

家族性高胆固醇血症患者新的致病基因——PCSK9 基因突变分析

蔺洁^{1,2}, 王绿娅¹, 夏军辉², 张筠婷^{1,2}

(1.首都医科大学附属北京安贞医院 北京市心肺血管疾病研究所, 北京市 100029;

2.南华大学医学院心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 高胆固醇血症; 低密度脂蛋白受体; PCSK9 基因; 基因突变

家族性高胆固醇血症(FH)是一种严重的常染色体单基因显性遗传性疾病,血浆胆固醇大幅增高、皮肤黄色瘤和早发冠心病为其典型临床特征。FH的主要病理基础是低密度脂蛋白受体(LDLR)基因突变。新近发现FH具有遗传异质性,多种基因的变异均可导致FH样临床表型。本研究对一临床诊断为FH但未检测到LDLR和载脂蛋白B基因突变的先证者进行枯草溶菌素转化酶9(PCSK9)基因突变分析,以发现新的致病基因突变。

1 对象与方法

1.1 研究对象

先证者,女,14岁,因皮肤结节性肿胀10年来我院就诊。收集先证者及其父母空腹12h外周血4mL,2mL用于血脂测定,另外2mL用于提取基因组DNA。

1.2 血脂测定

用常规试剂盒测定血浆总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、载脂蛋白AI和载脂蛋白B,低密度脂蛋白胆固醇(LDL)按Friedewald公式计算。

1.3 低密度脂蛋白受体功能检测

采用流式细胞术检测细胞摄取结合及内吞荧光标记的低密度脂蛋白(LDL)水平。

1.4 载脂蛋白B100和低密度脂蛋白受体基因突变分析

DNA序列分析载脂蛋白B100基因Q3500R位点及LDLR基因突变。

1.5 PCSK9 基因突变检测

扩增PCSK9基因12个外显子,经SSCP分析,发现异常条带经PCR产物直接测序公司。并经100例血脂正常对照SSCP测定分析异常条带发生频率,>1%为多态性,<1%为突变。

2 结果

[基金项目] 国家自然科学基金(30470722)、北京市自然科学基金(7042021,7052010)和北京市科技新星计划项目(2004B27,2005A29)联合资助

2.1 血脂水平

先证者给予辛托伐他汀治疗两年后血浆TC为14.9mmol/L,TG为1.0mmol/L,HDL为1.89mmol/L,LDL为12.6mmol/L;其父血浆TC为6.1mmol/L,LDL为3.2mmol/L。

2.2 低密度脂蛋白受体功能变化

先证者淋巴细胞摄取结合及内吞荧光标记的LDL能力分别为正常者的73.6%和54.8%。

2.3 低密度脂蛋白受体和载脂蛋白B 3500 位点检测情况

LDLR基因启动子18个外显子均未发现点突变。

2.4 PCSK9 基因突变检测情况

PCSK9基因第918位核苷酸存在G→T错义突变,导致第6外显子第306位精氨酸被丝氨酸取代(R306S)。

2.5 PCSK9 基因突变位点致病性分析

第6外显子片段经100例血脂正常者SSCP分析,异常条带发生频率为0,可认为是致病性突变。

3 讨论

本研究结果发现,先证者淋巴细胞结合及内吞荧光标记LDL水平与明显下降,提示先证者淋巴细胞对LDL的结合及内吞活性降低。

目前在临床确诊FH但经基因检测排除LDLR基因突变的患者中,已经分别检测到载脂蛋白B100、PCSK9等基因突变。人类PCSK9基因定位于染色体1p32,存在多种序列变异,这些变异可导致个体不同的表型,且与多种生理及病理生理过程有关。野生型PCSK9具有减少LDLR蛋白的功能,而一些突变导致此功能增强。本研究发现PCSK9基因R306S错义突变可能引发PCSK9功能增强,进而导致患儿LDLR代谢异常并出现心血管系统早发动脉硬化。R306S突变在患者中出现而正常对照中未发现,提示该突变为致病性突变。

本研究认为该先证者为PCSK9基因突变引起的显性遗传性高胆固醇血症,这是我国首次报道PCSK9基因突变。这将有助于了解我国FH患者的病因和发病机制,对于深入了解LDLR代谢的机制和寻求新的治疗手段有重要意义。

(此文编辑 文玉珊)