

家族性高胆固醇血症样表型的临床特点及基因诊断

王绿娅¹, 许瑛杰¹, 陈保生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. 中国医学科学院中国协和医科大学医学分子生物学国家重点实验室, 北京市 100005)

[关键词] 内科学; 动脉粥样硬化/发病机制, 家族性高胆固醇血症; 低密度脂蛋白受体; 基因突变

[摘要] 家族性高胆固醇血症对人类健康危害极大已经受到世界各国的重视, 并开展大量研究, 但该病在我国并未得到应有的重视。因此, 正确认识 FH 患者的临床特点, 及早将他们鉴别出来, 深入研究这类人群的遗传背景, 有助于了解其分子病理机制, 对于 As 疾病的防治有重要意义。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

家族性高胆固醇血症(familial hypercholesterolemia, FH)是一种最为常见且最为严重的常染色体单基因显性遗传性疾病, 也是最早被明确其临床和基因特征的脂代谢紊乱疾病^[1]。临床分为纯合子和杂合子两种类型, 纯合子 FH 发病率为百万分之一, 患者血浆低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)大幅度增高, 多部位肌腱黄色瘤和早发动脉粥样硬化(atherosclerosis, As), 严重者青少年时期可发生冠心病甚至死亡; 杂合患者发病率为 1/500, 虽然体表特征不明显, 但其 As 进展速度不容低估^[2]。FH 展示了 As 的快速进展过程, 是研究 As 的良好人类疾病模型^[3]。

1 家族性高胆固醇血症临床特点

家族性高胆固醇血症(FH)主要病理基础是低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDL-R)基因突变, 引起细胞膜表面的 LDL-R 缺如或结构功能异常, 导致肝脏对血循环 LDL 清除障碍, 血浆胆固醇浓度升高并在组织内过度沉积, 最终导致 As 等临床症状^[4]。虽然高胆固醇血症和 As 是危害 FH 患者的主要临床表现, 但促使患者就医的却是皮肤黄色瘤、关节、肌腱肿胀和膨大等, 广大医生应正确认识 FH 的主要临床特点。

1.1 常见临床表现

1.1.1 高胆固醇血症 是 FH 患者的最主要临床表现, 一般情况下, 杂合子患者血清总胆固醇为 6~12 mmol/L, 而纯合子患者体内无/或很少功能性 LDL-R, 血清总胆固醇水平较正常人高出 6~8 倍。

1.1.2 特征性黄色瘤 是该病的一个重要临床体征, 主要表现与眼睑皮肤皱褶处扁平黄色斑逐渐融合成片高出皮

肤; 肌腱结节性黄色瘤, 好发于伸肌腱及跟腱, 有些皮肤黄色瘤。纯合子者儿童期出现, 杂合子者则多在 30~60 岁出现。有观点认为腱黄色瘤与细胞内较高的脂质浓度相关, 并与较高的巨噬细胞对氧化 LDL 的炎症反应相关。

1.1.3 早发心血管疾病 杂合子型 FH 在男性杂合子 FH 患者 30~40 岁时可患冠心病。男性预期 23% 患者在 50 岁以前死于冠心病, 50% 以上的男性患者在 60 岁时已有明显的冠心病症状; 而在女性杂合子 FH 患者发生冠心病的年龄较男性晚 10 年。纯合子患者在十几岁时就会发生严重的心血管事件甚至死亡^[5]。

1.1.4 阳性家族史 目前已知, FH 遗传方式主要为常染色体显性遗传, 父母任何一方均可遗传给后代, 杂合子的父母至少 1 个是该病患者, 而纯合子的双亲必定都是 FH 患者。

1.2 新近发现的重要临床表现

1.2.1 血浆炎症因子水平增高 研究发现, 腱黄色瘤患者血浆纤维蛋白酶、肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 8 和白细胞介素 6 浓度比 FH 没有合并腱黄色瘤的患者高^[6]。炎症在 As 过程中充当极重要的角色, C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)作为炎症标志物可以解释相同 LDL-R 缺陷的 FH 患者的不同临床表现, 且同样与冠心病危险性密切相关。对 FH 患者做常规脂质检测同时测定 CRP 可显著提高危险性预测的准确性。

1.2.2 主动脉粥样硬化 是纯合子 FH 的另一个特征性重要表现。B 型超声检查常可发现主动脉根部硬化、主动脉瓣钙化和(或)左冠状动脉主干狭窄, 这种变化进展迅速, 1 年后随访钙化灶增大。电子束 CT 主动脉增强扫描显示, 升主动脉管壁不规则增厚, 主动脉管腔狭窄。主动脉瓣增厚钙化, 开放受限, 也可见二尖瓣钙化^[7]。

1.2.3 颈动脉狭窄 可在颈动脉部位闻及吹风样杂音, 是颈动脉粥样硬化的表现。近年通过 B 型超声检查颈动脉内膜-中膜厚度(intimal medial thickness, IMT)以提示 As 病变进展情况, FH 患者 IMT 比正常胆固醇水平的对照组明显增高^[8]。

1.2.4 心力衰竭 有些患者发生主动脉狭窄或者瘤样扩

[收稿日期] 2007-07-0 [修回日期] 2007-0-0

[基金项目] 国家自然科学基金(30470722、30771986 和 30772356); 北京市自然科学基金(7042021、7052010); 北京市科技新星计划项目(2004B27、2005A29)联合资助

[作者简介] 王绿娅, 研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化性疾病的发生发展机制, 联系电话 010-64456436, E-mail 为 wangluya@126.com。陈保生, 教授, 博士研究生导师, 主要从事血浆脂蛋白和载脂蛋白的结构和功能及其与动脉粥样硬化的关系研究。

张,心脏瓣膜钙化后可出现瓣膜狭窄或关闭不全的症状,瓣膜不能完全闭合时导致部分血流返流,最终导致心力衰竭。

1.2.5 脑黄瘤病 脑黄瘤病合并 FH 发病率为 1%~2%,是一种隐性遗传的脂肪代谢障碍性多系统疾病,由固醇 27-羟化酶基因缺陷引起,编码的固醇 27-羟化酶缺乏,造成胆甾醇(二氢胆固醇)在中枢、肺、血液和黄色瘤中的浓度增高,引起胆固醇在脑、胆黄色瘤等很多组织中积聚^[9]。病理主要表现为小脑齿状核周围白质有脱髓鞘病变。其临床特征是颅内出现黄色瘤、白内障、智力缺陷,小脑共济失调患者死于逐渐加重的假性球麻痹,也有伴发腹泻的表现^[10]。

1.2.6 多关节结节性肿 逐渐加重的双侧手、足和腕、踝关节的无痛性肿胀和膨大,类似于类风湿性关节炎,但无发热及疼痛,超声检查和 X 线检查均未见骨骼改变,为脂质浸润肌腱和结缔组织所致^[11]。

1.2.7 植物固醇血症 苏雁华等^[12]国内首次报道 1 例患者为三磷酸腺苷结合盒转运体 G 5(ATP binding cassette, subfamily G5, ABCG5)基因突变导致的 FH 样表型的病例,主要表现为溶血和巨大血小板,其血浆谷固醇、豆固醇和二氢胆固醇浓度明显增高而总胆固醇浓度接近正常的皮肤黄瘤患者,发现在 ABCG5 基因外显子 1 中 18 802 位碱基发生 C→T 突变,导致 22 位的谷氨酸(Q)变为终止密码子,3 例患者均为纯合子,其父母及两个亲属为杂合子。

1.2.8 节段性肾小球硬化 最近土耳其^[13]报道了一例 FH 纯合患者,该患者伴发蛋白尿和肾病综合征,病理切片已证实是节段性肾小球硬化。为首例报道的 FH 合并节段性肾小球硬化的纯合患者。

1.2.9 肺部黄色瘤 Guvener 等^[14]收治一例以呼吸困难、咳嗽和胸痛为主诉的 FH 女性患者,胸部 x 线片和 CT 在右侧胸腔发现一类似肿瘤样占位,组织病理学发现为黄色瘤,在临床上易误诊为肺部肿瘤。

2 家族性高胆固醇血症的临床诊断

对遗传代谢缺陷病进行及时筛查诊断并正确治疗,是衡量一个国家医学发展水平的重要指标。临床医生可对 FH 患者从生物化学检测、超声和影像学方面进行诊断鉴别。

2.1 血清胆固醇水平诊断

血脂升高达到以下水平者均可疑为 FH:年龄在 16 岁以下(含 16 岁),TC ≥ 6.7 mmol/L,LDL-C ≥ 4.6 mmol/L;或年龄超过 16 岁,TC ≥ 7.5 mmol/L,LDL-C ≥ 5.2 mmol/L,但 TG ≤ 2 mmol/L^[15]。纯合子患者常在儿童期出现特征性表皮黄色瘤,且首先就诊于皮肤科,而杂合子患者由于不完全符合上述诊断标准而得不到明确诊断。

2.2 跟腱高清晰度超声诊断

跟腱低回声及跟腱厚度的增加可作为 FH 腱黄瘤的定性指标,因此超声检查是一种无创性且有诊断价值并可作为随访 FH 患者的有效手段。跟腱厚度平均为 13.4 ± 5.9 mm(6~20 mm),跟腱声像图呈不均质的低回声,与腱周脂肪组织分界不清^[16]。实时空间复合超声对杂合患者的跟腱腱黄瘤厚度和低回声区域进行检查,来评估患者情况,相对高分

辨率超声它是更有效的手段^[17]。

2.3 心血管系统影像学诊断

马展鸿等^[18]对临床诊断的 FH 纯合患者进行影像学分析诊断,其特征如下:胸片显示左心受累表现,见双肺淤血,左心房和心室增大等。超声心动图可见主动脉瓣上狭窄比冠状动脉受损更常见,狭窄程度与年龄无关,但与 TC 水平升高呈正相关;心血管造影:显示开口部受累为著;MR 示主动脉壁的增厚及斑块形成,年龄越小,管壁增厚越明显。EBCT 可观察动脉管壁的厚度及钙化分数。杂合患者已有中等冠状动脉钙化。

3 基因诊断可提高 FH 诊断的准确性

以 DNA 为基础的遗传学检查比生物化学方式更加可靠,可得出是或非(Yes/No)的简单回答,是鉴别 FH 患者致病基因及其家族成员是否受累的决定性手段,能够提高 FH 患者诊断的可靠性,早期识别出 FH 患者,早期确诊对于患者在致命性 As 发生之前进行治疗非常重要。

3.1 明确突变的存在

最近一项研究结果显示,应用 DNA 分析,可早期识别 FH 患者。荷兰对 2 039 例经 LDL-R 基因突变分析确定为杂合子,比较 DNA 分析诊断与血清胆固醇测定诊断,结果证实,仅靠血清胆固醇水平测定(以当地人群第 90 位百分位数为切点),突变基因携带者与非携带者的误诊率达 18%。以 DNA 为基础的遗传学检查比生物化学方式更加可靠,是鉴别 FH 患者致病基因及其家族成员是否受累的决定性手段,能够提高 FH 患者诊断的可靠性,早期识别出 FH 患者。

3.2 明确突变的性质

家族性高胆固醇血症(FH)的分子病理基础主要是低密度脂蛋白受体(LDL-R)基因突变所致细胞膜表面 LDL-R 蛋白缺少或功能异常。基因诊断不仅能明确基因突变的类型,并推测出受体蛋白相应功能域的缺陷。以 LDL-R 为例,不同的突变破坏 LDL-R 蛋白合成、细胞内转运、配体结合容量、内化和再循环等功能,是基因结构与功能相关的外在表现。

近年来陆续发现了载脂蛋白 B100、枯草菌素转化酶 9、衔接子蛋白和 7a 羟化酶等基因突变也可导致临床上类似 FH 的表型^[19]。由于病因和发病机制不同,对降脂药物的敏感性也不同,从而对临床诊断的 FH 患者的诊断治疗提出了新的挑战^[20]。

4 基因诊断的方法

目前已有近 20 种突变分析的技术得到应用和发展,如单链构象异构多态分析技术,异质性双链构象多态性分析、错配裂解法、变性高效液相色谱分析、等位基因特异性寡核苷酸杂交、等位基因特异性扩增等,这些方法都是传统方法,其中变性高效液相色谱法(denaturing high performance liquid chromatography, DHPLC)具有自动化、高通量、快速、检出率高、适合大片段等优点而被广泛应用于 FH 的基因诊断^[21,22]。除了上述方法外,近年来出现了一些新的基因诊断方法。

4.1 多重连接探针扩增技术

多重连接探针扩增技术(multiplex ligation dependent probe amplification, MLPA)利用核酸杂交、连接反应和 PCR 扩增反应,可以在同一试管内检测多达 45 个不同核酸序列拷贝数变化,已广泛应用于染色体异常、基因点突变、基因缺失突变等研究领域。其优点为灵敏度高,专一性强,相对简单,成本低,高处理速度等。MLPA 可检测出基于外显子测序分析方法检测不到的基因突变,有可能成为一种新的 FH 分子诊断的有效工具^[23,24]。

4.2 基因芯片

基因芯片是应用已知核酸序列作为探针与互补的靶核苷酸序列杂交,通过随后的信号检测进行定性与定量分析,基因芯片在一微小的基片(硅片、玻片和塑料片等)表面集成了大量的分子识别探针,能够在同一时间内平行分析大量的基因,进行大信息量的筛选与检测分析。文献[25]报道了一种可检测已知突变的芯片,检测 117 种常见的 LDL-R 基因点突变和 1 种载脂蛋白 B100 基因 3500 位点突变,1 180 个经 DNA 测序证实存在突变的 FH 患者采用该芯片检测全部得到相同结果,特异性和敏感性分别达 99.7% 和 99.9%。

最近台湾某科研机构委托 Affymetrix 加工再测序型芯片,可对 LDL-R 和载脂蛋白 B100 基因突变进行监测。我课题组与该公司合作,采用该芯片对 14 例临床症状明显的 FH 纯合患者进行基因突变检测(将另文报道),发现 LDL-R 基因 10 余种不同类型的突变及大量 SNP 变异。A459V、C210R、L621S 等国内外均未见报道,是新的突变位点;Y87C、C183Y、A606T、P664L 等国外已见报道但是国内未见报道;D601Y 则为国内外均已报道的突变。

5 结束语

虽然高胆固醇血症和 As 是危害 FH 患者的主要临床表现,但促使患者就医的却是皮肤黄瘤、关节、肌腱肿胀等,当个别患者出现劳力性心绞痛,却被误诊为“急性胃炎”,这表明在我国医生对该病的认识不足,患者对该病的科普知识欠缺。FH 个体构成 CHD 高危人群的一部分,基因诊断是早期确诊的可靠手段,以便提早对患者及家族受累成员进行治疗干预,延缓 As 的发生发展,减少 CHD、脑卒中等心脑血管事件的发生,对于提高我国人民的健康素质特别是青少年的健康水平有重要的意义。

[参考文献]

- [1] Raderl DJ, Jonathan Cohen, Hobbs. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment [J]. *J Clin Invest*, 2003, **111**: 1 795-803.
- [2] Kastelein JJ, van Leuven SI, Burgess L, et al. Effect of torcetrapib on carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia [J]. *N Engl J Med*, 2007, **356**

(16): 1 620-630.

- [3] Sibley C, Stone NJ. Familial hypercholesterolemia: a challenge of diagnosis and therapy [J]. *Cleve Clin J Med*, 2006, **73** (1): 57-64.
- [4] 王绿娅. 家族性高胆固醇血症[M]. 见: 杨永宗. 动脉粥样硬化性心脏病——基础与临床. 北京: 科学出版社, 2004; 436-458.
- [5] George Yuan, Jian Wang, Robert A, et al. Heterozygous familial hypercholesterolemia an underrecognized cause of early cardiovascular disease [J]. *CMAJ*, 2006, **174** (8): 1 124-129.
- [6] Artieda M, Cenarro A, Junquera C, et al. Tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia are associated with a differential inflammatory response of macrophages to oxidized LDL [J]. *FEBS Lett*, 2005, **579** (20): 4 503-512.
- [7] Aggarwal A, Gupta A, Narang M, et al. Familial hypercholesterolemia with coractation of aorta [J]. *J Postgrad Med*, 2007, **53** (3): 185-186.
- [8] 勇强, 孙慧, 王绿娅, 等. 家族性高胆固醇血症的腹腔外周动脉血管病理改变[J]. *中华心血管病杂志*, 2005, **33** (4): 340-342.
- [9] Akira Honda, Gerald Salen, Yasushi Matsuzaki, et al. Disrupted coordinate regulation of farnesoid X receptor target genes in a patient with cerebrotendinous xanthomatosis [J]. *J Lipid Res*, 2005, **46** (2): 287-296.
- [10] Gordon A, Francis, Royce L, et al. Cerebral cholesterol granuloma in homozygous familial hypercholesterolemia [J]. *CMAJ*, 2005, **172** (4): 495-497.
- [11] 李胜光, 黄烽. 肌腱黄瘤—多关节肿胀——动脉粥样斑块[J]. *中华医学杂志*, 2003, **83** (23): 2 093-095.
- [12] 苏雁华, 王兆钺, 曹丽娟, 等. 伴有红细胞和血小板异常的植物固醇血症临床及基因研究[J]. *中华血液学杂志*, 2006, **27** (11): 739-743.
- [13] Elmaci AM, Peru H, Akin F, et al. A case of homozygous familial hypercholesterolemia with focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Pediatr Nephrol*, 2007, **22** (10): 1 803-805.
- [14] Guvenor M, Ucar HI, Tok M, et al. Intrathoracic xanthoma mimicking lung cancer in a patient with familial hypercholesterolemia type II: a case report [J]. *Heart Surg Forum*, 2007, **10** (1): 3-5.
- [15] 陆宗良. 脂质代谢异常与冠心病[M]. 见: 陈在嘉, 徐义枢, 孔华宇. 临床冠心病学. 北京: 人民军医出版社, 1998; 77.
- [16] Descamps OS. Familial hypercholesterolaemia in a Belgian community [J]. *Acta Cardiol*, 2000, **55** (6): 327-333.
- [17] Bartolotta TV, Taibbi A, Malizia G, et al. Real-time spatial compound sonography of Achilles tendon in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia and normal physical examination [J]. *Radiol Med*, 2007, **112** (4): 562-571.
- [18] 马展鸿, 曾建华, 李世国, 等. 家族性高胆固醇血症的影像学诊断[J]. *中华放射学杂志*, 2004, **38** (4): 435-437.
- [19] Deepak B. Diagnosis and screening for familial hypercholesterolaemia: finding the patients, finding the genes [J]. *Ann Clin Biochem*, 2006, **43**: 441-456.
- [20] 王绿娅, 蔺洁, 刘舒, 等. 家族性高胆固醇血症样表现的遗传异质分子基础[J]. *遗传学报*, 2005, **32** (7): 770-777.
- [21] Zhang Ming, Wu Dengjun, Zheng Hongpei. Strategies of Gene Mutation Detection [J]. *Tren Life Sci*, 2003, **12**: 1 (4).
- [22] 王绿娅, 蔺洁, 陈立伟, 等. 变性高效液相色谱在低密度脂蛋白受体基因点突变研究中的应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, **28** (4): 359-363.
- [23] Wang J, Ban MR, Hegele RA. Multiplex ligation-dependent probe amplification of LDLR enhances molecular diagnosis of familial hypercholesterolemia [J]. *J Lipid Res*, 2005, **46** (2): 366-372.
- [24] Holla OL, Teie C, Berge KE, et al. Identification of deletions and duplications in the low density lipoprotein receptor gene by MLPA [J]. *Clin Chim Acta*, 2005, **356** (1-2): 164-171.
- [25] Diego T, Sergio C, Pilar M, et al. Reliable low-density DNA array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia [J]. *Clin Chem*, 2005, **51** (7): 1 137-144.

(此文编辑 胡必利)