

· 临床研究 ·

# LOXLI 基因启动子区单核苷酸多态性与维吾尔族剥脱综合征发病的关联性研究

郭梦颖 杨梦婷 玛依努 张明媚 陈雪艺

**【摘要】** 背景 剥脱综合征(XFS)是一种细胞外基质异常聚集的系统性疾病。研究证实,位于赖氨酰氧化酶样1(LOXLI)基因第一外显子区的单核苷酸多态性(SNPs)位点与XFS发病有一定关联,但这些研究在不同种族、国家和地区间结果并不一致。目的 探讨新疆维吾尔族人群中LOXLI基因启动子区SNPs与XFS发病的关联性。方法 采用病例对照研究设计,于2014年1—8月收集新疆地区维吾尔族无亲缘关系的152例XFS患者为XFS组,收集同期民族和性别匹配的228名眼部正常者为对照组。采集所有受检者外周血各5 ml并提取DNA,选取LOXLI基因启动子区rs12914489、rs4886467、rs4558370、rs4461027、rs4886761、rs16958477共6个SNPs位点,利用PCR-连接酶检测反应(LDR)法对各SNPs位点进行基因分型,采用 $\chi^2$ 检验分析等位基因频率及基因型频率分布,并计算比值比(OR)值及95%可信区间(CI)。结果 本研究中对照组rs12914489位点偏离Hardy-Weinberg平衡(HWE)( $P=0.033$ ),rs4886467、rs4558370、rs4461027、rs4886761、rs16958477位点均符合HWE。XFS组rs4886467等位基因G和基因型GG频率均低于对照组,差异均有统计学意义(均 $P=0.00$ ),为保护因素( $OR=0.54$ ,95%CI:0.40~0.74, $P=0.000$ ; $OR=0.51$ ,95%CI:0.33~0.78, $P=0.001$ );XFS组rs4558370等位基因G和基因型GG频率均高于对照组,差异均有统计学意义(均 $P=0.00$ ),二者是发病危险因素( $OR=1.96$ ,95%CI:1.23~3.11, $P=0.004$ ; $OR=2.18$ ,95%CI:1.31~3.64, $P=0.002$ );XFS组rs4461027等位基因C和基因型CC频率均明显高于对照组,差异均有统计学意义(均 $P=0.00$ ),二者是发病的危险因素( $OR=2.25$ ,95%CI:1.67~3.04, $P=0.000$ ; $OR=3.06$ ,95%CI:1.89~4.96, $P=0.000$ );XFS组rs4886761等位基因T和基因型TT频率均高于对照组,差异均有统计学意义(均 $P=0.00$ ),二者是发病危险因素( $OR=2.44$ ,95%CI:1.79~3.33, $P=0.000$ ; $OR=3.02$ ,95%CI:1.63~5.60, $P=0.000$ );XFS组rs16958477位点等位基因C和基因型CC频率均高于XFS组,差异均有统计学意义(均 $P=0.00$ ),二者是发病的危险因素( $OR=2.00$ ,95%CI:1.47~2.71, $P=0.000$ ; $OR=2.37$ ,95%CI:1.31~4.27, $P=0.004$ )。结论 新疆维吾尔族人群LOXLI基因启动子区的SNPs与新疆维吾尔族XFS发生存在关联,其中rs4886467位点是发病的保护因素,rs4558370、rs4461027、rs4886761和rs16958477位点是XFS发生的危险因素。

**【关键词】** 剥脱综合征; 赖氨酰氧化酶样1基因; 启动子区; 多态性; 单核苷酸; 疾病基因易感性

**Association between single nucleotide polymorphisms at LOXLI promoter and Uyghur patients with exfoliation syndrome** Guo Mengying, Yang Mengting, Ma Yinu, Zhang Mingmei, Chen Xueyi. Department of Ophthalmology, Affiliated First Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

Corresponding author: Chen Xueyi, Email: ykangle@163.com

**【Abstract】** **Background** Exfoliation syndrome (XFS) is a systemic disease with abnormal accumulation of extracellular matrix. Researches showed that the single nucleotide polymorphisms (SNPs) of lysyl oxidase-like 1 (LOXLI) gene is associated with the pathogenesis of XFS in global population. However, the results are varied among different ethnicity and regions. **Objective** This study aimed to assess the association between LOXLI gene polymorphisms and XFS in Uyghur population. **Methods** One-hundred and fifty-two Uyghur XFS patients without relatedness were enrolled from January to August in 2014, and 228 ethnicity- and gender-matched normal controls were recruited at the same period from the same region. Each individual underwent comprehensive eye examinations and 5 ml peripheral blood was collected. Genomic DNA was extracted from peripheral blood. PCR-ligase detection response (LDR) was used to determine the allele and genotype frequencies of the six SNPs rs12914489, rs4886467, rs4558370, rs4461027, rs4886761 and rs16958477 in the promoter region of LOXLI gene. The distribution frequency between the patients and normal controls was compared by  $\chi^2$  test. Logistic regression analysis was used for age adjustment. This study was approved by Ethic Committee of Xinjiang Medical University, and informed consent was obtained from the subjects. **Results** rs12914489 site in the normal control group diverged from Hardy-Weinberg

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.08.014

基金项目:国家自然科学基金项目(81360153)

作者单位:830054 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院眼科

通信作者:陈雪艺,Email:ykcangel@163.com

equilibrium (HWE) ( $P = 0.033$ ), and the rs4886467, rs4558370, rs4461027, rs4886761 and rs16958477 sites followed HWE. The frequencies of G allele and GG genotype of rs4886467 in the XFS group were lower than those in the control group (both at  $P = 0.00$ ) and were protective factors of XFS ( $OR = 0.54, 95\% CI: 0.40-0.74, P = 0.000$ ;  $OR = 0.51, 95\% CI: 0.33-0.78, P = 0.001$ ); the frequencies of T allele and TT genotype of rs4558370 in the XFS group were significantly higher than those in the control group (both at  $P = 0.00$ ) and were the risk factors of XFS ( $OR = 1.96, 95\% CI: 1.23-3.11, P = 0.004$ ;  $OR = 2.18, 95\% CI: 1.31-3.64, P = 0.002$ ); the frequencies of C allele and CC genotype of rs4461027 in the XFS group were significantly higher than those in the control group (both at  $P = 0.00$ ) and were the risk factors of XFS ( $OR = 2.25, 95\% CI: 1.67-3.04, P = 0.000$ ;  $OR = 3.06, 95\% CI: 1.89-4.96, P = 0.000$ ); the frequencies of T allele and TT genotype of rs4886761 in the XFS group were significantly higher than those in the control group (both at  $P = 0.00$ ) and were the risk factors of XFS ( $OR = 2.44, 95\% CI: 1.79-3.33, P = 0.000$ ;  $OR = 3.02, 95\% CI: 1.63-5.60, P = 0.000$ ); the frequencies of C allele and CC genotype of rs16958477 in the XFS group were significantly higher than those in the control group (both at  $P = 0.00$ ) and were the risk factors of XFS ( $OR = 2.00, 95\% CI: 1.47-2.71, P = 0.000$ ;  $OR = 2.37, 95\% CI: 1.31-4.27, P = 0.004$ ).

**Conclusions** The SNPs of promoter region of *LOXLI* gene are associated with hereditary susceptibility of XFS individually in Uygur population. The SNPs of rs4886467 locus are protective factor, while the SNPs of rs4558370, rs4461027, rs4886761 and rs16958477 locus are risk factors for pathogenesis of XFS.

**[Key words]** Exfoliation syndrome/genetics; Lysyl oxidase-like 1 gene; Promoter region; Polymorphisms, single nucleotide; Genetic predisposition to diseases

剥脱综合征(exfoliation syndrome, XFS)是一种与年龄相关的、以细胞外基质为主要病理改变的疾病,其眼部的主要表现为眼前节组织中有细小、白屑样物质沉积,常见于瞳孔缘、晶状体前囊膜及前房。XFS 可以诱发多种眼部并发症,包括青光眼、色素播散综合征、晶状体半脱位、瞳孔不完全散大、血-房水屏障功能障碍、虹膜后粘连和角膜内皮失代偿等<sup>[1-3]</sup>。有研究表明,XFS 患者血清中基质金属蛋白酶-9/组织金属蛋白酶抑制剂-2 平衡失调<sup>[4]</sup>。近年来,关于 XFS 的遗传学研究进展为揭示该病的分子机制奠定了良好基础。研究发现,位于赖氨酰氧化酶样 1(lysyl oxidase-like 1, *LOXLI*) 基因第一外显子区的 3 个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)位点 rs1048661、rs2165241 和 rs3825942 与 XFS 的发生和发展有密切的关联<sup>[5-9]</sup>。然而,这些研究在不同种族和国家,甚至同一国家的不同地区或不同民族的人群中得到的结果并不一致<sup>[10-11]</sup>。更有研究发现,位于 *LOXLI* 基因启动子区某些 SNPs 位点与 XFS 的发病也有一定的关联性<sup>[12-13]</sup>。本研究旨在探讨 *LOXLI* 基因启动子区 6 个 SNPs 位点与新疆维吾尔族人群 XFS 发病的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

采用病例对照研究设计。纳入 2014 年 1—8 月于新疆医科大学第一附属医院、喀什市第一人民医院及库车县医院确诊的维吾尔族 XFS 患者共 152 例,XFS 的诊断标准参照文献[5]。纳入同期 228 名正常人为对照组,纳入标准:(1)无 XFS 体征。(2)视盘无青光眼特征性改变。(3)视野和眼压均正常。(4)无青光眼家族史。(5)除了屈光不正或者年龄相关性白内障

外无眼部其他疾病。排除标准:(1)患有其他全身性疾病,如肿瘤、风湿免疫性疾病、肾病、糖尿病及高血压。(2)有眼部手术史。(3)依从性差,无法完成相应检查。受检者均进行详细的眼科检查,包括视力、裂隙灯显微镜检查、眼压测量、前房角镜检查、间接检眼镜检查、眼底照相及视野检查。本研究经新疆医科大学伦理委员会批准,所有受试者均了解本研究的目的及意义,并签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 PCR-连接酶检测反应法检测 SNPs 基因型

取受检者外周静脉血各 5 ml,置于 EDTA 抗凝管中,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。使用基因组 DNA 抽提试剂盒(德国 Qiagen 公司),按照产品使用说明提取基因组 DNA。应用多重 PCR-连接酶检测反应(ligase detection response, LDR)法将 6 个 SNPs 基因进行分型,由上海天昊生物技术公司提供技术支持。本研究选取 *LOXLI* 基因启动子区 rs12914489、rs4886467、rs4558370、rs4461027、rs4886761、rs16958477 共 6 个 SNPs 位点,通过特异性寡核苷酸探针对每个 SNPs 位点不同等位基因进行荧光标记,不同的 SNPs 位点通过 3' 末端不同的扩展长度进行标记。

**1.2.2 DNA 扩增及测序** PCR 反应体系 10  $\mu\text{l}$ , 包含 1 倍 GC-I buffer(日本 Takara 公司)、3.0 mmol/L  $\text{Mg}^{2+}$ 、0.3 mmol/L dNTP、1 U(商品单位) HotStarTaq polymerase(德国 Qiagen 公司)、1  $\mu\text{l}$  DNA 样本和 1  $\mu\text{l}$  多重 PCR 引物。PCR 扩增条件:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 20 s, 65  $^{\circ}\text{C}$  退火 40 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1.5 min, 进行 11 个循环; 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 20 s, 59  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 1.5 min, 进行 24 个循环; 72  $^{\circ}\text{C}$  再延伸 2 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  保存。在 10  $\mu\text{l}$  PCR 产物中加入 5 U SAP 酶和 2 U

Exonuclease I 酶, 37 °C 温浴 1 h, 然后 75 °C 灭活 15 min。将 10 倍连接缓冲液 1.00 μl、高温连接酶 0.25 μl、1 μmol/L 5' 连接引物混合液 0.40 μl、2 μmol/L 3' 连接引物混合液 0.40 μl、纯化后多重 PCR 产物 2.00 μl 和 ddH<sub>2</sub>O 6.00 μl 混匀, 将反应混合物于 94 °C 放置 1 min, 然后于 56 °C 放置 4 min, 进行 38 个循环; 4 °C 储存。取 0.5 μl 稀释 (1:10) 后的连接产物, 与 0.5 μl Liz 500 SIZE STANDARD 和 9.0 μl Hi-Di 混匀, 95 °C 变性 5 min 后, 用 ABI 3730 XL 测序仪进行测序。收集原始数据用 GeneMapper 4.1 (美国 Applied Biosystems 公司) 进行分析。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计学软件 (美国 IBM 公司) 进行统计分析。使用 Haploview 4.2 软件进行连锁不平衡及单倍体分析; 采用  $\chi^2$  检验比较 XFS 组与对照组间各 SNPs 位点基因型是否符合 Hardy-Weinberg 平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE), 各基因位点等位基因和基因型频率分布的数据资料用频数进行描述。采用 Logistic 回归方程控制年龄和性别。2 个组间各 SNPs 位点基因型及等位基因频率分布的差异比较采用  $\chi^2$  检验, 采用双侧概率检验, 检验水准  $\alpha=0.05$ , 并利用双重 Logistic 回归模型计算基因型及等位基因比值比 (odds ratio, OR) 和 95% 可信区间 (confidence interval, CI)。

2 结果

2.1 受试者的临床资料

共有 380 名受试者接受基因型检测, 其中 XFS 组 152 例, 对照组 228 名, 2 个组间年龄的差异有统计学意义 ( $P=0.014$ ), 性别构成比的差异无统计学意义 ( $P=0.790$ ) (表 1)。因此, 在分析这些 SNPs 与 XFS 的关系时, 年龄将作为混杂因素加以控制。

组别	例数	年龄 ( $\bar{x}\pm s$ , 岁) <sup>a</sup>	性别 [n(%)] <sup>b</sup>	
			男	女
XFS 组	152	70.81±8.37	102 (67.11)	50 (32.89)
对照组	228	68.85±7.02	150 (65.79)	78 (34.21)
P		0.014	0.790	

注: XFS: 剥脱综合征; (a: 独立样本 t 检验; b:  $\chi^2$  检验)

2.2 各组 LOXLI 基因启动子区 SNPs 位点的 HWE 检验

本研究中 XFS 组及对照组 LOXLI 基因启动子区 SNPs 各位点基因型分布结果显示, rs12914489 在对照组中偏离 HWE ( $P=0.033$ ), 其他位点均符合 HWE, 均具有群体代表性 (表 2)。

SNPs	定位	各组 HWE P 值	
		对照组	XFS 组
rs12914489	启动子区	0.033	1.000
rs4886467	启动子区	1.000	0.653
rs4558370	启动子区	0.448	0.722
rs4461027	启动子区	0.306	0.065
rs4886761	启动子区	0.214	1.000
rs16958477	启动子区	0.303	1.000
rs1048661	第一外显子区	1.000	1.000
rs3825942	第一外显子区	0.130	0.059
rs2165241	第一外显子区	0.494	0.988

注: XFS: 剥脱综合征; HWE: Hardy-Weinberg 平衡; SNPs: 单核苷酸多态性

2.3 各组单个 SNPs 位点等位基因和基因型频率的比较

通过对新疆维吾尔族人群 LOXLI 基因启动子区 rs12914489、rs4886467、rs4558370、rs4461027、rs4886761 及 rs16958477 位点等位基因及基因型的分析, 验证这些位点与 XFS 发病是否相关, 6 个 SNPs 位点的连锁不平衡关系见图 1。

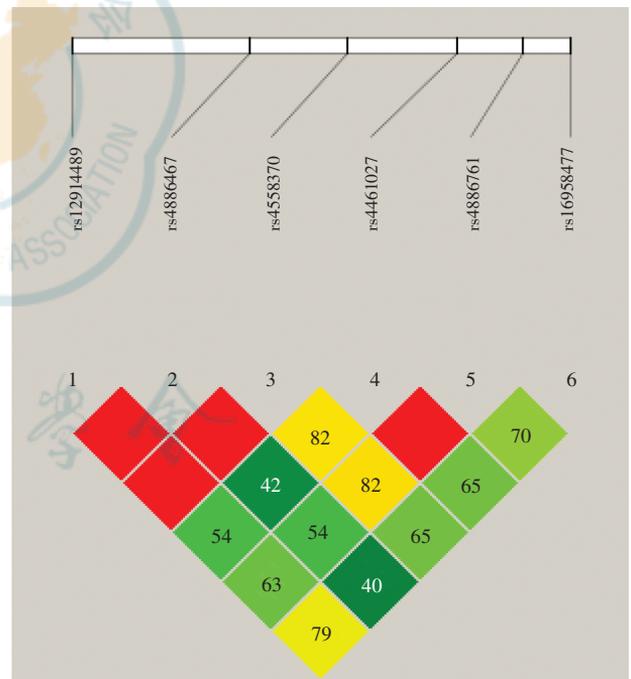


图 1 LOXLI 基因 6 个位点的连锁不平衡关系图 方格内数字代表了 D' 值 ×100, 红色代表 D' =1, 蓝色代表 D' =0, D' 越接近 1 则其颜色越接近红色, D' 越接近 0 其颜色越接近蓝色

新疆维吾尔族人群 LOXLI 基因 rs12914489、rs4886467、rs4558370、rs4461027、rs4886761、rs16958477 等位基因及基因型频率分析结果显示, LOXLI 基因多态性与新疆维吾尔族 XFS 患者遗传易感性有关联。rs12914489 位点的 XFS 组等位基因 G 和基因型 GG 频率与对照组比较, 差异均无统计学意义 ( $P=0.84$ 、 $0.53$ ), 等位基因 G 和基因型 GG 与 XFS 不相关 ( $OR=0.94$ ,  $P=0.862$ ;  $OR=0.81$ ,  $P=0.552$ )。

rs4886467 位点的 XFS 组等位基因 G 和基因型 GG 频率均明显低于对照组, 差异均有统计学意义 (均  $P=0.00$ ), 等位基因 G 和基因型 GG 均为保护基因 ( $OR=0.54, 95\% CI: 0.40 \sim 0.74, P=0.000; OR=0.51, 95\% CI: 0.33 \sim 0.78, P=0.001$ )。rs4558370 位点 XFS 组等位基因 G 和基因型 GG 频率均明显高于对照组, 差异均有统计学意义 (均  $P=0.00$ ); 等位基因 G 和基因型 GG 是发病的危险基因 ( $OR=1.96, 95\% CI: 1.23 \sim 3.11, P=0.004; OR=2.18, 95\% CI: 1.31 \sim 3.64, P=0.002$ )。rs4461027 位点 XFS 组等位基因 C 频率和基因型 CC 频率明显高于对照组, 差异均有统计学意义 (均  $P=0.00$ ), 等位基因 C 频率和基因型 CC 是发病的危险基因 ( $OR=2.25, 95\% CI: 1.67 \sim 3.04, P=0.000; OR=3.06, 95\% CI: 1.89 \sim 4.96, P=0.000$ )。

rs4886761 位点 XFS 组等位基因 T 和基因型 TT 频率均低于对照组, 差异均有统计学意义 (均  $P=0.00$ ), 等位基因 T 和基因型 TT 是危险基因 ( $OR=2.44, 95\% CI: 1.79 \sim 3.33, P=0.000; OR=3.02, 95\% CI: 1.63 \sim 5.60, P=0.000$ ), 即新疆维吾尔族人群全血 DNA 检测分析 rs4886761 位点 T 等位基因及 TT 基因型的出现与 XFS 患病相关。rs16958477 位点 XFS 组等位基因 C 和基因型 CC 频率均高于 XFS 组, 差异均有统计学意义 (均  $P=0.00$ ), 二者是发病的危险基因位点 ( $OR=2.00, 95\% CI: 1.47 \sim 2.71, P=0.000; OR=2.37, 95\% CI: 1.31 \sim 4.27, P=0.004$ ), 即新疆维吾尔族人群全血 DNA 检测分析 rs16958477 位点 C 等位基因及 CC 基因型的出现与 XFS 患病相关 (表 3)。

表 3 各组 6 个 SNPs 位点等位基因和基因型的频率

rs12914489 等位基因和基因型 (例数/频数)											
组别	例数	等位基因		OR(95% CI)		$P_{校正}$	基因型分布			OR(95% CI)	
		G	A	G vs. A			GG	GA	AA	GG vs. GA/AA	$P_{校正}$
XFS 组	152	287/0.94	17/0.06	0.94(0.50-1.80)	0.862	135/0.89	17/0.11	0/0.00	0.81(0.41-1.61)	0.552	
对照组	228	432/0.95	24/0.05	-	-	207/0.91	18/0.08	3/0.01	-	-	
$\chi^2$			0.04					0.39			
$P$			0.84					0.53			
rs4886467 等位基因和基因型 (例数/频数)											
组别	例数	等位基因		OR(95% CI)		$P_{校正}$	基因型分布			OR(95% CI)	
		G	T	G vs. T			GG	GT	TT	GG vs. GT/TT	$P_{校正}$
XFS 组	152	180/0.59	124/0.41	0.54(0.40-0.74)	0.000	55/0.36	70/0.46	27/0.18	0.51(0.33-0.78)	0.001	
对照组	228	332/0.73	124/0.27	-	-	121/0.53	90/0.39	17/0.07	-	-	
$\chi^2$			15.34					10.46			
$P$			0.00					0.00			
rs4558370 等位基因和基因型 (例数/频数)											
组别	例数	等位基因		OR(95% CI)		$P_{校正}$	基因型分布			OR(95% CI)	
		G	T	G vs. T			GG	GT	TT	GG vs. GT/TT	$P_{校正}$
XFS 组	152	276/0.91	28/0.09	1.96(1.23-3.11)	0.004	126/0.83	24/0.16	2/0.01	2.18(1.31-3.64)	0.002	
对照组	228	381/0.84	75/0.16	-	-	157/0.69	67/0.29	4/0.02	-	-	
$\chi^2$			8.15					9.45			
$P$			0.00					0.00			
rs4461027 等位基因和基因型 (例数/频数)											
组别	例数	等位基因		OR(95% CI)		$P_{校正}$	基因型分布			OR(95% CI)	
		T	C	C vs. T			TT	CT	CC	CC vs. TT/CT	$P_{校正}$
XFS 组	152	126/0.41	178/0.51	2.25(1.67-3.04)	0.000	32/0.21	62/0.41	58/0.38	3.06(1.89-4.96)	0.000	
对照组	228	280/0.61	176/0.39	-	-	90/0.39	100/0.44	38/0.17	-	-	
$\chi^2$			29.19					22.31			
$P$			0.00					0.00			
rs4886761 等位基因和基因型 (例数/频数)											
组别	例数	等位基因		OR(95% CI)		$P_{校正}$	基因型分布			OR(95% CI)	
		C	T	T vs. C			CC	CT	TT	TT vs. CC/CT	$P_{校正}$
XFS 组	152	165/0.54	139/0.46	2.44(1.79-3.33)	0.000	45/0.30	75/0.49	32/0.21	3.02(1.63-5.60)	0.000	
对照组	228	339/0.74	117/0.26	-	-	130/0.57	79/0.35	19/0.08	-	-	
$\chi^2$			32.88					12.70			
$P$			0.00					0.00			
rs16958477 等位基因和基因型 (例数/频数)											
组别	例数	等位基因		OR(95% CI)		$P_{校正}$	基因型分布			OR(95% CI)	
		A	C	C vs. A			AA	CA	CC	CC vs. CA/AA	$P_{校正}$
XFS 组	152	167/0.55	137/0.45	2.00(1.47-2.71)	0.000	46/0.30	75/0.49	31/0.20	2.37(1.31-4.27)	0.004	
对照组	228	323/0.71	133/0.29	-	-	118/0.52	87/0.38	23/0.10	-	-	
$\chi^2$			20.13					7.95			
$P$			0.00					0.00			

注: SNPs: 单核苷酸多态性; XFS: 剥脱综合征; OR: 比值比; CI: 可信区间;  $P_{校正}$  为应用二元 Logistic 回归校正年龄分析后所获得的结果; -: 无

## 2.4 启动子区单倍型与 XFS 之间的关联

单倍型 GGGCTA 由 rs4461027 的 C 等位基因和 rs4886761 的 T 等位基因组成,与发病的关联性最强,为新疆维吾尔族 XFS 患病的危险单倍型 ( $OR = 4.15$ ,  $95\% CI: 1.60 \sim 10.73$ ,  $P = 0.003$ ),而单倍型 GGGTCA 由 rs4461027 的 T 等位基因和 rs4886761 的 C 等位基因组成,则有显著的保护作用 ( $OR = 0.53$ ,  $95\% CI: 0.37 \sim 0.76$ ,  $P = 0.001$ ),单倍型 GTGCTC 也与疾病的发生有一定关联性 ( $OR = 2.07$ ,  $95\% CI: 1.44 \sim 2.97$ ,  $P = 0.000$ ),单倍型 GGTTC A 虽与疾病发生相关 ( $OR = 1.73$ ,  $95\% CI: 1.22 \sim 2.46$ ,  $P = 0.001$ ),但关联性弱于单倍型 GGGCTA (表 4)。

表 4 LOXLI 基因启动子区单倍体多态性与 XFS 的关联分析

单倍型	单倍型频率		$\chi^2$	$P$	OR(95% CI)	$P_{校正}$
	XFS 组	对照组				
GGGTCA	0.178	0.289	12.34	0.000	0.53(0.37-0.76)	0.001
GGGCTA	0.053	0.013	10.11	0.001	4.15(1.60-10.73)	0.003
GTGCTC	0.270	0.151	16.07	0.000	2.07(1.44-2.97)	0.000
GGTTC A	0.076	0.154	10.29	0.001	1.73(1.22-2.46)	0.001

注:LOXLI:赖氨酰氧化酶 1;XFS:剥脱综合征;OR:比值比;CI:可信区间;P 校正为应用二元 Logistic 回归校正年龄分析后所获得的结果

## 3 讨论

LOXLI 基因是全球 XFS 人群的主要危险因素。国内外研究人员针对 LOXLI 基因多态性与 XFS 的相关性进行了多项研究,但不同地域、种族等人群的研究结果并不一致。流行病学调查发现,XFS 高发于新疆维吾尔族<sup>[14]</sup>,而新疆是维吾尔族人群聚集地区,因此分析和探讨新疆地区 LOXLI 基因多态性与 XFS 的相关性对今后制定有效的治疗措施,预防 XFS 的发生和发展,降低其发病率具有重要意义。

近年来,对于 LOXLI 基因多态性的研究主要围绕在第一外显子区 rs1048661、rs3825942 和 rs2165241 这 3 个 SNPs 位点<sup>[5-9]</sup>,另外,Nakano 等<sup>[15]</sup>使用全基因组基因测序法证明位于染色体 15q24.1 上的 LOXLI 与 TBC1D21 及 PML 基因共同增加亚洲人群 XFS 的遗传易感性。Guadarrama-Vallejo 等<sup>[16]</sup>研究发现,LOXLI 基因 rs41435250 基因型为导致墨西哥人 XFS 患病的一个新的危险因素。Chen 等<sup>[7]</sup>首次证实 LOXLI 基因为汉族 XFS 人群的易感基因,玛依努等<sup>[17]</sup>首次证实了新疆维吾尔族 XFS 患者中,LOXLI 基因 rs2165241、rs1048661 和 rs3825942 基因型与其遗传易感性有关联,且每个多态位点均呈现较强的关联。

LOXLI 基因家庭成员之间的差异主要在第一外显

子,表现在长度、序列和对 N 端前肽酶激活的编码上的变化,这些变异被认为会影响酶的催化活性或与底物的结合能力,例如 LOXLI 基因对于纤维蛋白 5 和弹性蛋白原活性的影响。然而,近期许多研究报道 rs1048661 和 rs3825942 的风险等位基因在不同种族人群中结果相反<sup>[8-9,18-19]</sup>。此外,这 2 个变异体对 LOXLI 蛋白质的胺氧化酶的活性无影响,这些遗传研究结果表明 rs1048661 和 rs3825942 可能不直接致病,而是引起功能变异上的连锁不平衡。有研究证明,LOXLI 基因启动子区多态性与 XFS 发病相关,并证实了 LOXLI 基因启动子区远端的 rs12914489 位点与 XFS 发病关联性强,rs16958477 位点则明显影响基因的转录,而分别由 rs12914489 位点和 rs16958477 位点构成的单倍型则显著影响错义等位基因 rs1048661 和 rs3825942 的转录,从而影响疾病的发生<sup>[12-13]</sup>。

本研究中首次提出并证明了 LOXLI 启动子区多态性与维吾尔族 XFS 患病相关。rs4886467 位点的等位基因 T、rs4558370 位点的等位基因 G、rs4461027 位点的等位基因 C、rs4886761 位点的等位基因 T、rs16958477 位点的等位基因 C 为新疆维吾尔族人群的危险等位基因,其中 rs4558370 位点的等位基因 G 与疾病关联性最强。这 5 个 SNPs 位点上分别携带 TT 基因型、GG 基因型、CC 基因型、TT 基因型、CC 基因型的个体患病风险分别增加 2.74、2.18、3.06、3.02 和 2.37 倍。启动子区单倍型 GGGCTA 为新疆维吾尔族 XFS 患者的危险单倍型,携带该单倍型的个体患病风险增加 4.15 倍。携带单倍型 GTGCTC 和 GGTTC A 的个体患病风险分别增加 2.07 倍和 1.73 倍,而单倍型 GGGTCA 则有显著的保护作用,如 rs4461027 的 T 等位基因和 rs4886761 的 C 等位基因是起保护作用的,这为这些 SNPs 的生物学作用研究提供了更多的证据。国外有研究表明,LOXLI 启动子远端区域的 rs12914489 与 XFS 独立相关,它通过控制转录结合位点而影响基因转录活性,从而提高 LOXLI 启动子区单倍型的整体风险<sup>[18]</sup>。本研究中 rs12914489 在对照组略微偏离 HWE,分析可能是由于样本量不足、随机或采样误差造成的,需进一步扩大样本量来验证 rs12914489 是否与维吾尔族人群患病有关。

综上所述,LOXLI 基因启动子区多态性与维吾尔族 XFS 患病具有关联性。基于目前的研究结果,我们需要加大样本量对该结果进行进一步的验证,并深入研究新疆维吾尔族人群 XFS 患者 LOXLI 基因启动子区各 SNPs 位点与位于第一外显子区 rs2165241、rs1048661 和 rs3825942 位点的关联性,以揭示 XFS 的

发病机制,为该地区 XFS 的靶向治疗提供依据。

## 参考文献

- [1] Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U, Konstas AG. Why is glaucoma associated with exfoliation syndrome? [J]. Prog Retin Eye Res, 2003, 22(3): 253-275. doi:10.1016/S1350-9462(02)00014-9.
- [2] Ritch R. Exfoliation syndrome-the most common identifiable cause of open-angle glaucoma[J]. J Glaucoma, 1994, 3(2): 176-177.
- [3] Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. Exfoliation syndrome[J]. Surv Ophthalmol, 2001, 45(4): 265-315. doi:10.1016/S0039-6257(00)00196-X.
- [4] 唐艳,丁汝新,谢婷玉,等.维吾尔族剥脱综合征患者血清基质金属蛋白酶及其组织抑制剂的变化[J].中华实验眼科杂志, 2014, 32(7): 631-634. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.
- [5] Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, et al. Common sequence variants in the LOXLI gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma[J]. Science, 2007, 317(5843): 1397-1400. doi:10.1126/science.1146554.
- [6] Kasım B, Irkeç M, Alikışifoğlu M, et al. Association of LOXLI gene polymorphisms with exfoliation syndrome/glaucoma and primary open angle glaucoma in a Turkish population[J]. Mol Vis, 2013, 19: 114-120.
- [7] Chen L, Jia L, Wang N, et al. Evaluation of LOXLI polymorphisms in exfoliation syndrome in a Chinese population[J]. Mol Vis, 2009, 15: 2349-2357.
- [8] Fuse N, Miyazawa A, Nakazawa T, et al. Evaluation of LOXLI polymorphisms in eyes with exfoliation glaucoma in Japanese[J]. Mol Vis, 2008, 14: 1338-1343.
- [9] Ozaki M, Lee KY, Vithana EN, et al. Association of LOXLI gene polymorphisms with pseudoexfoliation in the Japanese[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49(9): 3976-3980. doi:10.1167/iovs.08-1805.
- [10] Ji QS, Qi B, Wen YC, et al. The association of LOXLI polymorphisms with exfoliation syndrome/glaucoma: meta-analysis[J]. Int J Ophthalmol, 2015, 8(1): 148-156. doi:10.3980/j.issn.2222-3959.
- [11] Tang JZ, Wang XQ, Ma FF, et al. Association between polymorphisms in lysyl oxidase-like 1 and susceptibility to pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma[J/OL]. PLoS One, 2014, 9(3): e90331 [2015-04-25]. http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0090331. doi:10.1371/journal.pone.0090331.
- [12] Dubey SK, Hejtmancik JF, Krishnadas SR, et al. Lysyl oxidase-like 1 gene in the reversal of promoter risk allele in pseudoexfoliation syndrome[J]. JAMA Ophthalmol, 2014, 132(8): 949-955. doi:10.1001/jamaophthol.
- [13] Fan BJ, Pasquale LR, Rhee D, et al. LOXLI promoter haplotypes are associated with exfoliation syndrome in a U. S. Caucasian population[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(5): 2372-2378. doi:10.1167/iovs.10-6268.
- [14] 谢婷玉,陈雪艺,穆塔里甫·吾布力哈斯木,等.新疆库车县老年维吾尔族农民剥脱综合征患病率流行病学调查[J].中华老年医学杂志, 2008, 27(3): 229-230. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-1477.
- [15] Nakano M, Ikeda Y, Tokuda Y, et al. Novel common variants and susceptible haplotype for exfoliation glaucoma specific to Asian population[J/OL]. Sci Rep, 2014, 4: 5340 [2015-04-27]. http://www.nature.com/srep/2014/140618/srep05340/full/srep05340.html. doi:10.1038/srep05340.
- [16] Guadarrama-Vallejo D, Miranda-Duarte A, Zenteno JC. The T allele of lysyl oxidase-like 1 rs41435250 is a novel risk factor for pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma independently and through intragenic epistatic interaction[J]. Mol Vis, 2013, 19: 1937-1944.
- [17] 玛依努,谢婷玉,朱国伟,等. LOXLI 基因多态性与维吾尔族人群剥脱综合征的相关性研究[J].中华眼科杂志, 2014, 50(2): 126-132. doi:10.3760/cma.j.issn.0412-4081.
- [18] Williams SE, Whigham BT, Liu Y, et al. Major LOXLI risk allele is reversed in exfoliation glaucoma in a black South African population[J]. Mol Vis, 2010, 16: 705-712.
- [19] Rautenbach RM, Bardien S, Harvey J, et al. An investigation into LOXLI variants in black South African individuals with exfoliation syndrome[J]. Arch Ophthalmol, 2011, 129(2): 206-210. doi:10.1001/archophthol.

(收稿日期:2015-05-28)

(本文编辑:尹卫靖 刘艳)

读者·作者·编者

## 本刊对中英文摘要的要求

论著或综述文稿正文请撰写中英文摘要。原创性论著文稿要求为结构性摘要,包括背景(Background)、目的(Objective)、方法(Methods)、结果(Results)和结论(Conclusions) 5 个要素,摘要应能够回答以下问题:(1)为什么进行这项研究。(2)主要用什么方法进行的研究。(3)获得什么主要结果。(4)通过研究得出什么结论等。其中背景部分请概括本课题所涉及的研究内容及亟待解决的问题。目的部分为本课题对上述提出问题设立的目标。方法部分应提供研究对象、样本量、分组情况、各组的干预情况、与研究相适应的观察或检测指标,获得结局指标的手段和设备等。临床研究请说明是前瞻性研究、回顾性研究还是观察性研究。结果部分请客观描述研究的主要发现,包括主要的形态学检查表现、相关的关键性或主要的量化资料以及相应的统计学比较结果,须写明统计学量值及其概率值。结论部分请提出与本研究论据直接相关的、必然的推论,避免得出过度推测性、评价性和扩大化的结论。摘要请用第三人称客观表述,不列图表,不引用文献,不加评论和解释。英文摘要应与中文摘要内容相对应,但为了对外交流的需要,可以略详细。英文摘要应包括论文题名(正体)及全部作者姓名(汉语拼音,姓在前,首字母大写,名在后,首字母大写,双字连写。如:Yin Xiaohui)、标准化的单位名称、城市名称(汉语拼音)、邮政编码及国家名称(全部为斜体)。并请在另起一行处提供通信作者姓名的汉语拼音和 Email 地址,如 *Corresponding author: Yin Xiaohui, Email: xiaohuih@126.com*。专家述评或综述类文稿请撰写指示性中英文摘要,摘要内容应包含研究涉及的概念、研究的目的、综述资料的来源、复习的文献量、研究的新发现或应用领域、综合的结果和结论及其意义等必要的信息。

研究论文为前瞻性研究者应在中英文摘要结束处提供临床试验注册号,以“临床试验注册(Trial registration)”为标题,提供注册机构名称和注册号。前瞻性临床研究的论著摘要应注明遵循 CONSORT 声明(Consolidated Standards of Reporting Trials)(http://www.consort-standart.org/home)。

(本刊编辑部)