

基因在圆锥角膜发病机制中的影响

刘才毓^{1,2}, 杨芳文²

引用:刘才毓,杨芳文. 基因在圆锥角膜发病机制中的影响. 国际眼科杂志, 2024,24(10):1588-1594.

作者单位:¹(550000)中国贵州省贵阳市,贵州医科大学;
²(556000)中国贵州省凯里市,贵州医科大学第二附属医院眼科
作者简介:刘才毓,女,在读硕士研究生,研究方向:眼视光和眼表疾病。

通讯作者:杨芳文,男,副主任医师,硕士研究生导师,研究方向:眼屈光和眼底病. 17339637@qq.com

收稿日期:2023-12-18 修回日期:2024-08-26

摘要

圆锥角膜(KC)是一种以局限性角膜圆锥样突起,伴有突起区角膜基质变薄为特征的疾病,常见于青春期前后,表现为双侧发病,是一种潜在的致盲性眼病。研究表明其发病与环境因素、炎症反应、免疫功能、力学刺激等相关,但目前对圆锥角膜的发生及进展机制尚无确切定论。以角膜重塑相关基因为代表的多种基因已被发现对圆锥角膜的发生发展具有一定影响,更多的研究仍在挖掘与圆锥角膜发病有关的基因靶点。文章就目前的研究进展综述与圆锥角膜发病机制相关的基因靶点及其影响,探索基因在圆锥角膜早期诊断及干预的应用价值,为今后圆锥角膜发病机制的研究提供新思路。

关键词:圆锥角膜(KC);基因;基因突变;氨基酸;种族差异

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2024.10.12

Role of genes in the pathogenesis of keratoconus

Liu Caiyu^{1,2}, Yang Fangwen²

¹Guizhou Medical University, Guiyang 550000, Guizhou Province, China; ²Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Kaili 556000, Guizhou Province, China

Correspondence to:Yang Fangwen. Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Kaili 556000, Guizhou Province, China. 17339637@qq.com

Received:2023-12-18 Accepted:2024-08-26

Abstract

• Keratoconus (KC) is a disease characterized by limited corneal cone-like protrusions accompanied by thinning of the corneal stroma in the area of protrusion, which commonly occurs before and after puberty, manifests itself bilaterally, and is a potentially blinding ophthalmic disease. It is a potentially blinding eye disease. Studies have shown that its pathogenesis is related to environmental factors, inflammatory response, immune function, and mechanical stimulation, but the mechanism of the occurrence and progression of KC has not yet been conclusively determined. A variety of genes, represented by corneal remodeling-related genes, have been found to have some influence on the development of cone cornea. More studies are still digging into the genetic targets associated with the development of cone cornea. This article reviews the targets and influence of genes in the pathogenesis of cone cornea, to explore the application value of genes in the early diagnosis and intervention of cone cornea, and to provide new ideas for future research on the pathogenesis of cone cornea.

• KEYWORDS: keratoconus (KC); gene; gene mutation; amino acid; racial difference

Citation: Liu CY, Yang FW. Role of genes in the pathogenesis of keratoconus. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2024, 24(10): 1588-1594.

0 引言

圆锥角膜(keratoconus, KC)是一种双侧不对称的退行性疾病,是最常见的角膜原发性扩张,角膜的逐渐变薄和变性,会导致不规则散光和视力下降。通常发生在青春期前后,影响所有性别和种族,根据国家和地区的不同,已确定圆锥角膜的患病率为1:375至1:2 000,由于特定的遗传条件和可能的环境条件,一些国家的患病率甚至更高。然而眼部症状和体征因疾病严重程度而异,因此早期圆锥角膜通常不会被注意到^[1-3],在疾病晚期,角膜轴向瘢痕还会进一步影响视力,降低患者的生活质量。关于圆锥角膜管理方法,包括早期配戴框架眼镜、隐形眼镜和交联治疗,晚期进行角膜移植等,均可以改善患者生活质量,但其生活质量评分与临床指标相关,包括视力、角膜地形图、厚度测定和圆锥角膜严重程度等^[4]。因此,明确圆锥角膜发病机制,采取针对性的治疗措施,对防止疾病进展、改善患者生活质量至关重要。但目前,确切的发病机制尚不清楚,可能与环境因素、种族差异、力学刺激(揉眼)、激素水平、营养代谢等相关^[5-9]。不少研究已经通过全基因组关

联研究、家族的连锁分析和连锁区域精细定位、双胞胎研究等明确了在某些遗传位点上基因的改变会导致圆锥角膜的发生风险增加,即使在没有该疾病家族史的人群中也是如此^[10-11]。许多基因,包括视觉系统同源盒 1 (visual system homeobox 1, VSX1) 基因、超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, SOD1) 基因和赖氨酰氧化酶 (lysyl oxidase, LOX) 以及基因突变都与圆锥角膜相关^[12]。这为理解圆锥角膜复杂遗传学及其临床意义,提出了未来遗传研究的方向,随着圆锥角膜新功能候选基因的快速发现,圆锥角膜发病机制的分子遗传机制研究将帮助我们更好的认识及理解圆锥角膜,并促进新疗法的发展^[13]。本综述旨在阐述不同基因对圆锥角膜发病机制的影响,在遗传领域,为寻找圆锥角膜预防和干预治疗的新方法开辟更多可能性。

1 角膜重塑相关基因

1.1 LOX 基因

位于 5q23.1 的 LOX 基因编码一种依赖铜的氧化脱氨酶(赖氨酸氧化酶),它通过氧化赖氨酸残基和促进胶原和弹性蛋白形成共价交联来维持细胞外基质 (ECM), ECM 是一种动态结构和调节框架,对于发育、维持和修复过程中的细胞分化和信息传递至关重要。LOX 使 ECM 在细胞外环境中不易溶解,在圆锥角膜患者的角膜中检测到 LOX 活性降低(约 38%)、分布降低(约 63%) 或异常低表达,表明其降低幅度与疾病严重程度相关,提示该基因在疾病发病机制中起重要作用^[14-18]。Gadelha 等^[19]在一个杂合患者的 LOX 外显子 6 中发现了一个未报道的错义变异,导致 LOX 蛋白序列残基 392 处脯氨酸被苏氨酸取代(p. Thr392Pro),预计会调节或在 LOX 转录本中产生供体或受体剪接位点,这种突变对 LOX 蛋白有潜在的破坏作用,而位于 LOX 蛋白序列残基 392 处的苏氨酸在原始人中非常保守,但在系统发育较远的物种中则相反。Bykhovskaya 等^[20]在全基因组关联研究 (GWAS) 中发现了病例组中 LOX 内含子 4 的 SNPs rs10519694 和 rs2956540 处的关联证据,该发现被 Niazi 等^[21]验证, rs2956540C 等位基因携带者在圆锥角膜病例中的发生率明显高于对照组。通过基于家族的关联测试发现相同的 2 个单核苷酸多态性 (SNP) 与圆锥角膜相关,同时通过分析病例和家庭样本,对圆锥角膜患者亚群中 LOX 外显子的测序鉴定出两个多态性,即 rs1800449 和 rs2288393,分别位于 LOX 转录本 I 和 II 中,而位于 LOX 基因外显子 I 的第一个变体上的 G-to-A 转换,导致 LOX 转录本 I 蛋白中的精氨酸 (Arg) 被替换为谷氨酰胺 (Gln),这种改变表明 LOX 变异导致圆锥角膜的易感性增加^[20-21]。通过使用等位基因特异性 PCR 对 LOX 变异进行基因分型发现, +473A/rs2288393C 和 +473G/rs2288393 单倍型被确定为圆锥角膜的危险因素, LOXrs1800449 基因型 (AA 和 GA+AA) 和等位基因 (A) 增加了圆锥角膜易感风险^[22]。以上基因序列改变均可以用于圆锥角膜风险预测。

1.2 肝细胞生长因子基因

肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 由基质细胞和间充质细胞分泌,其受体

c-Met 在平滑肌细胞、成纤维细胞和内皮细胞等多种细胞上表达, HGF 以旁分泌和自分泌方式刺激上皮和内皮细胞增殖、运动,保护细胞免受细胞凋亡。HGF 被认为是一种有效的抗炎和抗纤维化生长因子,相对于其他血管生长因子, HGF 对缺血组织具有多种作用^[23-24]。多种组织特异性 MET 敲除小鼠的研究表明, HGF-MET 通路促进组织再生,防止细胞死亡,并抑制不同组织和细胞类型的慢性炎症和纤维化的进展^[25]。Cheung 等^[26]分别从圆锥和非圆锥角膜中央角膜的基质细胞中提取总蛋白,采用基于化学发光的免疫阵列定量检测 HGF 水平,发现在诱导继发性损伤 (SI) 的圆锥角膜基质细胞中(与 -SI 正常角膜相比), HGF 和 β -NGF 水平降低。You 等^[27]通过对比晚期圆锥角膜和对照组角膜中 HGF 及其受体间充质-上皮转化因子 (c-Met/Met) 的研究表明, HGF 的基因变异与发生圆锥角膜的易感性增加有关,是参与圆锥角膜发生的潜在关键基因^[28]。Dudakova 等^[29]使用竞争性等位基因特异性 PCR 测定,应用 fisher 精确检验评估关联的强度,在两个测试基因座上都发现了关联的证据,即在 HGF 附近 rs3735520:G>A 最强, A 等位基因为危险因素; rs2956540:G>C, 在 LOX 中, C 等位基因具有保护作用; rs2956540:G>C 和 rs3735520:G>A 的首次独立关联验证表明, HGF 位点的遗传变异与圆锥角膜易感性增加有关^[30], 这些 SNP 可作为欧洲血统个体中圆锥角膜的遗传风险标志物。而 Lucas 等^[31]的研究则认为 HGF 基因中罕见的潜在致病变异在圆锥角膜易感性和发病机制中不起主要作用,但因病例数较少而有待进一步确定。Sahebjada 等^[32]对澳大利亚人群 HGF 基因与圆锥角膜关联的研究为 HGF 基因与圆锥角膜的显著关联提供了额外的证据。而对汉族人群圆锥角膜遗传位点的评估研究则发现 rs3735520 [HGF 附近 (5')] 基因型与圆锥角膜的关联同对照组未见明显差异^[33]。可见 HGF 基因与圆锥角膜之间的关联强度具有显著种族差异性。

1.3 SOD1 基因

SOD1 基因位于 21q22.11, 其以活性氧 (ROS) 清除活性而闻名, SOD1 编码一种铜和锌依赖的细胞质酶, 该酶通过氧化还原反应将自由基超氧化物转化为分子氧和过氧化氢, 以维持氧化还原平衡, 此外, SOD1 被证明是酵母的代谢焦点, 用于整合营养有效性, 调节呼吸和发酵之间的转换, 介导代谢机制, 近几年的研究还揭示了翻译后修饰 (PTMs) 调控 SOD1 的新机制, 其激活核基因转录或作为 RNA 结合蛋白等多种功能也逐渐被发现, 可以直接参与圆锥角膜患者角膜细胞中 ROS 消除和氧化应激减少相关的抗氧化过程, 在 SOD1 上发现了磷酸化位点, 以及氧化还原、棕榈酰化、硝酸化位点, 其中一些位点与调节 SOD1 在清除 ROS、维持细胞骨架和转录中的作用有关^[14, 34-35]。不少研究认为 SOD1 参与圆锥角膜发病的某一步骤, 将其作为候选基因^[36-38], Udari, Moschos 等^[39-40]的研究更是有力地支持了 SOD1 基因内含子 2 中 7 碱基缺失 (c.169+50delTAAACAG) 对圆锥角膜发病的独特性, 表明 SOD1 可能在圆锥角膜的发病机制中起致病作用。

在巴西晚期圆锥角膜患者的 SOD1 基因变异是否存在的研究中,检测到 1 例严重圆锥角膜的患者 SOD1 缺失,但由于数据限制,这种变异在调节受影响个体角膜转录水平方面的作用需要进一步研究^[19]。然而不少研究持相反意见^[31,41-43],因为在对不同地区、种族的圆锥角膜患者进行 DNA 测序时,并未发现与圆锥角膜相关的 SOD1 致病性基因突变。因此,到目前为止,关于 SOD1 对圆锥角膜发病的贡献仍众说纷纭,其机制需进一步研究探索。

1.4 VSX1 基因 VSX1 基因是一个编码配对型同源结构域和 CVC 结构域的同源框基因,最初从成年金鱼视网膜文库中克隆而来,在人体颅面和眼部组织的早期发育中起着重要作用^[44]。在许多验证 VSX1 是否为圆锥角膜发病候选基因的研究中,通过直接测序分析 VSX1 基因的整个编码区和外显子-内含子连接,未能找到支持证据^[42,45]。在 VSX1 的基因测序中发现 2 个 SNP: g.8326G>A (c.627+23G>A, rs58752432) 和 g.7898g>A (c.503+202G>A, rs59089167),以及 VSX1 中的一些遗传变异 (p.L17P、p.D144E、p.R166W 等)已被确定对圆锥角膜患者有害,此外,VSX1 与其预测的伴侣蛋白之间的相互作用被破坏可能导致 VSX1 致病性突变,但其突变在疾病中的表现需进一步研究^[41]。Zhang 等^[46]对中国西北地区圆锥角膜家族的研究鉴定出 VSX1 基因编码蛋白质中的 3 种错义变异 (p.G342E、p.G160V 和 p.L17V),通过结构建模表明,这 3 种错义突变位于 VSX1 基因的功能域,成为圆锥角膜患者的潜在致病变异,其中 p.G342E 中的同义变异 (p.R27R) 和内含子 (c.425-73C>T) 发生了杂合变化,表明 VSX1 的 p.G342E 变异与圆锥角膜的发病机制有关,这扩大了 VSX1 突变谱的范围。Guan 等^[47]在中国散发性圆锥角膜病例中,观察到 VSX1 基因有 4 个核苷酸序列变异,包括 2 个错义序列变异和 1 个 SNP 改变 (杂合子和纯合子),其中 VSX1 基因的第 1 个外显子中 c.5427G>C 错义序列变异 (CGC→CCC),导致密码子 131 处精氨酸被替换为脯氨酸 (p.Arg131Pro);VSX1 基因的第 2 个外显子中 c.7672G>T 错义序列变异 (GGC→GTC),导致密码子 160 处甘氨酸取代缬氨酸 (p.Gly160Val)。Deva 等^[48]在对马来西亚圆锥角膜患者的基因测序中发现 3 个基因变异 (p.A182A、p.P237P 和 p.R217H),其中前两者有助于圆锥角膜发展,而 p.R217H 似乎对圆锥角膜的发展提供了一些保护,然而由于研究样本量小,且没有对种族和性别进行单独的分析,该研究结果有待进一步研究验证。在对巴西圆锥角膜患者 VSX1 变异分析中发现 VSX1 外显子 1 中 3 个非同义替换 (L68H、R131S 和 D105E),其中 L68H 突变是该基因的新变异,当 L68H 与其他多态性基因位点结合时可能会增加疾病的严重程度^[49],此外,在对波兰、伊朗、中国汉族圆锥角膜患者的研究中均发现 VSX1 基因变异与圆锥角膜的风险相关^[50-52],Saeed-Rad 等^[38]发现 VSX1 基因 p.R166W 和 p.H244R 的改变与不同种族圆锥角膜患者之间存在显著关联,而有研究证明了与圆锥角膜相关的 VSX1 突变会改变高度保守的氨基酸残基,从而在

体外改变 VSX1 的转录活性^[53]。以上均可支持 VSX1 是负责圆锥角膜的合理候选基因,表明 VSX1 序列变异可能与散发性圆锥角膜的发病机制有关,基因筛查联合临床表型分析有助于圆锥角膜患者的遗传咨询和亚临床圆锥角膜个体的识别。

2 与转录翻译相关的基因

2.1 锌指蛋白 469 基因 锌指蛋白 469 (zinc finger protein 469, ZNF469) 基因作为一种转录因子,与中央角膜厚度 (CCT) 相关,是参与调节 ECM 成分合成和降解的关键基因,其罕见的错义突变 (预测为致病性) 以杂合子方式发生,是胶原相关蛋白中最常见的基因变异,会导致患者的圆锥角膜和整体角膜变薄,总之,ZNF469 是确定 CCT 与导致脆性角膜综合征 (BCS) 隐性功能丧失突变的强相关因素^[54-56]。Stanton 等^[57]的研究表明 ZNF469 中的致病突变分布在整个蛋白质中,并导致 C2H2 锌指结构域中保守残基过早终止密码子或破坏,而角膜中 I 型和 V 型胶原蛋白的相对丰度是维持 ECM 成分的关键,纯合 ZNF469 突变是由于角质细胞编码 I 型胶原蛋白 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 链的 Col1a1 和 Col1a2 基因表达降低约 50%,导致的基质厚度减少,从而引起中央和外周角膜变薄。在约 12.5% 的圆锥角膜患者中,预测出 ZNF469 中罕见的潜在致病性等位基因的富集使得该基因的突变率增加,并强调 ZNF469 可能是迄今为止发现的导致圆锥角膜最重要的遗传因素^[58],不少研究也表明了 ZNF469 基因变异与圆锥角膜的发病机制有关^[59-60],并利用 PCR 技术揭示了 ZNF469 是单个外显子而非双外显子基因^[61]。在中国圆锥角膜患者中,ZNF469 编码区共鉴定出 16 个序列变异,其中 c.2059G>A、c.2137C>A、c.3466G>A、c.3749C>T、c.4300G>A、c.4684G>A 和 c.7262G>A 被确定为具有潜在破坏性;而 c.3466G>A 突变也被证明参与胞质分裂 9 (DOCK9) 的突变 (c.1940C>T)^[62]。对新西兰、比利时、法国和意大利的圆锥角膜患者进行基因测序检测到 ZNF469 基因遗传变异的富集^[63-64]。在捷克队列中复制 SNP 与圆锥角膜的关联,发现 rs1324183 的相关性最强,rs2721051 和 rs4954218 也获得了统计学意义值,支持这些位点与疾病发展风险的关联^[65]。然而在波兰和欧洲血统的澳大利亚圆锥角膜患者中,研究者们没有发现 ZNF469 序列变异的显著富集^[66-67]。因此,尽管在特定人群中 ZNF469 基因变异与圆锥角膜发病相关性显著,仍有必要进行复制研究从而了解该基因在圆锥角膜中的作用。

2.2 TGFBI 基因 编码角膜上皮素 (KE) 的转化生长因子- β (TGF- β) 诱导基因 (transforming growth factor- β -induced, TGFBI) 的点突变已在患有角膜疾病的群体中得到证实^[68],TGF- β 是包括眼前节在内的多种组织中调节 ECM 分泌和产生的关键调节因子,在胚胎发育、器官发生、免疫监督、组织修复和细胞稳态等方面也发挥着重要作用,在病理条件下,许多不同的细胞类型 (包括巨噬细胞、上皮细胞、淋巴细胞、成纤维细胞和内皮细胞等),可以产生和分泌更多的 TGF- β ,过表达的 TGF- β 会通过

SMAD(由 TGF- β 所存在的细胞内激酶结构域的 T β RII 募集和磷酸化 T β RI,形成 T β R II 和 T β R I 异聚体复合物,被激活后与 Co-SMAD/SMAD4 结合,形成三聚体复合物,共同聚集在细胞核中,以调节从胚胎发育到成年生物体的靶基因表达)途径和非 SMAD(TGF- β 通过磷酸化、乙酰化、泛素化和蛋白-蛋白相互作用激活的所有通路和下游级联反应)途径介导,导致上皮-间充质转化(EMT)、ECM 沉积以及癌症相关成纤维细胞(CAF)形成等,从而导致纤维化疾病^[69]。区别于不能准确反映体内角膜细胞特性的角膜细胞系或泪液样本,研究者利用现代生物信息学分析增强的 RNA-Seq 方法测试了圆锥角膜与非圆锥角膜个体角膜的 RNA 样本,对圆锥角膜的角膜进行全面的转录组分析,发现胶原蛋白合成和成熟途径的广泛破坏,以及影响角膜组织的 TGF- β 信号通路核心元件的下调在圆锥角膜发生发展中起着重要作用^[70]。Guan 等^[71]对圆锥角膜患者血液样本进行聚合酶链反应-单链构象多态性及 DNA 直接测序,检测到 TGFBI 基因编码区的外显子 12 中发现了两种类型的碱基突变,分别是位点 535 显示 GGA \rightarrow TGA 取代,即从甘氨酸到终止密码子(G535X)的变化;位点 540 显示 TTT \rightarrow TTC 取代,而苯丙氨酸(F540F)的编码没有改变,提示多态性,表明该基因可能在中国人群圆锥角膜的发生发展中发挥作用,然而环境与遗传易感性的相互作用如何促进疾病进展仍有待研究。此外,有研究者在 1 例同时患有圆锥角膜和颗粒性角膜营养不良(GCD)的 23 岁男性患者中发现了 TGFBI 基因中的错义突变(c.370G>A)^[72],在中国汉族人群中发现 TGFBI 基因突变(c.624+7->A)^[73]。在对科尼亚地区 I 型 GCD 家族中 TGFBI 基因突变的研究中,通过对 TGFBI 基因外显子 12 区的序列分析,发现所有诊断为 GCD1 的患者均为 Arg555Trp (c.1663C>T) 突变^[74]。Karolak 等^[75]使用 RT-qPCR 测定基因表达水平发现圆锥角膜患者角膜中 TGFBI 上调最多,这与前人 RNA 测序(RNA-Seq)结果具有很强的相关性,表明其变异与圆锥角膜发生有关。

2.3 锌指 E 盒结合同源框 1 基因 锌指 E 盒结合同源框 1(zinc-finger E homeobox-binding1, ZEB1) 基因是 EMT、细胞分化和转化调控的重要转录因子,在角膜上皮基底细胞、血管内皮细胞和浸润免疫细胞中高度表达,通过 SP1 和 SP3 在间充质转化诱导的角膜内皮纤维化中起核心作用,参与维持内皮细胞密度,从而保持角膜透明度,ZEB1 功能障碍可能会影响角膜干细胞稳态,并引起角膜细胞凋亡、基质纤维化、血管生成、鳞状化生等,表明 ZEB1 可以靶向抑制眼前节纤维化^[76-77]。Lechner 等^[78]在一个患有圆锥角膜和 Fuchs 内皮角膜营养不良的家族中发现了 ZEB1 外显子 7(c.1920G>T;p.Gln640His) 的新型杂合致病突变,核苷酸变化导致保守的极性氨基酸谷氨酰胺被带正电荷的碱性氨基酸组氨酸取代,尤其是在 PPCD3 的患者中常见其突变,而对患有圆锥角膜、上皮基底膜角膜营养不良(EBMCD)和 Fuchs 内皮角膜营养不良(FECD)的三重角膜营养不良关联患者的 ZEB1 突变进行基因检测发

现其外显子 7(c.1920G>T;p.Gln640His) 的杂合突变呈阳性^[79],这也进一步支持 ZEB1 突变在角膜病变中的作用。最近的基因测序中发现 ZEB1 基因(TCF8)发生了杂合 c.1A>C(p.Met1Leu) 突变,该基因介导细胞系之间的过渡,并为角膜内皮的上皮化提供了致病性解释^[80]。关于 ZEB1 在圆锥角膜及角膜疾病中的作用机制随着更多突变位点的发现将会有助于后续研究。

3 其他相关基因

除上述详细介绍的基因以外,还有不少基因已被证明为圆锥角膜候选基因。线粒体 DNA(MTDNA)中 m.16180_16181delAA 的异质水平被揭示与圆锥角膜相关^[81];Bortoletto 等^[82]的研究表明,与对照组相比,圆锥角膜的 RNA 编辑频率降低,编辑碱基减少,沿人类基因组的编辑位点在组间的分布显示出相当大的差异,特别是在编码角蛋白 II 型簇的 12 号染色体区域中;在先天性白内障和角膜异常的患者中发现位于 15q25.1 染色体区域的 MIR184 种子区域的 c.57C>T 突变^[83]。此外有研究报道 DOCK9^[36]、CAST^[84]、COL4A3、COL4A4^[85]、RAD51^[86]、IL1A、IL1B^[52,87]、EPCAM、SHROOM3、SYNE1 以及 TEK^[88] 等基因可能与圆锥角膜的发生具有相关性,但其相应的致病位点及机制仍有待进一步研究。

4 总结与展望

迄今为止,基因治疗已被证明是一种治疗广泛遗传性视网膜变性的新型疗法^[89],该疗法在视网膜疾病的成功研发,启发了人们对基因疗法在其他眼部疾病的思考,包括圆锥角膜。然而,由于圆锥角膜发病机制复杂,受多因素影响,仅在遗传领域就受多种基因序列影响,本文将与圆锥角膜相关的致病基因及其突变位点进行总结(表 1),这些基因突变位点的鉴定可能是预测疾病严重程度和进展的重要生物标志物。虽然现有研究已发现大量与圆锥角膜相关的基因位点,但因样本数量限制、种族差异等因素而难以证明基因对圆锥角膜发病的遗传异质性^[13],导致早期圆锥角膜的检测与诊断仍然面临着挑战,开发有效的圆锥角膜基因疗法无疑比单基因疾病更为复杂,因此进行基于人群的重复研究是有必要的。本文综述了与圆锥角膜相关的常见基因对其发病机制的作用,详细介绍了相应基因的突变位点,期望可以提高圆锥角膜防治的科学手段,及早预防圆锥角膜发展,促进针对圆锥角膜潜在基因治疗的发展,提高圆锥角膜患者预后。然而,目前所发现的候选基因谱并不全面,加之现有研究已证实的候选基因对圆锥角膜发病的影响尚存争议(例 SOD1、VSX1、HGF),以及基因与其伴侣蛋白之间相互作用的致病性仍需进一步研究探索,因此,期望随着研究深入,挖掘与圆锥角膜发病机制和进展有关的其他重要遗传基因,以识别相关基因进行特异的候选搜索,实现检测相关基因表达情况以早期预判圆锥角膜的发生与进展,了解基因对圆锥角膜的作用机制,也为开发潜在的生物标志物和治疗干预靶点提供新思路。

表1 圆锥角膜相关致病基因及其突变位点总结

基因	突变位点	结果	
LOX	外显子6 内含子4 LOX转录本I和II	错义突变, p.Thr392Pro, 破坏LOX蛋白 SNPs rs10519694和rs2956540处的关联 精氨酸(Arg)被替换为谷氨酰胺(Gln)	
HGF	SNP	rs3735520:G>A rs2956540:G>C 圆锥角膜易感性增加	
SOD1	内含子2中7碱基 SOD1缺失	碱基缺失, c.169+50delTAAACAG, SOD1基因变异 影响个体角膜转录	
VSX1	SNP	g.8326G>A(c.627+23G>A, rs58752432) g.7898g>A(c.503+202G>A, rs59089167)	对圆锥角膜患者有害
	突变	p.L17P p.D144E p.R166W p.G342E p.G160V p.L17V p.A182A p.P237P p.R217H p.H244R	对圆锥角膜患者有害 位于VSX1基因的功能域, 潜在致病 助于圆锥角膜发展 避免发展圆锥角膜 改变高度保守的氨基酸残基
	外显子1	c.5427G>C L68H、R131S、D105E	错义突变, CGC→CCC, 导致p.Arg131Pro 增加圆锥角膜的严重程度
	外显子2	c.7672G>T	错义突变, GGC→GTC, 导致p.Gly160Val
ZNF469	突变	Coll1a1和Coll1a2 c.2059G>A c.2137C>A c.3466G>A c.3749C>T c.4300G>A c.4684G>A c.7262G>A	基因表达降低 具有潜在破坏性
	SNP	rs1324183 rs2721051 rs4954218	与疾病发展有关联
TGFBI	外显子12	位点535 位点540	GGA→TGA, 甘氨酸到终止密码子(G535X) TTT→TTC, 苯丙氨酸(F540F)编码未改变, 提示多态性
	突变	c.370G>A c.624+7-→A c.1663C>T	与圆锥角膜发生有关
ZEB1	外显子7	c.1920G>T	p.Gln640His, 谷氨酰胺被组氨酸取代
	突变	c.1A>C	p.Met1Leu, 介导细胞系过渡

参考文献

[1] Romero - Jiménez M, Santodomingo - Rubido J, Wolffsohn JS. Keratoconus; a review. Contact Lens Anterior Eye, 2010, 33(4): 157-166.
 [2] Santodomingo - Rubido J, Carracedo G, Suzuki A, et al. Keratoconus; An updated review. Cont Lens Anterior Eye, 2022, 45(3):101559.
 [3] Bykhovskaya Y, Rabinowitz YS. Update on the genetics of keratoconus. Exp Eye Res, 2021, 202:108398.
 [4] Kandel H, Pesudovs K, Watson SL. Measurement of quality of life in keratoconus. Cornea, 2020, 39(3):386-393.
 [5] Crawford AZ, Zhang J, Gokul A, et al. The Enigma of

Environmental Factors in Keratoconus. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2020, 9(6):549-556.
 [6] McMonnies CW. Abnormal rubbing and keratectasia. Eye Contact Lens, 2007, 33(6 Pt 1):265-271.
 [7] Deitel CM, Chen KH, Uber IC. Possible association of keratoconus progression with gender-affirming hormone therapy: a case report. Am J Ophthalmol Case Rep, 2023, 30:101850.
 [8] Lasagni Vitar RM, Bonelli F, Rama P, et al. Nutritional and metabolic imbalance in keratoconus. Nutrients, 2022, 14(4):913.
 [9] de Azevedo Magalhães O, Gonçalves MC, Gatinel D. The role of environment in the pathogenesis of keratoconus. Curr Opin Ophthalmol, 2021, 32(4):379-384.

- [10] Lucas SEM, Burdon KP. Genetic and environmental risk factors for keratoconus. *Annu Rev Vis Sci*, 2020,6;25–46.
- [11] Gordon-Shaag A, Millodot M, Shneor E, et al. The genetic and environmental factors for keratoconus. *Biomed Res Int*, 2015, 2015;795738.
- [12] Farjadnia M, Naderan M, Mohammadpour M. Gene therapy in keratoconus. *Oman J Ophthalmol*, 2015,8(1):3–8.
- [13] Wheeler J, Hauser MA, Afshari NA, et al. The genetics of keratoconus: a review. *Reprod Syst Sex Disord*, 2012(Suppl 6):001.
- [14] Laczko R, Csiszar K. Lysyl oxidase (LOX): functional contributions to signaling pathways. *Biomolecules*, 2020,10(8):1093.
- [15] Xu XY, Zhang X, Cui YL, et al. Three novel variants identified within ECM-related genes in Chinese Han keratoconus patients. *Sci Rep*, 2020,10(1):5844.
- [16] Dudakova L, Jirsova K. The impairment of lysyl oxidase in keratoconus and in keratoconus-associated disorders. *J Neural Transm*, 2013,120(6):977–982.
- [17] Dudakova L, Liskova P, Trojek T, et al. Changes in lysyl oxidase (LOX) distribution and its decreased activity in keratoconus corneas. *Exp Eye Res*, 2012,104:74–81.
- [18] Shetty R, Sathyanarayananmoorthy A, Ramachandra RA, et al. Attenuation of lysyl oxidase and collagen gene expression in keratoconus patient corneal epithelium corresponds to disease severity. *Mol Vis*, 2015,21:12–25.
- [19] Gadelha DNB, Feitosa AFB, da Silva RG, et al. Screening for novel LOX and SOD1 variants in keratoconus patients from Brazil. *J Ophthalmic Vis Res*, 2020,15(2):138–148.
- [20] Bykhovskaya Y, Li X, Epifantseva I, et al. Variation in the lysyl oxidase (LOX) gene is associated with keratoconus in family-based and case-control studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(7):4152–4157.
- [21] Niazi S, Moshirfar M, Alizadeh F, et al. Association of 2 lysyl oxidase gene single nucleotide polymorphisms with keratoconus: a nationwide registration study. *Ophthalmol Sci*, 2022,3(2):100247.
- [22] Hasanian - Langroudi F, Saravani R, Validad MH, et al. Association of lysyl oxidase (LOX) polymorphisms with the risk of keratoconus in an Iranian population. *Ophthalmic Genet*, 2015,36(4):309–314.
- [23] Sanada F, Fujikawa T, Shibata K, et al. Therapeutic angiogenesis using HGF plasmid. *Ann Vasc Dis*, 2020,13(2):109–115.
- [24] Czyz M. HGF/c-MET signaling in melanocytes and melanoma. *Int J Mol Sci*, 2018,19(12):E3844.
- [25] Sato H, Imamura R, Suga H, et al. Cyclic peptide-based biologics regulating HGF-MET. *Int J Mol Sci*, 2020,21(21):7977.
- [26] Cheung IM, McGhee CNJ, Sherwin T. Deficient repair regulatory response to injury in keratoconic stromal cells. *Clin Exp Optom*, 2014,97(3):234–239.
- [27] You J, Wen L, Roufas A, et al. Expression of HGF and c-met proteins in human keratoconus corneas. *J Ophthalmol*, 2015, 2015;852986.
- [28] Hu D, Lin Z, Jiang J, et al. Identification of Key Genes and Molecular Pathways in Keratoconus; Integrating Text Mining and Bioinformatics Analysis. *Biomed Res Int*, 2022, 2022;4740141.
- [29] Dudakova L, Palos M, Jirsova K, et al. Validation of rs2956540: G>C and rs3735520:G>A association with keratoconus in a population of European descent. *Eur J Hum Genet*, 2015,23(11):1581–1583.
- [30] Burdon KP, MacGregor S, Bykhovskaya Y, et al. Association of polymorphisms in the hepatocyte growth factor gene promoter with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011,52(11):8514–8519.
- [31] Lucas SEM, Zhou T, Blackburn NB, et al. Rare, potentially pathogenic variants in 21 keratoconus candidate genes are not enriched in cases in a large Australian cohort of European descent. *PLoS One*, 2018, 13(6):e0199178.
- [32] Sahebjada S, Schache M, Richardson AJ, et al. Association of the hepatocyte growth factor gene with keratoconus in an Australian population. *PLoS One*, 2014,9(1):e84067.
- [33] Hao XD, Chen P, Chen ZL, et al. Evaluating the Association between Keratoconus and Reported Genetic Loci in a Han Chinese Population. *Ophthalmic Genet*, 2015,36(2):132–136.
- [34] Banks CJ, Andersen JL. Mechanisms of SOD1 regulation by post-translational modifications. *Redox Biol*, 2019,26:101270.
- [35] Eleutherio ECA, Silva Magalhães RS, de Araújo Brasil A, et al. SOD1, more than just an antioxidant. *Arch Biochem Biophys*, 2021, 697:108701.
- [36] Burdon KP, Vincent AL. Insights into keratoconus from a genetic perspective. *Clin Exp Optom*, 2013,96(2):146–154.
- [37] Gajecka M, Radhakrishna U, Winters D, et al. Localization of a gene for keratoconus to a 5.6-Mb interval on 13q32. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009,50(4):1531–1539.
- [38] Saeed-Rad S, Hashemi H, Miraftab M, et al. Mutation analysis of VSX1 and SOD1 in Iranian patients with keratoconus. *Mol Vis*, 2011,17:3128–3136.
- [39] Udar N, Atilano SR, Small K, et al. SOD1 haplotypes in familial keratoconus. *Cornea*, 2009,28(8):902–907.
- [40] Moschos MM, Kokolakis N, Gazouli M, et al. Polymorphism analysis of VSX1 and SOD1 genes in Greek patients with keratoconus. *Ophthalmic Genet*, 2015,36(3):213–217.
- [41] Nejabat M, Naghash P, Dastsooz H, et al. VSX1 and SOD1 mutation screening in patients with keratoconus in the south of Iran. *J Ophthalmic Vis Res*, 2017,12(2):135–140.
- [42] Lopes AG, de Almeida GC, Miola MP, et al. Absence of significant genetic alterations in the VSX1, SOD1, TIMP3, and LOX genes in Brazilian patients with Keratoconus. *Ophthalmic Genet*, 2022,43(1):73–79.
- [43] Lopes AG, de Almeida Júnior GC, Teixeira RM, et al. Absence of the c.169+50delTAAACAG mutation of SOD1 gene in a sample of keratoconus patients in Brazilian population. *BMC Res Notes*, 2020,13(1):328.
- [44] Shetty R, Nuijts RM, Nanaiah SG, et al. Two novel missense substitutions in the VSX1 gene: clinical and genetic analysis of families with Keratoconus from India. *BMC Med Genet*, 2015,16:33.
- [45] Jeoung JW, Kim MK, Park SS, et al. VSX1 gene and keratoconus: genetic analysis in Korean patients. *Cornea*, 2012,31(7):746–750.
- [46] Zhang J, Cai B, Ma L, et al. Clinical and genetic analysis VSX1 variants among families with keratoconus in northwest China. *Front Genet*, 2023, 14:1145426.
- [47] Guan T, Wang X, Zheng LB, et al. Analysis of the VSX1 gene in sporadic keratoconus patients from China. *BMC Ophthalmol*, 2017, 17(1):173.
- [48] Deva JP, Ngeow YF, Zin T. The association between VSX1 exon3 gene variants and keratoconus in Malaysian patients. *Indian J Ophthalmol*, 2023,71(6):2443–2447.
- [49] da Silva DC, Gadelha BNB, Feitosa AFB, et al. Analysis of VSX1 variations in Brazilian subjects with keratoconus. *J Ophthalmic Vis Res*, 2018,13(3):266–273.
- [50] Karolak JA, Polakowski P, Szaflik J, et al. Molecular screening of keratoconus susceptibility sequence variants in VSX1, TGFBI, DOCK9, STK24, and IPO5 genes in Polish patients and novel TGFBI variant identification. *Ophthalmic Genet*, 2016,37(1):37–43.

- [51] Dehkordi FA, Rashki A, Bagheri N, et al. Study of VSX1 mutations in patients with keratoconus in southwest Iran using PCR – single – strand conformation polymorphism/heteroduplex analysis and sequencing method. *Acta Cytol*, 2013,57(6):646–651.
- [52] Wang Y, Jin T, Zhang X, et al. Common single nucleotide polymorphisms and keratoconus in the Han Chinese population. *Ophthalmic Genet*, 2013,34(3):160–166.
- [53] Litke AM, Samuelson S, Delaney KR, et al. Investigating the pathogenicity of VSX1 missense mutations and their association with corneal disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018,59(15):5824–5835.
- [54] Bao J, Yu X, Ping X, et al. Znf469 Plays a Critical Role in Regulating Synthesis of ECM: A Zebrafish Model of Brittle Cornea Syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2023,64(5):29.
- [55] Vincent AL, Jordan CA, Cadzow MJ, et al. Mutations in the zinc finger protein gene, ZNF469, contribute to the pathogenesis of keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014,55(9):5629–5635.
- [56] Steinle J, Hossain WA, Veatch OJ, et al. Next – generation sequencing and analysis of consecutive patients referred for connective tissue disorders. *Am J Med Genet A*, 2022,188(10):3016–3023.
- [57] Stanton CM, Findlay AS, Drake C, et al. A mouse model of brittle cornea syndrome caused by mutation in Zfp469. *Dis Model Mech*, 2021,14(9):dmm049175.
- [58] Lechner J, Porter LF, Rice A, et al. Enrichment of pathogenic alleles in the brittle cornea gene, ZNF469, in keratoconus. *Hum Mol Genet*, 2014,23(20):5527–5535.
- [59] Yildiz E, Bardak H, Gunay M, et al. Novel Zinc Finger Protein Gene 469 (ZNF469) Variants in Advanced Keratoconus. *Curr Eye Res*, 2017,42(10):1396–1400.
- [60] Zhang W, Margines JB, Jacobs DS, et al. Corneal perforation after corneal cross – linking in keratoconus associated with potentially pathogenic ZNF469 mutations. *Cornea*, 2019,38(8):1033–1039.
- [61] Rohrbach M, Spencer HL, Porter LF, et al. ZNF469 frequently mutated in the brittle cornea syndrome (BCS) is a single exon gene possibly regulating the expression of several extracellular matrix components. *Mol Genet Metab*, 2013,109(3):289–295.
- [62] Yu X, Chen B, Zhang X, et al. Identification of seven novel ZNF469 mutations in keratoconus patients in a Han Chinese population. *Mol Vis*, 2017,23:296–305.
- [63] Franssen E, Valgaeren H, Janssens K, et al. Resequencing of candidate genes for Keratoconus reveals a role for Ehlers – Danlos Syndrome genes. *Eur J Hum Genet*, 2021,29(12):1745–1755.
- [64] De Baere E. Heterozygous coding ZNF469 variants enriched in New Zealand patients with isolated keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014,55(9):5636.
- [65] Liskova P, Dudakova L, Krepelova A, et al. Replication of SNP associations with keratoconus in a Czech cohort. *PLoS One*, 2017,12(2):e0172365.
- [66] Karolak JA, Gambin T, Rydzanicz M, et al. Evidence against ZNF469 being causative for keratoconus in Polish patients. *Acta Ophthalmol*, 2016,94(3):289–294.
- [67] Lucas SEM, Zhou T, Blackburn NB, et al. Rare, potentially pathogenic variants in ZNF469 are not enriched in keratoconus in a large Australian cohort of European descent. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017,58(14):6248–6256.
- [68] Suesskind D, Auw – Haedrich C, Schorderet DF, et al. Keratoepithelin in secondary corneal amyloidosis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006,244(6):725–731.
- [69] Peng D, Fu M, Wang M, et al. Targeting TGF – β signal transduction for fibrosis and cancer therapy. *Mol Cancer*, 2022,21(1):104.
- [70] Kabza M, Karolak JA, Rydzanicz M, et al. Collagen synthesis disruption and downregulation of core elements of TGF – β , Hippo, and Wnt pathways in keratoconus corneas. *Eur J Hum Genet*, 2017,25(5):582–590.
- [71] Guan T, Liu C, Ma Z, et al. The point mutation and polymorphism in keratoconus candidate gene TGFBI in Chinese population. *Gene*, 2012,503(1):137–139.
- [72] Du X, Chen P, Sun D. Mutation analysis of TGFBI and KRT12 in a case of concomitant keratoconus and granular corneal dystrophy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2017,255(9):1779–1786.
- [73] Chen B, Yu X, Zhang X, et al. Novel mutations identified in the Chinese Han population with keratoconus by next – generation sequencing. *J Ophthalmol*, 2022,2022:9991910.
- [74] Deshmukh R, Ong ZZ, Rampat R, et al. Management of keratoconus: an updated review. *Front Med (Lausanne)*, 2023,10:1212314.
- [75] Karolak JA, Ginter – Matuszewska B, Tomela K, et al. Further evaluation of differential expression of keratoconus candidate genes in human corneas. *PeerJ*, 2020,8:e9793.
- [76] Zhang Y, Liu X, Liang W, et al. Expression and Function of ZEB1 in the Cornea. *Cells*, 2021,10(4):925.
- [77] Lee J, Jung E, Heur M, et al. ZEB1 Mediates Fibrosis in Corneal Endothelial Mesenchymal Transition Through SP1 and SP3. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020,61(8):41.
- [78] Lechner J, Dash DP, Muszynska D, et al. Mutational spectrum of the ZEB1 gene in corneal dystrophies supports a genotype – phenotype correlation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013,54(5):3215–3223.
- [79] Mazzotta C, Traversi C, Rizzo CL, et al. First identification of a triple corneal dystrophy association: keratoconus, epithelial basement membrane corneal dystrophy and fuchs’ endothelial corneal dystrophy. *Case Rep Ophthalmol*, 2014,5(3):281–288.
- [80] Fernández – Gutiérrez E, Fernández – Pérez P, García – Fernández L, et al. Posterior Polymorphous Corneal Dystrophy in a Patient with a Novel ZEB1 Gene Mutation. *Int J Mol Sci*, 2022,24(1):209.
- [81] Xu L, Yang K, Fan Q, et al. Mitochondrial DNA heteroplasmy analysis in keratoconus patients from China. *Front Genet*, 2023,14:1251951.
- [82] Bortoletto E, Pieretti F, Brun P, et al. Meta – Analysis of Keratoconus Transcriptomic Data Revealed Altered RNA Editing Levels Impacting Keratin Genomic Clusters. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2023,64(7):12.
- [83] Caiado Canedo AL, Wright KW, Rabinowitz YS, et al. C.57 C > T Mutation in MIR 184 is Responsible for Congenital Cataracts and Corneal Abnormalities in a Five – generation Family from Galicia, Spain. *Ophthalmic Genet*, 2015,36(3):244–247.
- [84] Li X, Bykhovskaya Y, Tang YG, et al. An association between the calpastatin (CAST) gene and keratoconus. *Cornea*, 2013,32(5):696–701.
- [85] Stabuc – Silih M, Hawlina M, Strazisar M, et al. Polymorphisms in COL4A3 and COL4A4 genes associated with keratoconus. *Mol Vis*, 2009,15:2848–2860.
- [86] Synowiec E, Wojcik KA, Izdebska J, et al. Polymorphisms of the homologous recombination gene RAD51 in keratoconus and Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Dis Markers*, 2013,35(5):353–362.
- [87] Kim SH, Mok JW, Kim HS, et al. Association of –31T>C and –511 C>T polymorphisms in the interleukin 1 beta (IL1B) promoter in Korean keratoconus patients. *Mol Vis*, 2008,14:2109–2116.
- [88] Xu L, Yang K, Yin S, et al. Family – based exome sequencing identifies candidate genes related to keratoconus in Chinese families. *Front Genet*, 2022,13:988620.
- [89] Arbabi A, Liu A, Ameri H. Gene Therapy for Inherited Retinal Degeneration. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2019,35(2):79–97.