

家族性高胆固醇血症姐妹二人基因突变分析

张筠婷^{1,2}, 王绿娅¹, 潘晓冬¹

(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; 基因突变; 低密度脂蛋白受体; 载脂蛋白 B

家族性高胆固醇血症(familial hypercholesterolemia, FH)是一种较为常见的常染色体显性遗传病,其主要特点为血浆胆固醇水平极度增高,多部位皮肤肌腱黄色瘤和过早发生冠心病,严重者青少年时期发生心肌梗死甚至死亡。本研究对临床确诊为纯合型家族性高胆固醇血症两姐妹进行聚合酶链反应-单链构象多态性(PCR-SSCP)结合银染技术、核苷酸序列分析低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)基因致病突变,以期探讨其分子病理机制。

1 对象与方法

1.1 研究对象

先证者系女性,自13岁起肘关节出现蚕豆大小黄色瘤,并逐渐累及脚后跟等易受摩擦的皮肤,其同胞妹妹也出现相似体征。收集先证者及其妹妹、父母、女儿的空腹12 h外周血3 mL,离心后分离血浆用于血脂测定,白细胞用于提取染色体DNA。

1.2 血脂测定

常规方法测定血浆总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、载脂蛋白AI和载脂蛋白B。

1.3 载脂蛋白B基因3500位点突变的检测

采用巢式PCR结合MspI酶切分析。

1.4 低密度脂蛋白受体基因突变分析

聚合酶链反应(PCR)扩增LDLR基因包含部分内含子内的全部外显子序列,共21个片段。对异常条带进行聚合酶链反应-单链构象多态性结合银染技术分析。

1.5 核苷酸序列分析

在单链构象多态性分析中发现有差异的PCR

片段送测序公司直接测序。

2 结果

2.1 血脂水平

先证者和其胞妹的TC>7.8 mmol/L,且出现腱黄瘤,临床诊断为家族性高胆固醇血症。

2.2 载脂蛋白B100基因3500位点的变化

先证者及父母、胞妹、女儿均未见突变,可排除载脂蛋白B100基因与LDLR结合部位的缺陷造成的高胆固醇血症。

2.3 核苷酸单链构象多态性分析及测序情况

先证者及其父亲、妹妹均发现LDLR基因第13外显子存在一个错义突变,与GeneBank对照证实第1879位G→A碱基置换,氨基酸的改变为丙氨酸→苏氨酸(A606T突变),其母亲和女儿经测序未发现突变。

3 讨论

本研究结果发现先证者及其妹妹LDLR基因第13外显子第1879位存在G→A碱基置换,A606T突变即LDLR第606位一个疏水氨基酸(丙氨酸)被一个亲水苏氨酸替换,此突变发生在LDLR基因的表皮生长因子前体同源结构域,其父亲也发现同样突变,故推测姐妹二人的杂合错义突变可能来自其父亲。早在1994年Sun曾报道我国患者存在A606T突变,美国、台湾相继也有报道。由于第7~14外显子编码LDLR蛋白的表皮生长因子前体结构域,对于该受体转位、循环利用、在膜性结构的定位等都具有重要作用,因此推测对肝细胞内吞LDL的功能影响较大。Sun采用体外诱变的方法观察A606T突变在COS细胞的表达,发现异常的LDLR在COS细胞内堆积,推测A606T使LDLR发生循环缺陷。推测该家系A606T杂合错义突变可能是通过影响LDLR的内吞功能,进而导致高胆固醇血症。

(此文编辑 文玉珊)