

载脂蛋白 C II 缺乏症的基因突变

薛涛 胡维诚^①

(青岛市黄岛区人民医院, 青岛 266500)

摘要 迄今进行基因测序的载脂蛋白 C II 缺乏症共有 11 个家系, 有 4 个家系为意大利裔, 其中 3 个位西西里岛, 而又有 2 个家庭住在同一个村庄。突变多发生在第 3 和第 4 外显子, 在 11 个家系中有 6 个突变发生在第 3 外显子, 对突变类型分析发现无义突变有 5 例, 移码突变有 3 例, 启动信号, 剪接供体位点和误义突变各有一例。

关键词 载脂蛋白 C II 缺乏症; 基因突变

载脂蛋白 C II (apolipoprotein C II) 是一个有 79 个氨基酸的单链蛋白质, 其生理作用为甘油三酯代谢的限速酶—脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, LPL) 的辅因子 (激活物)。在载脂蛋白 C II 存在条件下, LPL 才能水解乳糜微粒和极低密度脂蛋白颗粒中的甘油三酯。载脂蛋白 C II 中 1~52 氨基酸残基形成脂质结合部分, 54~79 氨基酸残基为结合和激活 LPL 部分。

1984 年首次分离和测定了人载脂蛋白 C II 的 cDNA, 并确定基因位于 19 染色体^[1]。1987 年获得完整的核酸序列, 共有 3 840 个核苷酸, 4 个外显子和 3 个内含子^[2]。

载脂蛋白 C II 缺乏症首例报道在 1978 年^[3], 先证者 (59 岁, 男性) 1976 年去加拿大多伦多 St. Michaels 医院就诊。患者小时家住加勒比地区 (Caribbean) 一个孤立的小岛, 食物中含脂质很少, 18 岁开始成为商船水手, 食物中含脂质增多, 此后多次发生急性胰腺炎, 血浆甘油三酯浓度高达 10.70 mmol/L, 但胆固醇浓度正常。先证者出生于近亲结婚的家庭。该病临床表现和 LPL 缺乏症相同, 包括空腹乳糜微粒血症、疹性黄疸、视网膜脂血症、肝脾大和反复发作的急性胰腺炎, 对家系六代人分析证明该病是一种常染色体隐性遗传性疾病^[4]。截止于 1994 年, 共有 11 个家系载脂蛋白 C II 缺乏症纯合子基因突变的报告, 都以发现者所在地命名这些突变。

1 突变类型及病例

1.1 移码突变 (frame shift mutation)

1988 年报告了对首例载脂蛋白 C II 缺乏症患者^[5]的基因分析结果, 并命名其为载脂蛋白 C II-Toronto^[5]。载脂蛋白 C II-Toronto 基因中第 68 个氨基酸密码 ACT (苏氨酸) 中的胸腺嘧啶核苷 (thymidine, T) 缺失, 这一移码突变未改变该位的苏氨酸, 但改变了以后的 6 个氨基酸, 使第 75 位氨基酸密码变为终止信号, 形成了只有 74 个氨基酸的载脂蛋白 C II 蛋白质, 而使其丧失了激活 LPL 的功能。

1987 年加拿大报告的载脂蛋白 C II-St. Michael^[6]先证者是一个 58 岁的盎格鲁-撒克逊裔白人妇女, 于 1984 年去多伦多 St. Michaels 医院就诊, 患者 10 年前发现有高脂血症, 并常有上腹疼, 确诊为载脂蛋白 C II 缺乏症。蛋白质分析发现在第 70 位正常的谷酰胺变为脯氨酸, 使载脂蛋白 C II 从正常的羧基末端延长了 17 个氨基酸残基, 形成了 96 个氨基酸的蛋白质, 载脂蛋白 C II 因此失去功能, 超声检查发现颈内动脉狭窄 50%~60%, 先证者的父母系亲表兄妹, 其 61 岁的哥哥亦是载脂蛋白 C II 缺乏症的纯合子, 冠状动脉造影证明有狭窄。

1992 年报告了基因测序结果, 在第 70 个氨基酸密码的第 2 个碱基前插入了一个胞嘧啶核苷 (cytidin, C), 使这一移码突变得到了证实, 另外发现这兄妹俩都是载脂蛋白 E4 的纯合子^[7]。

1981 年报告了一个荷兰家系同胞兄妹 9 人有 4 例载脂蛋白 C II 缺乏症纯合子, 命名为载脂蛋白 C II-Nijmegen^[8]。1988 年报告 DNA 测序结果, 在第三外显子 2 943 位鸟嘌呤核苷 (guanosine, G) 缺失, 这一移码突变在原成熟载脂蛋白 C II 第 17 位氨基酸后形成了一个终止密码 (TGA), 从而失去了载脂蛋白 C II 的功能^[9]。

1.2 无义变异 (nonsense mutation)

1986 年报道的载脂蛋白 C II-Padova 变异是意大利一个家庭的两兄妹, 兄 41 岁, 妹 39 岁, 家住西西里岛一个叫 Siculiana 的小村庄, 其父母为亲表兄妹。患者

① 山东医科大学病理生理学教研室, 济南 250012

载脂蛋白 CⅡ 浓度分别为 1.3 mg/L 和 1.2 mg/L, 空腹血浆甘油三酯显著增高, 表现 I 型高脂蛋白血症, 有反复发作的急性胰腺炎、疹性黄疸和肝脾肿大等临床表现, 静脉注入正常血浆或人工合成的载脂蛋白 CⅡ 多肽, 在 12 h 内甘油三酯浓度降至 5.65~11.29 mmol/L, 然后在 4 天后逐渐回升, 至 12 天恢复原浓度^[10], 1989 年报道其载脂蛋白 CⅡ 基因第三外显子 3 002 位 C 转换为腺嘌呤核苷(adenosine, A), 使原 37 位酪氨酸密码 TAC 变为 TAA(终止密码)^[11]。

1994 年再次报道载脂蛋白 CⅡ-Padova 又是发生在意大利西西里岛的一个家庭, 该男性病人从 24 岁开始出现典型症状, 空腹血清甘油三酯高达 39.16 mmol/L, 表现 V 型高脂蛋白血症, 反复发作急性胰腺炎, 肝脾大以至脾脏被切除, 测不出 LPL 的活性而肝脂酶活性正常, 但输入正常人血浆后, 患者 LPL 活性在正常范围, 患者父母系亲表兄妹, 双方家庭都住在西西里岛一个小村庄内, 该村庄近 150 年没有移民, 基因测序显示患者为纯合子。DNA 测序发现载脂蛋白 CⅡ 基因第 3 002 位 C 变异为 A, 使第 37 位酪氨酸密码 TAC 变为 TAA(终止信号)^[12]。这一无义突变使患者载脂蛋白 CⅡ 活性部位丧失, 这是有相同变异的第二个意大利家庭, 而这两个家庭都是西西里血统。

1980 年和 1983 年两次报道一个意大利女孩, 从 2 岁时因腹泻发现甘油三酯在 10 mmol/L 以上, 经多种电泳测不到载脂蛋白 CⅡ, 至 1990 年发现第三外显子第 3 002 位 C 转换为 G, 使原酪氨酸密码 TAC 变成一个终止密码 TAG, 使载脂蛋白 CⅡ 只有 36 个氨基酸, 命名为载脂蛋白 CⅡ-Bari^[13~15]。

至 1994 年, 又报道一例意大利西西里地区 5 岁男孩, 也是住在西西里岛的 Siculiana 村, 表现 I 型高脂蛋白血症和载脂蛋白 CⅡ 缺乏, 又同样是在第三外显子 3 002 位 C 颠换为 A, 形成一个终止密码^[16]。

1992 年法国报告第二例载脂蛋白 CⅡ 缺乏症, 命名为载脂蛋白 CⅡ-Paris2, 患者是一个 12 岁的巴黎小女孩, 从四个月时出现腹胀和呕吐, 住院发现甘油三酯 13.10 mmol/L, 进而确诊为载脂蛋白 CⅡ 缺乏症, DNA 测序发现在第二外显子 2 668 位 C 转换为 T, 使原来第 9 位精氨酸密码 CGA 变成终止信号 TGA^[17]。

1.3 起动信号突变(initiation codon mutation)

1989 年^[18]报告的载脂蛋白 CⅡ-Paris 先证者是一个来自塞内加尔的 27 岁黑人妇女, 居住在巴黎, 因怀孕常规检查发现血浆甘油三酯浓度增高, 进而发现载脂蛋白 CⅡ 缺乏, 基因突变发生在起动信号 AUG, 因为 A 转换为 G(GUC), 而不能转录成载脂蛋白 CⅡ

mRNA。

1.4 剪接供体位点突变(donor splice site mutation)

1988 年^[19]报告的载脂蛋白 CⅡ-Hamburg 先证者是一个移居西德国 15 年的 30 岁土耳其裔妇女, 其父母系亲表兄妹, 再上一代也是近亲结婚, 患者这一代有三个载脂蛋白 CⅡ 缺乏症纯合子病人。先证者从 4 岁开始有反复上腹疼史, 在 12 岁住院时发现胰腺炎和高甘油三酯血症, 患者在输入载脂蛋白 CⅡ 后, LPL 活性恢复到正常范围, 经原位基因杂交等方法发现载脂蛋白 CⅡ-Hamburg mRNA 分子大小正常, 但表达水平较低, 基因测序发现在第二内含子高度保守的 5'剪接位点(GT)的 G 被 C 取代。这一剪接供体位点突变, 影响了载脂蛋白 CⅡ mRNA 的成熟过程, 最终使该病人载脂蛋白 CⅡ 缺乏。

1.5 误义突变(missense mutation)

1993 年^[20]日本报道的载脂蛋白 CⅡ-Wakayama 是亚洲第一例, 先证者为 36 岁男性, 其父母为亲表兄妹, 患者这一代兄妹九人检出四个纯合子。DNA 测序发现其载脂蛋白 CⅡ 基因第三外显子中 2 967 位碱基 T 颠换为 C, 使第 26 位色氨酸变异为精氨酸, 该作者亦检查了第一外显子上游 5'-末端的 DNA 序列, 发现在-101 位碱基 C 转换为 T, 在-86 位 T 颠换为 C。为决定这二个突变是否影响载脂蛋白 CⅡ 启动子效率, 作者联上一个氯霉素乙酰基转移酶报告基因, 经细胞转染证明该酶活性有所降低。这也是全世界首例对载脂蛋白 CⅡ 基因进行调节变异(regulatory mutation)的研究。

2 载脂蛋白 CⅡ 缺乏症基因突变的特点

2.1 均为单一一位点突变

在发现的 11 个家系的基因突变均为单一一位点突变, 没有大片的插入或缺失, 特定的位点突变造成了或取消了特定的酶切位点, 这就有利于家系研究和筛选病例。

2.2 无义突变形式为主

在这 11 个家系中无义突变这种形式的突变占了 5 个, 意大利裔的 4 个家系均为无义突变, 而又发生在同一个基因位点(3 002), 其中 3 个家庭的 4 例患者有西西里血统, 且碱基变异都完全相同(C→A), 值得注意的是在西西里岛的一个小村庄有二个家庭患者有相同的罕见遗传性疾病, 甚至基因突变的位值和突变形式都完全相同, 提示这两个家庭有共同的祖先。

2.3 突变多在第三、四外显子

11 个家系中有 6 个突变发生在第三外显子, 其中

无义突变占 4 个,有 2 个突变发生在第四外显子,均为移码突变。

2.4 该病和动脉粥样硬化性心脏病发病无关

在这 11 个家系中只有一个家系的二个 60 岁左右的纯合子病人患有明显的动脉粥样硬化性心脏病。

本文对迄今为止全世界发现的 11 例载脂蛋白 CⅡ缺乏症纯合子基因突变进行了分析。因为例数太少,这些认识只能是初步的。

参考文献

- 1 Jackson CL, Bruns GAP, Breslow JL. Isolation and sequence of a human apolipoprotein CII cDNA clone and its use to isolate and map to human chromosome 19 the gene for apolipoprotein CⅡ. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, **81**: 2 945~949.
- 2 Fojo SS, Law SW, Brewer HB. The human pre-apolipoprotein CⅡ gene complete nucleic acid sequence and genomic organization. *FEBS Letters*, 1987, **213**(1): 221~226.
- 3 Breckenridge WC, Little JA, Steiner G, et al. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein CⅡ. *N Engl J Med*, 1978, **298**: 1 265~273.
- 4 Cow DW, Breckenridge WC, Little JA. Inheritance of apolipoprotein CⅡ deficiency with hypertriglyceridemia and pancreatitis. *N Engl J Med*, 1978, **229**: 1 421~442.
- 5 Cox DW, Wills DE, Quan F, et al. A deletion of one nucleotide results in functional deficiency of apolipoprotein CⅡ (apo CⅡ-Toronto). *J Med Gene*, 1988, **25**: 649~652.
- 6 Connelly PW, Maguire GF, Little AJ. Apolipoprotein CⅡ-St Michael, Familial apolipoprotein CⅡ deficiency associated with premature vascular disease. *J Clin Invest*, 1987, **80**: 1 597~606.
- 7 Hegele RA, Tu L, Maguire GF, et al. Molecular basis and allele specific screening of apolipoprotein CⅡ-St Michael. *Clin Biochem*, 1992, **25**: 309~312.
- 8 Stalenhoef AFH, Casparie AF, Demacker PNM, et al. Combined deficiency of apolipoprotein CⅡ and lipoprotein lipase in familial hyperchylomicronemia. *Metabolism*, 1981, **39**: 919~926.
- 9 Fojo SS, Stalenhoef AFH, Marr K, et al. A deletion mutation in the apo CⅡ gene (apo CⅡ-Nijmegen) of a patient with a deficiency of apolipoprotein CⅡ. *J Biol Chem*, 1988, **263**: 17 913~916.
- 10 Baggio G, Manzato C, Gabell R, et al. Apolipoprotein CⅡ deficiency syndrome clinical features, lipoprotein characterization, lipase activity and correction of hypertriglyceridemia after apolipoprotein CⅡ administration in two affected patients. *J Clin Invest*, 1986, **77**: 520~527.
- 11 Fojo SS, Lohse P, Parroc C, et al. A nonsense mutation of the apo CⅡ-Padova gene in a patient with apolipoprotein CⅡ deficiency. *J Clin Invest*, 1989, **84**: 1 215~219.
- 12 Tuzgol S, Bijvoet SM, Bruin T, et al. Apolipoprotein CⅡ-Padova (Tyr37-stop) as a cause of chylomicronaemia in an Italian kindred from Siciliana. *J Med Genet*, 1994, **31**: 622~626.
- 13 Capurso A, Pace L, Bonomo L, et al. New case of apoprotein CⅡ deficiency. *Lancet*, 1980, **1**: 268.
- 14 Catapano AL, Mills GL, Roma P, et al. Plasma lipids lipoproteins in a case of apo CⅡ deficiency. *Clin Chim Acta*, 1983, **130**: 317~327.
- 15 Creechchio C, Capurso A, Pepe G. Identification of the mutation responsible for a case of plasmatic apolipoprotein CⅡ deficiency. *Biochem Biophys Res Com*, 1990, **168**: 1 118~127.
- 16 Zanelli T, Catapano AL, Averna MR, et al. A new case of apo CⅡ deficiency with a nonsense mutation in the apo CⅡ gene. *Clin Chim Acta*, 1994, **224**: 111~118.
- 17 Parrote CL, Alsayed N, Rebouret R, et al. Apo CⅡ-Paris2: a premature termination mutation in the signal peptide of apo CⅡ resulting in the familial chylomicronemia syndrome. *J Lipid Res*, 1992, **33**: 361~367.
- 18 Fojo SS, Gennes J, Chapman J, et al. An initiation codon mutation in the Apo CⅡ gene (Apo CⅡ-Paris) of a patient with a deficiency of apolipoprotein CⅡ deficiency. *J Biol Chem*, 1989, **264**(25): 20 839~842.
- 19 Fojo SS, Beisiegel U, Beil U, et al. Donor splice site mutation in the apolipoprotein (apo)CⅡ gene (Apo CⅡ-hamburg) of a patient with apo CⅡ deficiency. *J Clin Invest*, 1988, **82**: 1 489~494.
- 20 Inadera H, Hibino A, Kobayashi J, et al. A missense mutation (Trp26-Arg) in exon 3 of the apolipoprotein CⅡ gene in a patient with apolipoprotein CⅡ deficiency (apo CⅡ-wakayama). *Biochem Biophys Res Com*, 1993, **193**: 1 174~181.

(1996-06-29 收到, 1996-09-03 修回)