

## 常染色体遗传型视网膜色素变性相关基因的研究进展

覃泳杰 综述 郭海科 审校

### Progress in the gene-related study on autosomal retinitis pigmentosa

Qin Yongjie, Guo Haike. Guangdong Eye Institute, Guangdong General Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China

**Abstract** Retinitis pigmentosa (RP) is a common sight-threatening eye disease. RP is characterized by highly genetical and phenotypical heterogeneity. Identification of the causative genes of RP is the first step toward the understand of the molecular basis of RP and, subsequently, toward the prevention and treatment of RP. In recent years, there have been new progress in the study on RP. This review mainly focuses on recent advances in the gene-related studies of autosomal dominant RP (adRP) and autosomal recessive RP (arRP) with emphasis on the roles of common genes, as well as their possible mechanisms in RP in order to provide the essential reference for the genetics research of RP.

**Key words** retinitis pigmentosa; autosoma; mutation; pathogenic gene

**摘要** 视网膜色素变性(RP)是常见的致盲性眼病,具有高度的遗传性和表型异质性。RP致病基因的确立对探讨该病的发病机制、预防和治疗具有重要的意义。近年来,RP的研究有了新的进展,就常染色体显性遗传 RP(adRP)与常染色体隐性遗传 RP(arRP)相关基因的研究进行综述,归纳其中常见致病基因的作用及其突变发病的可能机制,为 RP 的研究提供一定参考。

**关键词** 视网膜色素变性; 常染色体; 突变; 致病基因

**分类号** R 774.1 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)12-1159-05

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是视网膜变性中最常见的一组以进行性光感受器细胞及视网膜色素上皮(retinitis pigment epithelium, RPE)功能丧失为共同表现的遗传性疾病。目前全世界 RP 的发病率约为1/3 500,中国的发病率约为1/3 467。到目前为止,尚无有效的治疗方法和预防措施。根据 RP 遗传方式的不同,可分为常染色体显性遗传 RP(autosomal dominant RP, adRP)、常染色体隐性遗传 RP(autosomal recessive RP, arRP)和 X 性连锁遗传 RP(X-lined RP, XLRP),少数表现为双基因突变遗传及线粒体遗传。当因缺乏家族史而无法确定其遗传方式时,则为散发型 RP(sporadic RP, SRP),多数 SRP 表现为 arRP<sup>[1]</sup>。经统计,引起 adRP、arRP、XLRP 的突变基因分别为 17、25、6 种<sup>[2]</sup>,其中在已知的 adRP 基因中占有所有 adRP 发病的 56%,arRP 为 32.7%<sup>[2]</sup>。本文就 adRP 与 arRP 相关致病基因的研究进展进行综述。

### 1 与转录和转录后修饰蛋白相关的基因

现已确认在 RP 中存在编码转录因子和转录后 RNA 修饰因子基因的突变,如前体 mRNA 剪接因子(pre-mRNA processing factor, RPPF):RP11(PRPF31)、RP13(PRPF8)、RP18(PRPF3)和 RP9,其广泛地存在于机体的不同组织,编码前体 mRNA 剪接所必需的蛋白,对维持细胞的功能具有重要的作用,因此又称为管家基因<sup>[3]</sup>。

#### 1.1 RP11(PRPF31)

PRPF31 是常见的引起 adRP 的致病基因之一,仅次于 RHO 基因座。PRPF31 是对英国一个 adRP 大家族进行连锁分析时首次发现并将其定位在染色体 19q13.4 的。中国曾报道 RPPF31 基因上有一个 12 bp 的缺失。之后相继报道了 PRPF31 基因上新突变位点(IVS5-1G>A)和(IVS8+1G>C)<sup>[4-5]</sup>。Liu 等<sup>[6]</sup>也发现该基因上的新突变(IVS1+1G>T),并且用 RT-PCR 研究发现,这种突变使 mRNA 的表达水平在有症状的患者中下降 57%,在无症状的携带者中下降 28%。国

作者单位:510080 广州,南方医科大学(覃泳杰);510080 广州,广东省人民医院眼科 广东省眼病防治研究所(郭海科)

通讯作者:郭海科 (Email:guohaike@medmail.com.cn)

外学者也在此基因上发现了新的剪接突变位点(IVS6 +1G>T)<sup>[7]</sup>。人 PRPF31 基因编码一个相对分子质量为 61 000 的蛋白质,其类似于酿酒酵母 mRNA 前体剪接因子 Prp31p。而研究表明 Prp31p 缺失会使剪接因子失去耐温能力<sup>[3]</sup>,因此推测在前体 mRNA 剪接加工过程中,PRPF31 对小核糖体蛋白(small nuclear ribonucleoprotein, snRNP) U4/U6-U5 三聚体的装配形成是必要的。PRPF31 能与 U4/U6 二聚体的 U4 结合,再通过与 U5 的 PRPF6 作用,从而在 U4/U6 二聚体和 U5 间架起一座桥<sup>[8]</sup>。Schaffert 等<sup>[9]</sup>证实如果将 PRPF31 或 PRPF6 敲除后,U5、U4/U6 将会积聚,不能形成 U4/U6/U5 三聚体。最近研究发现该基因错义突变能使 PRPF31 与 PRPF6 发生强结合,形成稳定的 U4/U6-U5 三聚体,不利于剪接复合体成分的再循环<sup>[10]</sup>。

## 1.2 其他

PRPF3 与 PRPF31 一起参与 U4/U6 二聚体蛋白的组成,PRPF3 基因上所有的突变均集中在与其他剪接因子特异性相互作用的保守羧基末端。在此前,PRPF3 基因已报道 2 个错义突变(Pro493Ser 和 Thr494Met),Gamundi 等<sup>[11]</sup>也报道了 Ala489Asp 突变位点。Graziotto 等<sup>[12]</sup>认为这些错义突变所致的 RP18 并非由于单倍剂量不足引起,而是毒性功能获取的结果。PRPF8 位于 17p13.3,含 42 个外显子,编码 220 000 的蛋白,是 U5 snRNP 的核心组成部分。Testa 等<sup>[13]</sup>对一意大利家系进行遗传分析发现 PRPF8 上新的点突变(P2301S),不过该突变仅引起轻微的 RP 表型,而在 Walia 等<sup>[14]</sup>报道的 2 个变异体(H2309R 和 IVS41-4G>A)中,前者引起严重的 RP,后者则是一种良性变异。RP9 位于 7p14.3,其发病可能与 Pim1 激酶相关蛋白 1(Pim-1 kinase associated protein 1, PAPI)突变有关。PAPI 是 U4/U6-U5 三聚体的组成部分,能与 PRPF3 相互作用<sup>[15]</sup>,曾有报道在 RP9 患者中存在 2 个错义突变(H137L 和 D170G)。但对 RP9 的致病机制尚存在争议,Daiger 等<sup>[16]</sup>认为 RP9 并不引起 adRP。另外,与视网膜转录相关的因子还有锥杆同源盒(cone-rod homeobox, CRX)和神经视网膜拉链蛋白(neural retina leucine zipper, NRL),其致病率均 <1%。

## 2 与光电转换、视觉周期及感光细胞结构稳定性相关的基因

### 2.1 视紫红质基因

视紫红质(rhodopsin, RHO)基因是最早被识别的 RP 基因,由其突变而致病的约占所有 adRP 的 25%。

该基因位于 3q21-24,含有 5 个外显子,编码与视黄醛结合形成 RHO 的视蛋白。目前已发现超过 100 个不同的 RHO 基因突变,其中 90% 为单个碱基置换的点突变,一般突变范围不超过 20 个碱基对。在亚洲,已报道的 RHO 基因突变均集中在羧基末端,其中 Pro347Leu 为全球性多发突变位点<sup>[1]</sup>。曾有报道香港地区中国人群 RP 中存在 RHO 基因上 Pro347Leu 和 5211delC 的突变,之后又有学者研究发现 3 个 RHO 基因的突变(Ser176Phe、Arg314fs16 和 Val20Gly)<sup>[17]</sup>。Grondahl 等<sup>[18]</sup>报道 2 个新的 RHO 突变位点:(1)1003delG,其缺失完全改变和延长羧基末端,致使这种突变的蛋白失去了高度保守的 QVAPA 区。(2)I179F,这种突变则中断正常 RHO 蛋白的功能。正常状态下,氨基酸 179 位于视紫红质蛋白分子的 plug 区,其对形成结合 VitA 的功能性囊袋有支持作用。此外,Ando 等<sup>[19]</sup>对 RHO 基因位点进行突变筛查和单倍型分析时也发现一个新的突变位点(Ala42Thr),但这一突变并未引起任何 RP 症状。

### 2.2 氧调节蛋白 1 基因

氧调节蛋白 1(oxygen-regulated protein-1, ORP1 或 RP1)基因,定位于 8q11-13,至少有 4 个外显子。病理研究表明,RP1 局限在光感受器的连接纤毛,编码一种特异性微管相关蛋白(microtubule-associated proteins, MAPs)。这种蛋白表达受视网膜内氧的调节,是感光细胞外节盘形成正常结构所必需的,在视紫红质转运至外节中扮演重要的角色,并且对光感受器轴丝的长度及其稳定性具有调控作用<sup>[20-21]</sup>。大多数 RP1 基因突变集中于外显子 4,尤其是在 663 密码子与 777 密码子之间。主要由于无义突变或插入缺失产生了截短的蛋白,这种蛋白则可能是通过显性负相作用机制而致病。在美国等西方国家 RP1 突变是较常见的,占有所有 RP 的 7%,其中以错义突变 R677X 多见。在我国,RP1 突变相对少见,曾有学者对 101 例无亲缘关系的 RP 患者和 190 例正常中年人进行筛查发现只有 1 例患者存在 R677X 突变,而 Sheng 等<sup>[22]</sup>的研究发现 8 个受累个体 RP1 外显子 4 上均有错义突变(N985Y)。致病基因 RP1 既可引起 adRP,也可引起 arRP。adRP 病情轻,发病也较晚。Khaliq 等<sup>[23]</sup>通过异源双链分析所报道的 1 个新 RP1 突变位点(T3731)发现,arRP 的患者发病早,且病情严重。

### 2.3 视网膜变性慢蛋白基因

视网膜变性慢蛋白(retinal degeneration slow, RDS)基因定位于 6p21.2,含 3 个外显子和 2 个内含子,编码一个 33 000 的糖蛋白,该蛋白局限在光感受器

外节盘边缘,与视杆细胞外节盘膜蛋白 1 (retinal outer segment membrane protein 1, ROM1) 相互作用,对维持外节盘膜的正常形态结构及稳定性有着重要的意义。Farjo 等<sup>[24]</sup>研究发现,这种跨膜糖蛋白通过富含谷氨酸的蛋白将盘膜锚定在环核苷酸的门控通道上,若 RDS 基因缺失,视杆细胞外节盘膜将不能形成,感光细胞将会出现凋亡;而对视锥细胞来说,RDS 缺乏后仍能形成有活性的盘膜,但这种盘膜失去了层状结构,光转录效应降低。临床上,RDS 突变可引起很多类型的视网膜变性。目前已发现超过 70 个 RDS 基因突变与 adRP 和常染色体显性黄斑变性 (autosomal dominant macular degeneration, adMD) 有关,其中引起 adRP 的突变位点仅占 5%。RDS 突变所致的 adRP 有地区差异,在美国及北欧较多见,在我国等亚洲国家较少见。崔云等<sup>[25]</sup>对该基因进行筛选时并未发现其突变,2003 年遗传学学术讨论会上曾报道中国人 RDS 基因的 2 个突变 (Glu304Gln 和 Pro216Leu)。在日本,也有报道 RDS 基因的突变位点 (Pro210Leu)。Leroy 等<sup>[26]</sup>通过直接测序法对 RDS 基因进行分析,发现一突变位点 (p. Trp94X),但未发现 ROM1 突变。而之前,有报道 RDS 基因的错义突变 (Leu185Pro) 与 ROM1 基因突变存在共分离,引起双基因遗传型 RP<sup>[27]</sup>。

#### 2.4 短粗样蛋白-1 与三磷酸腺苷结合盒 A4

短粗样蛋白-1 (tubby-like protein 1, TULP1) 是短粗样蛋白家族中 (TUB/TULP1-3) 的一员。TULPs 主要位于神经系统,在视网膜中 TULP1-3 均可表达。研究发现 TULP1 参与光感受器蛋白囊泡的运输<sup>[28]</sup>。最近 Abbasi 等<sup>[29]</sup>通过微卫星标记连锁分析发现,TULP1 内含子 14 上新的剪接位点突变 (c. 1495 + 2\_1495 + 3insT)。此前对于 TULP1 基因突变的报道已有 14 个,其中在内含子上有 7 个不同的突变位点。三磷酸腺苷结合盒 A4 (ATP-binding cassette A4, ABCA4) 是膜转运蛋白基因家族的成员之一,编码一种局限于光感受器外节盘膜上的边缘蛋白,这种蛋白对 N-亚视黄基磷脂酰乙醇胺具有转运功能。ABCA4 基因突变主要引起 Stargardt 病,也可致 arRP,但在目前已知的 45 个 ABCA4 突变位点中尚不能对相当一部分的 RP 做出单独的解释<sup>[30]</sup>。

#### 2.5 其他

与光电转换和视觉周期相关的蛋白还有杆细胞环磷酸鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 磷酸二酯酶  $\alpha$ 、 $\beta$  (Phosphodiesterase 6A/6B, PDE6A/6B)、RP 特异性蛋白 (相对分子质量为 65 000) (RPE-specific 65-kd protein, RPE65) 及鸟苷酸循环激活因子

1B (guanylate cyclase activator 1B, GUCA1B) 等。随着 RP 研究的不断开展,一些新的致病基因也被发现。Fingert 等<sup>[31]</sup>首次报道一 adRP 家系与视黄醛脱氢酶 (retinol dehydrogenase 12, RDH12) 突变 (776delG) 有关。Papaioannou 等<sup>[32]</sup>利用微卫星标记连锁定位分析,将一个新的 adRP 致病基因 RP31 定位于 9p22-p13。Zhao 等<sup>[33]</sup>也在 adRP 一家系中发现了新的致病基因 RP33 (2cen-q12.1)。

### 3 与代谢酶相关的基因

次黄嘌呤脱氢酶 (inosine monophosphate dehydrogenase 1, IMPDH1) 基因位于 7q32.1, 编码 I 型 IMPDH 酶,是鸟苷酸从头合成的限速酶,对很多细胞的功能支持和视觉换能级联反应的调节有重要作用。国内外对 IMPDH1 基因的突变报道较少,但其突变所致的 adRP 发病早,并且严重。在 Grover 等<sup>[34]</sup>所发现的 Arg231Pro 突变患者中都表现为严重的 RP 症状。于永斌等<sup>[35]</sup>通过直接测序法对 adRP 家系 (10 例受累,10 例未受累) 进行研究,发现 10 例受累者均有 Asp226Asn 突变。IMPDH1 在机体细胞中均有表达,人和鼠的感光细胞均能表达多种不同的蛋白亚型。研究表明,视网膜中大多数 IMPDH1 的蛋白亚型有别于其他组织,如果 IMPDH1 发生致病性的突变,这些独特的蛋白亚型就会通过显性负相互作用机制使 IMPDH1 结合单股核酸的特异性与亲和力发生改变而致病<sup>[36-37]</sup>。另外与代谢酶相关的基因还有卵磷脂视黄醇酰基转移酶 (lecithin retinol acyltransferase, LRAT)。

总之,RP 致病基因的共同分子病理机制是视网膜感光细胞的凋亡。在典型病例中,首先受累的是视杆细胞,随后视锥细胞因缺乏视杆细胞的生长因子等作用而丢失,但有时也可视杆细胞、视锥细胞同时受累,继而逐渐出现 RP 的症状与体征。

### 4 结语与展望

随着分子生物学等技术的不断提高,从基于基因表达产物的功能克隆到基于疾病-染色体位置-基因的反向遗传学策略的定位克隆,医学遗传学得到了快速的发展。现在,可利用全基因组候选基因分析、定位候选克隆策略等技术对那些无明显表型线索或生化功能的疾病进行研究。RP 主要是一组单基因遗传性疾病,估计将有超过 70 个基因与其相关。Wang 等<sup>[38]</sup>总结了 20 个常见的常染色体 RP 相关基因的功能及定位 (表 1)。最近在 RetNet (<http://www.sph.uth.tmc.edu/Retnet>) 上公布的确定与 RP 相关的基因有 35 个。

表 1 常见常染色体 RP 相关基因<sup>[38]</sup>

adRP			arRP		
标记	功能	位点	标记	功能	位点
PRPF31	前 mRNA 片断	19q13.42	ABCA4	视网膜中分解	1p22.1
PRPF8	前 mRNA 片断	17p13.3	TULP1	光感受器 转录因子	6p21.31
PRPF3	前 mRNA 片断	1q21.2	PDE6A	光传导	5q33.1
RP9	未知	7p14.3	PDE6B	光传导	4p16.3
RHO	光传导	3q22.1	RHO	光传导	3q22.1
NRL	转录因子	14q11.2	NRL	转录因子	14q11.2
RP1	转录因子	8q12.1	RP1	转录因子	8q12.1
IMPDH1	调控细胞生长	7q32.1	RPE65	视黄酸代谢	1p31.2
RDS	维持光感受器盘膜	6p21.2	LRAT	视黄酸代谢	4q32.1
ROM1	光感受器结构	11q12.3	USH2A	视网膜发育	1q41

相信伴随着新技术的不断出现和分子遗传学研究的不断深入,会有更多的致病基因被确定。而这些疾病基因的详细定位及克隆,将为 RP 的病因探讨、基因诊断、产前诊断及遗传咨询创造条件,并为 RP 的基因治疗提供更全面的理论依据。

### 参考文献

- Yong RY, Chee CK, Yap EP. A two-stage approach identifies a Q344X mutation in the rhodopsin gene of a Chinese Singapore family with autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. *Ann Acad Med Singapore*, 2005, 34(1): 94 - 99
- Daiger SP, Bowne SJ, Sullivan LS. Perspective on genes and mutations causing retinitis pigmentosa [J]. *Arch Ophthalmol*, 2007, 125(2): 151 - 158
- Mordes D, Luo X, Kar A, et al. Pre-mRNA splicing and retinitis pigmentosa [J]. *Mol Vision*, 2006, 12: 1259 - 1271
- Xia K, Zheng D, Pan Q, et al. A novel PRPF31 splice-site mutation in a Chinese family with autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. *Mol Vision*, 2004, 10: 361 - 365
- 陆莎莎, 赵晨, 崔云, 等. 我国常染色体显性遗传视网膜色素变性家系中 PRPF31 基因新的剪切位点突变 [J]. *中华眼科杂志*, 2005, 40(4): 305 - 311
- Liu JY, Dai X, Sheng J, et al. Identification and functional characterization of a novel splicing mutation in RP gene PRPF31 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367(2): 420 - 426
- Chakarova CF, Cherninkova S, Tournev I, et al. Molecular genetics of retinitis pigmentosa in two Romani (Gypsy) families [J]. *Mol Vision*, 2006, 12: 909 - 914
- Makarova OV, Makarov EM, Liu S, et al. Protein 61K, encoded by a gene (PRPF31) linked to autosomal dominant retinitis pigmentosa, is required for U4/U6\*U5 tri-snRNP formation and pre-mRNA splicing [J]. *EMBO J*, 2002, 21(5): 1148 - 1157
- Schaffert N, Hossbach M, Heintzmann R, et al. RNAi knockdown of hPrp31 leads to an accumulation of U4/U6 di-snRNPs in Cajal bodies [J]. *EMBO J*, 2004, 23(15): 3000 - 3009
- Wilkie SE, Vaclavik V, Wu H, et al. Disease mechanism for retinitis pigmentosa (RP11) caused by missense mutations in the splicing factor gene PRPF31 [J]. *Mol Vision*, 2008, 14: 683 - 690
- Gamundi MJ, Hernan I, Muntanyola M, et al. Transcriptional expression of cis-acting and trans-acting splicing mutations cause autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. *Hum Mutat*, 2008, 29(6): 869 - 878
- Graziotto JJ, Inglehearn CF, Pack MA, et al. Decreased levels of the RNA splicing factor Prp31 in mice and zebrafish do not cause photoreceptor degeneration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(9): 3830 - 3838
- Testa F, Ziviello C, Rinaldi M, et al. Clinical phenotype of an Italian family with a new mutation in the PRPF8 gene [J]. *Eur J Ophthalmol*, 2006, 16(5): 779 - 781
- Walia S, Fishman GA, Zernant-Rajang J, et al. Phenotypic expression of a PRPF8 gene mutation in a Large African American family [J]. *Arch Ophthalmol*, 2008, 126(8): 1127 - 1132
- Maita H, Kitaura H, Keen TJ, et al. PAP-1, the mutated gene underlying the RP9 form of dominant retinitis pigmentosa, is a splicing factor [J]. *Exp Cell Res*, 2004, 300(2): 283 - 296
- Daiger SP, Sullivan LS, Gire AI, et al. Mutations in known genes account for 58% of autosomal dominant retinitis pigmentosa (adRP) [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2008, 613: 203 - 209
- Schuster A, Weisschuh N, Jagle H, et al. Novel rhodopsin mutations and genotype-phenotype correlation in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. *Br J Ophthalmol*, 2005, 89(10): 1258 - 1264
- Gron Dahl J, Riise R, Heiberg A, et al. Autosomal dominant retinitis pigmentosa in Norway: a 20-year clinical follow-up study with molecular genetic analysis. Two novel rhodopsin mutations: 1003delG and I179F [J]. *Acta Ophthalmol Scand*, 2007, 85(3): 287 - 297
- Ando Y, Ohmori M, Ohtake H, et al. Mutation screening and haplotype analysis of the rhodopsin gene locus in Japanese patients with retinitis pigmentosa [J]. *Mol Vision*, 2007, 13: 1038 - 1044
- Gao J, Cheon K, Nusinowitz S, et al. Progressive photoreceptor degeneration, outer segment dysplasia, and rhodopsin mislocalization in mice with targeted disruption of the retinitis pigmentosa-1 (Rpl1) gene [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(8): 5698 - 5703
- Liu Q, Zuo J, Pierce EA. The retinitis pigmentosa 1 protein is a photoreceptor microtubule-associated protein [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(29): 6427 - 6436
- Sheng X, Zhang X, Wu W, et al. Variants of RP1 gene in Chinese patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. *Can J Ophthalmol*, 2008, 43(2): 208 - 212
- Khaliq S, Abid A, Ismail M, et al. Novel association of RP1 gene mutations with autosomal recessive retinitis pigmentosa [J]. *J Med Genet*, 2005, 42(5): 436 - 438
- Farjo R, Skaggs JS, Nagel BA, et al. Retention of function without normal disc morphogenesis occurs in cone but not rod photoreceptors [J]. *J Cell Biol*, 2006, 173(1): 59 - 68
- 崔云, 赵堪兴, 王立, 等. 视网膜色素变性遗传致病基因 peripherin/RDS 的突变筛选 [J]. *眼科研究*, 2002, 20(5): 385 - 387
- Leroy BP, Kailasanathan A, de Laey JJ, et al. Intrafamilial phenotypic variability in families with RDS mutations: exclusion of ROM1 as a genetic modifier for those with retinitis pigmentosa [J]. *Br J Ophthalmol*, 2007, 91(1): 89 - 93
- Boon CJ, Den HA, Hoyng CB, et al. The spectrum of retinal dystrophies caused by mutations in the peripherin/RDS gene [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2008, 27(2): 213 - 235
- Xi Q, Pauer GJ, Ball SL, et al. Interaction between the photoreceptor-specific tubby-like protein 1 and the neuronal-specific GTPase dynamin-1 [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(6): 2837 - 2844
- Abbasi AH, Carzozzi HJ, Ben-yosef T. A novel splice-site mutation of TULP1 underlies severe early-onset retinitis pigmentosa in a consanguineous Israeli Muslim Arab family [J]. *Mol Vision*, 2008, 14: 675 - 682
- Shastri BS. Evaluation of the common variants of the ABCA4 gene in families with Stargards disease and autosomal recessive retinitis pigmentosa [J]. *Int J Mol Med*, 2008, 21(6): 715 - 720
- Fingert JH, Oh K, Chung M, et al. Association of a novel mutation in the retinol dehydrogenase 12 (RDH12) gene with autosomal dominant



retinitis pigmentosa[J]. Arch Ophthalmol, 2008, 126(9): 1301 - 1307

32 Papaioannou M, Chakarova CF, Prescott DC, et al. A new locus (RP31) for autosomal dominant retinitis pigmentosa maps to chromosome 9p[J]. Hum Genet, 2005, 118(3-4): 501 - 503

33 Zhao C, Lu S, Zhou X, et al. A novel locus (RP33) for autosomal dominant retinitis pigmentosa mapping to chromosomal region 2cen-q12.1 [J]. Hum Genet, 2006, 119(6): 617 - 623

34 Grover S, Fishman GA, Stone EM. A novel IMPDH1 mutation (Arg231Pro) in a family with a severe form of autosomal dominant retinitis pigmentosa[J]. Ophthalmology, 2004, 111(10): 1910 - 1916

35 于永斌, 杨洪滨, 徐洋, 等. 视网膜色素变性一家系与 IMPDH1 基因突变相关[J]. 眼科新进展, 2007, 27(9): 649 - 652

36 Mortimer SE, Hedstrom L. Autosomal dominant retinitis pigmentosa

mutations in inosine 5'-monophosphate dehydrogenase type I disrupt nucleic acid binding[J]. Biochem J, 2005, 390(Pt1): 41 - 47

37 Bowne SJ, Liu Q, Sullivan LS, et al. Why do mutations in the ubiquitously expressed housekeeping gene IMPDH1 cause retina-specific photoreceptor degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(9): 3754 - 3765

38 Wang DY, Chan WM, Tam PO, et al. Genetic markers for retinitis pigmentosa[J]. Hong Kong Med J, 2005, 11(4): 281 - 288

(收稿: 2009-02-17 修回: 2009-10-09)

(本文编辑: 尹卫靖)

· 短篇论著 ·

## 蛋白激酶 C 抑制剂 GF109203X 对豚鼠形觉剥夺性近视的影响

毛俊峰 刘双珍 秦文娟 李凤云 谭 浅 吴小影 夏朝华

蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 是一类重要的蛋白质磷酸化激酶, 哺乳动物视网膜双极细胞<sup>[1-3]</sup>、无长突细胞<sup>[3-4]</sup>、Müller 细胞<sup>[1]</sup>均表达多种 PKC 亚型。目前尚不清楚 PKC 在近视发生中的作用。本研究将 GF109203X 注入豚鼠玻璃体, 研究其对近视形成的影响, 报告如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 材料** 3 周龄三色豚鼠 40 只 (中南大学动物部), 分为 4 组: 对照组、遮盖组、遮盖 + GF109203X 组和遮盖 + 二甲亚砜 (Dimethyl sulfoxide, DMSO) 组, 右眼为遮盖眼, 每组 10 只。GF109203X (美国 Calbiochem 公司) 被溶解于 DMSO; PKC 活性测定试剂盒 (美国 Promega 公司); TUNEL 试剂盒 (南京凯基生物发展公司)。

**1.2 方法** 近视模型的制作参见文献 [5-6]。遮盖前和遮盖第 7 天, 向遮盖 + GF109203X 组右眼玻璃体内注射 20 ng GF109203X, 共 10 μL, 以 DMSO 作为对照。遮盖 14 d 后, 检测眼球屈光状态并记录闪光视网膜电图 (flash electroretinogram, F-ERG)。参照文献 [7], 记录 F-ERG 最大反应的 a 波、b 波。按 PKC 活性测定试剂盒测定视网膜 PKC 活性。按 TUNEL 试剂盒检测视网膜凋亡细胞。

**1.3 统计学方法** 采用 SPSS 11.0 统计学软件进行分析。各组间比较采用 One-way ANOVA 检验, 左眼、右眼间的比较采用 t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

### 2 结 果

**2.1 GF109203X 对眼球屈光状态的影响** 遮盖 14 d 后, 豚鼠遮盖眼眼轴延长, 近视形成。玻璃体内注射 20 ng GF109203X 后, 遮盖眼眼轴延长减慢、近视度数降低 (P < 0.05)。注射 GF109203X 的遮盖眼仍表现 -1.15 D 的近视, 与对照眼比较差异有统计学意义 (P < 0.05)。玻璃体内注射 DMSO 对遮盖眼

的屈光度和眼轴长度均无影响 (P > 0.05) (表 1)。

表 1 GF109203X 对遮盖眼屈光状态的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	眼别	角膜曲率 (mm)	屈光度 (D)	眼轴长度 (mm)
对照	右	3.46 ± 0.04	+1.23 ± 0.55	8.19 ± 0.05
	左	3.46 ± 0.05	+1.28 ± 0.46	8.19 ± 0.03
遮盖	右	3.46 ± 0.05	-3.86 ± 1.08 <sup>beh</sup>	8.34 ± 0.05 <sup>beh</sup>
	左	3.45 ± 0.06	+1.23 ± 0.60	8.20 ± 0.06
GF109203X	右	3.46 ± 0.03	-1.15 ± 0.52 <sup>be</sup>	8.25 ± 0.04 <sup>be</sup>
	左	3.46 ± 0.04	+1.31 ± 0.40	8.19 ± 0.03
DMSO	右	3.47 ± 0.03	-3.95 ± 1.21 <sup>beh</sup>	8.35 ± 0.04 <sup>beh</sup>
	左	3.46 ± 0.07	+1.43 ± 0.50	8.18 ± 0.02
F		0.573	16.827	6.492
P		> 0.05	< 0.01	< 0.01

<sup>b</sup>P < 0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>P < 0.05 vs 各自的左眼值; <sup>h</sup>P < 0.05 vs GF109203X 组

**2.2 GF109203X 对视网膜 PKC 活性的影响** 遮盖 14 d 后, 遮盖眼视网膜 PKC 活性升高, 与对照眼比较差异有统计学意义 (P < 0.05)。GF109203X 注射后, 遮盖眼 PKC 活性降低 (P < 0.05)。DMSO 注射对 PKC 活性无影响 (P > 0.05) (图 1, 表 2)。

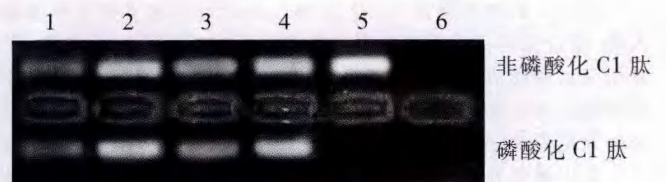


图 1 视网膜 PKC 活性测定电泳图 1: 对照组 2: 遮盖组 3: GF109203X 组 4: DMSO 组 5: 阴性对照 6: 空白对照

**2.3 GF109203X 对视网膜毒性的观察** F-ERG 最大反应可记录到典型的 a 波、b 波。遮盖 14 d 后, 遮盖眼 a 波、b 波振幅无明显变化, 与对照眼比较差异均无统计学意义 (P > 0.05)。

本课题为国家自然科学基金青年基金 (30600694)、湖南省科技厅项目 (08SK3101) 资助

作者单位: 410008 长沙, 中南大学湘雅医院眼科

通讯作者: 毛俊峰 (Email: mao\_junfeng@163.com)