

## · 综 述 ·

## 线粒体基因突变与心血管疾病

刘玲玲 谭端军 王士雯

线粒体(mitochondrion)为细胞的氧化中心和能源供应站。1963 年 Nass 等<sup>[1]</sup>首次发现线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA), Anderson 等<sup>[2]</sup>在 1981 年首次测定了人类 mtDNA 全长核苷酸序列(剑桥序列)。直到 1988 年 Wallace 等<sup>[3]</sup>才首次发现 mtDNA 的病理性突变引起的疾病。近年来随着线粒体功能与心血管疾病关系研究的深入,人们注意到 mtDNA 突变与许多心血管疾病的发病有关<sup>[4]</sup>,本文就此加以综述。

## 1 线粒体基因的结构与特征

人 mtDNA 是唯一存在于细胞染色体外的遗传物质,由 16 569 碱基组成,呈双链超螺旋闭合环状分子。它含有 37 个编码基因(2 个 rRNA, 22 个 tRNA 及 13 个 mRNA)及一段与 mtDNA 复制及转录有关、无编码基因的 D 环区。

mtDNA 与核基因(nuclear DNA, nDNA)主要有 3 个不同方面<sup>[5]</sup>:(1)非孟德尔的母系遗传:线粒体存在于细胞质中,mtDNA 的遗传方式为母系遗传,不遵循孟德尔定律。(2)异质性与阈值效应:每个细胞含有成百上千个线粒体,有害的突变基因常常仅影响部分 mtDNA。因此,细胞、组织中野生型和突变型 DNA 可同时存在,这种现象称为异质性;细胞中所有 mtDNA 等同(野生型或突变型)时,称为同质性。只有当 mtDNA 突变数目达到某一数量(阈值效应)时,才会引起某组织或器官的功能异常而出现临床症状,阈值的高低依赖组织器官对线粒体产生的 ATP 依赖程度。(3)半自主复制与协同作用:mtDNA 有自己的遗传控制系统,具有自我复制、转录和编码功能,同时也需要几十种 nDNA 编码的酶参加,因此 mtDNA 的表达也受 nDNA 的制约,两者具有协同作用。

## 2 线粒体基因突变与疾病

mtDNA 编码基因排列紧凑、无间隔区、部分区域出现基因重叠,任何突变都会累及基因组中的重要功能区域。它位于线粒体的内膜,容易遭受到活性氧自由基侵害,同时缺乏有效修复系统及组蛋白保护,其突变频率远远高于 nDNA,为 nDNA 的 10~20 倍,而且对突变的固定也比 nDNA 快 10~17 倍<sup>[5]</sup>。

mtDNA 中的碱基替换、缺失、重复及插入等变化均可引起疾病的发生。由碱基替换所引起的常见线粒体疾病包括<sup>[6]</sup>:Leber 氏遗传性视神经病,粗糙红纤维病的肌阵挛癫痫,线粒体脑肌病合并乳酸血症及卒中发作综合征等。而 mtDNA 缺失、重复突变常发生在一些视神经疾病及退行性疾病中,与衰老也有一定的关系,如 Kearns-Sayer 综合征、慢性进行性眼外肌麻痹。Parkinson 病、Alzheimer 及 Huntington 病等均是由于 mtDNA 的大范围缺失引起。插入性突变包括有种族性及获得性插入,它们常常是导致畸形、肿瘤及早衰的主要原因。

## 3 线粒体基因突变与心血管疾病

mtDNA 损伤越来越被认为是许多心血管疾病的重要发病原因,目前比较明确与 mtDNA 突变有关的心血管疾病包括有原发性心肌病、心力衰竭、冠心病、高血压病等<sup>[4]</sup>。

3.1 原发性心肌病 原发性心肌病与 mtDNA 突变的关系较早被人们所认识<sup>[7]</sup>。mtDNA 的缺失或 tRNA 点突变与原发性心肌病,特别是有心肌梗厚、房室传导阻滞及充血性心力衰竭等临床表现型的原发性心肌病发病有关。与 mtDNA 突变有关的心肌病可是一组独立的疾病,也可与外周肌病或多系统综合征合并存在,后者常因为心脏受损而预后极差。

Arbustini 等<sup>[7]</sup>对 601 例扩张性心肌病患者进行心内膜活检,85 例有明显线粒体形态学改变者检查了 mtDNA 突变,发现 18 种突变,9 种位于 tRNA、5 种位于 rRNA、4 种错义突变,所有突变均呈异质性,心

收稿日期:2003-06-19

作者单位:100853 北京市,解放军总医院老年心血管病研究所

作者简介:刘玲玲,女,1963 年 5 月生,湖南省安乡县人,医学博士,副主任医师,副教授。Tel:010-66936934

肌组织的突变比例高于血液,而在 111 例正常及 32 例无线粒体形态学改变的患者中未发现这些突变。进一步检测证实,这些具有 mtDNA 突变的心肌组织细胞色素 C 氧化酶活性明显低于其他无 mtDNA 突变的心肌 ( $P < 0.0008$ ), NADH 脱氢酶的活性也有下降 ( $P = 0.0388$ ), 认为 mtDNA 突变对某种临床表现型扩张性心肌病的发生及心脏功能受损的发展起着至关重要的作用。

某家系分析研究发现,原发性心肌病患者在 mtDNA 的 D 环区有 np12192G→A 及 np16138A→T 同质性突变,而其他家族原发性心肌病患者及无原发性心肌病的人群未发现这些位点的改变,认为它们可能与(家族性)原发性心肌病的发生密切相关<sup>[8]</sup>。而且 mtDNA 中编码 tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> 基因 np3260A→G 突变也会引起母系遗传性线粒体肌病和心肌病,该点位于反密码子环柄上,多呈异质性状态,而且突变 mtDNA 所占比例与线粒体呼吸链氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)复合体缺陷严重程度成正比。

扩张型及肥厚型心肌病患者心肌组织中常见多种 mtDNA 缺失突变,最常见的是 7436 片段缺失,它位于 np 8637~16 073,含有 ATP6、COXⅢ、CytB 及 ND 等 8 个编码基因,该片段缺失可造成 OXPHOS 功能严重障碍,ATP 生成显著减少,如 mtDNA 突变积累到一定程度,细胞产生能量低于组织、器官发挥功能所需能量的最低阈值时,心脏功能将会出现不可逆转衰竭。

**3.2 冠心病** 冠心病的发病是环境危险因素与多种易患基因相互作用的结果。传统的冠心病遗传研究主要集中在寻找及确定疾病易患基因,最近的研究表明 mtDNA 体细胞的突变在冠心病发病中起着重要的作用。

因冠状动脉狭窄而造成心肌细胞缺血和反复发生低血氧时,心肌细胞产生大量的氧自由基可对 mtDNA 造成不可逆性的损害,心肌细胞出现永久性的氧化功能障碍。Corral-Debrinski 等<sup>[9]</sup>曾对正常人、缺血性和非缺血性心脏病患者心肌细胞进行了 mtDNA 缺失定量分析,发现缺血性心脏病患者 mtDNA 缺失突变的含量远远超过正常对照组,10 例非缺血性心脏病患者仅 3 例有 mtDNA 缺失突变,其中 2 例是扩张性心脏病患者,而且 mtDNA 的缺失量也明显低于缺血性心脏病组。缺血性心脏病 mtDNA 缺失突变以 4977 bp 常见缺失多见,也可同时伴有 7346 bp、10 472 bp 等缺失<sup>[10]</sup>。mtDNA 大范围突变缺

失的后果十分严重,因为它涉及多个 mtDNA 的基因编码区域,可导致 OXPHOS 障碍,ATP 产生不足,引起组织器官损害。而且心脏缺血的程度越重,心肌细胞缺失突变率越高。

此外,Andreassi 等<sup>[11]</sup>发现冠心病患者基础 DNA 损伤水平明显高于正常人,接受冠状动脉球囊扩张术(PTCA)治疗的患者,外周血淋巴细胞内总 DNA 的氧化损伤程度明显增高,损伤的程度与球囊扩张时间长短呈正比,仅接受冠状动脉造影而未实施 PTCA 的冠心病患者,未见有氧化损伤的进一步增加。我们认为这种因缺血再灌注诱发氧自由基异常产生而造成的总 DNA 氧化性损伤中也包括有 mtDNA 氧化损伤的加重。如前所述,mtDNA 较 nDNA 更容易受到氧自由基的伤害。Yakes 等<sup>[12]</sup>研究发现,mtDNA 在短时间(15 min)暴露于氧自由基时,由于其损伤修复机制的缺陷,mtDNA 损伤较 nDNA 持续更长时间;而在长时间(60 min)暴露于氧自由基时,mtDNA 常常发生不可逆的损伤,而 nDNA 的损伤在 15 min 内可以完全恢复,说明氧自由基对 mtDNA 的伤害较 nDNA 发生更迅速、损伤强度更大。因此可以肯定在 PTCA 术后患者有总 DNA 氧化损伤,而 mtDNA 的损伤也是不可避免的。

**3.3 心力衰竭** 活性氧物质(reactive oxygen species, ROS)与心力衰竭及心肌重构之间存在密切的内在联系。ROS 主要来源于线粒体,它侵犯线粒体内细胞生物大分子如蛋白质、脂质及 DNA,引起心肌细胞结构及功能损伤。ROS 对 mtDNA 造成的损伤主要体现在 mtDNA 的突变、线粒体 RNA 转录异常、蛋白的合成及其功能下降。

心肌梗死后心力衰竭的心脏存在因 ROS 产生增加而造成的 mtDNA 损伤,主要表现在 mtDNA 氧化损伤产物 8-羟基脱氧鸟嘌呤核苷的堆积,mtDNA 拷贝数及 mtRNA 转录数下降<sup>[13]</sup>。由于一定数量 mtDNA 存在是维持线粒体内某些蛋白质正常表达的基本条件,因此 mtDNA 拷贝数减少必定造成线粒体的功能异常,而在心肌梗死后心功能的衰竭、心肌重构的发生及进展过程中可能起着一定的作用。

Li 等<sup>[14]</sup>在 TNF- $\alpha$  诱发的小鼠心力衰竭模型中发现,心肌中修复 mtDNA 损伤的鸟嘌呤 DNA 糖基化酶及碱基切补修复酶的活性明显下降,且对 Fpg 的敏感位点明显增加(即 mtDNA 的损伤增加),同时伴有细胞色素氧化酶 C 的活性明显降低,线粒体的功能减退。

以上研究提示 mtDNA 损伤所造成的线粒体结

构和功能的改变在心力衰竭的发生发展中可能起重要的作用。

**3.4 高血压病** 目前研究明确了某些单基因遗传性高血压如原发性醛固酮增多症、盐皮质激素增多症等的发病相关基因,对多基因遗传模式的原发性高血压发病机制仍不明确。虽然有研究显示一些核基因的多态性与高血压的发病有关,但也仅能解释部分患者的发病。随着线粒体与心血管疾病关系研究的深入,mtDNA 与高血压的发病关系开始逐渐引起人们的关注。

Watson 等<sup>[15]</sup>通过高分辨限制性内切酶分析方法,对正常血压及有高血压病病史、处于肾病晚期的非裔美国人 mtDNA 进行了分析,发现高血压病患者在 10 398A→G、10 086 A→G、6620T→C/6260 G→A、7028 G→A/7055 T→C、2758G→A 及 10 810T→C 6 个位点变异频率高于正常血压组,其中 10 086A→G 在两组间的区别最为明显( $P < 0.0036$ )。他们认为这些突变可能与这组患者高血压病易感性有一定的关系。Shoji 等<sup>[16]</sup>对日本高血压病患者 D 环区基因的多态性分析也发现,高血压组单核苷多态性数目明显高于正常血压组( $P < 0.0111$ ),且基因型 16 223C 在高血压组更常见,认为该基因型可能是高血压病的遗传易患因素之一。张广兰<sup>[17]</sup>等检测妊娠高血压和正常妊娠妇女 mtDNA np3243A 的变异状况及线粒体细胞色素 C 氧化酶活性,未发现 np3243A 变异,而妊娠高血压组细胞色素 C 氧化酶的活性明显低于对照组,表明妊娠高血压病患者存在线粒体的功能失常。

我们的研究也发现高血压患者与正常血压人群比较,具有更高的 mtDNA 变异频率、变异密度,及明显增高的错义突变、碱基颠换率,并且高血压患者具有一定的家族群聚倾向。

上述研究表明,在不同种族、不同类型的高血压病中都存在有 mtDNA 变异或线粒体功能的改变。

**3.5 其他** Lai 等<sup>[18]</sup>发现心房纤颤患者心房肌 mtDNA 常见 4977 缺失突变明显高于无心房纤颤的患者。风湿性心脏病患者心肌中也存在大范围的缺失突变。心脏传导阻滞、心源性猝死、酒精性心肌病及心肌炎等也可能与 mtDNA 的突变有关。

近来关于缺血性心脏病的危险因素与 mtDNA 突变关系的报道也越来越多。如吸烟或高脂血症二者均可以明显增加心血管组织的 mtDNA 损伤,降低线粒体酶活性,二者合并存在时 mtDNA 损伤更加明显,动脉粥样硬化斑块的形成更多<sup>[19]</sup>。另外,作为

冠心病独立危险因素,与胰岛素抵抗有关的同型半胱氨酸高浓度状态可以影响 mtDNA 的数量。Lim 等<sup>[20]</sup>的研究证明,mtDNA 数量、血浆中同型半胱氨酸浓度及胰岛素抵抗之间存在各自独立、而又相互影响的关系。同型半胱氨酸浓度与血总胆固醇、低密度脂蛋白-胆固醇、胰岛素抵抗呈正相关,而恰恰相反,mtDNA 的数量与血浆中的同型半胱氨酸浓度、胰岛素抵抗程度等呈反比,推测 mtDNA 的变异也参与了冠心病的发病过程。

#### 4 前景及展望

综上所述,越来越多的研究表明一些心血管疾病的确与 mtDNA 突变有着密切的关系。然而目前的研究尚处于初始阶段,仅明确了一些心血管疾病中存在的 mtDNA 突变,但这些基因的突变怎样改变其编码蛋白质的结构及功能,这些具有酶学功能的蛋白质又通过何种机制影响线粒体的 OXPHOS、ATP 能量的产生等仍不十分明了,仍待进一步研究予以阐明。

总之,随着 mtDNA 与心血管疾病关系研究的不断深入,有望在不久的将来取得显著进展,并为其基因治疗的实施开拓新的思路和途径。

#### 参考文献

- 1 Nass MMK, Nass S. Fibrous structures within the matrix of developing chick embryo mitochondria. *Exp Cell Res*, 1963, 26: 424-437.
- 2 Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 1981, 290:457-465.
- 3 Wallace DC, Singh G, Lott MT, et al. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science*, 1988, 242:1427-1430.
- 4 Kajander OA, Karhunen PJ, Jacobs HT. The relationship between somatic mtDNA rearrangements, human heart disease and aging. *Hum Mol Genet*, 2002, 11:317-324.
- 5 Schon EA. Mitochondrial genetics and disease. *Trends Biochem Sci*, 2000, 25:555-560.
- 6 Servidei S. Mitochondrial encephalomyopathies: gene mutation. *Neuromusc Disord*, 2000, 10: X-XV.
- 7 Arbustini E, Diegoli M, Fasani R, et al. Mitochondrial DNA mutations and mitochondrial abnormalities in dilated cardiomyopathy. *Am J Pathol*, 1998, 153:1501-1510.
- 8 Shin WS, Tanaka M, Suzuki J, et al. A Novel homoplasmic mutation in mtDNA with a single evolutionary origin as a risk factor for cardiomyopathy. *Am J Hum Genet*, 2000, 67: 1617-

- 1620.
- 9 Corral-Debrinski M, Stepien G, Shoffner JM, et al. Hypoxemia is associated with mitochondrial DNA damage and gene induction. Implications for cardiac disease. *JAMA*, 1991, 266: 1812-1816.
  - 10 Corral-Debrinski M, Shoffner JM, Lott MT, et al. Association of mitochondrial DNA damage with aging and coronary atherosclerotic heart disease. *Mutat Res*, 1992, 275: 169-180.
  - 11 Andreassi MG, Botto N, Rizza A, et al. Deoxyribonucleic acid damage in human lymphocytes after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*, 2002, 40: 862-868.
  - 12 Yakes FM, Houten BV. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 514-519.
  - 13 Ide T, Tsutsui H, Hayashidani S, et al. Mitochondrial DNA damage and dysfunction associated with oxidative stress in failing hearts after myocardial infarction. *Circ Res*, 2001, 88: 529-535.
  - 14 Li YY, Chen D, Watkins SC, et al. Mitochondrial abnormalities in tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced heart failure are associated with impaired DNA repair activity. *Circulation*, 2001, 104: 2492-2497.
  - 15 Watson B Jr, Masood A, Renee KA, et al. Mitochondrial DNA mutations in black Americans with hypertension-associated end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis*, 2001, 38: 529-536.
  - 16 Shoji M, Tsutaya S, Kasai T, et al. Implication of single nucleotide polymorphisms in association study: mitochondrial variations as another genetic markers for hypertension. *Rinsho Byori*, 2002, 50: 497-501.
  - 17 张广兰, 王泽华, 林美华. 线粒体 tRNA<sup>Leu(UR)</sup> 基因突变和细胞色素 C 氧化酶活性降低在妊高症发病中的作用. *中华妇产科杂志*, 1999, 34: 403-405.
  - 18 Lai LP, Tsai CC, Su MJ, et al. Atrial fibrillation is associated with accumulation of aging-related common type mitochondrial DNA deletion mutation in human atrial tissue. *Chest*, 2003, 123: 539-544.
  - 19 Knight-Lozano CA, Young CG, Burow DL, et al. Cigarette smoke exposure and hypercholesterolemia increase mitochondrial damage in cardiovascular tissues. *Circulation*, 2002, 105: 849-854.
  - 20 Lim S, Kim MS, Park KS, et al. Correlation of plasma homocysteine and mitochondrial DNA content in peripheral blood in healthy women. *Atherosclerosis*, 2001, 158: 399-405.

## · 消 息 ·

### 国际肝胆胰协会中国分会第一届学术研讨会(征文通知)

国际肝胆胰协会成立近 10 年, 举办过 5 届学术研讨会, 他们的工作在国际肝胆胰外科领域获得广泛认可和赞扬。国际肝胆胰协会下属有三个洲际组织, 即美洲、欧洲和非洲以及亚太地区的肝胆胰协会; 另外, 一些较大的国家还成立了国家分会。经与国际肝胆胰协会协商, 他们正式同意在中国(包括香港、澳门和台湾地区) 成立一个分会, 名称为国际肝胆胰协会中国分会(The Chinese Hepato - Pancreato - Biliary Chapter of the International Hepato- Pancreato-Biliary Association)。按照国际肝胆胰协会规定, 中国分会每 2 年召开一次学术研讨会, 第一届学术研讨会将于 2004 年 12 月上旬在武汉召开。会议征稿内容包括: (1) 肝胆胰疾病的基础研究; (2) 肝胆胰疾病的影像学诊断; (3) 肝胆胰良、恶性肿瘤; (4) 肝胆胰炎性疾病; (5) 肝胆胰外伤; (6) 肝胆胰结石; (7) 肝硬化门静脉高压症; (8) 内镜技术在肝胆胰疾病中的应用; (9) 腔镜技术在肝胆胰疾病中的应用; (10) 冷冻、微波、射频、X 刀和  $\gamma$  刀等技术; (11) 肝胆胰疾病的营养问题; (12) 抗生素在肝胆胰疾病中的应用; (13) 肝胆胰恶性肿瘤的免疫治疗; (14) 肝胆胰恶性肿瘤介入治疗和化疗问题; (15) 肝移植; (16) 胰腺移植; (17) 肝胆胰手术中的止血技术或止血剂的应用; (18) 肝胆胰围手术期护理。

欢迎从事肝胆胰疾病基础研究、影像诊断以及内、外科医生积极投稿。

文章请寄: 武汉华中科技大学同济医院肝胆胰外科研究所, 黄志勇副教授或陈孝平教授收(湖北武汉市汉口解放大道 1095 号) 邮编: 430030

E-mail: Chenxp\_53@163.com