

[11] 周纳禧,林联铎,龙兆麟,等. 烧伤创面细菌学检查及药敏分析[J]. 中国医药科学,2014,6(12):47-49.

[12] 吴肖锋. 烧伤创面分泌物细菌培养及药敏结果分析[J]. 医学检验,2011,20(3):76.

[13] 朱晓浩,卢莉莉. 烧伤病区细菌培养及耐药性的分析[J]. 临床外科杂志,2006,14(9):587-588.

[14] 杨文坤,付建荣,张艳红. 烧伤创面细菌分布及药物敏感率的分析[J]. 中国实验诊断学,2010,11(1):1758-1760.

[15] 孙即彬. 临床常用消毒剂对烧伤创面细菌抑菌作用的比较[J]. 镇江医学院学报,2009,11(2):192.

[16] 孙永华,孙迎放. 现代烧伤治疗与手术图谱[M]. 北京:北京人民军医出版社,2003.

[17] Rafla K,Treget EE. Infection control in the burn unit[J]. Burns, 2010,10(1):16.

[18] Rabih O,Darouiche MD, Matthew J, et al. Chlorhexidine-alcohol versus povidone-iodine for surgical-site antisepsis[J]. New Engl J Med,2010,362(1):18-26.

[19] 梁艳. 临床常用消毒剂对烧伤创面细菌抑菌作用的比较[J]. 中国

冶金工业医学杂志,2007,24(1):118.

[20] 董力新,夏炎,姜波健. 临床常用消毒剂对烧伤创面细菌抑菌作用的比较研究[J]. 海南医学,2004,15(4):23-24.

[21] 李群丽. 碘伏用于烧伤创面的临床观察[J]. 天津护理,2011. 12(9):276

[22] 潘丽沁. 酸性氧化电位水在大面积烧伤病人的临床应用[J]. 国际医药卫生导报,2008,14(1):41-42.

[23] Nakae H, Inaba H. Electrolyzed strong acid aqueous solution irrigation promotes wound healing in a bum wound model[J]. Artif Organs,2010,24(7):544-546.

[24] Kiura H,Sano K,Morimatsu S,et al. Bactericidal activity of electrolyzed Acid water from solution containing sodium chloride at low concentration,in comparison with that at high concenat[J]. J Microbiol Methods,2012(49):285-293.

[25] 赵超莉,谢卫国,李艳萍,等. 强氧化离子水对烧伤Ⅱ度创面杀菌疗效评价[J]. 中华医院感染学杂志,2010,12(4):293-294.

(收稿日期:2015-02-12)

• 综 述 •

# 端粒、端粒酶基因及其突变在肝癌发生发展中的研究进展

刘 霖<sup>1</sup>综述,胡大春<sup>2△</sup>审校

(1. 昆明医科大学,云南昆明 650000;2. 昆明市第一人民医院检验科,云南昆明 650000)

关键词:端粒; 端粒酶; 突变; 肝癌

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 12. 053 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2015)12-1762-04

研究者凭借对端粒的功能和维持机制的阐述在 2009 年获得了诺贝尔医学奖<sup>[1]</sup>,这些研究者发现了端粒是一段位于真核生物线性染色体末端的 DNA-蛋白复合体,通过防止染色体的末端融合来维持染色体的稳定,端粒酶通过对端粒的损伤后修复来维持端粒的稳定。在这篇综述中,阐述的是这些发现在肿瘤中的应用。在人体细胞中,限制细胞生长的两个机制:衰老和生长停滞是防止癌症的有效机制,当平均端粒长度达到大约 5 Kbp 时通过 DNA 损伤启动了复制衰老,当平均端粒长度达到 1~3 kbp 时大量的基因处于不稳定状态而引起生长停滞甚至细胞死亡。大部分的人体细胞通过细胞的衰老死亡和复制停滞来平衡体内的细胞生长,当端粒稳定或者端粒酶再激活时,细胞就会继续生长,打破限制细胞生长的规律,这是肿瘤发生的重要机制。而端粒酶的突变时往往能引起端粒酶的再激活。在众多研究者的实验中发现,不论什么原因引起的肝癌患者的端粒酶发生突变的频率很高,端粒酶的 SNP 位点突变还有可能会影响肝癌患者的预后。

## 1 端粒与端粒酶

端粒是一段由双链 DNA 组成 5~15 kb 长,位于所有真核生物线性染色体末端的 DNA-蛋白质复合结构。其 3'末端为一条长度 30~200 核苷酸富含 G(鸟嘌呤)T(胞嘧啶)端的单链悬挂。3'末端通过与双链的端粒 DNA 形成一个套索状结构-T 环<sup>[2]</sup>,防止染色体末端融合和重排。DNA 复制期间需要一个 RNA 引物来启动 DNA 复制,当 DNA 聚合酶沿着模板链移动的时候,这个引物会游离出来,在染色体末端留下一个缺口,这

就导致了新合成的 DNA 链比起始链要短。端粒就是通过修复这一段 DNA 片段的丢失来维持染色体的稳定性的。端粒功能的重要性早在 19 世纪 40 年代已经被发现,但是其包含关键结构的机制在今天仍然没有被明确的阐述<sup>[3]</sup>。随着细胞分裂,端粒的长度也会缩短,大部分正常的体细胞每一次细胞分裂周期都会丢失大概 50~100 bp 的端粒重复 DNA。当端粒的长度缩短到一个临界值时,DNA 损伤应答机制就会诱导依赖 p53 的 G1/S 细胞周期停止,称作复制衰老。因此,端粒的功能不仅作为“帽子”保护染色体末端不受融合、降解和重组的损伤,也能作为估计细胞老化的生物钟<sup>[4]</sup>。

一些调查者在寻找解决“末端复制问题”的方法时候发现了端粒酶<sup>[5]</sup>—位于真核生物染色体末端的一种高度特异化核蛋白复合物,为端粒 DNA 延长提供 RNA 模板序列<sup>[6]</sup>。它是一种逆转录酶,能利用自身 RNA 为模板从头合成 DNA 序列,弥补端粒 DNA 在复制中的丢失,解决末端复制问题,维持端粒长度的稳定,赋予细胞无限增殖的能力。端粒酶由一个端粒酶 RNA 组分(TERC)和逆转录催化亚基(TERT)组成的复合物<sup>[7]</sup>。具有催化活性的 TERT 蛋白以及 TERC 成分中的短序列 RNA 作为模板来合成端粒 DNA。端粒酶在胚胎干细胞和静止的正常干细胞分化而来的增殖祖细胞中维持着基因组的完整性,但是在人类组织的体细胞中,端粒酶是不表达的<sup>[4]</sup>。早在 19 世纪 90 年代的早期,端粒、端粒酶衰老和癌症之间关系已经被发现,这个发现为肿瘤在生物学研究方面开辟了一个全新的领域,也是一个抗肿瘤治疗的有前景和有革新意义的途

径<sup>[8-9]</sup>。在 1994 年,一项叫做端粒重复扩增法(TRAP)的实验被创造<sup>[10]</sup>,这个方法能检测肿瘤细胞中表达分子量小的端粒酶,敏感度高,是目前测定端粒酶活性的主要方法。但是由于其敏感度高,所以易受外界因素的影响,容易产生假阳性。因此有学者对 TRAP 进行了优化,通过增加引物、定量 TRAP、毛细管电泳分析 TRAP 产物和纯化端粒酶等方法提高 TRAP 的灵敏度和可靠性。但是由于 TRAP 对端粒末端的 G 四聚体敏感度很低,端粒被测样本很难处理,所以对端粒及端粒酶的检测一直未广泛的应用于临床<sup>[11]</sup>。

## 2 端粒、端粒酶与癌症

**2.1 端粒、端粒酶对细胞衰老的影响** 人体细胞中,限制细胞生长的两个机制:衰老和生长停滞是防止癌症的有效机制,当平均端粒长度达到大约 5 Kbp 时通过 DNA 损伤启动了复制衰老,当平均端粒长度达到 1~3 kbp 时大量的基因处于不稳定状态从而引起生长停滞甚至细胞死亡。大部分的人类细胞通过细胞死亡来维持细胞生长平衡,但是在很少的一些细胞会获得像端粒酶过度表达这样的可以维持或延长端粒的机制。

细胞逃过生长停滞期通常有两个标志:端粒的稳定和端粒酶表达的再激活,这些很少的细胞就会继续生长,在癌变的过程中,这是一个重要的步骤。在实验中缺乏端粒酶活性的小鼠可以通过 p53 旁路的作用来抵抗癌症的发展<sup>[12]</sup>,但是 TERT 的过度表达在不同老鼠模型中和增长的自发性肿瘤发病率相关<sup>[13]</sup>。

处于癌症的发展过程中的肿瘤细胞是通过连续遗传和表观基因的改变来逃避正常组织结构和功能的自稳。在肿瘤逃避机制中,激活端粒酶是通过绕过“复制衰老”和“复制危险”所导致的细胞死亡从而存活的重要机制之一。比起正常细胞端粒酶的低表达或者不表达,肿瘤细胞的端粒酶都为阳性且这些细胞常常都有较短的端粒。

**2.2 端粒酶在癌症中的表达** 通过对不同类型肿瘤的研究显示,端粒酶的活性在大约 85% 的人类癌细胞中会出现上调,但是在其他大部分正常体细胞中几乎不能被检测<sup>[10]</sup>。这使端粒酶在大部分肿瘤中成为一个有潜力的生物标志。而且,端粒酶的水平 and 不同肿瘤患者的预后的严重程度有关,所以端粒酶可能成为一个临床结局的预测指标。在临床研究中,端粒酶活性是众多肿瘤能够无限生长的重要途径。有研究证明,在常见的恶性肿瘤中端粒酶活性阳性检出率:胃癌 85%,肺癌 80.1%,肝癌 85%,乳腺癌 85%,胰腺癌 95% 等。相关研究发现,端粒酶的基因突变是导致端粒酶高表达的重要原因之一。

## 3 端粒酶突变与癌症

**3.1 端粒酶突变位点与 mRNA 水平** 一个大型的实验对超过 30 000 名欧洲病患和 45 000 名对照的 DNA 样本进行了全基因组扫描发现 TERT 基因座的 rs401681SNP 位点和肺癌、膀胱、前列腺和宫颈癌等关联,占调查癌症类型的 5/16,另外 rs 2736098SNP 位点也与很多类型癌症相关,说明不同的 SNP 位点为癌症的相关性也不同<sup>[14]</sup>。Wu 等<sup>[15]</sup>通过对 302 名患有不同种类的泌尿系统癌症患者的 TERT 启动子突变基因和临床的联系进行了研究,并通过所有的基因扫描数据,用计算染色体不稳定积分计算出伴有 TERT 启动子突变的患者的积分要比不伴有 TERT 启动子突变的患者明显要高。这个结果说明 TERT 启动子突变可能和肿瘤细胞的克隆和修复肿瘤基因有关。TERT 启动子突变也在膀胱上皮细胞癌、肝癌、恶性胶

质瘤、少突胶质细胞瘤和粘液型脂肪肉瘤中被发现,但是没有在胸部、结肠的癌症中发现<sup>[16]</sup>。

另外一些研究者对 105 名前列腺抗原(PSA)升高和 68 名健康的志愿者的 hTERT mRNA 水平进行检测发现,高水平的血浆 hTERT mRNA 水平和肿瘤的临床病理有联系。这是第 1 个报道 hTERT mRNA 与前列腺癌不良预后的重要关系。虽然患者生化复发率的数量是有限的,但是这个研究的结果仍然能说明 hTERT mRNA 是一个重要的预后复发因素<sup>[17]</sup>。有几位学者在其他类型肿瘤中也已经有了类似的发现<sup>[18-19]</sup>。端粒酶复合基因功能丢失的突变会降低端粒的活性,临床上证明可以导致骨髓的衰竭,而骨髓的衰竭经常会导致急性髓系白血病(AML)<sup>[20]</sup>。因此 Yan 等<sup>[21]</sup>对 72 名患有 AML 患者的骨髓进行了 TERT 和 TERC 基因位点的扫描发现,有 3 个 TERT 的突变位点是确定的(n896G>A, n1079C>G, n1451G>C)。还发现 AML 患者的悬挂末端长度比正常的要短得多。AML 患者的短悬挂末端可能预测不好的预后,这些发现还需要一些更大型更有前景的实验来证明。

**3.2 端粒酶突变机制** 以上实验都说明端粒酶的突变和再激活或再表达已经被认为是人类癌症的一个普遍的特点,尽管基因机制在很多类型的癌症中还没有充分的了解。大多的突变都发生在 TERT 两个热点位置:位于-124 和-146bp 从 ATG 开始上游区域(-124G>A, -146G>A, 在反义链中 C>T),可以加强 TERT 启动子的活性<sup>[22-23]</sup>。有研究者对 741 名甲状腺、肾脏、膀胱原发肿瘤、胃肠道基质瘤、肾上腺髓质瘤和中枢神经系统肿瘤的患者进行了 TERT 突变基因的检查,发现除了黑色素瘤 TERT 启动子-124G>A, -146G>A 两个位点突变率高以外,上述肿瘤在这两个突变热点的突变率也很高,而且在甲状腺肿瘤中 TERT 启动子的突变和 TERTmRNA 的高表达有重要的关系<sup>[24]</sup>。

## 4 端粒酶基因突变与肝癌及其预后

**4.1 肝细胞性肝癌** 肝癌是严重威胁人类健康的常见的恶性肿瘤,研究者所说的肝癌一般为原发性肝癌,原发性肝癌病理学分类可分为肝细胞癌、胆管细胞癌和混合细胞癌,90% 以上的原发性肝癌都为肝细胞肝癌。肝细胞肝癌(HCC)在肿瘤的多发性中居第 6 位,在肿瘤的病死率中居于第三<sup>[25]</sup>。有超过 80% 的 HCC 是由甲型肝炎病毒和丙型肝炎病毒引起的感染、酒精的摄入、肥胖和一些罕见的遗传疾病等原因所引起的肝硬化而发展而至的<sup>[26]</sup>。

**4.2 端粒酶突变与癌症的研究** 一些研究者发现在中枢神经系统、膀胱、甲状腺和皮肤的癌症中存在经常性的 TERT 启动子的突变<sup>[24]</sup>。因此,有研究者运用 sanger 测序和定量实时 PCR 的方法对 401 份,其中 305 份样本为 HCC,60 份为典型的肝细胞腺癌,16 份为肝细胞腺癌恶性转移,20 份为肝硬化样本,冰冻的肝癌样本的 TERT 启动子基因突变进行了分析。发现在 59% 的 HCC 和 25% 伴随或不伴有增生的肝硬化中发生了 TERT 启动的突变,在肿瘤前病变肝硬化和 HCC 中 TERT 启动子突变都是最常发生的基因改变,在伴有恶性转移的肝细胞腺癌中检测到 TERT 启动子的突变而典型不伴有异常增生的肝细胞腺癌中没有检测到,在癌前病变中 TERT 启动子的突变在肿瘤基因改变中是最早发生的。这说明 TERT 启动子的突变在肝癌患者中更常见,而且在有恶性转移的肝癌中更容易被检测到,那么 TERT 启动子的突变是否与肝癌的

严重程度有关系<sup>[27]</sup>。有研究者对 1 559 名与 HBV 相关 HCC 患者和 780 名 HBV 阳性对照组患者的 20 个端粒维持基因 SNP 位点进行了检测并对患者的预后进行随访发现,端粒酶相关蛋白 1(TEP1)rs1713449SNP 位点突变会大大增加 HCC 发展的风险,另外 TEP1rs1713449,TEP1rs872072 等 5 个位点位点对患者的存活也有重要的影响。当这些肝癌患者只有 2 个或者是更少高风险的基因型时,他们的平均生存时间为 85 个月,而当肝癌患者拥有 3 个或者更多的高危基因型时,他们的平均生存时间仅为 44 个月,以上发现建议端粒酶维持基因 SNP 位点在慢性乙肝引起的肝癌的发展和预后中是一个有潜力的指标<sup>[28]</sup>。

**4.3 端粒酶突变与 HCC 的研究** 端粒酶和 hTERT 已经在 80%~91% 的 HCC 患者中被检测出来。在 Saini 等<sup>[29]</sup> 对非病毒引起的 HCC 和慢性肝炎中端粒酶活性的检测试验中发现,在 76% 的 HCC 和 11.8% 慢性肝炎患者端粒酶是阳性,HCC 患者的平均端粒长度比慢性肝炎患者的平均端粒长度要短得多,端粒的缩短会引起端粒酶活性的增加,这说明端粒酶与 HCC 有着密切的关系,那影响端粒酶活性的基因突变,也会对 HCC 造成影响。TERT 启动子突变是在 HCC 中最常见的体细胞基因变异,在肝硬化病变中也是最经常发生的基因体细胞突变<sup>[27]</sup>。在一个病例分析中,笔者建议患有各种原因肝硬化的患者以及其他肝脏疾病的患者应该进行 TERT 突变基因的检测以便针对疾病能制定个性化的治疗<sup>[30]</sup>。一些研究显示,TERT 在肝癌的诊断和治疗中都有很大的前景,特别是做为治疗靶点,可能会成为分子水平治疗癌症的一个重要的生物标志。一种名叫 GV1001 的药物是通过激活机体对端粒酶的免疫从而制造出的药品,它已经通过了一期和二期临床实验,第一阶段的三期临床实验也已经完成,且此药物对肿瘤细胞是有效的,三期临床的第二阶段实验对象为 1 110 癌症患者的实验正在进行中<sup>[8]</sup>。

综上所述,端粒酶在癌症的发生发展过程中都扮演着非常重要的角色,端粒酶的基因突变会影响癌症的发生及严重程度和预后,而 HCC 的预后是肝癌疾病管理一个很重要的方面。因此通过临床或者基础实验来研究端粒酶的组分或者其基因突变对肝癌及其预后的影响,在对肝癌的诊断治愈方面,有着重要的临床意义。

## 参考文献

- [1] Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts [J]. Cell, 1985, 43(2 Pt 1): 405-413.
- [2] Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop [J]. Cell, 1999, 97(4): 503-514.
- [3] Stewart SA, Bertuch AA. The role of telomeres and telomerase in cancer research [J]. Cancer Res, 2010, 70(19): 7365-7371.
- [4] Mocellin S, Pooley KA, Nitti D. Telomerase and the search for the end of cancer [J]. Trends Mol Med, 2013, 19(2): 125-133.
- [5] Greider CW, Blackburn EH. A telomeric sequence in the RNA of Tetrahymena telomerase required for telomere repeat synthesis [J]. Nature, 1989, 337(6205): 331-337.
- [6] Morrish TA, Greider C W. Short telomeres initiate telomere recombination in primary and tumor cells [J]. PLoS Genet, 2009, 5(1): e1000357.
- [7] Blackburn EH. Switching and signaling at the telomere [J]. Cell, 2001, 106(6): 661-673.
- [8] Harley CB. Telomerase and cancer therapeutics [J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8(3): 167-179.
- [9] Calado RT, Young NS. Telomere diseases [J]. N Engl J Med, 2009, 361(24): 2353-2365.
- [10] Kim NW, Piatyszek MA, Prowse K R, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer [J]. Science, 1994, 266(5193): 2011-2015.
- [11] Zhou X, Xing D. Assays for human telomerase activity: progress and prospects [J]. Chem Soc Rev, 2012, 41(13): 4643-4656.
- [12] Feldser DM, Greider CW. Short telomeres limit tumor progression in vivo by inducing senescence [J]. Cancer Cell, 2007, 11(5): 461-469.
- [13] Gonzalez-Suarez E, Samper E, Ramirez A, et al. Increased epidermal tumors and increased skin wound healing in transgenic mice overexpressing the catalytic subunit of telomerase, mTERT, in basal keratinocytes [J]. EMBO J, 2001, 20(11): 2619-2630.
- [14] Rafnar T, Sulem P, Stacey SN, et al. Sequence variants at the TERT-CLPTM1L locus associate with many cancer types [J]. Nat Genet, 2009, 41(2): 221-227.
- [15] Wu S, Huang P, Li C, et al. Telomerase reverse transcriptase gene promoter mutations help discern the origin of urogenital tumors: a genomic and molecular study [J]. Eur Urol, 2014, 65(2): 274-277.
- [16] Killela PJ, Reitman ZJ, Jiao Y, et al. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(15): 6021-6026.
- [17] March-Villalba JA, Martinez-Jabaloyas JM, Herrero MJ, et al. Cell-free circulating plasma hTERT mRNA is a useful marker for prostate cancer diagnosis and is associated with poor prognosis tumor characteristics [J]. PLoS One, 2012, 7(8): 43470.
- [18] Miura N, Nakamura H, Sato R, et al. Clinical usefulness of serum telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA and epidermal growth factor receptor (EGFR) mRNA as a novel tumor marker for lung cancer [J]. Cancer Sci, 2006, 97(12): 1366-1373.
- [19] Miura N, Osaki Y, Nagashima M, et al. A novel biomarker TERT-mRNA is applicable for early detection of hepatoma [J]. BMC Gastroenterol, 2010, 10(1): 46.
- [20] Calado RT, Regal JA, Kajigaya S, et al. Erosion of telomeric single-stranded overhang in patients with aplastic anaemia carrying telomerase complex mutations [J]. Eur J Clin Invest, 2009, 39(11): 1025-1032.
- [21] Yan S, Han B, Wu Y, et al. Telomerase gene mutation screening and telomere overhang detection in Chinese patients with acute myeloid leukemia [J]. Leuk Lymphoma, 2013, 54(7): 1437-1441.
- [22] Horn S, Figl A, Rachakonda P S, et al. TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma [J]. Science, 2013, 339(6122): 959-961.
- [23] Huang FW, Hodis E, Xu M J, et al. Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma [J]. Science, 2013, 339(6122): 957-959.
- [24] Vinagre J, Almeida A, Populo H, et al. Frequency of TERT promoter mutations in human cancers [J]. Nat Commun, 2013, 4(1): 2185.

- [25] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008; GLOBOCAN 2008 [J]. Int J Cancer, 2010, 127 (12): 2893-2917.
- [26] Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma [J]. Lancet, 2012, 379(9822): 1245-1255.
- [27] Nault JC, Mallet M, Pilati C, et al. High frequency of telomerase reverse-transcriptase promoter somatic mutations in hepatocellular carcinoma and preneoplastic lesions [J]. Nat Commun, 2013, 4 (1): 2218.
- [28] Jung SW, Park NH, Shin JW, et al. Prognostic impact of telomere maintenance gene polymorphisms on hepatocellular carcinoma pa-

tients with chronic hepatitis B [J]. Hepatology, 2014, 59 (5): 1912-1920.

- [29] Saini N, Srinivasan R, Chawla Y, et al. Telomerase activity, telomere length and human telomerase reverse transcriptase expression in hepatocellular carcinoma is independent of hepatitis virus status [J]. Liver Int, 2009, 29(8): 1162-1170.
- [30] Valenti L, Dongiovanni P, Maggioni M, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma in a patient with a novel telomerase mutation and steatosis [J]. J Hepatol, 2013, 58(2): 399-401.

(收稿日期: 2015-01-08)

• 综 述 •

## 线粒体脑肌病相关的线粒体 DNA 突变

陈 怀 综述, 裘申忠<sup>△</sup> 审校

(富阳区第一人民医院神经外科, 浙江富阳 311400)

**关键词:** 线粒体 DNA; 线粒体脑肌病; 热点突变

**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 12. 054

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2015)12-1765-04

线粒体 DNA(mtDNA)或核 DNA 突变可造成线粒体结构形态或(和)功能发生异常,由此导致的以神经肌肉系统(脑和肌肉组织)受累为主的多系统疾病,称为线粒体脑肌病。mtDNA 突变是导致神经肌肉系统发生病变的重要原因之一。早在上世纪 70 年代,有研究者在患有脑肌病儿童的肌肉组织中首次发现了线粒体形态的畸变和呼吸链功能的缺陷,提示线粒体功能异常可能与该疾病有关<sup>[1]</sup>。1988 年, Holt 等<sup>[2]</sup>首先报道了 mtDNA 大片段缺失导致慢性进行性眼外肌麻痹(CPEO)和 Kearne-Sayre 综合症的病例;同年,Wallace 等<sup>[3]</sup>发现了首个与 Leber 遗传性视神经病变(LHON)相关的 ND4 G11778A 突变。mtDNA 突变导致的线粒体功能异常在神经肌肉系统疾病领域的重要作用逐渐引起人们的关注。目前,已发现两百余种 mtDNA 突变与线粒体脑肌病相关,突变类型包括点突变、缺失突变及重复突变等,且存在热点突变<sup>[4]</sup>。本文简要介绍了线粒体脑肌病相关的 mtDNA 热点突变及其分子致病机制。

### 1 线粒体 DNA 和线粒体疾病

线粒体是产生 ATP 和氧自由基的主要细胞器,调控细胞信号转导、凋亡和衰老等生命活动。线粒体具有自身的基因组,即 mtDNA,是人体细胞内唯一的核外遗传物质。人类 mtDNA 长度为 16 569 bp,为环状双链 DNA 分子,包含一个 D-loop 调控区,编码 37 个基因,即编码线粒体蛋白质合成所需的 22 个 tRNA 基因,2 个 rRNA(12S rRNA 和 16S rRNA)基因和编码呼吸链复合物的 13 个多肽基因。虽然线粒体具有一套独立的复制、转录和翻译系统,但绝大多数的线粒体蛋白仍由核基因编码。人细胞含有数个至数千不等的线粒体,每个线粒体携带 2~10 拷贝的 mtDNA 分子。若细胞或组织中的所有 mtDNA 全部为突变型 mtDNA 或全部为野生型 mtDNA,即为同质性;若同一细胞或组织中同时存在突变型 mtDNA 和野生型 mtDNA,则称之为异质性<sup>[5-6]</sup>。因此,mtDNA 突变的致病性具有阈值效应的特点,即突变型 mtDNA 数目达到一定数

量(阈值),才足以引起器官或组织发生病变。阈值效应和细胞或组织的能量需求密切相关,肌肉、脑和心脏等代谢旺盛、能量需求高的组织和器官更易受 mtDNA 突变的影响<sup>[6]</sup>。

mtDNA 突变导致的线粒体功能障碍常呈现出母系遗传特征,即母亲可将其携带的突变型 mtDNA 遗传给她的下一代,但只有她的女儿才能将这种突变继续遗传给后代。与线粒体疾病相关的 DNA 突变主要位于 tRNA 基因、rRNA 基因及呼吸链复合物亚基的编码基因上,可造成单个组织或器官发生病变,如母系遗传性耳聋、母系遗传性糖尿病及 LHON 等;也可累及多个组织和器官,如线粒体脑肌病、肿瘤等复杂性疾病;而 D-loop 区上的变异大部分属于中性或良性的多态性位点<sup>[4]</sup>。目前,已发现四百余种 mtDNA 突变与人类疾病相关,且存在若干热点突变,如母系遗传性耳聋相关的 12S rRNA A1555G 突变, LHON 相关的 ND4 G11778A、ND1 G3460A 和 ND6 T14484C 突变,线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作(MELAS)相关的 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> A3243G 突变及肌阵挛癫痫伴破碎红纤维(MERRF)相关的 tRNA<sup>Lys</sup> A8344G 突变等<sup>[4]</sup>。mtDNA 突变在线粒体疾病中占有重要地位,且多以异质性形式存在,患者临床表型的严重程度直接与突变的异质程度相关。同质性 mtDNA 突变导致的临床症状一般较轻,如母系遗传性耳聋、LHON 等,而异质性 mtDNA 突变的临床表型往往较为严重,例如 MELAS 和 MERRF 等线粒体脑肌病<sup>[5-6]</sup>。

### 2 线粒体脑肌病

以肌肉和脑组织受累为主的线粒体脑肌病是最常见的一类线粒体疾病,常累及多组织和器官。目前报道的由 mtDNA 突变导致的线粒体脑肌病达十余种,包括 MELAS、MERRF、CPEO、神经肌无力-共济失调-色素性视网膜、Kearne-Sayre 综合征、Leigh 综合征及 LHON 等<sup>[4]</sup>。除了这些典型的临床综合征外,尚有一些中间类型,即各种临床综合征的症状同时出现,表现为叠加综合征。研究发现, MELAS、MERRF 及 LHON