

斑状角膜营养不良治疗的研究进展

石文卿, 林 启, 邵 毅

引用: 石文卿, 林启, 邵毅. 斑状角膜营养不良治疗的研究进展. 国际眼科杂志 2019; 19(11): 1870-1873

基金项目: 国家自然科学基金资助 (No. 81400372, 81660158); 江西省自然科学基金重大项目 (No. 20161ACB21017); 江西省自然科学基金 (No. 20151BAB215016); 江西省重点研发项目 (No. 20151BBG70223)

作者单位: (330006) 中国江西省南昌市, 南昌大学第一附属医院眼科

作者简介: 石文卿, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 角膜病、眼表疾病。

通讯作者: 邵毅, 男, 毕业于中山医科大学, 博士, 副主任医师, 副主任, 赣江学者, 研究方向: 角膜病及眼表疾病. freebee99@163.com

收稿日期: 2019-01-19 修回日期: 2019-09-26

摘要

斑状角膜营养不良 (macular corneal dystrophy, MCD) 是一种常染色体隐性遗传病, 是由角膜基质层营养不良导致的进行性视野缺损。CHST 6 基因的突变被认为是其主要致病因素。一般来说, 全厚度穿透性角膜移植术可作为提高患者视力的一种标准治疗手段。然而一些其它的外科干预措施如深板层角膜移植术 (deep anterior lamellar keratoplasty, DALK) 和准分子激光治疗性角膜切除术 (phototherapeutic keratectomy, PTK) 在治疗 MCD 中也显示了其有效性。一些新的治疗技术如基因靶向疗法和酶替代疗法, 也正在被积极地研究。本文就其发病机制、遗传基础、临床表现、治疗及预后作一简要综述。

关键词: 斑状角膜营养不良; CHST6; 穿透性角膜移植术

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2019.11.12

Advances in the treatment of macular corneal dystrophy

Wen-Qing Shi, Qi Lin, Yi Shao

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81400372, 81660158); Natural Science Key Project of Jiangxi Province (No. 20161ACB21017); Youth Science Foundation of Jiangxi Province (No. 20151BAB215016); Technology and Science Foundation of Jiangxi Province (No. 20151BBG70223)

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Yi Shao. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. freebee99@163.com

Received: 2019-01-19 Accepted: 2019-09-26

Abstract

• Macular corneal dystrophy (MCD) refers to corneal stromal dystrophy, which can cause progressive visual field defects. MCD belongs to autosomal recessive disease. Mutation of CHST 6 gene is considered to be a pathogenic factor. In general, full-thickness penetrating keratoplasty has become a standard treatment for improving vision. Now more advanced surgical interventions such as deep anterior lamellar keratoplasty (DALK) and phototherapeutic keratectomy (PTK) have also been shown to be important in the treatment of MCD. Some new technologies, such as gene targeting therapy and enzyme replacement therapy, are also being studied as potential permanent solutions for MCD. The pathogenesis, genetic basis, clinical manifestations, treatment and prognosis of this disease are reviewed in this paper.

• KEYWORDS: macular corneal dystrophy; CHST6; penetrating keratoplasty

Citation: Shi WQ, Lin Q, Shao Y. Advances in the treatment of macular corneal dystrophy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(11): 1870-1873

0 引言

斑状角膜营养不良 (macular corneal dystrophy, MCD) 是一种渐进性以双侧角膜基质混浊和变薄为特点的遗传性疾病。由德国眼科医生 Fehr^[1] 于 1904 年首次指出并详述, 故也被称为 Fehr 斑点状营养不良。MCD 发病率在近年来有上升趋势^[2]。据报道, 相比于美国, 它在印度南部更为流行^[3], 而在沙特阿拉伯^[4] 和冰岛, 由基因因素引起的 MCD 发生率则更高, 并且主要以遗传为主, 而基因突变的发生率较小^[5]。有研究者发现在 MCD 中, 角膜基质的角化细胞内有异常糖胺聚糖 (GAGs) 的积累^[6]。由于 MCD 是一种常染色体隐性遗传疾病, 故其发病时间一般较早, 在中年时期才出现严重的视力缺失。从印度南部报告的研究中发现临床症状发作年龄为 13~49 岁, 绝大多数人在青少年时期就开始发病^[7]。

1 发病机制与病理变化

MCD 作为一种遗传性疾病, 其酸性粘多糖的代谢局限于角膜成纤维细胞^[5]。PAS 染色显示角膜细胞胞浆中大小液泡的酸性粘多糖物质染色呈阳性, 这表明由于生物合成障碍, MCD 角膜基质内沉积的物质为酸性粘多糖; 病变角膜成纤维细胞培养、溶菌酶分析、生化分析和 GAGs 合成动力学研究等表明, MCD 是由于患眼的角膜硫酸角质素 (KS) 合成减少所致。而用吡啶橙和其他的异色染料进行的组织化学研究发现, MCD 病变角膜在 GAGs 中有明

显的染色作用^[8]。因此 MCD 患者角膜混浊可能不仅仅是由于 KS 不足引起的,其他黏多糖的异常沉积亦可能干扰胶原纤维的正常排列从而导致患者视力障碍。Klintworth 等发现,用正常人的角膜成纤维细胞和 MCD 外植体培养的角膜成纤维细胞与 35-S 硫酸盐标记的 GAGs 图谱进行比较,发现在 MCD 患者中的角蛋白分子是未硫酸化的^[7],而在角膜上皮、Bowman 膜、基质、角质细胞、Descemet 膜和正常角膜内皮细胞中均发现了硫酸角质素^[9]。由于异常的硫酸化,角蛋白分子不能被代谢^[10]并在细胞外基质中沉淀。有研究者认为硫酸化的 KS 合成缺陷是导致角膜混浊,最后失明的原因^[11]。同时已有证据表明由于胶原纤维较小,纤维之间间距也减小了^[12],这些因素导致 MCD 患者的角膜透明度下降。目前尚不清楚超微结构的变化是均匀地分布于基质,还是存在于基质特定的深度。

2 遗传基础

Bücklers 等在 1938 年证实 MCD (Groenouw II 型) 为隐性遗传,他研究了 12 个遗传性角膜营养不良家系,并确定颗粒性角膜营养不良 (Groenouw I 型) 是符合孟德尔遗传定律的^[13]。在一项关于冰岛人和美国家庭的研究中,研究者发现染色体上的一个位点 (16, 16q22 D16S518) 与 MCD 有关,并证实了 CHST 6 的突变可致 MCD^[7]。CHST 6 编码一种名为 N-乙酰氨基葡萄糖-6-磺基转移酶 (C-GlcNAc6ST) 的酶,这种酶负责角蛋白分子的正常硫酸化,使角膜正常发育。它有 4 个外显子,第 3 外显子包含基因的编码部分,因此其突变与 MCD 有关^[2]。MCD-I 被证明是由于错义突变而发生的,而在 MCD-II 中,有报告称 CHST 6 和 CHST 5 之间存在缺失和重排现象^[1]。有研究表明,在测序分析时发现 CHST 6 位于 CHST 5 下游约 30kb 的同一方向,这两个基因在编码区、非翻译区和上游区域是高度同源的,这表明 CHST 5 和 CHST 6 是由基因复制而产生的^[14]。基因组研究描述了 CHST 6 在不同种族中的突变类型,对印度南部 70 例 MCD 患者的研究表明,大多数患者存在纯合子错义突变,然而在一些患者中,编码区域本身没有发现突变,而是存在上游的缺失^[5]。对中国人群的研究发现,19 个家系中有 6 个家系存在纯合子突变,而其他家系则表现出等位基因的异质性,有错义突变、无义突变和移码突变等类型。Q298X 突变是在中国人口中所发现的新突变^[1]。在英国、韩国、南非和捷克共和国等不同研究人群中进行的其他分子学分析也发现了 CHST 6 基因的新突变,从而扩大了 MCD 的突变谱。

3 免疫表型

最初,人们认为硫酸角质素的这种反常代谢仅限于角膜。然而,用抗硫酸角质素单克隆抗体进行 ELISA 检测发现,MCD 患者血清中硫酸角质素含量减少^[15]。Thonar 等^[16]分析了 MCD 患者的耳软骨,并证实 MCD 患者角膜和软骨组织中硫酸角质素浓度是降低的。这表明 MCD 是硫酸角质素代谢紊乱的一种表现。根据硫酸角质素在血清和角膜中的分布情况,免疫分型研究发现,MCD-I 型、II 型两种变异体在临床上难以区分的。

4 临床表现

MCD 患者以角膜内进行性点状混浊及中央角膜变薄为特征,从而导致双侧视力丧失。患者出现严重进行性视觉障碍往往发生在 10~30 岁,其中最常见的症状是视力

下降。根据在角膜沉积的位置和密度的不同,视力的下降程度也有所不同。一项基于 130 只患眼的研究提示,患者的平均视力在 1.1~1.3 的对数视敏度范围内^[17]。周期性角膜糜烂也可引起畏光、角膜敏感度下降等症状^[18]。裂隙灯检查早期可发现在角膜基质中存在弥漫性间质混浊并伴有不规则白色沉积物的积聚,这可能是引起患者视力障碍的原因。这些区域通常位于在基质的前、后两层。角膜前基质和上皮下的沉积物可通过改变角膜表面的轮廓而导致患者较为明显的屈光不正,从而引起不规则散光。随着病程的进展,Descemet 膜过度的累及可能最终导致内皮失代偿,患者会出现严重的视力障碍,此时则需要外科干预治疗^[19]。

5 治疗及预后

MCD 若用药治疗无效,症状严重且影响正常生活,可行手术治疗。穿透性角膜移植 (penetrating keratoplasty, PKP) 历来是恢复视力最常用的手术方法,因为它相对安全并且能提供较好的视觉效果。研究报告显示,患者最初感觉视力下降的平均年龄为 28±3 岁,首次接受 PKP 治疗的平均年龄为 41±4 岁^[20]。然而,在 PKP 术后的一系列复发和内皮细胞排斥以及移植后的内皮细胞丢失等并发症的出现也不断被报道^[21],PKP 在去除全层角膜的同时也伴随着可能发生的排斥反应^[19]。Klintworth 等^[22]报道,在美国 198 例接受过角膜移植手术的患者中,有至少 5 例 (2.5%) 需要再次进行角膜移植术。另一项研究中,角膜移植术后有 15% 的患眼需要再次行穿透性角膜移植术,而角膜移植术与产生排斥反应需行二次手术之间的平均间隔为 182mo (15.2a)^[20],而从角膜移植术到 MCD 复发的时间 20mo~30a^[23-25]。Marcon 等^[26]认为 MCD 患者随着时间推移术后病变复发率逐渐增高。在手术与潜在复发之间的相当长的时间内,这些患者需要长期随访。

6 手术治疗

目前,手术治疗仍为 MCD 最主要的治疗方法。在各种手术方案的比较中,尤其是在治疗过程中使内皮不受影响的情况下,部分厚度的角膜移植,如深板层角膜移植术 (deep anterior lamellar keratoplasty, DALK),在 MCD 的治疗中得到了很好的应用^[27]。Unal 等^[28]报道了在接受过 DALK 治疗的患者中,有 75% 的患者最终视力达到了 20/60 或更高。另有报道指出,2 例 MCD 患者分别接受不同的治疗后双眼内皮细胞计数或视力无显著性差异,其中 1 例用 DALK 治疗,另 1 例用 PKP 治疗^[29]。然而,也有研究表明,与 PKP 相比,DALK 术后内皮细胞丢失的进展更快^[21]。研究发现 PKP 患者的矫正视力优于 DALK 组,但使用 DALK 的并发症较少^[30]。

迄今为止规模最大的一项 (包括 104 例患者) 比较 PKP 和 DALK 治疗效果的研究表明,两组治疗在视觉和屈光恢复方面没有显著性差异。在所有报告的病例中,飞秒激光辅助的板层角膜移植术虽均显示复发,但复发时间较 PKP 或 DALK 的延迟至少 2a^[31]。在 MCD 中,由于全层角膜均受到影响,PTK 作为一种治疗前角膜营养不良的技术而不是一种确切的治疗手段,但它对反复角膜糜烂的患者有一定的作用。因为 PTK 是微创的,可以延缓 MCD 患者的手术治疗需要。最近观察到,使用 PTK 后立即使用丝裂霉素 C 治疗可明显延缓疾病的复发。9 例患者中只有

1例复发,且在术后22mo发生^[32]。相反,一项研究观察了4例在接受PTK治疗后没有使用丝裂霉素C的MCD患者,在平均13.5mo之内均报告了所有患眼的复发情况。由此可见丝裂霉素C作为辅助治疗手段的效果十分显著。

7 基因治疗及其他新的治疗策略

由于许多角膜营养不良是由可识别的基因突变引起的,因此从理论上讲,应用基因治疗角膜营养不良是可行的。如今,微阵列技术已经发展起来,可以利用单核苷酸多态性(SNP)绘制基因组图谱从而找出与疾病有关的确切基因。在基因鉴定后,用基因组PCR方法搜索CHST5和CHST6编码区的突变,然后进行直接序列分析。下一步则是开发基因产物并将其传递给靶细胞。细胞特异性靶向基因的传递和整合是基因治疗成功的关键^[32]。在开发有效的基因干预治疗角膜营养不良方面,目前还没有类似于人类角膜营养不良的动物模型,这使得体内治疗的测试变得困难。近期在关于Meesman角膜营养不良的研究中发现,携带siRNA的病毒载体有可能阻断角膜缘上皮细胞中突变基因的表达^[33-34],TGFB1(转化生长因子β1)相关的营养不良如晶格状角膜营养不良I型表型曾使用过siRNA的治疗方法^[35]。siRNA的特异性和有效性是不可否认的,因为它们可以仅用一个核苷酸就能区分两个不同的等位基因,这对许多显性负性疾病的治疗有意义。然而,MCD基因治疗发展中最具挑战性的部分是,虽然16号染色体上的CHST6基因已被确认为引起MCD的原因,但有140个不同的基因突变。这就使得基因治疗的靶点难以开发。

酶替代疗法是另一种潜在的治疗策略。有研究表明重组酶具有治疗某些代谢紊乱的作用,包括角膜硫酸盐。近年来,有人对小鼠粘多糖病(IVA)进行了长期酶替代治疗研究。重组人N-乙酰半乳糖-6-硫酸盐酶(GALNS)能清除体内积累的硫酸角质素,缓解部分骨病症状^[36]。

8 展望

DALK和PKP等均可作为治疗MCD的治疗方法,从而有效提高患者视力及生活质量。然而,手术治疗后的复发仍然是目前需要解决的一个难题。酶替代疗法作为一项潜在的治疗方式,需更多实验研究来论证。基因靶向疗法可能是一种永久性的解决方案,但仍有待深入探究,进一步的研究方向应该是阐明CHST6的突变,沉积物形成机制,以及基于基因治疗的靶点及药物开发之间的关系。

参考文献

- 1 Fehr O. Ein Fall von gittriger Hornhauttrübung. *Centralbl Augenheilkd* 1904;28:173-176
- 2 龚敏. 近亲婚配的斑状角膜营养不良家系中新的CHST6突变及组织病理学研究. 华中科技大学 2016
- 3 Undaresan P, Durga M, Namperumalsamy VP. Genetic Analysis of CHST6 Gene in Indian Families with Macular Corneal Dystrophy. *Symbiosis* 2017;4(1):1-10
- 4 Alzuhaury S, Alkatan HM, Alrajhi AA. Prevalence and histopathological characteristics of corneal stromal dystrophies in Saudi Arabia. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2015;22(2):179
- 5 龚敏, 张明昌, 赵心悦, 等. 斑状角膜营养不良近亲结婚的家系中新的CHST6突变研究. *眼科新进展* 2015;35(12):1141-1144
- 6 Park SH, Ahn YJ, Chae H, et al. Molecular analysis of the CHST6

- gene in Korean patients with macular corneal dystrophy: Identification of three novel mutations. *Mol Vis* 2015;21:1201-1209
- 7 Wang L, Tang X, Lv X, et al. CHST6 mutation screening and endoplasmic reticulum stress in macular corneal dystrophy. *Oncotarget* 2017;8(56):96301-96312
- 8 Kuchle M, Cursiefen C, Fischer DC, et al. Recurrent macular corneal dystrophy type II 49 years after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1999;117(4):528-531
- 9 李璇. 斑状角膜营养不良CHST6基因突变及组织病理学研究. 大连医科大学 2011
- 10 Bardhan M, Majumdar A, Jana S, et al. Mesoporous silica for drug delivery: Interactions with model fluorescent lipid vesicles and live cells. *J Photochem Photobiol B* 2018;178:19-26
- 11 Littlechild SL, Young RD, Catterson B, et al. Keratan Sulfate Phenotype in the β-1, 3-N-Acetylglucosaminyl transferase-7-Null Mouse Cornea. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 2018;59(3):1641-1651
- 12 刘蓓, 张磊, 刘玉震, 等. 康柏西普对兔眼准分子激光角膜切削术后角膜上皮皮下雾状混浊的影响. *中华实验眼科杂志* 2019;37(2):94-100
- 13 Belhassan S, Daoudi R. Corneal dystrophy: Granular dystrophy or Groenouw dystrophy Type 1. *Pan African Medical J* 2014;17:74
- 14 Mizumoto S, Yamada S, Sugahara K. Human genetic disorders and knockout mice deficient in glycosaminoglycan. *Biomed Res Int* 2014;2014:495764
- 15 Murab S, Chameettachal S, Ghosh S. Establishment of an *in vitro* monolayer model of macular corneal dystrophy. *LabInvest* 2016;96(12):1311-1326
- 16 Thonar EJ, Meyer RF, Dennis RF, et al. Absence of normal keratan sulfate in the blood of patients with macular corneal dystrophy. *Am J Ophthalmol* 1986;102(5):561-569
- 17 Reddy JC, Murthy SI, Vaddavalli PK, et al. Clinical outcomes and risk factors for graft failure after deep anterior lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty for macular corneal dystrophy. *Cornea* 2015;34(2):171-176
- 18 孙亚茹, 赵海霞. 神经麻痹性角膜炎的治疗进展. *中国医药导报* 2018;15(15):22-25
- 19 Huang T, Ouyang C, Zhan J, et al. Descemet's membrane endothelial keratoplasty for treatment of patients with corneal endothelial decompensation. *Zhonghua YanKe ZaZhi* 2017;54(2):534-539
- 20 任丽宏, 李中国, 王林农. 飞秒激光辅助的角膜内皮移植术围手术期护理. *山西医药杂志* 2015;44(6):715-716
- 21 向德猛, 王月新, 贾艳妮, 等. 他克莫司滴眼液对真菌性角膜炎PKP术后早期免疫排斥预防作用的观察. *中华眼科杂志* 2017;53(4):305-310
- 22 Klintworth GK, Reed J, Stainer GA, et al. Recurrence of macular corneal dystrophy within grafts. *Am J Ophthalmol* 1983;95(1):60-72
- 23 Gordon KK, John REED, Gregory ASMD, et al. Recurrence of Macular Corneal Dystrophy Within Grafts. *Am J Ophthalmol* 1983;95(1):60-72
- 24 刘玉莲, 李璇, 卢建民, 等. 斑状角膜营养不良的临床特征及组织病理学改变. *眼科新进展* 2013;33(11):1043-1045
- 25 Reddy JC. Deep anterior lamellar keratoplasty for the treatment of stromal corneal dystrophies. *Cornea* 2013;32(3):301-305
- 26 Marcon AS, Cohen EJ, Rapuano CJ, et al. Recurrence of corneal stromal dystrophies after penetrating keratoplasty. *Cornea* 2003;22(1):19-21
- 27 Sari ES, Kubaloglu A, Unal M, et al. Deep Anterior Lamellar Keratoplasty versus Penetrating Keratoplasty for Macular Corneal Dystrophy: A Randomized Trial. *Am J Ophthalmol* 2013;156(2):267

- 28 Unal M, Arslan OS, Atalay E, *et al.* Deep anterior lamellar keratoplasty for the treatment of stromal corneal dystrophies. *Cornea* 2013;32(3):301-305
- 29 Elbaz U, Kirwan C, Shen C, *et al.* Avoiding big bubble complications: outcomes of layer - by - layer deep anterior lamellar keratoplasty in children. *Br J Ophthalmol* 2018;102(8):1103-1108
- 30 Cheng J, Qi X, Zhao J, *et al.* Comparison of penetrating keratoplasty and deep lamellar keratoplasty for macular corneal dystrophy and risk factors of recurrence. *Ophthalmology* 2013;120(1):34-39
- 31 陆燕, 余婷, 段娴艺, 等. 飞秒激光辅助的大气泡法深板层角膜移植治疗圆锥角膜早期观察. *中华实验眼科杂志* 2016;34(1):64-65
- 32 Yuksel E, Cubuk MO, Eroglu HY, *et al.* Excimer laser phototherapeutic keratectomy in conjunction with mitomycin C in corneal

- macular and granular dystrophies. *Arq Bras Oftalmol* 2016;79(2):69-72
- 33 Williams KA, Irani YD. Gene Therapy and Gene Editing for the Corneal Dystrophies. *Asia Pac J Ophthalmol* 2016;5(4):312-316
- 34 Courtney DG, Atkinson SD, Allen EH, *et al.* siRNA silencing of the mutant keratin 12 allele in corneal limbal epithelial cells grown from patients with Meesmann's epithelial corneal dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(5):3352-3360
- 35 Courtney DG, Atkinson SD, Moore JE, *et al.* Development of allele-specific gene-silencing siRNAs for TGFBI Arg124Cys in lattice corneal dystrophy type I. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(2):977-985
- 36 Tomatsu S, Montañó AM, Oikawa H, *et al.* Enzyme replacement therapy in newborn mucopolysaccharidosis Iva mice; early treatment rescues bone lesions? *Mol Genet Metab* 2015;114(2):195-202

国际眼科杂志中文版 (IES) 近 5 年影响因子趋势图

