

综述

肥大性下橄榄核变性分子遗传学研究进展

冯佳梁^{1,2}, 周慧², 沈佐廷², 李飞², 张社卿¹

(1. 上海市第二军医大学附属长海医院 神经内科, 上海, 200433;

2. 上海市杨浦区市东医院 神经内科, 上海, 200433)

关键词: 肥大性下橄榄核变性; 基因诊断; POLG 基因; SURF1 基因; SCA1 型基因; 研究进展

中图分类号: R 714.14 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2017)15-227-03 DOI: 10.7619/jcmp.201715082

肥大性下橄榄核变性(HOD)是一种临床少见的神经系统变性疾病,临床特点为在原发病变稳定后出现头晕、视物不清、眼震、腭肌阵挛、肢体震颤、共济失调等表现,其中上腭震颤为其典型症状,通常在格莫三角损伤后数周至数月出现,约5~24周症状达到高峰。原发脑损伤疾病已经给患者带来很多痛苦^[1],而HOD这一继发病症的出现又再次加重了躯体损伤,增加了患者精神及经济负担,因此,如何早期诊断并有效干预成为临床研究热点。研究^[2-4]表明,线粒体缺陷与神经系统疾病的发生密切相关,如帕金森综合征、Alpers综合征、进行性眼外肌麻痹等,而HOD属于神经系统疾病的一种,有国外学者研究^[5-6]发现,外显子测序鉴定提示纯合子致病P-W748 POLG突变,SURF1基因突变与其发生也密切相关,因此,从基因角度对HOD发病时基因的反应模式进行诊断可以避免影像学检查的滞后性,有助于为其早期诊断提供更多的帮助。本文对基因诊断HOD的研究进展进行综述,为其早期诊断及早期干预提供依据。

1 肥大性下橄榄核变性候选基因

1.1 POLG 基因

线粒体是普遍存在于真核细胞的半自主性细胞器,是氧化磷酸化的场所,线粒体的生物活动依赖于线粒体DNA编码的蛋白的表达,线粒体DNA是由16569个碱基对组成的双链裸露的超螺旋闭合共价环状DNA分子,DNA聚合酶 γ (pol γ)多肽位于线粒体内膜内侧,由1239个氨基酸组成的杂合二聚体,分子长度为139.5 kDa,包括140 kDa的催化亚基及55 kDa的调节亚基,具有促进pol γ 与DNA双链的紧密

结合启动DNA复制的功能,其是线粒体中唯一一起聚合酶作用的酶,在线粒体DNA的复制及修复中发挥重要作用^[7-8]。催化亚基是由线粒体DNA特异性聚合酶G(POLG)基因编码,POLG基因位于15号染色体,包含10个连串的编码谷氨酰胺的CAG密码子的CAG-三核苷酸重复多态性参与神经细胞凋亡的过程,当POLG基因发生CAG-三核苷酸重复长度的突变后,线粒体DNA比率超过阈值,会使得DNA聚合酶 γ 的校正功能丧失,造成线粒体DNA的点突变、缺失和多发缺失以及含量的减少,线粒体不能提供足够的能量,细胞正常的氧化磷酸化功能受到阻碍,促进反应性产物的产生,进而导致易感性神经变性疾病^[9-10]。目前,POLG基因突变导致的神经系统疾病包括感觉性共济失调、少年型脊髓小脑共济失调、癫痫综合征、进行性眼外肌麻痹、阿尔茨海默病等,而肥大性下橄榄核变性属于神经系统变性疾病的一种,病变主要累及小脑、脑干,出现神经元变性,临床表现出现震颤、共济失调等,与感觉性共济失调、少年型脊髓小脑共济失调等相似。有国外学者研究^[11]发现,干扰素治疗丙肝后出现耳聋、嗜睡,口齿不清,步态不稳,查体水平眼震,共济失调步态,末梢感觉消失,无腭肌阵挛,MRI提示双侧肥大性下橄榄核变性,外显子测序鉴定提示纯合子致病P-W748 POLG突变。基因突变分为纯合子及杂合子突变,而POLG基因的16号外显子上存在2492位点A→G的杂合突变与肥大性下橄榄核变性发生相关。

1.2 SURF1 基因

线粒体DNA包含编码氧化磷酸化呼吸链复合体必需的13个多肽,线粒体呼吸链相关蛋白由核基因和线粒体基因共同编码,呼吸链氧化磷酸

化亚基基因共有 92 个,线粒体基因仅编码其中的 13 种,剩余 79 个均由核基因编码^[12]。线粒体呼吸链由 5 种酶复合物组成,呼吸链复合物 IV 即细胞色素 C 氧化酶,存在于真核生物细胞的线粒体内膜上,由 13 个多肽亚单位组成,其中 3 个由线粒体基因编码,其余均由核基因编码,在细胞呼吸中处于细胞色素系统的末端,通过氧化磷酸化为细胞提供能量^[13-14]。当编码氧化磷酸化系统中蛋白质的核基因发生致病性突变时,导致相关呼吸链酶功能丧失或降低,引起线粒体组装或功能障碍,线粒体蛋白合成障碍和呼吸链组分和功能异常,使能量消耗很大的神经系统出现功能障碍和组织坏死^[15-16]。呼吸链复合物亚基及组装因子突变属于核基因突变的一种,人 SURF1 蛋白的第 25 ~ 299 位氨基酸构成的肽链形成 SURF1 家族,含有 300 个氨基酸残基,有两个跨膜结构域,参与调节细胞色素 C 氧化酶复合物的组装以及维持其正常活性,人类 SURF1 基因包含 9 个外显子,位于 9q34.2,基因组序列全长 4695 bp,具有进化上的保守性,从原核到真核生物都发现有 SURF1 基因的同源序列。人类 SURF1 基因异常,如 604G→C 突变导致的 SURF1 蛋白第 202 位氨基酸残基由酸性天冬氨酸转变为碱性组氨酸,或者 574C→G 的颠换为杂合性的错义突变导致的第 192 位氨基酸由碱性的精氨酸变为中性的甘氨酸,会导致细胞色素 C 氧化酶功能缺陷,细胞色素 C 氧化酶功能缺陷影响 ATP 生成,均可直接或者间接对神经通路造成影响,累及中枢神经系统,特别是脑,出现视力障碍、构音障碍、吞咽困难、上肢共济失调、站立及行走困难等症状^[17-18]。

1.3 SCA1 型基因

脊髓小脑共济失调(SCA)基因共定位 28 种致病基因,7 种为基因编码区 CAG-三核苷酸重复扩增突变,导致编码产生的多聚谷氨酰胺异常集聚,导致表现为共济失调、步态不稳、言语不清、构音障碍、眼球震颤等症状的橄榄脑桥小脑萎缩的发生,由于橄榄脑桥小脑萎缩与肥大性下橄榄核变性的病变均主要累及小脑、脑干,出现神经元变性,临床表现也颇为相似,因此部分学者^[19-20]认为橄榄脑桥小脑萎缩与肥大性下橄榄核变性的发病机制存在一定的共性。SCA1 位于染色体 6q22 ~ 23,基因组跨度 450 kb, cDNA 长 11kb,含有 9 个外显子,编码 816 个氨基酸残基组成 ataxia-1 蛋白,该蛋白位于细胞核,橄榄脑桥小脑

萎缩患者第 8 号外显子发生 CAG 突变后其重复扩增的拷贝数为 40 ~ 83,正常人为 6 ~ 38^[21-22]。SCA2 型基因定位在染色体 12q23 ~ q24.1 上,正常等位基因含有 17 ~ 29 个 CAG-三核苷酸重复和 1 ~ 3 个 CAA 重复,橄榄脑桥小脑萎缩患者 5'端外显子 1 编码区发生 CAG 突变后其重复扩增的拷贝数为 37 ~ 63。CA3 型基因定位在染色体 14q32.1,正常人 CAG 重复 13 ~ 36 次,橄榄脑桥小脑萎缩患者重复 68 ~ 79 次。

2 肥大性下橄榄核变性基因诊断相关技术

随着分子遗传学及基因学的发展,基因诊断因其特异性强、可操作性强,已成为临床科研的热点,目前,根据是否对致病基因本身进行检查分为两类,一类是采用利用 PCR 扩增产物或者邻近的 DNA 序列作为探针的直接基因诊断,另一类是遗传连锁分析的间接基因诊断^[23]。肥大性下橄榄核变性常继发于脑梗死、中毒、手术及外伤、肿瘤、血管畸形、脑出血等导致的格莫三角损伤的脑部疾病,是由于神经传导在这个三角通路中阻断,所发生的一种独特的跨突触神经变性,导致传入细胞的突触丢失,这种特异性的变性在原发病变后一段时期发生顺行性空泡变性,导致受影响的下橄榄核部位的神经元体积增大,随着时间的推移,肥大逐渐减轻,随后又出现细胞萎缩,因此,临床上将其归于线粒体障碍性疾病,多采用直接基因诊断对治病基因进行检测^[24]。首先采用 PCR-RFLP 技术,取正常人群作为对照,选择基因引物,如 POLG 基因正向引物为 5'-ACAGTGTGGG-GACGCAG-3',反向引物为 5'-CCTCGCCAG-GCATCTCC-3'; SURF1 基因引物:正向引物为 5'-TGGCTCCATGTCAGTGTGT-3',反向引物为 5'-AGGGCTCTGCTGTTGAAC-3'扩增所有研究对象候选基因全部外显子后,PCR 扩增产物经 Hinf I 酶切获得不同长度、大小、数量的限制性酶切片段,酶切产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,并采用末端终止法进行测序检测单碱基替代以及小片段核苷酸的插入或缺失,迅速而准确的解读基因突变信息^[25]。

3 展望

1887 年 Oppenheim 首次报道肥大性下橄榄核变性,通过尸检发现了下橄榄核增大的特征性病理改变。1931 年,Guillain 和 Mollaret 描述了

小脑齿状核与对侧的红核和下橄榄核构成的等边三角传导通路,也称之为格莫三角,正如 Guillain 和 Mollaret 所描述的,在格莫三角中的神经元联系着对侧小脑的齿状核、同侧中脑的红核、同侧延髓的下橄榄核,由齿状核发出的神经纤维通过小脑上脚传入对侧的红核,途中与小脑臂发生交互作用,红核发出的神经纤维通过中央被盖束传入下橄榄核。下橄榄核发出神经纤维通过小脑下脚联系对侧的齿状核,当损伤位于红核或中央被盖束时,常会导致同侧的橄榄核肥大变性,当损伤位于小脑上脚或齿状核时,常会导致对侧的橄榄核肥大变性,如果同时损伤到红核或中央被盖束以及齿状核及小脑上脚时,常会导致双侧的肥大性下橄榄核变性。

肥大性下橄榄核变性临床特点为在原发病变稳定后出现头晕、视物不清、眼震、腭肌阵挛、肢体震颤、共济失调等表现,典型症状为上腭震颤,其为软腭有节奏的连续的运动,有时累及其他颅神经或脊神经支配的肌肉,但是肥大性下橄榄核变性临床表现与遗传性脊髓小脑共济失调、橄榄脑桥小脑萎缩等神经系统疾病表现相似,无法根据临床症状对其进行诊断。影像学检查发现,肥大性下橄榄核变性患者在 MRI 上有非常特征的影像学表现,在原发病损伤 1 月后, MRI 在 T2WI 上通常会出现下橄榄核高信号征,并持续数年,原发损伤约半年后出现下橄榄核肥大,并持续 3 ~ 4 年,随后出现萎缩,在下橄榄核肥大阶段, MRI 上表现为延髓腹外侧局限性 T2WI 长信号结节灶,轮廓呈蛋形,称之为蛋形征,是诊断此病的重要依据^[26-28],但是影像学检查具有滞后性,不适合用于对其进行早期诊断。当前的研究^[29]发现, POLG 基因的突变将会影响 DNA 聚合酶 γ 的复制, Surfeit 人 1 蛋白 (SURF1) 基因突变导致细胞色素 C 氧化酶缺陷,候选基因的突变均会造成线粒体能量生成障碍,使神经系统疾病发生的危险性会明显增加,因此,在脑梗死、中毒、手术及外伤、肿瘤、血管畸形、脑出血等脑损伤发生后对患者基因进行检测,有助于预测肥大性下橄榄核变性是否发生,进而对其进行早期诊断。但是,基因诊断应用于肥大性下橄榄核变性仍具有以下不足: ① 基因诊断应用于肥大性下橄榄核变性容易受医务人员素质、社会支持度等多种因素影响。② 由于国内外的基因诊断应用于肥大性下橄榄核变性的研究报道仍较少,导致候选基因种类

较少。

参考文献

- [1] 吴忠伟. 肥大性下橄榄核变性磁共振成像诊断分析[J]. 交通医学, 2015, 29(2): 162-166.
- [2] 刘莉, 邵宇权, 张宝荣, 等. 6 例 MELAS 临床病理特征和线粒体基因全序列比较分析[J]. 遗传, 2014, 36(11): 1159-1167.
- [3] 刘志梅, 方方. 核基因突变导致儿童线粒体病的分子遗传学进展[J]. 中国循证儿科杂志, 2015, 10(6): 470-474.
- [4] 米慧, 林蓓, 管敏鑫. 线粒体功能缺陷和神经系统疾病[J]. 生命科学, 2012, 24(6): 549-556.
- [5] Takayuki Kosaka, Chiaki Asao, Satoru Tawara. Hypertrophic Olivary Degeneration with an Egg-shaped Appearance [J]. The Japanese Society of Internal Medicine, 2014, 53(23): 2751-2752.
- [6] David Arkadir, Vardiella Meiner. Hypertrophic olivary degeneration in a young man with POLG gene mutation [J]. American Academy of Neurology, 2015, 84(8): 59-70.
- [7] 米慧, 林蓓, 管敏鑫. 线粒体功能缺陷和神经系统疾病[J]. 生命科学, 2012, 24(6): 549-556.
- [8] 张莹, 余曦. 雷帕霉素对肝脏缺血再灌注中线粒体 DNA 聚合酶 γ 的调控作用[J]. 贵州医药, 2016, 40(1): 13-15.
- [9] 金洪涛, 赵晶华, 盛彦敏. 人线粒体 DNA 聚合酶基因的克隆及序列分析[J]. 中国生物制品学杂志, 2016, 38(9): 46-50.
- [10] K. J. Kinghorn, M. Kaliakatsos, E. L. Blakely, et al. Hypertrophic olivary degeneration on magnetic resonance imaging in mitochondrial syndromes associated with POLG and SURF1 mutations [J]. Journal of Neurology 2013, 260(1): 3-9.
- [11] 陈星, 沈永义, 张亚平. 线粒体 DNA 在分子进化研究中的应用[J]. 动物学研究, 2012, 33(6): 566-573.
- [12] 刘莉, 邵宇权, 张宝荣, 等. 6 个线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作综合征 (MELAS) 家系先证者线粒体基因全序列比较[J]. 遗传, 2014, 36(11): 1159-1167.
- [13] 周亮, 林敏仕, 尹恕. 线粒体呼吸链复合物 I 缺陷与海洛因海绵状白质脑病的关系 [J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(9): 1357-1361.
- [14] 李多凌. 线粒体相关代谢性肌病的生物化学、分子遗传学发病机制和药物治疗机制研究 [D]. 山东大学, 2014.
- [15] 李溪远, 杨艳玲. 线粒体呼吸链酶复合物 V 缺陷与线粒体病 [J]. 中国当代儿科杂志, 2013, 15(7): 596-601.
- [16] 刘志梅, 方方. 核基因突变导致儿童线粒体病的分子遗传学进展 [J]. 中国循证儿科杂志, 2015, 10(6): 470-474.
- [17] 林敏仕. 线粒体功能障碍在海洛因海绵状白质脑病发病机制中的作用研究 [D]. 南方医科大学, 2014.
- [18] Yi Dong, Yimin Sun, Zhiying Wu. The importance of deep exploration into clinical heterogeneity of spinocerebellar ataxia type 3 [J]. Journal of the Neurological Sciences, 2013, 326(4): 122-8.

- 33.
- [13] 徐海波,程丽红. 地佐辛与吗啡用于 TURP 后硬膜外自控镇痛效果比较[J]. 现代医药卫生, 2016, 32(02): 253 - 255.
- [14] Ding Y, Li M, Chen L, et al. Combined low dose local anesthetics and opioids versus single use of LA for transurethral urological surgery: a meta-analysis [J]. Nigerian Journal of Clinical Practice, 2015, 18(2): 256 - 62.
- [15] 王厚清,徐立新,吴新海,等. 经尿道前列腺电切术后应用硬膜外麻醉自控微泵防治术后膀胱痉挛性疼痛及因疼痛而导致的出血[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2015, 7(06): 340 - 342.
- [16] Gettler E, Chrubasik J, Graf R. A randomized double-blind comparison of epidural sufentanil versus intravenous sufentanil or epidural fentanyl analgesia after major abdominal surgery [J]. Anesth Analg, 1993, 76: 1243 - 1247.
- [17] Katada Y, Isogai J. Potential extraperitoneal space continuous with the peri-intestinal space: CT evidence and anatomical evaluation in patients with pneumatosis intestinalis without intestinal ischemia [J]. Surgical and Radiologic Anatomy, 2009, 31(9): 2341 - 2347.
- [18] 章明勇,朱汝健,汪官富,等. 耻骨后间隙持续镇痛在 TURP 术后镇痛中的应用(附 50 例报告)[J]. 临床泌尿外科杂志, 2011, 26(08): 617 - 620.
- [19] 吕建英,包文朝. 耻骨后间隙镇痛治疗前列腺电切术后膀胱痉挛[J]. 中国现代医生, 2013, 51(03): 138 - 139.
- [20] 张爱建. 膀胱黏膜上皮与膀胱过度活动症关系的研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志, 2012, 32(05): 662 - 665.
- [21] Cruz F. Mechanisms involved in new therapies for overactive bladder [J]. Urology, 2004, 63(3): 65 - 73.
- [22] Mahawong P, Chaiyaprasithi B, Soontrapa S, et al. A role of intravesical capsaicin instillation in benign prostatic hyperplasia with overactive bladder symptoms: the first reported study in the literature [J]. Journal of the Medical Association of Thailand, 2007, 90(9): 1821 - 1827.
- [23] Payne C K, Mosbaugh P G, Forrest J B, et al. Intravesical resiniferatoxin for the treatment of interstitial cystitis: a randomized, double-blind, placebo controlled trial [J]. Journal of Urology, 2005, 173(5): 1590 - 1594.
- [24] Rios L A, Panhoca R, Jr M D, et al. Intravesical resiniferatoxin for the treatment of women with idiopathic detrusor overactivity and urgency incontinence: A single dose, 4 weeks, double-blind, randomized, placebo controlled trial [J]. Neurourology and Urodynamics, 2007, 26(6): 773 - 778.
- [25] 苗广占,贾民,张晓宇. 独一味胶囊联合电针治疗经尿道前列腺电切术后膀胱痉挛的临床观察[J]. 中国中医急症, 2015, 24(12): 2277 - 2279.
- [26] 曹洽列,林考兴,王鑫洪,等. 间苯三酚防治经尿道前列腺电切术后膀胱痉挛的疗效及安全性[J]. 山东医药, 2014, 54(01): 94 - 95.
- [27] 徐玲,周彩梅,刘艳,等. 经尿道前列腺电切术后膀胱痉挛原因分析及护理措施[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015(27): 180 - 181.
- [28] 吴阶平. 吴阶平泌尿外科学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2003: 1219.
- [29] 王静. 前列腺电切术后并发膀胱痉挛的原因调查及循证护理的应用价值[J]. 国际医药卫生导报, 2016, 22(19): 3020 - 3022.
- [30] 张爱建. 膀胱黏膜上皮与膀胱过度活动症关系的研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志, 2012, 32(05): 662 - 665.

(上接第 229 面)

- [19] 王俊岭. 遗传性小脑共济失调基因诊断平台的建立及新的致病基因的定位与克隆[D]. 中南大学, 2014.
- [20] Donghua Cao, Xiaoli Liu, Guangbin Qiu. Genotyping and prenatal diagnosis of a large spinocerebellar ataxia pedigree in northeastern China [J]. Journal of Genetics, 2011, 90(2): 369 - 372.
- [21] 吴英,魏倩倩,商慧芳. 脊髓小脑共济失调基因型分布及临床特点分析[J]. 中国实用内科杂志, 2014, 34(5): 512 - 514.
- [22] 郭奕斌. 基因诊断中测序技术的应用及优缺点[J]. 遗传, 2014, 36(11): 1121 - 1130.
- [23] 韩彤. 肥大性下橄榄核变性[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2012, 12(1): 54 - 9.
- [24] 包新华,吴晔,熊晖,等. Alpers 综合征的临床与病理特点及基因突变分析[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(24): 1911 - 1913.
- [25] 吴忠伟. 肥大性下橄榄核变性磁共振成像诊断分析[J]. 交通医学, 2015, 29(2): 162 - 166.
- [26] 李蕾,何志义,赵奕楠,等. 脑桥被盖部出血继发肥大性下橄榄核变性二例[J]. 中华神经科杂志, 2010, 43(8): 594 - 596.
- [27] 葛云皓,张付良,张俊红,等. 双侧肥大性下橄榄核变性 1 例报告并文献复习[J]. 中风与神经疾病杂志, 2013, 30(8): 748 - 749.
- [28] 刘凤斌,李建福,陈晓芳,等. 以 miRNA 为基础的 RNA 干扰线粒体相关基因 TFAM 和 POLG 的研究[J]. 军医进修学院学报, 2011, 32(9): 952 - 955.
- [29] 李梨,刘智敏. 细胞色素 C 氧化酶与神经疾病研究现状[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(21): 3217 - 3219.