

肺动脉高压的遗传学基础 (下)

中国医学科学院 阜外心血管病医院 荆志成 徐希奇

4.3 HIV感染相关性肺动脉高压、门静脉相关性肺动脉高压及先天性心脏病相关性肺动脉高压: 在一项对19例HIV感染相关性肺动脉高压(11例由静脉注射引起, 8例通过性途径/血液途径引起)中未发现BMPR2基因突变。在美国(入选11例HIV相关性肺动脉高压)和英国(入选25例HIV相关性肺动脉高压)进行的相似研究也未发现BMPR2基因突变。目前还未见有对门静脉相关性肺动脉高压和先天性肺分流相关性肺动脉高压的成人或儿童患者进行BMPR2基因研究的报道。

4.4 肺动脉高压的免疫遗传学研究: 尽管早期研究发现原发性肺动脉高压患者体内存在抗核抗体, 但有关免疫遗传学研究报道极少。既往对原发性肺动脉高压患者进行的小规模免疫遗传学研究发现, HLA-DR, -DQ抗体与原发性肺动脉高压存在相关性。只有抗纤维蛋白-1自身抗体在原发性肺动脉高压中常见, 75例成人中70例阳性, 约为93%; 33例儿童中28例阳性, 约为85%; 18例芬氟拉明相关性肺动脉高压中12例阳性, 约为67%。

最近一项对三个种族的硬皮病患者(分别为西班牙人、非裔美国人和高加索人)进行种族差异研究, 结果发现非裔美国患者更易发生弥漫性皮肤损害和肺动脉高压。高加索患者抗着丝点抗体阳性率较高, 而非裔美国患者中抗U1-RNP和抗纤维蛋白抗体(抗U3-RNP)抗体阳性率较高。有意思的是, 在组织纤溶酶原激活物抗体阳性的特发性肺动脉高压中, HLA-DQB1*0301(DQ7)频率增加。自身抗B23(一种核仁磷酸蛋白)抗体与系统性硬化和肺动脉高压相关。同样抗B23阳性与抗纤维蛋白抗体、抗RNP抗体及肺容积下降呈正相关, 但未对其与HLA的关系进行评价。一项意大利进行的研究发现SSc相关性肺动脉高压患者体内存在抗胶原酶I抗体和HLA-B35, 但与HLA-II类抗原无关。该研究还发现更年期合并HLA-B35是系统性硬化易患肺动脉高压的危险因素。期望更大规模根据种族匹配的病例-对照免疫遗传学研究报道。

5 对 IPAH 和 FPAH 中无症状携带者进行筛查

IPAH和FPAH往往发展到肺血管床严重阻塞、肺动脉压极度升高甚至右心功能衰竭时才出现明显症状。早期诊断肺动脉高压并及时治疗有望改善患者的预后。

近期一项早期诊断肺动脉高压的方法是对家族性肺动脉高压家系中的突变携带者进行安静状态及运动超声心动图检查。研究表明95%携带危险单体型或BMPR2基因突变的家系成员运动时肺动脉收缩压升高。绝大多数无症状基因突变携带者在静息状态时肺血管阻力、肺动脉压力及右心功能均正常。绝大多数携带危险单体型或BMPR2基因突变的家系成员行走50~125米即可出现肺动脉收缩压异常升高(41~80mmHg), 相当或超过运动员剧烈运动240米时的肺动脉收缩压。

仰卧位踏车过程中采用多普勒超声心动图测量肺动脉收缩压有助于发现肺动脉高压的遗传易感者。对28例肺动脉高压基因突变携带者进行随访研究发现, 1例运动过程中肺动脉收缩压升高的患者3年内发病。超声心动

图筛查还有助于及早发现无症状的家族性肺动脉高压患者。只有少部分PASP升高的无症状家系成员最终会发病, 生化标记物的预测价值还没有得到证据支持。

一些正常人运动过程中也会出现肺动脉收缩压升高, 因而有一定的假阳性。另外左室充盈功能异常也可导致反应性肺动脉高压, 导致误诊。为解释这些重要问题, 欧盟正在进行一项前瞻、病例对照研究, 以评价多普勒超声心动图在运动和缺氧状态时对肺动脉高压家系成员的应用价值。

6 遗传学检测和咨询

采用遗传学手段估测遗传性疾病的患病危险要根据现有研究证据评价检查的益处及风险。对外显率高、可有效预防和治疗的遗传疾病如多发性内分泌瘤而言, 遗传学检查的益处远远超过带来的风险。然而对缺乏有效干预治疗的遗传病如Huntington's病, 遗传学检查带来的风险则要超过益处。对所有遗传性疾病而言, 对参加检查的人员提供检查前、后的咨询十分重要。

6.1 家族性肺动脉高压的研究现状和临床检查的作用 编码BMPR2受体的基因比较大, 有13个外显子。目前仅限于对有明确肺动脉高压家族史的家系成员进行基因突变筛查。即使如此遗传学检查的敏感性也较低, 因为至少50%的家族性肺动脉高压未发现BMPR2外显子基因突变。如果一个家系中患病和没有患病的成员足够多, 可以进行单体型检测。然而对已知BMPR2突变位点的家族成员进行检查所需费用较少, 并且敏感性和特异性均较高。但每个家系基因突变的位点均不相同。所有已知的BMPR2基因突变引起肺动脉高压的外显率变异较大, 绝大多数家系为15%~20%, 部分家系可高达80%左右。因此采用DNA检测技术寻找BMPR2基因突变有助于识别家系中高风险的成员。遗传学检查并不能简单地应用特发性肺动脉高压患者中, 仅适用于已知基因突变的家族性肺动脉高压家系成员。

必须在具有资质、符合法律的实验室进行检测, 以避免标本污染等错误的发生。为保障受检者的权益, 遗传学检查和咨询必须单独进行。还要一位有资质、接受过训练的遗传学咨询师对每位受检者的家庭计划、家族成员关系、工作环境、自我感觉、保险情况及社会舒适度等问题进行细致评价。

6.2 初步了解家系成员的态度及对肺动脉高压的认识程度 在检测与肺动脉高压相关的BMPR2基因突变以前, 首先应评价家系成员的心理状况。例如有一个家族性肺动脉高压家系成员有82人同意接受遗传学检查, 占整个家系的75%, 其中62人完成电话预约。超过66%的家系成员认为如果有价值则考虑或肯定接受遗传学检查。如果他们得到肯定答复则感兴趣的人员明显增多($P<0.001$)。同意接受检查最重要的原因是他们想知道孩子患病的风险。不同意检查的原因包括考虑对家族的影响、是否能够理性地看待疾病、担心保险公司拒保(尽管该原因在其它研究所占比例较低)。接受20%被问者对诊断技术和研究需要抽血不理解。

大量研究表明对遗传学检查的调查往往过高估计了实际参与情况。以Huntington's病为例, 超过80%的危险人群表示对遗传学

检查感兴趣, 但当发现基因突变后, 只有10%的人选择接受检查。影响接受检查的原因很多, 包括性别(女性更愿意接受检查)、感觉到危险、希望得到确诊、有效并且可以接受的治疗方法、关心已出生或将来出生的孩子及抑郁等。

7 与肺动脉高压患病风险相关的修饰基因

表2列举了部分已知和可能影响与肺动脉高压发生有关的修饰基因, 所列举得并不全面, 并且对这些基因的重要性也并未研究透彻。这些基因可能通过多态性影响肺动脉高压患病风险, 尤其与环境因素刺激(如芬氟拉明或脾切除等)共同作用可导致疾病的发生。分析肺动脉高压发病风险与基因的关联是一个复杂的统计学问题。肺动脉高压是一类复杂遗传学疾病, 主要致病基因如BMPR2和修饰基因相互作用以及环境刺激共同参与肺动脉高压的发生, 这也是肺动脉高压研究未来的发展方向。除了统计关联, 功能研究也有助于明确基因表达产物是否可影响肺动脉高压的发生。

5-羟色胺载体基因及蛋白是肺动脉高压中研究最多的修饰基因和表达产物。5-羟色胺刺激培养的IPAH肺动脉平滑肌细胞, 结果平滑肌细胞明显增殖。这种异常反应是因为5-羟色胺载体(5-HTT)过度表达所致。部分是由于5-HTT基因启动子区存在功能性基因多态-纯合的L等位基因, 可能与基因转录水平升高相关。纯合的L等位基因在肺动脉高压患者和正常对照中的分布频率分别为65%~75%和25%~30%。最近研究表明5-HTT基因多态性与缺氧状态时COPD患者肺动脉高压严重程度有关, 提示LL基因型通过引起5-HTT的过度表达在不同类型肺动脉高压的病理生理过程中起重要作用。5-HTT基因多态性可能是肺动脉高压临床表型的修饰因素, 也可能影响某些肺动脉高压患者的遗传易感性。

肺动脉高压转基因模型。几个研究小组正在对BMPR2基因突变小鼠模型进行研究。Beppu等人最先建立的是完全性缺失突变小鼠模型, 携带纯合BMPR2基因突变的小鼠在胚胎发育极早期死亡。Delot等人构建的是外显子2框内缺失小鼠模型, 外显子2框内缺失导致与配体结合的细胞膜外段缺失。携带纯合的部分性缺失突变等位基因的小鼠往往在受孕12.5天左右死在胚胎期。病理学检查发现这些小鼠心脏中存在永存动脉干, 表明BMPR2在正常心脏发育过程中起重要作用。

最近Beppu等人报道了对携带完全杂合缺失的BMPR2基因突变小鼠研究结果。尽管这些小鼠并没有发展成肺动脉高压, 但慢性缺氧3周后杂合小鼠的肺血管阻力和右室/(左室+间隔)比值均高于纯合的野生型小鼠。采用复制缺陷型腺病毒制备的杂合缺失BMPR2小鼠模型, 结果发现小鼠肺内5-脂氧酶(5-LO)过度表达, 肺动脉压也较野生型小鼠升高。因此5-LO可能修饰BMPR2杂合缺失小鼠发生特发性肺动脉高压的易感性。

在实验室对小鼠进行遗传学研究已成为研究人类疾病的得力工具。简单转基因和基因敲除有助于快速发现肺动脉高压的特异性基因、观察表达上调或下调情况, 从而判断该基因是否可影响肺动脉高压的遗传易感性。

转基因和基因敲除模型交互使用可制备携带1个以上基因突变的小鼠模型, 对观察多个基因突变是否存在交互作用以探讨修饰基因的功能。利用转基因方法研究特发性肺动脉高压的研究刚刚开始, 需要构建多种小鼠模型进行研究, 并且这些模型是否有助于明确肺动脉高压的发病机制仍有待时间验证。

8 总结

肺动脉高压未来研究的重点在于寻找环境因素和遗传因素的修饰因素, 这些修饰因素决定携带危险基因突变的患者发生肺动脉高压的风险。最近肺动脉高压小鼠模型的建立将极大推进遗传学研究的进展。寻找潜在的修饰基因并在肺动脉高压患者及家族成员中进行验证, 将为统计学检验提供强有力的证据。最近研究进展要求制定有家族性肺动脉高压发病风险的无症状家系成员筛查方法, 为以预防为主要目标的临床研究奠定基础。无论预防还是治疗的最终目标均是改善肺动脉高压患者及家系成员的预后。

测试:

- 在原发性肺动脉高压中常见的是:
 - 抗纤维蛋白-1自身抗体;
 - 抗U3-RNP抗体;
 - 抗着丝点抗体;
 - 自身抗B23抗体。
- 下列指标中, 对绝大多数家族性肺动脉高压家系中无症状基因突变携带者而言, 在静息状态时正常的是:
 - 肺血管阻力;
 - 肺动脉压力;
 - 右心功能;
 - 以上都对。
- 目前尚未发现BMPR2基因突变的是:
 - 门静脉相关性肺动脉高压;
 - 先天性肺-肺分流相关性肺动脉高压;
 - HIV感染相关性肺动脉高压;
 - 以上都对。
- 下列说法准确的是:
 - 非裔美国硬皮病患者比高加索患者更易发生弥漫性皮肤损害和肺动脉高压;
 - 非裔美国硬皮病患者中抗U1-RNP和抗纤维蛋白抗体(抗U3-RNP)抗体阳性率较高加索患者高;
 - 高加索硬皮病患者抗着丝点抗体阳性率较非裔美国硬皮病患者高;
 - 以上都对。
- 下列说法不妥的是:
 - 一般来说, 遗传学检查的益处远远超过带来的风险; 然而对缺乏有效干预治疗的遗传病如Huntington's病, 遗传学检查带来的风险则要超过益处;
 - 正常人在运动过程中也可能出现肺动脉收缩压升高;
 - 肺动脉高压的主要致病基因(如: BMPR2)和修饰基因相互作用以及环境刺激始终参与肺动脉高压的发生发展过程;
 - 简单转基因和基因敲除有助于快速判断该基因是否可影响肺动脉高压的遗传易感性。