

· 临床研究 ·

中国宁夏地区年龄相关性黄斑变性患者的补体基因和 *ARMS2/HTRA1* 基因多态性分析

李武靓 庄文娟 李慧平 刘雅妮 哈少平 盛迅伦

【摘要】 背景 年龄相关性黄斑变性(AMD)是导致全球老年人中心视力不可逆丧失的主要原因,且发病率逐年上升,但其发病机制一直是研究的热点。目的 探讨补体因子 H(*CFH*)、补体因子 B(*CFB*)、年龄相关性黄斑变性易感基因 2(*ARMS2*)/高温需求因子 A1(*HTRA1*) 基因多态性与宁夏地区人群 AMD 的相关性。方法 采用病例对照关联分析的方法,收集宁夏地区无亲缘关系的 AMD 患者 150 例为 AMD 组,民族、性别与之相匹配的拟行白内障手术者(排除其他眼部疾患)145 例为对照组,采集所有受检者外周血 5~10 ml,并提取 DNA。选取 *CFH*、*CFB*、*ARMS2* 和 *HTRA1* 基因上的 8 个单核苷酸多态性(SNPs)位点,分别为位于 *CFH* 基因上的 rs551397、rs800292、rs12124794、rs10737680、rs1410996、*CFB* 基因上的 rs641153、*ARMS2* 基因上的 rs10490924 及 *HTRA1* 基因上的 rs11200638,运用 MassARRAY 实验平台提供的 MALDI-TOF 分析软件对这些位点进行基因分型。采用 χ^2 检验及非条件 Logistic 回归模型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),同时对多重比较进行 Bonferroni 检验校正, $P < 0.006$ 为差异有统计学意义。此外,运用 Haploview 软件分析各连锁不平衡区块以及基于连锁不平衡的单体型。结果 所有 SNPs 位点基因型均符合 Hardy-Weinberg 平衡(HWE)。AMD 组与对照组间共有 7 个 SNPs 位点基因型频率及等位基因频率上差异有统计学意义($P < 0.05$),但经过 Bonferroni 校正后,只有 rs10737680、rs1410996、rs10490924、rs11200638 基因型频率及等位基因频率在 AMD 组与对照组间差异均有统计学意义 [$P = 0.003$, $P = 0.003$, $P < 0.001$, $P < 0.001$ (均 $OR = 1.000$)] ; 而 rs800292 ($P = 0.006$, $OR = 1.643$, 95% $CI: 1.155 \sim 2.336$) 及 rs641153 ($P = 0.002$, $OR = 0.273$, 95% $CI: 0.120 \sim 0.620$) 2 个位点仅在等位基因频率差异有统计学意义。此外,通过 Haploview 软件分析单体型发现,rs551397 和 rs800292 位于同一个连锁不平衡区域,其单体型 GC 和 AT 经过 50 000 次的置换检验后,在 AMD 组和对照组间差异均有统计学意义($P = 0.010$, $P = 0.010$),而位于另一个连锁不平衡区域的 rs12124794、rs10737680 和 rs1410996 位点的单体型 AAC、TCT、TCT 频率在 AMD 组和对照组的差异亦均有统计学意义($P = 0.001$, $P = 0.041$, $P = 0.033$)。rs641153 位点等位基因 T 为 AMD 的保护因素($P = 0.002$, $OR = 0.273$, 95% $CI: 0.120 \sim 0.620$)。结论 *CFH* 基因 rs10737680 及 rs1410996 位点、*ARMS2* 基因 rs10490924 位点和 *HTRA1* 基因 rs11200638 位点的 SNPs 与宁夏地区人群 AMD 的发生存在相关性,是 AMD 发生的危险因素。

【关键词】 老年; 补体因子/基因学; 基因频率; 黄斑变性/基因学; 基因多态性; 疾病基因易感性

Polymorphisms of complement genes and *ARMS2/HTRA1* in patients with age-related macular degeneration in Ningxia, China Li Wuliang, Zhuang Wenjuan, Li Huiping, Liu Yani, Ha Shaoping, Sheng Xunlun. Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

Corresponding author: Sheng Xunlun, Email: shengxunlun@163.com

【Abstract】 **Background** Age-related macular degeneration (AMD) is the main cause of irreversible loss of central vision in old population. The incidence of AMD is increasing year by year, but the mechanism is not clearly understood. **Objective** This study was to investigate the association between genetic variants and the risk of AMD in Ningxia population. **Methods** This study was approved by Ethic Committee of Ningxia People's Hospital and

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.02.011

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2011CB510200)

作者单位: 750004 银川, 宁夏医科大学临床医学系(李武靓); 750011 银川, 宁夏人民医院 宁夏眼科医院(庄文娟、李慧平、刘雅妮、哈少平、盛迅伦)

通信作者: 盛迅伦, Email: shengxunlun@163.com

complied with the *Helsinki Declaration*. Written informed consent was obtained from each subject. One hundred and fifty patients with AMD and 145 ethnicity- and gender-matched controls were recruited in Ningxia Eye Hospital from January 2012 to March 2013. All individuals underwent comprehensive eye examinations and genomic DNA was prepared from peripheral blood. The single nucleotide polymorphisms (SNPs) of 8 susceptibility loci in four candidate genes, including complement factor H (*CFH*), complement factor B (*CFB*), age-related maculopathy susceptibility 2 (*ARMS2*) and high temperature required factor A1 (*HTRA1*), were genotyped with Mass Array and MALDI-TOF technique by Sequenom platform. The distribution of genotype was tested for Hardy-Weinberg equilibrium (HWE). The differences of genotype distribution of allele and haplotype frequencies were compared between patients and controls using chi-squared test and the *P* value was significant at <0.006 level after correction of age, and the relationship of genotype distribution with AMD was evaluated by Logistic regression analysis. Measures of linkage disequilibrium (LD) was carried out by Haploview. **Results** All the genotypes met HWE. Seven SNPs were found to be different in the genotypic distributions and allele frequencies between patients and normal controls (all at $P < 0.05$), however, after Bonferroni correction, the differences of only four SNPs were significant between the patients and controls in the genotype and allele distributions, including the SNPs of rs10737680 and rs1410996 in *CFH* gene, the SNP of rs10490924 in *ARMS2* gene and SNP of rs11200638 in *HTRA1* gene. The allele distributions of rs800292 ($P_{\text{allele}} = 0.006, OR = 1.643, 95\% CI: 1.155 - 2.336$) in *CFH* and rs641153 ($P_{\text{allele}} = 0.002, OR = 0.273, 95\% CI: 0.120 - 0.620$) in *CFB* were significantly associated with AMD. In addition, five SNPs in *CFH* gene were consisted of two blocks after analysis by Haploview. In addition, five SNPs in *CFH* were consisted of two blocks after analysis by Haploview. The first one SNPs (including rs551397 and rs800292) and another one SNPs (including rs12124794, rs10737680) and rs1410996 were in strong linkage disequilibrium ($D' = 1.00$). After 50 000 permutations, the GC and AT haplotypes of the first block and the AAC, TCT and ACT haplotypes in the second block were significantly different between AMD patients and controls ($P = 0.010, 0.010, 0.001, 0.041$ and 0.033 , respectively). The allele T of rs641153 was a protective factor of AMD ($P = 0.002, OR = 0.273, 95\% CI: 0.120 - 0.620$). **Conclusions** The SNPs rs10737680 and rs1410996 in *CFH*, rs10490924 of *ARMS2* gene and rs11200638 of *HTRA1* gene are associated with AMD in Ningxia population.

[**Key words**] Aged; Complement factor/genetics; Gene frequency; Macular degeneration/genetics; Polymorphisms, genetic; Genetic predisposition to diseases

年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 是 50 岁以上人群常见的致盲眼病, 随年龄的增长患病率逐渐升高^[1], 严重影响患者的生活质量, 迄今为止其发病原因仍不明确。研究表明, AMD 是一种受环境和遗传因素共同作用的进行性视神经退行性病变。近些年来, AMD 的遗传学研究取得的进展为揭示该病的分子机制奠定了良好的基础。研究发现, 补体因子 H (complement factor H, *CFH*)、补体因子 B (complement factor B, *CFB*)、年龄相关性黄斑变性易感基因 2 (age-related maculopathy susceptibility 2, *ARMS2*) 及高温需求因子 A1 (high temperature required factor A1, *HTRA1*) 基因均与 AMD 的发生和发展有密切的关联^[2-5], 然而, 这些研究在不同的种族、国家, 甚至同一国家不同地区或不同民族的人群中得到的结果并不一致^[6]。本研究旨在探讨 *CFH*、*CFB*、*ARMS2* 及 *HTRA1* 基因多态性与宁夏地区人群中 AMD 发生的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究采用病例对照研究设计。收集 2012 年 1 月至 2013 年 3 月就诊于宁夏人民医院 宁夏眼科医院的 AMD 患者 150 例为 AMD 组, AMD 的诊断参照文献^[7]的标准: (1) 无 AMD (AREDS 分类 1): 无或仅有很小的玻璃膜疣 (直径 $< 63 \mu\text{m}$)。 (2) 早期 AMD (AREDS 分类 2): 同时存在多个小的玻璃膜疣和少量中等大小的玻璃膜疣 (直径为 $63 \sim 124 \mu\text{m}$), 或有视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 异常。 (3) 中期 AMD (AREDS 分类 3): 广泛存在中等大小的玻璃膜疣, 至少有 1 个大的玻璃膜疣 (直径 $> 125 \mu\text{m}$), 或有未累及黄斑中心凹的地图样萎缩。 (4) 晚期 AMD (AREDS 分类 4): 同一眼具有以下特点之一或几个特点: 1) 累及黄斑中心凹的 RPE 和脉络膜毛细血管层的地图样萎缩。 2) 有下列表现的新生血管性病变: ① 脉络膜新生血管 (choroid neovascularization, CNV)。

②视网膜神经上皮或 RPE 浆液性和/或出血性脱离。③视网膜硬性渗出(继发于任何来源的慢性渗漏)。④视网膜下和 RPE 下纤维血管性增生。⑤盘状瘢痕。排除标准:卵黄样黄斑变性晚期、高度近视性 CNV、Stargardt 病、视网膜血管阻塞、脉络膜视网膜炎、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)和青光眼、严重白内障等。纳入同期在宁夏人民医院宁夏眼科医院进行白内障手术的白内障患者 145 例为对照组,无高度近视(屈光度 ≥ -6.0 D 且眼轴延长)和青光眼及其他眼部疾患,排除肾功能不全、血液系统疾病、良性或恶性肿瘤或其他严重的全身疾患。所有受检者均接受详细的眼科检查,包括最佳矫正视力(best corrected visual acuity, BCVA)、眼压、裂隙灯显微镜、眼底照相。眼底照相显示为疑似 AMD 者接受进一步检查以确诊,检查项目包括荧光素眼底血管造影及光学相干断层扫描,由 2 名以上眼科医师进行独立阅片。本研究经宁夏人民医院伦理委员会批准,纳入受检者时遵循赫尔辛基宣言,所有受检者均告知研究目的并签署知情同意书。

1.2 受检者 DNA 提取及单核苷酸多态性候选基因位点的选取及分型

采集各受检者外周血 5~10 ml,置于 EDTA 抗凝管中, -80°C 保存,用于基因组 DNA 的提取。DNA 的提取使用 QIAamp DNA Blood Mini kit(德国 Qiagen 公司)进行。用 TE 液(含 10 mmol/L Tris-HCl 和 0.5 mmol/L EDTA, pH 9.0)洗脱提取的 DNA,用紫外分光光度仪测量波长为 260 nm 和 280 nm 处的吸光度(A)值,计算 A_{260}/A_{280} 值以测定提取 DNA 的纯度及浓度。调整各样本的 DNA 浓度,置于 -80°C 保存备用。

依据相关的研究报道,本研究共选取在特定人群中与 AMD 呈显著关联的 8 个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)位点,包括 *CFH* 基因的 rs551397、rs800292、rs12124794、rs10737680、rs1410996、*CFB* 基因的 rs641153、*ARMS2* 基因的 rs10490924 及 *HTRA1* 基因的 rs11200638。由北京基因组研究所(中国深圳)的 MassARRAY 分子量阵列技术平台利用 MALDI-TOF 软件进行所有候选 SNPs 位点的分型检测,最终获得基因分型结果。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件(序列号:EK5NZ3HP R99X4D5F8K583CEUFMPCXSV2XML0399K95KPHU, 美国 IBM 公司)进行统计分析。采用 Haploview 4.2 软件进行连锁不平衡及单倍体分析;采用 χ^2 检验分析 AMD 组与对照组中各 SNPs 位点基因型是否符合

Hardy-Weinberg 平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE);非连续型数据资料采用 χ^2 检验,连续型数据资料采用独立样本 *t* 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。最小等位基因频率基于 AMD 组及对照组所有数据得出;采用 Logistic 回归模型控制年龄和性别后,分析各 SNPs 位点基因型及等位基因频率在不同组间的统计学差异;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);多重比较进行 Bonferroni 检验进行校正, $P < 0.006$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 受检者的临床资料

共纳入 AMD 患者 150 例,其中男 85 例,占 56.67%,女 65 例,占 43.44%;患者年龄为 50~87 岁,平均(70.07 \pm 8.36)岁。纳入对照组受检者 145 例,其中男 69 例,占 47.59%,女 76 例,占 52.41%;年龄为 65~95 岁,平均(72.99 \pm 5.90)岁。2 个组间性别构成比与民族构成比差异均无统计学意义($P = 0.149$ 、 0.167),但年龄间比较差异有统计学意义($P < 0.001$)(表 1)。因此,在分析这些 SNPs 与 AMD 的关系时,年龄将被作为一个混淆因素加以控制。

表 1 2 个组间受检者人口基线特征比较

组别	例数	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁) ^a	性别[n(%)] ^b		民族[n(%)] ^b	
			男	女	汉族	其他民族
AMD 组	150	70.07 \pm 8.36	85(56.7)	65(43.3)	88(58.7)	62(41.3)
对照组	145	72.99 \pm 5.90	69(47.6)	76(52.4)	74(41.3)	71(49.0)
<i>P</i>		<0.001	0.149		0.167	

注:AMD:年龄相关性黄斑变性(a:独立样本 *t* 检验;b: χ^2 检验)

2.2 SNPs 位点基因型及等位基因频率与 AMD 的关联分析

在对所有 SNPs 进行基因分型过程中,各 SNPs 在所有受检者中的分型应答率如下:rs10737680 和 rs10490924 为 100% (295/295),rs551397、rs12124794 和 rs641153 为 99.7% (294/295),rs1410996 和 rs11200638 为 98.6% (291/295),rs800292 为 98.3% (290/295)。对照组和 AMD 组中所有位点的基因型频率和等位基因频率均符合 HWE($P > 0.05$)(表 2),说明该样本具有群体代表性。

所有 SNPs 位点中,7 个 SNPs 位点的基因型分布和等位基因频率在 AMD 组和对照组间差异有统计学

意义 ($P < 0.05$)。然而,经过 Bonferroni 多重检验后,只有 4 个位点的基因型及等位基因频率与 AMD 显著关联,即 rs10737680、rs1410996、rs10490924 和 rs11200638。由于 2 个组间受检者年龄的差异有统计学意义,调整年龄后,这 4 个位点上等位基因频率及基因型频率在 2 个组间的差异仍有统计学意义 ($P < 0.006$) (表 2, 3)。此外,rs800292 及 rs641153 位点的等位基因频率与 AMD 差异均有统计学意义 ($P = 0.006$ 、 0.002) (表 2)。

表 2 AMD 和 CFH、CFB、ARMS2/HTRA1 基因多态性的关联分析

SNPs ID	基因	最小等位基因	MAF		HWE-p		校正 $P_{\text{等位基因}}$	校正 OR(95% CI)
			AMD 组	对照组	AMD 组	对照组		
rs551397	CFH	A	0.292	0.400	0.28	0.07	0.008	1.601(1.129-2.270)
rs800292	CFH	T	0.286	0.400	0.11	0.07	0.006	1.643(1.155-2.336)
rs12124794	CFH	T	0.272	0.359	0.21	0.19	0.034	1.472(1.030-2.103)
rs10737680	CFH	C	0.320	0.459	0.38	0.07	0.001	1.739(1.237-2.445)
rs1410996	CFH	T	0.322	0.459	0.42	0.07	0.002	1.725(1.224-2.431)
rs641153	CFB	T	0.027	0.087	0.74	0.06	0.002	0.273(0.120-0.620)
rs10490924	ARMS2	G	0.317	0.455	0.06	0.99	<0.001	2.837(2.005-4.013)
rs11200638	HTRA1	G	0.315	0.441	0.08	0.67	<0.001	2.670(1.887-3.779)

注:HWE-p:计算 HWE 平衡所获得的 P 值;校正 $P_{\text{等位基因}}$ 和校正 OR(95% CI)为应用二元 Logistic 回归校正年龄后分析所获得的结果
AMD:年龄相关性黄斑变性;CFH:补体因子 H;CFB:补体因子 B;ARMS2/HTRA1:年龄相关性黄斑变性易感基因 2/高温需求因子 A1;SNPs:单核苷酸多态性;MAF:最小等位基因频率;OR:比值比;CI:可信区间

2.3 CFH 基因单体型区块的分布及频率

应用 Haploview 4.2 软件进行分析,CFH 的 6 个 SNPs 可组合形成 2 个单体型区块,即由 rs551397-rs800292 构成区块 1 及由 rs12124794-rs10737680-rs1410996 构成区块 2,各区块均显示高度连锁 ($D' = 1.00$)。计算 AMD 组及对照组间单倍体型频率及其发生概率和风险,去除频率小于 5% 的单体型后,对这 2 个高度连锁区域内的单体型分析,可见由 rs551397-rs800292 构成的区块 1 中的 GC 和 AT 型以及由 rs12124794-rs10737680-rs1410996 构成的区块 2 中 AAC、TCT 和 ACT 型经过 50 000 次的置换检验后,AMD 组和对照组间的差异均有统计学意义 ($P = 0.010$ 、 0.010 、 0.001 、 0.041 、 0.033) (表 4)。

3 讨论

目前,AMD 引起的不可逆视力损伤尚无有效治疗方法,严重影响患者的生活质量,已成为全球不可忽视的公共卫生问题。近年来,国内外许多研究小组针对

表 3 各 SNPs 位点基因型多态性分布

SNPs ID	基因	基因型	AMD 组 [n(%)]	对照组 [n(%)]	校正 OR(95% CI)	校正 $P_{\text{基因型}}$
rs551397	CFH	A/A	10(6.7)	18(12.4)	1.000	0.020
		A/G	67(45.0)	80(55.2)	1.521(0.651-3.555)	
		G/G ^a	72(48.3)	47(32.4)	2.721(1.143-6.476)	
rs800292	CFH	T/T	8(5.5)	18(12.4)	1.000	0.014
		C/T	67(46.2)	80(55.2)	1.842(0.747-4.540)	
		C/C ^a	70(48.3)	47(32.4)	3.233(1.289-8.111)	
rs12124794	CFH	T/T	8(5.5)	18(12.4)	1.000	0.084
		T/A	65(43.6)	74(51.0)	0.400(0.157-1.022)	
		A/A ^a	76(51.0)	56(38.7)	0.668(0.410-1.090)	
rs10737680	CFH	C/C	13(8.6)	25(17.2)	1.000	0.003
		C/A	70(46.7)	83(57.2)	3.186(1.444-7.029)	
		A/A ^a	67(44.7)	37(25.5)	1.506(0.711-3.191)	
rs1410996	CFH	T/T	13(8.6)	25(17.2)	1.000	0.003
		T/C	68(43.6)	74(51.0)	0.400(0.157-1.022)	
		C/C ^a	65(44.5)	37(25.5)	1.506(0.711-3.191)	
Rs641153	CFB	C/C	141(94.6)	122(84.1)	1.000	0.044
		T/C	8(5.4)	20(13.8)	0.328(0.137-0.785)	
		T/T ^a	0(0.0)	3(2.1)	-	
rs10490924	ARMS2	G/G	20(13.3)	30(20.7)	1.000	<0.001
		G/T	55(36.7)	72(49.7)	1.561(0.812-3.002)	
		T/T ^a	75(50.0)	43(29.6)	6.418(3.157-13.045)	
rs11200638	HTRA1	G/G	19(13.0)	27(18.6)	1.000	<0.001
		A/G	54(37.0)	74(51.0)	1.641(0.846-3.183)	
		A/A ^a	73(50.0)	44(30.3)	5.650(2.794-11.427)	

注:a:含有危险等位基因的纯合型;-:OR 值无法获得,因为含有危险等位基因的纯合型的个体数为 0;校正 $P_{\text{基因型}}$ 和校正 OR 值(95% CI):应用二元 Logistic 回归校正年龄后分析所获得的结果 SNPs:单核苷酸多态性;AMD:年龄相关性黄斑变性;OR:比值比;CI:可信区间;CFH:补体因子 H;CFB:补体因子 B;ARMS2:年龄相关性黄斑变性易感基因 2;HTRA1:高温需求因子 A1

表 4 CFH 基因单体型分析

区块	单体型	AMD 组 频率(%)	对照组 频率(%)	P^a	OR(95% CI)	置换检验 P^b
区块 1 (rs551397-rs800292)	GC	71.0	60.0	0.005	1	0.010
	AT	29.0	40.0	0.005	1.632(1.159-2.299)	0.010
区块 2 (rs12124794-rs10737680-rs1410996)	AAC	68.0	54.1	0.001	1	0.001
	TCT	27.0	35.9	0.020	1.668(1.167-2.385)	0.041
	ACT	5.0	10.0	0.013	2.512(1.302-4.847)	0.033

注:a: χ^2 检验;b:经过 50 000 次置换检验所获得;OR 值及 CI 为应用 Logistic 回归模型所获得 CFH:补体因子 H;AMD:年龄相关性黄斑变性;OR:比值比;CI:可信区间

CFH、CFB、ARMS2 及 HTRA1 基因多态性与 AMD 的相关关系进行了多项研究,但由于研究人群地域、种族等多方面的差异以致研究结果尚不一致。宁夏是一个多民族人群汇聚的地区,同时也是中国最主要的回族人群聚集地^[8]。因此分析和探讨宁夏地区 CFH、CFB、ARMS2 及 HTRA1 基因多态性与 AMD 的相关性,对今

后制定有效的治疗措施,预防 AMD 的发生和发展,降低其发病率具有重要意义。

血液中的补体系统由 40 多种蛋白和调控因子组成,其在机体抵抗病原体、清除免疫复合物和凋亡细胞以及进行免疫应答过程中起关键作用^[9-10]。目前研究发现,与补体通路相关的基因,如 *CFH*^[2,11]、*CFB*^[12]、*C2*^[3,12-13] 基因的多态性与 AMD 的发生和发展有显著的关联。据报道,*CFH* 基因多态性是 AMD 发病过程中最重要的危险因素。本研究结果同样发现,经过多重检验校正后,位于 *CFH* 基因的 rs10737680 与 rs1410996 位点 AMD 组与对照组差异有统计学意义,这与 Tian 等^[14] 报道的结果一致。此外,经过 50 000 次的置换检验后发现,由 rs12124794-rs10737680-rs1410996 构成单体型 (AAC、TCT 和 ACT),可增加 AMD 的易感性。

尽管 *CFH* (rs1061170) 的突变体 Y402H (rs10611170) 曾被认为与 AMD 的易感性相关,但是这种关系在针对亚洲人群的病例对照研究中尚未得到一致性的验证^[15-17]。目前,有研究报道位于 *CFH* 内含子的 rs1410996 较位于编码区的 Y402H 更易增加 AMD 的患病风险^[2,18]。本次在宁夏地区人群中的研究同样证实了 *CFH* 基因多态性与 AMD 是相关联的。另一个具有争议的 SNPs 位点是位于 *CFH* 基因外显子的 rs800292,目前已明确该位点具有 Val62Ile 突变。Yuan 等^[19] 研究证实,在亚洲人群中,*CFH* Val62Ile 突变与 AMD 有明显的相关性,Meta 分析显示该位点上等位基因 C 可增加 AMD 的患病率。在本研究中,该位点等位基因频率在 AMD 组与对照组间差异有统计学意义 ($P = 0.006$, $OR = 1.643$, 95% CI : 1.155 ~ 2.336),携带由这个位点组成的单体型 GC 和 AT 的个体患者 AMD 风险增加 1.632 倍 ($P = 0.010$)。然而该位点分型发生失败,可能由于研究样本较小或研究设计的不足所导致。尽管如此,本研究中发现了在宁夏地区人群中 rs800292 与 AMD 有显著关联,这需要在以后的试验中进一步研究加以证实。

大量研究显示,在白种人群中 *CFB* 基因在 AMD 的发生和发展过程起重要作用,然而该结论在亚洲人群中尚未得到一致的认可^[3,20-22]。在本研究中,尽管 *CFB* 基因上 rs641153 位点基因型频率与 AMD 无明显相关性,然而该位点上的等位基因 T 与 AMD 显著相关,且为 AMD 的一个保护因素 ($P = 0.002$, $OR = 0.273$, 95% CI : 0.120 ~ 0.620),该结果与之前的报道一致^[23-24]。该位点上等位基因的突变可以降低 C3b 的亲合力,导致转化酶的产量降低,进而降低补体活化作用^[25]。

本研究中发现,*ARMS2* 基因上的 rs10490924 与 *HTRA1* 基因上的 rs11200638 与 AMD 有显著关联,在这 2 个位点上,携带 TT 基因型及 AA 基因型的个体患病风险分别增加 6.418 倍和 5.650 倍,这也与先前的报道相一致。Yang 等^[26] 研究发现,在中国汉族人群中的这 2 个位点上,具有纯合危险等位基因型的个体罹患 AMD 的风险比不带有危险等位基因的个体高出近 10 倍,其 OR 值分别为 8.99 和 12.93。尽管在本研究中尚未得出如此高的 OR 值,但也同样证明了这 2 个位点的等位基因与基因型分布与 AMD 有显著关联。

本研究最主要的局限在于样本量较小。为了在目前的样本量基础上获得更高的相对危险度,本研究选取了眼底具有较大的玻璃膜疣并同时出现视觉损伤的 AMD 患者作为 AMD 组,而选取年龄分布较 AMD 组大的个体作为对照组,以减小因年龄因素而增加对照组罹患 AMD 的可能性。此外,本研究选用 Bonferroni 多重检验,以纠正多次重复比较带来的误差。本研究大部分结果与针对其他地区人群的研究报道结果一致,因此,我们认为这种限制对研究的影响甚微。基于目前的研究结果,我们计划加大样本量对该结果进一步证实,并进一步研究各 SNPs 位点与不同亚型的 AMD,特别是脉络膜息肉状新生血管和视网膜增生性血管瘤之间的关联,以及不同民族间 AMD 相关基因的多态性差异。

参考文献

- [1] Munz B, West SK, Rubin GS, et al. Causes of blindness and visual impairment in a population of older Americans: The Salisbury Eye Evaluation Study [J]. Arch Ophthalmol, 2000, 118 (6): 819-825. doi: 10.1001/archoph.118.6.819.
- [2] Maller J, George S, Purcell S, et al. Common variation in three genes, including a noncoding variant in *CFH*, strongly influences risk of age-related macular degeneration [J]. Nat Genet, 2006, 38 (9): 1055-1059. doi:10.1038/ng1873.
- [3] Richardson AJ, Islam FM, Guymer RH, et al. Analysis of rare variants in the complement component 2 (C2) and factor B (BF) genes refine association for age-related macular degeneration (AMD) [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50 (2): 540-543. doi:10.1167/iovs.08-2423.
- [4] Cascella R, Ragazzo M, Straffella C, et al. Age-related macular degeneration: insights into inflammatory genes [J/OL]. J Ophthalmol, 2014, 2014: 582842 [2014-11-20]. http://www.hindawi.com/journals/joph/2014/582842/. doi:10.1155/2014/582842.
- [5] Sobrin L, Reynolds R, Yu Y, et al. *ARMS2/HTRA1* locus can confer differential susceptibility to the advanced subtypes of age-related macular degeneration [J]. Am J Ophthalmol, 2011, 151 (2): 345-352. doi:10.1016/j.ajo.2010.08.015.
- [6] Patel N, Adewoyin T, Chong NV. Age-related macular degeneration: a perspective on genetic studies [J]. Eye (Lond), 2008, 22 (6): 768-776. doi:10.1038/sj.eye.6702844.
- [7] Seddon JM, Sharma S, Adelman RA. Evaluation of the clinical age-related maculo-pathology staging system [J]. Ophthalmology, 2006, 113 (2): 260-266. doi:10.1016/j.ophtha.2005.11.001.

- [8] 杨文炯. 回族人口的分布及其城市化水平的比较分析——基于第五次人口普查资料[J]. 回族研究, 2006, (4) : 88-97.
- [9] Walport MJ. Complement. First of two parts[J]. N Engl J Med, 2001, 344 (14) : 1058-1066. doi:10.1056/NEJM200104053441406.
- [10] Khandhadia S, Cipriani V, Yates JRW, et al. Age-related macular degeneration and the complement system[J]. Immunobiology, 2012, 217(2) : 127-146. doi:10.1016/j.imbio.2011.07.019.
- [11] Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, et al. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration[J]. Science, 2005, 308(5720) : 419-421. doi:10.1126/science.1110359.
- [12] Wang X, Zhang Y, Zhang MN. Complement factor B polymorphism (rs641153) and susceptibility to age-related macular degeneration: evidence from published studies[J]. Int J Ophthalmol, 2013, 6(6) : 861-867. doi:10.3980/j.issn.2222-3959.2013.06.21.
- [13] Tanaka K, Nakayama T, Mori R, et al. Associations of complement factor B and complement component 2 genotypes with subtypes of polypoidal choroidal vasculopathy[J/OL]. BMC Ophthalmol, 2014, 14 : 83[2014-07-10]. http://www.biomedcentral.com/1471-2415/14/83. doi:10.1186/1471-2415-14-83.
- [14] Tian J, Yu W, Qin X, et al. Association of genetic polymorphisms and age-related macular degeneration in Chinese population[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(7) : 4262-4269. doi:10.1167/iovs.11-8542.
- [15] Hayashi H, Yamashiro K, Gotoh N, et al. CFH and ARMS2 variations in age-related macular degeneration, polypoidal choroidal vasculopathy, and retinal angiomatous proliferation[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(11) : 5914-5919. doi:10.1167/iovs.10-5554.
- [16] Dong L, Qu Y, Jiang H, et al. Correlation of complement factor H gene polymorphisms with exudative age-related macular degeneration in a Chinese cohort[J]. Neurosci Lett, 2011, 488(3) : 283-287. doi:10.1016/j.neulet.2010.11.048.
- [17] Xu Y, Guan N, Xu J, et al. Association of CFH, LOC387715, and HTRA1 polymorphisms with exudative age related macular degeneration in a northern Chinese population [J/OL]. Mol Vis, 2008, 14 : 1373-1381[2014-07-11]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2493029/.
- [18] Li M, Atmaca-Sonmez P, Othman M, et al. CFH haplotypes without the Y402H coding variant show strong association with susceptibility to age-related macular degeneration [J]. Nat Genet, 2006, 38(9) : 1049-1054. doi:10.1038/ng1871.
- [19] Yuan D, Yang Q, Liu X, et al. Complement factor H Val62Ile variant and risk of age-related macular degeneration: A meta-analysis[J/OL]. Mol Vis, 2013, 19 : 374-383[2014-07-13]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3580987/.
- [20] Lu F, Shi Y, Qu C, et al. A genetic variant in the SKIV2L gene is significantly associated with age-related macular degeneration in a Han Chinese population [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(4) : 2911-2917. doi:10.1167/iovs.12-11381.
- [21] Liu X, Zhao P, Tang S, et al. Association study of complement factor H, C2, CFB, and C3 and age-related macular degeneration in a Han Chinese population [J]. Retina, 2010, 30(8) : 1177-1184. doi:10.1097/IAE.0b013e3181cea676.
- [22] Kim SJ, Lee SJ, Kim NR, et al. Association of polymorphisms in C2, CFB and C3 with exudative age-related macular degeneration in a Korean population [J]. Exp Eye Res, 2012, 96(1) : 42-47. doi:10.1016/j.exer.2012.01.005.
- [23] Spencer KL, Hauser MA, Olson LM, et al. Protective effect of complement factor B and complement component 2 variants in age-related macular degeneration[J]. Hum Mol Genet, 2007, 16(16) : 1986-1992. doi:10.1093/hmg/ddm146.
- [24] Kaur I, Katta S, Reddy RK, et al. The involvement of complement factor B and complement component C2 in an Indian cohort with age-related macular degeneration [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(1) : 59-63. doi:10.1167/iovs.09-4135.
- [25] Montes T, Tortajada A, Morgan BP, et al. Functional basis of protection against age-related macular degeneration conferred by a common polymorphism in complement factor B [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(11) : 4366-4371. doi:10.1073/pnas.0812584106.
- [26] Yang Z, Tong Z, Chen Y, et al. Genetic and functional dissection of HTRA1 and LOC387715 in age-related macular degeneration [J/OL]. PLoS Genet, 2010, 6(2) : e1000836 [2014-07-22]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2816682/. doi:10.1371/journal.pgen.1000836.

(收稿日期:2014-07-29 修回日期:2014-12-28)

(本文编辑:刘艳)

消息

第二十一届全国眼外伤学术研讨会暨第二届亚太眼外伤学术会征文通知

由中华医学会眼科学分会眼外伤学组主办,天津医科大学总医院、北京中日友好医院、北京大学第三医院、首都医科大学附属北京同仁医院协办,大连大学附属中山医院承办的第二十一届全国眼外伤学术研讨会暨第二届亚太眼外伤学术会将于 2015 年 8 月 6—8 日在大连大学附属中山医院新门诊 5 楼国际会议厅召开。届时将有来自国内及亚太各国的眼科学领域及眼外伤专业的医师、专家、学者和知名厂商云集大连出席本次会议。注册本次会议并符合相关要求的参会代表可获得国家级继续医学教育 I 类学分,欢迎国内外医师踊跃投稿、注册参会。

1 征文范围及要求

围绕角膜外伤、晶状体损伤、外伤性青光眼、视神经损伤、玻璃体视网膜手术以及其他与眼外伤疾病相关的临床与基础研究均可投稿。具体要求:(1)论文只需要投递 800 字以内摘要 Word 版。(2)研究性工作的征文摘要为四段式基本结构(目的、方法、结果、结论)。(3)综述性质的征文摘要应体现所述主题的现状、问题和研究方向。(4)病例报告等性质的征文应包括患者的特征性临床表现以及诊断治疗要点和随访结果。

2 投稿方式及截止日期

投稿方式:(1)电子邮件投稿请发送至邮箱:dldxzyyyk@163.com。(2)信件投稿(注明会议征文)请寄至:大连大学附属中山医院眼科 第二十一届全国眼外伤年会会务组(收),邮编 116001。投稿时请注明第一作者的工作单位、职称、邮政编码、Email 地址、接收短信的联系电话。投稿截止日期:2015 年 6 月 10 日。

3 联系方式及联系人

联系方式:大连市中山区解放街 6 号 大连大学附属中山医院眼科,邮编 116001。联系人:周明教授、周颖(13654941765)、刘楠(13940952341)。

(会务组)