

# 家族性高胆固醇血症家系低密度脂蛋白受体基因突变分析

夏军辉<sup>2</sup>, 王绿娅<sup>1</sup>, 勇强<sup>1</sup>, 潘晓冬<sup>1</sup>, 易光辉<sup>2</sup>

(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; 载脂蛋白 B; 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,临床特点为血浆胆固醇大幅增高、特征性黄色瘤和早发冠心病,同时具有阳性家族史。低密度脂蛋白受体(LDLR)基因突变是引起 FH 最主要的原因。本研究对一临床诊断为纯合子 FH 先证者及其父母进行基因突变分析,以从分子水平探讨其发病机制。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

先证者系女性,肘、膝、踝关节等处有黄色瘤,双眼有明显角膜弓,心绞痛频繁发作。收集先证者及其父母空腹 12 h 外周血 4 mL,2 mL 用于血脂测定,另外 2 mL,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 载脂蛋白 B 3500 位点突变检测

用巢式 PCR 结合 DNA 测序分析。

### 1.4 载脂蛋白 B 基因第 29 外显子 N431S SNP 位点检测

采用巢式 PCR 结合 DNA 测序确认。

### 1.5 低密度脂蛋白受体基因突变分析

PCR 扩增 LDLR 基因包含部分内含子在内的全部外显子序列以及启动子,共 21 个片段。聚合酶链反应—单链构象多态性分析(PCR-SSCP),银染观察特异条带。

### 1.6 聚合酶链反应产物测序

将有异常单链构象条带的 PCR 产物直接送测序公司测序。

## 2 结果

### 2.1 血脂水平

先证者及其父母血脂水平见表 1。

### 2.2 载脂蛋白 B 3500 位点突变情况

先证者载脂蛋白 B 基因 3500 位点未见突变,可排除载

脂蛋白 B100 基因与 LDLR 结合部位缺陷造成的高胆固醇血症。

表 1. 患儿及父母血脂水平分析

	年龄 (岁)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)	载脂蛋白 AI(g/L)	载脂蛋白 B100(g/L)
患儿	14	14.51	1.74	2.87	10.85	1.32	1.09
父亲	40	6.70	1.20	1.01	5.14	1.39	1.01
母亲	40	6.81	1.92	1.31	4.62	1.38	0.86

### 2.3 异常条带测序情况

先证者及其母亲存在 1 个完全一致的错义突变,为杂合突变,发生在第 14 外显子,即 LDLR 基因第 2054 位碱基存在 C→T 置换,氨基酸改变为脯氨酸→亮氨酸,即 P664L 突变。

## 3 讨论

根据先证者血清胆固醇为 14.51 mmol/L,多部位黄色瘤和早发冠心病,并由高胆固醇血症遗传病史,诊断为纯合子 FH。SSCP 结合 DNA 测序发现,该患儿 LDLR 基因的 1 条等位基因上携带有与其母亲一致的错义突变,即第 14 外显子第 2054 位碱基发生 C→T 置换,为 P664L 杂合突变;另一条等位基因上未发现此突变,推测该患儿另一条等位基因上可能携带有与其父亲一致的突变,因此该患儿为复合型杂合子,即患儿的两条等位基因上携带两种不同的 LDLR 基因突变,分别来自母亲和父亲。而在 LDLR 的 18 个外显子上未发现其他任何致病突变,说明另一种致病的突变可能发生在 LDLR 的非外显子区域;此外,患儿及其父母可排除载脂蛋白 B 基因 Q3500R 位点突变,患儿父亲血清胆固醇水平也达 6.7 mmol/L,提示患儿及其父亲可能携带其他致病基因的突变。

P664L 突变位于 LDLR 的表皮生长因子前体同源域,此结构为受体与配体在胞浆的内吞体中酸依赖性解离所必需,突变可能影响 LDLR 的再次循环利用,属再循环缺陷。国外曾报道 P664L 突变可引起培养的细胞对 LDL 结合能力降低和受体前体蛋白加工延迟。但该突变在国内为首次报道,患儿及母亲均有高胆固醇血症并携带 P664L 杂合突变,因此它可能是该患儿的致病原因之一。

(此文编辑 文玉珊)

[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。