

• 综 述 •

脂质沉积性肌病的分子生物学研究进展

庞 咪 笪宇威

【中图分类号】 R746.9 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2015)05-0311-03
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2015.05.017

脂质沉积性肌病是由于影响脂质代谢的一些酶或肉毒碱等缺乏而导致长链脂肪酸代谢障碍,异常的脂滴聚集在肌纤维细胞,临床以四肢近端为主的肌无力、萎缩、疲劳不耐受为特点。尽管脂质沉积性肌病的分子生物学已经得到广泛的研究,但是基因学确诊的只有以下四种:原发性肉碱缺乏(PCD)、多酯酰辅酶 A 脱氢酶缺乏(MADD)、中性脂质贮积病伴鱼鳞病(NLSDI)、中性脂质贮积病伴肌病(NLSDM)^[1]。

1 PCD

又称原发性肉碱缺乏,是一种以血浆和胞质中低肉碱浓度为特点的常染色体隐性遗传性疾病。肉碱(3-羟-4-三甲胺基丁酸)是一种有着重要生理作用的水溶性小分子物质,它通过介导长链脂肪酸进入线粒体内膜而有助于脂肪酸 β 氧化的进行。因此,肉碱的缺乏会影响长链脂肪酸的代谢,导致脂滴在组织内蓄积。

PCD 又分为原发性肌肉肉毒碱缺乏和原发性系统性肉毒碱缺乏两种类型。

1.1 原发性肌肉肉毒碱缺乏(PMCD) 1973 年 Enge1 首先报道,多见于儿童或青少年,亚急性或慢性起病;患者主要表现为进行性肌无力,以近端肢体为甚,疲劳不耐受,劳累后加重,可伴有肌痛,该病变局限于肌肉,一般不累及肾脏和肝脏,实验室检查可见骨骼肌肉碱水平低,血浆、肝脏及心脏肉碱水平正常,口服肉碱治疗临床症状可重度改善,甚至完全恢复正常^[2]。

1.2 原发性系统性肉毒碱缺乏(PSCD) 1975 年 KarpatiG 首先报道,患者血液和肌肉肉毒碱水平均降低,累及肌肉和肝脏、肾脏、CNS 等多脏器^[3]。

PSCD 是一种常染色体隐性遗传性疾病,其致病基因定位于 5q31,是由位于 SLC22A5 上编码 OCTN2 的基因突变引起的^[4]。从人肾脏克隆 OCTN2 的全长 cDNA,由 10 个外显子组成,约 30 kb 大小,共编码 557 个氨基酸蛋白,包含 12 个跨膜域和 1 个 ATP 结合域^[4],在成人的肾脏、骨骼肌、心脏和胎盘高度表达。OCTN2 作为人类高亲和性肉毒碱转运体,它是一种有机阳离子转运蛋白,通过钠离子电化学梯度

将肉毒碱转运入胞内,且因为肉毒碱对于长链脂肪酸从胞质进入线粒体嵴进行氧化是必须的,因此 OCTN2 的缺陷将引起长链脂肪酸、甘油三酯以脂滴形式聚集在胞质中。

随着对 PCD 分子生物学的深入研究,目前为止在人类基因库中已经发现 100 多种突变,多为错义突变、无义突变及读码突变次之,剪接位点突变少见。已报道的突变位点涉及外显子 1~10 和内含子 3、4、7、8 以及整个基因片段的缺失。其中有报道发现突变最频繁的等位基因位于 1 号和 4 号外显子上,且常常位于 OCTN2 蛋白的胞外区域^[4-5]。

突变谱在不同种族的人群中存在差异,有报道显示 R254X 截断突变是我国和阿拉伯人人群的基础突变;S467C 在日本秋田地区人群中频发;W132X 和 W283C 突变常见于东亚人群;而 R282X 常见于高加索人群^[4]。

PCD 基因型与临床表型有一定的关系,在有症状的患者中最常见的突变位点是 c.760C>T,而在新生儿筛查异常的无症状患者中较频繁的突变位点是 c.51C>G,其次是 c.797C>T。目前对于基因型与表现型关系的研究主要集中在突变最频繁的基因,即 R254X。纯合型的 R254X 患者主要是伴有扩张型心肌病和肌无力的晚发型患者。携带有其他错义突变的复合杂合型患者也有相同的表现。而携带有其他无义、移码突变或者剪接位点突变如 c.497t1G>T、c.517delC 的患者常早期出现肝肿大,这可能是由于这种突变引起 OCTN2 功能域的大片丢失引起的^[4]。

2 MADD

即多酯酰辅酶 A 脱氢酶缺乏,又称为戊二酸尿症 II 型(GA II),是一种影响氨基酸、脂肪酸及胆碱代谢的常染色体隐性遗传病,是我国脂质沉积性肌病(LSM)的主要病因^[6]。根据临床表现,可以将 MADD 分为三型:伴有先天畸形的新生儿发病型(I)、不伴有先天畸形的新生儿发病型(II)、晚发型(III)^[1];新生儿发病型预后较差,仅能够生存数周至数年,而晚发型主要表现为逐渐进展的近端肢体无力,伴有其他不同的症状,如间歇性的呕吐、低血糖和代谢性酸中毒等,核黄素常常能够明显缓解晚发型患者的症状,临床上称为核黄素反应性 MADD,即 RR-MADD^[7]。大部分晚发型 MADD 是由电子转移核黄素蛋白(ETF)或电子转移黄素蛋白脱氢酶基因(ETFDH)缺陷引起的^[8]。

ETF 是一个由 α (30kDa) 和 β (28kDa) 亚单位构成的异二聚体,它包含有 1 个黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)辅基和 1 个腺嘌呤核苷酸^[9]。ETFDH 基因由 13 个外显子组成,编码位于线粒体内膜上的电子转移黄素蛋白-辅酶 Q 氧化还原酶(ETF: QO),含有 1 个黄素腺嘌呤二核苷酸结构域(FAD)、1 个 4Fe4S 簇和 1 个辅酶 Q 结构域^[7],这三个结构域分别与 FAD、4Fe4S 及泛醌相结合,在电子传递过程中需要以上各个分子的相互结合才能完成。编码 ETF α 、ETF β 和 ETFDH 的基因分别定位于 15p23-25, 19q13 and 4q33^[7]。

目前研究发现大多数 RR-MADD 患者是由 ETFDH 基因引起的^[10-12]。已报道 80 多个 ETFDH 基因突变,主要位于 FAD/辅酶 Q10 结合域,当该区域发生错义突变时可能会影响功能蛋白与 FAD 的结合以及破坏黄素蛋白的折叠、组装和稳定性,最终影响其催化活性^[7]。因此,推测基因突变会造成突变蛋白稳定性的下降,并进一步证明了 ETFDH 基因缺陷的患者骨骼肌中蛋白含量的下降,而蛋白含量的下降使 FAD 难以与 FAD 结合域相结合,从而导致线粒体内核黄素及黄素蛋白稳态的紊乱。此时提供核黄素可以增加线粒体内 FAD 的浓度,从而提高突变的黄素蛋白的稳定性。这可能就是大多数 MADD 患者对于核黄素反应良好的原因^[7]。

已报道的突变形式有错义突变、缺失突变、框码移位、无义突变、剪接位点突变等,其中错义突变最常见^[8]。在我国南北方患者的突变热点有所不同,既往研究提示 c. 250G > A 突变在中国南方地区以及台湾、香港、泰国及新加坡人群中存在高的突变率,而 c. 770A > G 和 c. 1227A > C 突变在中国南北方都较常见^[6,8,13-14]。

另外,有研究发现个别 RR-MADD 患者没有 ETF α /B、ETFDH 基因突变,提示 RR-MADD 可能存在其他基因突变。还有部分患者 ETFDH 的 2 个等位基因中只在 1 个基因出现突变,作为隐性遗传性疾病,理论上应当存在另一个突变,这个未知突变是否存在于 ETFDH 非编码区还需要进一步分析^[12]。

3 中性脂质贮积性疾病(NLSD)

NLSD 是一种罕见的常染色体隐性遗传性疾病,以甘油三酯聚集在多个器官和组织中如白细胞、骨髓、骨骼肌、心肌、肝脏中为特点^[1]。

脂质贮积性疾病可分为两种类型:中性脂质贮积病伴肌病(NLSDM)、中性脂质贮积病伴鱼鳞病(NLSDI)^[1]。

NLSDM 是由编码甘油三酯酶(ATGL)的基因突变引起的,该基因又称为 PNPLA2。NLSDI 是由编码甘油三酯酶(ATGL)的激活剂基因,也就是 ABHD5 突变引起的^[16]。甘油三酯酶即 ATGL 表达在大多数组织,此酶对于甘油三酯具有高度底物特异性,可以促进甘油三酯水解。ABHD5 激活 ATGL 并酰化溶血磷脂酸。激活的 ATGL 促进细胞内

的甘油三酯水解代谢并储存到甘油和未酰化的脂肪酸中去。这两种酶的功能缺陷阻止了甘油三酯的降解,引起了包括骨骼肌在内的多个器官中甘油三酯聚集^[1]。

真核生物的 PNPLA2 包含 9 个外显子,其 N-端结构域包含一个马铃薯糖蛋白结合域,C-端结构域含有富含疏水氨基酸的脂质结合域。目前报道的突变并未影响包含马铃薯糖蛋白的 N 端结合域,而是改变了包含脂质结合位点的 C 段结构域。含水解位点的完整 N-端结构域可以保留脂肪酶的活性,而 C-端结构域的丢失会引起脂质相关脂酶活性的降低及甘油三酯代谢的缺陷^[15]。

ABHD5 编码包含的蛋白 5 的水解酶,是脂酶亚族中的一种。目前为止已发现大约 30 种突变,大多数是错义突变,其次是剪接位点突变和缺失突变^[17]。

尽管已经知道 ATGL 和 ABHD5 在脂代谢中起着重要的作用,但是还有很多功能并不能完全了解。然而,鱼鳞病的出现显示了在皮肤或者其他器官中 ABHD5 有 ATGL 独立功能。对于 NLSD 患者更加详细的基因和临床特点的了解可能对于临床治疗提供帮助。

4 肉碱棕榈酰基转移酶 II (CPT- II) 缺乏

CPT- II 缺乏是由于 CPT2 基因缺陷引起的最常见的遗传性脂肪酸氧化障碍性疾病。肉碱棕榈酰基转移酶(CPT-II)是一种位于线粒体内膜的酶,CPT2 基因缺陷使得长链脂肪酸通过线粒体膜从胞质进入线粒体嵴进行氧化障碍^[18]。肉碱棕榈酰基转移酶活性包括分别定位于线粒体膜内外的两种不同的酯酰转移酶即 CPT- I 和 CPT- II^[19],它们具有相似的功能,催化相似的反应。

CPT- II 缺乏是一种常染色体隐性遗传性疾病,根据临床表现可以分为三种类型:(1)仅累及骨骼肌的青年-成年发病型;(2)较严重的累及肝脏、骨骼肌、心肌的婴幼儿发病型;(3)伴有先天异常的致命性的新生儿型。其中表现为肌肉型最常见。肌肉型的临床表现包括反复的肌肉疼痛和痉挛,且常伴有肌红蛋白尿。横纹肌溶解常由长时间运动、饥饿、发热、感染、高脂饮食、寒冷刺激、心源性休克、情感刺激以及药物所诱发^[20]。

CPT2 基因定位于 1p32,由 5 个外显子组成,约 20 kb 大小,编码的包含 658 个氨基酸的蛋白质^[31]目前已经发现的突变有 70 多种,大部分是错义突变,其次是无义突变和剪接突变。其中,最常见的突变表现为 p. S113L。

目前基因型与表现型之间的关系主要集中在肌病型上。研究发现 p. S113L 和 p. R631C 会引起 CPT 酶活性的严重缺乏,临床上常出现严重的肌肉受累表现,甚至出现致命的并发症如急性肾衰竭。这可能是由于减弱了蛋白的稳定性和催化活性,或者由于蛋白不完整的折叠或组装而造成水解活性增加。另外,发生无义突变的患者临床表现常常相对严重^[20]。因此,通过基因分析对于指导 CPT- II 缺乏患者的临床管理及预后评估是很有用的。但是由于患者数量的限制,

基因型与表现型之间的关系尚需进一步研究。

综上所述,脂质沉积性肌病是一组病理上表现相似的疾病,早期的临床表现缺乏特异性,通过早期的分子生物学研究,可以为疾病早期诊断及临床药物治疗提供了理论依据。对于部分分子生物学未发现异常的患者仍需进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 Wen-Chen Liang•Ichizo Nishino. Lipid storage myopathy. Curr Neorol Neurosci Rep, 2011,11:97-10.
- 2 Engel AG, Angelini C. Carnitine defieieney of human skeletal musele with assoeiated liPid storage myopathy; a new syndrome. Science,1973,179:899-901.
- 3 Karpati G, Carpenter S, Engel AG, et al. The syndrome of systemic carnitine deficiency: clinical, morphologic, biochemical, and PathoPhysiologic features. Neurology,1975,25:16-24.
- 4 Lianshu Han, Fei Wang, Yu Wang, et al. Analysis of genetic mutations in Chinese patients with systemic primary carnitine deficiency. European Journal of Medical Genetics,2014. 1-5.
- 5 Li FY, El-Hattab AW, Bawle EV, et al. Molecular spectrum of SLC22A5(OCTN2)gene mutations detected in 143 subjects evaluated for systemic carnitine deficiency. Hum Mutat, 2010, 31 (8):e1632-1651.
- 6 Lan MY, Fu MH, Liu YF, et al. High frequency of ETFDH c. 250G> A mutation in Taiwanese patients with late-onset lipid storage myopathy. Clin Genet,2010,78:565-569.
- 7 Wang ZQ, Chen XJ, Murong SX, et al. Molecular analysis of 51 unrelated pedigrees with late-onset multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency (MADD) in southern China confirmed the most common ETFDH mutation and high carrier frequency of c. 250 G>A. J Mol Med,2011,89(6):569 -576.
- 8 Xi J, Wen B, Lin J, et al. Clinical features and ETFDH mutation spectrum in a cohort of 90 Chinese patients with late - onset multiple acyl -CoA dehydrogenase deficiency. J Inherit Metab Dis, 2013, Dec 20. [Epub ahead of print]
- 9 Roberts DL, Frerman FE, Kim JJ. Three-dimensional structure of human electron transfer flavoprotein to 2. 1-Å resolution. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93:14355-14360.
- 10 Olsen RK, Olpin SE, Andresen BS, et al (2007) ETFDH muta-

tion as a major cause of riboflavin-responsive multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency. Brain,2007,130:2045-2054.

- 11 Gempel K, Topaloglu H, Talim B, et al. The myopathic form of coenzyme Q10 deficiency is caused by mutations in the electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase (ETFDH) gene. Brain, 2007, 130:2037-2044.
- 12 Wen B, Dai T, Li W, et al (2010) Riboflavin responsive lipid storage myopathy caused by ETFDH gene mutations. J Neurol Neurosurg Psychiatry,2010,81:231-236.
- 13 Wasant P, Kuptanon C, Vattanavicharn N, et al. Glutaric aciduria type 2, late onset type in Thai siblings with myopathy. Pediatr Neurol, 2010,43:279-282.
- 14 Er TK, Liang WC, Chang JG, et al. High resolution melting analysis facilitates mutations screening of ETFDH gene: applications in riboflavin-responsive multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency. Clin Chim Acta,2010,411:690-699.
- 15 Fischer J, Lefvre C, Morava E, et al. The gene encoding adipose triglyceride lipase (PNPLA2) is mutated in neutral lipid storage disease with myopathy. Nat Genet, 2007, 39:28-30.
- 16 Lefèvre C, Jobard F, Caux F, et al. Mutations in CGI-58, the gene encoding a new protein of the esterase/lipase/thioesterase subfamily, in Chanarin Dorfman syndrome. Am J Hum Genet, 2001,69:1002-1101.
- 17 Lefèvre C, Jobard F, Caux F, et al. Mutations in CGI-58, the gene encoding a new protein of the esterase/lipase/thioesterase subfamily, in Chanarin Dorfman syndrome. Am J Hum Genet, 2001,69:1002-1101.
- 18 Corti S, Bordon A, Ronchi A, et al. Clinical features and new molecular findings in carnitine palmitoyltransferase II (CPT II) deficiency. J Neurol Sci,2008,266:97-103.
- 19 Murthy MSR, Pande SV. Malonyl-CoA binding site and the overt carnitine palmitoyltransferase activity reside on the opposite sides of the outer mitochondrial membrane. Proc Natl Acad Sci USA,1987,84:378-382.
- 20 Fanin M, Anichini A, Cassandrini D, et al. Allelic and phenotypic heterogeneity in 49 Italian patients with the muscle form of CPT-II deficiency. Clin Genet,2011,82:232-239.

(2014-12-04 收稿)

• 消 息 •

声 明

本刊版权归武汉大学人民医院所有。除非特别声明,本刊刊出的所有文章不代表《卒中与神经疾病》编辑委员会的观点。

本刊已入编“万方数据-数字化期刊群”和“中国核心期刊(遴选)数据库”等,作者著作权使用费与本刊稿酬一次性给付,不再另行发放。作者如不同意将文章入编,投稿时敬请说明。