

· 实验研究 ·

荧光PCR法检测 *TGFBI* 基因突变相关 角膜营养不良的准确度和重复性

孙秀丽 谷易轩 朱蕾 田磊 王滢琿 接英

首都医科大学附属北京同仁医院 北京同仁眼科中心 北京市眼科研究所 眼科学与视觉
科学北京市重点实验室, 北京 100730

通信作者: 接英, Email: jie_yingcn@aliyun.com

【摘要】 目的 分析荧光PCR法检测 *TGFBI* 基因突变相关角膜营养不良的准确度和重复性。**方法** 采用 ARMS-PCR 结合 TaqMan 探针法, 对 2021 年 1 月至 2025 年 8 月于首都医科大学附属北京同仁医院就诊的 240 例角膜营养不良患者的外周血样本 *TGFBI* 基因的 R124H、R124C、R555W、R555Q 位点进行分型检测(涵盖杂合与纯合突变), 并与 Sanger 测序结果进行对比。对荧光PCR法批内、批间的检测结果进行分析, 评估其重复性。分析基因型与临床表型的关联性。**结果** 240 例样本使用人 *TGFBI* 基因分型检测试剂盒(荧光PCR法)和 Sanger 测序法检测, 致病基因突变阳性率均为 83.33%(200/240)。2 种方法检测 R124H 杂合突变、R124H 纯合突变、R124L 杂合突变、R124C 杂合突变、R555W 杂合突变、R555Q 杂合突变阳性率均分别为 55.00%(132/240)、0.83%(2/240)、1.67%(4/240)、11.67%(28/240)、8.33%(20/240)、5.83%(14/240); 总阳性率均为 83.33%(200/240), 野生型检出率均为 16.67%(40/240)。2 种检测方法的总符合率为 100.00%。荧光PCR法检测 *TGFBI* 基因突变批内、批间重复结果完全一致。对 200 例基因突变阳性患者的基因型与临床表型进行分析, 结果显示不同基因型患者的临床表型分布差异有统计学意义($\chi^2=498.474, P<0.001$)。Cramer V=0.706。**结论** 荧光PCR法检测 *TGFBI* 基因热点突变的准确度高, 重复性好, 适用于临床角膜营养不良患者基因突变的检测。

【关键词】 角膜营养不良; 转化生长因子 β 诱导基因; 荧光PCR; Sanger 测序; 准确度; 重复性

基金项目: 首都公共卫生高层次领军人才建设项目(学科带头人-02-22); 北京市经济技术开发区“亦城人才”项目

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20250916-00300

Accuracy and repeatability of fluorescence PCR for detecting *TGFBI* gene mutation in corneal dystrophy

Sun Xiuli, Gu Yixuan, Zhu Lei, Tian Lei, Wang Yinghui, Jie Ying

Beijing Institute of Ophthalmology, Beijing Tongren Eye Center, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science, Beijing 100730, China

Corresponding author: Jie Ying, Email: jie_yingcn@aliyun.com

[Abstract] Objective To evaluate the accuracy and repeatability of fluorescence PCR in detecting *TGFBI* gene mutation in patients with corneal dystrophy. **Methods** ARMS-PCR combined with TaqMan probe method was used for genotyping the R124H, R124C, R555W, and R555Q loci (covering heterozygous and homozygous mutation) in the *TGFBI* gene in peripheral blood samples from 240 patients with corneal dystrophy who were treated at Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University from January 2021 to August 2025, and the results were compared with Sanger sequencing results. The intra-batch and inter-batch test results of fluorescence PCR were analyzed to evaluate their repeatability. The association between genotypes and clinical phenotypes was analyzed. This study adhered to the principles of the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Ethics Committee of Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University (No. TREC2023012), and written informed consent was obtained from all patients. **Results** The positive rate of pathogenic gene mutations detected by the human *TGFBI* gene mutation detection kit (fluorescence PCR method) and Sanger sequencing in 240 samples was 83.33%(200/240). The positive rates of R124H heterozygous mutation, R124H homozygous mutation, R124L heterozygous mutation, R124C heterozygous mutation, R555W heterozygous mutation and R555Q heterozygous mutation were 55.00%(132/240), 0.83%(2/240), 1.67%(4/240), 11.67%(28/240), 8.33%(20/240), 5.83%(14/240),



respectively. The total positive rate was 83.33%(200/240), and the wild-type detection rate was 16.67%(40/240). The total coincidence rate of the two methods was 100.00%. The repeated results of intra-batch and inter-batch for *TGFBI* gene mutation detected by fluorescence PCR were completely consistent. Analysis of genotypes and clinical phenotypes in 200 patients with positive gene mutations showed that the differences in the distribution of clinical phenotypes among patients with different genotypes was statistically significant ($\chi^2=498.474$, $P<0.001$). Cramer V=0.706. **Conclusions** Fluorescence PCR is highly accurate and reproducible in detecting *TGFBI* gene hot mutation, which is suitable for detecting gene mutation in patients with corneal dystrophy in clinical practice.

[Key words] Corneal dystrophy; *TGFBI* gene; Fluorescence PCR; Sanger sequencing; Accuracy; Repeatability

Fund program: Beijing Municipal Public Health High-level Leading Talent Development Program (Discipline Leader-02-022); "Yicheng Outstanding Talents" in Beijing Economic-Technological Development Area

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20250916-00300

角膜营养不良以遗传性、双侧进行性角膜混浊为特征,核心病变是异常物质在角膜各层中的沉积,导致不同程度的视力损害^[1]。角膜营养不良的病因之一是位于 chr5q31 上的转化生长因子 β 诱导 (transforming growth factor- β induced, *TGFBI*) 基因的突变,导致异常的 *TGFBI* 蛋白沉积^[2-3]。作为角膜营养不良首个被确定的致病基因, *TGFBI* 基因有 17 个外显子,第 124 和 555 位密码子是研究最广泛且已证实的明确致病位点^[4]。这 2 个位点相关的角膜营养不良占所有角膜营养不良的 80% 以上,具体体现在第 124 位密码子的 R124H、R124L、R124C 和第 555 位密码子的 R555W、R555Q 突变,分别引起 Avellino 角膜营养不良 (表现为基质颗粒状混浊,随病情进展可同时有网格状混浊)、Reis-Bückler 角膜营养不良 (表现为 Bowman 层斑块状、蜂窝状混浊)、Lattice 角膜异常症 (表现为基质网格状、线状混浊)、Granular 角膜异常症 (表现为角膜中央基质边界清晰的颗粒状混浊)、Thiel-Behnke 角膜营养不良 (表现为 Bowman 层及上皮层蜂窝状混浊),这些病变不仅影响患者视力,且在缺乏明显临床症状时若行屈光手术,会增加手术风险和感染概率^[5]。因此,开展 *TGFBI* 基因检测具有重要临床意义。

遗传性角膜营养不良基因突变类型与临床表型并非严格的一一对应关系,仅依靠表型判断 *TGFBI* 基因突变类型仍具有一定挑战性^[6]。近期研究发现,中国及希腊家系中分别存在罕见的 *TGFBI* 基因新突变位点,进一步丰富了基因型-表型关联谱系^[7-8]。此外,基因测序操作流程复杂,检测过程中易发生污染,且耗时较长、所需耗材多,导致患者经济负担较重。尽管 TaqMan 探针-ARMS-PCR 技术已被广泛应用于其他领域的基因分型,但其在中国人 *TGFBI* 基因突变相关角膜营养不良这一特定疾病中的系统性、大样本量的临床验证研究尚不充分;开发并验证一种快速、准确、适用于临床常规检测的方法,对于该病的早期诊

断、遗传咨询、避免屈光手术并发症等具有重要的现实意义。为简化检测步骤、提高检测准确性并降低医疗成本,本研究采用人 *TGFBI* 基因分型检测试剂盒 (荧光 PCR 法) 进行基因分型检测,并评估其检测致病突变的准确度及重复性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象 收集 2021 年 1 月至 2025 年 8 月于首都医科大学附属北京同仁医院眼科门诊收治的不同类型角膜营养不良患者 240 例,其中男 106 例,女 134 例;年龄 6~76 岁,平均 (43.07 $\pm$ 15.05) 岁。纳入标准: (1) 根据患者角膜混浊的形态学特征 (角膜颗粒状、网格状等特征性进行性混浊)、病变层次 (Bowman 层或基质层)、双眼病史,至少由 2 名临床经验丰富的副主任医师或主任医师诊断为角膜营养不良; (2) 患者及其家属均否认近亲婚配史; (3) 患者母亲于妊娠期间无明确疾病及用药史; (4) 临床资料与基因检测数据完整; (5) 具有患者或其法定监护人签署的知情同意书。排除标准: (1) 伴有活动性眼部感染 (如病毒、细菌、真菌性角膜炎等)、炎症 (如免疫性角结膜炎、葡萄膜炎等)、严重的眼表疾病 (如 Steven-Johnson 综合征、瘢痕性类天疱疮等) 或影响角膜评估的先天性眼部异常者; (2) 有明确的角膜外伤史或眼部手术史,并因此导致角膜混浊者; (3) 患有非 *TGFBI* 基因相关角膜营养不良 (如 Fuchs 内皮角膜营养不良等) 者; (4) 由全身疾病引起的获得性角膜病变者; (5) 早产者; (6) 妊娠期或哺乳期患者。本研究遵循《赫尔辛基宣言》,研究方案经首都医科大学附属北京同仁医院伦理委员会批准 (批文号: TREC2023012),所有患者均签署知情同意书。

1.1.2 主要试剂及仪器 人 *TGFBI* 基因分型检测试剂盒 (荧光 PCR 法,北京中因科技有限公司); 核酸提取纯

化试剂盒(福建佰孟医学科技有限公司);核酸提取试剂[磁珠法,济凡生物科技(常州)有限公司]。ABI7500荧光定量PCR仪(美国Applied Biosystems公司)。

1.2 方法

1.2.1 样本基因组DNA提取 采集患者外周静脉血5 ml于EDTA抗凝管中,-20℃保存备用。严格遵循核酸提取试剂(磁珠法)说明书,提取全血基因组DNA。

1.2.2 荧光PCR检测方案、质控策略与方法学验证 基于ARMS-PCR与TaqMan探针技术,通过设置4个独立的引物探针反应体系,分别检测各野生型与突变位点对应的基因型(表1、2)。反应体系:核酸扩增反应液16 μl、10×引物探针混合液(A/B/C/D)2 μl、待测DNA 2 μl,总体积为20 μl。PCR扩增程序:50℃孵育2 min、95℃预变性3 min;95℃变性30 s、60℃延伸50 s并采集荧光,共40个循环;25℃冷却1 min(图1)。对照品的 ΔC_t 判读参考标准见表3。通过计算待测位点与内参基因的 ΔC_t 值,根据表4所示规则判定基因型。采用内源性内参质控体系,通过内参对待测样本的采集、运输和提取过程进行监控,以减少检测结果的假阴性,内参探针均选择ROX通道标记;由于ROX通道在多数荧光定量PCR中属于校正通道,因此使用甘油醛-3-磷酸脱氢酶

表1 GAPDH基因及TGFB1基因各位点荧光PCR引物序列
Table 1 Fluorescent PCR primer sequences of GAPDH gene and sites of TGFB1 gene

基因/位点	引物序列(5'-3')
GAPDH	正向:GGCATCCTGGGCTACACTGA 反向:GCCCCAGCGTCAAAGGT
R124wt	正向:GCCATCCCTCCTTCTGTCTTC 反向:GGCCTCAGCTTCTCCATGC
R124H	正向:GCCATCCCTCCTTCTGTCTTC 反向:GGCCTCAGCTTCTCCATGT
R124L	正向:GCCATCCCTCCTTCTGTCTTC 反向:GGCCTCAGCTTCTCCATGA
R124C	正向:GCCATCCCTCCTTCTGTCTTC 反向:GGCCTCAGCTTCTCCGTTCA
R555wt	正向:ACCCTCAACCGGAAGGA 反向:CTTTACCCAAGAGTCTGCTACG
R555W	正向:ACCCTCAACCGGAAGGA 反向:CTTTACCCAAGAGTCTGCTACA
R555Q	正向:ACCCTCAACCGGAAGGA 反向:CTTTACCCAAGAGTCTGGCT

注:GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶;TGFB1:转化生长因子β诱导;wt:野生型

Note: GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; TGFB1: transforming growth factor-β induced; wt: wild type

表2 人TGFB1基因分型检测试剂盒(荧光PCR法)检测位点及荧光通道

Table 2 Detection loci and fluorescent channels of human TGFB1 gene mutation detection kit (fluorescent PCR method)

引物探针混合液名称	检测位点	荧光通道
引物探针混合液A	R124wt	FAM
	R555W	CY5
	GAPDH	ROX
引物探针混合液B	R124H	FAM
	GAPDH	ROX
引物探针混合液C	R124L	FAM
	R555Q	CY5
	GAPDH	ROX
引物探针混合液D	R124C	FAM
	R555wt	CY5
	GAPDH	ROX

注:TGFB1:转化生长因子β诱导;wt:野生型;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶

Note: TGFB1: transforming growth factor-β induced; wt: wild type; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)作为内部参考基因进行标准化处理。由于临床样本中纯合子样本占比较低,本研究使用不同检测限的参考品进行验证。样本检测每组设3个复孔,测3次;分别于不同时间用不同批次试剂盒重复测3次。

1.2.3 Sanger测序法验证基因分型结果 TGFB1基因124位点测序正向引物TGFB1-1F-CX:5'-GCCATCCCTCCTTCTGTCTTC-3';反向引物TGFB1-1R-CX:5'-AGTAAGGCAGTTCCCCATAAGAGTC-3'。555位点测序正向引物TGFB1-2F-CX:5'-ACCCTCAACCGGGAAGGA-3';反向引物TGFB1-2R-CX:5'-GGCTTCCCAAGGTTGCTAGT-3'。PCR扩增程序为:95℃预变性3 min;95℃变性30 s、60℃退火及延伸50 s,40个循环;反应结束后于8℃条件下保存(程序设为hold)。扩增产物经纯化后,采用双脱氧链终止法进行Sanger测序,测序结果与荧光PCR检测结果进行比对。

1.3 统计学方法

采用SPSS 27.0软件进行统计分析。计量资料经Shapiro-Wilk检验证实符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。计数资料以频数和百分比表示,不同基因型表型分布比较采用 χ^2 检验,差异有统计学意义时,计算Cramer V系数评估关联强度,其中Cramer V>0.5提示变量间存在较强关联。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

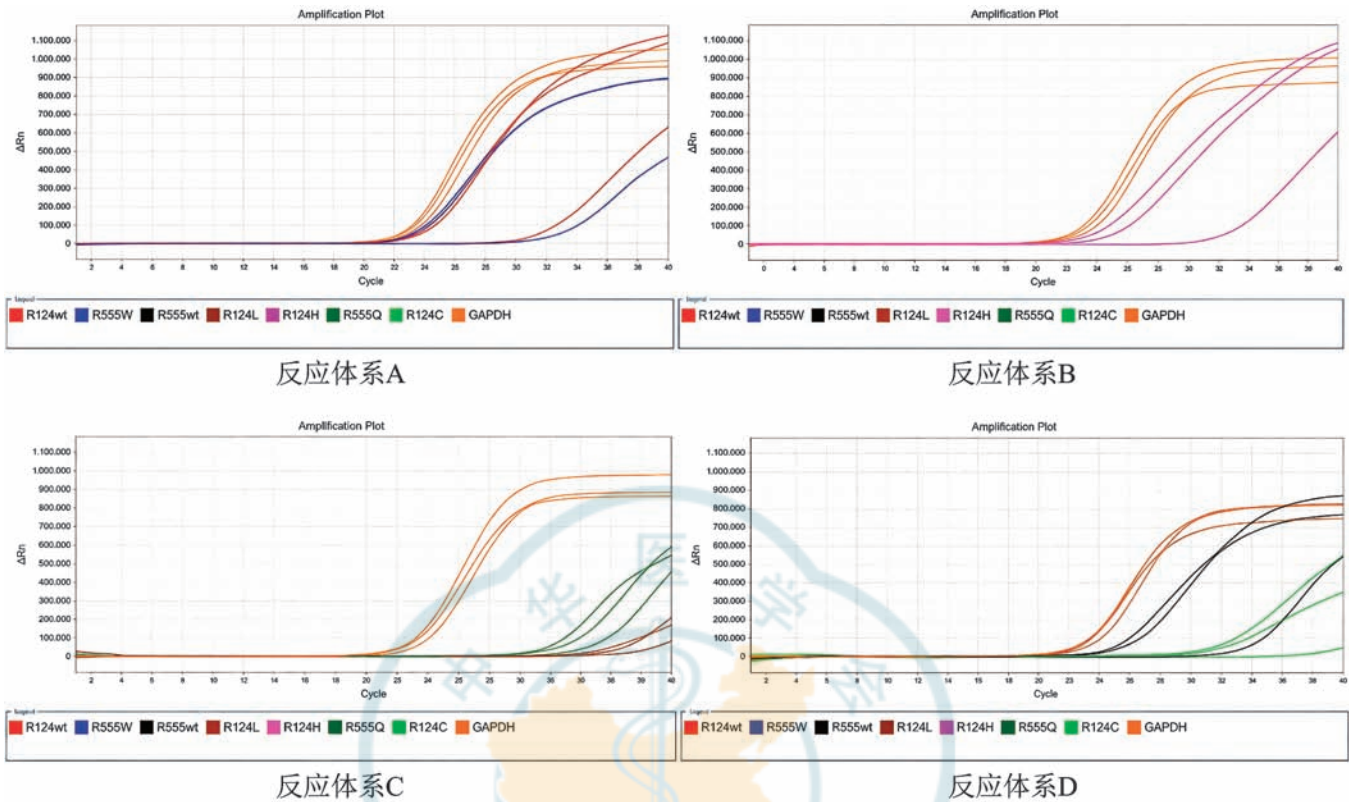


图 1 对照品扩增曲线图 wt:野生型;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶

Figure 1 Amplification curve of reference substance wt: wild type; GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

表 3 对照品检测结果参考(ΔCt)
Table 3 Reference substance test results (ΔCt)

反应体系	FAM 通道			CY5 通道		
	对照品 A	对照品 B	对照品 C	对照品 A	对照品 B	对照品 C
反应体系 A	<5	≥5	<5	≥5	<5	<5
反应体系 B	≥5	<5	<5	≥5	≥5	≥5
反应体系 C	≥5	≥5	≥5	≥5	≥5	≥5
反应体系 D	≥5	≥5	≥5	<5	≥5	<5

2 结果

2.1 荧光 PCR 法与 Sanger 测序检测 *TGFBI* 基因分型及突变的结果对比

荧光 PCR 法与 Sanger 测序检测 240 例患者 *TGFBI* 基因 124 和 555 位点突变阳性率及野生型检出率上均保持一致,总阳性率均为 83.33%(200/240),野生型检出率均为 16.67%(40/240)(表 5)。

2.2 荧光 PCR 法分型检测 *TGFBI* 基因突变的准确度和重复性

荧光 PCR 法相较于 Sanger 测序法检测结果阳性符合率为 100.00%(200/200);阴性符合率为 100.00%(40/40);总符合率为 100.00%(240/240)。荧光 PCR 法检测 *TGFBI* 基因突变批内、批间结果完全一致。

表 4 人 *TGFBI* 基因分型检测试剂盒(荧光 PCR 法)结果判读方法(ΔCt)

Table 4 Interpretation method for human *TGFBI* genotyping detection kit (fluorescence PCR method) (ΔCt)

通道	体系 A	体系 B	体系 C	体系 D	结果判读
FAM 通道	<5	≥5	≥5	≥5	野生型
	<5	<5	≥5	≥5	p.R124H 杂合突变
	≥5	<5	≥5	≥5	p.R124H 纯合突变
	<5	≥5	<5	≥5	p.R124L 杂合突变
	≥5	≥5	<5	≥5	p.R124L 纯合突变
	<5	≥5	≥5	<5	p.R124C 杂合突变
	≥5	≥5	≥5	<5	p.R124C 纯合突变
	≥5	≥5	≥5	≥5	该样本检测结果无效
CY5 通道	≥5	≥5	≥5	<5	野生型
	<5	≥5	≥5	<5	p.R555W 杂合突变
	<5	≥5	≥5	≥5	p.R555W 纯合突变
	≥5	≥5	<5	<5	p.R555Q 杂合突变
	≥5	≥5	<5	≥5	p.R555Q 纯合突变
	≥5	≥5	≥5	≥5	该样本检测结果无效

注: *TGFBI*: 转化生长因子 β 诱导

Note: *TGFBI*: transforming growth factor-β induced



表5 荧光PCR法与Sanger测序检测不同基因型的突变阳性率对比
Table 5 Positive rates of gene mutation types detected by fluorescent PCR and Sanger sequencing

突变	荧光PCR法	Sanger测序法
R124H 杂合突变	55.00% (132/240)	55.00% (132/240)
R124H 纯合突变	0.83% (2/240)	0.83% (2/240)
R124L 杂合突变	1.67% (4/240)	1.67% (4/240)
R124C 杂合突变	11.67% (28/240)	11.67% (28/240)
R555W 杂合突变	8.33% (20/240)	8.33% (20/240)
R555Q 杂合突变	5.83% (14/240)	5.83% (14/240)

2.3 基因型与临床表型的关联分析

R124H 杂合突变以 Avellino 角膜营养不良为主, 占 82.58% (109/132), 2 例 R124H 纯合突变患者均表现为 Avellino 角膜营养不良。R124L 杂合突变以斑块状角膜营养不良为主, 占 75.00% (3/4)。R124C 杂合突变以网格状角膜营养不良为主, 占 92.86% (26/28)。R555W 杂合突变均表现为颗粒状角膜营养不良, 占 100.00% (20/20)。R555Q 杂合突变以蜂窝状角膜营养不良为主, 占 57.14% (8/14) (表6)。对 200 例基因突变阳性患者的基因型与临床表型进行分析, 结果显示不同基因型患者的临床表型分布差异有统计学意义 ($\chi^2=498.474, P<0.001$)。Cramer V=0.706。

3 讨论

基因治疗作为潜在的非手术干预措施之一, 有望帮助患者恢复或改善视力^[9]。TGFB1 基因由 Skonier 等^[10]首次分离, 并在人肺腺癌细胞系中被鉴定, 该基因突变所引起的角膜营养不良仅表现为角膜中异常蛋白沉积, 与累及角膜的全身性疾病不同, 该病并不伴随其他系统病变。因此, 在怀疑遗传性角膜疾病时, 需对患者进行全身及眼部的全面评估, 包括详细

询问病史与家族史、全身多系统检查, 以及细致的眼前节和眼底检查等, 以排除全身性疾病。这些检查是当前临床常用的诊断方法, 但基因检测能够提供精确诊断、明确遗传模式, 从而指导治疗选择, 并为未来可能的基因干预奠定基础^[9]。近年来, RNA 干扰技术在 TGFB1 基因沉默方面已取得初步进展, 基于 shRNA 的基因沉默策略在人角膜上皮细胞中显示出良好的可行性^[11]。

迄今为止已有 30 多种遗传性角膜营养不良根据疾病特征进行分类, 包括外貌、临床特征、发病年龄, 但相同表型可能具有不同的基因型, 相同的突变位点也可能表现不同类型的疾病^[12]。Sanger 测序可直接得到基因序列信息, 适用于对未知突变检测, 但其敏感性相对较低, 耗时长, 通常需要超过 24 h; 操作步骤繁杂、费用较高, 易发生污染^[13]。本研究所用的荧光 PCR 法可在样本 DNA 提取后的 2.5 h 内完成全部检测与结果分析, 成本显著低于 Sanger 测序。本研究通过与 240 例样本的 Sanger 测序结果进行比对, 系统地验证了基于 TaqMan 探针-ARMS-PCR 的荧光 PCR 法在 TGFB1 基因突变相关角膜营养不良患者中检测的准确性与重复性, 对于其覆盖的特定热点突变, 荧光 PCR 法与金标准 Sanger 测序的符合率达到 100.00%。该方法提供了一种相对可靠的选择, 尤其适用于对已知位点突变进行快速、高通量筛查。因此, 尽管 Sanger 测序在发现新突变方面具有不可替代的优势, 但对于 TGFB1 基因已知热点突变的临床常规筛查与快速诊断, 荧光 PCR 法在检测速度、经济成本与操作便捷性上展现出显著优势, 更适用于大规模筛查、基层医院推广及术前快速诊断等。

TaqMan 探针法除 Taq 聚合酶作用外, 其外切酶作用可进一步确保基因扩增过程中发出的荧光来自目的基因片段, 从而具备更高的特异性和专一性, 降低假阳性。ARMS-PCR 又称等位基因特异性 PCR, 其阻

表6 基因突变类型与临床表型关联分析[n(%)]
Table 6 Correlation analysis between gene mutation types and clinical phenotypes [n(%)]

基因突变类型	例数	颗粒状角膜营养不良	网格状角膜营养不良	Avellino 角膜营养不良	斑块状角膜营养不良	蜂窝状角膜营养不良	Reis-Bückler's 角膜营养不良	Thiel-Behnke 角膜营养不良
R124H 杂合突变	132	14 (10.61)	6 (4.55)	109 (82.58)	2 (1.52)	1 (0.76)	0 (0.00)	0 (0.00)
R124H 纯合突变	2	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (100.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
R124L 杂合突变	4	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (75.00)	0 (0.00)	1 (25.00)	0 (0.00)
R124C 杂合突变	28	0 (0.00)	26 (92.86)	2 (7.14)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
R555W 杂合突变	20	20 (100.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
R555Q 杂合突变	14	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	4 (28.57)	8 (57.14)	0 (0.00)	2 (14.29)

滞能力强,灵敏度更高,可检测低至 10 ng/ μ l 的 DNA 中 0.05% 的突变,与 TaqMan 探针法相结合,检测等位基因结果更加准确^[13],反应体系中还含有 dUTP-UDG 防污染措施,避免因操作产生的假阳性结果。试剂盒批内、批间重复结果也完全一致,准确度高,重复性好,提示人 *TGFBI* 基因分型检测试剂盒(荧光 PCR 法)可准确检测 *TGFBI* 基因突变。

本研究的基因突变类型分布与中国人群的流行病学特征相吻合^[14],不同于西方人群,本研究中 R124H 突变是最常见的突变类型,因此在对临床上疑似 *TGFBI* 基因突变相关角膜营养不良患者进行基因检测时,可能更应优先关注 R124H 突变。同时也进一步证明了本研究使用的荧光 PCR 试剂盒能够覆盖我国人群中最常见的突变类型,具有较高的实用价值。但本次检测的覆盖范围存在局限,野生型结果并不能完全排除其他位点的突变。因此患者的最终诊疗方案仍需紧密结合临床与家族史,其次应完善必要的辅助检查。

综上所述,本研究基于 ARMS-PCR 结合 TaqMan 探针技术建立的针对 *TGFBI* 基因热点突变(R124H、R124L、R124C、R555W、R555Q)的荧光 PCR 法,经 240 例临床样本验证,与 Sanger 测序的总符合率为 100.00%,且批内、批间重复性良好,检测快速、成本较低,适用于临床筛查。基因型-表型关联分析进一步验证了不同突变位点与特定角膜营养不良亚型的对应关系,与既往中国人群流行病学特征相符,具有良好临床应用价值。但本方法仅针对已知热点突变,临床诊疗仍需结合表型及家族史综合判断。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 孙秀丽: 文章撰写、数据收集整理及统计分析;谷易轩: 数据统计分析、文章撰写与修改;朱蕾、田磊、王滢瑛: 负责患者血液样本采集、检测,指导实验;接英: 酝酿和设计实验、对文章知识性内容作批评性审阅及定稿

参考文献

- [1] Li T, Wu S, Wen Y, et al. Mutation analysis of the *TGFBI* gene in pedigrees of lattice corneal dystrophy in Eastern China[J]. *Ophthalmic Genet*, 2022, 43(5): 594–601. DOI: 10.1080/13816810.2022.2068616.
- [2] Sciriha GG, Sultana J, Borg J. Identifying and categorizing compounds

that reduce corneal transforming growth factor beta induced protein levels: a scoping review[J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2022, 15(12): 1423–1442. DOI: 10.1080/17512433.2022.2142560.

- [3] Han SB, Anandalakshmi V, Wong CW, et al. Genotypic homogeneity in distinctive transforming growth factor-beta induced (TGFBI) protein phenotypes[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3): 1230. DOI: 10.3390/ijms22031230.
- [4] Munier FL, Korvatska E, Djemaï A, et al. Kerato-epithelin mutations in four 5q31-linked corneal dystrophies[J]. *Nat Genet*, 1997, 15(3): 247–251. DOI: 10.1038/ng0397-247.
- [5] Lisch W, Weiss JS. Early and late clinical landmarks of corneal dystrophies[J]. *Exp Eye Res*, 2020, 198: 108139. DOI: 10.1016/j.exer.2020.108139.
- [6] Han KE, Choi SI, Kim TI, et al. Pathogenesis and treatments of TGFBI corneal dystrophies[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016, 50: 67–88. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2015.11.002.
- [7] Cui X, Shu L, Liu B, et al. Rare *TGFBI* mutation c.1553T>G p.(L518R) in lattice corneal dystrophy: comprehensive clinical and genetic analysis in a Chinese family[J]. *Am J Ophthalmol*, 2025, 279: 127–136. DOI: 10.1016/j.ajo.2025.07.012.
- [8] Zacharogianni M, Papandreou NC, Marinakis NM, et al. Clinical and structural characterization of a novel *TGFBI* mutation linked to a lattice corneal dystrophy variant in a Greek family[J]. *Am J Ophthalmol*, 2025, 274: 112–121. DOI: 10.1016/j.ajo.2025.03.003.
- [9] Weiss JS, Willoughby CE, Abad-Morales V, et al. Update on the corneal dystrophies-genetic testing and therapy[J]. *Cornea*, 2022, 41(11): 1337–1344. DOI: 10.1097/ICO.0000000000002857.
- [10] Skonier J, Neubauer M, Madisen L, et al. cDNA cloning and sequence analysis of beta ig-h3, a novel gene induced in a human adenocarcinoma cell line after treatment with transforming growth factor-beta[J]. *DNA Cell Biol*, 1992, 11(7): 511–522. DOI: 10.1089/dna.1992.11.511.
- [11] Sciriha GG, Borg J, Sultana J, et al. Transcriptome analysis of TGFBI knockdown vs normal corneal epithelial cells: implications for TGFBI corneal dystrophy treatment[J]. *Biochem Genet*, 2026, 64(3): 3451–3480. DOI: 10.1007/s10528-025-11191-3.
- [12] Li F, He J, Bai H, et al. An Arg124Cys mutation in transforming growth factor β -induced gene associated with lattice corneal dystrophy type I in a Chinese pedigree[J]. *Indian J Ophthalmol*, 2022, 70(1): 85–89. DOI: 10.4103/ijo.IJO_33_21.
- [13] Tan J, Zhang X, Wei X, et al. Application of the TaqMan ARMS-PCR approach for genotyping drug-induced hearing loss using dried blood samples[J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2024, 46(6): 5454–5466. DOI: 10.3390/cimb46060326.
- [14] 许可, 孙旭光, 谢玥, 等. 角膜营养不良患者 *TGFBI* 基因突变特点及基因型-表型关系[J]. *中华眼视光学与视觉科学杂志*, 2016, 18(3): 153–159. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-845X.2016.03.006.

Xu K, Sun XG, Xie Y, et al. Gene mutation and genotype-phenotype description in corneal dystrophy associated with *TGFBI* genes[J]. *Chin J Optom Ophthalmol vis Sci*, 2016, 18(3): 153–159. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-845X.2016.03.006.

(收稿日期: 2025-12-16 修回日期: 2026-07-04)

(本文编辑: 施晓萌 骆世平)

读者·作者·编者

本刊对稿件的学术要求

文稿须有较高的学术价值,具有创新性、科学性、导向性和实用性。文稿要求资料翔实、实事求是、立论新颖、方法学正确、论据充分、图表恰当、结果客观、结论可靠、论述严谨、符合逻辑、层次清晰、数据准确、语句通顺。

(本刊编辑部)



中华医学会杂志社
Chinese Medical Association Publishing House

版权所有 违者必究