

引文格式:严丽英,王星,邹云春,雷佳红,曾官鹏.中国汉族人群SOX2基因与高度近视的关联研究[J].眼科新进展,2018,38(9):851-855. doi:10.13389/j.cnki.rao.2018.0201

【应用研究】

中国汉族人群 SOX2 基因与高度近视的关联研究[△]

严丽英 王星 邹云春 雷佳红 曾官鹏

作者简介:严丽英,女,1990年5月出生,四川资阳人,硕士。主要研究方向:屈光不正及斜视、弱视。联系电话:15775889938;E-mail:1175265-335@qq.com;ORCID:0000-0001-9543-1986

About YAN Li-Ying: Female, born in May, 1990. Master degree. Tel: 15775889938; E-mail: 1175265335@qq.com; ORCID: 0000-0001-9543-1986

收稿日期:2018-01-15
修回日期:2018-04-01
本文编辑:盛丽娜

△基金项目:国家自然科学基金资助(编号:81341105);四川省教育厅基金资助(编号:13ZA0215);四川省科技厅课题基金资助(编号:2015JY0263)

作者单位:637000 四川省南充市,川北医学院眼视光学系(严丽英,王星,邹云春,曾官鹏);629000 四川省遂宁市,遂宁市中心医院眼科(严丽英);637000 四川省南充市,川北医学院附属医院风湿免疫研究所(雷佳红)

通讯作者:邹云春, E-mail: zychun03@163.com; ORCID: 0000-0002-0730-3421

Received date: Jan 15, 2018
Accepted date: Apr 1, 2018
Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No: 81341105); Foundation of Sichuan Educational Committee (No: 13ZA0215); Foundation of Sichuan Technology Committee (No: 2015JY0263)

From the Department of Ophthalmology and Optometry, North Sichuan Medical College (YAN Li-Ying, WANG Xing, ZOU Yun-Chun, ZENG Guan-Peng), Nanchong 637000, Sichuan Province, China; Department of Ophthalmology, the Suining Central Hospital (YAN Li-Ying), Suining 629000, Sichuan Province, China; Department of Rheumatology and Immunology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College (LEI Jia-Hong), Nanchong 637000, Sichuan Province, China

Responsible author: ZOU Yun-Chun, E-mail: zychun03@163.com; ORCID: 0000-0002-0730-3421

Association study of polymorphisms in the SOX2 gene with high myopia in Chinese Han population

YAN Li-Ying, WANG Xing, ZOU Yun-Chun, LEI Jia-Hong, ZENG Guan-Peng

[Abstract] Objective To investigate whether SOX2 can function as a candidate gene for high myopia in Chinese population in search of the high myopia-related disease-causing gene locus. **Methods** The case-control association study was applied. A total of 83 emmetropia individuals (160 eyes) were enrolled as the control group and 117 patients of high myopia (211 eyes) as the case group with obtained approvals prior to the study. All patients had undergone detailed eye examination and genomic DNA extraction from peripheral blood leucocytes. Then, 3 single nucleotide polymorphism (SNP) loci were selected from Beijing residents in Chinese Han population. SNP direct sequencing was employed for genotyping. According to the genotype of each tag SNP (tSNP) obtained from each sample, the gene frequencies of its genotype and alleles were calculated, followed by multiple testing and correcting using Bonferroni methods. χ^2 test was utilized to evaluate the significant difference between the patients and controls regarding the allele frequency and genotype frequency. **Results** A total of 3 tSNP loci (rs11915160, rs4575941 and rs4459940) were found according to Hardy-Weinberg equilibrium. The study population was representative. The genotype frequency and allele frequency on rs4575941 were significantly different between the case and control groups ($P=0.04, 0.03$). However, the difference turned out to be insignificant after correcting by Bonferroni methods ($P_c=0.09$). The frequency of allele G on rs4575941 was evidently higher in the case group than that in the control group ($OR=1.58$), indicating that allele G might be a risk gene for high myopia. **Conclusion** It is still in doubt whether SNP locus rs4575941 of SOX2 gene in Chinese population is correlated with high myopia. Further studies are needed for validation with a larger sample size and appropriate multiple testing approaches in combination with other means for big data analytics.

[Key words] high myopia; SOX2; single nucleotide polymorphism

【摘要】 目的 研究SOX2是否可作为中国汉族人群高度近视的候选基因,寻找与高度近视关联的致病基因位点。**方法** 采用病例-对照关联分析法。将同意参加本研究的83例(160眼)正视者作为对照组,117例(211眼)高度近视患者作为病例组,所有患者均进行详细的眼部检查,并提取外周血白细胞基因组DNA。在中国汉族北京居民的基因型数据库中选取3个标签单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点,采用SNP直接测序法进行基因分型检测。根据所有样本所得各标签SNP的基因型,计算其基因型和等位基因频率,并使用Bonferroni法进行多重检验校正;采用 χ^2 检验比较病例组和对照组之间等位基因频率及基因型频率分布是否有差异。**结果** 3个标签SNP位点(rs11915160, rs4575941, rs4459940)的基因型结果在病例组和对照组中都符合Hardy-Weinberg平衡,本研究人群具有一定的代表性。rs4575941位点的基因型频率和等位基因频率在病例组和对照组间的差异均具有统计学意义($P=0.04, 0.03$),但经Bonferroni法校正后,两组等位基因频率差异无统计学意义($P_c=0.09$);病例组rs4575941位点的等位基因G的频率明显高于对照组,OR值为1.58,等位基因G可能是高度近视的一个危险基因。**结论** 中国汉族人群SOX2基因SNP位点rs4575941与高度近视之间的关联存在可疑性,为了明确相关性,需要进一步扩大样本量,选择合适的多重检验方法,并结合其他手段进行大数据分析。

【关键词】 高度近视; SOX2 基因; 单核苷酸多态性

【中图分类号】 R778.1

目前近视的确切发病机制尚不清楚,研究表明,其发生和发展是多因素的,与环境因素、遗传因素和环境-遗传相互作用密切相关^[1-3],尤其是遗传因素在高度近视的发生和发展中起着关键作用^[4]。近年来,高度近视的患病率逐年升高,预计到2050年,全球高度近视约9.38亿人(约占世界人口的9.80%),且黄种人患病率高于白种人^[5]。高度近视具有明显的家族聚集性及遗传倾向,是一种单基因遗传眼病,常见的遗传方式有常染色体隐性遗传、常染色体显性遗传和X-连锁隐性遗传^[6-7]。SOX2是性别决定区Y-box转录因子基因家族的成员,在眼球的早期发育中起着关键作用,并且SOX2的突变可导致小眼球或无眼球等在内的多系统异常^[8],提示该基因可能是屈光不正的一个候选基因^[9],因此我们选取了可能与高度近视发生发展相关的SOX2基因,筛选出三个标签单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)进行测序分析,试图寻找与高度近视关联的位点,探究SOX2基因与高度近视的关联性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2016年1月至2017年1月川北医学院附属医院眼科门诊就诊的200例患者,其中高度近视者117例(211眼)为病例组,女66例,男51例,年龄18~34(28.17±5.38)岁;正视者83例(160眼)为对照组,女45例,男38例,年龄18~37(25.12±6.32)岁。两组间年龄和性别构成差异均无统计学意义(均为 $P>0.05$)。

纳入标准:(1)所有受试者均为中国汉族人,样本间无血缘关系;(2)高度近视者要求双眼等效球镜度数 ≥ -6.00 D;(3)对照组双眼等效球镜为 $-0.50\sim 0.50$ D,裸眼视力为1.0;(4)近2 a视力稳定。排除标准:(1)角膜、晶状体等屈光介质混浊者;(2)与近视相关的全身遗传性疾病,如Marfan综合征、Stickler综合征、眼球-食管闭锁-生殖器异常综合征等;(3)幼年有长时间高热病史;(4)近2周有角膜接触镜配戴史;(5)有圆锥角膜者;(6)合并其他易导致高度近视的疾病。本研究严格遵循赫尔辛基宣言,并经过川北医学院伦理委员会批准,受试者均知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 眼部检查 询问近视的发病史并完成一套完整的眼部检查,如验光、裂隙灯检查、眼底镜检查等,同时测量所有受试者的眼球生物学相关参数,包括复方托吡卡胺滴眼液散瞳后采用综合验光仪测量双眼屈光度,法国光太AVISIO眼科A/B超测量眼球玻璃体腔长度,德国蔡司IOL Master测量角膜曲率半径(包括垂直角膜曲率半径和水平角膜曲率半径)、前房深度、晶状体厚度及眼轴长度,采用德国海德堡Spectralis OCT的增强深度成像模式(EDI模

式)测量黄斑中心凹下脉络膜厚度(subfoveal choroidal thickness, SFCT),所有检查均由同一位经验丰富的专业验光师完成,每眼测量5次后取平均值。

1.2.2 DNA提取 在眼部检查完成后,抽取所有受试者前臂肘静脉血5 mL,EDTA抗凝,采用天根生化科技(北京)有限公司的血液基因组DNA提取试剂盒(离心柱法),按其操作说明书提取外周血白细胞基因组DNA,并于-70℃下保存。

1.2.3 标签SNP的选取 在国际人类基因组单体型图计划(Haplotype Map Project,简称HapMap计划)公布的45个独立的中国汉族北京居民(CHB)的基因型数据(<http://www.hapmap.org>)中选择标签SNP(数据来源于HapMap Data Rel 27 Phase II+III, Feb09, on NCBI B36 assembly, dbSNP b126数据库),并按照次等位基因频率 >0.1 ,最小连锁不平衡相关程度(r^2)值 >0.8 ,选取了3个标签SNP,详细信息见表1。

表1 SOX2基因三个标签SNP信息

标签SNP	位置	等位基因	次等位基因	次等位基因频率
rs4575941	182917842	G	A	0.36
rs11915160	182914265	A	C	0.22
rs4459940	182917984	A	T	0.12

1.2.4 引物设计 采用SNP直接测序法对三个标签SNP进行基因分型,PCR扩增过程中设计的引物序列见表2。10 g·L⁻¹琼脂糖凝胶电泳,150 V、100 mA,电泳20 min后观察。

表2 三个标签SNP的PCR引物

引物名称	序列	大小/bp
rs11915160	F 5'-TAGTGTACGCTAGGAGCTT-3'	441
	R 5'-ATTACCAACGGTGTCAACCT-3'	
rs4575941	F 5'-AATGCTGGAAGCTGTTATT-3'	456
	R 5'-TTGCCACACATGATGAGGAT-3'	
rs4459940	F 5'-GAAATGGCTCACATTAACCACT-3'	688
	R 5'-AGGAATCTTACCCTCAAAATCATT-3'	

注:F和R分别表示顺向和逆向引物

1.3 统计学方法 采用SPSS 23.0统计学软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,病例组和对照组受检眼球生物学相关参数测量结果的差异比较采用独立样本 t 检验;受检眼各项眼球生物学相关参数关系分析采用偏相关分析。使用Hardy-Weinberg平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)检验分析病例组和对照组中样本人群的代表性。在单个标签SNP位点中,采用 χ^2 检验比较病例组和对照组之间基因型和等位基因频率的差异,并采用Bonferroni法进行多重检验修正。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组眼球生物学相关参数的比较 病例组和

对照组的水平角膜曲率半径、垂直角膜曲率半径、前房深度、晶状体厚度、玻璃体腔长度、眼轴长度及 SF-

CT 值相比,差异均具有统计学意义(均为 $P < 0.01$),见表 3。

表 3 两组受检眼眼球生物相关参数测量结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	眼数	水平角膜曲率半径/mm	垂直角膜曲率半径/mm	前房深度/mm	晶状体厚度/mm	玻璃体腔长度/mm	眼轴长度/mm	SFCT/ μm
对照组	160	7.89 \pm 0.04	7.75 \pm 0.02	3.37 \pm 0.12	3.90 \pm 0.17	16.42 \pm 0.48	23.54 \pm 0.60	302.61 \pm 32.12
病例组	211	7.73 \pm 0.02	7.61 \pm 0.02	3.73 \pm 0.12	3.81 \pm 0.20	18.57 \pm 0.53	26.38 \pm 0.58	242.10 \pm 46.58
<i>t</i> 值		6.32	6.22	-10.53	8.12	-19.42	19.05	-18.87
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.2 两组眼球生物学相关参数偏相关分析结果
受检眼屈光度与水平角膜曲率半径、垂直角膜曲率半径、SFCT 均呈正相关($r = 0.53$ 、 0.54 、 0.75 ,均为 $P < 0.01$),即屈光度数值越小,也就是高度近视的度数越高,角膜曲率半径值越小,角膜屈光力越强,而 SFCT 越薄;屈光度与玻璃体腔长度、眼轴长度均呈负相关($r = -0.78$ 、 -0.87 ,均为 $P < 0.01$),即屈光度数值越小,也就是高度近视的度数越高,眼轴越长,玻璃体腔越长;眼轴长度与玻璃体腔长度呈正相关($r = 0.85$, $P < 0.01$);眼轴长度与水平角膜曲率半径、垂直角膜曲率半径和 SFCT 均呈负相关($r = -0.53$ 、 -0.52 、 -0.59 ,均为 $P < 0.01$)。

2.3 三个标签 SNP 基因分型检测结果

2.3.1 三个标签 SNP 位点 PCR 反应产物 SOX2

基因三个标签 SNP 位点 PCR 的反应产物见图 1,可见 PCR 反应产物与引物设计吻合。
2.3.2 三个标签 SNP 位点基因型统计结果 对 SOX2 基因的三个标签 SNP 位点(rs11915160、rs4575941、rs4459940)进行基因型检测,经 HWE 检验,三个标签 SNP 位点的基因型结果在病例组 and 对照组中都符合 HWE(均为 $P > 0.05$),提示本研究人群具有一定的代表性,三个位点的基因分型结果具有可靠性。三个标签 SNP 位点基因型统计结果(表 4)显示,rs4575941 位点的基因型频率在病例组 and 对照组之间差异有统计学意义($P = 0.04$),而 rs11915160、rs4459940 位点的基因型频率在病例组 and 对照组之间差异均无统计学意义($P = 0.85$ 、 0.76)。

表 4 三个标签 SNP 基因型统计结果

SNP 位点	基因型	对照组		病例组		对照组 HWE	病例组 HWE	χ^2 值	<i>P</i> 值
		观察值	期望值	观察值	期望值				
rs11915160	AA	0	0.05	0	0.05	0.06	0.06	0.03	0.85
	AC	4	3.90	5	4.89				
	CC	79	79.05	112	112.05				
rs4575941	AA	6	7.23	16	19.69	0.42	1.99	6.28	0.04
	AG	37	34.54	64	256.60				
	GG	40	41.23	37	40.69				
rs4459940	AA	64	65.09	88	89.80	1.39	2.34	0.10	0.76
	AT	19	16.83	29	25.41				
	TT	0	1.09	0	1.80				

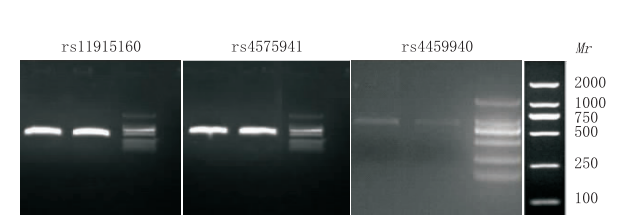


图 1 三个标签 SNP 位点 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳结果

2.3.3 三个标签 SNP 位点等位基因频率统计结果
三个标签 SNP 位点等位基因频率统计结果(表 5)显示,rs11915160、rs4459940 位点的等位基因频率在病例组 and 对照组之间差异均无统计学意($P = 0.74$ 、 1.00),rs4575941 位点的等位基因频率在病例组 and 对照组之间的差异有显著统计学意义($P = 0.03$),但

经 Bonferroni 法矫正后的 P 值为 0.09 ,矫正后差异无统计学意义。rs4575941 在病例组中的等位基因 G 频率明显高于对照组,OR 值为 1.58 。

表 5 三个标签 SNP 等位基因频率统计结果

SNP 位点	等位基因	对照组	病例组	χ^2 值	<i>P</i> 值	OR 值	<i>P_c</i> 值
rs11915160	A	5	4	0.11	0.74	1.26	1.00
	C	195	196				
rs4575941	A	83	62	4.77	0.03	1.58	0.09
	G	117	138				
rs4459940	A	24	24	0.00	1.00	1.00	1.00
	T	176	176				

注:OR:优势比(χ^2 检验); P_c :Bonferroni 法矫正后的 P 值

3 讨论

SNP 是人类 DNA 遗传变异中最常见的变异类型,也是绘制复杂遗传性状的有效资源^[10-11],具有位点丰富、分布广、易于快速筛查与基因分型等优点,已成为当今基因组研究的主要遗传标记方法^[12]。通过确定基因中的遗传多态性在病例组 and 对照组中的基因型,来对比病例组与对照组之间基因型频率和等位基因频率的差异,此即病例-对照关联研究。运用病例-对照关联研究可推断基因多态性与多种疾病的遗传易感性^[13],帮助人类成功鉴定出许多疾病的易感基因^[14-15]。某些遗传位点可能在特定种族人群中的表达不同,或在不同种族中等位基因频率的差异很大,从而造成某些疾病在不同种族人群中的差异性,如黄种人高度近视患病率明显大于白种人^[5]。SOX2 基因参与眼球发育过程,提示 SOX2 基因可能与屈光不正有关联,但是目前中国汉族人群中 SOX2 基因是否与高度近视具有关联性暂无相关报道,所以本研究选择中国汉族人群作为研究对象,探讨 SOX2 基因是否可作为中国汉族人群高度近视的候选基因。本研究中,病例组和对照组人群中的三个标签 SNP 位点的基因型都符合 HWE(均为 $P > 0.05$),表明本研究选取的研究对象具有一定的代表性,三个位点的基因分型结果具有可靠性。

基于人群的研究发现,眼球角膜曲率、前房深度、晶状体厚度和眼轴长度之间的相互协调确定了眼球的屈光状态,其中眼轴长度对屈光状态的改变起着主要作用,且眼球的这些参数具有一定的遗传性和家族聚集性^[16-17]。本研究结果也表明,眼轴长度与屈光度的相关性最为突出($r = -0.87, P < 0.01$),且高度近视眼的眼轴长度明显大于正视眼($P < 0.01$),表明本研究对象中的高度近视主要为轴性近视。有研究报道指出,在高度轴性近视眼中,眼轴的延长主要表现为玻璃体腔的延长^[18-19],而且随着眼轴的延长,眼球后极部巩膜发生重塑^[20]。眼轴过长产生的机械性应力使后极部脉络膜明显变薄^[21-22],从而出现眼底视网膜的退行性改变。本研究结果发现,高度近视患者的水平角膜曲率半径、垂直角膜曲率半径均比正视眼小,前房深度比正视眼深,晶状体厚度小于正视眼;偏相关分析结果发现,屈光度数与水平角膜曲率半径、垂直角膜曲率半径均呈正相关($r = 0.53, 0.54$,均为 $P < 0.01$),而与玻璃体腔长度、眼轴长度均呈负相关($r = -0.78, -0.87$,均为 $P < 0.01$);眼轴长度与玻璃体腔长度呈正相关($r = 0.85, P < 0.01$),与水平角膜曲率半径、垂直角膜曲率半径均呈负相关($r = -0.53, -0.52$,均为 $P < 0.01$),表明屈光度数值越小,也就是近视的度数越高,水平角膜曲率半径和垂直角膜曲率半径越小,眼轴越长和玻璃体腔长度越长,此结果与既往雷佳红等^[23]、王英等^[24]研究结果一致。屈

光度数与 SFCT 呈正相关($r = 0.75, P < 0.01$),眼轴长度与 SFCT 呈负相关($r = -0.59, P < 0.01$),即屈光度数值越小,也就是近视的度数越高, SFCT 越薄,此结果与 Nishida 等^[25]、Flores-Moreno 等^[26]研究结果一致。

SOX2 基因又称为 SRY-box2,高度保守,仅有一个外显子,属于 SOX 转录因子家族,其广泛分布于动物界,涉及功能众多^[8]。SOX2 是胚胎发育的重要调节因子,在早期发育和器官的发生中起着关键的作用,是必不可少的发育调节因子,具有决定性别、维持垂体-下丘脑、参与视觉系统发育和中枢神经系统发生等的功能^[27-29]。在眼球的发育过程中,越来越多的证据表明 SOX2 协同 PAX6 参与诱导晶状体的发育和眼球形态的形成^[30-32],并且 SOX2 参与调节视网膜祖细胞的分化^[29],由此可见,SOX2 基因在眼球发育过程中有重要作用。有研究发现,SOX2 基因缺陷可导致小眼球、无眼畸形^[33-34],甚至出现全身性异常,如眼球-食管闭锁-生殖器异常综合征,可表现为眼、脑、垂体、泌尿生殖、胃和食管等的异常^[35-36],在一定程度上说明了 SOX2 基因缺陷导致疾病的临床表现具有复杂性和多样性。本研究针对 SOX2 基因在 HapMap 数据库中选取了三个标签 SNP 进行基因分型,结果发现,rs4575941 位点的基因型频率和等位基因频率在病例组和对照组之间差异具有显著的统计学意义($P = 0.04, 0.03$),然而经 Bonferroni 法矫正,矫正后等位基因频率差异无统计学意义($P_c = 0.09$)。但我们观察到 rs4575941 位点的等位基因 G 在病例组中的频率明显高于对照组,OR 值为 1.58,说明等位基因 G 可能是高度近视的一个危险基因,提示 SOX2 基因的 rs4575941 位点可能与高度近视相关。

有研究指出, Bonferroni 矫正法应用于 SNP 检测的多重比较时相对比较保守,可能会漏失某些阳性的发现,存在校正过度的可能,即增加了假阴性的几率^[37]。考虑到 SOX2 基因在眼球发育过程中的重要作用以及 Bonferroni 矫正可能存在的假阴性结果,我们认为,中国汉族人群 SOX2 基因遗传区域中的 rs4575941 位点与高度近视间的关联存在可疑性,需要进一步研究汉族人群 SOX2 基因与高度近视的关联。Simpson 等^[9]在大量研究队列中调查了英国普通近视与 PAX6 和 SOX2 的关系,从数据库中筛选出 SOX2 基因的三个位点 rs12497248、rs11915160 和 rs4459940,结果发现, PAX6 和 SOX2 基因与普通近视没有显著关联,认为在寻找屈光不正的遗传基因时, PAX6 和 SOX2 基因都不应该被列为优先考虑者。Simpson 等^[9]研究的对象是英国的普通近视患者,且未研究 SOX2 基因的 rs4575941 位点,目前已有研究发现中国汉族人群 PAX6 基因与高度近视之间存在显著的关联性^[38-39]。考虑到在不同研究人群中高度近视的候选基因与近视的关联性可能有所不同,而且高度近视的病因复杂,涉及多种遗传和环境

因素,所以下一步我们将扩大样本量,选取 SOX2 基因上更多的基因位点,选择合适的多重检验方法,并结合其他手段进行大数据分析,希望更好地了解中国汉族人群中 SOX2 基因与高度近视之间的关联性,试图找出与高度近视相关的候选基因,从而为寻找近视的发病机制奠定基础。

参考文献

- [1] GOLDSCHMIDT E, JACOBSEN N. Genetic and environmental effects on myopia development and progression [J]. *Eye*, 2014, 28(2):126-133.
- [2] RONG S S, CHEN L J, PANG C P. Myopia genetics - The asia-pacific perspective[J]. *Asia Pac J Ophthalmol*, 2016, 5(4):236-244.
- [3] PAN C W, RAMAMURTHY D, SAW S M. Worldwide prevalence and risk factors for myopia [J]. *Ophthalmic Physiol Opt*, 2012, 32(1):3-16.
- [4] YOUNG T L, METLAPALLY R, SHAY A E. Complex trait genetics of refractive error[J]. *Arch Ophthalmol*, 2007, 125(1):38-48.
- [5] HOLDEN B A, FRICKE T R, WILSON D A, JONG M, NAIDOO K S, SANKARIDURG P, et al. Global prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050 [J]. *Ophthalmology*, 2016, 123(5):1036-1042.
- [6] YOUNG T L, ATWOOD L D, RONAN S M, DEWAN A T, ALVEAR A B, PETERSON J, et al. Further refinement of the MYP2 locus for autosomal dominant high myopia by linkage disequilibrium analysis[J]. *Ophthalmic Genet*, 2001, 22(2):69-75.
- [7] NG S B, TURNER E H, ROBERTSON P D, FLYGARE S D, BIGHAM A W, LEE C, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of twelve human exomes [J]. *Nature*, 2009, 461(7261):272-276.
- [8] YE F X, FAN X Q. SOX2 defect and anophthalmia and microphthalmia [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2012, 48(11):1049-1052.
- [9] SIMPSON C L, HYSI P, BHATTACHARYA S S, HAMMOND C J, WEBSTER A, PECKHAM C S, et al. The roles of PAX6 and SOX2 in myopia: lessons from the 1958 British birth cohort [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(10):4421-4425.
- [10] MARTH G T, KORF I, YANDELL M D, YEH R T, GU Z, ZAKERI H, et al. A general approach to single-nucleotide polymorphism discovery[J]. *Nat Genet*, 1999, 23(4):452-456.
- [11] IRIZARRY K, KUSTANOVICH V, LI C, BROWN N, NELSON S, WONG W, et al. Genome-wide analysis of single-nucleotide polymorphisms in human expressed sequences[J]. *Nat Genet*, 2000, 26(2):233-236.
- [12] MILLER R D, KWOK P Y. The birth and death of human single-nucleotide polymorphisms: new experimental evidence and implications for human history and medicine[J]. *Hum Mol Genet*, 2001, 10(20):2195-2198.
- [13] KHOURY M J, YANG Q. The future of genetic studies of complex human diseases: an epidemiologic perspective [J]. *Epidemiology*, 1998, 9(3):350-354.
- [14] HIRSCHHORN J N, LOHMEUILLER K, BYRNE E, HIRSCHHORN K. A comprehensive review of genetic association studies[J]. *Genet Med*, 2002, 4(2):45-61.
- [15] CAPORASO N, ROTHMAN N, WACHOLDER S. Case-control studies of common alleles and environmental factors [J]. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 1999, (26):25-30.
- [16] DIRANI M, CHAMBERLAIN M, SHEKAR S N. Heritability of refractive error and ocular biometrics: the Genes in Myopia (GEM) twin study [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(11):4756-4761.
- [17] YOUNG T L, METLAPALLY R, SHAY A E. Complex trait genetics of refractive error [J]. *Arch Ophthalmol*, 2007, 125(1):38-48.
- [18] MCBRIEN N A, MILLODOT M. A biometric investigation of late onset myopic eyes [J]. *Acta Ophthalmol (Copenh)*, 1987, 65(4):461-468.
- [19] JIANG B C, WOESSNER W M. Vitreous chamber elongation is responsible for myopia development in a young adult [J]. *Optom Vis Sci*, 1996, 73(4):231-234.
- [20] JONAS J B, XU L. Histological changes of high axial myopia [J]. *Eye*, 2014, 28(2):113-117.
- [21] WANG S, WANG Y, GAO X, QIAN N, ZHUO Y. Choroidal thickness and high myopia: across-sectional study and meta-analysis [J]. *BMC Ophthalmol*, 2015, 15:70.
- [22] WEI W B, XU L, JONAS J B, SHAO L, DU K F, WANG S, et al. Subfoveal choroidal thickness: the Beijing eye study [J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(1):175-180.
- [23] LEI J H, ZOU Y C, LEI H Y, WANG Y. Association study of polymorphisms in the BMP2 gene with myopia in Chinese population [J]. *Chin J Pract Ophthalmol*, 2015, 33(22):1406-1410.
- [24] WANG Y, ZOU Y C, XU S, YANG Y. The analysis of measurement results of adult myopia biological optical parameters [J]. *J Chin Phys*, 2015, 17(3):328-330.
- [25] NISHIDA Y, FUJIWARA T, IMAMURA Y, LIMA L H, KUROSAKA D, SPAIDE R F. Choroidal thickness and visual acuity in highly myopic eyes [J]. *Retina*, 2012, 32(7):1229-1236.
- [26] FLORES-MORENO I, LUGO F, DUKER J S, RUIZ-MORENO J M. The relationship between axial length and choroidal thickness in eyes with high myopia [J]. *Am J Ophthalmol*, 2013, 155(2):314-319.
- [27] KELBERMAN D, DE CASTR O, HUANG S, CROLLA J A, PALMER R, GREGORY J W, et al. SOX2 plays a critical role in the pituitary, forebrain, and eye during human embryonic development [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(5):1865-1873.
- [28] KAMACHI Y, UCHIKAWA M, KONDOH H. Pairing SOX off: with partners in the regulation of embryonic development [J]. *Trends Genet*, 2000, 16(4):182-187.
- [29] TARANOVA O V, MAGNESS S T, FAGAN B M, WU Y, SURZENKO N, HUTTON S R, et al. SOX2 is a dose-dependent regulator of retinal neural progenitor competence [J]. *Genes Dev*, 2006, 20(9):1187-1202.
- [30] SMITH A N, MILLER L A, RADICE G, ASHERY-PADAN R, LANG R A. Stage-dependent modes of Pax6-Sox2 epistasis regulate lens development and eye morphogenesis [J]. *Development*, 2009, 136(17):2977-2985.
- [31] INOUE M, KAMACHI Y, MATSUNAMI H, IMADA K, UCHIKAWA M, KONDOH H. PAX6 and SOX2-dependent regulation of the Sox2 enhancer N-3 involved in embryonic visual system development [J]. *Genes Cells*, 2007, 12(9):1049-1061.
- [32] KAMACHI Y, UCHIKAWA M, TANOUCHI A, SEKIDO R, KONDOH H. Pax6 and SOX2 form a co-DNA-binding partner complex that regulates initiation of lens development [J]. *Genes Dev*, 2001, 15(10):1272-1286.
- [33] VERMA A S, FITZPATRICK D R. Anophthalmia and microphthalmia [J]. *Orphanet J Rare Dis*, 2007, 2:47.
- [34] FANTES J, RAGGE N K, LYNCH S A, MCGILL N I, COLLIN J R, HOWARD-PEEBLES P N, et al. Mutations in SOX2 cause anophthalmia [J]. *Nat Genet*, 2003, 33(4):461-463.
- [35] WILLIAMSON K A, HEVER A M, RAINGER J, ROGERS R C, MAGEE A, FIEDLER Z, et al. Mutations in SOX2 cause anophthalmia-esophageal-genital (AEG) syndrome [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(9):1413-1422.
- [36] HEVER A M, WILLIAMSON K A, VAN HEYNINGEN V. Developmental malformations of the eye: the role of PAX6, SOX2 and OTX2 [J]. *Clin Genet*, 2006, 69(6):459-470.
- [37] PERTILE K K, SCHACHE M, ISLAM F M A, CHEN C Y, DIRANI M, MITCHELL P, et al. Assessment of TGIF as a candidate gene for myopia [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(1):49-54.
- [38] HAN W, LEUNG K H, FUNG W Y, MAK J Y, LI Y M, YAP M K, et al. Association of PAX6 polymorphisms with high myopia in Han Chinese nuclear families [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(1):47-56.
- [39] TSAI Y Y, CHIANG C C, LIN H J, LIN J M, WAN L, TSAI F J. A PAX6 gene polymorphism is associated with genetic predisposition to extreme myopia [J]. *Eye*, 2008, 22(4):576-581.