

· 临床研究 ·

ZEB1 基因新变异相关后部多形性角膜营养不良基因型与临床表型分析

李金 李瑞敏 李亚 代丽娟 孟志红 庞辰久

河南省人民医院眼科 河南省立眼科医院, 郑州 450003

通信作者: 庞辰久, Email: pangcj999@sohu.com

【摘要】 目的 分析 *ZEB1* 基因新杂合变异导致的后部多形性角膜营养不良 (PPCD) 患者的致病性及临床表型。**方法** 采用家系调查研究, 收集 2023 年 10 月于河南省立眼科医院就诊的 PPCD 一家系共 2 代 4 人的临床资料, 其中患者 3 例。完善相关眼科检查, 包括最佳矫正视力、裂隙灯显微镜、眼压、Pentacam 角膜地形图、角膜生物力学分析仪 (Corvis ST)、角膜内皮显微镜、扫频源眼前节光学相干断层扫描仪 (CASIA)、激光扫描共聚焦显微镜、超广角彩色眼底照相检查; 采集该家系成员外周静脉血, 提取全基因组 DNA, 进行全外显子组测序。在家系成员中进行 Sanger 测序验证和家系共分离分析。应用在线软件预测变异位点致病性; 应用在线分析软件 GERP++, Clustal Omega 明确变异位点在不同物种间的保守性; 根据美国医学遗传学和基因组学学会 (ACMG) 指南对变异位点进一步进行致病性评分。**结果** 该家系符合常染色体显性遗传。先证者及其父亲、胞兄裂隙灯显微镜下可见双眼角膜内皮囊泡状病灶, 激光扫描共聚焦显微镜下可见病灶处内皮细胞缺失、部分呈弹坑样改变, 部分呈圆形或椭圆形囊泡状病灶, 无全身其他系统异常。先证者母亲眼部及全身检查结果均未见异常。基因检测结果显示, 先证者及其父亲、胞兄均携带 *ZEB1* c. 790G>A (p. Gly264Arg) 杂合变异, 其母亲未携带该变异位点。Sanger 测序验证表明, 该变异在家系内符合家系共分离。该变异在千人基因组计划数据库、基因组聚合数据库、ExAC 数据库中未见报道, 为新发现的错义变异。通过 MutationTaster, SIFT, PROVEAN, VEST3, DANN, FATHMM-MKL, CADD, fitCons 预测该变异为有害变异, GERP++, Weblogo, Clustal Omega 显示其影响的氨基酸高度保守; 根据 ACMG 指南进行分类, 该变异为可能致病性变异。**结论** PPCD 家系发现 1 个 *ZEB1* 基因新的错义变异 c. 790G>A (p. Gly264Arg), 该变异可能为该 PPCD 家系的致病变异位点。

【关键词】 后部多形性角膜营养不良; 全外显子组测序; *ZEB1* 基因; 错义变异**基金项目:** 河南省医学科技攻关计划省部共建重点项目 (SBGJ202102052)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20240715-00195

Genotype and clinical phenotype analysis of posterior pleomorphic corneal dystrophy associated with a new variant of *ZEB1* gene

Li Jin, Li Ruimin, Li Ya, Dai Lijuan, Meng Zhihong, Pang Chenjiu

Department of Ophthalmology, Henan Provincial People's Hospital, Henan Eye Hospital, Zhengzhou 450003, China

Corresponding author: Pang Chenjiu, Email: pangcj999@sohu.com

【Abstract】 Objective To analyze the pathogenicity and clinical phenotype associated with a newly identified heterozygous variant in the *ZEB1* gene that causes posterior pleomorphic corneal dystrophy (PPCD). **Methods** A pedigree study was conducted. Clinical data of four people in 2 generations from one family with PPCD who visited Henan Eye Hospital in October 2023 were collected, including 3 patients. Relevant ophthalmic examinations were performed. Best corrected visual acuity, slit lamp microscopy, intraocular pressure, Pentacam corneal topography, Corvis ST corneal biomechanics analyzer, corneal endothelial microscopy, swept-source anterior segment coherence optical tomography (CASIA), laser scanning confocal microscopy, and ultra-wide-field fundus photography were performed to examine clinical phenotypes. Peripheral venous blood samples were collected from family members to extract genomic DNA, and whole exome sequencing was performed. Sanger sequencing and pedigree co-segregation analysis were carried out. Conservation analysis was performed using GERP++ and Clustal Omega software, and the pathogenicity of the variant was assessed according to American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)

guidelines. This study protocol adhered to the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of Henan Eye Hospital (No. HNEECKY-2019[15]). All subjects or guardian signed informed consent. **Results** This family conformed to autosomal dominant inheritance. Under a slit-lamp microscope, corneal endothelial vesicular lesions in both eyes could be seen in the proband, her father and her brother. Under a laser scanning confocal microscope, endothelial cells were missing at the lesions, and some were crater-like changes, and some lesions were circular or elliptical vesicular, and no other systemic abnormalities were observed. The ocular and physical examination of the proband's mother showed no abnormalities. Genetic testing results showed that the proband, her father and her brother all carried the ZEB1 c. 790G>A (p. Gly264Arg) heterozygous variant, but her mother did not carry the variation. Sanger sequencing verified that this variation was co-segregated within the family. The variation is a newly discovered missense mutation that had not been reported in the Thousand Genomes Project, Genome Aggregation Database, and ExAC database. The prediction results of the variant by MutationTaster, SIFT, PROVEAN, VESST3, DANN, FATHMM-MKL, CADD, fitCons and other software were harmful, and GERP++, Weblogo, Clustal Omega analysis showed that the amino acids affected by the variant were highly conservative. According to the ACMG Guidelines, this variation was possible pathogenic. **Conclusions** The identification of the missense mutation c. 790G>A (p. Gly264Arg) in the ZEB1 gene within this PPCD family provides new insights into the genetic basis of PPCD and the variant may be the pathogenic variant of in this family.

[Key words] Posterior pleomorphic corneal dystrophy; Whole exome sequencing; ZEB1 gene; Mutation, missense

Fund program: Medical Science and Technology Project of Henan Province (SBGJ202102052)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20240715-00195

后部多形性角膜营养不良 (posterior polymorphous corneal dystrophy, PPCD) 是一种缓慢进展的遗传性角膜内皮病变,累及后弹力层和内皮层,通常会导致不同程度的视力障碍。PPCD 的发病与多个基因相关,并具有不同的临床表现,其特点是角膜内皮细胞呈多形性改变,临床表现可分为囊泡状、带状及弥漫性 3 种类型。早期 PPCD 患者多无临床症状仅有角膜内皮细胞改变,晚期可并发眼前节异常,引起角膜水肿及继发性青光眼等^[1-2]。PPCD 具有明显的遗传异质性^[3-4]。本研究拟对中国 PPCD 一家系进行基因型与临床表型分析,以期更深入地了解 PPCD 的发病机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用家系调查研究方法,收集 2023 年 10 月于河南省立眼科医院就诊并经基因检测确诊的 PPCD 一家系共 2 代 4 人的临床资料,其中患者 3 例,先证者母亲眼部及全身未见明显异常。本研究方案严格遵循《赫尔辛基宣言》,并由河南省立眼科医院伦理委员会审核批准[批文号:HNEECKY-2019(15 号)]。所有受检者或监护人均知情并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 病史采集 详细询问并记录先证者、先证者胞兄及其父母全身病史、家族史以及婚育史等,绘制患者家系图谱。

1.2.2 临床检查 家系成员均行最佳矫正视力、眼压、裂隙灯显微镜、角膜地形图 (Pentacam, 德国 Oculus 公司)、角膜生物力学分析仪 (Corvis ST, 德国 Oculus 公司)、角膜内皮显微镜、扫频源眼前节光学相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) 仪 (CASIA, 日本 Tomey 公司)、激光扫描共聚焦显微镜、超广角彩色眼底照相检查。

1.2.3 样本采集及 DNA 提取 采集所有家系成员外周静脉血 5 ml, 充分颠倒混匀,置于 -80 °C 冰箱内保存备用。使用 DNA 提取试剂盒 (北京天根生化科技有限公司) 提取基因组 DNA。

1.2.4 全外显子组测序和 Sanger 测序 对先证者基因组 DNA 经过随机打断,加接头,外显子区域特异性捕获富集,构建文库后通过高通量测序仪 Illumina NovaSeq 6000 (美国 Illumina 公司) 进行测序。测序数据与 UCSC hg19 人类参考基因组序列进行比对。使用 XYGeneRanger 2.0 (上海寻因生物科技有限公司)、EGIS (上海瀚垚生物医学科技有限公司) 及 Flash Analysis (上海闪译生物科技有限公司) 等生物信息学分析软件对数据进行分析。收集目标区域的覆盖度和平均测序深度等质量参数。平均测序深度为 100×,其中目标序列的 97.62% 测序深度达 20× 以上。采用 Sanger 测序对家系成员候选致病基因变异进行分析,进一步在家系中验证基因型和表型的共分离。

1.2.5 致病性分析 应用千人基因组计划数据库 (<http://www.1000genomes.org>)、基因组聚合数据库 (gnomAD, <http://gnomad.broadinstitute.org>)、ExAC 数据库 (<http://exac.broadinstitute.org>) 对变异位点进行过滤。采用在线分析工具 Mutation Taster (<http://www.mutationtaster.org>), SIFT (<http://sift.jcvi.org>), PROVEAN (<http://www.jcvi.org/research/provean>), VEST3、DANN、FATHMM-MKL 和 fitCons (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2>), CADD (<http://cadd.gs.washington.edu>) 对变异位点的致病性进行预测; 对比 Uniport 数据库 ZEB1 蛋白结构域信息, 结合 InterPro (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence>) 预测, 然后采用 PyMol version 2.5.2 软件进行突变蛋白的三位构建; 采用 GERP++、Weblogo (<http://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi>)、Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo>) 等软件对变异位点进行保守性分析。采用美国医学遗传学及基因组学会 (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) 发布的《序列变异解读标准和指南》^[5] 进一步评估其变异位点的致病性。

2 结果

2.1 家系患者临床特征

先证者女, 15 岁, 右眼最佳矫正视力为 20/20 (-8.00 DS/ -2.25 DC $\times 165^\circ$), 左眼为 20/20 (-9.00 DS/ -3.00 DC $\times 10^\circ$)。裂隙灯显微镜检查显示双眼角膜小, 角膜周边内皮混浊并有囊泡状改变, 其余角膜透明 (图 1A)。OCT 显示角膜周边内皮面反光增强 (图 1B)。激光扫描共聚焦显微镜显示病变区内皮细胞消失, 可见成簇黑白色小体, 部分病灶呈弹坑

状, 边缘高反光, 呈火山口样改变, 内皮细胞呈多形性改变 (图 1C)。角膜内皮显微镜显示双眼内皮细胞数明显减少; 内皮细胞明显增大, 部分细胞缺失 (图 1D)。Pentacam 角膜地形图检查显示角膜曲率高; 角膜直径小 (图 1E, 表 1)。

先证者胞兄, 26 岁, 最佳矫正视力右眼为 20/20 (-5.50 DS/ -1.50 DC $\times 30^\circ$), 左眼为 20/20 (-5.25 DS/ -1.00 DC $\times 160^\circ$)。裂隙灯显微镜检查显示双眼角膜小, 周边内皮可见混浊并有囊泡状改变且较先证者更加明显, 双眼鼻侧可见角膜致密白色变性区, 其余区域角膜透明 (图 2A)。OCT 检查显示角膜周边内皮面反光增强 (图 2B)。激光扫描共聚焦显微镜检查显示病变区内皮细胞呈圆形或椭圆形囊泡状病灶, 病灶边缘呈堤状外观 (图 2C)。角膜内皮显微镜检查显示双眼内皮细胞数明显减少; 内皮细胞明显增大 (图 2D)。Pentacam 角膜地形图显示角膜曲率高, 角膜直径小 (图 2E, 表 1)。

先证者父亲, 50 岁, 右眼最佳矫正视力为 20/20 (-2.00 DS/ -1.00 DC $\times 180^\circ$), 左眼为 20/20 (-2.00 DS)。裂隙灯显微镜检查发现双眼角膜小, 周边内皮可见混浊并有少量囊泡状改变, 囊泡状改变较先证者轻, 其余区域角膜透明 (图 3A)。OCT 检查显示角膜周边内皮面反光增强 (图 3B)。激光扫描共聚焦显微镜检查显示病变区角膜内皮细胞明显增大且不规则, 部分可见细胞核, 少量坑样暗区 (图 3C)。角膜内皮镜检查显示双眼内皮细胞数减少明显, 细胞面积明显增大, (图 3D)。Pentacam 角膜地形图检查发现, 角膜曲率高, 角膜直径小 (图 3E, 表 1)。

2.2 全外显子组测序和 Sanger 测序验证

全外显子组测序结果显示, 先证者及其父亲、胞兄

表 1 家系患者临床检查结果
Table 1 Clinical examination results of patients in a PPCD family

家系患者	年龄 (岁)	最佳矫正视力		平均内皮细胞密度 (个/mm ²)		角膜曲率	
		右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼
先证者	15	20/20	20/20	1 150	1 415	51.0/53.6@162.1°	51.7/53.7@4.9°
先证者胞兄	26	20/20	20/20	1 075	1 252	50.1/51.6@23.5°	49.3/50.9@2.5°
先证者父亲	50	20/20	20/20	581	693	46.3/48.2@168.5°	46.0/47.2@19.9°

家系患者	角膜直径 (mm)		角膜最薄点厚度 (μm)		最薄点后表面高度 (μm)		CBI	
	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼
先证者	9.8	9.0	547	554	+7	+8	0.22	0.53
先证者胞兄	10.3	10.4	591	567	+6	+8	0.01	0.06
先证者父亲	10.6	10.7	556	561	+6	+5	0.04	0.02

注: PPCD: 后部多形性角膜营养不良; CBI: Corvis 生物力学指数

Note: PPCD: posterior polymorphous corneal dystrophy; CBI: Corvis biomechanical index

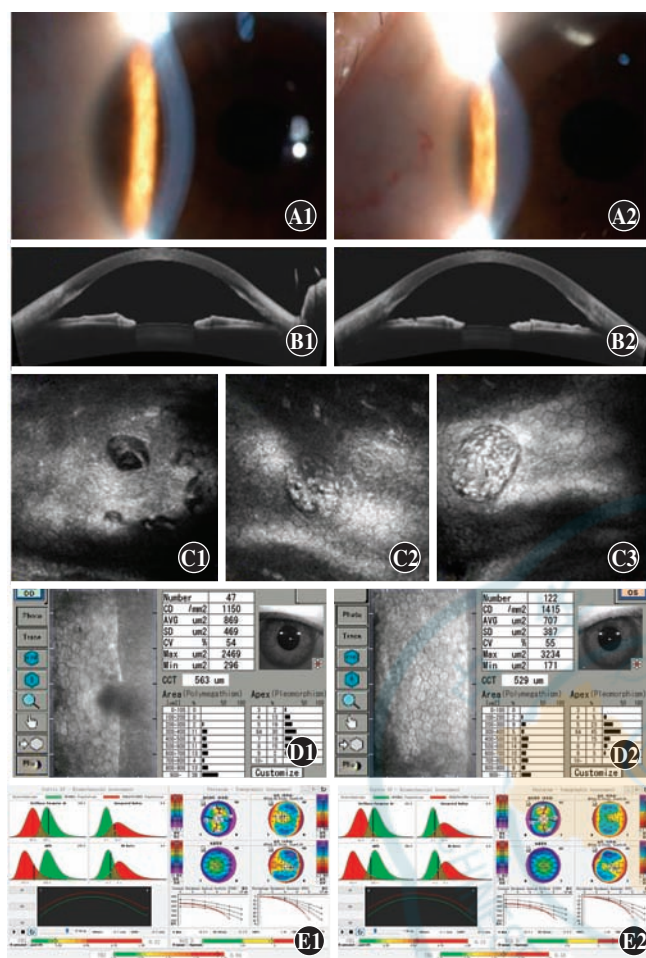


图 1 先证者临床检查结果 A:裂隙灯显微镜检查显示双眼角膜小,角膜周边内皮混浊并有囊泡状改变,其余角膜透明 B:眼前节 OCT 检查显示角膜周边内皮面反光增强 C:激光扫描共聚焦显微镜检查显示病变区内皮细胞消失,可见成簇黑白色小体,部分病灶呈弹坑状,边缘高反光,呈火山口样改变,内皮细胞呈多形性改变 D:角膜内皮显微镜检查显示双眼内皮细胞数明显减少,内皮细胞明显增大,部分细胞缺失 E:角膜地形图检查显示角膜曲率高,角膜直径小 A1、B1、C1、C2、D1、E1 为右眼 A2、B2、C3、D2、E2 为左眼

Figure 1 Clinical findings of the proband A: Slit lamp microscopy revealed bilateral small corneas with peripheral endothelial opacities and vesicular changes, while the central cornea remained transparent B: Anterior segment OCT showed enhanced reflectivity at the peripheral endothelial surface C: Laser scanning confocal microscopy demonstrated the absence of endothelial cells in affected areas, along with clusters of black-and-white corpuscles. Some lesions were crater-like, with hyperreflective borders and volcano-like changes. Remaining endothelial cells exhibited pleomorphism D: Corneal endothelial microscopy indicated reduced endothelial cell density bilaterally, with significant cellular enlargement and partial cell loss E: Pentacam showed high corneal curvature and small corneal diameter A1, B1, C1, C2, D1, E1 show right eye A2, B2, C3, D2, E2 show left eye

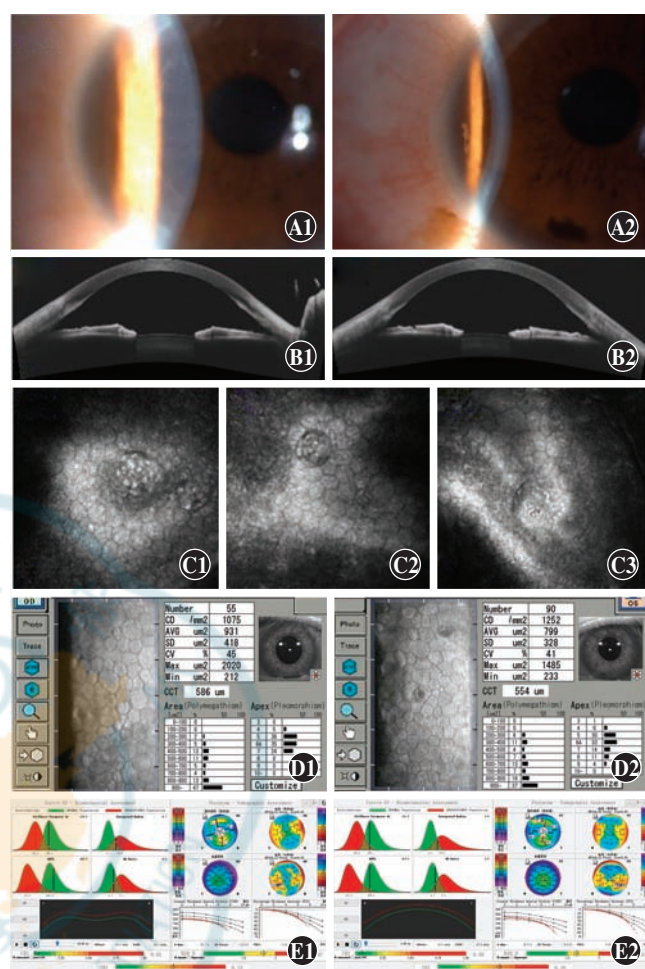


图 2 先证者胞兄临床检查结果 A:裂隙灯显微镜检查显示双眼角膜小,周边内皮可见混浊并有囊泡状改变,且双眼鼻侧可见角膜致密白色变性区 B:眼前节 OCT 检查显示角膜周边内皮面反光增强 C:激光扫描共聚焦显微镜检查显示病变区内皮细胞呈圆形或椭圆形,囊泡状病灶,病灶边缘呈堤状外观 D:角膜内皮显微镜检查显示双眼内皮细胞数明显减少,内皮细胞明显增大 E:角膜地形图检查显示角膜曲率高,角膜直径小 A1、B1、C1、C2、D1、E1 为右眼 A2、B2、C3、D2、E2 为左眼

Figure 2 Clinical findings of the proband's brother A: Slit lamp microscopy revealed bilateral small corneas with peripheral endothelial opacities and vesicular changes, while dense white degenerative zones were noted in the nasal cornea B: Anterior segment OCT showed enhanced reflectivity at the peripheral endothelial surface C: Laser scanning confocal microscopy demonstrated the round or oval endothelial cells and vesicular lesions in affected areas. The margins of the lesions were embankment-shaped D: Corneal endothelial microscopy indicated reduced endothelial cell count bilaterally, along with marked cellular enlargement E: Pentacam showed high corneal curvature and small corneal diameter A1, B1, C1, C2, D1, E1 show right eye A2, B2, C3, D2, E2 show left eye

均携带 *ZEB1* c. 790G>A (p. Gly264Arg) (M1) 杂合变异,其母亲未携带该变异,该家系符合常染色体显性遗传和家系共分离(图 4)。该变异为新的错义变异,位于 chr10-31803636,在 1000genomes、gnomAD、ExAC 等数据库中未见报道。MutationTaster、SIFT、PROVEAN、

VEST3、DANN、FATHMM-MKL、CADD、fitCons 预测均显示该变异位点为有害变异,保守性分析显示其影响的氨基酸高度保守(图 5)。根据 ACMG 指南进行分类,评估该变异为可能致病性变异(PM1+PP1+PM2-supporting+PP3+PP4)。

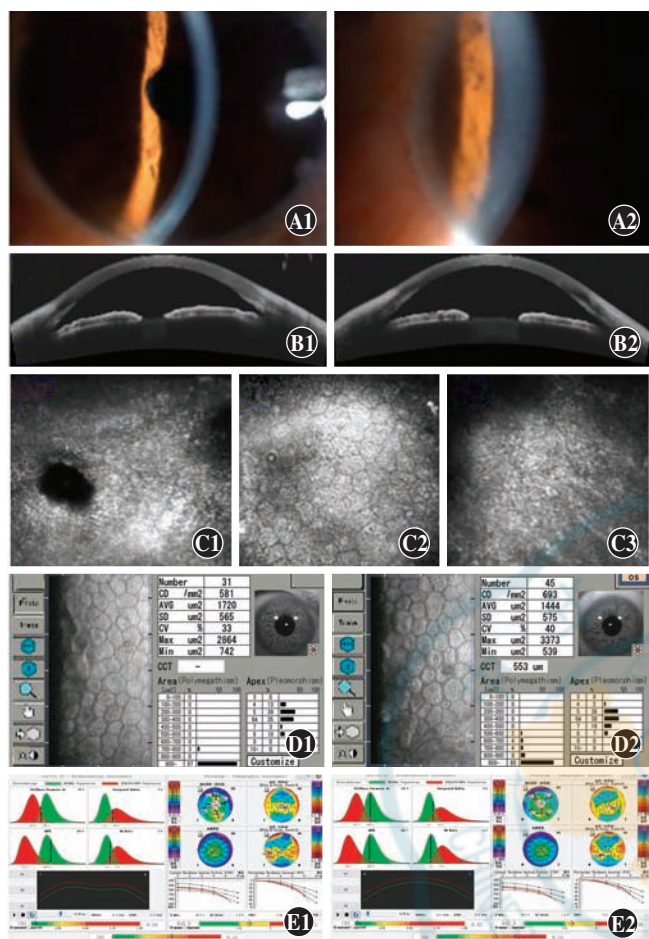


图 3 先证者父亲临床检查结果 A:裂隙灯显微镜检查显示双眼角膜小,周边内皮可见混浊并有少量囊泡状改变,其余角膜透明 B:眼前节 OCT 检查显示角膜周边内皮面反光增强 C:激光扫描共聚焦显微镜检查显示角膜内皮细胞明显增大且不规则,部分可见细胞核,少量坑样暗区 D:角膜内皮显微镜检查显示双眼内皮细胞数明显减少,内皮细胞明显增大 E:角膜地形图检查显示角膜曲率高,角膜直径小 A1、B1、C1、C2、D1、E1 为右眼 A2、B2、C3、D2、E2 为左眼

Figure 3 Clinical findings of the proband's father A: Slit lamp microscopy revealed bilateral small corneas with peripheral endothelial opacities and vesicular changes, while the central cornea remained transparent B: Anterior segment OCT showed enhanced reflectivity at the peripheral endothelial surface C: Laser scanning confocal microscopy demonstrated significantly enlarged and irregular corneal endothelial cells, with visible cell nuclei and a small number of pit-like dark zones in some areas D: Corneal endothelial microscopy indicated the significant reduction in endothelial cell count and notable enlargement of endothelial cells in both eyes E: Pentacam showed high corneal curvature and small corneal diameter A1, B1, C1, C2, D1, E1 show right eye A2, B2, C3, D2, E2 show left eye

2.3 生物信息学分析

对比 Uniprot 数据库 *ZEB1* 蛋白结构域信息,结合 InterPro 预测, *ZEB1* 蛋白第 264 位氨基酸位于保守的锌指 C2H2-type 结构域。与正常的同源序列比较, c. 790G>A (p. Gly264Arg) 改变了 *ZEB1* 蛋白的氨基酸结构,序列第 264 位氨基酸结构发生改变,使编码蛋白亲水性与蛋白三级结构均发生显著变化(图 6,7)。根据临床表型及基因变异,最终诊断为 PPCD。

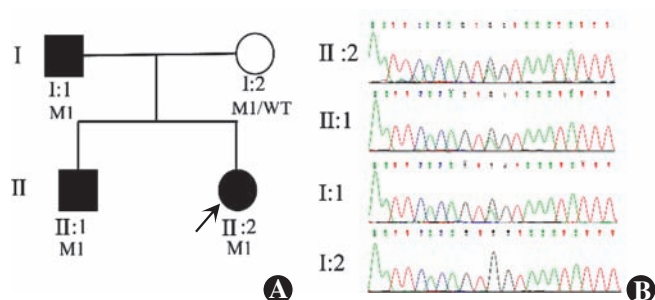


图 4 PPCD 家系图和家系成员 Sanger 测序图 A:PPCD 家系图 ■:男性患者;○:正常女性;●:女性患者;↗:先证者;WT:野生型;M1: *ZEB1* c. 790G>A (p. Gly264Arg) B:家系成员 Sanger 测序图先证者(II-2)及其父亲(I-1)、胞兄(II-1)均携带 M1: *ZEB1* c. 790G>A (p. Gly264Arg) 变异;先证者母亲(I-2)未携带 M1 变异箭头所示为变异位点

Figure 4 Pedigree and Sanger sequencing of a PPCD family A: Pedigree ■: male patient; ○: normal female; ●: female patient; ↗: proband; WT: wild-type; M1: *ZEB1* c. 790G>A (p. Gly264Arg) B: Sanger sequencing results The proband (II-2), the proband's father (I-1) and the proband's brother (II-1) all carried the variant M1: *ZEB1* c. 790G>A (p. Gly264Arg). The proband's mother (I-2) did not carry the M1 variation Arrows showed the variant site

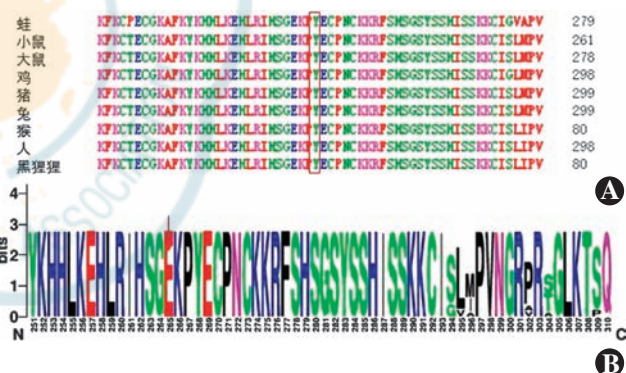


图 5 物种间序列保守性分析 A: Clustal Omega 分析结果 B: Weblogo 分析结果 *ZEB1* p. Gly264Arg 分别所对应的第 264 号氨基酸序列位点(方框)在蛙、小鼠、大鼠、鸡、猪、兔、猴、人、黑猩猩中高度保守

Figure 5 Analysis of sequence conservation among species A: Clustal Omega analysis B: Weblogo analysis The 264 amino acid sequence site (frame) corresponding to *ZEB1* p. Gly264Arg was highly conserved in frog, mouse, rat, chicken, pig, rabbit, monkey, human and chimpanzee

3 讨论

PPCD 是一种双眼呈不对称性表现的角膜内皮疾病,以常染色体显性遗传为主,也有散发的单眼病例,其临床表型与双眼病例相同^[6-7]。PPCD 具有高度临床异质性。根据病变形态不同,临床上将 PPCD 分为 3 种类型:1 型囊泡状病变,表现为角膜内皮层的囊泡状病灶,可独立或成簇出现;多为双眼发病,角膜内皮局部、孤立病灶,病灶数 2~20 个,多无症状,临床较难

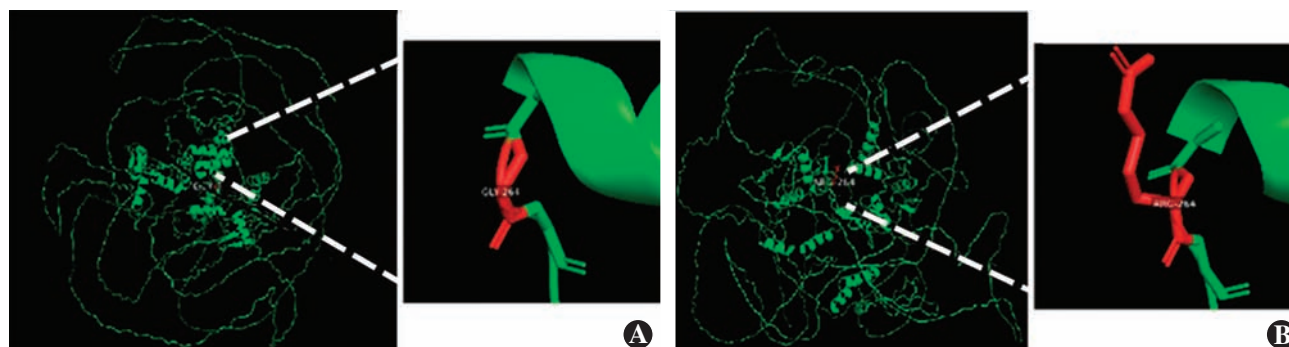


图 6 野生型及突变型 ZEB1 三级蛋白结构图 A:野生型 B:突变型

Figure 6 Tertiary protein structure of wild-type and mutant ZEB1 A: Wild type B: Mutant type

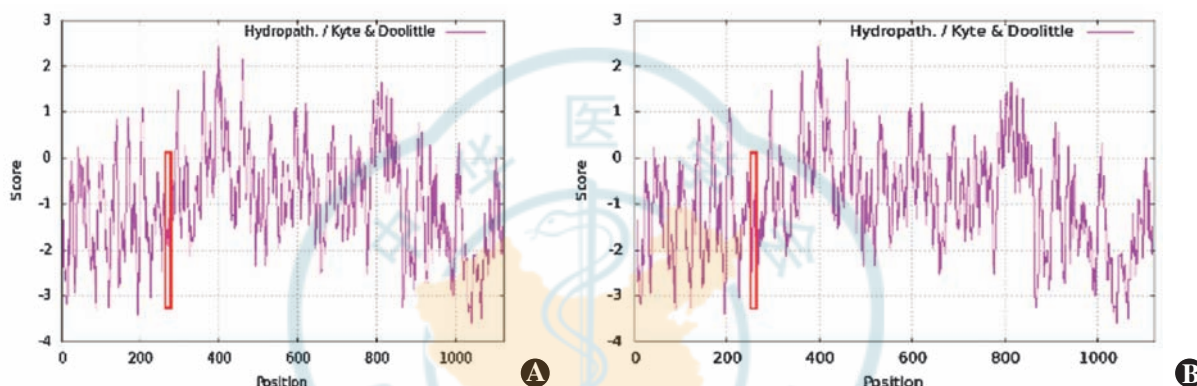


图 7 ZEB1 蛋白氨基酸序列亲水性分析 可见突变型蛋白序列亲水性发生显著改变 红色线框内为突变氨基酸位点,纵坐标峰值越小,亲水性越强 A:野生型 B:突变型

Figure 7 Analysis of the hydrophobicity of amino acid sequence of ZEB1 protein The hydrophilicity of the M1 mutant protein sequence was significantly altered. Within the red boxes were mutant amino acid sites The smaller the ordinate peak, the more hydrophilic the protein A: Wild type B: Mutant type

发现。2 型带状病变,表现为角膜内皮条带样病变,条带边缘为 2 条平行的灰色病变(双轨征);多单眼发病,角膜中央横行带状病变,可贯穿全角膜直径,少数为纵行病变,可发生在角膜周边部位。3 型弥漫性病变,表现为部分或全角膜后弹力层不规则增厚混浊,伴有泡状病损,表现为似锤敲过的金属皮外观;病灶可弥漫性分布于全角膜,引起周边虹膜前粘连,表现为瞳孔变形、继发青光眼、角膜内皮失代偿、角膜水肿^[8]。本家系 3 例患者均为双眼囊泡状病变,角膜直径小,角膜曲率高达 50 D 以上。既往有文献报道 PPCD 与角膜扩张相关^[4];但是本家系中患者角膜前后表面正常,不支持角膜扩张的诊断,但将来是否会进一步发展为角膜扩张仍需长期观察。

PPCD 具有遗传异质性,目前确定 4 个染色体位点变异与 PPCD 相关,包括 PPCD1 (20p11.2-q11.2) *VSX1/OVOL2*、PPCD2 (1p34.3-p32.3) *COL8A2*、PPCD3 (10p11.2) *ZEB1* 和 PPCD4 (8q22.3-q24.12) *GRHL2* 基因^[3,9-11]。PPCD 各亚型患者的预后各不相同,其中 *OVOL2* 基因变异(PPCD1)患者发生角膜水肿和继发

性青光眼的风险最高,其次是 *GRHL2* 基因变异(PPCD4)^[9,11]; *ZEB1* 基因变异(PPCD3)患者多表现为高角膜曲率^[12-13],该病例表现与其一致。

ZEB1 是一个核基因,位于染色体 10p11 上,编码锌指 E 盒同源域结合蛋白,可抑制 T 淋巴细胞特异性 *IL2* 基因(OMIM 147680)的表达,在胚胎发育中起着至关重要的作用,特别是在 IV 型胶原的表达调控和对内皮细胞表型的维持方面发挥重要作用。既往报道约 1/3 的 PPCD 患者与 *ZEB1* 基因变异有关,且表现为截短变异^[14-15]。在本家系中,通过全外显子组测序及 Sanger 测序验证同时结合生物信息学分析,成功获取了 1 个新的错义变异 *ZEB1* c. 790G > A (p. Gly264Arg),该变异位于 chr10-31803636,改变了 *ZEB1* 蛋白的氨基酸结构,序列第 264 位氨基酸由甘氨酸变为精氨酸,使编码蛋白亲水性与蛋白三级结构均发生显著变化,该变异在家系内共分离。此前报道中未曾有关于 *ZEB1* 错义变异与 PPCD 病变的相关性报道,这是首次在 PPCD 病变中发现 *ZEB1* 的错义变异。

文献报道 *ZEB1* 基因变异还与 Alport 综合征、

Fuchs 角膜内皮营养不良、圆锥角膜和某些肿瘤的进展也存在联系^[13,16]。本家系中所有患者临床上均表现为角膜曲率偏高,角膜小,角膜内皮细胞形态异常,细胞增大,细胞密度明显降低,特别是在角膜周边表现为局部混浊并可见囊泡状改变,未见圆锥角膜倾向,无全身其他系统异常。先证者胞兄伴有鼻侧角膜变性改变。

ZEB1 在 PPCD 发生中的作用仍未完全阐明,但有研究显示 *ZEB1* 通过下调编码细胞黏附和基底膜蛋白的 *Ecadherin* 基因,诱导角膜内皮细胞向上皮细胞的转化^[17]。既往报道表明 *ZEB1* 截短变异会导致 *ZEB1* 单倍剂量不足,影响 *ZEB1* 基因编码蛋白的正常功能;也有报道显示 *ZEB1* 截短变异导致其功能丧失,造成人角膜内皮细胞 *COL4A3* 的异常高表达,使内皮细胞异常增殖、角膜增厚和虹膜角膜粘连^[18-19]。本研究中 *ZEB1* 基因错义变异是否会影响 *COL4A3* 或其他类型胶原的异常表达,仍需进一步的实验验证。PPCD 病程进展较缓慢,大多数患者早期可无任何眼部不适症状,临床上可能通过体检发现,通常无需特殊治疗,当患者病情加重出现角膜内皮失代偿时,可考虑行角膜内皮移植术或穿透角膜移植术。

综上,本研究通过全外显子测序检测到 PPCD 家系中新发 *ZEB1* 基因错义变异 c. 790G>A (p. Gly264Arg), 为 PPCD 的遗传学研究提供了新的证据并扩大了 *ZEB1* 基因致病变异谱,有助于更深入地了解 PPCD 的发病机制,并为未来的诊断和治疗提供新的线索和方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 李金:病例收集、数据整理、论文撰写及修改;李瑞敏、李亚:数据整理、论文修改;代丽娟、孟志红:病例收集与整理;庞辰久:研究指导、论文修改及定稿

参考文献

- [1] Chung DW, Frausto RF, Ann LB, et al. Functional impact of *ZEB1* mutations associated with posterior polymorphous and Fuchs' endothelial corneal dystrophies [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55 (10) : 6159-6166. DOI:10.1167/iov.14-15247.
- [2] Frausto RF, Chung DD, Boere PM, et al. *ZEB1* insufficiency causes corneal endothelial cell state transition and altered cellular processing [J/OL]. PLoS One, 2019, 14 (6) : e0218279 [2024-07-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31194824>. DOI:10.1371/journal.pone.0218279.
- [3] Lin ZN, Chen J, Cui HP. Characteristics of corneal dystrophies: a review from clinical, histological and genetic perspectives [J]. Int J Ophthalmol, 2016, 9 (6) : 904-913. DOI:10.18240/ijo.2016.06.20.
- [4] Lam HY, Wiggs JL, Jurkunas UV. Unusual presentation of presumed posterior polymorphous dystrophy associated with iris heterochromia, band keratopathy, and keratoconus [J]. Cornea, 2010, 29 (10) : 1180-1185. DOI:10.1097/ICO.0b013e3181d007e1.
- [5] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology [J]. Genet Med, 2015, 17 (5) : 405-424. DOI:10.1038/gim.2015.30.
- [6] Weiss JS, Møller HU, Aldave AJ, et al. IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2 [J]. Cornea, 2015, 34 (2) : 117-159. DOI:10.1097/ICO.0000000000000307.
- [7] 蔡素萍, 刘旭阳, 闫乃红. 从分子水平认识角膜营养不良的分类方法 [J]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31 (2) : 204-208. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.02.023.
- [8] Cai SP, Liu XY, Yan NH. Modified classification method of corneal dystrophy at the molecular level [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2013, 31 (2) : 204-208. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.02.023.
- [9] Waring GO, Rodrigues MM, Laibson PR. Corneal dystrophies. II. Endothelial dystrophies [J]. Surv Ophthalmol, 1978, 23 (3) : 147-168. DOI:10.1016/0039-6257(78)90151-0.13.
- [10] Davidon AE, Liskova P, Evans CJ, et al. Autosomal-dominant corneal endothelial dystrophies CHED1 and PPCD1 are allelic disorders caused by non-coding mutations in the promoter of OVOL2 [J]. Am J Hum Genet, 2016, 98 (1) : 75-89. DOI:10.1016/j.ajhg.2015.11.018.
- [11] Liskova P, Tuft SJ, Gwilliam R, et al. Novel mutations in the *ZEB1* gene identified in Czech and British patients with posterior polymorphous corneal dystrophy [J/OL]. Hum Mutat, 2007, 28 (6) : 638 [2024-08-02]. <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17437275>. DOI:10.1002/humu.9495.
- [12] Liskova P, Dudakova L, Evans CJ, et al. Ectopic *GRHL2* expression due to non-coding mutations promotes cell state transition and causes posterior polymorphous corneal dystrophy 4 [J]. Am J Hum Genet, 2018, 102 (3) : 447-459. DOI:10.1016/j.ajhg.2018.02.002.
- [13] Liskova P, Palos M, Hardcastle AJ, et al. Further genetic and clinical insights of posterior polymorphous corneal dystrophy 3 [J]. JAMA Ophthalmol, 2013, 131 (10) : 1296-1303. DOI:10.1001/jamaophthalmol.2013.405.
- [14] Aldave AJ, Ann LB, Frausto RF, et al. Classification of posterior polymorphous corneal dystrophy as a corneal ectatic disorder following confirmation of associated significant corneal steepening [J]. JAMA Ophthalmol, 2013, 131 (12) : 1583-1590. DOI:10.1001/jamaophthalmol.2013.5036.
- [15] Krafchak CM, Pawar H, Moroi SE, et al. Mutations in TCF8 cause posterior polymorphous corneal dystrophy and ectopic expression of COL4A3 by corneal endothelial cells [J]. Am J Hum Genet, 2005, 77 (5) : 694-708. DOI:10.1086/497348.
- [16] Yellore VS, Rayner SA, Nguyen CK, et al. Analysis of the role of *ZEB1* in the pathogenesis of posterior polymorphous corneal dystrophy [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53 (1) : 273-278. DOI:10.1167/iov.11-8038.
- [17] Chung DW, Frausto RF, Ann LB, et al. Functional impact of *ZEB1* mutations associated with posterior polymorphous and Fuchs' endothelial corneal dystrophies [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55 (10) : 6159-6166. DOI:10.1167/iov.14-15247.
- [18] Zhang Y, Liu X, Liang W, et al. Expression and function of *ZEB1* in the cornea [J/OL]. Cells, 2021, 10 (4) : 925 [2024-08-02]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33923743>. DOI:10.3390/cells10040925.
- [19] Lee J, Jung E, Gestoso K, et al. *ZEB1* mediates fibrosis in corneal endothelial mesenchymal transition through SP1 and SP3 [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2020, 61 (8) : 41 [2024-08-02]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32721022>. DOI:10.1167/iov.61.8.41.
- [20] Lee J, Jung E, Heur M. Injury induces endothelial to mesenchymal transition in the mouse corneal endothelium *in vivo* via FGF2 [J]. Mol Vis, 2019, 25 : 22-34.

(收稿日期:2024-11-15 修回日期:2025-06-09)

(本文编辑:张宇 骆世平)

