

病理性近视与 LAMA1 基因相关性的研究

游 江

基金项目:湖南省科学技术厅科技计划项目(No. 2011FJ6001)
作者单位:(410011)中国湖南省长沙市,中南大学湘雅二医院眼科 中南大学湘雅二医院眼病研究所
作者简介:游江,博士,副主任医师,研究方向:眼底病。
通讯作者:游江. jane_you@163.com
收稿日期:2013-03-18 修回日期:2013-06-07

Relationship between pathological myopia and the LAMA1 gene

Jiang You

Foundation item: Project of Science and Technology Bureau of Hunan Province, China(No. 2011FJ6001)
Department of Ophthalmology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China
Correspondence to: Jiang You. Department of Ophthalmology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China. jane_you@163.com
Received:2013-03-18 Accepted:2013-06-07

Abstract

• **AIM:** To investigate the relationship between pathological myopia and the LAMA1 gene.
• **METHODS:** Individuals with pathological myopia and control subjects of Chinese Southern Han were selected. Genomic DNA was collected from 5mL peripheral blood, then the exon27, exon36 in the LAMA1 gene were analyzed by polymerase chain reaction (PCR) and direct sequencing. Allele frequencies were tested for Hardy-Weinberg equilibrium (HWE). The χ^2 Fisher test was conducted to investigate the genotypic and allelic distribution between the pathological myopia and control groups.
• **RESULTS:** In this study, no gene mutation was identified in the exon27, exon36 in the LAMA1 gene.
• **CONCLUSION:** The relationship between pathological myopia and the LAMA1 gene is still waiting for the further proof.
• **KEYWORDS:** pathological myopia; LAMA1 gene

Citation: You J. Relationship between pathological myopia and the LAMA1 gene. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2013;13(7):1320-1321

摘要

目的:探讨病理性近视与 LAMA1 基因之间的相关性。
方法:收集汉族病理性近视患者及正常人外周静脉血,提取全基因组 DNA,采用聚合酶链反应-单链构象多态性方法,对标本中 LAMA1 基因第 27 外显子、第 36 外显子的基因序列进行扩增及直接测序分析,应用 SHEsis 软件检验两组样本是否符合哈迪-温伯格平衡(Hardy Weinberg Equilibrium,HWE),通过 Fisher 确切概率检验病理性近视

与 LAMA1 基因的相关性。

结果:本研究中 LAMA1 基因第 27 外显子、第 36 外显子未发现有意义的突变。

结论:LAMA1 是否可被确认为病理性近视的致病基因尚需更深入的探究。

关键词:病理性近视;LAMA1 基因

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.07.06

引用:游江.病理性近视与 LAMA1 基因相关性的研究.国际眼科杂志 2013;13(7):1320-1321

0 引言

病理性近视是指屈光度 $>-6.00D$,近视度数持续加深,且常有眼后极部改变,包括巩膜变薄、脉络膜视网膜萎缩及眼轴增长等,可伴有弱视、青光眼、白内障、玻璃体混浊、视网膜脱离等多种并发症的致盲性眼病。我国近视人口数已超过 3 亿,其中病理性近视超过 1000 万^[1]。

病理性近视的发病机制非常复杂,确切病因尚未清楚,而遗传因素在其发病中所起的重要作用已得到了公认,其致病基因的研究已成为广泛关注的热点^[2,3]。LAMA1 基因定位于 MYP2 基因座上,目前被认为是最具吸引力的病理性近视候选基因之一。本研究检测病理性近视患者及正常人静脉血中 LAMA1 基因第 27 外显子、第 36 外显子的基因序列进行对照研究,探讨病理性近视与 LAMA1 基因之间的相关性。

1 对象和方法

1.1 对象

1.1.1 病理性近视组 选择自愿来我院眼科就诊的南方汉族病理性近视患者。本组入选 50 例(均为散发),其中男 27 例,女 23 例。入选条件:(1)检影加验光仪测屈光度: $-6.50 \sim -21.50$ (平均 -11.5)D;(2)年龄:18~61(平均 39.5)岁;(3)A 型超声测量仪测眼轴长:26.93~32.11(平均 28.12)mm;(4)眼底改变:后极部视网膜、脉络膜萎缩灶、后巩膜葡萄肿等;(5)排除病理性近视相关全身性疾病如 Stickler 综合征、Marfan 综合征及自身免疫性疾病等;(6)汉族人群;(7)籍贯为南方地区。

1.1.2 正常对照组 正常组为患者家属及我院眼科研究生。本组入选 26 例,其中男 15 例,女 11 例。入选条件:(1)检影加验光仪测屈光 $+2.00 \sim -1.00D$;(2)年龄:20~62(平均 38.3)岁;(3)A 型超声测量仪测眼轴长 23.02~24.32(平均 23.98)mm;(4)眼底:不伴有病理性近视眼底改变;(5)排除相关全身性疾病:如 Stickler 综合征、Marfan 综合征及自身免疫性疾病等;(6)汉族人群;(7)籍贯为南方地区。

1.2 方法 采集病理性近视患者及正常人的外周静脉血,提取全基因组 DNA,采用聚合酶链反应-单链构象多态性方法,对标本中 LAMA1 基因第 27 外显子、第 36 外显子的基因序列进行扩增及直接测序分析。引物设计:(1) LAMA1-27F: 5'-AGGTTTCAGGAGGTCCTTGTGTC-3'; LAMA1-

27R: 5' - TTCGCACATTCCATAATGATAT - 3', 446bp。(2) LAMA1-36F: 5' - GCTTAGCTAAACAGAGCAGTCC - 3'; LAMA1-36R: 5' - AGCACTTTTCTTCCACGATG - 3', 363bp。实验流程: (1)采集病理性近视患者及正常人的外周静脉血各 5mL, 置于含 EDTA 抗凝剂的试管中,于-80℃超低温保存; (2)制备外周血基因组 DNA(试剂盒方法); (3)紫外分光光度法测定 DNA 浓度和纯度; (4)PCR 扩增目的基因片断; (5)琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物; (6)PCR 产物纯化及直接测序。

统计学分析:使用 SHEsis 软件进行卡方检验以验证病例组及对照组样本是否符合哈迪-温伯格平衡,用 Fisher 确切概率检验病例组及对照组之间突变位点的基因型及等位基因频率是否存在差异, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PCR 扩增产物 所有病理性近视患者和正常对照组均扩增出目的片断 DNA 条带,与 DNA 分子量 Marker 对照证明 PCR 扩增的 DNA 产物大小与引物设计吻合(图 1)。

2.2 PCR 测序结果 通过 PCR 产物纯化回收试剂盒测序,标本中 LAMA1 基因第 27 外显子、第 36 外显子未发现有意义的突变。

3 讨论

病理性近视的发病机制已研究多年,目前公认是遗传、环境多因素共同作用所致。经大量研究发现,病理性近视的遗传方式极其复杂,可能是由多基因和/或不同单基因所导致的疾病,有常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传、X 性连锁隐性遗传等多种遗传方式,其中以常染色体隐性遗传最常见^[3-6]。

近年来,国内外的研究者对病理性近视的遗传学研究进一步深入,使用全基因组扫描和候选基因筛查、家系连锁分析等方法,对病理性近视进行了相关基因定位和候选基因克隆定位的工作。至今为止,已报道的与病理性近视相关的基因位点共有 10 个,分别是 Xq28(MYP1),18p11.31(MYP2),12q21-q23(MYP3),7q36(MYP4),17q21-q22(MYP5),4q22-q27,2q37.1,Xq23-q25,15q12-13 和 5p15.33-p15.2^[7,8]。

层粘连蛋白(laminin, LN)是一种重要的细胞外基质,也是胚胎发生时期产生最早、最重要的蛋白分子之一。LN 广泛存在于人类的各种组织中,不仅在基质成分之间以及细胞之间起连接作用,在细胞黏附、迁移、生长和分化方面也起到调控作用。LN 是由 α (重链)、 β (轻链)、 γ (轻链)3 条多肽链构成的三聚体, α 、 β 、 γ 链分别由 LAMA1, LAMB1, LAMC1 三种位于不同染色体上的不同基因所编码。迄今为止已有 8 种不同的 LN 链($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\gamma 1$, $\gamma 2$)被确认,它们以二硫键的形式结合在一起,其中 $\alpha 1$ 链在维系 LN 的结构和功能上起着主要的作用。大量研究显示,巩膜与病理性近视的关系密切。有学者近年在人巩膜的耐酸纤维和弹力微纤维中发现了 LN。经研究发现,LN 能够维持巩膜的弹性,具有连接巩膜层内及各层间微纤维和胶原纤维的作用,对巩膜的组织结构和功能有重要的作用。巩膜组织中 LN 减少或分布异常均可导致巩膜结构及韧性改变,在眼内压的作用下造成巩膜壁变薄、眼轴增长等,这些变化可能参与了病理性近视的形成。

LAMA1 基因定位于 MYP2 基因座上,位于 18p11.31 区域内,全长 175 928bp,有 62 个外显子,可在全身大多数组织中表达^[9,10]。LAMA1 基因编码 LN $\alpha 1$ 链,后者对维

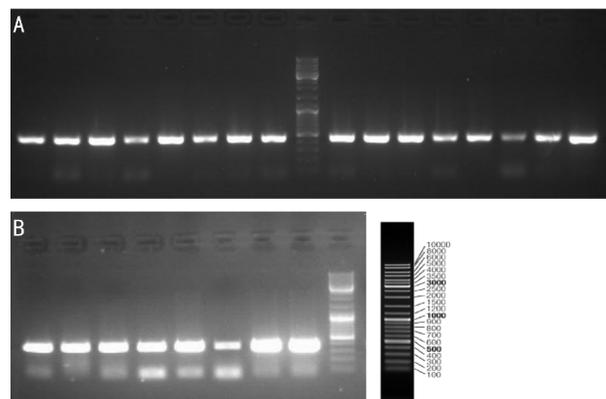


图 1 PCR 扩增的 DNA 产物 A:LAMA1-27;B:LAMA1-36。

持 LN 的结构和功能起重要作用,因此 LAMA1 基因若出现突变或发生表达异常,都可能影响 LN 的合成、结构、分布和功能。有研究显示,病理性近视巩膜中 LAMA1 基因转录水平明显低于非近视巩膜,进而可能导致 LN 合成减少,巩膜结构及韧性改变,造成眼轴加长、巩膜壁变薄等。因此 LAMA1 基因被认为是最具吸引力的病理性近视候选基因之一^[11]。

很多研究显示,病理性近视遗传方式有很强的异质性,寻找其致病基因相当困难^[12,13]。在本研究中,我们采用聚合酶链反应-单链构象多态性方法,对 50 例病理性近视患者及 26 例正常人外周静脉血提取全基因组 DNA 进行对照研究。结果 LAMA1 基因第 27 外显子、第 36 外显子未发现有意义的突变。LAMA1 基因与病理性近视是否具有相关性,是否是病理性近视的致病基因,有待于进一步的研究。

参考文献

- 汪芳润. 近视眼. 上海:上海医科大学出版社 2008; 13-20
- Morgan IG, Ohno-Matsui K, Saw SM. Myopia. *Lancet* 2012;5:1739-1748
- Zhuang W, Yang P, Li Z, et al. Association of insulin-like growth factor-1 polymorphisms with high myopia in the Chinese population. *Mol Vis* 2012;18:634-644
- 杨俊林,吴晋晖. 病理性近视遗传学研究. *国际眼科杂志* 2010;10(7):1341-1343
- 刘影,樊莹. 病理性近视的研究进展. *眼视光学杂志* 2008;(1):74-77
- 彭海鹰,刘陇黔,夏庆杰,等. 常染色体显性遗传高度近视一家系与 MYP3 基因连锁分析. *眼科研究* 2010;28(7):615-616
- Mutti DO, Cooper ME, O'Brien S, et al. Candidate gene and locus analysis of myopia. *Mol Vis* 2007;13:1012-1019
- Zhang F, Zhu T, Zhou Z, et al. Association of lumican gene with susceptibility to pathological myopia in the northern han ethnic chinese. *J Ophthalmol* 2009;2009:514306
- Zhao YY, Zhang FJ, Zhu SQ, et al. The association of a single nucleotide polymorphism in the promoter region of the LAMA1 gene with susceptibility to Chinese high myopia. *Mol Vis* 2011;17:1003-1010
- Sasaki S, Ota M, Meguro A, et al. A single nucleotide polymorphism analysis of the LAMA1 gene in Japanese patients with high myopia. *Clin Ophthalmol* 2007;1(3):289-295
- 张丰菊,黄立,李宏,等. LAMA1 基因与单纯性高度近视的相关性研究. *眼视光学杂志* 2008;10(1):6-9
- Solouki AM, Verhoeven VJ, van Duijn CM, et al. A genome-wide association study identifies a susceptibility locus for refractive errors and myopia at 15q14. *Nat Genet* 2010;42(10):897-901
- Hawthorne FA, Young TL. Genetic contributions to myopic refractive error: Insights from human studies and supporting evidence from animal models. *Exp Eye Res* 2013; [Epub ahead of print]