al. Phenotype and genotype of patients with autosomal recessive bestrophinopathy. *Ophthalmic Genet* 2012; 33(3):123-129

31 Zhao L, Grob S, Corey R, et al. A novel compound heterozygous mutation in the BEST1 gene causes autosomal recessive Best vitelliform macular dystrophy. *Eye (Lond)* 2012; 26(6):866-871

32 Pineiro-Gallego T, Alvarez M, Pereiro I, et al. Clinical evaluation of two consanguineous families with homozygous mutations in BEST1. *Mol Vis* 2011; 17:1607-1617

33 Sodi A, Menchini F, Manitto MP, et al. Ocular phenotypes associated with biallelic mutations in BEST1 in Italian patients. *Mol Vis* 2011; 17:3078-3087

34 Wittstrom E, Ekvall S, Schatz P, et al. Morphological and functional changes in multifocal vitelliform retinopathy and biallelic mutations in

BEST1. *Ophthalmic Genet* 2011; 32(2):83-96

35 Low S, Davidson AE, Holder GE, et al. Autosomal dominant Best disease with an unusual electrooculographic light rise and risk of angle-closure glaucoma: a clinical and molecular genetic study. *Mol Vis* 2011; 17:2272-2282

36 Wittstrom E, Ponjavic V, Bondeson ML, et al. Anterior segment abnormalities and angle-closure glaucoma in a family with a mutation in the BEST1 gene and Best vitelliform macular dystrophy. *Ophthalmic Genet* 2011; 32(4):217-227

37 Chung MM, Streb LM, Stone EM. Visual outcome following subretinal hemorrhage in Best disease. *Retina* 2001;21(6):575-580

38 Velazquez-Villoria D, Macia BC, Rigo QJ, et al. Intravitreal bevacizumab for choroidal neovascularization associated with Best's disease. *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2014;89(10):405-407

39 Ruiz-Moreno O, Calvo P, Ferrandez B, et al. Long-term outcomes of intravitreal ranibizumab for choroidal neovascularization secondary to Best's disease: 3-year follow-up. *Acta Ophthalmol* 2012; 90(7):e574-e575

40 Renner AB, Kraus H, Mohr N, et al. Late onset is common in best macular dystrophy associated with VMD2 gene mutations. *Ophthalmology* 2005;112(4):586-592

41 Wabblers B, Kretschmann U, Lorenz B. Genotype-phenotype correlation and longitudinal course in ten families with Best vitelliform macular dystrophy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244(11):1453-1466

42 Spaide RF, Morgan A. Vitelliform macular dystrophy. *Ophthalmology* 2006; 113(8):1392-1400

43 Boon C, Klevering BJ, Keunen J, et al. Fundus autofluorescence imaging of retinal dystrophies. *Vis Res* 2008;48(26):2569-2577

44 Querques G, Regenbogen M, Quijano C, et al. High-definition optical coherence tomography features in vitelliform macular dystrophy. *Am J Ophthalmol* 2008;146(4):501-507

45 欧阳艳玲,张勇进,徐格致,等. 不同病变时期Best卵黄样黄斑营养不良的光相干断层扫描图像特征. *中华眼底病杂志* 2012;28(4):342-345

46 Kay CN, Abramoff MD, Mullins RF, et al. Three-dimensional distribution of the vitelliform lesion, photoreceptors, and retinal pigment epithelium in the macula of patients with best vitelliform macular dystrophy. *Arch Ophthalmol* 2012; 130(3):357-364

47 Kay DB, Land ME, Cooper RF, et al. Outer retinal structure in best vitelliform macular dystrophy. *JAMA Ophthalmol* 2013;131(9):1207-1215

48 Caldwell GM, Griesinger IB, Nowak NJ, et al. Bestrophin gene mutations in patients with best vitelliform macular dystrophy. *Genomics* 1999;58(1):98-101

49 Booi JC, Boon CJ, van Schooneveld MJ, et al. Course of visual decline in relation to the Best1 genotype in vitelliform macular dystrophy. *Ophthalmology* 2010;117(7):1415-1422

50 Kousal B, Chakarova F, Black GC, et al. Minimal ocular findings in a patient with Best disease caused by the c.653G>A mutation in BEST1. *Cesk Slov Ophthalmol* 2011;67(5-6):170-174

51 Spaide R. Autofluorescence from the outer retina and subretinal space-Hypothesis and review. *Retina* 2008;28(1):5-35

52 Sparrow JR. RPE lipofuscin and its role in retinal-pathobiology. *Exp Eye Res* 2005; 80(5):595-606

53 Sparrow JR, Ben-Shabat S, Itagaki Y. Involvement of oxidative mechanisms in blue-light-induced damage to A2E-laden RPE. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43(4):1222-1227

54 Bainbridge J, Ali RR. Gene therapy progress and prospects: the eye. *Gene Ther* 2006; 13(16):1191-1197

55 Naik R, Mukhopadhyay A, Ganguli M. Gene delivery to the retina: focus on non-viral approaches. *Drug Discov Today* 2009;14(5-6):306-315

56 Pelletier R, Puymirat J. RNA based gene therapy for dominantly inherited diseases. *Curr Gene Ther* 2006;6(1):131-146

57 Thomas CE, Kay MA. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet* 2003;4(5):346-358