

Wnt 信号通路关键基因的单核苷酸多态性位点与中国汉族高度近视遗传易感性的关联

谢培培¹, 彭 洁², 安广琪³, 杜利平^{3,4}

引用: 谢培培, 彭洁, 安广琪, 等. Wnt 信号通路关键基因的单核苷酸多态性位点与中国汉族高度近视遗传易感性的关联. 国际眼科杂志, 2025, 25(6): 986-992.

作者单位:¹(467000) 中国河南省平顶山市第二人民医院眼科;
²(250000) 中国山东省济南市第四人民医院眼科;³(450000) 中国河南省郑州市, 郑州大学第一附属医院眼科;⁴(450000) 中国河南省郑州市, 郑州大学眼底病研究所

作者简介: 谢培培, 毕业于新乡医学院三全学院, 本科, 副主任医师, 副主任, 研究方向: 白内障、眼底病、小儿近视。

通讯作者: 杜利平, 毕业于中山大学, 博士研究生, 副教授, 主任医师, 病区主任, 研究方向: 玻璃体视网膜病、黄斑病、葡萄膜炎、遗传眼病. dulplab@live.cn

收稿日期: 2024-10-16 修回日期: 2025-04-27

摘要

目的: 探讨既往报告的与高度近视(HM)相关的 Wnt 信号通路相关基因是否可作为中国汉族人群 HM 的候选基因, 寻找与 HM 易感性关联的风险基因位点。

方法: 病例对照研究, 纳入 530 例 HM 患者(HM 组)及 1 087 名健康志愿者(健康对照组), 采用 Quanto 软件估计检验效能。利用磁珠法提取上述参与者外周血 DNA 后利用 Sequenom MassARRAY 系统的质谱法对候选的 7 个单核苷酸多态性(SNPs)位点进行基因分型(*HIVEP3* rs17365632, rs35134694, rs11210537, *CTNNB1* rs13072632, *CAMK2N1* rs10753502, *TCF4* rs41396445, *Wnt7B* rs73175083)。比较 HM 组与健康对照组的 7 个 SNPs 位点的基因型和等位基因分型差异, 同时比较不同遗传模型下基因型频率的差异。采用 SHEsis plus 进行连锁不平衡分析和单倍体型分析。

结果: 本研究所选的 7 个 SNPs 分型检出率均高于 90%, 均符合哈迪-温伯格平衡($P > 0.05$), 样本量的检验效能均在 90.13% 以上, 本研究样本有良好的群体代表性。HM 组 *HIVEP3* rs11210537 的 A 等位基因频率较对照组降低($P_c = 0.003$, $OR = 0.889$), G 等位基因较对照组升高($P_c = 0.003$, $OR = 1.176$), 加性遗传模型(AA vs GG)中 AA 基因型较 GG 基因型频率降低($P_c = 0.003$, $OR = 0.583$)。HM 组相较于对照组, *HIVEP3* 中 rs17365632、rs35134694、rs11210537 的 CCA 单倍体型频率降低($P_c = 0.008$, $OR = 0.791$)。

结论: 中国汉族人群 *HIVEP3* 基因 SNP 位点 rs11210537 与 HM 遗传易感性相关, 其 G 等位基因为风险性遗传标记。*HIVEP3* 基因的 rs17365632、rs35134694、rs11210537 的 CCA 单倍体型为 HM 的保护单倍体型。

关键词: 高度近视; 单核苷酸多态性; Wnt 信号通路; *HIVEP3* 基因

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2025.6.21

Association of single nucleotide polymorphisms in Wnt signal pathway-related genes with high myopia genetic susceptibility in Chinese Han population

Xie Peipei¹, Peng Jie², An Guangqi³, Du Liping^{3,4}

¹Department of Ophthalmology, Pingdingshan the Second People's Hospital, Pingdingshan 467000, Henan Province, China;

²Department of Ophthalmology, the Fourth People's Hospital of Jinan, Jinan 250000, Shandong Province, China; ³Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China; ⁴Zhengzhou University Fundus Disease Institute, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Correspondence to: Du Liping, Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China; Zhengzhou University Fundus Disease Institute, Zhengzhou 450000, Henan Province, China. dulplab@live.cn

Received: 2024-10-16 Accepted: 2025-04-27

Abstract

• **AIM:** To evaluate whether Wnt pathway-related genes previously implicated in high myopia (HM) could serve as candidate genes for HM in the Chinese Han population, and to identify risk loci associated with HM susceptibility.

• **METHODS:** A case-control association analysis was conducted, involving 530 HM patients (HM group) and 1 087 healthy controls. The test efficacy was estimated using Quanto software. Peripheral blood DNA was extracted using the magnetic bead method, and seven candidate single nucleotide polymorphisms (SNPs) were genotyped using the Sequenom MassARRAY system, including *HIVEP3* rs17365632, rs35134694, rs11210537, *CTNNB1* rs13072632, *CAMK2N1* rs10753502, *TCF4* rs41396445 and *Wnt7B* rs73175083. Differences in allele and genotype frequencies between the HM and healthy control groups were compared under different inheritance models. Haplotype analysis was performed using SHEsis plus.

• **RESULTS:** All 7 SNPs had a genotyping detection rate exceeding 90%, and were in Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$). The test efficacy of the sample size was above 90.13%, indicating that the samples were representative of the population. In the HM group, the A allele frequency of

HIVEP3 rs11210537 was significantly reduced ($P_c = 0.003$, $OR = 0.889$). Conversely, the G allele frequency was significantly elevated ($P_c = 0.003$, $OR = 1.176$). In an additive genetic model (AA vs GG), the AA genotype frequency was significantly lower than the GG genotype frequency ($P_c = 0.003$, $OR = 0.583$). Additionally, the frequency of the CCA haplotype of rs17365632, rs35134694, and rs11210537 in *HIVEP3* was decreased in the HM group compared to the control group ($P_c = 0.008$, $OR = 0.791$).

• **CONCLUSION:** The SNP locus rs11210537 in the *HIVEP3* gene is associated with genetic susceptibility to HM in the Chinese Han population, with the G allele identified as risk genetic markers. The CCA haplotype of rs17365632, rs35134694, and rs11210537 in the *HIVEP3* gene represents a protection haplotype for HM.

• **KEYWORDS:** high myopia; single nucleotide polymorphisms; Wnt signaling pathway; *HIVEP3* gene

Citation: Xie PP, Peng J, An GQ, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in Wnt signal pathway-related genes with high myopia genetic susceptibility in Chinese Han population. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2025, 25(6):986-992.

0 引言

高度近视 (high myopia, HM) 是遗传因素和环境因素相互作用产生的,且遗传在 HM 的发生中起到重要作用^[1-2]。近年来,国内外利用全基因组关联分析研究 (genome-wide association study, GWAS) 鉴定出一系列与近视相关的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 位点^[3-4]。其中 2020 年, Meguro 等^[5]的 GWAS 研究表明, *HIVEP3* 基因的 rs698047 位点与 HM 遗传易感性相关。 *HIVEP3* 是 Wnt/ β -catenin 通路上游关键的调节基因^[6]。 Wnt/ β -catenin 通路在生物遗传中具有高度保守性,参与多种生命过程。 HM 的主要表现为眼轴 (AL) 的过度伸长,目前研究认为巩膜重塑是这一变化的主要原因,且与巩膜细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的代谢异常相关^[7]。 Wnt/ β -catenin 信号通路正是参与调控 ECM 的代谢。动物实验表明, Wnt2b 和 β -catenin 在行觉剥夺小鼠近视动物模型中表达上调,提示 Wnt 信号通路可能在近视早期被激活,靶向抑制 Wnt 信号通路可减轻近视的程度^[8]。综上所述, HM 的发生发展与遗传相关,其中 Wnt 信号通路相关基因与 HM 的关系密切。因此,本研究以 GWAS 研究为基础,立足于 Wnt 通路相关基因,采用高通量、低污染、高准确度的飞行质谱技术 (Sequenom MassARRAY) 进行基因分型,在大样本量的中国汉族人群中探索 Wnt 信号通路相关基因的 SNPs 位点与 HM 的遗传易感性关系,以期为 HM 的遗传学发生机制提供新的参考。

1 对象和方法

1.1 对象 收集 2020 年 1 月至 2021 年 12 月在郑州大学第一附属医院眼科就诊的 530 例 HM 患者 (HM 组) 和同时期年龄相匹配的 1 087 名健康参与者 (健康对照组) 眼部检查资料与静脉血样。 HM 组患者中男 203 例,女 327 例,年龄 45.23 ± 17.09 岁。 1 087 名健康对照组中男 526 例,女 561 例,年龄 47.02 ± 16.00 岁。纳入标准:(1) 参与

者均为中国汉族人,样本间无血缘关系;(2) HM 患者双眼的等效球镜度数 (spherical equivalent, SE) ≤ -6.00 D 和 (或) $AL \geq 26.5$ mm;(3) 正视眼参与者 -0.50 D \leq 双眼 SE $\leq +0.50$ D,裸眼视力为 1.0;(4) 可配合进行眼科检查。排除标准:(1) 眼科外伤病史或其他影响屈光力的眼科手术病史;(2) 引发 HM 的单基因遗传病,如 Marfan 综合征、Stickler 综合征等;(3) 引发 HM 的其他眼病,如圆锥角膜、早产儿视网膜病变等;(4) 传染病和其他不适宜纳入的参与者。本研究严格遵循《赫尔辛基宣言》,并经郑州大学第一附属医院伦理委员会批准 (批号:2021-KY-0897),所有参与者知情同意后留取人口学信息、眼科检查结果和外周静脉血样本。

1.2 方法

1.2.1 病史采集与眼科检查 由双检双录的方式由两名研究者独立地对患者的病史进行采集,所有参与者均接受了验光、裂隙灯检查和眼底镜检查。所有参与者均由经验丰富的验光师进行验光检查并经复方托吡卡胺散瞳后由经验丰富的眼底病医师进行裂隙灯和眼底镜检查。采用生物测量仪 IOL Master 500 测量 AL。

1.2.2 SNPs 位点选择 根据文献报道和 GWAS 研究,排除已经报道过与中国汉族人 HM 具有遗传易感性的基因。筛选出 Wnt 信号通路相关基因相关 SNPs 位点后,进一步排除已在中国汉族人群中验证的 SNPs 位点,在 Ensembl 数据库 (https://grch37.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index) 中检索得出上述位点,去除在东亚人群中最小基因等位频率 (minor allele frequency, MAF) < 0.05 的位点。得出 5 个基因上 7 个 SNPs 位点,分别为 *HIVEP3* rs17365632、rs35134694、rs11210537, *CTNBN1* rs13072632, *CAMK2N1* rs10753502, *Wnt7B* rs73175083, *TCF4* rs41396445, 见表 1。

1.2.3 DNA 的提取与标化 经知情同意后每位参与者肘正中静脉采血 2 mL 编号后 -80 °C 冰箱保存备用。采用磁珠法外周血 DNA 提取试剂盒对上述全血样本进行核酸提取,简而言之采用深孔板将全血样本进行红细胞裂解、洗涤、通过全自动核酸提取仪中的磁棒及预先加入的磁珠提取 DNA。所得产物进行分光光度计 NanoDrop 2000 浓度测定,根据不同 DNA 浓度,加入无菌无酶水稀释至 10 ng/ μ L。按照编号将上述 DNA 样本按照每孔 25 μ L 保存至 96 孔 PCR 板中, -80 °C 冰箱保存备用。

1.2.4 引物合成与 SNPs 分型检测 利用 Agena bio 在线数据库 (<http://support.agenabio.com>) 导入上述 SNPs 位点,采用 iPLEX 优化反应参数,根据预测值调整核酸序列后运行,得出正向、反向和延伸引物序列,见表 2。采用 PAGE 法进行纯化引物。采用 Sequenom MassARRAY 系统进行 SNPs 分型分析,简而言之就是通过聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR)、虾碱性磷酸酶 (shrimp alkaline phosphatase, SAP) 的去磷酸化反应技术和延伸反应将上述 SNPs 区分出质量差异,通过飞行质谱检测 SNPs 的不同分型。

统计学分析:采用 SPSS 25.0 统计学软件进行统计分析。年龄、SE、AL 等计量资料经 Shapiro-Wilk 检验证实呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 Pearson 相关性分析 SE 与 AL 的关系。对所有进行测试的 SNPs 进行哈迪-温伯格平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium, HWE) 检验。采用卡

方检验和 Fisher 精确检验比较 SNPs 分型差异,通过优势比(odds ratios, ORs)和 95% 置信区间(95% confidence intervals, 95% CI)来确定风险 SNPs。采用 Bonferroni 校正来校正多重检验的 P 值,校正后 P 值为 P_c , $P_c < 0.05$ 认为组间差异有统计学意义。采用 Quanto 1.2.4 软件计算样本量的统计效能。采用 SHEsis plus (<http://shesisplus.bio-x.cn/SHEsis.html>) 进行单倍体型分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HM 组和健康对照组一般资料与质谱质控结果 本研究选用 HM 组 530 例,健康对照组 1 087 例,性别差异有统

计学意义($\chi^2 = 14.645, P < 0.001$),表明女性更容易罹患 HM。HM 组与健康对照组的年龄差异无统计学意义($t = 20.802, P = 0.134$),见表 3。两组间 AL 与 SE 差异有统计学意义(均 $P < 0.001$),表明所纳入参与者符合纳排标准。HM 组中,经 Pearson 相关分析得出 530 例 HM 患者 SE 与 AL 存在相关性($r = -7.63, P < 0.001$),表明本研究纳入 HM 患者以轴性近视为主。本研究所选的 7 个 SNPs 位点基因分型检出率均在 90% 以上,且均符合 HWE ($P > 0.05$),样本量的检验效能经过 Quanto 1.2.4 计算得出本研究所有 SNPs 的统计效能均在 90.13% 以上。综上所述,本研究纳入样本具有群体代表性且能够避免假阴性结果的出现。

表 1 Wnt 信号通路相关基因 SNPs 信息

SNP 位点	基因	位置	等位基因	次等位基因	MAF
rs17365632	HIVEP3	1:42314756	C	T	0.180
rs35134694	HIVEP3	1:42314038	C	T	0.057
rs11210537	HIVEP3	1:42345723	A	C	0.471
rs13072632	CTNNB1	3:41262444	T	C	0.261
rs10753502	CAMK2N1	1:20759231	C	A	0.450
rs73175083	Wnt7B	22:46383612	T	C	0.316
rs41396445	TCF4	18:53242137	C	A	0.361

表 2 Wnt 信号通路相关基因 SNPs 位点信息

SNPs 位点	引物类别	引物序列(5'端-3'端)
rs17365632	正向引物	ACGTTGGATGAGATGGTCCAGATCACCCAG
	反向引物	ACGTTGGATGGTGGCAACACAGGAACAAA
	延伸引物	TTCATGTCCCTCTCAGTCTG
rs35134694	正向引物	ACGTTGGATGGTTCAGCTTTTGCACTTAC
	反向引物	ACGTTGGATGCTGGCAATCCATCCAGAAC
	延伸引物	CAGTTACAAAATGAGAAAAGAC
rs11210537	正向引物	ACGTTGGATGGAGTGAGACCCATCTCAGAA
	反向引物	ACGTTGGATGCATGAGCATGAAGCCCAAAG
	延伸引物	AAAGAAAAAAGAGAGGATGAT
rs13072632	正向引物	ACGTTGGATGGTTGTGGCAAGATTTCTCCC
	反向引物	ACGTTGGATGAATTCACCGTGCTATTTCCG
	延伸引物	TTTCTCCATTGACTTTGAC
rs10753502	正向引物	ACGTTGGATGCTAAGGCAGGGAGATACTAC
	反向引物	ACGTTGGATGTATGTTCTGGCAAGCTAAC
	延伸引物	ACCATTTTCTTATTTTAATGATG
rs73175083	正向引物	ACGTTGGATGAAATCACTGTTGTCAGGGCG
	反向引物	ACGTTGGATGAATTCATCCATTCAGGTTGGTG
	延伸引物	CTGGAGGCTGGGCTT
rs41396445	正向引物	ACGTTGGATGGAAGTGGATGAATGCATGCC
	反向引物	ACGTTGGATGTAACCTATCGTTACTCCAG
	延伸引物	CTTATTTATTTTTCAGTGTGAGT

表 3 HM 与健康对照组人口学和临床特征

分组	例数	性别(男,例)	年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	AL($\bar{x} \pm s$,mm)	SE($\bar{x} \pm s$,D)
HM 组	530	203	45.23±17.09	29.23±2.54	-12.28±5.06
健康对照组	1087	526	47.02±16.00	23.28±0.88	+0.05±0.37
χ^2/t		14.645	20.802	42.896	52.172
P		<0.001	0.134	<0.001	<0.001

注:健康对照组为同时期年龄相匹配的健康参与者。

2.2 候选 SNPs 基因型和等位基因频率的组间比较 本研究 HM 组中 *HIVEP3* 的 rs11210537 的 A 等位基因频率较对照组降低 ($\chi^2 = 12.671, P < 0.001, P_c = 0.003, OR = 0.889, 95\% CI: 0.714 - 1.108$), G 等位基因频率较对照组升高 ($\chi^2 = 12.671, P < 0.001, P_c = 0.003, OR = 1.176, 95\% CI: 0.950 - 1.456$); 不同基因型差异无统计学意义 ($P = 0.77$); 显性遗传模型 (AA vs GA+GG) 和隐性遗传模型 (AA+GA vs GG) 遗传中这种差异无统计学意义, 但在加性遗传模型 (AA vs GG) 中 AA 基因型较 GG 基因型频率显著降低 ($\chi^2 = 12.556, P < 0.001, P_c = 0.003, OR = 0.583, 95\% CI: 0.432 - 0.787$)。综上所述, *HIVEP3* 的 rs11210537 的 A 等位基因型为 HM 的保护因素, 而 G 等位基因为风险因素。

本研究 HM 组中 *TCF4* 基因 rs41396445 的 A 等位基因频率较对照组降低 ($\chi^2 = 5.767, P = 0.016, OR = 0.832, 95\% CI: 0.716 - 0.967$), C 等位基因频率较对照组升高 ($\chi^2 = 5.767, P = 0.016, OR = 1.202, 95\% CI: 1.034 - 1.397$); AA 基因型频率较对照组降低 ($\chi^2 = 5.011, P = 0.025, OR = 0.724, 95\% CI: 0.546 - 0.961$); CC 基因型频率较对照组升高 ($\chi^2 = 6.078, P = 0.014, OR = 1.212, 95\% CI: 0.974 -$

1.507); 在显性遗传模型中 CC+CA 基因型频率较对照组升高 ($\chi^2 = 5.011, P = 0.025, OR = 1.395, 95\% CI: 1.051 - 1.852$); 在加性遗传模型中, AA 基因型频率较对照组降低 ($\chi^2 = 6.078, P = 0.014, OR = 0.675, 95\% CI: 0.494 - 0.923$), 但这些变化在进行多种校正后无统计学意义 (均 $P_c > 0.05$)。其余 SNPs 位点的基因型与等位基因频率和三种遗传模型中, HM 组与对照组相比差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 见表 4。

2.3 *HIVEP3* 基因候选 SNPs 的单倍体型分析 对 *HIVEP3* 基因 rs17365632、rs35134694、rs11210537 进行连锁不平衡分析, D' 范围为 0.94-0.99, r^2 范围为 0.01-0.24, 见图 1。

对 *HIVEP3* 基因 rs17365632、rs35134694、rs11210537 进行单倍体型分析, 单倍体型频率 > 0.03 者纳入分析。HM 组中 CCA 单倍体型频率较对照组降低 ($P = 0.002, P_c = 0.008, OR = 0.791, 95\% CI: 0.679 - 0.920$); CCG 单倍体型频率较对照组增加 ($P = 0.025, OR = 1.203, 95\% CI: 1.023 - 1.415$), 但经过 Bonferroni 校正后差异无统计学意义 ($P_c > 0.05$), 见表 5。

表 4 在 HM 与健康对照组中 Wnt 通路相关 SNPs 不同遗传模型中基因型频率比较

SNPs	类型 & 遗传模型	基因型	HM 组 (例数)	健康对照组 (例数)	OR	HM 组 vs 健康对照组					HWE
						95%CI 下限	95%CI 上限	χ^2	P	P_c	
rs17365632 (<i>HIVEP3</i>)	等位基因	T	242	456	1.121	0.939	1.338	1.601	0.206	1.440	0.92
		C	800	1690	0.892	0.747	1.065	1.601	0.206	1.440	
	基因型	TT	34	49	1.459	0.930	2.289	3004	0.083	0.581	
		TC	174	385	1.001	0.802	1.250	0.042	0.526	3.682	
		CC	313	666	0.920	0.742	1.139	0.032	0.443	3.104	
	显性遗传	CC vs TC+TT	313 vs 208	666 vs 434	1.020	0.824	1.262	0.032	0.443	3.104	
	隐性遗传	CC+TC vs TT	487 vs 34	1024 vs 49	1.005	0.876	1.152	3.004	0.083	0.581	
加性模型	CC vs TT	313 vs 34	666 vs 49	0.677	0.429	1.070	2.813	0.094	0.655		
rs35134694 (<i>HIVEP3</i>)	等位基因	T	46	105	0.893	0.626	1.273	0.391	0.532	3.722	0.34
		C	1012	2063	1.120	0.785	1.596	0.391	0.532	3.722	
	基因型	TT	1	4	0.511	0.057	4.586	0.373	0.542	3.791	
		TC	44	97	0.923	0.636	1.340	0.177	0.674	4.716	
		CC	484	983	1.105	0.765	1.596	0.284	0.594	4.159	
	显性模型	CC vs TC+TT	484 vs 45	983 vs 101	1.105	0.765	1.596	0.284	0.594	4.159	
	隐性模型	CC+TC vs TT	528 vs 1	1080 vs 4	0.997	0.877	1.133	0.373	0.524	3.668	
加性模型	CC vs TT	484 vs 1	983 vs 4	0.508	0.057	4.555	0.227	0.634	4.438		
rs11210537 (<i>HIVEP3</i>)	等位基因	G	578	1046	1.176	0.950	1.456	12.671	<0.001	0.003	0.77
		A	466	1104	0.889	0.714	1.108	12.671	<0.001	0.003	
	基因型	GG	160	252	0.778	0.480	1.261	0.160	0.689	4.824	
		GA	258	542	1.157	0.969	1.383	0.139	0.710	4.967	
		AA	104	281	0.864	0.723	1.032	2.574	0.111	0.777	
	显性模型	AA vs GA+GG	104 vs 362	281 vs 794	0.905	0.698	1.174	2.574	0.111	0.777	
	隐性模型	AA+GA vs GG	358 vs 160	537 vs 252	1.050	0.827	1.334	0.160	0.689	4.824	
加性模型	AA vs GG	104 vs 160	281 vs 252	0.583	0.432	0.787	12.556	<0.001	0.003		
rs13072632 (<i>CTNWB1</i>)	等位基因	C	225	513	0.778	0.480	1.261	2.606	0.106	0.745	0.92
		T	827	1629	1.157	0.969	1.383	2.606	0.106	0.745	
	基因型	CC	24	62	0.778	0.480	1.261	1.401	0.308	2.153	
		CT	177	389	0.889	0.714	1.108	1.100	0.294	2.060	
		TT	325	620	1.176	0.950	1.456	2.218	0.136	0.955	
	显性模型	TT vs CT+CC	325 vs 201	620 vs 451	1.176	0.950	1.456	2.218	0.136	0.955	
	隐性模型	TT+CT vs CC	502 vs 24	1009 vs 62	1.285	0.793	2.084	1.401	0.308	2.153	
加性模型	TT vs CC	325 vs 24	620 vs 62	0.224	1.566	1.354	1.480	0.830	2.210		

续表 4 在 HM 与健康对照组中 Wnt 通路相关 SNPs 不同遗传模型中基因型频率比较

SNPs	类型 & 遗传模型	基因型	HM 组 (例数)	健康对照组 (例数)	OR	HM 组 vs 健康对照组				HWE	
						95%CI 下限	95%CI 上限	χ^2	P	P _c	P
rs10753502 (CAMK2N1)	等位基因	A	536	1035	1.160	0.915	1.471	1.783	0.182	1.273	0.27
		C	506	1081	0.972	0.788	1.200	1.783	0.182	1.273	
	基因型	AA	144	262	0.893	0.701	1.136	1.511	0.219	1.533	
		AC	248	511	1.106	0.954	1.283	0.301	0.794	5.559	
		CC	129	285	0.904	0.779	1.048	0.135	0.713	4.990	
	显性模型	AA vs AC+CC	144 vs 377	262 vs 796	0.862	0.680	1.093	1.511	0.219	1.533	
	隐性模型	AA+AC vs CC	377 vs 129	796 vs 285	1.046	0.822	1.332	0.135	0.713	4.990	
加性模型	AA vs CC	144 vs 129	262 vs 285	1.214	0.908	1.624	1.713	0.191	1.334		
rs73175083 (Wnt7B)	等位基因	C	319	656	1.160	0.915	1.471	0.83	0.182	1.273	0.33
		T	737	1490	0.972	0.788	1.200	0.385	0.182	1.273	
	基因型	CC	54	107	1.029	0.728	1.452	0.135	0.714	4.995	
		CT	211	442	0.950	0.768	1.175	0.002	0.965	6.755	
		TT	263	524	1.040	0.844	1.281	0.025	0.873	6.112	
	显性模型	TT+CT vs CC	474 vs 54	966 vs 107	0.972	0.688	1.373	0.025	0.873	6.112	
	隐性模型	TT vs CT+CC	263 vs 265	524 vs 549	0.962	0.781	1.185	0.135	0.714	4.995	
加性模型	TT vs CC	263 vs 54	524 vs 107	0.995	0.694	1.424	0.001	0.976	6.833		
rs41396445 (TCF4)	等位基因	A	413	923	0.832	0.716	0.967	5.767	0.016	0.114	0.43
		C	645	1199	1.202	1.034	1.397	5.767	0.016	0.114	
	基因型	AA	79	207	0.724	0.546	0.961	5.011	0.025	0.176	
		AC	255	509	1.009	0.819	1.244	0.011	0.931	6.516	
		CC	195	345	1.212	0.974	1.507	6.078	0.014	0.096	
	显性模型	CC+CA vs AA	450 vs 79	854 vs 207	1.395	1.051	1.852	5.011	0.025	0.176	
	隐性模型	CC vs CA+AA	195 vs 334	345 vs 716	1.212	0.974	1.507	2.972	0.085	0.593	
加性模型	CC vs AA	195 vs 79	345 vs 207	0.675	0.494	0.923	6.078	0.014	0.096		

注:健康对照组为同时期年龄相匹配的健康参与者。

表 5 在 HM 与健康对照组中 HIVEP3 基因的 3 个 SNPs 的单倍体型分析

单倍体型	例数(频率,%)		OR	HM 组 vs 健康对照组			
	HM 组	健康对照组		95%CI 下限	95%CI 上限	P	P _c
CCA	412(40.2)	950(45.7)	0.791	0.679	0.920	0.002	0.008
CCG	331(32.2)	586(28.2)	1.203	1.023	1.415	0.025	0.100
CTA	44(4.3)	102(4.9)	0.864	0.602	1.240	0.427	1.708
TCG	236(23.0)	425(20.4)	1.157	0.966	1.386	0.112	0.448

注:健康对照组为同时期年龄相匹配的健康参与者。

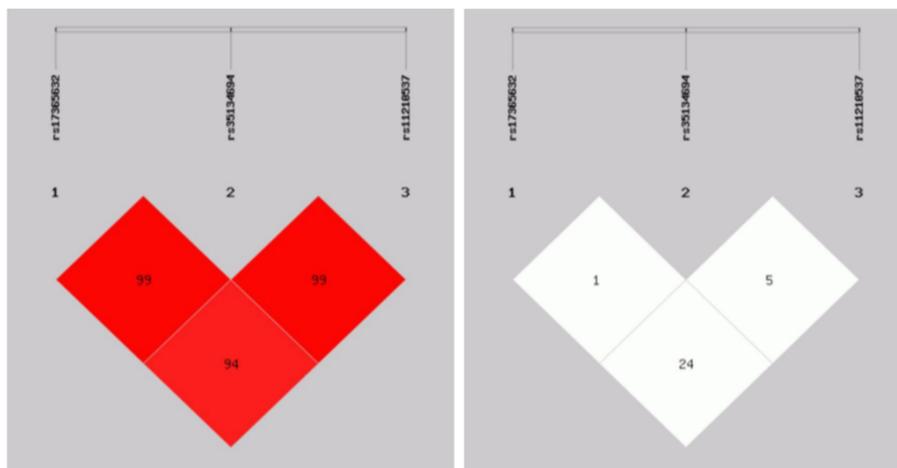


图 1 rs17365632、rs35134694、rs11210537 的 D' 值(左)和 r^2 值(右)。

3 讨论

近年来, GWAS 已经成为寻找和鉴定人群遗传标记的主要手段, 既往研究识别了多个与近视发生及进展相关的 SNPs, 但它们的多样性与 HM 发生发展的关联研究和连锁分析在不同人群中差异较大, 仍需在不同的群体中进行验证^[9]。本研究结果表明 rs11210537 与中国汉族人群 HM 遗传易感性相关, 且 G 等位基因是 HM 风险遗传标记。最近关于东亚人群的 GWAS 研究中 *HIVEP3* 是近视的易感基因, 其中 rs698047 和 rs11210537 是近视的遗传标记, 本研究中验证了 rs11210537 在东亚人群中的遗传易感性^[5]。虽然本研究中 *HIVEP3* 的另外两个 SNPs (rs17365632, rs35134694) 并未显示与 HM 遗传易感性相关, 但对 rs17365632, rs35134694, rs11210537 进行单倍体型分析得出, CCA 单倍体型是 HM 的保护单倍体类型。既往 GWAS 研究表明 rs698047 与近视遗传易感性相关^[5]。然而, 本研究并未纳入 rs698047, 因为受到了飞行质谱检验技术的限制, 即该位点延伸后的质量与其余位点类似, 无法在同一实验批次良好分型; 因此, 我们检验了与 rs698047 存在连锁不平衡的 rs1210537 ($r^2 = 0.88$, $D' = 1.00$), 可认为 rs1210537 的基因型和等位基因特征可代表 rs698047。因此, 综上所述, 本研究验证了 *HIVEP3* 是 HM 的易感基因, 且其中存在多个 SNP 位点可作为遗传标记, 这为临床的遗传风险筛查提供参考。

Zhou 等^[10] 在 2021 年 600 例近视 ($-6.00 \text{ D} < \text{SE} \leq -0.50 \text{ D}$)、110 例高度近视 ($\text{SE} \leq -6.00 \text{ D}$) 和 800 名非近视 ($-0.50 \text{ D} < \text{SE} \leq +1.00 \text{ D}$) 的健康对照组, 共计 1 510 名中国汉族未成年人人群中验证了 rs698047 与近视或者 HM 遗传易感性不相关, 这与 GWAS 和本研究的结果不同。该研究的研究对象为未成年人, HM 患者往往伴随着终身的 AL 伸长与近视程度加深, 选取未成年作为研究对象尽管在试验组纳入了未成年 HM 的病例, 但并不能认为在未成年时未近视的对照组会在成年不发展为 HM, 这样的对象选择引入了假阴性的概率。而本研究选取的 HM 组与健康对照组大多为中年人, 规避了这一因为年龄引起的偏倚。

HIVEP3 在近视的发展中的确切机制尚不明确, 但该基因在免疫反应和细胞信号传导中发挥着重要作用^[11]。Wnt 信号通路对视网膜发育和眼球生长具有重要作用^[6]。Wnt 信号通路可能通过调节眼球的生长和组织重塑, 影响近视的进展^[12]。*HIVEP3* 可能通过影响 Wnt 信号通路中的特定分子或通过与其他信号通路的交互作用, 从而影响眼球生长和近视的发展。这种机制的确切性质和 *HIVEP3* 如何具体调控 Wnt 信号通路, 仍需未来基础实验进行探究。

本研究结果表明, *TCF4* 的 rs41396445 的 C 等位基因和 CC 基因型在 Bonferroni 矫正前与 HM 遗传易感性存在关联, 但通过 Bonferroni 矫正并未显示显著差异。有研究指出, Bonferroni 矫正法应用于 SNP 检测的多重比较时存在校正过度的可能, 即增加了假阴性的几率^[13]。因此, 我们认为 rs41396445 与 HM 的遗传易感性存在可疑的相关性, 这需要未来扩大样本量进一步研究。*TCF4* 编码 TCF4 转录因子, 是 T 细胞转录因子家族的成员, 也是 Wnt 信号通路的重要组成部分^[14]。近年来多项研究表明 *TCF4* 的 SNPs 与多种疾病遗传易感性的相关, 既往研究表明 Fuchs 角膜内皮营养不良与其中 rs613872 多态性相关, 进一步

佐证了 *TCF4* 在眼球发育中的重要作用^[15-16]。本研究结果提示 *TCF4* 在 HM 发病中也可能存在一定作用, 但需要通过大样本的遗传学分析和动物实验进行验证。

此外, 本研究选取的其他 3 个基因上的 3 个 SNPs (*CTNNB1* rs13072632, *CAMK2N1* rs10753502, *Wnt7B* rs73175083) 并未显示与 HM 遗传易感性相关。*CTNNB1* 编码的 β -连环蛋白是经典 Wnt 信号通路下游的关键功能分子^[17]。同时, Parine 等^[18] 和 Yadav 等^[19] 的研究表明, *CTNNB1* 上的 rs13072632 分别与沙特人群的结肠癌和韩国人群中的脑白质疏松症的遗传易感性无相关性。本研究和上述两项研究中 rs13072632 的多态性与疾病的遗传易感性无关可能由于 *CTNNB1* 处于 Wnt 信号通路下游, 对 Wnt 信号通路的调控作用较弱。*CAMK2N1* 编码的钙/钙调蛋白依赖性激酶 II 抑制物是非典型 Wnt/ Ca^{2+} 信号通路的重要成员^[20]。*Wnt7B* 编码的 Wnt7B 蛋白是 Wnt 信号通路的主要激活物, 其遗传变异与 AL 和角膜曲率相关^[21]。而本研究选取的 rs10753502 与 rs73175083 并未显示与 HM 的相关性, 这可能由于这两个 SNPs 不影响基因的功能或表达, 需要寻找这两个基因上的其他可能引起基因表达的其他 SNPs 与 HM 的关联, 并需要更大量的样本量来确证。虽然一些 SNPs 在大样本量的 GWAS 中被证实与 HM 相关, 但样本选择、统计选择与显著性标准均可能出现假阳性结果, 不同人种、地域和年龄的样本中, 这些 SNPs 与 HM 的关联性不同恰恰证明非综合征性近视并非简单的单基因遗传病, 而是多基因共同调控的结果, 且在很大程度上受后天环境影响^[22-24]。

本研究仍存在一定的局限性: (1) 本研究人种及地域较为单一, 需未来大样本多中心的进一步验证。(2) 本研究对象对 HM 人群, 而其对于遗传倾向更为明显的病理性近视人群并未进一步细分, 本课题组将在未来进行样本的调整和重新编码, 以期未来的研究对病理性近视的遗传易感性提供更多信息。(3) 本研究只在遗传学水平展开, 并未在人群或基础实验中进行验证, 本课题将立足于现有研究成果进一步在细胞和动物水平明确 Wnt 信号通路在 HM 发生发展中的作用机制。

综上所述, 本研究表明 Wnt 通路相关的 *HIVEP3* 的 rs11210537 与中国汉族人群 HM 遗传易感性相关, *TCF4* 的 rs41396445 可能与中国汉族人群 HM 遗传易感性相关, 这些遗传标记可作为临床 HM 风险筛查的生物标志物。未来需要开展多中心多种族研究对 Wnt 通路相关基因与 HM 的遗传易感性进行探讨, 并通过细胞和动物实验进一步明确 Wnt 通路在 HM 发生发展中的作用机制。

利益冲突声明: 本文不存在利益冲突。

作者贡献说明: 谢培培论文选题, 实施实验, 分析数据, 初稿撰写; 彭洁、安广琪实施实验, 分析数据; 杜利平论文选题, 实验指导, 文章知识性内容的审阅及定稿。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

- [1] Morgan IG, Wu PC, Ostrin LA, et al. IMI risk factors for myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2021, 62(5):3.
- [2] 慕璟玉, 王雁, 杨依宁, 等. 近视的流行病学、病因学与发病机制研究现状. *眼科新进展*, 2021, 41(11):1089-1096.
- [3] Khor CC, Miyake M, Chen LJ, et al. Genome-wide association

study identifies ZFX1B as a susceptibility locus for severe myopia. *Hum Mol Genet*, 2013,22(25):5288-5294.

[4] Shi Y, Gong B, Chen LJ, et al. A genome-wide meta-analysis identifies two novel loci associated with high myopia in the Han Chinese population. *Hum Mol Genet*, 2013,22(11):2325-2333.

[5] Meguro A, Yamane T, Takeuchi M, et al. Genome-wide association study in Asians identifies novel loci for high myopia and highlights a nervous system role in its pathogenesis. *Ophthalmology*, 2020,127(12):1612-1624.

[6] Shim JH, Greenblatt MB, Zou WG, et al. Schnurri-3 regulates ERK downstream of WNT signaling in osteoblasts. *J Clin Invest*, 2013,123(9):4010-4022.

[7] 徐福如, 蒋文君, 吴建峰, 等. 近视性巩膜重塑相关因子研究进展. *眼科新进展*, 2019,39(9):877-881.

[8] Liu Z, Xiu YH, Qiu FF, et al. Canonical Wnt signaling drives myopia development and can be pharmacologically modulated. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2021,62(9):21.

[9] Tedja MS, Haarman AEG, Meester-Smoor MA, et al. IMI-myopia genetics report. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019,60(3):M89-M105.

[10] Zhou ZX, Li SZ, Yang QS, et al. Genetic association study revealed three loci were associated risk of myopia among minors. *Pharmgenomics Pers Med*, 2021,14:547-551.

[11] Wu QL, Bai SY, Su MY, et al. HIVEP3 inhibits fate decision of CD8+ invariant NKT cells after positive selection. *J Leukoc Biol*, 2023,114(4):335-346.

[12] Hu SY, Ouyang S, Liu HH, et al. The effect of Wnt/ β -catenin pathway on the scleral remodeling in the mouse during form deprivation. *Int Ophthalmol*, 2021,41(9):3099-3107.

[13] Pertile KK, Schäche M, Amirul Islam FM, et al. Assessment of TGIF as a candidate gene for myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008,49(1):49-54.

[14] Li L, Duan QH, Zeng ZY, et al. UHRF2 promotes intestinal tumorigenesis through stabilization of TCF4 mediated Wnt/ β -catenin

signaling. *Int J Cancer*, 2020,147(8):2239-2252.

[15] Gupta R, Kumawat BL, Paliwal P, et al. Association of ZEB1 and TCF4 rs613872 changes with late onset Fuchs endothelial corneal dystrophy in patients from northern India. *Mol Vis*, 2015,21:1252-1260.

[16] Okumura N, Hayashi R, Nakano M, et al. Association of rs613872 and trinucleotide repeat expansion in the TCF4 gene of German patients with Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Cornea*, 2019,38(7):799-805.

[17] Huang YS, Wan S, Yang M. Circ_0067680 expedites the osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells through miR-4429/CTNNB1/Wnt/ β -catenin pathway. *Biol Direct*, 2021,16(1):16.

[18] Parine NR, Azzam NA, Shaik J, et al. Genetic variants in the WNT signaling pathway are protectively associated with colorectal cancer in a Saudi population. *Saudi J Biol Sci*, 2019,26(2):286-293.

[19] Yadav BK, Yadav R, Kang HG, et al. Association of genetic variation in a Wnt signaling pathway gene (β -catenin) with susceptibility to leukoaraiosis. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2020,24(11):708-716.

[20] Zhang XL, Tian LF, Li ZY, et al. CAMK2N1 has a cancer-suppressive function in colorectal carcinoma via effects on the Wnt/ β -catenin pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022,626:220-228.

[21] Miyake M, Yamashiro K, Tabara Y, et al. Identification of myopia-associated WNT7B polymorphisms provides insights into the mechanism underlying the development of myopia. *Nat Commun*, 2015,6:6689.

[22] Liu ZZ, An GQ, Huo YD, et al. Evaluation of myopia-associated genes in a Han Chinese population with high myopia. *Ophthalmic Genet*, 2023,44(4):341-345.

[23] An GQ, Zhang M, Gao WN, et al. Association of a COL1A1 gene haplotype with pathologic myopia in a Northern Chinese Han population. *Exp Eye Res*, 2025,250:110151.

[24] 严丽英, 王星, 邹云春, 等. 中国汉族人群 SOX2 基因与高度近视的关联研究. *眼科新进展*, 2018,38(9):851-855.