

# 基因在原发性开角型青光眼中的研究进展

胡 昊,贾大东,王旂瑶,梁 亮

引用:胡昊,贾大东,王旂瑶,等. 基因在原发性开角型青光眼中的研究进展. 国际眼科杂志, 2025,25(11):1764-1770.

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81770920)  
作者单位:(443000)中国湖北省宜昌市,三峡大学第二人民医院  
宜昌市第二人民医院  
作者简介:胡昊,在读硕士研究生,研究方向:青光眼。  
通讯作者:梁亮,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:青光眼. liangliang419519@163.com  
收稿日期:2025-05-02 修回日期:2025-09-18

## 摘要

原发性开角型青光眼(POAG)为最常见的青光眼类型,常见病因有小梁组织的变异、静脉压增高等。POAG 有一定的遗传倾向,具有常染色体显性遗传模式的 POAG 主要由单基因突变引起,研究发现 POAG 的发病机制可能与关键致病基因(*MYOC*、*OPTN*、*WDR 36*)有关,同时还与线粒体功能障碍、氧化应激以及表观遗传调控等因素密切相关。目前临床对 POAG 的治疗方案主要包括增强小梁网功能、抑制房水生成、视网膜神经节细胞神经保护与再生以及应用基因编辑技术等,均取得了一定的成果。然而关于 POAG 的发生与基因的关系及治疗方案的研究尚未形成统一。文章通过分析基因在 POAG 发病机制中的作用,探索 POAG 基因治疗的新靶点与治疗策略,旨在为临床治疗此病提供参考。  
关键词:原发性开角型青光眼;线粒体功能障碍;表观遗传调控;视网膜神经节细胞神经保护与再生;基因编辑技术  
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2025.11.08

## Research progress of genes in primary open angle glaucoma

Hu Hao, Jia Dadong, Wang Yiyao, Liang Liang

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.81770920)  
The Second People's Hospital of China Three Gorges University; The Second People's Hospital of Yichang, Yichang 443000, Hubei Province, China  
Correspondence to: Liang Liang. The Second People's Hospital of China Three Gorges University; The Second People's Hospital of Yichang, Yichang 443000, Hubei Province, China. liangliang419519@163.com  
Received:2025-05-02 Accepted:2025-09-18

## Abstract

• Primary open angle glaucoma (POAG) is the most common type of glaucoma, with common causes

including variations in trabecular tissue and increased venous pressure. POAG has a certain genetic tendency, and POAG with an autosomal dominant inheritance pattern is mainly caused by single gene mutations. Studies have found that the pathogenesis of POAG may be related to key pathogenic genes (*MYOC*, *OPTN*, *WDR 36*), as well as mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and epigenetic regulation. At present, the clinical treatment options for POAG mainly include enhancing trabecular meshwork function, inhibiting aqueous humor production, neuroprotection and regeneration of retinal ganglion cells, and applying gene editing technology, all of which have achieved certain results. However, there is no unified research on the relationship between the occurrence of POAG and genes, as well as treatment plans. The article explores new targets and treatment strategies for POAG gene therapy by analyzing the role of genes in the pathogenesis of POAG, aiming to provide reference for clinical treatment of this disease.

• KEYWORDS: primary open angle glaucoma; mitochondrial dysfunction; epigenetic regulation; neuroprotection and regeneration of retinal ganglion cells; gene editing technology

Citation:Hu H, Jia DD, Wang YY, et al. Research progress of genes in primary open angle glaucoma. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2025,25(11):1764-1770.

## 0 引言

据调查,目前全世界共 8 000 万人患有青光眼,且发病率逐渐呈上升趋势,预计 2040 年患病人数将超过 1 亿,对患者家庭及社会都造成了巨大负担<sup>[1-2]</sup>。原发性开角型青光眼(primary open angle glaucoma,POAG)在所有青光眼患者中占 60%-70%,是全球第二大致盲性眼病。该病好发于 40 岁以后,主要以视神经损伤及视野缺损为特征,患者常见眼压升高、视神经受压等症状,对其正常生活造成极大困扰<sup>[3-4]</sup>。线粒体功能障碍与氧化应激以及表观遗传调控也会影响 POAG 的发生发展。目前对于 POAG 患者临床多采用降低眼压、视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells,RGC)神经保护与再生、基因编辑技术等进行治疗<sup>[5-6]</sup>。分析致病基因在 POAG 发病机制中的作用,并探讨基因治疗的新策略与靶点,可指导临床更好的治疗 POAG 患者。目前,临床已证实 *MYOC*、*OPTN*、*WDR 36* 均为 POAG 的关键致病基因,并发现不少于 20 个遗传片段与 POAG 有关,在这些基因片段中,*MYOC* 基因是最早被发现的 POAG 致病基因之一<sup>[7]</sup>,迄今为止 Alward 等<sup>[8]</sup>已发现超过 70 个 *MYOC* 基因突变位点与 POAG 发病有关。*OPTN* 基因为第 2 个发现的与 POAG 有关的基因,2002 年经人类基因组组织命名委员会批准,将曾被称为

*FIP-2* 或 *NRP* 的基因正式命名为 *OPTN*<sup>[9]</sup>。2005 年, Monemi 等<sup>[10]</sup>通过在 *GLC* 关键区域内对 7 个候选基因进行突变筛查,最终确定 *WDR 36* 为一个新的 *POAG* 致病基因。为进一步分析 *POAG* 的发生与基因遗传学的关系及治疗方案,本文首次系统整合基因编辑技术与临床转化挑战,对基因在 *POAG* 发病机制中的作用及其治疗策略与临床转化进行相关综述。

## 1 基因在 *POAG* 发病机制中的作用

目前,临床关于 *POAG* 的发病机制尚存在一些争议,多认为其发病机制可能与 *microRNA-155*、Schlemm 管塌陷及免疫学机制有关。其中 *microRNA-155* 为一种多功能的 *miRNA*,与眼部组织的生长发育、功能调节及发病机制等有密切的关系,*microRNA-155* 所调节的信号通路可能会影响某些特定蛋白的表达,而这些蛋白在小梁网 (*trabecular meshwork*, *TM*) 中的异常表达会引起相应的 *TM* 形态功能异常,导致房水流出通道的阻力提高,从而造成眼压升高并引起 *POAG*。但近年来随着对 *POAG* 研究的深入发现,该病的发生主要与基因遗传学有关。作为不可逆的致盲因素之一,现阶段对于 *POAG* 存在遗传倾向的证据主要来自于两方面:(1)将 *POAG* 家族作为该病发生的主要危险因素,证实有 *POAG* 家族史的人群发生 *POAG* 的风险比普通人群更高;(2)针对 *POAG* 相关的特殊眼部参数(如眼压、视神经杯盘比、房水动力学、对激素的敏感性 & 眼部的生物统计学参数)的遗传倾向<sup>[11-12]</sup>。目前已鉴定出了多个与 *POAG* 相关的基因,如 *MYOC*、*OPTN* 和 *WDR 36*,其中 *MYOC* 基因突变是导致 *TM* 糖皮质激素反应通路异常的重要因素,会促使房水流出受阻及眼压升高<sup>[13]</sup>。而 *OPTN* 和 *WDR 36* 的突变可能会通过影响细胞自噬及炎症反应来参与 *POAG* 的病理过程<sup>[14]</sup>。

### 1.1 *MYOC* 基因

**1.1.1 *MYOC* 基因** *MYOC* 于 1997 年被发现,是第一个明确的 *POAG* 致病基因。*MYOC* 在睫状体中有高表达,提示其在青光眼的发病中发挥重要作用。*MYOC* 基因在人类染色体 1q 21-24 位置,全长约 20 kb,有 3 个外显子(各外显子编码区长度分别为 604、126、785 bp),编码一个含 504 个氨基酸的分泌蛋白。*MYOC* 主要在眼部组织(尤其是 *TM*)中表达,可参与多个生物学过程(图 1)。有学者通过 Sanger 测序发现在 398 例 *POAG* 患者中有 8 例共检出 5 种 *MYOC* 基因变异,检出率为 2.0 % (8/398),其中 c.667 C>T、c.1138G>T 为新变异位点,c.382 C>T、c.1109 C>T、c.1130 C>A 为与 *POAG* 相关变异位点,依据美国医学遗传学与基因组学学会(American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG)致病性标准分类和功能预测软件分析,推测 *MYOC* 基因 c.1138 G>T 变异为可能致病性变异,c.667 C>T 变异位点的致病意义尚不明确<sup>[15]</sup>。

**1.1.2 *MYOC* 基因的突变研究** *MYOC* 基因由 3 个外显子和 2 个内含子组成。于 *POAG* 家族先证者的 DNA 样本中发现位于 *MYOC* 基因第 3 外显子 734 号核苷酸由鸟嘌呤 G 变为腺嘌呤 A 的杂合突变,促使第 245 号氨基酸由半胱氨酸变为酪氨酸,观察 *POAG* 家系 *MYOC* 基因 Sanger 法第 3 外显子基因测序峰图,DNA 碱基序列与波形图形相匹配,主峰尖锐、基线平稳,显示高质量测序数据,无重影或信号衰减<sup>[16]</sup>。有学者在 *POAG* 家系先证者 DNA 样本中,

发现 1 个位于 *MYOC* 基因第 3 外显子上的单核苷酸突变 C-A,对其余的 9 例家系成员 DNA 进行测序,于 7 例患病成员血样中发现了相同的突变<sup>[17]</sup>。

**1.1.3 *MYOC* 基因突变于 *POAG* 发病中的作用** 研究表明,*MYOC* 突变通过诱导 *TM* 细胞功能障碍导致房水流出阻力增加。*MYOC* 基因编码的 myocilin 蛋白是一种分泌型糖蛋白,属于嗅觉调解素家族,最初在长期使用糖皮质激素后的患者的 *TM* 细胞中发现,随着研究的深入在多种眼组织中均有发现,可参与组织 *TM* 的房水外流。若 *MYOC* 基因出现致病突变,会导致编码蛋白发生错误折叠并获得致病性质,从而引起 *TM* 细胞损害<sup>[18-19]</sup>。另外,*MYOC* 基因突变还会引起蛋白质错误折叠和异常聚集,导致细胞外蛋白质含量下降,最终造成细胞死亡<sup>[20-21]</sup>。突变的 myocilin 蛋白还可与糖胺聚糖、透明质酸及其他糖蛋白结合形成分布在小梁组织中的无定型基质,该基质参与形成对房水流出的阻力。眼内于环境、遗传等因素的诱导下会生成大量修饰后 myocilin 蛋白,而这种蛋白也可能分布在 *TM* 间隙及近管组织区域,进而成为房水流出受阻及眼压升高的病理基础。myocilin 蛋白还可在前房角中聚集,影响房水的排出,致使患者眼压升高<sup>[22-23]</sup>。

现阶段已经发现了 200 多种 *MYOC* 基因突变,其中约 1/3 的突变存在致病性。而 *MYOC* 基因突变通常呈现为不完全的显性遗传方式,代表即使仅存在单个拷贝的 *MYOC* 基因突变,也会增加 *POAG* 的发病风险<sup>[24-25]</sup>。丁喜艳等<sup>[26]</sup>学者的研究中对中国南京地区 *POAG* 家系进行基因突变位点的筛查和临床表型分析,发现 *MYOC* 基因 C 245 Y 突变是该 *POAG* 家系的致病突变位点。李思媛等<sup>[27]</sup>学者认为,*MYOC* G 1099 A 为 *POAG* 家系的致病突变,可见 *MYOC* 基因突变可能与 *POAG* 的发生有关,但在具体致病机制上仍存在一些争议。视网膜功能损伤是继发于眼压升高还是由于 *MYOC* 突变直接导致的视网膜细胞生物学功能障碍尚需研究证实。

### 1.2 *OPTN* 基因与 *POAG*

**1.2.1 *OPTN* 基因** 1998 年,Sarfaraizi 等<sup>[28]</sup>对一个青光眼家系进行研究,发现该家系与 10 号染色体短臂上的短串联重复序列标记 D10S1172 存在连锁,经进一步分析,确定了 *OPTN* 基因为导致 *POAG* 发病的致病基因之一。*OPTN* 基因由 16 个外显子构成,包括 13 个编码外显子和 3 个位于 5'-UTR 的非翻译外显子。该基因编码由 577 个氨基酸组成的一个 66 kDa 蛋白质,研究证实 *OPTN* 编码的 Optineurin 蛋白是存在于多种器官组织中的分泌型自噬受体蛋白<sup>[29-30]</sup>,在眼部的 *TM*、无色素睫状上皮和视网膜中均有分布<sup>[31-32]</sup>。Optineurin 蛋白是一种与神经系统相关的蛋白质,也是一种与许多蛋白质相互作用的衔接蛋白,在许多细胞功能中均有参与调节,如从高尔基体到质膜的囊泡运输、内吞运输、导致 NF- $\kappa$ B 的信号传导<sup>[33-34]</sup>。

**1.2.2 *OPTN* 基因突变研究** 2002 年,国外学者在 54 个成年型家系中经单链构象多态性分析了 *OPTN* 基因突变,共发现了 4 个突变,主要为 Glu 50 Lys、Premature stop、Arg 545 Gln 与 Met 98 Lys,且确定了 Glu 50 Lys、Premature stop、Arg 545 Gln 为青光眼致病性基因突变,而 Met 98 Lys 为青光眼的高危多态性改变<sup>[35]</sup>。还有学者在一项研究中对对比分析了中国 *POAG* 患者和 126 位正常人,结果发现



POAG 患者 *OPTN* 基因出现 16 种序列改变,其中包括 9 种外显子突变与 7 种内含子突变,有 3 种为已报道的突变 (Thr 34 Thr、Met 98 Lys、Arg 545 Gin),其余 13 种为新发现的突变<sup>[36]</sup>。

**1.2.3 *OPTN* 基因于 POAG 发病中的作用** 已有研究表明,*OPTN* 的两种突变 p.Glu 50 Lys 和 p.Met 98 Ls 均可导致 Optineurin 蛋白在细胞中异常聚集,形成侵入性囊泡 (包含多聚体),并会干扰囊泡的正常运转,影响自噬过程以及细胞信号转导,导致 RGC 凋亡<sup>[37-38]</sup>。兰兰等<sup>[39]</sup>学者的研究中为了分析视神经病变诱导反应蛋白基因与 POAG 发病的关系选取了 120 例 POAG 患者及同期 100 例健康志愿者,通过聚合酶链反应检测 *OPTN* 基因,发现发生 T 34 T、T 49 T、IVS 6-10 G→A、M 98 K 和 H 486 R 5 个序列改变,且 POAG 观察组 T 34 T 序列 AA 基因型比例为 18.33%,IVS 6-10 G>A 序列 AA 基因型比例为 21.67%,T 34 T 序列等位基因 A 比例为 43.75%,IVS 6-10 G>A 序列等位基因 A 比例为 44.58%,均明显高于对照组 ( $P<0.05$ ),由此认为 *OPTN* 基因多态性与 POAG 发病有一定关系,需要进一步分析 *OPTN* 突变对其功能的影响及对视网膜神经节细胞的影响,为 POAG 的防治提供新方向。

*OPTN* 基因编码一种参与细胞凋亡与免疫反应的蛋白质 Optineurin,Optineurin 于人体大脑、视网膜、睫状体的非色素纤毛上皮、眼球前房的 TM 中均有表达,*OPTN* 突变会促使 Optineurin 功能异常且改变其与多种蛋白的相互作用,从而导致一系列疾病,其中 POAG 最为常见<sup>[40]</sup>。*OPTN* 基因突变的类型有同义突变和错义突变 2 种,发生错义突变时,Optineurin 原有的正常结构及功能均会受到不良影响。目前,已经发现的与 POAG 有关的错义突变包括 H 26 D、E 50 K、M 98 K 等。E 50 K 突变最早是在高加索及西班牙人群中所发现的,若患者的眼压较低则会出现早发性的严重视神经损伤,与无 E 50 K 突变的患者相比,E 50 K 突变的患者的杯盘比更大,视野损伤相对更严重<sup>[41]</sup>。一项对 67 例无血缘关系的中国开角型青光眼患者队列调查中研究了 *MYOC*、*OPTN* 等基因,结果显示,从 67 例中国开角型青光眼患者的整个外显子组结果来看,*MYOC* 共有 79 个变异,*OPTN* 共有 354 个变异,而在 *MYOC* 中有两个杂合突变 [c.1109 C>T, p.(P 370 L); c.1150 G>C, p.(D 384 H)] 从本研究的两个病例中检测到,在 *OPTN* 中,有 2 个杂合突变 [c.985 A>G, p.(R 329 G); c.1481 T>G, p.(L 494 W)] 在两个样本中检测到,该项研究结果丰富了中国开角型青光眼人群中 *MYOC* 与 *OPTN* 的突变谱与频率<sup>[42]</sup>。然而还有研究显示,云南 POAG 双生子直接测序结果未见异常双峰型改变且未发现 *OPTN* 基因的突变,认为双生子同患 POAG 与 *OPTN* 基因的突变无关<sup>[43]</sup>。这一结果提示 *OPTN* 基因突变导致 POAG 可能受环境因素所干扰,今后需进一步探索 *OPTN* 突变与其他风险因素的协同机制。

1.3 *WDR 36* 基因与 POAG

**1.3.1 *WDR 36* 基因** *WDR 36* 是近年来才发现的一种与 POAG 相关的新基因。2005 年,Monemi 等学者通过在 GLC 关键区域内对 7 个候选基因进行突变筛查,最终确定 *WDR 36* 为一个新的 POAG 致病基因。*WDR 36* 基因即色氨酸 (W, tryptophan) 和天冬氨酸 (D, aspartic acid) (WD) 重复域 36,含 23 个外显子,编码一个 951 个氨基酸的蛋白

WD。*WDR 36* 是重复蛋白家族的一个成员,WD 重复域为约 40 个氨基酸的最小保守区域,两端以甘氨酸-组氨酸 (glycine histidine, gly-his)、色氨酸-天冬氨酸 (tryptophan aspartic acid, trp-aspartic acid) 序列为标志性边界。此家族的成员参与多种细胞过程,如细胞周期进程、信号转导、细胞凋亡、基因调控。

**1.3.2 *WDR 36* 基因突变研究** 石珂等<sup>[44]</sup>发现 POAG 家系中共有 6 个 *WDR 36* 基因突变,其中有 2 个为新突变 (Pro 381 Pro、Gly 549 - Arg),4 个为已报道过的突变 (Tyr 216 Pro、Ile 264 Val、Ala 449 Thr、Val 727 Val),其中 Pro 381 Pro、Tyr 216 Pro、Ile 264 Val、Val 727 Val 三组间的突变频率无统计学差异,由此认为单独的 *WDR 36* 基因突变不足以引起 POAG 发病,*WDR 36* 基因对于该家族性 POAG 具有调节性的作用,属于一种调节基因。

**1.3.3 *WDR 36* 基因于 POAG 发病中的作用** 国外有学者研究中纳入 218 名无关的 POAG 参与者、103 名非青光眼对照组成员及 993 名未接受检测的对照组成员,结果发现,有 58 名参与者于已知青光眼基因中携带了罕见的潜在致病变异体,除 *WDR 36* 和丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (TANK-binding kinase 1, TBK1) 外,所有基因中均存在与青光眼相关的变异富集现象<sup>[45]</sup>。还有报道分析了 72 个与成人青光眼潜在相关的基因,最后于 16% 的 POAG 患者中发现了 9 种罕见变异,其主要位于 *CYP11B1*、*OPTC*、*OPTN*、*WDR 36* 等基因中<sup>[46]</sup>。

有学者在 88 个家庭 361 例患者中共发现了 77 种致病变异,其中有 5 个变种在 *MYOC* 基因,以及于 *NTF4*、*FOXC1*、*WDR36* 基因中的单个变异<sup>[47]</sup>。通过观察一个存在长期中央视力丧失史的患者,发现 *WDR 36* 突变与 POAG 相关<sup>[48]</sup>。临床有学者已经鉴定了视神经素、肌丝蛋白/TM 糖皮质激素反应以及 *WDR 36* 为与青光眼相关的基因<sup>[49]</sup>。但目前人类 POAG 中 *WDR 36* 变异的致病阈值尚未明确,且还需探索 *WDR 36* 基因是否存在与其他基因及环境因素的协同作用。

**1.4 线粒体功能障碍与氧化应激** 线粒体为细胞能量代谢的核心,通过三羧酸循环和呼吸链生成 ATP,为细胞的“能量工厂”,若线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 变异则会破坏线粒体的正常功能,导致能量产生障碍,影响 RGC 的能量供应。点突变、缺失、插入等类型的 mtDNA 变异会导致线粒体呼吸链复合物功能异常,从而对 ATP 的合成与能量产生造成影响,导致 RGC 能量危及<sup>[50]</sup>。有研究发现,POAG 患者的 RGC 中线粒体功能异常及氧化应激的加剧均会导致 RGC 退化,而 *NDI* 基因通过对线粒体功能进行改善,于动物模型中表达出了保护 RGC 的作用<sup>[51]</sup>。RGC 潜在缺失的另一种情况为常染色体显性视神经萎缩 (autosomal dominant optic atrophy, ADOA),而大多数的 ADOA 患者都有 *OPA1* 基因突变。有学者用 RT-PCR 方法对 304 例 POAG 患者与 258 例正常对照者进行了单核苷酸多态性研究,发现 POAG 与对照组受试者之间 rs- 9851685、rs 2111534 多态性的基因型频率有明显的差异性<sup>[52]</sup>。

线粒体功能障碍在 POAG 的神经变性发病机制中有非常重要的作用,在某项研究中,对一组 POAG 患者用 mtDNA 及大规模平行测序评估线粒体基因组变异与异质性,在一亚组中用外周血白细胞和眼组织的配对样本对细胞线粒体基因突变于疾病发病机制中的作用进行评估,结

果发现 POAG 患者中能够观察到致病性的体细胞线粒体基因组突变情况<sup>[53]</sup>。青光眼中 RGC 神经变性的多个关键方面与线粒体功能障碍相关。一项研究中纳入 80 例中度 POAG 患者与 20 名健康志愿者,通过对外周血淋巴细胞中线粒体酶进行测量来评估线粒体功能障碍的程度,发现可通过减少线粒体功能障碍、稳定青光眼视神经病变等方法来优化 POAG 疗法<sup>[54]</sup>。Zhou 等<sup>[55]</sup>学者用 OcuMet 信标对 POAG 与对照眼成像,经混合效应逻辑回归分析,POAG 与对照组间的黄素蛋白荧光 (flavoprotein fluorescence, FPF) 差异明显,POAG 患者的 FPF 比对照组的高,认为青光眼患者的视神经乳头 (optic nerve head, ONH) 边缘存在线粒体功能障碍。

活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 在 POAG 的发病机理中有十分重要的作用,POAG 为一种慢性神经退行性疾病,会损害 TM 细胞,诱导 RGC 的凋亡,促使 ONH 恶化并导致失眠<sup>[56]</sup>。最近证据证实,持续的氧化应激、受损的抗氧化防御为 POAG 患者神经变性发作的关键性驱动因素,若抗氧化能力受损,会加剧 POAG 患者的氧化损伤,导致细胞凋亡、神经炎症、组织损伤等<sup>[57]</sup>。但还有观点指出,其可能仅为继发现象,主要诱因仍为高血压机械压迫,故在线粒体功能障碍与氧化应激对 POAG 的致病影响方面仍需探讨。

**1.5 表观遗传调控** 基因的表观遗传调控是指通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码 RNA 参与等多种方式改变基因的表达方式而不改变 DNA 序列的变化,在生物发育、疾病发生等过程中十分重要。研究发现,miRNA (如 miR-21-5p) 与 POAG 的眼内压 (intraocular pressure, IOP) 调控有关,可通过靶向 TM 细胞外基质代谢相关基因对房水流出阻力产生影响<sup>[58]</sup>。近年来,越来越多的其他基因的相关多态性已经被鉴定出,有研究证实 DNA 甲基化、组蛋白的翻译后修饰、非编码 RNA 的 RNA 相关基因调节等不同的表观遗传机制导致青光眼,均证实了青光眼发病机制受表观遗传因素影响<sup>[59]</sup>。

## 2 基因治疗的新策略与靶点

降眼压治疗为青光眼基因疗法的有效策略,根据其不同的目的,现已开发出了针对不同靶组织、靶细胞、靶基因的降眼压的基因疗法,见图 1。

**2.1 增强 TM 功能** 该疗法代表是来自肉毒梭状芽孢杆菌的外酶 C3 转移酶,转基因载体表达的 C3 蛋白对小梁细胞 Rho 激酶产生作用,从而对下游的 cofilin、gelsolin 等产生影响,并对细胞肌动蛋白骨架的组装进行干扰,促使其收缩并改变 TM 细胞构型,TM 疏松的结构得到有效恢复,房水引流改善,进而降低了眼压。报道发现,经病毒载体,如腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV) 递送 *MMP3*、*PLAT* 等基因可促进 TM 的细胞外基质降解,以增加房水流出<sup>[60-61]</sup>。AAV 介导的 *MMP3* 基因治疗在人类供体眼中显著提高了房水流出能力<sup>[62]</sup>。采用病毒载体及 siRNA 的基因治疗可改变房水的流出与产生,从而降低眼内压并增加 RGC 的存活率<sup>[63]</sup>。但对于晚期患者,单纯行该疗法的功能恢复有限,还需用更多降眼压药物,且目前尚缺乏 5 a 以上随访数据验证其效率,关于其长期疗效仍需探讨。

**2.2 抑制房水生成** 睫状体上皮为房水生成的主要组织,为基因疗法的靶组织。靶向调控房水生成相关基因 (如碳酸酐酶基因) 可通过 siRNA 或基因编辑技术减少房水

分泌<sup>[64]</sup>。有学者使用 AAVShH 10、CRISPR-Cas 9 基因编辑系统,将小鼠睫状体上皮中的水通道蛋白 1 表达敲低,发现房水生成有减少,且有持续 2 wk 的 2-3 mmHg 降眼压的效果<sup>[65]</sup>。但需要考虑的一个问题是,角膜、晶状体等所获取的营养及需要排出的代谢产物均需要依靠房水循环,若长期减少房水生成则可能会引起一些不良影响。

## 2.3 RGC 神经保护与再生

**2.3.1 神经营养因子递送** 神经营养因子递送能改善 RGC 营养,包括于内层的视网膜表达脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 及激活神经营养素受体原肌球蛋白相关激酶 B (tropomyosin receptor kinase B, TrkB)。研究发现,过表达的 BDNF 可通过其受体 TrkB 及 CRISPR 技术激活下游信号通路,进而调控细胞凋亡相关基因的表达,使 RGC 的凋亡显著减少<sup>[66]</sup>。而 BCL-XL 基因治疗在小鼠模型中可有效减轻 RGC 轴突退化<sup>[67]</sup>。还有报道提出,外源表达红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 的 AAV 载体能够对 RGC 的微环境进行有效改善,进而实现对神经的保护作用<sup>[68]</sup>。目前动物模型中已证实神经营养因子递送可短期保护 RGC,但关于人类的 POAG 研究进展缓慢,且缺乏超过 5 a 的长期数据支持,关于其长期疗效及安全性还需继续研究。

**2.3.2 NAD<sup>+</sup>代谢调控** 有证据表明,氧化还原因子 NAD<sup>+</sup> 的衰退为衰老及神经退行性疾病的标志,补充 NAD<sup>+</sup> 关键酶烟酰胺单核苷酸腺苷酰转移酶 1 (nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase 1, NMNAT 1) 的前体或补充 NAD<sup>+</sup> 过表达生物合成过程均能起到明显的神经保护效果。研究发现,靶向烟酰胺单核苷酸腺苷酰转移酶 2 (nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase 2, NMNAT 2) 基因可恢复 RGC 内 NAD<sup>+</sup> 水平,改善线粒体功能,并在创伤性视神经损伤和青光眼模型中保护视觉功能<sup>[69]</sup>。然而 NAD<sup>+</sup> 代谢调控在递送效率上存在一定问题,其全身给药难以靶向递送至眼内,而局部用药存在血-视网膜屏障限制。

**2.3.3 免疫调节** 在青光眼的发病机制中,免疫紊乱起到一定作用,故认为通过免疫调节能减轻 RGC 的凋亡。有研究表明通过抑制补体系统 (如 C3 补体) 或调节小胶质细胞活性可减轻神经炎症对 RGC 的损伤<sup>[70]</sup>。有学者构建了补体 C3 抑制剂 CR2 Crry-AAV 载体并注射到小鼠模型中,发现补体 C3 于 RGC 及内层视网膜上的沉积有所减少,虽然眼压升高但神经退行性病变的发生与进展均被限制<sup>[71]</sup>。

**2.4 基因编辑技术** 基因编辑技术是指通过基因编辑对生物体基因组特定目标修饰的过程,是修改基因组的有效工具,近年来发展迅速。可高效精准的实现基因插入、缺失或替换,进而改变基因遗传信息与表型特征。CRISPR-Cas9 技术被用于纠正 *MYOC* 基因突变或调控 TM 纤维化相关基因 (例如通过靶向 TGF- $\beta$  信号通路减少术后瘢痕形成)<sup>[72]</sup>。但该技术最令人担忧的安全性问题为脱靶效应,脱靶会导致非预期的基因替换、缺失、插入、颠倒、易位等变异情况,从而引起远期生物学影响,限制了其临床应用<sup>[73]</sup>。有研究者通过提高 sgRNA 设计的特异性、工程化改造 Cas9 蛋白等来降低 CRISPR-Cas9 的脱靶效应<sup>[74]</sup>。还有报道称开发 RGC 特异性启动子 (如 mSncg 启动子) 的 AAV2 载体可实现 NMNAT 2 基因在 RGC 中的精准表达,从而避免脱靶效应<sup>[75]</sup>。



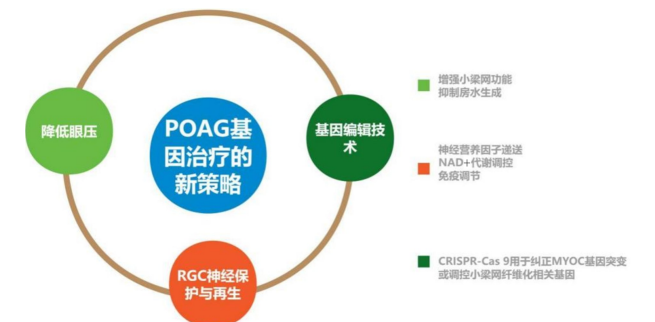


图 1 POAG 基因治疗的新策略。

3 临床转化与挑战

3.1 临床试验进展 截至 2022 年,全球已有 159 项眼部基因治疗临床试验,其中针对青光眼的试验多处于 I/II 期,重点评估 AAV 载体的安全性与有效性<sup>[76]</sup>。SYL 040012 (靶向  $\beta$  2 肾上腺素受体 siRNA) 和 QPI-1007 (靶向 caspase-2 siRNA) 已完成早期临床试验,结果发现,无论是单次每天每眼给药 600  $\mu$ g 的化合物,还是在 7 d 内每天每眼重复给药 600  $\mu$ g 或 900  $\mu$ g 的 SYL040012,治疗都具有良好的耐受性。其中 24 名健康参与者中有 15 人的 IOP 有所降低,证实 SYL 040012 有应用可行性<sup>[77]</sup>。

3.2 递送系统创新 脂质纳米颗粒 (lipidnanoparticle, LNP) 和阳离子聚合物被用于递送 siRNA 或 miRNA,例如 miR-21-5p 通过纳米载体穿透角膜屏障靶向 TM 调控 IOP<sup>[58]</sup>。前房或玻璃体注射 AAV 载体可实现 TM 或 RGC 的特异性转导,而结膜下或巩膜旁注射的效果正在探索中<sup>[78]</sup>。国外报道指出 LNP 的 mRNA 递送为治疗遗传性视网膜变性带来了希望,但 LNP 介导的 mRNA 递送仅限于视网膜色素上皮细胞及 Müller 胶质细胞,LNP 必须克服眼部屏障方可转染对视觉光传导至关重要的神经元细胞<sup>[79]</sup>。

4 结语

POAG 为一种复杂的致盲性眼病,发病隐匿,对视力损害严重,极不利于患者正常工作生活。对 POAG 的发生与基因的关系进行分析,能为临床早期预防及治疗此病提供一定的参考。目前,已鉴定出了多个与 POAG 相关的基因,如 MYOC 基因、OPTN 基因、WDR 36 基因,线粒体功能障碍与氧化应激、表观遗传调控与 POAG 的发展与进展也有关。关于 POAG 的治疗,POAG 的多因素特性要求联合靶向 IOP 调控和神经保护的基因(如同时递送 MMP 3 与 BDNF),目前针对青光眼基因治疗主要聚焦于 AAV 载体优化和 CRISPR 技术应用,基于基因突变类型的个性化治疗方案正在开发中,但 AAV 载体的免疫原性和潜在基因组整合风险仍需进一步评估。相较现有广泛使用的降眼压药物,基因疗法具有长效性和疾病修饰潜力,预计将在未来 5-10 a 内进入临床实践。

利益冲突声明:本文不存在利益冲突。

作者贡献声明:胡昊论文选题与修改,初稿撰写;贾大东论文选题与修改;王旖瑶文献检索,数据分析;梁亮选题指导,论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

[1] Zhang N, Wang JX, Li Y, et al. Prevalence of primary open angle glaucoma in the last 20 years: a meta-analysis and systematic review. Sci Rep, 2021,11(1):13762.

[2] Kalayci M, Cetinkaya E, Erol MK. Prevalence of primary open-angle glaucoma in a Somalia population. Int Ophthalmol, 2021,41(2):581-586.

[3] 黄婧,叶莉彤,罗楠,等. 近视眼合并原发性开角型青光眼患者视野缺损进展的影响因素分析. 中华眼科杂志, 2024,9:736-745.

[4] 徐智科,王玲,魏欣. 180°小梁切开头治疗原发性开角型青光眼合并白内障的临床疗效与安全性. 中国循证医学杂志, 2024,24(7):762-766.

[5] 钟珊,杨卉,何诗,等. 缝线引导 GATT 联合白内障超声乳化术治疗原发性开角型青光眼. 国际眼科杂志, 2023,23(5):804-807.

[6] 刘岳峰,黄肖霞,郭亮,等. 房角镜辅助的 360°小梁切开头治疗中晚期原发性开角型青光眼疗效观察. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2024,26(7):481-488.

[7] Sheffield VC, Stone EM, Alward WL, et al. Genetic linkage of familial open angle glaucoma to chromosome 1q21-Q31. Nat Genet, 1993,4(1):47-50.

[8] Alward WL, Fingert JH, Coote MA, et al. Clinical features associated with mutations in the chromosome 1 open-angle glaucoma gene (GLC1A). N Engl J Med, 1998,338(15):1022-1027.

[9] 李世宏,贺翔鸽,李红运,等. OPTN 基因突变与一原发性开角型青光眼家系的关系研究. 眼科研究, 2004,22(5):521-524.

[10] Monemi S, Spaeth G, DaSilva A, et al. Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1. Hum Mol Genet, 2005,14(6):725-733.

[11] Ayanniyi AA, Mahmoud AO, JohnSam YO, et al. Socio-demographic and clinical profiles of patients with primary open angle glaucoma in Gwagwalada, Nigeria. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2024,24(7):1005-1012.

[12] 周日龙,廖良. 原发性开角型青光眼铁死亡相关基因表达谱的生物信息学分析. 国际眼科杂志, 2023,23(10):1699-1708.

[13] Shamshad A, Kang C, Jenny LA, et al. Translatability barriers between preclinical and clinical trials of AAV gene therapy in inherited retinal diseases. Vis Res, 2023,210:108258.

[14] Jiang JJ, Zhang XR, Tang Y, et al. Progress on ocular siRNA gene-silencing therapy and drug delivery systems. Fundam Clin Pharmacol, 2021,35(1):4-24.

[15] 张孝欢,张丁丁,黄璐琳,等. 散发型原发性开角型青光眼 MYOC 基因的变异分析. 中华医学遗传学杂志, 2019,7:662-665.

[16] 林晓佳. MYOC 基因点突变敲入小鼠模型的建立与表型初步分析. 福建医科大学, 2024.

[17] 孔琛柯,郭建新,刘小云. 原发性开角型青光眼家系 MYOC 基因突变研究. 中国实用眼科杂志, 2013,8:1068-1071.

[18] 王立军,于磊,杜鑫,等. 利用基因芯片技术分析胸腺瘤中基因的变异. 中国肺癌杂志, 2020,23(12):1073-1079.

[19] 闫雪静,武坤,刘谦,等. Myocilin Asn 450 Tyr 突变促进人原代小梁网细胞中细胞外基质蛋白的表达及意义. 眼科, 2019,28(5):374-380.

[20] Silva F, Ferreira F, Faria P, et al. MYOC gene sequencing analysis in primary open-angle glaucoma patients from the centre region of Portugal. Acta Med Port, 2021,34(9):586-591.

[21] Xie JJ, Zhang GW, Cui HY, et al. Penetrance of MYOC gene mutation in primary open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. Ophthalmic Genet, 2022,43(2):240-247.

[22] Vergaro A, Rezková L, Fichtl M, et al. Primary open-angle glaucoma due to mutations in the myoc gene. Cesk Slov Oftalmol, 2022,78(5):242-248.

[23] Zhang X, Zhang D, Huang L, et al. Analysis of MYOC gene variants among sporadic patients with primary open-angle glaucoma. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi, 2019,36(7):662-665.

[24] Li XQ, Xiao XS, Li SQ, et al. Systemic genotype-phenotype analysis of MYOC variants based on exome sequencing and literature review. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2021,10(2):173-182.

- [25] Akbas AC, Erdem E, Bozdogan ST, et al. CYP1B1 and MYOC gene analysis of patients with primary congenital glaucoma in the cukurova region of türkiye. *J Pediatr Genet*, 2024,13(4):277–282.
- [26] 丁喜艳, 王成虎, 曹国凡, 等. 原发性开角型青光眼一家系的基因突变和临床表型分析. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2021, 41(4):604–608.
- [27] 李思媛, 郑娟, 翟玉喜, 等. 原发性开角型青光眼家系致病基因检测及其启动子区域甲基化的关系. *临床眼科杂志*, 2021,29(1):1–4.
- [28] Sarfarazi M, Child A, Stoilova D, et al. Localization of the fourth locus (GLC1E) for adult-onset primary open-angle glaucoma to the 10p15–p14 region. *Am J Hum Genet*, 1998,62(3):641–652.
- [29] Mishra D, Narain P, Dave U, et al. Role of ALS-associated OPTN-K489E mutation in neuronal cell-death regulation. *Mol Cell Neurosci*, 2023,127:103904.
- [30] Wang JJ, Qiu YP, Yang LJ, et al. Preserving mitochondrial homeostasis protects against drug-induced liver injury via inducing OPTN (optineurin)-dependent Mitophagy. *Autophagy*, 2024, 20(12):2677–2696.
- [31] Wen D, Ji YX, Li YY, et al. OPTN gene therapy increases autophagy and protects mitochondria in SOD1-G93A-expressing transgenic mice and cells. *FEBS J*, 2024,291(4):795–813.
- [32] Wang HY, Ye JR, Peng Y, et al. CKLF induces microglial activation via triggering defective mitophagy and mitochondrial dysfunction. *Autophagy*, 2024,20(3):590–613.
- [33] Heo JM, Ordureau A, Paulo JA, et al. The PINK1-PARKIN mitochondrial ubiquitylation pathway drives a program of OPTN/NDP52 recruitment and TBK1 activation to promote mitophagy. *Mol Cell*, 2015, 60(1):7–20.
- [34] Zhao SM, Chen RR, Gao Y, et al. Fundamental roles of the Optineurin gene in the molecular pathology of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Neurosci*, 2023,17:1319706.
- [35] Rezaie T, Child A, Hitchings R, et al. Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science*, 2002,295(5557):1077–1079.
- [36] Leung YF, Fan BJ, Lam DS, et al. Different optineurin mutation pattern in primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003,44(9):3880–3884.
- [37] Xu Y, Liu Y, Chen X, et al. OPTN attenuates the neurotoxicity of abnormal Tau protein by restoring autophagy. *Transl Psychiatry*, 2022, 12(1):230.
- [38] Liu D, Zhao ZY, She YC, et al. TRIM14 inhibits OPTN-mediated autophagic degradation of KDM4D to epigenetically regulate inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022,119(7):e2113454119.
- [39] 兰兰, 雷方. 视神经病变诱导反应蛋白基因与 POAG 发病的关系. *实验与检验医学*, 2020,38(4):649–651,665.
- [40] Swarup G, Sayyad Z. Altered functions and interactions of glaucoma-associated mutants of optineurin. *Front Immunol*, 2018, 9:1287.
- [41] Sears NC, Boese EA, Miller MA, et al. Mendelian genes in primary open angle glaucoma. *Exp Eye Res*, 2019,186:107702.
- [42] Huang CK, Xie LJ, Wu ZG, et al. Detection of mutations in MYOC, OPTN, NTF4, WDR36 and CYP1B1 in Chinese juvenile onset open-angle glaucoma using exome sequencing. *Sci Rep*, 2018,8(1):4498.
- [43] 关孟. 云南原发性开角型青光眼双生子 MYOC、OPTN 基因的突变研究. *昆明医学院*, 2008.
- [44] 石珂, 汪昌运. 江西籍开角型青光眼家系 WDR36 基因突变研究. *实用医学杂志*, 2014,30(8):1185–1188.
- [45] Zhou T, Souzeau E, Siggs OM, et al. Contribution of mutations in known mendelian glaucoma genes to advanced early-onset primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017,58(3):1537–1544.
- [46] Milla E, Laguna J, Alforja MS, et al. Next-generation sequencing-based gene panel tests for the detection of rare variants and hypomorphic alleles associated with primary open-angle glaucoma. *PLoS One*, 2024, 19(1):e0282133.
- [47] Jemmeih S, Malik S, Okashah S, et al. Genetic epidemiology of primary congenital glaucoma in the 22 Arab countries: a systematic review. *Ophthalmic Epidemiol*, 2022,29(1):1–12.
- [48] Meer E, Aleman TS, Ross AG. WDR36-associated neurodegeneration: a case report highlights possible mechanisms of normal tension glaucoma. *Genes (Basel)*, 2021,12(10):1624.
- [49] Anton N, Geamănu A, Iancu R, et al. A mini-review on gene therapy in glaucoma and future directions. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(20):11019.
- [50] Kim J, Kim HS, Chung JH. Molecular mechanisms of mitochondrial DNA release and activation of the cGAS-STING pathway. *Exp Mol Med*, 2023,55(3):510–519.
- [51] Millington-Ward S, Palfi A, Shortall C, et al. AAV-ND11 therapy provides significant benefit to murine and cellular models of glaucoma. *Int J Mol Sci*, 2024,25(16):8876.
- [52] Milanowski P, Kosior-Jarecka E, Łukasik U, et al. Associations between OPA1, MFN1, and MFN2 polymorphisms and primary open angle glaucoma in Polish participants of European ancestry. *Ophthalmic Genet*, 2022,43(1):42–47.
- [53] Vallabh NA, Lane B, Simpson D, et al. Massively parallel sequencing of mitochondrial genome in primary open angle glaucoma identifies somatically acquired mitochondrial mutations in ocular tissue. *Sci Rep*, 2024,14(1):26324.
- [54] Vlasova AS, Malishevskaya TN, Petrov SA, et al. The role of mitochondrial dysfunction in the stabilization of the glaucomatous process. *Vestn Oftalmol*, 2024,140(4):49–58.
- [55] Zhou DB, Castanos MV, Geyman L, et al. Mitochondrial dysfunction in primary open-angle glaucoma characterized by flavoprotein fluorescence at the optic nerve head. *Ophthalmol Glaucoma*, 2022, 5(4):413–420.
- [56] Tabak S, Schreiber-Avissar S, Beit-Yannai E. Crosstalk between microRNA and oxidative stress in primary open-angle glaucoma. *Int J Mol Sci*, 2021,22(5):2421.
- [57] Lem DW, Gierhart DL, Davey PG. Carotenoids in the management of glaucoma: a systematic review of the evidence. *Nutrients*, 2021,13(6):1949.
- [58] Han BZ, Zhang R, Li LP, et al. Reduction-responsive polymeric micelles for trans-corneal targeted delivery of microRNA-21-5p and glaucoma-specific gene therapy. *J Mater Chem B*, 2023,11(43):10433–10445.
- [59] D'Esposito F, Gagliano C, Bloom P, et al. Epigenetics in glaucoma. *Medicina*, 2024,60(6):905.
- [60] Borrás T, Stepankoff M, Danias J. Genes as drugs for glaucoma: latest advances. *Curr Opin Ophthalmol*, 2024,35(2):131–137.
- [61] Henderson J, O'Callaghan J, Campbell M. Gene therapy for glaucoma: Targeting key mechanisms. *Vis Res*, 2024,225:108502.
- [62] O'Callaghan J, Delaney C, O'Connor M, et al. Matrix metalloproteinase-3 (MMP-3)-mediated gene therapy for glaucoma. *Sci Adv*, 2023,9(16):eadf6537.
- [63] Ciociola EC, Fernandez E, Kaufmann M, et al. Future directions of glaucoma treatment: emerging gene, neuroprotection, nanomedicine, stem cell, and vascular therapies. *Curr Opin Ophthalmol*, 2024,35(2):89–96.
- [64] Al-Mahdi R, Stangvaltaite-Mouhat L, Aleksejuniene J, et al. Association between carbonic anhydrase VI gene copy number variations and dental caries experience. *Caries Res*, 2023,57(1):67–73.
- [65] Wu JH, Bell OH, Copland DA, et al. Gene therapy for glaucoma by ciliary body aquaporin 1 disruption using CRISPR-Cas9. *Mol Ther*,

2020,28(3):820–829.

[66] Sulak R, Liu XN, Smedowski A. The concept of gene therapy for glaucoma: the dream that has not come true yet. *Neural Regen Res*, 2024,19(1):92–99.

[67] Donahue RJ, Fehrman RL, Gustafson JR, et al. BCLXL gene therapy moderates neuropathology in the DBA/2J mouse model of inherited glaucoma. *Cell Death Dis*, 2021,12(8):781.

[68] Rhee J, Shih KC. Use of gene therapy in retinal ganglion cell neuroprotection: current concepts and future directions. *Biomolecules*, 2021,11(4):581.

[69] Fang F, Zhuang P, Feng X, et al. NMNAT2 is downregulated in glaucomatous RGCs, and RGC – specific gene therapy rescues neurodegeneration and visual function. *Mol Ther*, 2022, 30 ( 4 ): 1421–1431.

[70] Xuejiao Y, Junwei Y. New strategies for neuro protection in glaucoma. *Front Cell Dev Biol*, 2022,10:983195.

[71] Bosco A, Anderson SR, Breen KT, et al. Complement C3 – targeted gene therapy restricts onset and progression of neurodegeneration in chronic mouse glaucoma. *Mol Ther*, 2018,26(10):2379–2396.

[72] Miller PE, Eaton JS. Medical anti–glaucoma therapy: beyond the drop. *Vet Ophthalmol*, 2021,24(Suppl 1):2–15.

[73] Zheng NN, Li LY, Wang XD. Molecular mechanisms, off–target activities, and clinical potentials of genome editing systems. *Clin Transl Med*, 2020,10(1):412–426.

[74] Naeem M, Majeed S, Hoque MZ, et al. Latest developed strategies to minimize the off–target effects in CRISPR – cas – mediated genome editing. *Cells*, 2020,9(7):1608.

[75] Risner ML, Pasini S, Chamling X, et al. Intrinsic morphologic and physiologic development of human derived retinal ganglion cells *in vitro*. *Transl Vis Sci Technol*, 2021,10(10):1.

[76] Ameri H, Kesavamoorthy N, Bruce DN. Frequency and pattern of worldwide ocular gene therapy clinical trials up to 2022. *Biomedicines*, 2023,11(12):3124.

[77] Moreno-Montañés J, Sádaba B, Ruz V, et al. Phase I clinical trial of SYL040012, a small interfering RNA targeting  $\beta$ –adrenergic receptor 2, for lowering intraocular pressure. *Mol Ther*, 2014,22(1):226–232.

[78] Xia X, Guo XZ. Adeno–associated virus vectors for retinal gene therapy in basic research and clinical studies. *Front Med ( Lausanne )*, 2023,10:1310050.

[79] Herrera–Barrera M, Ryals RC, Gautam M, et al. Peptide–guided lipid nanoparticles deliver mRNA to the neural retina of rodents and nonhuman Primates. *Sci Adv*, 2023,9(2):eadd4623.