

Avellino 型角膜营养不良的研究进展

谭俊凯¹, 王芝², 刘旭阳², 张志伟¹

基金项目: 广东省医学科研基金项目 (No. A2015438); 深圳市科技创新委员会基础研究项目 (No. JCYJ20160428144701106)

作者单位:¹(421001) 中国湖南省衡阳市, 南华大学肿瘤研究所肿瘤细胞与分子病理学湖南省重点实验室;²(518040) 中国广东省深圳市, 暨南大学附属深圳眼科医院 深圳市眼科重点实验室

作者简介: 谭俊凯, 在读硕士研究生, 研究方向: 角膜营养不良。

通讯作者: 张志伟, 博士, 副教授, 副所长, 研究方向: 癌症发病机制. nhdzzw@qq.com

收稿日期: 2017-04-20 修回日期: 2017-06-20

Advances in the Avellino corneal dystrophy

Jun-Kai Tan¹, Zhi Wang², Xu-Yang Liu², Zhi-Wei Zhang¹

Foundation items: Guangdong Medical Research Foundation (No. A2015438); Project Supported by Shenzhen Science & Technology Innovation Commission (No. JCYJ20160428144701106)

¹Cancer Research Institute of Medical College, University of Southern China, Hengyang 421001, Hunan Province, China;

²Shenzhen Key Laboratory of Ophthalmology; Shenzhen Eye Hospital, Jinan University, Shenzhen 518040, Guangdong Province, China

Correspondence to: Zhi-Wei Zhang, Cancer Research Institute of Medical College, University of Southern China, Hengyang 421001, Hunan Province, China. nhdzzw@qq.com

Received: 2017-04-20 Accepted: 2017-06-20

Abstract

• Avellino corneal dystrophy (ACD) is an autosomal dominant eye disorder caused by mutation of R124H in the transforming growth factor - beta induced gene (TGFB1) on chromosome 5, which was responsible for accumulating of abnormal TGFB1. Although the underlying mechanism by which mutations cause abnormal TGFB1 deposition is not yet clear, but we have a better understanding of the etiology and possible pathogenesis of corneal dystrophy with the rapid development of human genetics and molecular biology, and summarizes the current achievement of this disease and understand the roles of TGFB1 and its interaction with Periostin, which may contribute to further research in ACD.

• KEYWORDS: transforming growth factor-beta induced gene; Periostin; Avellino corneal dystrophy; gene; interaction

Citation: Tan JK, Wang Z, Liu XY, et al. Advances in the Avellino corneal dystrophy. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2017; 17(8):1461-1464

摘要

Avellino 型角膜营养不良 (Avellino corneal dystrophy, ACD) 是一种常染色体显性眼异常疾病, 其病因是位于第 5 号人类染色体上的转化生长因子 β 诱导基因 (transforming growth factor-beta induced gene, TGFB1) 存在 R124H 突变最终导致异常 TGFB1 蛋白沉积于角膜组织, 而由突变导致异常蛋白质沉积的潜在分子机制目前尚不清楚。近年来, 随着人类遗传学、眼病的分子生物学的快速发展和研究技术的不断提高, 人们对 Avellino 型角膜营养不良的发病基础和可能的发病机制有了更多的认识, 而尝试组织该疾病发病机制方面的有关研究成果, 理解 TGFB1 和与之相互作用蛋白 Periostin 在该疾病中所扮演的作用将有助于后续的相关研究。

关键词: TGFB1; Periostin; Avellino 型角膜营养不良; 基因; 相互作用

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2017.8.15

引用: 谭俊凯, 王芝, 刘旭阳, 等. Avellino 型角膜营养不良的研究进展. *国际眼科杂志* 2017; 17(8):1461-1464

0 引言

TGFB1 基因存在多种类型的基因位点突变, 并且与多种类型的角膜营养不良相关, 目前已确定由 TGFB1 基因突变所导致的角膜营养不良类型在上皮型为上皮基底膜营养不良 (epithelial basement membrane dystrophy, EBMD), 前弹力层有 Reis-Bücklers 和 Thiel-Behnke 角膜营养不良, 基质层则包括颗粒状角膜营养不良 I 型 (granular corneal dystrophy Groenouw type I, GCD I)、格子状角膜营养不良 I 型 (lattice corneal dystrophy type I, LCD I) 和 Avellino 角膜营养不良 (granular corneal dystrophy Groenouw type II, GCD II, ACD, CGLCD)^[1-3], 其中以基质层角膜营养不良的 GCD I 型、GCD II 型和 LCD I 型较为常见。Avellino 型角膜营养不良也称为混合型格子颗粒状角膜营养不良或者 GCD II, 呈常染色体显性遗传^[4]。研究已证实转化生长因子 β 诱导基因 (transforming growth factor β -induced gene, TGFB1) 为 Avellino 型角膜营养不良的致病基因^[5]。迄今为止^[6], 与角膜营养不良相关的 TGFB1 基因位点突变已超过 60 个, 并在 30 多个国家被报道, 这些突变最终均引起不溶性的异常 TGFB1 蛋白在角膜细胞外堆积并表现为角膜混浊物。TGFB1 和 Periostin (Osteoblast-Specific Factor 2, OSF-2, POSTN, PN) 是一对同源基因蛋白, 两者均含有单个 emilin (EMI) 结构域和四个 fasciclin-1 (FAS1) 结构域。

TGFBI在角膜组织中存在丰富的表达,有文献报道认为TGFBI基因突变导致TGFBI和Periostin蛋白相互作用的改变是蛋白沉积和Avellino角膜营养不良的原因。本文将从临床表现、表型-基因型关系和分子发病机制等多个方面来对该疾病进行阐述。

1 临床表型

Avellino型角膜营养不良,其主要临床特征表现为基质层可见星形、点状、雪花状不同程度的角膜混浊,也可见格子线样混浊,主要为颗粒状和组织淀粉样沉积物^[7]。一般在20岁左右发病,在疾病早期先出现颗粒状沉积,随着病情的逐渐进展,淀粉样沉积会逐渐变得明显呈现格子状,最终沉积物会进而出现在角膜基质更深层^[8]。出现早期病理特征及严重的角膜混浊的TGFBI纯合突变患者在25岁前常需要手术治疗。与GCD I型角膜营养不良相比,GCD II病程进展相对缓慢,并且视觉损害也相对轻微。

2 TGFBI突变中表型-基因型关系

角膜营养不良是一组遗传异质性疾病,因此Avellino型角膜营养不良患者的临床表型在不同家系甚至相同家系成员之间都不尽相同^[9]。TGFBI突变的基因型与角膜营养不良表现型存在一定的相关性。与TGFBI基因纯合突变患者相比,杂合性突变患者的临床表型相对较轻^[10],在疾病早期一般不需要视觉损害的治疗,在进行角膜移植手术后,疾病的复发率一般也比纯合突变患者要高。因此,疾病严重程度与TGFBI突变的杂合状态或纯合状态有关,TGFBI突变的方式和位点决定沉积物的特点和具体种类^[11]。

我们之前报道的一个Avellino型角膜营养不良家系^[12],证实了TGFBI基因p. Arg124His突变是致病原因。值得注意的是,该家系患者虽然都携带相同的杂合错义突变,他们的临床表型却不尽相同,并且女性患者的角膜病变程度比男性患者严重,这与年龄、生活环境、单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)及突变的杂合状态或纯合状态无关。这与我们另一个报道的一个中国汉族Avellino型角膜营养不良家系情况相同^[13]。在其他文献中,Cu等^[14]研究的Avellino型角膜营养不良家系中也发现了男性患者的视力损害轻于女性患者,并且年轻女性患者的角膜变性程度比其上一代女性患者更加严重。以上均说明性激素可能同一突变类型的不同表型差异中起着重要作用。迄今为止,几乎所有Avellino型角膜营养不良案例的分子遗传学研究报告都有TGFBI基因R124H突变,但是不同家系的患者疾病表型变化差异显著^[15-19]。有研究证明,在其他单基因疾病的表型变异中修饰基因可以发挥重要作用^[19]。然而,角膜营养不良的突变基因与修饰基因之间的相互作用尚不明确,不同的遗传和环境因素都可能影响蛋白的表达和外显率^[20-21]。

3 分子机制

关于TGFBI角膜营养不良的可能分子机制已经有一些研究报道,其中讨论较多的致病机制为蛋白结构的异常折叠和异常蛋白水解产物,但TGFBI基因突变导致角膜组织中异常物质沉积的具体机制目前依旧不十分明确。TGFBI是第一种可以导致不同形式沉淀的遗传性疾病的蛋白,比如淀粉样(如格子状角膜营养不良I型和III A型)、非淀粉样(如Reis-Bucklers角膜营养不良)和前

两者的混合型(如Avellino型角膜营养不良)。有研究表明FAS1-4结构域中的氨基酸突变会影响TGFBI蛋白的稳定性^[22-23],并认为FAS1-4的稳定性可能影响Avellino型角膜营养不良的发病机制^[23]。Korvatska等^[24]指出由于基因突变所导致的TGFBI蛋白结构错误折叠进而产生淀粉样或非淀粉样沉积是5q31相关角膜营养不良的发病机制。而TGFBI基因突变导致其表达的异常角膜上皮蛋白分子作为不溶性蛋白沉积物以各种形式堆积在角膜细胞外^[25]。在分子水平中通过设计特异性多肽来研究突变TGFBI形成淀粉样沉淀的原因,Schmitt-Bernard等^[26]认为在第124位密码子出现的特殊氨基酸、N端第112-113位缬氨酸(V112-V113)和二硫键与氢键等因素,对于TGFBI类淀粉样沉淀的形成起着重要作用。

除了从基因突变对TGFBI蛋白本身的影响进行研究之外,EL Kochairi等^[27]在对比了多种表达TGFBI蛋白的组织后发现,该蛋白的淀粉样沉淀只发生在角膜组织,因此提出角膜中可能存在特殊的物理和生物化学条件,而TGFBI借此经过某种代谢途径在角膜组织中产生沉淀。Kim等^[28]研究结果指出,TGFBI的基因突变可以经过异常蛋白的产生而间接影响线粒体的结构和功能,使细胞能量代谢受挫以及蛋白质形成与清除失衡,进而可能引起细胞毒性作用,并由此引发恶性循环。所以如果TGFBI基因突变,角膜组织细胞的正常生理功能可能会受到影响,从而导致角膜沉积物的形成。还有研究表明^[29]在包括角膜上皮的多种组织中,其分泌的转化生长因子 β (TGF β)所诱导表达的TGFBI参与了细胞间黏附和迁移,因此调控和维持多种组织的正常增生和分化等形态学发生过程。另有研究^[30]证实TGF β 1可以通过相关信号途径促进转录因子与效应基因结合来诱导TGFBI蛋白和细胞外基质蛋白在角膜上皮细胞和角膜基质中的表达和进行性积累,而Maeng等^[31]则发现TGF β 1还可以经由核小体组蛋白的甲基化作用从而介导TGFBI蛋白和细胞外基质蛋白在角膜组织中的表达,因此提出对染色质表观遗传学变化的调控有助于减少TGF β 1诱导的蛋白质积累。因此,结合我们之前在ACD家系研究的临床发现,雌激素可能也存在类似机制影响着ACD的表型。

以上的研究均集中在多种因素对单一的TGFBI蛋白所产生的影响,而Clout等^[32]研究认为,作为TGFBI基因突变热点的第124和555位密码子,其点突变可能直接影响了蛋白质之间的相互作用。Kim等^[33]则通过对野生型及突变型TGFBI蛋白的分子性能研究提出野生型TGFBI可以相互聚合形成一种纤维样结构,此结构能增强其与I型胶原蛋白、纤维蛋白及层黏连蛋白的相互作用。但突变型TGFBI蛋白并未显著地影响这种性能。因此角膜混浊是由突变TGFBI基因所表达的异常TGFBI蛋白或者由其蛋白水解片段的进行性积累所导致。

此外,TGFBI和Periostin是一对旁系同源基因(paralogs),两者不仅在角膜成纤维细胞和角膜上皮细胞中都有表达^[34-36],并且在氨基酸序列和整体域结构上具有很高的相似性,即均具有NH₂末端信号肽,富含半胱氨酸的EMI结构域,4个串联重复的fasciclin-1样结构域(FAS1)和一个亲水的COOH末端。Kim等提出TGFBI和Periostin蛋白在角膜基质细胞中存在相互作用,并且TGFBI基因的R124H突变会破坏这两种蛋白之间的相

相互作用^[37]。由于 TGFBI 的突变并未引起细胞外基质蛋白的分泌发生变化,因此突变可能通过改变蛋白表面结构进而影响其与伴侣蛋白如 Periostin 之间的相互作用。Periostin 除了在人类多种组织中存在表达之外,该研究还首次发现角膜基质细胞和角膜上皮组织及其细胞中也存在表达。综合这些现象可以推测 Periostin 蛋白可能在角膜组织细胞中发挥着某种重要作用。此外,ACD 患者的角膜基质层沉积物中可以同时发现突变 TGFBI 和 Periostin 蛋白的积累,并且从组织中检测到较高的蛋白水平,这更加表明 TGFBI 和 Periostin 蛋白在角膜营养不良致病过程中可能发挥着协同作用。其还提及 TGFBI 的突变并未显著影响 TGFBI 和 Periostin 的转录水平(即 mRNA 水平),因此推测患者角膜组织中的该两种蛋白水平的增加可能与细胞外沉积物的积累所致。在其他领域, Lee 等^[38] 研究指出抑瘤素 M 可以刺激 TGFBI 和 Periostin 蛋白的分泌,而该两种蛋白可能相互形成异源二聚体复合物共同促进前列腺癌细胞的生长和转移。迄今为止, TGFBI 和 Periostin 蛋白相互作用的确切分子生物学机制尚不清楚,但可以看出,分泌到细胞基质中的 TGFBI 和 Periostin 蛋白,在细胞之间和细胞与基质之间均起到一种调控介质的作用。除此之外, Choi 等^[39] 研究提出自噬/溶酶体降解途径(autophagy/lysosomal degradation pathway)损伤或缺陷是导致突变 TGFBI 蛋白无法清除而进行性累积并最终引起 GCD II 的发病机制,这也为该领域提供了一种新的研究方向。

4 展望

尽管有文献提出了一些针对 TGFBI 的产生和清除的治疗策略,比如锂制剂(TGFβ 信号途径的抑制剂)^[40]、Tranilast^[41] 或者激活自噬途径的相关药物^[39],但均还处在实验室的研究阶段。目前临床还没有有效的治疗方法来预防、阻止和减少异常蛋白沉积物在角膜的进行性积累,而对于病程晚期患者可能还需要进行角膜移植。而且,不同类型角膜营养不良的临床诊断与鉴别还比较困难,尤其是 GCD I 和 GCD II 型^[42]。另外,虽然对角膜营养不良进行分子遗传学分析诊断可以实现疾病的早期诊断和干预,但是鉴于该种技术尚未广泛普及和民众的接受度不高,大多数患者进行诊断时就已发病。所以, TGFBI 基因突变导致角膜营养不良潜在的分子机制和其作用途径以及各种突变如何使异常 TGFBI 形成角膜沉积物的原因的各方面相关研究成了迫切需要。目前已知 TGFBI 突变可能会对 TGFBI 蛋白结构或者与其他伴侣蛋白(如 Periostin 蛋白)的相互作用功能造成某些影响。因此,从 Avellino 型角膜营养不良入手,进一步探索 TGFBI 和 Periostin 之间相互作用,以及是否存在其他外界因素(如雌激素等)影响了该种相互作用,将有助于揭露角膜营养不良潜在的发病机制。

参考文献

- Weiss JS, Müller HU, Aldave AJ, et al. IC3D classification of corneal dystrophies—dition 2. *Cornea* 2015;34(2):117-159
- Klintworth GK. Corneal dystrophies. *Orphanet J Rare Dis* 2009;4:7
- Courtney DG, Poulsen ET, Kennedy S, et al. Protein composition of TGFBI-R124C- and TGFBI-R555W-associated aggregates suggests multiple mechanisms leading to lattice and granular corneal dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(8):4653-4661
- Abazi Z, Magarasevic L, Grubisa I. Individual phenotypic variances in a family with Avellino corneal dystrophy. *BMC Ophthalmol* 2013;13:30

- Munier FL, Korvatska E, Djemai A, et al. Keratoepithelin mutations in four 5q31-linked corneal dystrophies. *Nat Genet* 1997;15(3):247-251
- Poulsen ET, Nielsen NS, Jensen MM, et al. LASIK surgery of granular corneal dystrophy type 2 patients leads to accumulation and differential proteolytic processing of transforming growth factor beta-induced protein (TGFBIp). *Proteomics* 2016;16(3):539-543
- Klintworth GK. Advances in the molecular genetics of corneal dystrophies. *Am J Ophthalmol* 1999;128(6):747-754
- Oya F, Soma T, Oie Y, et al. Outcomes of photorefractive keratectomy instead of phototherapeutic keratectomy for patients with granular corneal dystrophy type 2. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2016;254(10):1999-2004
- Zhang T, Yan N, Yu W, et al. Molecular genetics of Chinese families with TGFBI corneal dystrophies. *Mol Vis* 2011;17(4):380-387
- Okada M, Yamamoto S, Inoue Y, et al. Severe corneal dystrophy phenotype caused by homozygous R124H keratoepithelin mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39(10):1947-1953
- Long Y, Gu YS, Han W, et al. Genotype-phenotype correlations in Chinese patients with TGFBI gene-linked corneal dystrophy. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011;12(4):287-292
- 樊宁, 刘璐, 王芝, 等. 一个中国 Avellino 型角膜营养不良家系的分子遗传学分析. *中华实验眼科杂志* 2014;32(8):718-722
- Xie AR, Cai SP, Yang Y, et al. TGFBI gene mutation analysis in a Chinese pedigree of Avellino corneal dystrophy. *Int J Ophthalmol* 2011;4(3):275-279
- Gu Z, Zhao P, He G, et al. An Arg124His mutation in TGFBI associated to Avellino corneal dystrophy in a Chinese pedigree. *Mol Vis* 2011;17(12):3200-3207
- Mashima Y, Imamura Y, Konishi M, et al. Homogeneity of keratoepithelin codon 124 mutations in Japanese patients with either of two types of corneal stromal dystrophy. *Am J Hum Genet* 1997;61(6):1448-1450
- Konishi M, Yamada M, Nakamura Y, et al. Varied appearance of cornea of patients with corneal dystrophy associated with R124H mutation in the BIGH3 gene. *Cornea* 1999;18(4):424-429
- Kaji Y, Amano S, Oshika T, et al. Chronic clinical course of two patients with severe corneal dystrophy caused by homozygous R124H mutations in the βig-h3 gene. *Am J Ophthalmol* 2000;129(5):663-665
- Akimune C, Watanabe H, Maeda N, et al. Corneal guttata associated with the corneal dystrophy resulting from a βig-h3 R124H mutation. *Br J Ophthalmol* 2000;84(1):67-71
- Badano JL, Leitch CC, Ansley SJ, et al. Dissection of epistasis in oligogenic Bardet-Biedl syndrome. *Nature* 2006;439(7074):326-330
- Cao W, Ge H, Cui X, et al. Reduced penetrance in familial Avellino corneal dystrophy associated with TGFBI mutations. *Mol Vis* 2009;15(1):70-75
- Chang L, Zhiqun W, Shijing D, et al. Arg124Cys mutation of the TGFBI gene in 2 Chinese families with Thiel-Behnke corneal dystrophy. *Arch Ophthalmol* 2009;127(5):641-644
- Lakshminarayanan R, Chaurasia SS, Murugan E, et al. Biochemical properties and aggregation propensity of transforming growth factor-induced protein(TGFBIp) and the amyloid forming mutants. *Ocul Surf* 2015;13(1):9-25
- Runager K, Basaiawmoit RV, Deva T, et al. Human phenotypically distinct TGFBI corneal dystrophies are linked to the stability of the fourth FAS1 domain of TGFBIp. *J Biol Chem* 2011;286(7):4951-4958
- Korvatska E, Munier FL, Chaubert P, et al. On the role of keratoepithelin in the pathogenesis of 5q31-linked corneal dystrophies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(10):2213-2219

- 25 Albert DM, Miller JW, Azar DT, *et al.* Albert and Jakobiec's Principles and Practice of Ophthalmology. USA: Saunders 2008: 3592-3595
- 26 Schmitt-Bernard CF, Chavanieu A, Herrada G, *et al.* BIGH3 (TGFBI) Arg124 mutations influence the amyloid conversion of related peptides *in vitro*. *Eur J Biochem* 2002;269(21):5149-5156
- 27 El Kochairi I, Letovanec I, Uffer S, *et al.* Systemic investigation of keratoepithelin deposits in TGFBI/BIGH3-related corneal dystrophy. *Mol Vis* 2006;12(5):461-466
- 28 Kim TI, Kim H, Lee DJ, *et al.* Altered mitochondrial function in type 2 granular corneal dystrophy. *Am J Pathol* 2011;179(2):684-692
- 29 Kim JE, Kim EH, Han EH, *et al.* A TGF- β -Inducible Cell Adhesion Molecule, β ig-h3, Is Downregulated in Melorheostosis and Involved in Osteogenesis. *J Cell Biochem* 2000;77(2):169-178
- 30 Choi SI, Jin JY, Maeng YS, *et al.* TGF- β regulates TGFBIp expression in corneal fibroblasts via miR-21, miR-181a, and Smad signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;472(1):150-155
- 31 Maeng YS, Lee GH, Choi SI, *et al.* Histone methylation levels correlate with TGFBIp and extracellular matrix gene expression in normal and granular corneal dystrophy type 2 corneal fibroblasts. *BMC Med Genomics* 2015;8(11):74
- 32 Clout NJ, Hobenester E. A model of FAS1 domain 4 of the corneal protein beta (ig)-h3 gives a clearer view on corneal dystrophies. *Mol Vis* 2003;9(9):440-448
- 33 Kim JE, Jeong HW, Nam JO, *et al.* Identification of motifs in the fasciclin domains of the transforming growth factor-beta-induced matrix protein betaig-h3 that interact with the alphavbeta5 integrin. *J Biol Chem* 2002;277(48):46159-46165
- 34 蔡素萍. 从分子水平认识角膜营养不良的分类方法. 中华实验眼科杂志 2013;31(2):204-208
- 35 Kim BY, Olzmann JA, Choi SI, *et al.* Corneal dystrophy-associated R124H mutation disrupts TGFBI interaction with Periostin and causes mislocalization to the lysosome. *J Biol Chem* 2009;284(29):19580-19591
- 36 Cao W, Ge H, Cui X, *et al.* Reduced penetrance in familial Avellino corneal dystrophy associated with TGFBI mutations. *Mol Vis* 2009;15(1):70-75
- 37 Billings PC, Whitbeck JC, Adams CS, *et al.* The transforming growth factor-beta-inducible matrix protein (beta)ig-h3 interacts with fibronectin. *J Biol Chem* 2002;277(31):28003-28009
- 38 Lee MJ, Heo SC, Shin SH, *et al.* Oncostatin M promotes mesenchymal stem cell-stimulated tumor growth through a paracrine mechanism involving periostin and TGFBI. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45(8):1869-1877
- 39 Choi SI, Kim BY, Kim TI, *et al.* Impaired autophagy and delayed autophagic clearance of transforming growth factor beta-induced protein (TGFBI) in granular corneal dystrophy type 2. *Autophagy* 2012;8(12):1782-1797
- 40 Choi SI, Kim BY, Dadakhujaev S, *et al.* Inhibition of TGFBIp expression by lithium: implications for TGFBI-linked corneal dystrophy therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(6):3293-3300
- 41 Kim TI, Lee H, Hong HK, *et al.* Inhibitory effect of tranilast on transforming growth factor-beta-induced protein in granular corneal dystrophy type 2 corneal fibroblasts. *Cornea* 2015;34(8):950-958
- 42 Kocak - Altintas AG, Kocak - Midillioglu I, Akarsu AN, *et al.* BIGH3 gene analysis in the differential diagnosis of corneal dystrophies. *Cornea* 2001;20(1):64-68