

• 文献综述 •

家族性载脂蛋白 B₁₀₀缺陷症

赵 水 平

(湖南医科大学附属第二医院省心血管病研究所内科, 长沙 410011)

家族性载脂蛋白 B₁₀₀缺陷症 (familial defective apolipoprotein B₁₀₀, FDAB) 于 1986 年首次发现。Vega 等^[1]在研究血浆胆固醇水平中等程度升高的人群时, 注意到少数受试者的低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 在体内分解代谢速率缓慢, 而其 LDL 受体功能正常, 推测可能是因 LDL 颗粒自身异常所致。由于 LDL 中的载脂蛋白几乎仅有载脂蛋白 B₁₀₀, 因而认为可能是载脂蛋白 B₁₀₀有遗传缺陷使 LDL 与受体结合障碍, 因此影响 LDL 在体内的分解代谢速率。随后的研究证实了这一推论^[2]。现已确认是载脂蛋白 B₁₀₀中的 3 500 位上的精氨酸 (arginine, Arg) 被谷酰胺 (glutamine, Glu) 所置换 (Arg_{3 500}→Glu), 造成含有这种缺陷的载脂蛋白 B₁₀₀的 LDL 与受体结合障碍。虽然, FDAB 和家族性高胆固醇血症 (familial hypercholesterolemia, FHC) 都是由于 LDL 分解代谢障碍而引起的高胆固醇血症, 然而两者所致高胆固醇血症的病理生理机制不同。FDAB 是因载脂蛋白 B₁₀₀遗传缺陷即配体缺陷所致, 而 FHC 则是 LDL 受体的遗传缺陷引起。

1 载脂蛋白 B₁₀₀的结构和功能

人类 LDL 转运血浆中绝大多数胆固醇。LDL 中心核是由无极性的中性脂质 (甘油三酯和胆固醇酯) 组成, 而其外壳则是由磷脂和非酯化胆固醇, 以及单个载脂蛋白 B₁₀₀分子构成。由于载脂蛋白 B₁₀₀分子量大, 脱脂后极不稳定, 易聚合为不溶性沉淀, 造成分析该蛋白质化学性质的障碍。近年的研究证实载脂蛋白 B₁₀₀ mRNA 长度为 14.5 kb, 成熟的载脂蛋白 B₁₀₀含 4 536 个氨基酸, 分子量为 550 000, 包括 10% 的碳水化合物^[3~5]。载脂蛋白 B₁₀₀是至今世界上阐明一级结构的分子量最大的蛋白质。凝血酶可在三个部位切断 LDL 中的载脂蛋白 B₁₀₀, 其切断的片段可被用于分析载脂蛋白 B₁₀₀的结构域。载脂蛋白 B₁₀₀的基因长度为 43 kb, 有 28 个内含子和 29 个外显子, 位于第 2 号染色体上短臂近尖端区^[5~7]。

一般认为载脂蛋白 B₁₀₀有四种功能^[8]: ①参与肝脏合成、装配和分泌富含甘油三酯脂蛋白; ②是极低密度

脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 和 LDL 结构成份; ③与动脉壁上的肝素和各种蛋白聚糖结合; 这可能与动脉粥样斑块内结合 LDL 有关; ④与 LDL 受体结合, 将 LDL 从血浆中清除。

有研究表明, 载脂蛋白 B₁₀₀与 LDL 受体结合的结构域是在 3 249 位氨基酸残基附近或在 3 000~4 000 位氨基酸残基之间^[9]。但是, 有关载脂蛋白 B₁₀₀受体结合结构域的精确定位仍有待进一步澄清。

2 FDAB 的发现过程及检测方法学

为了寻找原发性高胆固醇血症的病因, 有人对 15 例血浆胆固醇浓度中等度升高者进行研究^[1]。将受试者和正常对照者的 LDL 进行放射性标记后, 静脉注入受试者体内, 观察两种 LDL 在体内的消失情况。发现其中 10 例受试者的 LDL 与正常的 LDL 在体内清除基本相同, 而另 5 例受试者自身的 LDL 在体内清除速率较正常 LDL 缓慢, 其中 1 例 LDL 清除速率仅为正常的 50%。由于正常情况下, 2/3 或 3/4 的 LDL 是经由肝脏内 LDL 受体途径清除, 故推测这 5 例受试者的 LDL 与肝内 LDL 受体亲和力差^[1]。体外试验进一步发现, 这些 LDL 与人成纤维细胞膜上 LDL 受体的亲和力仅为正常 LDL 的 32%^[2]。这样, 体内代谢观察与体外试验结果是一致的, 均提示受试者的 LDL 与其受体结合存在障碍。

对于这种具有受体结合障碍的 LDL 进行结构分析, 并未发现这种 LDL 的脂质结构与正常 LDL 之间有明显不同。应用电泳或梯度凝胶电泳法检查也没有见到这种 LDL 的颗粒大小和形状有任何异常。进行密度梯度超速离心分离这种 LDL, 亦无异常发现。此外, 对于完整的载脂蛋白 B₁₀₀进行初步研究, 也没发现包含在这种 LDL 中的载脂蛋白 B₁₀₀有任何重要的片段缺失或插入^[8]。

基于上述研究结果, 可以认为这类患者的 LDL 结构基本上是正常的, 仅有与受体结合障碍。推测可能是载脂蛋白 B₁₀₀发生微小或单个氨基酸突变, 而这种突变应是位于或接近于与受体结合的结构域。采用 4 个载脂蛋白 B₁₀₀特异性单克隆抗体, 以探查突变部位。发现

其中一种单克隆抗体(MB₁₇)可使患者的 LDL 与受体亲和力增加。这一现象提示载脂蛋白 B₁₀₀的突变部位是位于 MB₁₇的抗原决定簇部位。而 MB₁₇的抗原决定簇则是载脂蛋白 B₁₀₀中 3 442~3 569 位氨基酸残基,因而突变很可能是位于 3 490~3 510 位氨基酸残基附近^[10]。

为了进一步确定引起受体结合障碍的突变部位,对载脂蛋白 B₁₀₀基因核苷酸 7 500~11 916 进行序列分析。该核苷酸区域编码出载脂蛋白 B₁₀₀中 2 488 至 3 901 位氨基酸,包括了受体结合结构域。研究结果仅发现第 26 个外显子上 10 708 位核苷酸突变(G→A),即编码载脂蛋白 B₁₀₀的 3 500 位氨基酸的核苷酸 CGG 突变为 CAG,因而造成 3 500 位上的精氨酸被谷氨酰胺置换^[11]。随后,采用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)与等位-特异寡核苷酸探针方法,可迅速可靠地发现载脂蛋白 B₁₀₀第 3 500 位上的位点突变。新发现的 FDAB 者均有相同的载脂蛋白 B₁₀₀ DNA 突变以及 LDL 与受体结合能力降低。对 FDAB 患者进行家族调查,发现 FDAB 呈常染色体显性遗传,所有 FDAB 者均为杂合子^[2]。

虽然,早期对 FDAB 的检测是采用等位-特异寡核苷酸探针进行轨迹点杂交,该法能准确地探测出载脂蛋白 B₁₀₀突变的等位基因。但是,由于该方法较为费时,需应用³²P 标记的探针,故不适合于大规模的研究或在人群中进行常规普查。有必要建立更为简便的方法。载脂蛋白 B₁₀₀(Arg_{3 500}→Gln)突变并未引起或破坏限制性内切酶的识别部位,但通过改变单个碱基,则可在 PCR 产物中引起断裂位点^[12]。该方法已成功地应用于检测载脂蛋白 B₁₀₀(Arg_{3 500}→Glu)突变^[13]。其优点是无需使用有放射性的物质。但是,仍然需要进行酶消化,并要使用聚丙烯酰胺电泳法分离 PCR 产物。

新近有人联合应用不对称性 PCR 和等位-特异 PCR,并用三个寡核苷酸引物,用于检测(Arg_{3 500}→Glu)突变^[14],该方法用于大样本调查似乎很有希望。因为并不需要进行限制性内切酶消化步骤,亦不需与有放射活性的探针进行杂交。

此外,一些实验室已开始采用混合样本法(a pooling strategy)^[15],筛选大系列样本中载脂蛋白 B₁₀₀(Arg_{3 500}→Glu)突变。此法若与快速 DNA 提取程序^[13]以及单次 PCR 反应^[14]同时应用,对于直接检测 FDAB 突变位点,具有经济、高效和实用的优点,且仍保持同样的特异性和敏感性^[16]。

3 载脂蛋白 B₁₀₀(Arg_{3 500}→Glu)突变与受体结合功能的关系

一般认为,人类血浆中 LDL 颗粒仅含有一个分子

载脂蛋白 B₁₀₀。杂合子 FDAB 者体内则应存在两种 LDL 颗粒。即一种 LDL 颗粒含有正常的载脂蛋白 B₁₀₀;另一种 LDL 颗粒则含有突变的载脂蛋白 B₁₀₀。如果有方法将这两种 LDL 颗粒分离,就可更清楚地知道含有突变载脂蛋白 B₁₀₀的 LDL 颗粒与受体结合障碍的程度。有人发现一种单克隆抗体即 MB₁₉对不同 LDL 颗粒中的载脂蛋白 B₁₀₀具有不同的反应性,对某些载脂蛋白 B₁₀₀的亲性和性较其他高 11 倍^[8]。所以,应用 MB₁₉免疫亲和层析法,可从 FDAB 杂合子者血浆中分离出富含缺陷载脂蛋白 B₁₀₀的 LDL 部分。而这部分 LDL 与受体的亲和力仅为正常的 10%。由于采用这种方法分离出来的含有突变载脂蛋白 B₁₀₀的 LDL 中仍然掺杂有正常的 LDL(大约占 5%~7%),因而推测异常的 LDL 颗粒实际上仅具有 3%~5%正常 LDL 的受体结合能力^[17]。载脂蛋白 B₁₀₀是一个由 4 536 个氨基酸组成的蛋白质,仅仅是因单一氨基酸被置换,就产生其与受体结合的能力完全障碍,的确有些令人吃惊。

应用物理生物化学方法研究提示,3 500 位突变可引起载脂蛋白 B₁₀₀结构局部紊乱。而采用循环二色性法检测正常的和 FDAB 的 LDL 二级结构,发现两者基本相同。但是,利用¹³C 核磁共振技术发现,FDAB 者 LDL 中 6 个赖氨酸的微环境发生了改变,引起其 pK 值由 8.9 变为 10.5。已知赖氨酸残基影响载脂蛋白 B₁₀₀与受体的结合部位。所以,有可能载脂蛋白 B₁₀₀中 3 500 位精氨酸被谷氨酰胺置换后,改变了位于突变部位附近赖氨酸残基的 pK 值,因而影响载脂蛋白 B₁₀₀的受体结合功能域^[18]。由此推测,位点突变很可能使其受体结合功能域二级或三级结构的构形发生变化,从而与受体结合障碍^[8]。

4 载脂蛋白 B₁₀₀基因限制片段长度多态性和 FDAB 的单倍型分析

研究载脂蛋白 B₁₀₀突变最常用的方法是基因限制片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)分析。所谓 RFLP 是指个体 DNA 用特异的限制性内切酶切割所得的基因片段长度发生了改变,其原因是 DNA 中发生点突变、缺失、插入或重排所致。关于载脂蛋白 B₁₀₀基因的多态性早在 1961 年就被提出,其源于从一个多次接受输血的病人血液中查到不同的抗 LDL 抗体,这表明人群中存在着不同结构的载脂蛋白 B₁₀₀,并且影响到它的抗原性。已阐明与共显性基因相联的抗原簇(antigen group, Ag)位点分别有 Ag(C/g)、Ag(t/2)、Ag(h/i)、Ag(α/y)和 Ag(a₁/d)。这 5 个 Ag 的多态性都已被证实为载脂蛋白 B₁₀₀一级结构中的单个氨基酸被置换所致^[19]。

FDAB 呈仅有单个位点突变, 而估计人群中的发生率却高达 0.2%^[18], 与人群中 FHC 发生率相当。但是, FHC 却是因 LDL 受体多个不同位点突变所致。所以, 人们曾怀疑 FDAB 可能是属一种近代反复频繁发生的基因突变^[16]。为了检验这一假说, 可通过分析载脂蛋白 B₁₀₀ 基因的多种 RFLP, 研究两个无亲缘关系 FDAB 者, 其载脂蛋白 B₁₀₀ (Arg₃₅₀₀→Glu) 突变是来源于“相同祖先”抑或是各自独立突变所致。这种方法称为 FDAB 的 RFLP 单倍型(haplotype)分析。目前常用于这种分析的单倍型标记共有 10 种(见表 1)^[20]。现有资料表明, 绝大多数 FDAB 个体的载脂蛋白 B₁₀₀ 基因 RFLP 单倍型是相同的, 仅极少数有差异。提示 FDAB 是一次性发生的突变, 几乎所有的 FDAB 者都与其远祖先有关。而那些极少数载脂蛋白 B₁₀₀ 单倍型不同的 FDAB 者, 则可能是复发性突变。载脂蛋白 B₁₀₀ (Arg₃₅₀₀→Glu) 突变在美国、德国、荷兰、奥地利、瑞士和英国发生频率高, 而在意大利、瑞典、丹麦、挪威发生频率低, 在芬兰和前苏联则似乎不存在^[18]。基于欧美有关 FDAB 的研究结果, 推测该缺陷症在欧洲已存在几千年, 然后向世界各方扩散, 如果此假说正确, 从不同的种族中发现的 FDAB 者(如从非洲或亚洲), 则可能属载脂蛋白 B₁₀₀ 复发突变, 其载脂蛋白 B₁₀₀ 基因 RFLP 单倍型会有差异。最近, Bersot 等

发现一例系中国血统的 FDAB 者, 其载脂蛋白 B₁₀₀ 基因 RFLP 单倍型的确是已与报道的不同^[20]。

表 1. FDAB 者载脂蛋白 B₁₀₀ 单倍型分析

单倍型	部位	结果
5' (TG) _n	5' 翼端	14
Sp	SP	E ₁ +
ApoLI	aa71	E ₄ +
Hinc II	—	I ₄ —
Pvu II	—	I ₄ —
Alu I	aa591	E ₁₄ +
Xba I	aa2248	E ₂₆ +
EcoR I	aa4154	E ₂₉ +
3' HVE	3' 翼端	48

+ 示存在限制位点, — 示不存在限制位点, Sp+ 示有 9 个硷基对插入, Sp— 示无硷基对插入; aa = 氨基酸, E = 外显子, I = 内含子。

5 FDAB 的临床特征

现有资料尚不能明确 FDAB 在一般人群中的发生率, 因为已报道的 FDAB 病例绝大多数是在对高胆固醇血症患者进行研究时发现的(见表 2)^[8, 16, 20~25]。

表 2 家族性载脂蛋白 B₁₀₀ 缺陷症研究对象特征及发生率

作者、年代	研 究 对 象	国 别	突 变 频 率
1、Tybjarg—Hansen 等 1990	家族性胆固醇血症	英 国	3%(6/173)
	I ₁ 型高脂蛋白血症	英 国	3%(3/91)
	周围动脉疾病	丹 麦	2%(1/57)
		美国、加拿大、奥地利	
2、Innerarity 等 1990	正常或中等度高胆固醇血症	大、奥地利	1%(11/1 100)
3、Schuster 等 1990	I ₁ 型高脂蛋白血症	德国	3%(8/243)
4、Talmud 等 1991	家族性高胆固醇血症	英国	3%(2/77)
5、Corsini 等 1991	高胆固醇血症	意大利	1 例病人
6、Hosking 等 1991	家族性高胆固醇血症	澳大利亚	5%(2/37)
7、Illingworth 等 1992	I ₁ 型高脂蛋白血症	美 国	6%(22/350)
8、Bersot 等 1993	普查人群	美 国	0.08%(4/5 160)

在一般人群中 FDAB 的发生率估计为 1/500~1/700^[16]。

FDAB 患者的血脂异常改变似乎与杂合子 FHC

者相类同, 主要是血浆总胆固醇(total cholesterol, TC)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL cholesterol, LDLC)水平中等度或重度升高(表 3)^[8, 16, 21~25]。

表 3. 家族性载脂蛋白 B₁₀₀缺陷症先证者临床特征

作者、年代	先证者	性别(M/F)	年龄(岁)	TC(nmol/L) *	LDLC(mmol/L) *	共计受累者
1、Tybjarg - Hansen 等 1990	10	5/5	40~71	9.6 (7.1~13.6)	7.6 (5.5~9.0)	28
2、Innerarity 等 1990	11	6/5	34~68	8.0 (6.0~10.1)	5.9(4.2~7.6)	41
3、Schuster 等 1990	8	4/4	23~60	9.1 (5.9~11.6)	7.1 (5.3~8.8)	18
4、Talmud 等 1991	2	2/0	49~55	9.2 (7.6~10.1)	7.7 (6.1~9.3)	2
5、Corsini 等 1991	1	1/0	10	7.5	—	9
6、Hosking 等 1991	2	0/2	41~62	9.7 (8.5~10.8)	8.0 (6.9~9.1)	4
7、Illingworth 等 1992	22	7/15	5~66	8.5 (6.3~10.9)	6.4 (3.6~8.2)	33

* 为均值, 括号中为范围值。

FDAB 患者中, 血浆 TC 水平高于人群 TC 水平 95% 上限者占 81%; 血浆 LDLC 水平高于人群 LDLC 水平 95% 上限者占 90%; 这种情况与 FHC 患者的血浆 TC 和 LDLC 升高亦相似。然而, FDAB 者血浆高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、VLDLC 和甘油三酯与载脂蛋白 B₁₀₀ 者相似。也就是说, FDAB 患者血浆 HDLC 水平一般正常, 而 FHC 者却有 HDLC 水平轻度下降^[16]。FDAB 患者的血浆 HDLC、VLDLC 和甘油三酯水平正常, 支持其体内富含甘油三酯的脂蛋白代谢是正常的^[26]。但也有人观察到, 与另一家庭中的非 FDAB 者相比较, FDAB 患者的血浆甘油三酯水平较高, 而 HDLC 水平较低^[27]。由于血浆甘油三酯主要是位于 VLDL 和 VLDL 残粒中, 这种发现提示 FDAB 者体内 VLDL 和 VLDL 残粒的分解代谢速率低下。但是, 尚无有关的代谢研究支持这种假设。

根据人体血浆脂蛋白代谢的理论, 一般认为 FDAB 所引起的血浆胆固醇水平升高的幅度应低于 FHC 患者。也就是说, 与 FHC 相比较, FDAB 多引起中等度高胆固醇血症, 而较少伴有重度高胆固醇血症。这是因为 FDAB 者体内 LDL 受体是正常的, VLDL 和中等密度脂蛋白 (intermediate density lipoprotein, IDL) 颗粒可经载脂蛋白 E 与 LDL 受体结合而进行正常的代谢。体外试验亦证实 FDAB 者的 VLDL 和 IDL 与受体结合代谢是正常的。所以, FDAB 者血浆中 LDL 前体和 LDL 本身的浓度则可能会低于因 LDL 受体缺陷所致 FHC 者。人体内 20% LDL 是经由非 LDL 受体依赖的途径进行代谢, 估计 FDAB 者体内两种 LDL 颗粒 (正常和异常的 LDL 颗粒) 经由该途径的代谢是相同

的。然而, 这两种 LDL 颗粒经由 LDL 受体的代谢速率则不相同。正常 LDL 颗粒 (其中的载脂蛋白 B₁₀₀ 3500 位含精氨酸) 经由 LDL 受体代谢的速率正常, 而异常 LDL 颗粒 (其中的载脂蛋白 B₁₀₀ 3500 位含谷酰胺) 则代谢缓慢, 因而引起血浆胆固醇水平升高。

一般认为, 人群中个体间的血脂差异是诸多遗传和环境因素相互作用的结果。FDAB 者的血脂改变也同样会受遗传和环境因素的影响。但是, 目前有关这方面的研究资料不多。在健康人群中, 载脂蛋白 E 多态性对血脂代谢有明显的影响。同样, 载脂蛋白 E 多态性亦影响 FHC 个体间的血脂水平差异。但是, 对于载脂蛋白 B₁₀₀ (Arg₃₅₀₀→Glu) 突变携带者, 载脂蛋白 E 多态性并未见影响个体间血浆胆固醇水平的差异^[28], 与此观察相反, 有人发现载脂蛋白 E 多态性对于 FDAB 个体间的血浆胆固醇水平有较明显的影响^[2]。不过, 与正常人群中载脂蛋白 E 的影响相反, 在 FDAB 个体间, E_{3,4} 者血浆胆固醇水平最低, 而 E_{3,2} 者则血浆胆固醇水平最高^[27]。在正常情况下, 因含 E₂ 的脂蛋白分解代谢增加, 引起肝脏 LDL 受体下调, 继而肝脏摄取 LDL 减少, 而使血浆胆固醇水平上升。而在 FDAB 者, 这种生理性调节基础由于 LDL 与 LDL 受体结合障碍而被削弱或不存在, 这可解释 E₂ 携带 FDAB 者, 血浆胆固醇水平低于 E₃ 携带者。载脂蛋白 E₂ 携带者患有 FDAB, 由于载脂蛋白 E₂ 和 B₁₀₀ 均与 LDL 受体结合障碍, 而引起血浆胆固醇水平高于 E₃ FDAB 者。此外, 还发现 E₂ FDAB 者的 LDL 中胆固醇与载脂蛋白的比例高于 E₃ FDAB。

虽然, 男女 FDAB 者在儿童或青少年时期, LDLC 水平已有明显升高, 但随着年龄的增长, 血浆 TC 和

LDLC 会继续升高。不过这种胆固醇升高的年龄效应在 FDAB 者中存在男女性别差异。男性 FDAB 者在 60 岁以后, 年龄效应变弱^[16]。产生这种胆固醇升高年龄效应性别差异的机理尚不清楚。至于其他因素如肥胖、高血压、吸烟、糖尿病和脂蛋白 (lipoprotein A, LpA) 表型等是否与载脂蛋白 B₁₀₀ (Arg₃₅₀₀→Glu) 突变有相互作用, 尚无报道。由于 FDAB 者 LDL 受体正常, LpA 的表型似乎不可能与载脂蛋白 B₁₀₀ (Arg₃₅₀₀→Glu) 突变有相互作用。

FDAB 者易患冠心病的危险性与 FHC 者相类似。60 岁以前发生冠心病者大约占三分之一。肌腱黄色瘤发现率为 38%, 脂质角膜弓 28%, 颈动脉粥样硬化斑块 48%。大多数 FDAB 者若伴周围血管疾病则常合并有高血压^[29]。

6 FDAB 的治疗

从理论上说, 上调肝脏 LDL 受体表达的药物如三羟三甲戊酸—辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂和胆酸螯合剂对于治疗 FDAB 所致的高胆固醇血症应有良好的效果。FDAB 携带者体内 LDL 受体功能正常, LDL 受体表达上调可促进 VLDL 和 IDL 的清除, 从而使 LDL 的前体减少。同样, LDL 受体的活性增加也促进正常 LDL 颗粒 (其中载脂蛋白 B₁₀₀ 3500 位含精氨酸) 清除。此外, HMG-CoA 还原酶抑制剂可通过直接抑制 VLDL 合成而减少 LDL 的产生。初步临床观察证实这类药物对 FDAB 者具有良好的降脂效果^[30]。每日服用洛氏停 (lovastatin) 20 mg, 可使 FDB 患者的 LDLC 浓度平均降低 20% (10%~33%), 而每日服用 40 mg 则可使 LDLC 浓度平均降低 32% (19%~42%)^[31]。另一组报道每日服用塞氏停 (simvastatin) 20 mg, 使 LDLC 浓度降低 19%~34%。但最早报道应用塞氏停治疗 FDAB 的效果却不令人满意, 仅使 TC 和 LDLC 浓度分别降低 12% 和 16%^[32]。亦有报道消胆胺可使 FDAB 者 LDLC 浓度降低 14%~44%^[31]。塞氏停和消胆胺联合应用, 则可使 LDLC 浓度下降 > 50%^[33]。FDAB 患者如同其他类型高脂血症者一样, 对各种药物治疗的反应性亦存在个体差异^[33]。

参考文献

- Vega GL, Grundy SM. In vivo evidence for reduced binding of low density lipoproteins to receptors as a cause of primary moderate hypercholesterolemia. *J Clin Invest*. 1986; 78:1410~1414.
- Innerarity TL, Weisgraber KH, Arnold KS, et al. Familial defective apolipoprotein B₁₀₀: low density lipoproteins with abnormal receptor binding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84:6919~6923.
- Chen S, Yang CY, Chen FF, et al. The complete cDNA and amino acid sequence of human apolipoprotein B₁₀₀. *J Biol Chem*, 1986, 261:12918~12921.
- Knott JJ, Pease RJ, Powe LM, et al. Completed protein sequence and identification of structure domains of human apolipoprotein B. *Nature*, 1986, 323:734~738.
- Low SW, Great SM, Higucki, et al. Human liver apolipoprotein B₁₀₀ cDNA: Complete nucleic acid and derived amino acid sequence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83:8142~8146.
- Huang LS, Miller DA, Bruns GAP, et al. Mapping of the human ApoB gene to chromosome 2p and demonstration of a two-allele restriction fragment length polymorphism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83:644~648.
- Blackhart BD, Ludwig EH, Pierotti VR, et al. Structure of the human apolipoprotein B gene. *J Biol Chem*, 1986, 261:15364~15367.
- Innerarity TL, Mahley RW, Weisgraber KH, et al. Familial defective apolipoprotein B₁₀₀: A mutation of apolipoprotein B that cause hypercholesterolemia. *J Lipid Res*, 1990, 31:1337~1349.
- Milne R, Theelis R, Maurice R, et al. The use of monoclonal antibodies to localize the low density lipoprotein receptor-binding domain of apolipoprotein B. *J Biol Chem*, 1989, 264:19754~19760.
- Weisgraber KH, Innerarity TL, Newhouse YM, et al. Familial defective apolipoprotein B₁₀₀: enhanced binding of monoclonal antibody MB47 to abnormal low density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85:9758~9762.
- Sozia LF, Ludwig EH, Clarke HRG, et al. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective B₁₀₀. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86:587~591.
- Haliassos A, Chomel JC, Grandjouan S, et al. Detection of minority point mutations by modified PCR technique: a new approach for a sensitive diagnosis of tumor progression markers. *Nucleic Acids Res*, 1989, 17:8093~8098.
- Hansen PS, Rudiger N, Tybjarg-Hansen A, et al. Detection of the apoB3500 mutation (glutamine for arginine) by gene amplification and cleavage with MspI. *J Lipid Res*, 1991, 32:1229~1235.
- Schuster H, Rauh G, Muller S, et al. Allele-specific and asymmetric PCR amplification in combination: A one step

- PCR protocol for rapid diagnosis of familial defective apolipoprotein B₁₀₀. *Anal Biochem*, 1992, **204**:22~30.
- 15 Gille C, Grade K, Coutelle C. A pooling strategy for heterozygote screening of the F508 cystic fibrosis mutation. *Hum Genet*, 1991, **86**:289~295.
- 16 Tybjarg-Hansen A, Humphries SE. Familial defective apolipoprotein B₁₀₀: a single mutation that causes hypercholesterolemia and premature coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 1992, **96**:91~107.
- 17 Innerarity TL, Balestra ME, Arnold KS, et al. Isolation of defective receptor-binding low-density lipoprotein from subjects with familial defective apolipoprotein B-100. *Arteriosclerosis*, 1988, **8**:551a.
- 18 Lund-Katz S, Innerarity TL, Arnold KS, et al. ¹³C NMR evidence that substitution of glutamine for arginine 3500 in familial defective apolipoprotein B-100 disrupts the conformation of the receptor-binding domain. *J Biol Chem*, 1991, **266**:2 701~2 709.
- 19 Series JJ, Gaffney D, Packard CJ, et al. Frequency of the XBaI, EcoRI, Pvu II and MSPI polymorphisms of the apolipoprotein B gene in relation to hypercholesterolemia in the general population. *Clin Chim Acta*, 1993, **215**:89~98.
- 20 Bersot TP, Russell ST, Thatcher SR, et al. A unique haplotype of the apolipoprotein B-100 allele associated with familial defective apolipoprotein B-100 in a Chinese man discovered during a study of the prevalence of this disorder. *J Lipid Res*, 1993, **34**:1 149~1 154.
- 21 Tybjarg-Hansen A, Gallagher J, Vincent J, et al. Familial defective apolipoprotein B-100; detection in the United Kingdom and Scandinavia, and clinical characteristics of ten cases. *Atherosclerosis*, 1990, **80**:235~244.
- 22 Schuster H, Rauh G, Kormann B, et al. Familial defective apolipoprotein B-100; Comparison with familial hypercholesterolemia in 18 cases detected in Munich. *Arteriosclerosis*, 1990, **10**:577~584.
- 23 Talmud P, Tybjarg-Hansen A, Bhatnager D, et al. Rapid screening for specific mutations in patients with a clinical diagnosis of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*, 1991, **89**:137~141.
- 24 Corsini A, McCarthy BJ, Granata A, et al. Familial defective apoB-100, Characterization of an Italian family. *Eur J Clin Invest*, 1991, **21**:389~396.
- 25 Hosking JL, Bais R, Road PD, et al. Hypercholesterolemia due to familial defective apolipoprotein B-100 in two Australian families. *Med J Austr*, 1991, **155**:572~579.
- 26 Maher VMG, Gallagher JJ, Mayant NB, et al. The binding of very-low-density lipoprotein remnants to the low-density lipoprotein receptor in familial defective apolipoprotein B-100. *Arterioscler Thromb*, 1993, **102**:51~59.
- 27 Hanson PS, Meinertz H, Jensen HK, et al. Characteristics of 46 heterozygous carriers and 57 unaffected relatives in five Danish families with familial defective apolipoprotein B-100. *Arterioscler Thromb*, 1994, **14**:207~213.
- 28 Myant NB, Gallagher JJ, Knight BL, et al. Clinical signs of familial hypercholesterolemia in patients with familial defective apolipoprotein B-100 and normal low-density lipoprotein receptor function. *Arterioscler Thromb*, 1991, **11**:691~705.
- 29 Rauh G, Keller C, Kormann B, et al. Familial defective apolipoprotein B100; clinical characteristics of 54 cases. *Atherosclerosis*, 1992, **92**:233~240.
- 30 Maher VMG, Gallagher JJ, Thompson GR, et al. Response to cholesterol-lowering drugs in familial defective apolipoprotein B-100. *Atherosclerosis*, 1991, **91**:73~81.
- 31 Illingworth DR, Vakar F, Mahley RW, et al. Hypocholesterolemic effects of lovastatin in familial defective apolipoprotein B-100. *Lancet*, 1992, **339**:598~602.
- 32 Corsini A, Mazzotti M, Fumagalli R, et al. Poor response to simvastatin in familial defective apoB₁₀₀. *Lancet*, 1991, **337**:305~307.
- 33 Myant NB. Familial defective apolipoprotein B-100: a review, including some comparisons with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, 1993, **104**:1~18.