

第七章 线粒体疾病的遗传

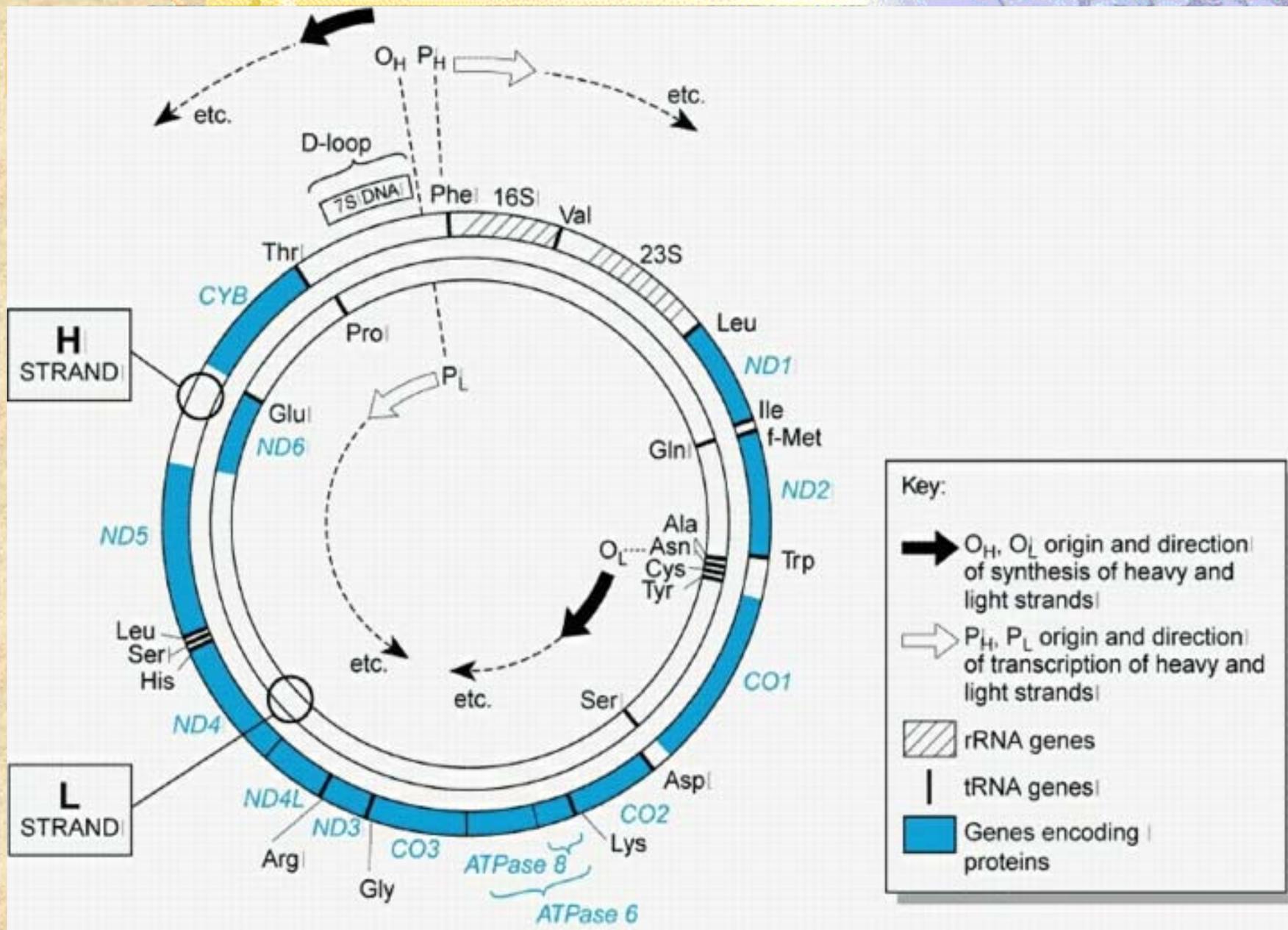


第一节 人类线粒体基因组

一、线粒体基因组的结构

- 线粒体中的DNA，称为mtDNA。
- mtDNA特点：
 1. 形态结构：长度为16569 bp的双链闭合环状DNA分子，外侧为重链（H），内侧为轻链（L），H链富含G，L链富含C；
 2. 基因特点：
 - 共有37个基因，编码13种多肽，2种rRNA，22种tRNA，可自主复制。
 - 结构紧凑，无内含子。
 - 无组蛋白保护，无修复系统，突变率高（阈值效应特性）
 - 母系遗传（受精卵中细胞质绝大部分来自卵子）

- 
- 线粒体基因组所用的遗传密码有的与通用密码不同。
 - mtDNA的UGA编码色氨酸，而非终止信号。其tRNA的通用性较强，22个tRNA可识别48个密码子。



线粒体DNA模式图

第二节 线粒体基因的突变



- 
- 线粒体是动物细胞核外唯一具备DNA分子的细胞器。mtDNA的突变同样可以导致人类的疾病。
 - 症状：
 - 细胞发生退变甚至坏死
 - 组织器官功能减退

一、突变率

- 高于nDNA10~20倍

- 原因：

1. mtDNA中基因排列非常紧凑，任一突变都可能影响到重要功能区域
2. 无组蛋白保护
3. 直接暴露于呼吸链代谢产生的超氧离子和电子传递产生的羟自由基中，极易受氧化损伤
4. 复制频率高，复制时不对称，易导致点突变
5. 缺乏有效的DNA损伤修复能力

判定是否为致病性突变标准：

1. 突变发生于高度保守序列或重要功能区
2. 突变可引起呼吸链缺损
3. 正常人群中无此突变，不同家系但有类似表形的患者中发现相同的突变
4. 有异质性存在，且其程度与疾病严重程度正相关

二、突变类型

(一) 点突变

- 发生位置不同，效应不同
- 机制：
 - 2/3发生在与线粒体内蛋白质翻译有关的tRNA或rRNA基因上，使tRNA或rRNA的结构异常，影响了mtDNA编码的全部多肽链的翻译过程，导致呼吸链中多种酶合成障碍
 - 若发生在mRNA基因上，可导致多肽链合成中的错义突变，影响氧化磷酸化相关酶的结构及活性，使细胞氧化磷酸化功能下降

(二) 大片段重组

- 包括缺失和重复，以缺失较为常见
- 可导致OXPHOS功能下降，产生的ATP减少
→影响组织器官的功能
- “常见缺失”：
 - 8483~13459位之间5.0kb的片段缺失

(三) mtDNA数量减少

- AD或AR
- 可能为核基因缺陷所致线粒体功能障碍

三、突变的修复

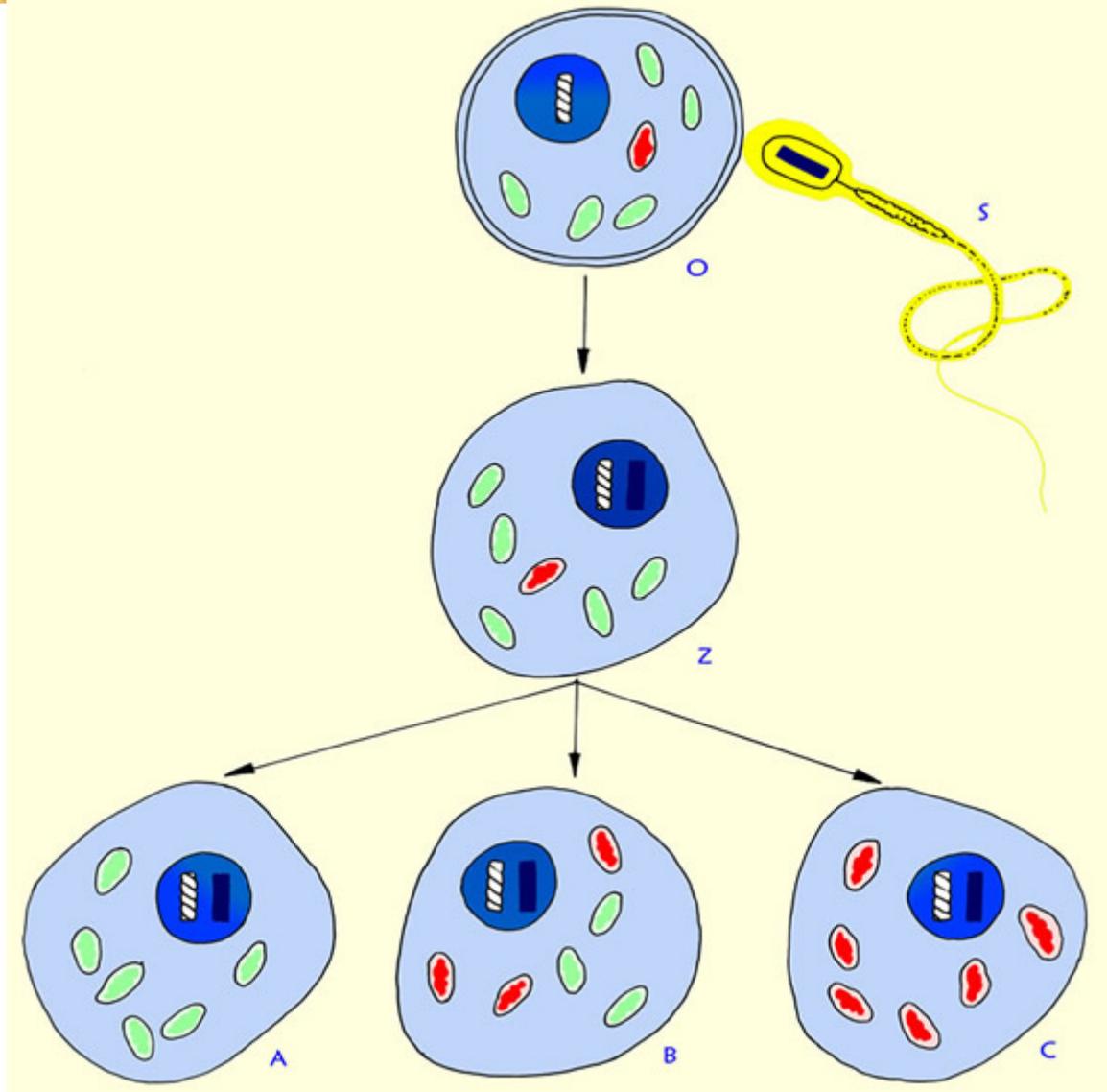
- 有一定自我修复能力
- 修复机制：
 - 切除修复
 - 核酸内切酶、DNA聚合酶
 - 转移修复
 - 转移酶
- 条件：
 - 在分裂旺盛的组织中才有活性

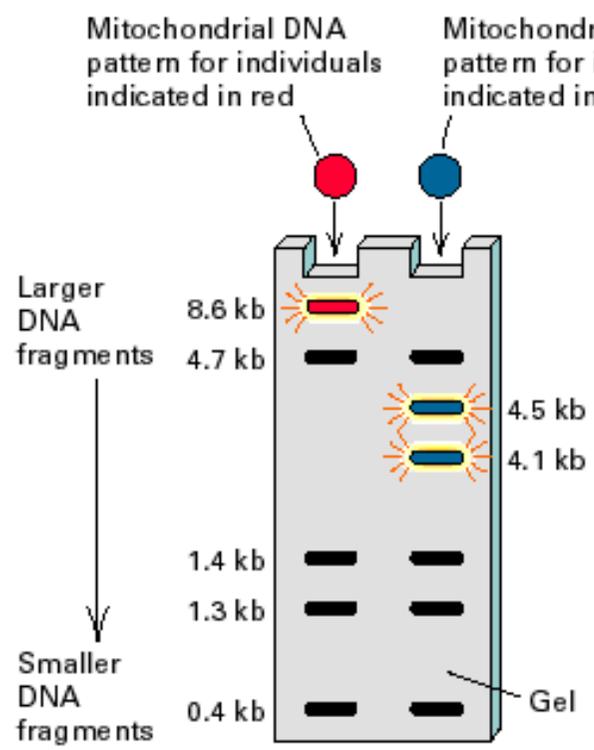
第三节 线粒体疾病的遗传特点



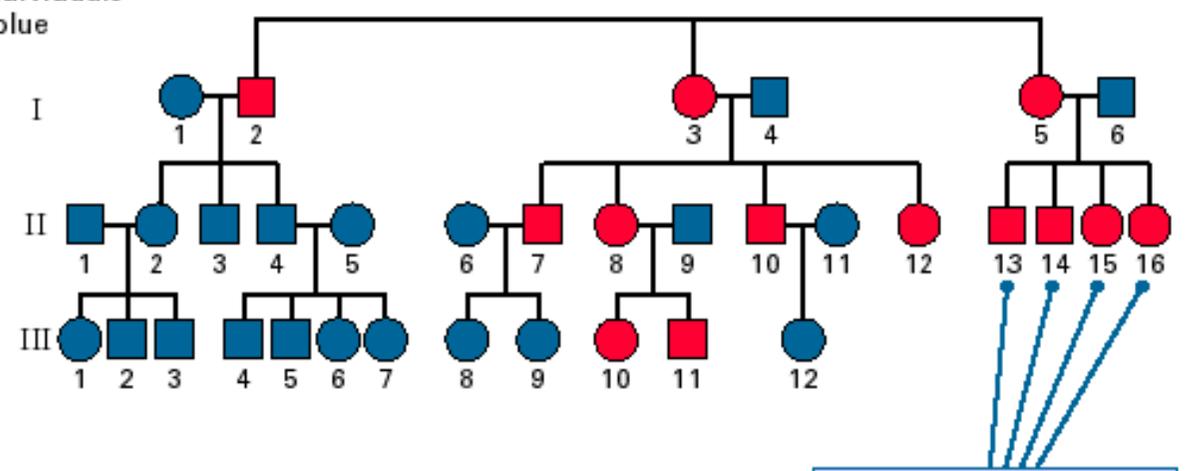
一、母系遗传

- 母亲可将mtDNA传递给儿子和女儿，但只有女儿能将mtDNA传递给下一代这种传递方式称为母系遗传。
- 人类受精卵中的线粒体绝大部分来自卵细胞，即来自母系。
- 如果发现家族中一些成员具有相同的临床症状，而且是从受累的女性传递下来，就应考虑可能是由于mtDNA突变造成的。





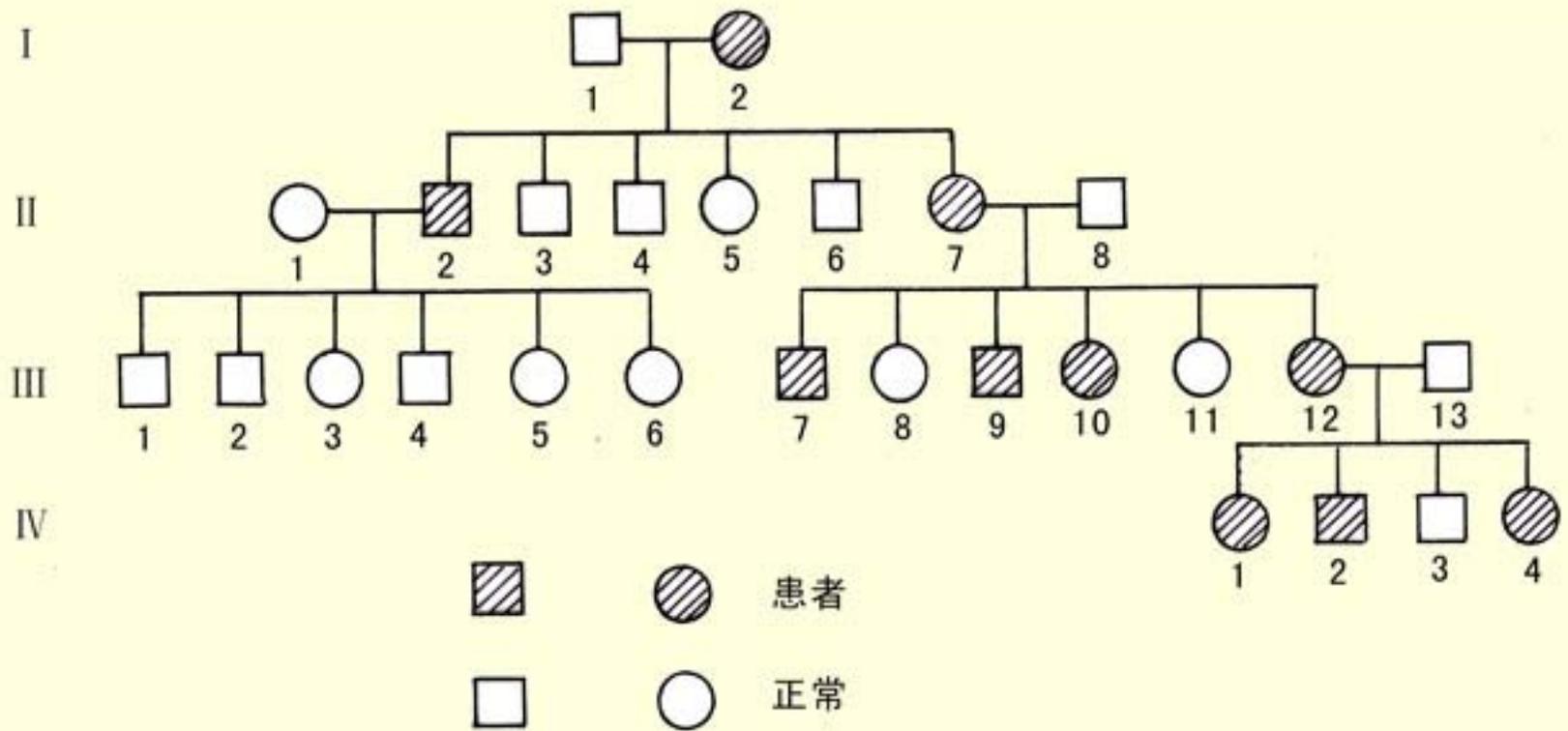
(A)



All the progeny of a particular female have the same pattern of mitochondrial DNA bands as in the mother.

(B)

线粒体基因病系谱



遗传瓶颈

- 卵细胞形成期mtDNA数量剧减的过程
 - 人每个卵细胞中约有10万个mtDNA，但只有2~200个可进入成熟卵细胞中传给子代
 - 造成子代的异质性差异

二、异质性

- 一些个体同时存在两种或两种以上类型的mtDNA
- 原因：
 - mtDNA突变
 - 受精卵中存在的异质mtDNA在卵裂过程中被随机分配到子细胞中

三、阈值效应

■ 阈值：

- 能引起特定组织器官功能障碍的突变mtDNA的最少数量称阈值。
- 突变型mtDNA积累超过阈值时，能量的产生剧减，无法维持细胞、组织、器官的正常功能，引起其功能异常

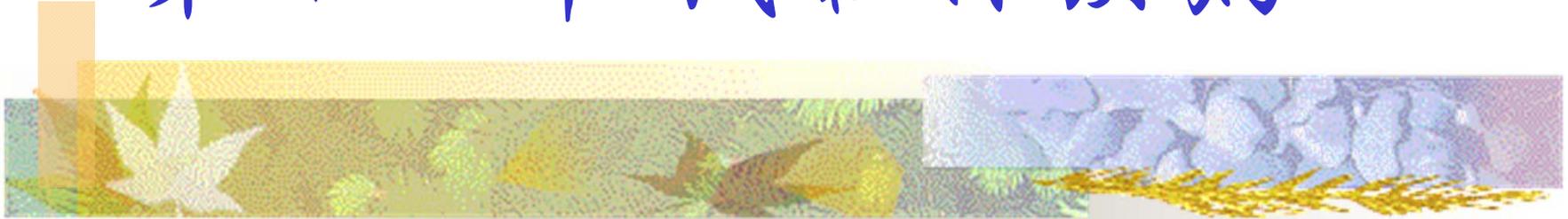
■ 受累器官：

- 中枢神经系统
- 骨骼肌、心脏、胰腺、肾脏、肝脏

四、不均等的有丝分裂分离

- 细胞分裂时，突变型和野生型mtDNA发生分离，随机地分配到子细胞中，使子细胞拥有不同比例的突变型mtDNA，这种随机分配导致mtDNA异质性变化的过程称复制分离

第十二章 线粒体疾病



线粒体疾病：

■ 广义：

- 指以线粒体功能异常为主要病因的一大类疾病
 - 线粒体基因组缺陷
 - 编码线粒体蛋白的核DNA缺陷

■ 狭义：

- 线粒体DNA突变所致的线粒体功能异常

第一节 疾病过程中线粒体的变化

- 中毒、病毒感染：
 - 肿胀、破裂
- 原发性肝癌：
 - 线粒体嵴数目下降，形成液泡状线粒体
- 缺血性损伤：
 - 凝集、肿胀等
- 细胞病变：
 - 线粒体中积累大量脂肪或蛋白质，基质颗粒大量增加



第二节 线粒体疾病的分类

一、生化分类：

- 底物转运缺陷
- 底物利用缺陷
- **Krebs**循环缺陷
- 电子传导缺陷
- 氧化磷酸化偶联缺陷

二、遗传分类

- 根据缺陷的遗传原因：
 - 核DNA缺陷
 - mtDNA缺陷
 - 核DNA和mtDNA联合缺陷

第三节 mtDNA突变引起的疾病



■ 线粒体碱基替换疾病的命名：

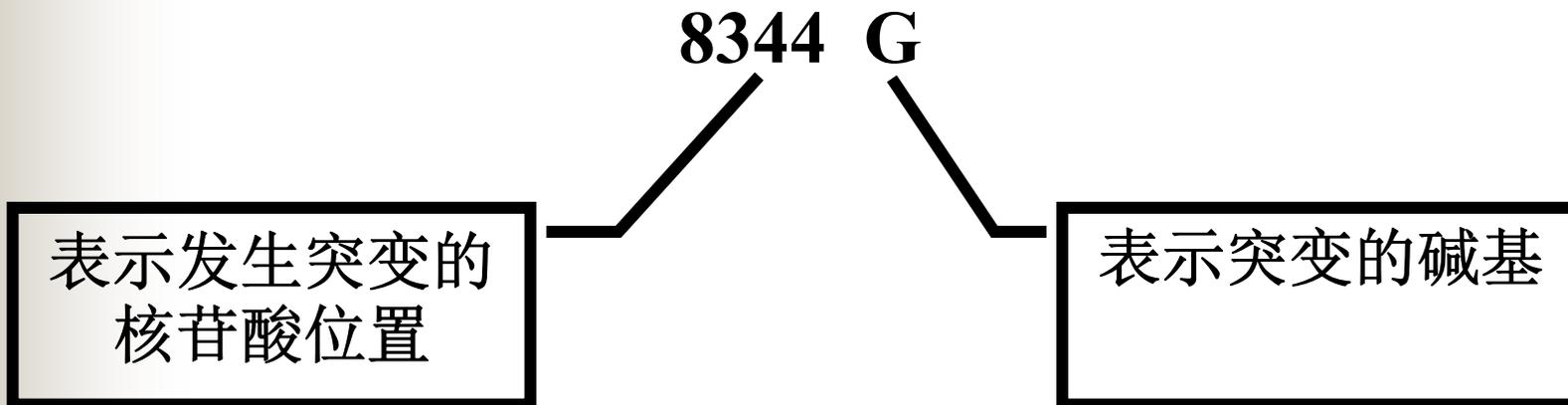
■ *MTTK* * *MERRF* 8344G

1. 第一部分是确定的位点：*MTTK*



2. 第二部分，星号之后，为描述临床特征的疾病字母缩略词：**MERRF**

3. 第三部分，表示发生基因突变的核苷酸位置和突变的碱基：



一、Leber遗传性视神经病(LHON)

- Leber遗传性视神经病是被证实的第一种母系遗传的疾病，至今尚未发现一个男性患者将此病传给后代。
- LHON是以德国眼科医生Theodor Leber的名字命名的，为一种急性或亚急性发作的母系遗传病。男女病人比例5:1。
- 11778G→A导致编码NADH脱氢酶亚单位4(ND4)中第340位的Arg→His，从而影响线粒体能量的产生。

■ 临床表现:

- 是一种急性或亚急性发作的母系遗传病;
- 典型的首发症状为视物模糊, 在几个月内出现无痛性、完全或接近完全的失明, 通常为双眼同时受累。
- 病理特征为视神经和视网膜神经元的退化;
- 可伴有周围神经的退化, 震颤, 心脏传导阴滞和肌张力的降低;
- 一般成年期发病, 平均年龄为27岁(6~60岁), 男性约为女性的5倍;

■ 突变类型：

- 单个线粒体突变就可导致出现疾病的表型：
 - 最重要的：*MTND4 * LHON 11778 A*
 - 1987年由Wallace首先发现，又称Wallace突变。
 - 11778bp由G突变为A，使编码NADH脱氢酶亚单位4(ND4)中第340位高度保守的精氨酸变成组氨酸，从而影响线粒体能量的产生。
 - Wallace突变占LHON的50%~52%。
 - 其他：*MTND1 * LHON 3460 A*
*MTND6 * LHON 14484 C*
- 以上三种突变都不同程度地影响了呼吸链的作用。

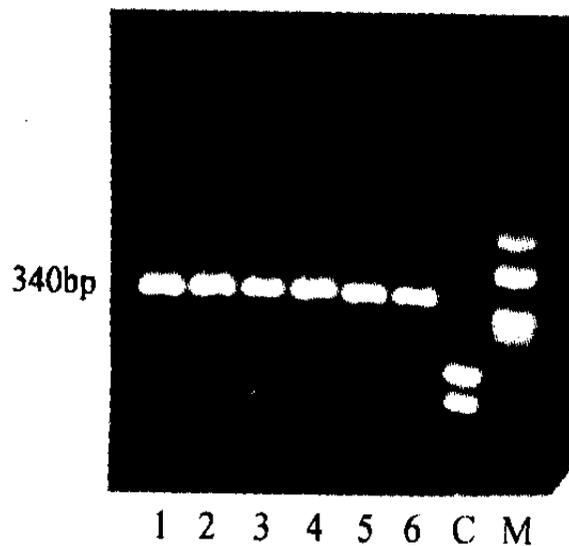


图 5-2 Leber 病患者 DNA 经 PCR 扩增后其产物经 SfaN I 酶切结果 (示患者有 11778bp 突变)

1-6: 患者; C: 正常人线粒体 DNA;

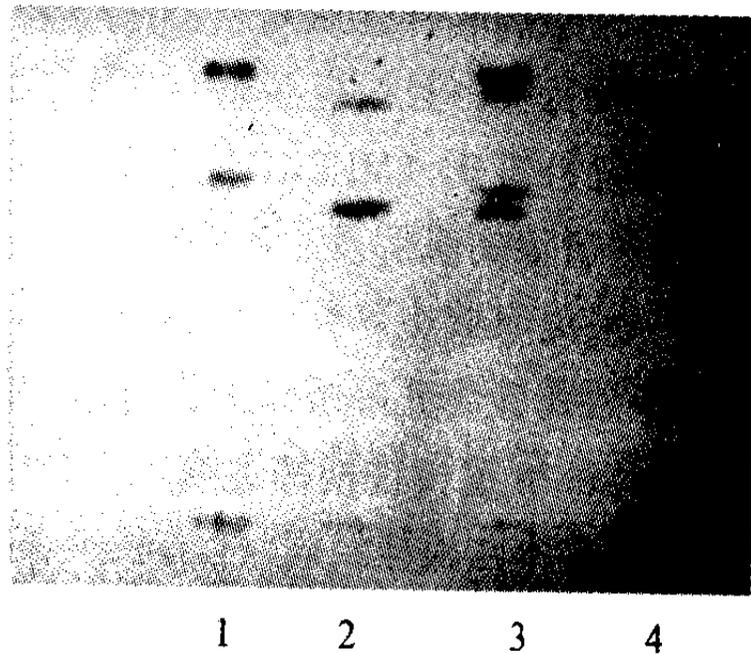


图 5-3 Leber 病患者 11778bp 突变 PCR 产物经 SSCP 银染后结果

1. 正常人 DNA; 2. 含 11778bp 突变的病人 DNA; 3. 杂质性 DNA; 4. 未突变的双链 DNA。

(朱斌提供)

二、线粒体脑肌病

- 肌阵挛性癫痫伴碎红纤维病
 - 又称为**MERRF**综合征，是一种线粒体脑肌病。
- 临床特征：
 - 为母系遗传病，具有多系统紊乱的症状，包括线粒体缺陷和大脑与肌肉功能的变化：
 - 肌阵挛性癫痫的短暂发作，不能协调肌肉运动(共济失调)，肌细胞减少
 - 轻度痴呆，耳聋，脊髓神经的退化
 - 破碎的肌红纤维和形态异常的线粒体(大量的团块状异常线粒体聚集在肌细胞中)

■ 发病机理：

- 大部分病例是线粒体基因组的转运RNA^{Lys}基因点突变的结果：*MTTK* * *MERRF* 8344G；
- 突变发生后减少了线粒体蛋白的整体合成水平，氧化磷酸化成分的含量也降低；
- 如在神经和肌肉细胞中90%的线粒体存在此种突变，则会出现典型的症状，如所占比例较少时，症状也随之减轻；

三、线粒体心肌病

- 临床表现：
 - 严重的心力衰竭
 - 劳力性呼吸困难，心动过速，全身肌无力伴全身严重水肿
 - 心脏肝脏增大
- 突变位点：
 - 线粒体肌病和脑病：3260位A→G
 - 缺血性心脏病、冠状动脉粥样硬化性心脏病：4977位点缺失
 - 扩张性心肌病、肥厚性心肌病：7436位点缺失

四、帕金森病(PD)

- 帕金森病是一种晚年发病的运动失调症
- 临床特征：
 - 震颤，动作迟缓且常常错误，又称震颤性麻痹；
 - 少数人有痴呆症状；

■ 发病机理：

- 患者脑组织，特别是在黑质中存在mtDNA缺失
- 1990年Ozawa等发现该病患者线粒体基因组中可检测到4977bp长的一段DNA缺失，导致线粒体复合体 I 中的四个亚单位功能失常，引起神经元中能量代谢障碍，最终导致脑黑质中多巴胺能神经元细胞的退化性变性。
- 突变可能存在一定的阈值，超过后个体就将发病；
- 突变有累加效应，所以往往在中年以上发病。

五、其他与线粒体有关的疾病

- 非胰岛素依赖型糖尿病(NIDDM)
 - 糖尿病属多基因遗传。
 - 1992年Ballinger首先在一个符合母系遗传的糖尿病伴感觉神经耳聋的家系中发现 mtDNA 10.4kb 的片段缺失
 - 同年发现了mtDNA中tRNA基因3243bp A→G的突变。
 - 45个家系199位NIDDM患者带有此位点突变，82%患有糖尿病；该突变约占糖尿病总人群的1.5%；
 - 1995年Kagawa发现NIDDM群体中有3.4%带有3316bp G→C的点突变。

衰老(aging)

mtDNA突变随年龄增加而增加。且突变优先集中在神经元，而不是神经胶质细胞。

1992年，Simonetti等用定量PCR检测特异的mtDNA位点缺失，表明在人的一生中，肌肉中缺失的mtDNA类型将增加10000倍，老年人肌肉中含有的缺失最高约为0.1%。更新慢的骨骼肌细胞中的mtDNA突变比更新快的肝脏细胞中的mtDNA突变率更高，证明人的衰老与mtDNA突变的积累呈正相关。

第四节 nDNA突变引起的线粒体病

■ 靶序列:

- 每一个核DNA编码的线粒体蛋白在其N-末端通常有一15~30个氨基酸组成的序列。

■ 功能:

- 结合在线粒体外膜表面的受体上,促使蛋白质从外膜进入膜间隙或通过接触位进入基质;
- 主要功能为在膜间隙和基质间转运分子、代谢底物、通过氧化磷酸化产生ATP、调节线粒体对铁的摄入、控制线粒体DNA的复制、维持线粒体DNA结构的完整性等。

- 
- **脉络膜和视网膜的回旋萎缩(GACR):**
 - 鸟氨酸氨基转移酶(OAT)是一个单体性线粒体基质酶，催化鸟氨酸和谷氨酸 γ -半醛之间的相互转化，其活性缺陷会引起脉络膜和视网膜的变性而导致成人失明。
 - 遗传方式为AR
 - OAT基因位于染色体10q26。
 - 原理：突变的结果改变了OAT蛋白的构象并阻止其进入线粒体基质。