

新疆维吾尔族人剥脱综合征与 LOXL1 基因变异的关系

徐晓燕¹, 谢小东¹, 古丽努尔·买买提¹, 张艳君², 丁琳¹, 万新娟¹, 宋艳¹

作者单位: (830001) 中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 新疆维吾尔自治区人民医院¹眼科; ²临床研究中心

作者简介: 徐晓燕, 毕业于石河子医科大学, 主任医师, 研究方向: 青光眼、屈光。

通讯作者: 徐晓燕. xuxy566@163.com

收稿日期: 2013-09-18 修回日期: 2013-12-09

Relationship between genetic variation of LOXL1 and pseudoexfoliation syndrome in Uygur of Xinjiang

Xiao-Yan Xu¹, Xiao-Dong Xie¹, Gulnuer · Maimaiti¹, Yan-Jun Zhang², Lin Ding¹, Xin-Juan Wan¹, Yan Song¹

¹Department of Ophthalmology; ²Clinical Research Center, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumchi 830001, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Xiao-Yan Xu. Department of Ophthalmology, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumchi 830001, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. xuxy566@163.com

Received: 2013-09-18 Accepted: 2013-12-09

Abstract

• AIM: To investigate the relationship between genetic variations of LOXL1 gene and pseudoexfoliation syndrome in Chinese Uygur population.

• METHODS: Fifty patients with exfoliation syndrome (case group, including 39 males and 11 females) and 58 cases of normal individuals (control group, including 40 males and 18 females) were randomly selected. Genomic DNA was extracted and 3 single nucleotide polymorphisms (*rs1048661*, *rs2165241* and *rs3825942*) of LOXL1 gene were genotyped using PCR - sequencing technology for all subjects. Then a case-control study was conducted.

• RESULTS: The average age of the case group was higher than that of the control group ($P = 0.039$). The distribution of the genotypes of *rs1048661* and *rs3825942* polymorphism was similar between case and controls ($P = 0.196$, $P = 0.584$). The CT and TT genotype frequency of *rs2165241* were significantly higher in case group than that of the control group ($P = 0.001$). After adjustment for age and gender, the odds ratio of exfoliation syndrome was 2.850 for carriers of the CT genotype ($P = 0.029$), and 13.398 for carriers of the TT genotype ($P = 0.001$).

• CONCLUSION: The genetic variations of LOXL1 gene (*rs2165241*) may be associated with the exfoliation syndrome in Uygur. T allele may be the risk factor for the predisposing of exfoliation syndrome in Uygur.

• KEYWORDS: pseudoexfoliation syndrome; variation (genetics); minority groups

Citation: Xu XY, Xie XD, Maimaiti G, et al. Relationship between genetic variation of LOXL1 and pseudoexfoliation syndrome in Uygur of Xinjiang. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014; 14 (1):41-44

摘要

目的: 探讨新疆维吾尔族人剥脱综合征与 LOXL1 基因变异的相关性。

方法: 以新疆维吾尔族为研究对象进行病例-对照研究, 共纳入 50 例剥脱综合征者 (病例组, 男 39 例, 女 11 例) 及 58 例正常人 (对照组, 男 40 例, 女 18 例), 提取基因组 DNA, 采用 PCR 产物测序技术对 LOXL1 基因的 3 个变异位点 (*rs1048661*, *rs2165241* 和 *rs3825942*) 进行分型, 并分析其与维吾尔族人剥脱综合征的关系。

结果: 病例组的平均年龄高于对照组 ($P = 0.039$)。病例组中 *rs2165241* 位点的 CT、TT 基因型频率高于对照组, 差异有统计学意义 ($P = 0.001$); *rs1048661*、*rs3825942* 位点的不同基因型分布频率在病例组、对照组间差异均无统计学意义 ($P = 0.196$, $P = 0.584$)。在校正了年龄、性别后, *rs2165241* 位点的 CT 基因型携带者的剥脱综合征发病风险为 2.850 ($P = 0.029$), TT 基因型携带者的剥脱综合征发病风险为 13.398 ($P = 0.001$)。

结论: LOXL1 基因变异 (*rs2165241*) 可能与维吾尔族人剥脱综合征相关, T 等位基因可能是新疆维吾尔族人剥脱综合征的易感因素。

关键词: 剥脱综合征; 变异 (遗传学); 少数民族

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2014.01.11

引用: 徐晓燕, 谢小东, 古丽努尔·买买提, 等. 新疆维吾尔族人剥脱综合征与 LOXL1 基因变异的关系. 国际眼科杂志 2014; 14(1):41-44

0 引言

剥脱综合征 (pseudoexfoliation syndrome, PEX) 又称假性剥脱综合征, 是一种以纤维状物质在眼部许多部位及皮肤、内脏器官的结缔组织中产生和沉着为特征的细胞外基质代谢异常性系统性疾病。多见于 60 岁以上人群, 患病率随年龄增长而升高, 常并发白内障及青光眼^[1,2], 其分布有明显种族及地域特征^[3-9]。在我国汉族人中为罕见疾病, 为 0.2% ~ 0.7%^[9], 而维吾尔族可能为 PEX 高发人群^[7,8]。

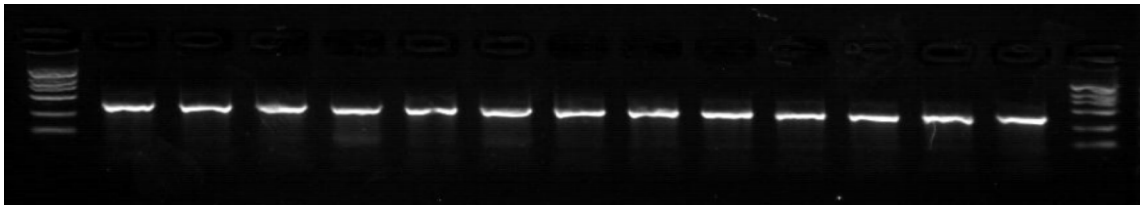


图1 2号SNP位点引物扩增产物。

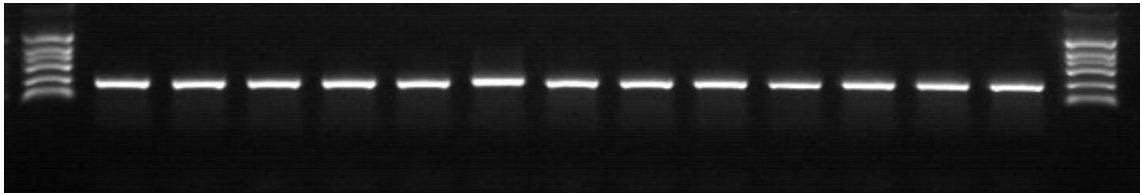


图2 1,3号SNP位点引物扩增结果。

近年来,PEX遗传机制的研究越来越重视^[10]。研究发现人类染色体15q24.1区域是PEX的易感区域,而人类第15号染色体上包含一个名为类赖氨酰氧化酶1(lysyl oxidase-like 1, LOXL1)基因备受关注^[3]。研究表明LOXL1基因的3个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)(rs1048661, rs2165241和rs3825942)与冰岛、瑞典人的PEX相关,而在各种族间与PEX相关的LOXL1基因SNPs位点有所差异^[3,10-21]。但迄今未见LOXL1基因变异与维吾尔族PEX的关联研究。因此本研究采用病例-对照设计,对收集到的维吾尔族PEX患者及正常对照者的外周血提取基因组DNA,并采用对PCR产物测序方法对LOXL1基因的3个SNPs(rs1048661、rs2165241和rs3825942)基因型分型,研究新疆维吾尔族人PEX与LOXL1基因变异的相关性,寻找维吾尔族人PEX的分子遗传标志,为早期发现易感者及临床有效防治PEX、减少眼盲发病率提供有力依据。

1 对象和方法

1.1 对象

年龄 ≥ 60 岁新疆维吾尔族人,排除其他原因导致的眼盲、视力下降,严重或急性期的心、脑、肝、肾疾病者。病例组:新疆维吾尔自治区人民医院就诊的维吾尔族PEX患者50例(男39例,女11例);对照组:选取新疆维吾尔自治区人民医院体检中心的体检的维吾尔族人58例(男40例,女18例)。所有研究对象均签署知情同意书,并通过新疆维吾尔自治区人民医院医学伦理委员会审查,同意实施。由经过统一培训、精通维吾尔语的眼科专业医师填写表格、询问病史,收集人口学资料。

1.2 方法

1.2.1 研究方法

(1)询问病史:内容包括一般信息、PEX家族史、用眼情况、其他眼病史及其他疾病治疗史等。(2)体格检查:包括视力、裂隙灯、眼压检查等。PEX患者诊断标准:裂隙灯显微镜下检查表现:瞳孔缘存在典型灰白色小片状剥脱物碎屑,瞳孔缘色素部分或全部缺失,扩瞳后见晶状体前囊表面剥脱物沉积呈三个区分布:瞳孔区呈圆盘状,周边区呈环形颗粒状,中间为透明区,无剥脱物沉积。(3)收集血液标本:所有研究对象均抽取空腹状态下全血5mL,现场离心,分离血浆及血细胞,血细胞 -80°C 保存待提取基因组DNA。

1.2.2 分子生物学研究方法

(1)采用PAXgene Blood DNA kit试剂盒(QIAGEN公司,德国),提取研究对象外周血基因组DNA;(2)使用DL9700型PCR仪(北京东林昌盛生物科技有限公司),采用PCR产物测序技术,对50例剥脱综合征者(女11例,男39例)及58例(男40例,女18例)研究对象进行基因分型;(3)PCR反应体系:总体积 $50\mu\text{L}$,其中Taq酶 $1\mu\text{L}$ 、 $10\times\text{Taq buffer } 5\mu\text{L}$ 、 $10\mu\text{M dNTP } 1\mu\text{L}$ 、 $1\text{F1 } 1\mu\text{L}$ 、 $1\text{R1 } 1\mu\text{L}$ 、DNA模板 $1\mu\text{L}$ 、去离子水加至 $50\mu\text{L}$ 。PCR反应条件:预变性(94°C 、3min、1个循环),变性(94°C 、30s)+退火(49°C 、30s)+延伸(72°C 、25s)30个循环,总延伸(72°C 、10min、1个循环)。

1.2.3 测序

将PCR回收产物用ABI 3730测序仪测序,CR扩增结果:经过PCR扩增,1,2,3号SNP位点扩增的图片如图1,2所示。

统计学分析:采用SPSS 17.0软件包进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验。计数资料采用率或构成比表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用Logistic回归分析校正年龄、性别的影响后分析不同基因型间PEX发病风险的差异。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义(在分析不同基因型与PEX相关性时,因本文分析了3个SNPs,故校正 $P=0.017$)。

2 结果

2.1 两组临床资料的比较

病例组的平均年龄高于对照组($P=0.039$),病例组与对照组间性别构成差异无统计学意义($P=0.291$),见表1。

2.2 两组3个变异位点基因型频率的比较

病例组与对照组之间的rs1048661、rs3825942的基因型频率分布差异均无统计学意义($P=0.196$, $P=0.584$);rs2165241基因型频率分布差异有统计学意义($P=0.001$),rs2165241位点的杂合子(C/T),突变纯合子(T/T)在病例组分布频率高于对照组,差异有统计学意义($P=0.001$),见表2。

2.3 rs2165241变异对PEX发病风险的影响

在校正了年龄、性别后,Logistic回归分析结果提示rs2165241位点的CT基因型携带者的PEX发病风险为2.850($P=0.029$,表3),TT基因型携带者的PEX发病风险为13.389($P=0.001$,表3)。

表1 两组之间临床资料的比较

项目	对照组 (n=58)	病例组 (n=50)	t	P
男性[例(%)]	40(69.0)	39(78.0)	1.116	0.291
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	70.2 \pm 5.4	72.8 \pm 7.3	2.094	0.039

表2 两组之间代表性变异位点基因型频率的比较 [例(%)]

变异位点	基因型	对照组 (n=58)	病例组 (n=50)	χ^2	P
rs1048661	C/C	23(39.7)	24(48.0)	3.256	0.196
	C/A	13(22.4)	15(30.0)		
	A/A	22(37.9)	11(22.0)		
rs2165241	C/C	29(51.8)	11(22.9)	14.71	0.001
	C/T	24(42.9)	23(47.9)		
	T/T	3(5.4)	14(29.2)		
rs3825942	C/C	47(81.0)	39(78.0)	1.074	0.584
	C/T	7(12.1)	9(18.0)		
	T/T	4(6.9)	4(4.0)		

表3 rs2165241 变异对 PEX 发病风险的影响

	B	SE	OR	95% CI	P	
rs2165241	CC	-	1	-	0.002	
	CT	1.047	0.478	2.850	1.116~7.278	0.029
	TT	2.594	0.748	13.389	3.088~58.059	0.001
年龄	0.076	0.034	1.078	1.008~1.154	0.028	
常量	-6.436	2.537	0.002		0.011	

3 讨论

眼盲和视力损害是世界范围内的共同难题,PEX 是白内障、青光眼等“光明杀手”的病因之一。PEX 发病隐匿,患者常并发白内障、青光眼严重影响视力才来就诊,失去最佳治疗时机而致盲,国内外已有大量文献报道 PEX 分布有明显种族及地域特征^[3-9],患病率:0~20%,芬兰:22%^[9],冰岛:29%^[9],而格陵兰岛爱斯基摩人:0^[5],在我国为汉族人少见疾病,香港报道 60 岁以上患病率为 0.4%^[6];新加坡也证实 PEX 在当地华人中较为少见,患病率为 0.7%^[6]。肖林等^[7]在新疆喀什地区(维吾尔族聚居地区)3mo 时间发现维吾尔族 PEX 患者 74 例,作者在 2006/2007 年共诊断 PEX 患者 18 例,其中维吾尔族 16 例^[8],虽然迄今为止仍然缺乏流行病学调查证据的支持,但可以推测维吾尔族可能为 PEX 高发人群。

2007 年 Science 发表文章首次阐述了 LOXL1 基因 SNPs 变异与 PEX 的相关性^[3],LOXL1 基因编码的蛋白质与弹性纤维的形成有关,而弹性纤维如果在眼部异常积聚导致眼压升高,就会诱发剥脱性青光眼。这项研究发现 LOXL1 基因的 3 个 SNPs (rs1048661、rs2165241 和 rs3825942)与冰岛、瑞典人的 PEX 相关,携带突变型等位基因的人患 PEX 风险是野生型的 100 倍^[3]。随后此研究在不同人群中展开,包括美国、中欧、印度、日本、澳大利亚、拉丁美洲、波兰和中国汉族等^[3,11-19]。在各种族间与 PEX 相关的 LOXL1 基因 SNPs 位点有所差异。如 Ramprasad 等^[14]证实 LOXL1 基因的 rs3825942 位点变异

与印度人群 PEX 有密切关系。而 rs3825942 和 rs1048661 位点变异与日本人群 PEX 性青光眼相关^[13]。本研究中 PEX 组与对照组之间的 rs1048661、rs3825942 基因型频率差异均无统计学意义($P=0.196, P=0.584$),rs2165241 基因型频率差异有统计学意义($P=0.001$)。rs2165241 位点的杂合子(C/T),突变纯合子(T/T)在 PEX 组分布频率高于对照组,差异有统计学意义($P=0.001$),在校正了年龄、性别后,rs2165241 位点变异的 CT 基因型携带者患 PEX 的发病风险为 2.850($P=0.029$),TT 基因型携带者患 PEX 的发病风险为 13.398($P=0.001$)。因此 LOXL1 基因的 rs2165241 位点变异与新疆维吾尔族人 PEX 相关,T 等位基因可能是新疆维吾尔族人 PEX 易感因素。

研究表明,关联研究常受到各种混杂因素的干扰,群体分层是由遗传背景不一的亚人群混合所致,在进行病例-对照的关联研究时,尽可能排除群体分层的干扰显得尤为重要,如尽可能选择一个遗传上相对均质的群体等。新疆维吾尔族为相对隔离群体,遗传背景较为单一,居住相对集中和固定,是研究 PEX 理想人群,本研究组和对照组样本均来自于同一地区、同一个遗传上相对均质的相对隔离群体。因此本研究结论是相对可信的,本研究样本量相对较小,在今后的研究中尚需要进一步扩大样本量验证。此外 PEX 是多基因变异共同作用所致,每一个基因的单个位点变异对疾病的易感性可能不足以致病或只产生微弱的作用,因此有必要进一步研究基因-基因、基因-环境间的交互作用在 PEX 发病中的作用。

参考文献

- Elhawry E, Kamthan G, Dong CQ, et al. Pseudoexfoliation syndrome, a systemic disorder with ocular manifestations. *Hum Genomics* 2012; 6:22
- Schlotzer - Schrehardt U, Naumann GO. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 2006;141:921-937
- Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, et al. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science* 2007;317:1397-1400
- Challa P, Schmidt S, Liu Y, et al. Analysis of LOXL1 polymorphisms in a United States population with pseudoexfoliation glaucoma. *Mol Vis* 2008;14:146-149
- Challa P. Genetics of pseudoexfoliation syndrome. *Curr Opin Ophthalmol* 2009;20:88-91
- Young AL, Tang WW, Lam DS. The prevalence of pseudoexfoliation syndrome in Chinese people. *Br J Ophthalmol* 2004;88:193-195
- 肖林,刘利,张婕,等.新疆喀什地区假性剥脱综合征白内障复明手术探讨. *眼外伤职业眼病杂志* 2006;28(7):485-486
- 徐晓燕,赵秀蓉,等.新疆维吾尔族剥脱综合征的临床观察. *新疆医学* 2008;6:570-572
- Foster PJ, Seah SK. The prevalence of pseudoexfoliation syndrome in Chinese people: the Tanjong Pagar Survey. *Br J Ophthalmol* 2005;89:239-240
- Schlötzer SU. Genetics and genomics of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2011;18(1):30-36
- Jaimes M, Rivera-Parra D, Miranda-Duarte A, et al. Prevalence of high - risk alleles in the LOXL1 gene and its association with

pseudoexfoliation syndrome and exfoliation glaucoma in a Latin American population. *Ophthalmic Genet* 2012 ;33(1):12-17

12 Fingert JH, Alward WL, Kwon YH, et al. LOXLI mutations are associated with exfoliation syndrome in patients from the midwestern United States. *Am J Ophthalmol* 2007;144:974-975

13 Ozaki M, Lee KY, Vithana EN, et al. Association of LOXLI gene polymorphisms with pseudoexfoliation in the Japanese. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008 ;49(9):3976-3980

14 Ramprasad VL, George R, Soumitra N, et al. Association of non-synonymous single nucleotide polymorphisms in the LOXLI gene with pseudoexfoliation syndrome in India. *Mol Vis* 2008;14:318-322

15 Pasutto F, Krumbiegel M, Mardin CY, et al. Association of LOXLI common sequence variants in German and Italian patients with Pseudoexfoliation syndrome and Pseudoexfoliation glaucoma. *Invest*

Ophthalmol Vis Sci 2008;49:1459-1463

16 Aragon-Martin JA, Ritch R, Liebmann J, et al. Evaluation of LOXLI gene polymorphisms in exfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Mol Vis* 2008;14:533-541

17 Fan BJ, Pasquale L, Grosskreutz CL, et al. DNA sequence variants in the LOXLI gene are associated with pseudoexfoliation glaucoma in a U. S. clinic-based population with broad ethnic diversity. *BMC Med Genet* 2008;9:5

18 Mossbock G, Renner W, Faschinger C, et al. Lysyl oxidase-like protein 1 (LOXLI) gene polymorphisms and exfoliation glaucoma in a Central European population. *Mol Vis* 2008;14:857-861

19 Malukiewicz G, Lesiewska-Junk H, Linkowska K, et al. Analysis of LOXLI single nucleotide polymorphisms in Polish population with pseudoexfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol* 2011; 89(1):e64-66

科技期刊对论文题目的要求

题名,是论文的总纲,是能反映论文最主要的特定内容的最恰当、最简明的词语的逻辑组合。

首先,题名应准确得体。应以最恰当的词语反映论文的特定内容,把论文的主题明白无误地告诉读者,并且使之起到画龙点睛、启迪读者阅读兴趣的作用。题目的用词十分重要,它直接关系到读者对论文取舍的态度,务必字字斟酌。题名不能使用笼统和华而不实的词语,一般也不用主、谓、宾齐全的完整句子,而用以名词性词组做中心语的偏正词组并切忌写成标语口号似的“题名”。

其次,题名应简短精练。GB/T 7713-1987规定,论文题名一般不超过20个汉字。在拟定题名或编辑加工时,应删去多余的词语,避免存在无用的字和词。这是为了醒目,便于记忆和引用。使用简短的题名而语意未尽时,或系列工作分篇报道时,可借助于副题名,以补充题名之不足。

第三,题名应便于检索。题名所用的词语必须有助于选定关键词和编制题录、索引等二次文献,以便为检索提供特定的实用信息。这就要求题名中一定要有反映论文特定内容的关键词,关键词多一些更好。

第四,题名应容易认读。题名中应当避免使用数学公式、化学结构式,以及非共知共用的缩略词、首字母缩写字、字符、代号等。

摘自《科学技术期刊编辑教程》