

- [24] He Y, Zhou Q, He M. An asymptomatic moyamoya disease: Autopsy case and literature review. *Am J Forensic Med Pathol*, 2010, 31(1): 77-79.
- [25] Kuroda S, Ishikawa T, Houkin K, et al. Incidence and clinical features of disease progression in adult moyamoya disease. *Stroke*, 2005, 36(10): 2148-2153.
- [26] Kuroda S, Hashimoto N, Yoshimoto T, et al. Radiological

findings, clinical course, and outcome in asymptomatic moyamoya disease: Results of multicenter survey in japan. *Stroke*, 2007, 38(5): 1430-1435.

[27] Smith ER, Scott RM. Progression of disease in unilateral moyamoya syndrome. *Neurosurg Focus*, 2008, 24(2): E17.

脑海绵状血管瘤分子遗传学研究进展

伍新田¹综述 朱榆红¹,唐北沙² 审校

1. 昆明医学院第二附属医院神经内科,云南省昆明市 650101
2. 中南大学湘雅医学院湘雅医院神经内科,湖南省长沙市 410008

摘 要:脑海绵状血管瘤(CCM)是先天性脑血管畸形的一种,从遗传学角度可分为散发性和家族遗传性两种类型。目前脑海绵状血管瘤分子遗传学研究取得了突破性进展,已有 3 个致病基因被克隆,包括 CCM1/KRIT1、CCM2/MGC4607 和 CCM3/PDCD10。由于病灶组织内体细胞基因突变的发现认为“二次打击”机制学说参与了脑海绵状血管瘤的发病机制,其导致表达于病灶毛细血管腔内皮细胞的致病基因所编码的蛋白完全失去功能。上述研究为阐明脑海绵状血管瘤的发病机制提供了重要线索。

关键词:脑海绵状血管瘤;种系突变;CCM1 基因;CCM2 基因;CCM3 基因;体细胞突变

脑海绵状血管瘤(cerebral cavernous malformations, CCM)是先天性脑血管畸形的一种,约占脑血管畸形的 10%~20%,尸解分析人群患病率约 0.1%~0.5%^[1], CCM 外观紫红色,剖面呈海绵状或蜂窝状,由不规则的、大小不等的血管腔隙聚集成一堆血管组织,管腔 1~10 mm 不等,内壁为一层扁平内皮细胞,血管腔隙之间无神经组织,只有少量结缔组织。大多数 CCM 累及中枢神经系统,但也可见于视网膜^[2]、皮肤^[3]等其它器官。该病临床症状隐袭,主要表现为头痛、痫性发作、颅内出血和局部神经功能障碍。

CCM 多呈散发性和常染色体显性遗传,其中常染色体显性遗传 CCM 多外显不全。西班牙裔美国人遗传性 CCM 家系中患者所占比例高达 50%^[4]。遗传性 CCM 患者脑内往往有多个病灶,且数目和年龄密切相关,散发性 CCM 患者大多只有一个病

灶。遗传性 CCM 与 3 个致病基因种系突变相关,包括 CCM1 (KRIT1, 7q11.2-q21)、CCM2 (MGC4607, 7p15-p13) 和 CCM3 (PDCD10, 3q25.2-q27)^[5,6]。近十几年来,3 个 CCM 致病基因种系突变的研究报道非常多。由于 CCM 病灶组织内体细胞基因突变的发现提出了“二次打击”机制(two-hit mechanism)学说,认为其参与了脑海绵状血管瘤的发病机制,导致表达于脑海绵状血管瘤毛细血管腔内皮细胞的致病基因编码蛋白完全失去功能。虽然 CCM 发病机制尚不清楚,但分子遗传学研究为我们深入理解 CCM 的发病机制和临床治疗提供了重要依据。

1 CCM 致病基因种系突变的研究

1.1 家族遗传性脑海绵状血管瘤

遗传性 CCM 为常染色体不完全显性遗传,基因连锁分析定位了 3 个 CCM 致病基因位点:7q

基金项目:研究生创新基金(2009N19)

收稿日期:2010-12-16;修回日期:2011-01-22

作者简介:伍新田(1983-),男,硕士研究生,主要从事脑血管疾病基础和临床研究。

通讯作者:朱榆红,女,博士生导师,Email:yuhong_lilin@yahoo.com.cn。

11.2-q21 (CCM1)、7p15-p13 (CCM2) 和 3q25.2-q27 (CCM3) [5,6]。Craig 等[6]对 20 个 CCM 家系进行已知致病基因突变分析,发现突变频率分别为 40% (CCM1)、20% (CCM2) 和 40% (CCM3), CCM1 临床外显率为 88%,而 CCM2、CCM3 分别为 100% 和 63%。研究报道拉美 CCM 家系的突变频率基本相同,大多数家系与 CCM1 位点相关,体现出“始祖效应”(founder effect) [7]。

CCM1 基因是第一个发现的 CCM 致病基因,1995 年 Dubovsky 等[8]对一西班牙裔人 CCM 大家系采用连锁分析和短串联重复序列多态性的方法将 CCM1 定位到 7q11-q22。Gunel 等[5]也用连锁分析方法将致病基因 CCM1 更精细地定位到 7q11.2-q21。当证实 CCM1 基因上游存在 8 个新的外显子后,使得这个包含 20 个外显子(其中 16 个编码外显子)的完整基因充分被人们所认识[9]。CCM1 编码 736 个氨基酸蛋白产物 KRIT1 (krev interaction trapped 1, KRIT1),是一个 84 kDa 无催化活性支架蛋白。Liquori 等[10]用候选基因定位测序法确认了 MGC4607 基因就是 CCM2 基因,CCM2 基因含 10 个外显子,编码 444 个氨基酸蛋白 MGC4607 (malcavernin),其内有 1 个磷酸化酪氨酸结合区。Bergametti 等[11]运用杂合性丢失绘图(loss of heterozygosity mapping)方法确认了 PDCD10 (programmed cell death 10, PDCD10) 基因就是 CCM3 基因,CCM3 基因只有 7 个外显子,编码 212 个氨基酸蛋白 PDCD10,其不含有任何已知的保守的功能结构域,CCM3 被认为拥有凋亡和增殖功能。

种系突变指发生在种系细胞即生殖细胞中的突变,它是一些遗传疾病发生的基础。关于 CCM1、CCM2 和 CCM3 的种系突变研究很多,Riant[12]报道已超过 150 种,且这个数目还在继续增加[2,13-15]。虽然突变种类繁多,但这些突变所导致的结果高度一致,几乎都是导致终止密码子的出现而使翻译提前终止。突变类型包括无义突变、错义突变、拼接位点突变、移码突变、缺失突变以及大片段基因组重排。首个华人家系 CCM 基因种系突变报道于 2002 年[16],是位于 CCM1 基因 19 号外显子 Q698X 终止密码子突变,经预测形成一个截短的 Krit 蛋白。2003 年报道了第一个汉族家系 CCM 基因种系突变[17],通过基因测序突变点位于 CCM1 基因 14 号外显子第 1289 位核苷酸 C→G 的取代,属于无义点突变,导致编码改变 (S430X),

形成终止密码子使翻译过程提前终止而产生截短蛋白。随后陆续有汉族 CCM 家系的基因突变报道[18,19],虽然这些报道的突变类型不一,但都位于 CCM1 基因位点,是否也体现了中国人群的“始祖效应”。这些资料强有力的揭示了由于基因突变导致 mRNA 退化而使其功能丧失,使蛋白产物表达异常或不能,很可能是 CCM 的病理生理学发病机制。

1.2 散发性脑海绵状血管瘤

多发病灶的散发性 CCM 患者中,CCM 基因种系突变类型相似但突变检测率要低得多。Denier 等[20]的研究显示,在 163 位多发病灶 CCM 患者中,96 位家族性 CCM 先症者(家系里至少有两位 CCM 患者)有 90 位检测出 3 个致病基因种系突变,突变检测率 94%,67 位散发 CCM 患者中 38 位检测出 3 个致病基因种系突变,突变检测率 57%。Stahl 等[21]报道的家族性 CCM 的基因突变检测率也是 94%,非家族性 CCM 突变检测率为 67%。出现这种现象的原因 Labauge 等[22]认为是大多数的这些散发性多发病灶患者实际上是遗传了不完全显性 CCM 父母的突变基因,因此很多看似散发性的病例其实是遗传的。而没有检测到突变的多发病灶散发性患者仍然很可能受本病的某种遗传方式影响,一种体细胞镶嵌新生突变可能会解释这种情况,Verhoef 等[23]在其他常染色体显性遗传病如结节性脑硬化中描述过,由于不同细胞和组织体细胞镶嵌的可变性以及突变检测技术的有限性,体细胞镶嵌突变在外周血 DNA 中检测不到是很有可能。

对于单发病灶的散发性 CCM 患者,Verlaan 等[24]应用变性高效液相色谱分析和基因测序法分析了 21 位散发性单发病灶 CCM 患者的 CCM1 基因,结果未检测到种系突变。另一研究中他们再一次对这 21 位患者和另 10 位未检测出 CCM1 种系突变的散发性多发病灶 CCM 患者进行 CCM2 基因种系突变检测,仍未检测到突变[25]。虽然样本较小也没有进行 CCM3 基因的突变检测,但这些资料仍然高度揭示了散发性单发病灶 CCM 患者具有基因种系突变的几率渺茫。

2 CCM 病灶种系和体细胞双等位基因突变研究

家族遗传性 CCM 以常染色体显性遗传,其新发病灶及多发病灶的现象[26]同“二次打击”机制导致 CCM 病灶的形成相一致,此发病机制最初在肿瘤抑制基因和遗传性肿瘤中描述,在其他脉管疾病

中也报道过^[27]。“二次打击”通过影响野生型等位基因而参与 CCM 病灶的病理生理过程。根据此学说,在受累细胞内已知的 CCM 致病基因的两个等位基因功能完全缺失导致了 CCM 发病,所以第一次“打击”指的是一对等位基因功能缺失引起的种系突变,第二次“打击”指的是第二对等位基因功能缺失出现的体细胞突变。由于 CCM 病灶内非常有限的海绵状血管内皮细胞和含有多种不同的细胞成分,因此检验这个假说非常困难。

Gault 等^[28]在 2005 年首次报道了 CCM1 基因种系和体细胞双等位基因突变,他们用变性高效液相色谱和测序分析法,在 CCM 病灶里除了检测到 CCM1 基因 14 号外显子的西班牙裔种系突变 Q455X,还检测到 15 号外显子一个 34bp 的碱基缺失突变,而此缺失突变不存在于患者的外周血 DNA 或 RNA 中,强烈的支持至少在 CCM1 患者病灶形成中的“二次打击”机制。最近他们又发现了一个 CCM1 患者基因种系突变和体细胞突变都位于 14 号外显子,另一个 CCM3 患者基因的种系突变位于 10 号外显子,推断的体细胞突变位于 6 号外显子,且用激光捕获显微切割法证实体细胞突变只存在于 CCM 病灶血管内皮细胞内^[29]。Akers 等^[30]报道了 3 个 CCM 基因的体细胞和种系双等位基因突变,他们对来自于 4 个遗传性杂合子种系突变患者(CCM1 患者 2 个、CCM2 患者 1 个、CCM3 患者 1 个)的 CCM 病灶提取 DNA 后大量克隆扩增再经测序而证实,这样他们很有说服力的证实了种系和体细胞双等位基因突变存在于病灶中。直接对病灶 DNA 测序严重缺乏敏感性而检测不到任何此类突变。这些资料证实了在一些病灶里存在种系和体细胞突变,尽管不清楚这些突变来自于何种细胞。他们用相同的方法对另外 4 个 CCM2 患者和 2 个 CCM3 患者的病灶分析,却未能检测出体细胞突变,可能是由于大片段基因组缺失或是表观沉默机制使此种方法不完全敏感。然而他们采用激光捕获显微切割法发现体细胞突变存在病灶内皮细胞,在夹杂的神经组织中没有发现。Pagenstecher 等^[31]用免疫组织化学方法显示 CCM 病灶腔隙内皮细胞 CCM 蛋白表达缺失,附近正常组织和活性内皮细胞表达正常,表现出镶嵌现象,并证明了内皮细胞是疾病的起源细胞。因此这些资料的研究结果是一致的。

所有的这些资料揭示 CCM 与很多遗传性血管

病一样存在一种双主导地位的遗传方式,这种遗传方式决定了体细胞突变及“二次打击”何时出现。

3 存在的问题和展望

脑海绵状血管瘤的发病机制尚不清楚,但近年来 3 个 CCM 致病基因的研究和“二次打击”机制学说为阐明本病的发病机理迈开了重要的一步。上述研究为阐明临床表型外显不全以及基因诊断提供了依据。

Christina 等^[32]的研究中,他们对 23 个无 CCM1 和 CCM2 基因突变的家族遗传性 CCM 先证者和 6 个无家族史多病灶 CCM 患者 CCM3 基因编码外显子测序突变检测,结果 23 个先证者只有 1 个检测出突变,6 个无家族史多病灶 CCM 患者两个检测出突变,突变率只接近于 10% (3/29)。通过 3 个 CCM 基因所有外显子进行分子筛查,在 163 个多病灶和或有一个亲属是 CCM 的 CCM 非西班牙裔美国白人患者中,鉴定了 78% 的 CCM 患者存在种系突变,其中 53% 是 CCM1 基因突变,CCM2 和 CCM3 突变分别为 15% 和 10%^[19],然而有 22% 的 CCM 患者没有检测到点突变。有假说认为由于存在 CCM3 基因组大片段缺失,通过外显子到外显子的测序方法检测不到,这些研究暗示了由于检测技术和方法的不足可能存在检测不到的缺失突变或是存在其他的 CCM 致病基因。

CCM 病灶临床过程极不可预测和有不同的出血倾向,这个现象与来自非遗传的基因因素相一致,如体细胞突变,所以同一病人不同的病灶内可能具有不同的体细胞突变类型,因此进一步的研究有待于阐明体细胞突变是否导致了可变的临床表型。同时还存在一些疑问:未检测到基因突变的家族遗传性 CCM 患者其分子异常的基本机制是什么?散发性 CCM 患者存在体细胞突变吗?基因修饰能解释 CCM 家族群聚的临床可变性吗?当然最关键的问题还是关于 CCM 发病机制的进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Otten P, Pizzolato GP, Rilliet B, et al. 131 cases of cavernous angioma (cavernomas) of the CNS, discovered by retrospective analysis of 24, 535 autopsies. *Neurochirurgie*, 1989, 35(2): 82-83, 128-131.
- [2] Reddy S, Gorin MB, McCannel TA, et al. Novel KRIT1/CCM1 mutation in a patient with retinal cavernous hemangioma and cerebral cavernous malformation. *Graefes Arch Clin Exp*

- Ophthalmol, 2010, 248(9): 1359-1361.
- [3] Lan MY, Liu YF, Huang CC, et al. Cavernous malformations of the central nervous system combined with cutaneous vascular lesions due to KRIT1 mutation: a case report. Clin Neurol Neurosurg, 2010, 112(8): 729-732.
 - [4] Rigamonti D, Drayer BP, Johnson PC, et al. Cerebral cavernous malformations. Incidence and familial occurrence. N Engl J Med, 1988, 319(6): 343-347.
 - [5] Günel M, Awad IA, Anson J, et al. Mapping a gene causing cerebral cavernous malformation to 7q11.2-q21. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(14): 6620-6624.
 - [6] Craig HD, Gunel M, Cepeda O, et al. Multilocus linkage identifies two new loci for a Mendelian form of stroke, cerebral cavernous malformation, at 7p15-13 and 3q25.2-27. Hum Mol Genet, 1998, 7(12): 1851-1858.
 - [7] Günel M, Awad IA, Finberg K, et al. A founder mutation as a cause of cerebral cavernous malformation in Hispanic americans. N Engl J Med, 1996, 334(15): 946-951.
 - [8] Dubovsky J, Zabramski JM, Kurth J, et al. A gene responsible for cavernous malformations of the brain maps to chromosome 7q. Hum Mol Genet, 1995, 4(3): 453-458.
 - [9] Eerola I, McIntyre B, Vikkula M. Identification of eight novel 5'-exons in cerebral capillary malformation gene-1 (CCM1) encoding Krit1. Biochim Biophys Acta, 2001, 1517(3): 464-467.
 - [10] Liquori CL, Berg MJ, Siegel AM, et al. Mutations in a gene encoding a novel protein containing a phosphotyrosine-binding domain cause type 2 cerebral cavernous malformations. Am J Hum Genet, 2003, 73(6): 1459-1464.
 - [11] Bergametti F, Denier C, Labauge P, et al. Mutations within the programmed cell death 10 gene cause cerebral cavernous malformations. Am J Hum Genet, 2005, 76(1): 42-51.
 - [12] Riant F, Bergametti F, Aygnac X, et al. Recent insights into cerebral cavernous malformations: the molecular genetics of CCM. FEBS J, 2010, 277(5): 1070-1075.
 - [13] Pileggi S, Buscone S, Ricci C, et al. Genetic variations within KRIT1/CCM1, MGC4607/CCM2 and PDCD10/CCM3 in a large Italian family harbouring a Krit1/CCM1 mutation. J Mol Neurosci, 2010, 42(2): 235-242.
 - [14] Lee YW, Lee ST, Cha JG, et al. A novel KRIT1 gene mutation in a patient with cerebral and multiple spinal cavernous malformations. Ann Clin Lab Sci, 2010, 40(3): 290-294.
 - [15] Muscarella LA, Guarnieri V, Coco M, et al. Small deletion at the 7q21.2 locus in a CCM family detected by real-time quantitative PCR. J Biomed Biotechnol, 2010, 2010: pii: 854737.
 - [16] Chen DH, Lipe HP, Qin Z, et al. Cerebral cavernous malformation: novel mutation in a Chinese family and evidence for heterogeneity. J Neurol Sci, 2002, 196(1-2): 91-96.
 - [17] 徐宇伦, 赵继宗, 吴秉铨, 等. 汉族家族性中枢神经系统海绵状血管畸形致病基因的一个新突变位点. 中华病理学杂志, 2003, 32(3): 220-225.
 - [18] Ji BH, Qin W, Sun T, et al. A novel deletion mutation in CCM1 gene (krit1) is detected in a Chinese family with cerebral cavernous malformations. Yi Chuan Xue Bao, 2006, 33(2): 105-110.
 - [19] Zhao Y, Xie L, Li P, et al. A novel CCM1 gene mutation causes cerebral cavernous malformation in a Chinese family. J Clin Neurosci, 2011, 18(1): 61-65.
 - [20] Denier C, Labauge P, Bergametti F, et al. Genotype-phenotype correlations in cerebral cavernous malformations patients. Ann Neurol, 2006, 60(5): 550-556.
 - [21] Stahl S, Gaetner S, Voss K, et al. Novel CCM1, CCM2, and CCM3 mutations in patients with cerebral cavernous malformations: in-frame deletion in CCM2 prevents formation of a CCM1/CCM2/CCM3 protein complex. Hum Mutat, 2008, 29(5): 709-717.
 - [22] Labauge P, Laberge S, Brunereau L, et al. Hereditary cerebral cavernous angiomas: clinical and genetic features in 57 French families. Lancet, 1998, 352(9144): 1892-1897.
 - [23] Verhoef S, Bakker L, Tempelaars AM, et al. High rate of mosaicism in tuberous sclerosis complex. Am J Hum Genet, 1999, 64(6): 1632-1637.
 - [24] Verlaan DJ, Laurent SB, Sure U, et al. CCM1 mutation screen of sporadic cases with cerebral cavernous malformations. Neurology, 2004, 62(7): 1213-1215.
 - [25] Verlaan DJ, Laurent SB, Rouleau GA, et al. No CCM2 mutations in a cohort of 31 sporadic cases. Neurology, 2004, 63(10): 1979.
 - [26] Brunereau L, Levy C, Laberge S, et al. De novo lesions in familial form of cerebral cavernous malformations: clinical and MR features in 29 non-Hispanic families. Surg Neurol, 2000, 53(5): 475-483.
 - [27] Limaye N, Boon LM, Vikkula M. From germline towards somatic mutations in the pathophysiology of vascular anomalies. Hum Mol Genet, 2009, 18(R1): R65-74.
 - [28] Gault J, Shenkar R, Recksiek P, et al. Biallelic Somatic and Germ Line CCM1 Truncating Mutations in a Cerebral Cavernous Malformation Lesion. Stroke, 2005, 36(4): 872-874.
 - [29] Gault J, Awad IA, Recksiek P, et al. Cerebral cavernous malformations: somatic mutations in vascular endothelial cells. Neurosurgery, 2009, 65(1): 138-144.
 - [30] Akers AL, Johnson E, Steinberg GK, et al. Biallelic somatic and germline mutations in cerebral cavernous malformations (CCMs): evidence for a two-hit mechanism of CCM patho-

- genesis. Hum Mol Genet, 2009, 18(5): 919-930.
- [31] Pagenstecher A, Stahl S, Sure U, et al. A two-hit mechanism causes cerebral cavernous malformations: complete inactivation of CCM1, CCM2 or CCM3 in affected endothelial cells. Hum Mol Genet, 2009, 18(5): 911-918.

- [32] Liquori CL, Berg MJ, Squitieri F, et al. Low frequency of PDCD10 mutations in a panel of CCM3 probands: potential for a fourth CCM locus. Hum Mutat, 2006, 27(1): 118.

营养在阿尔茨海默病中的作用

李志安 综述 艾清龙 审校

昆明医学院第一附属医院神经内科, 云南省昆明市 650032

摘要:阿尔茨海默病(AD)是一种常见的神经系统变性疾病。近年来不断有研究表明,营养物质与AD密切相关,如高热量饮食、脂肪酸、抗氧化物质、维生素类及金属离子对AD的发病具有抑制或促进作用。这些营养物质通过作用于神经细胞膜、神经递质、脑血管、A β 等来干预AD的发病。本文就这方面的研究进展进行综述。

关键词:阿尔茨海默病;营养;饮食

阿尔茨海默病是老年人常见的神经系统变性疾病,为痴呆最常见的病因,其特征性的病理改变为老年斑、神经元纤维缠结、海马锥体细胞颗粒空泡变性和神经元缺失。起病隐袭,以进行性智能衰退为主要临床表现,常伴有人格改变,症状持续进展,病程通常为5~10年。AD的发病机制尚未明了,除遗传因素外,尚与多种因素有关。近年来,营养与AD发病率和患病率风险之间关系的研究越来越多。研究表明,营养可能通过多种途径来干预AD的发生和发展,这为预测营养在改善AD病情进程方面的潜在能力提供了坚实的基础,尤其是在AD的早期阶段。

1 营养、营养缺乏和AD

1.1 营养缺乏与AD

认知能力和营养状况是老年人总体健康水平和功能状态的重要特征,且营养与认知密切相关。近年来的研究表明,营养缺乏是AD的潜在危险因素,而AD的认知障碍反过来又会引起患者饮食习惯的改变,由此导致营养缺乏、体重下降、病情恶化、免疫功能受损、应激能力低下,从而增加发生感染、皮肤溃疡、跌倒等的危险性。Guerin等^[1]研

究发现,营养状况差的AD患者其认知能力和活动能力也较差。有研究表明,AD患者可以从营养干预中获益^[2]。

1.2 高热量与AD

高热量饮食及运动减少易导致肥胖和胰岛素抵抗,甚至代谢综合征。研究表明,代谢综合征同样会增加AD的患病风险。肥胖作为AD患病的危险因素倍受关注。中年肥胖可增加老年患AD的风险,脂肪含量/体重指数与 β -淀粉样肽(β -amyloid peptide, A β)的含量呈正相关,说明肥胖可能与AD的发病及进展有关。大量研究表明,糖尿病也是AD的危险因素,胰岛素的代谢异常,可能通过影响A β 的合成和降解来影响AD的发病,并且糖尿病时出现的无症状性脑局部缺血损伤也可促进认知功能的恶化^[3,4]。

1.3 脂肪与AD

大量饱和及反式不饱和(氢化)脂肪的摄入与AD的发病风险增加呈正相关,而摄入多聚不饱和脂肪酸(poly-unsaturated fatty acid, PUFA)却具有对抗认知能力下降的作用。n-3脂肪酸是重要的多聚不饱和脂肪酸,主要来源于鱼类。n-3脂肪酸系

收稿日期:2010-08-25;修回日期:2010-11-15

作者简介:李志安(1982-),男,硕士研究生,主要从事老年痴呆的基础研究。

通讯作者:艾清龙,男,主任医师,硕士生导师,主要从事神经心理学研究。