

· 临床研究 ·

线粒体DNA点突变有关的中国大家族母系遗传性高血压研究

孙俊芳, 高进辽, 李宗斌, 蓝云峰, 杨洁, 李泱, 刘昱圻*

(解放军总医院老年心血管病研究所, 北京 100853)

【摘要】目的 研究具有母系遗传性特点的原发性高血压中国大家族临床与遗传学特点。**方法** 对入选的1865例原发性高血压患者进行线粒体DNA测序分析, 发现线粒体DNA点突变, 对其进行家系随访, 收集该家系成员临床资料进行分析, 分析其遗传学特点。**结果** 该家系中母系成员高血压患病率高达55.6%, 非母系成员高血压患病率15.6% ($P < 0.01$); 母系成员高血压发病年龄有提前的趋势[Ⅱ代(62.0 ± 6.2)岁; Ⅲ代(46.3 ± 5.8)岁; Ⅳ代(23.3 ± 2.9)岁]母系成员血糖、总胆固醇、血钠明显高于非母系成员 ($P < 0.05$), 而超声结果没有明显差异; 遗传学分析发现母亲患病子代发病率明显高于父亲患病者 ($P < 0.05$), 男女发病率没有差异 ($P > 0.05$); **结论** 该家系母系成员高血压发病率明显高于非母系成员, 该家系符合母系遗传特点, 高血压发病与线粒体DNA突变有关, 提示线粒体DNA突变可能与母系遗传性高血压发病有关, 在高血压发病中发挥重要作用。

【关键词】 母系遗传; 线粒体DNA; 原发性高血压; 突变

【中图分类号】 R592; R544.1

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2013.00090

Maternally inherited hypertension is associated with mitochondrial DNA point mutation in a large Chinese family

SUN Jun-Fang, GAO Jin-Liao, LI Zong-Bin, LAN Yun-Feng, YANG Jie, LI Yang, LIU Yu-Qi*

(Institute of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 Objective To investigate the clinical and genetic characteristics of a large Chinese family with maternally inherited hypertension. **Methods** The mitochondrial DNA point mutation was detected by sequence analysis in 1865 patients with essential hypertension. Then the families were followed up, and the clinical data were collected for statistical analysis. **Results** The morbidity of hypertension in the maternal members was up to 55.6%, while that of the non-maternal members was only 15.6% ($P < 0.01$). The onset age of hypertension tended to be younger [from (62.0 ± 6.2) years old for the second generation, (46.3 ± 5.8) years old for the third generation, and to (23.3 ± 2.9) years old for the forth generation]. The serum levels of blood glucose, total cholesterol and sodium in maternal members were significantly higher than those of non-maternal members ($P < 0.05$). The results of echocardiogram had no difference between the maternal and non-maternal groups. Genetic analysis of this family showed that the morbidity of hypertension offspring of affected mother was higher than those of affected father ($P < 0.05$), but no difference was seen between male and female members with hypertension ($P > 0.05$). **Conclusion** The morbidity of hypertension is higher in maternal members than in non-maternal members. Genetic analysis shows that it is a family with maternally inherited hypertension, which may be related with mitochondrial DNA point mutation. Our findings suggest that mitochondrial DNA mutation may be associated with maternally inherited hypertension, and play an important role in the incidence of hypertension.

【Key words】 maternally inherited; mitochondrial DNA; essential hypertension; mutation

This work was supported by Youth Project of National Natural Science Foundation of China (81100186/H0214).

线粒体病是线粒体突变的积累, 导致线粒体氧化磷酸化功能受损, 细胞功能下降^[1]。线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 突变可以累及脑、心脏、骨骼肌、肾脏和内分泌等多种器官, 目前认

为许多老年性疾病与mtDNA突变有关, 如Alzheimer症^[2]、帕金森氏病^[3]等。目前已发现多种线粒体疾病, 有确切母系遗传特征, 如Leber遗传性视神经病变^[4]、非胰岛素依赖性糖尿病^[5]等。

收稿日期: 2013-04-18; 修回日期: 2013-05-06

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (81100186/H0214)

通信作者: 刘昱圻, Tel: 010-55499489, E-mail: ametuof0980869@163.com

高血压发病率逐年增高,与冠心病、脑卒中、心力衰竭和肾功能障碍密切相关,是导致心源性死亡的重要危险因素之一。高血压是多种环境与遗传因素共同作用的结果,遗传因素占发病的30%~50%。临床发现高血压具有家族聚集倾向,其中一些具有明显母系遗传特点^[6]。

有研究发现高血压患者突变的mtDNA明显高于正常人群^[7]。本实验通过研究带有mtDNA A4263G点突变的母系遗传原发性高血压家系,对该家系成员临床特点进行分析,结果发现母系成员高血压发病率明显高于非母系成员,而且高血压发病年龄有提前的趋势。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本实验先证者居住在北京市,该家系其他成员居住在山西省洪桐县。对该家系5代104人进行研究(见图1)。按照解放军总医院伦理委员会管理规定的方法得到受访者的知情同意并签署知情同意书。对家系成员的一般情况和血压进行测量和统计,对其中42人进行全身体格检查、采血进行生化和心脏超声检查。

1.2 mtDNA PCR序列分析

此项工作在美国辛辛那提大学儿童医院人类遗传实验室完成。

1.3 血压等临床情况

对家系成员一般情况,包括性别、年龄、民族、身高、体质量等进行详细问卷调查。采用间接测量法测量血压,让家系成员在测量血压前静坐5min,安静状态下测量3次取平均值。对于3次血压 $\geq 140/90\text{mmHg}$ ($1\text{mmHg} = 0.133\text{kPa}$)或者口服降压药

物患者诊断为高血压。对本次检查首次诊断高血压患者详细询问病史、全身体格检查并进行动态血压监测以除外继发性高血压。

1.4 生化指标测量

对该家系成员中的42人在签署知情同意后采血进行生化检查,检查包括血糖、血脂、肝肾功能、钾、钠、氯等。

1.5 心脏超声检查

对该家系成员进行超声心动图检查,包括室间隔厚度、左室舒张末内径、左室后壁厚度、舒张早期充盈速度(E峰)、舒张晚期充盈速度(A峰)、等容舒张时间、左室射血时间、升主动脉内径、左房内径、左室收缩末内径、右室内径、收缩末期容量、每搏输出量、缩短分数、射血分数和右房内径。

1.6 统计学处理

所有资料均采用SPSS11.0进行统计学分析。计量资料采用Mean \pm SD表示,两组间均数的比较采用独立t检验,计数资料采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 临床情况

先证者是一名49岁女性,一年前体检时发现高血压,当时血压140/90mmHg,无症状。平时血压波动在130~140mmHg/80~90mmHg。未服降压药物,通过控制食盐摄入量、适当运动等改变生活方式可以使血压控制在正常范围内。否认吸烟、饮酒,否认高盐、高脂饮食。血生化和心脏超声结果正常。其母亲及2姐1弟现居住在北京市。母亲68岁时诊断为原发性高血压,血压150/90mmHg,口服非洛地平(钙离子拮抗剂类)治疗,

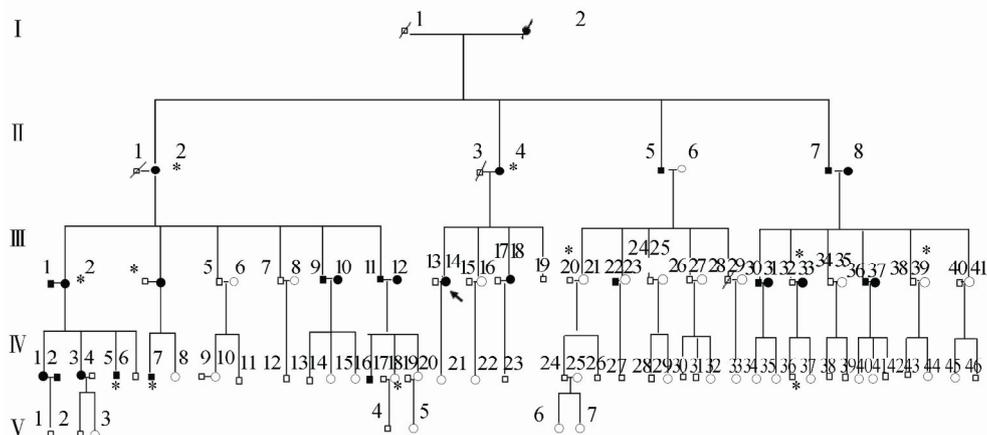


图1 母系遗传大家系图谱

Figure 1 The Chinese pedigree with hypertension

箭头表示先证者,涂为黑色表示患有高血压病,*表示心脏超声显示心肌肥厚

血压波动在130~150mmHg/70~80mmHg。其中一姐本次体检时测血压140/90mmHg, 无症状。

其母系家族成员大部分居住在山西省洪桐县。先证者母亲的2个兄弟和1个姐姐本次体检时发现患有高血压。对家系母系成员血压情况, 包括检测时间、发病年龄、血压等进行统计(表1)。

表1 母系成员临床资料及血压情况
Table 1 The clinical data and blood pressure of maternal members

编号	性别	检测年龄(岁)	发病年龄(岁)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)
II-2	女	79	59	150	70
II-4	女	72	69	150	90
II-5	男	82	> 65	150	70
II-7	男	68	50~60	180	90
III-2	女	54	40~50	170	110
III-4	女	48	45~48	130	90
III-7	男	44	—	130	80
III-9	男	40	35~40	140	100
III-11	男	56	50~56	155	95
III-14	女	48	45	140	90
III-16	女	45	—	120	80
III-18	女	52	52	130	90
III-19	男	33	—	120	80
IV-1	女	31	25~30	150	100
IV-3	女	26	23	130	95
IV-5	男	25	20	145	100
IV-7	男	23	23	130	90
IV-21	女	24	—	95	70
IV-22	女	18	—	120	80
IV-23	男	25	—	120	80
V-1	男	5	—	100	70
V-2	男	6	—	105	65
V-3	女	4	—	95	65

注: 1mmHg=0.133kPa。表中“—”代表该成员没有高血压

该家系母系成员共27人, 除去先证者的外祖母已过世, 共26人, 参加本次研究的母系成员共23人, 另外3人因各种原因未能参加全身查体、血生化和心脏超声检查。研究结果发现母系成员中高血压患病率高达55.6%, 非母系成员高血压患病率15.6%, 两组发病率比较($P = 0.002$), 差异具有统计学意义($P < 0.01$, 表2)。

表2 母系成员与非母系成员高血压发病率比较
Table 2 Incidence of hypertension between maternal and non-maternal members

成员	血压正常者	高血压者	合计
母系	12	15 (55.6%)**	27
非母系	65	12 (15.6%)	77
合计	78	26 (25.0%)	104

注: 与非母系成员比较, ** $P < 0.01$

我们对参加研究的母系成员收缩压、舒张压及高血压发病年龄进行分析, 结果发现第II代高血压平均发病

年龄为(62.0 ± 6.2)岁, 第III代平均发病年龄为(46.3 ± 5.8)岁, 第IV代平均发病年龄为(23.3 ± 2.9)岁, 高血压发病年龄有逐渐提前的趋势(表3)。另外, 对研究的4代母系成员收缩压、舒张压进行统计分析。结果发现, 第II代平均收缩压 $> 140\text{mmHg}$, III、IV、V代收缩压有下降趋势($P > 0.05$); 而平均舒张压第III代最高, 其次第IV代、第II代, 第V代最低($P > 0.05$)。

表3 母系成员高血压发病年龄和血压比较
Table 3 Comparison of on-set-age and blood pressure of maternal members

代	发病年龄(岁)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)
II	62.0 ± 6.2	157.5 ± 15.0	80.0 ± 11.5
III	46.3 ± 5.8	137.2 ± 16.4	90.6 ± 10.1
IV	23.3 ± 2.9	127.1 ± 18.2	87.9 ± 11.5
V	—	100.0 ± 5.0	66.7 ± 2.9

注: 1mmHg = 0.133kPa。表中“—”代表该成员没有高血压

2.2 遗传学分析

对母系成员患高血压外显率和表现度进行统计分析(表4), 结果发现该家系成员患高血压外显率随着年龄的增长逐渐增加; 高血压表现度显示年龄越高收缩压增高越明显, 而舒张压第III代表现最明显, 然后依次是第IV、II、V。

表4 母系成员高血压外显率和表现度分析
Table 4 Penetrance and expressivity analysis of maternal members

代	外显率(%)	收缩压表现度(%)	舒张压表现度(%)
II	100	88	72
III	60	76	82
IV	50	70	79
V	0	56	60

为了鉴别几种不同遗传方式, 包括常染色体隐性遗传、常染色体显性遗传、X-连锁、线粒体遗传, 我们对图1进行了详细的分析。孟德尔遗传方式或X-连锁可以基本除外, (1)如果是常染色体遗传, 患有高血压的父亲传给下一代和患有高血压的母亲传给下一代的几率应该相同。而该家系母亲患有高血压者下一代患高血压的几率明显高于单纯父亲患高血压者和父亲及配偶患高血压者。(2)X-连锁隐性遗传, 家系直系亲属中男性患病率要明显高于女性, 但该家系男女没有明显差异。(3)X-连锁显性遗传, 家系中父亲患病, 女儿一定患有高血压, 但该家系父亲患病的, 女儿都没有发病。该家系中母亲患有高血压子代24人中有14人患有高血压, 父亲患有高血压子代22人中4人患有高血压($P < 0.05$), 而这4人中3人母亲也患有高血压。该家系具有明显母系遗传特点, 这有两种可

能，一种是遗传印记，一种是线粒体DNA遗传，如果是遗传印记，患高血压的母亲后代发生高血压的几率应该小于或等于50%，而该家系中母亲患有高血压子代24人中有14人患有高血压（56%），因此可以除外遗传印记的可能，那么该家系最可能的遗传方式就是mtDNA遗传^[9]。

2.3 血生化检测

对参加本研究的42名患者采血进行生化检查，检查项目包括空腹血糖、肝肾功能、血脂、钾、钠、氯、蛋白等指标（图2）。结果发现母系成员与非母系成员比较血糖、总胆固醇、血钠差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。

2.4 超声心动图检查

对42名参加研究的家系成员进行超声心动图检查，结果显示母系成员与非母系成员超声各项指标没有明显差异（ $P > 0.05$ ，图3）。

3 讨论

本研究发现参加mtDNA序列分析的母系成员都携带mtDNA点突变，对这些母系成员进行分析发现，高血压发病率高达55.6%，而非母系成员高血压发病率15.6%。两组在环境背景相近的情况下，考虑造成这种差异的主要原因是遗传因素，提示该家系成员高

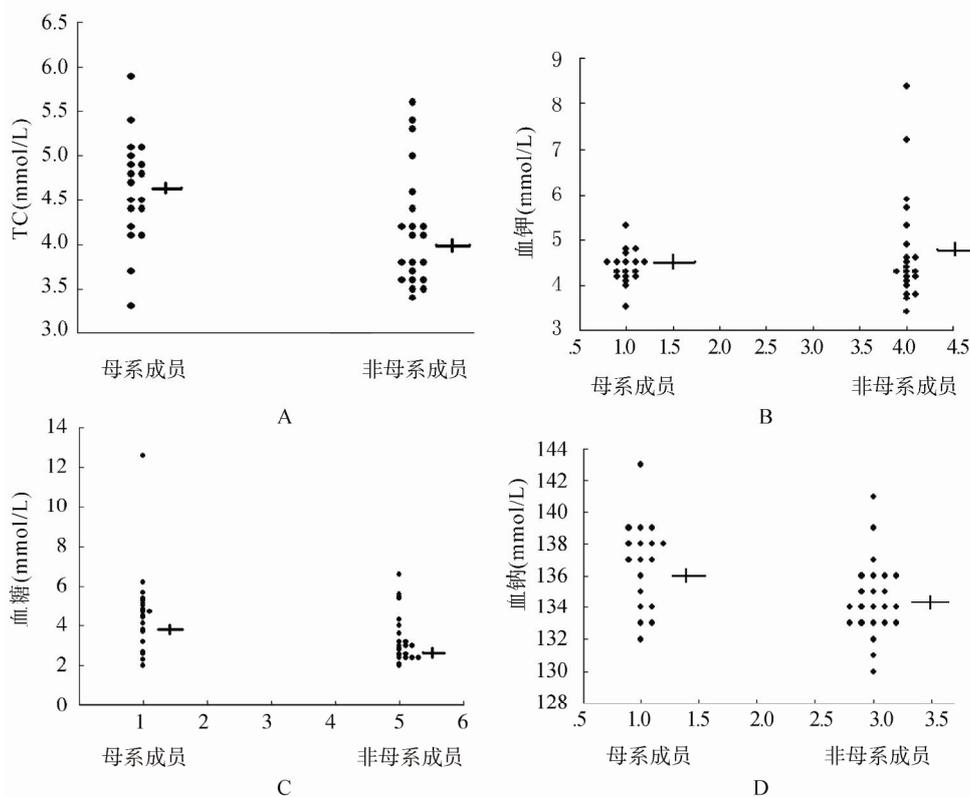


图2 母系成员与非母系成员血生化比较

Figure 2 Biochemical test of maternal and non-maternal members

A: 两组总胆固醇比较; B: 两组血钾比较; C: 两组血糖比较; D: 两组血钠比较

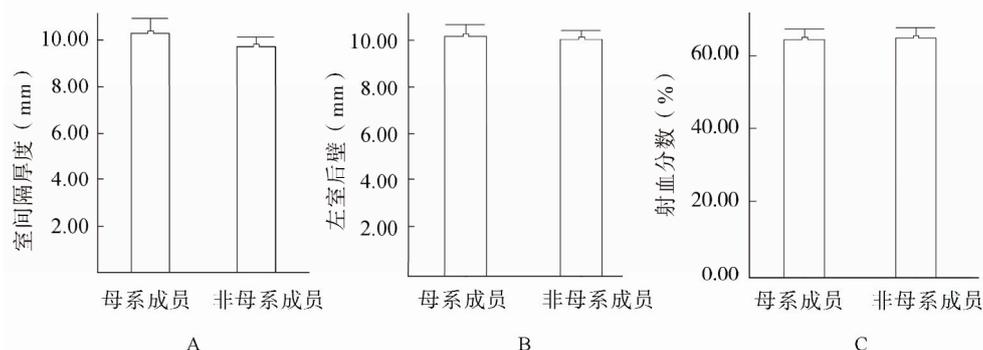


图3 母系成员与非母系成员超声心动图比较

Figure 3 Echocardiogram comparison between maternal and non-maternal members

A: 两组室间隔厚度比较; B: 两组左室后壁比较; C: 两组射血分数比较

血压发病与mtDNA突变有关。另外,发现4代母系成员高血压发病年龄有逐渐提前趋势,从第Ⅱ代的62岁提前到第Ⅳ代的23.3岁,在遗传学上这种现象称之为遗传早现(anticipation),这种现象是否与突变的mtDNA量有关还是一种普遍存在的现象有待于进一步研究。本试验还发现一个有趣的现象,该家系母系成员Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ代收缩压逐渐降低,其中年龄可能是主要的影响因素,但第Ⅲ代舒张压明显高于第Ⅱ代,不能用年龄因素来解释,提示线粒体DNA点突变可能在其中重要作用。

西方发达国家高血压发病率在20%以上,我国略低,但近年呈增加趋势,目前我国人群高血压的知晓率为30%,治疗率为25%,控制率仅为6%。高血压是环境因素与遗传因素共同作用的结果。胎儿时期的一些环境因素作用,在孩子出生后即使纠正也不能改变高血压的发生,已经出现持久的疾病标记,目前国际公认的肥胖、高盐饮食、酗酒等因素与高血压发病密切相关^[8]。高血压有明显遗传倾向,流行病学调查研究发现高血压有明显的家族聚集倾向,父母双方都有高血压者较一方有高血压或双亲无高血压者发病率要明显增高。高血压是一种多基因疾病,目前研究主要集中在核基因在高血压发病的作用。但临床工作中发现某些高血压发病呈母系遗传特点,母亲有高血压者,孩子也患有高血压,而父亲患高血压不传给子代,提示这些高血压发病可能与mtDNA变异有关。有报道美国黑人高血压伴有终末肾功能不全者^[6]线粒体ND3基因上的A10398G点突变和Hae III CO1基因上的T6620C/G6260A 双点突变发生率明显高于对照组。

mtDNA突变在高血压发病中的作用机制尚不清楚,推测可能与线粒体能量合成障碍^[10]、线粒体氧自由基(reactive oxygen species, ROS)^[11]、线粒体诱导细胞凋亡^[12]有关。由于mtDNA突变导致线粒体功能障碍,氧利用下降,能量合成减少,ATP下降,导致细胞内肌浆网上的Ryr受体激活,钙离子大量释放,同时肌浆网摄钙是一个主动耗能过程,ATP减少导致肌浆网摄钙能力下降,胞浆内钙离子增加,细胞收缩;线粒体氧化磷酸化障碍导致ROS生成增加,GSH/GSSG和NADH/NAD⁺比值下降,细胞内钙库释放钙离子进入胞浆导致细胞收缩;线粒体外膜的电压依赖阴离子通道(voltage dependent anion channel, VDAC)^[13]与Bcl家族促凋亡与抗凋亡蛋白结合调节细胞凋亡与增殖,在mtDNA突变时ROS增加,VDAC与Bcl家族蛋白中的Bcl-2抗凋亡蛋白结合导致细胞增殖,血管发生重构^[14],最终导致高血压发生。

目前关于原发性高血压于mtDNA突变的报道还很少,哪些mtDNA突变是高血压遗传标记或候选基因

还不清楚。另外,高血压发病机制尚不十分清楚,mtDNA突变及其与核DNA(nDNA)相互作用在高血压发病中的作用还不清楚。总之,mtDNA突变在高血压疾病发生中的作用及病理生理机制等还有很多未知的领域等待我们去探索。

【参考文献】

- [1] Li X, Guan MX. A human mitochondrial GTP binding protein related to tRNA modification may modulate the phenotypic expression of the deafness-associated mitochondrial 12S rRNA mutation[J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(21): 7701-7711.
- [2] Hutchin T, Cortopassi G. A mitochondrial DNA clone is associated with increased risk for Alzheimer disease[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(15): 6892-6895.
- [3] Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, et al. High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease[J]. Nat Genet, 2006, 38(5): 515-517.
- [4] Wallace DC, Singh G, Lott MT, et al. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy[J]. Science, 1988, 242(4884): 1427-1430.
- [5] Gerbitz KD, Paprotta A, Jaksch M, et al. Diabetes mellitus is one of the heterogeneous phenotypic features of a mitochondrial DNA point mutation within the tRNA^{Leu}(UUR) gene[J]. FEBS Lett, 1993, 321(2-3): 194-196.
- [6] Watson B Jr, Khan MA, Desmond RA, et al. Mitochondrial DNA mutations in black Americans with hypertension-associated end-stage renal disease[J]. Am J Kidney Dis, 2001, 38(3): 529-536.
- [7] 刘玲玲,谭端军,徐斌,等.原发性高血压遗传机制研究:全线粒体基因变异扫描分析[J].中国临床康复,2004,8(12):2271-2273.
- [8] Beilin LJ, Puddey IB, Burke V. Lifestyle and hypertension[J]. Am J Hypertens, 1999, 12(9 Pt 1): 934-945.
- [9] Baracca A, Sgarbi G, Mattiazzi M, et al. Biochemical phenotypes associated with the mitochondrial ATP6 gene mutations at nt8993[J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1767(7): 913-919.
- [10] Lee HC, Wei YH. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and apoptosis in aging[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2007, 232(5): 592-606.
- [11] Ide T, Sunagawa K. ROS and disorder of mitochondrial DNA[J]. Nippon Rinsho, 2007, 65(Suppl 4): 238-242.
- [12] Eisenberg T, Buttner S, Kroemer G, et al. The mitochondrial pathway in yeast apoptosis[J]. Apoptosis, 2007, 12(5): 1011-1023.
- [13] Galluzzi L, Kroemer G. Mitochondrial apoptosis without VDAC[J]. Nat Cell Biol, 2007, 9(5): 487-489.
- [14] Gurbanov E, Shiliang X. The key role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of pulmonary hypertension[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2006, 30(3): 499-507.

(编辑:周宇红)