

眼睑黄色瘤巨噬细胞清道夫受体 1 单核苷酸多态性研究

李永蓉, 王志敏, 王慧, 杨颖秋, 纪风涛

引用: 李永蓉, 王志敏, 王慧, 等. 眼睑黄色瘤巨噬细胞清道夫受体 1 单核苷酸多态性研究. 国际眼科杂志 2019; 19(11): 1986-1988

基金项目: 安徽省合肥市第二人民医院光华基金项目 (No. 2017-135-04)

作者单位: (230011) 中国安徽省合肥市第二人民医院眼科

作者简介: 李永蓉, 毕业于蚌埠医学院, 学士, 副主任医师, 主任, 研究方向: 白内障、青光眼、眼整形。

通讯作者: 李永蓉. tiger9611@126.com

收稿日期: 2019-04-27 修回日期: 2019-10-10

摘要

目的: 探讨眼睑黄色瘤与巨噬细胞清道夫受体 1 (MSR1) 基因单核苷酸多态性 (SNP) 的相关性。

方法: 分别抽取 20 例眼睑黄色瘤患者和 20 例健康者的空腹外周静脉血, 应用 Sanger 测序方法进行 MSR1 基因型 SNP 检测, 眼睑黄色瘤患者同时进行血脂、 α -脂蛋白水平、颈动脉彩超等检查。

结果: 眼睑黄色瘤患者和健康人 MSR1 基因型 SNP 分布无显著差异, 但部分合并颈动脉硬化和高血脂症的患者 MSR1 外显子区域 S2-SNP1、S5-SNP2、S5-SNP4 位点发生纯合突变。

结论: 眼睑黄色瘤与抗动脉粥样硬化受体 MSR1 基因型 SNP 具有相关性。

关键词: 眼睑黄色瘤; 巨噬细胞清道夫受体 1; 单核苷酸多态性; 突变; 动脉硬化

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2019.11.40

Study on single nucleotide polymorphisms of macrophage scavenger receptor 1 gene in xanthelasma palpebrarum patients

Yong-Rong Li, Zhi-Min Wang, Hui Wang, Ying-Qiu Yang, Feng-Tao Ji

Foundation item: Guanghua Fund Project of Hefei Second People's Hospital, Anhui Province (No. 2017-135-04)

Department of Ophthalmology, the Second People's Hospital of Hefei, Hefei 230011, Anhui Province, China

Correspondence to: Yong-Rong Li. Department of Ophthalmology, the Second People's Hospital of Hefei, Hefei 230011, Anhui Province, China. tiger9611@126.com

Received: 2019-04-27 Accepted: 2019-10-10

Abstract

• **AIM:** To study the single nucleotide polymorphisms (SNPs) of Macrophage Scavenger Receptor 1 (MSR1) gene in xanthelasma palpebrarum patients.

• **METHODS:** We drew peripheral venous blood from 20 xanthelasma palpebrarum patients and 20 healthy participants. We detected the SNPs of MSR1 gene with Sanger sequencing, examined serum lipids and α -lipoprotein of the patients, and scanned carotid arteries of the patients with color ultrasound. After that, we kept on observation of the participants.

• **RESULTS:** There was no significant difference in the SNPs of MSR1 genotype between xanthelasma palpebrarum patients and healthy participants. However, in some patients with carotid atherosclerosis and hyperlipidemia, there were homozygous mutations at S2-SNP1, S5-SNP2 and S5-SNP4 in the exon region of MSR1 gene, which were related to atherosclerosis.

• **CONCLUSION:** Xanthelasma palpebrarum is related to SNPs of MSR1 in atherosclerosis.

• **KEYWORDS:** xanthelasma palpebrarum; MSR1 gene; SNP; mutation; atherosclerosis

Citation: Li YR, Wang ZM, Wang H, et al. Study on single nucleotide polymorphisms of macrophage scavenger receptor 1 gene in xanthelasma palpebrarum patients. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(11): 1986-1988

0 引言

眼睑黄色瘤好发于中年女性上睑内侧, 发病机制不明确, 传统观点认为其与脂质代谢有关, 但是临床检查经常发现患者血脂正常。眼睑黄色瘤是由含有大量脂质的巨噬细胞组成, 其主要成分是胆固醇酯, 也有炎性细胞沉积, 患者常伴有家族性高胆固醇血症、 β -脂蛋白血症。巨噬细胞清道夫受体 (MSR) 是一类结构多样化的糖蛋白受体, 其中巨噬细胞清道夫受体 1 (MSR1) 是一种吞噬变性低密度脂蛋白, 形成泡沫细胞的主要受体^[1], 是重要的抗动脉粥样硬化的受体。单核苷酸多态性 (SNP) 指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的脱氧核糖核酸 (DNA) 序列多态性, 即指基因组内特定核苷酸位置上存在两种不同的核苷酸且其出现的频率大于 1%。本研究旨在通过检测 MSR1 单核苷酸多态性探讨眼睑黄色瘤的相关发病机制。

1 对象和方法

1.1 对象 选取 2017-01/2018-12 在合肥市第二人民医院眼科门诊就诊拟行肝素钠局部注射治疗的眼睑黄色瘤患者 20 例作为试验组, 其中女 19 例, 男 1 例, 年龄 35~52 岁, 发病时间 3mo~2a, 均为缓慢长大。排除合并其它眼部疾病, 既往接受其它方法治疗者。另选取健康志愿者 20 例为对照组, 其中女 19 例, 男 1 例, 年龄 34~50 岁。两组受检者均为汉族, 无遗传病史, 且性别构成比、年龄等一般资料差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。本研究经伦理委

员会审批同意。所有受检者均对本研究知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法 所有受检者均空腹抽取外周静脉血,离心后取血清置于-80℃冰箱保存备用,试验组患者同时进行血常规、血糖、血脂、 α -脂蛋白和颈动脉彩超检查。本研究采用一代测序(Sanger 测序)方法进行测序,检测 DNA 样本中单位 SNP 类型,检测过程由北京六合华大基因科技公司武汉分公司执行。具体步骤:(1)DNA 提取:采用 GK1041 血液基因组 DNA 提取试剂盒(上海捷瑞生物工程有限公司)提取人真核细胞基因组 DNA。(2)PCR 扩增:采用 Prime 5.0 软件设计引物,对 MSR1 基因的 5 条外显子区域(S1、S2、S3、S4、S5)进行 PCR 扩增。MSR1 基因引物序列见表 1。(3)测序反应:DNA 体外合成得到包含所有长度的末端标记片段的混合物。(4)测序示踪:毛细管电泳过程中采用激光检测各单链 DNA 走出凝胶的时间和荧光类型,通过荧光信号接收器和计算机信号分析系统自动测序。

2 结果

两组受检者 MSR1 单核苷酸多态性无显著差异,但检测结果中发现 1 例治疗后又复发的患者第 2 条外显子区域 S2-SNP1 位点发生纯合突变,患者血脂正常,双侧颈动脉硬化,右侧颈外动脉斑块形成,3 例患者第 5 条外显子区域 S5-SNP2 位点、S5-SNP4 位点发生纯合突变,均伴有甘油三酯或总胆固醇增高,颈动脉轻度硬化,见表 2。此外,本研究纳入的眼睑黄色瘤患者中 10 例患者甘油三酯和总胆固醇水平较高,其中 3 例患者 α -载脂蛋白水平较高。

3 讨论

眼睑黄色瘤是一种良性眼睑肿瘤,是黄色瘤最常发生的部位。可发生在遗传性血脂过高、糖尿病和其它继发性血脂过高的患者中,但多数患者血脂正常^[2]。本研究中,50%患者血脂正常,也无高脂饮食习惯,与既往研究发现 50%眼睑黄色瘤患者总胆固醇和甘油三酯水平正常的结果一致^[3]。Hu 等^[4]研究给家兔喂养高胆固醇饮食(高胆固醇饮食对家兔脂蛋白代谢紊乱、黄色瘤的发生发展具有重要作用),促进了黄色瘤的发生,表明黄色瘤与脂质代谢异常有关。Kavoussi 等^[5]研究发现,高胆固醇血症和高甘油三酯血症的发生率在黄色瘤组和非黄色瘤组受检者之间没有显著差异,但两组受检者胆固醇、甘油三酯、极低密度脂蛋白(VLDL)和高密度脂蛋白(HDL)平均血清值有显著差异,表明眼睑黄色瘤可能是筛查亚临床动脉粥样硬化的皮肤征象。

眼睑黄色瘤是由吞噬脂质的巨噬细胞(泡沫细胞)组成的,其中泡沫细胞发生在真皮毛细血管和皮肤附属物周围,富含胆固醇,其形成过程类似于动脉粥样硬化过程。本研究纳入的眼睑黄色瘤患者中部分患者伴有不同程度颈动脉硬化和斑块,其中大部分为轻度颈动脉硬化。颈动脉硬化和斑块都是动脉粥样硬化的表现,动脉粥样硬化又是动脉粥样硬化的一种表现形式^[6],故推测眼睑黄色瘤与动脉粥样硬化相关。Dey 等^[7]研究表明,眼睑黄色瘤与高血压、高血脂、向心性肥胖、糖尿病、心血管疾病等有关。另有研究发现,与健康受试者相比,眼睑黄色瘤患者发生缺血性心脏病、心肌梗塞的风险增加,而且早死风险

表 1 MSR1 基因引物序列

引物名称	引物序列
D154-MRS1-S2-F	TCTGTCCTAATGTCTCCACCTC
D154-MRS1-S2-R	TGCCTACACCAAGTCATCTCT
D154-MRS1-S3-F	GTAATGAGCCCAATTTCCACAATAC
D154-MRS1-S3-R	GCCTCTAGCAATGAGAAGCTC
D154-MRS1-S4-F	GTTGTAGGTAAGAAGTATGGGTGTT
D154-MRS1-S4-R	AAGGCTCTCGGTAGACTCC
D154-MRS1-S5-F2	ATGGTATAGACTGTGAGAGGAATT
D154-MRS1-S5-R2	CCTGAGGATTACTGAAGTTATGC

表 2 MRS1 基因 SNP 纯合突变位点

外显子区域	SNP 位点	突变患者	多数患者
S2-SNP1	TTTATA[G/C]ATAAGG	C(1 例颈动脉硬化)	G
S5-SNP1	TTTGCA[A/G]TAAATG	A	A
S5-SNP2	GTCAGG[G/A]TATAAT	A(3 例高血脂)	AG
S5-SNP3	TTATGT[G/C]CCCTTA	G	G
S5-SNP4	ACAAGA[T/C]GAAATC	C(3 例高血脂)	CT
S5-SNP5	ATGGGC[A/G]TGCTTC	G	AG

增加,但与总胆固醇或甘油三酯水平是否升高无关,提示眼睑黄色瘤是亚临床动脉粥样硬化阶段,早期冠状动脉病变的表现之一。

Govorkova 等^[8]通过回顾性研究发现,眼睑黄色瘤的炎症环境类似于心脏动脉粥样硬化斑块形成的早期阶段,动脉粥样硬化的主要危险因素是由脂质过氧化、糖氧化及炎症细胞因子分泌增多等机制导致的动脉内膜炎症。动脉粥样硬化相关受体—MSR1 是 A 型清道夫受体(SR-A)中的一种,是单核巨噬细胞表面的一种跨膜糖蛋白的三聚体,通过调节巨噬细胞内脂质沉积,参与动脉粥样硬化斑块的形成。在动脉粥样硬化早期,MSR1 从血管壁清除修饰的低密度脂蛋白,从而减少血管壁的损伤,具有抗动脉粥样硬化的作用。SR-A 可以作为脂蛋白受体参与动脉粥样硬化病变的形成,也可以在细胞粘附、宿主防御、细胞增殖及细胞凋亡中发挥作用^[9]。此外,Nicoletti 等^[10]发现 SR-A 可以介导修饰抗原的摄取,并将其表达给抗原特异性 T 细胞,表明清道夫受体参与氧化蛋白抗原的免疫识别。

巨噬细胞参与许多疾病的病理过程,靶向治疗如何将治疗分子传递给巨噬细胞是一个重要问题。Matsui 等^[11]为了靶向治疗将过氧化物酶(PRXs)传递给巨噬细胞,设计了羧乙基醚基团修饰过氧化物酶(CEE-PRXs),以促进其与巨噬细胞 SR-A 的相互作用。本研究发现,1 例眼睑复发眼睑黄色瘤患者第 2 条外显子区域 S2-SNP1 位点发生纯合突变,且患者动脉粥样硬化明显,分析该位点突变与眼睑黄色瘤及动脉粥样硬化发展相关,但是病例数较少,需要更多病例研究来说明其意义。另有 3 例患者第 5 条外显子区域 S5-SNP2、S5-SNP4 位点发生纯合突变,均伴有甘油三酯或总胆固醇增高和轻度动脉硬化,说明该位点的突变有促进血脂增高和动脉硬化的风险。上述 3 处 SNP 位点的突变均与动脉粥样硬化相关。此外,我们发现眼睑黄色瘤患者和健康人的 MSR1 单核苷酸多态性无明显差异,分析可能是其它 MSR 改变,未来可以进一步研究 MSR 其它受体基因的单核苷酸多态性,探讨眼睑黄色瘤

的发病机制与动脉粥样硬化的相关性。

黄色瘤在皮肤、肌腱和筋膜的结缔组织中形成泡沫细胞簇,偶尔在骨膜中形成。眼睑黄色瘤通常为黄色,是由于油脂中含有胡萝卜素²。黄色瘤与动脉粥样硬化、血栓性疾病的风险增加有关,黄色瘤的发展可能预示着严重的代谢和心血管疾病以及淋巴增生性恶性肿瘤的风险升高^[12],需要开展更多的实验和临床研究来揭示黄色瘤的发病机制及其与缺血性心脏病等疾病的关系。

参考文献

- 1 Kunjathoor VV, Febbraio M, Podrez EA, et al. Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem* 2002; 277(51): 49982-49988
- 2 赵堪兴, 杨培增, 范先群, 等. 眼科学. 第9版. 北京: 人民卫生出版社 2018; 67
- 3 Bergman R. The pathogenesis and clinical significance of xanthelasma palpebrarum. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30(2): 236-242
- 4 Hu H, Gao Y, Tang J, et al. Effect of a high-cholesterol diet on lipoprotein metabolism and xanthoma formation in rabbits. *J Cosmet Dermatol* 2017; 17(5): 885-888
- 5 Kavoussi H, Ebrahimi A, Rezaei M, et al. Serum lipid profile and clinical characteristics of patients with xanthelasma palpebrarum. *An Bras*

Dermatol 2016; 91(4): 468-471

- 6 李秋萍, 华扬. 颈动脉粥样硬化的超声检测与临床相关性研究进展. *中国脑血管病杂志* 2009; 6(6): 317-321
- 7 Dey A, Aggarwal R, Dwivedi S. Cardiovascular profile of xanthelasma palpebrarum. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 932863
- 8 Govorkova MS, Milman T, Ying GS, et al. Inflammatory Mediators in Xanthelasma Palpebrarum; Histopathologic and Immunohistochemical Study. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg* 2018; 34(3): 225-230
- 9 Freeman M, Ekkel Y, Rohrer L, et al. Expression of type I and type II bovine scavenger receptors in Chinese hamster ovary cells; lipid droplet accumulation and nonreciprocal cross competition by acetylated and oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88(11): 4931-4935
- 10 Nicoletti A, Caligiuri G, Törnberg I, et al. The macrophage scavenger receptor type A directs modified proteins to antigen presentation. *Eur J Immunol* 1999; 29(2): 512-521
- 11 Matsui H, Tamura A, Osawa M, et al. Scavenger Receptor A-Mediated Targeting of Carboxylated Polyrotaxanes to Macrophages and the Impacts of Supramolecular Structure. *Macromol Biosci* 2018; 18(8): e1800059
- 12 Zak A, Zeman M, Slaby A, et al. Xanthomas; clinical and pathophysiological relations. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2014; 158(2): 181-188