

## 两 X- 性连锁遗传鱼鳞病家系类固醇硫酸酯酶基因研究

刘安,肖生祥,谭升顺,焦婷,刘艳,李晓莉,周少娜(西安交通大学第二医院皮肤科,陕西西安 710004)

**摘要:**目的 研究 X 性连锁遗传鱼鳞病(XLI)家系基因突变,探讨基因突变与临床表现的关系,为进一步开展基因诊断和基因治疗奠定基础。方法 抽取不同地区两个家系中患者、正常人及与这些家系无关的 50 例正常人的外周血,提取外周血基因组 DNA。应用 PCR 方法扩增外周血基因组 DNA 类固醇硫酸酯酶(STS)基因的第 1、2 和 10 外显子。结果 两个家系中的患者 STS 基因均部分缺失,既仅有第 1 外显子,而无其他外显子。家系中正常人和与该家系无关的 50 例正常人未发现这种缺失。结论 该两 XLI 家系存在 STS 基因部分缺失,该缺失引发出 XLI 特有的皮肤病变。

**关键词:**类固醇硫酸酯酶;基因;缺失;X 性连锁遗传鱼鳞病

中图分类号:Q78;R758.52 文献标识码:A 文章编号:1000-2588(2005)08-1023-03

### Investigation of steroid sulfatase gene in two pedigrees with X-linked ichthyosis

LIU An, XIAO Sheng-xiang, TAN Sheng-shun, JIAO Ting, LIU Yan, LI Xiao-li, ZHOU Shao-na  
Department of Dermatology, Second Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China

**Abstract: Objective** To investigate the gene mutation in two pedigrees with X-linked ichthyosis (XLI) and explore the relationship between the mutation and clinical manifestations. **Methods** Genomic DNA of the affected and normal members of the pedigrees and 50 unrelated normal subjects from different regions was extracted with a whole blood genomic DNA extraction kit for use of the template for PCR amplification of exon 1, exon 2 and exon 10 of the steroid sulfatase (STS) gene. **Results** The STS gene was partially deleted in the affected members in the pedigrees with XLI, leaving only exon1 but not the other exons. The normal member of the pedigree and 50 unrelated normal subjects had no such deletion. **Conclusion** Partial deletion of the STS gene exists in the two pedigrees with XLI, which is responsible for pathological skin changes characteristic of XLI.

**Key words:** steroid sulfatase gene; gene mutation, deletion; X-linked ichthyosis

鱼鳞病是一种遗传性皮肤病,表现为皮肤干燥、粗糙,具有特征性鱼鳞状鳞屑,分为六型--寻常性鱼鳞病、板层状鱼鳞病、表皮松解性表皮过度鱼鳞病、局限性线状鱼鳞病、获得性鱼鳞病、胶样婴儿和重型胶样婴儿,其中 X 性连锁遗传鱼鳞病(X-linked ichthyosis, XLI)属于寻常性鱼鳞病。患病的家族中,男性为病人,女性为遗传基因的携带者<sup>[1]</sup>。1978 年 Shapiro 和 Koppe 等人阐述了 X 连锁的类固醇硫酸酯酶(steroid sulfatase, STS)缺陷与 XLI 的内在关系。绝大部分患者的 STS 基因是完全缺失,只有一小部分是部分缺失,偶见错义突变<sup>[2-5]</sup>。目前,对于 XLI 国内仅做了大量的病例报道<sup>[6-8]</sup>,本文分析了国内 X 性连锁遗传鱼鳞病两家系 STS 基因的缺失情况。

### 1 资料和方法

#### 1.1 临床资料

选取不同地区的两家系。其中一位先证者现 15 岁,足月顺产,家系中有患同种疾病的患者有 3 人(图 1);另一先证者现 18 岁,家族总患病者 3 人(图 2),两

个先证者均出生后即发现全身皮肤干燥、粗糙,附着黑褐色鳞片,以肘窝、腹部、小腿为主。两家系中的女性均无病症,符合 X 性连锁遗传规律。

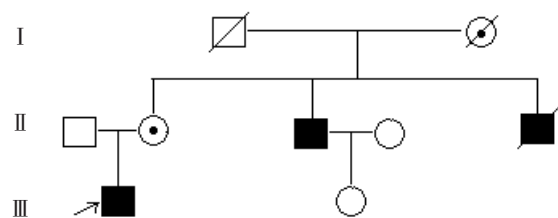


图 1 第一家系家系图

Fig.1 Diagram of the first pedigree

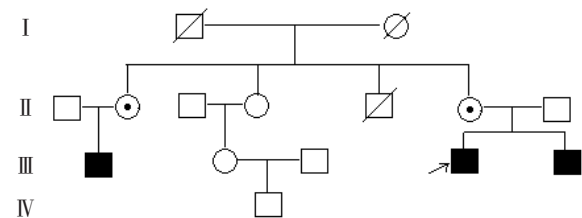


图 2 第二家系家系图

Fig.2 Diagram of the second pedigree

收稿日期:2005-02-15

作者简介:刘安(1975-),女,在读博士,研究方向:遗传性皮肤病的基因研究,E-mail:liuan75@163.com

#### 1.2 外周血基因组 DNA 提取

抽取两家系中 4 个病人、病人的女性亲属及与家系无关的 50 例正常人的外周血 3 ml, 2%EDTA 抗凝, -70 °C 冷冻保存。用华美生物工程公司提供的全血基因组 DNA 提取试剂盒提取外周血 DNA。

1.3 PCR

根据文献设计出的两对引物<sup>[9]</sup>, 对家系中的病人和正常人(其母)及与该家系无关的 50 例正常人(50 例正常人的 DNA 池) 的 STS 基因的第 1 外显子、第 2 外显子和第 10 外显子进行扩增。第 1 外显子的正向序列为 5'-GGC CTA GAA GAA GGT TGA AGG TCC C-3', 反向序列为 5'-AAG AGG TTG GAT GAG ATG GGC ATA C-3', 预计扩增片段为 292 bp ;第 2 外显子的正向序列为 5'-TCC TTT ACA GGA AGA TGA AG-3', 反向序列为 5'-CAT TAC CAA CCT GAT AGT TTT-3', 预计扩增片段为 160 bp ;第 10 外显子的正向序列为 5'-GAA ATC CTC AAA GTC ATG CAG GAA G-3', 反向序列为 5'-CCT CCA GTT GAG TAG CTG TTG AGC T-3', 预计扩增片段为 363 bp。这 3 对引物分别位于 STS 基因的 5' 端和 3' 端。PCR 反应总体积为 50 μl, 其中反应液包括 5 μl 缓冲液, 10 mmol/L dNTP 1 μl (ClonTech 公司产品), 2.5 μmmol/L 上下游引物各 1 μl (由上海博亚生物公司合成), Taq 酶 0.5 μl (2.5 μ), 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 5 μl (Promega 公司生产), 模板 10 μl。第 1 外显子和第 10 外显子的反应条件为 94 °C 30 s, 61 °C 50 s, 72 °C 3 min, 共 35 个循环;第 2 外显子的反应条件为 94 °C 1 min、55 °C 1 min、72 °C 1 min, 30 个循环。PCR 产物用 1.5%琼脂糖凝胶(溴化乙锭染色)电泳分析。

1.4 对 PCR 结果进行测序

PCR 产物采用全自动 DNA 测序仪(上海鼎安生物公司)进行序列测定, 测序结果进行同源性分析。

2 结果

病人的 STS 基因 PCR 扩增后外显子 1 有产物, 外显子 2 和外显子 10 无产物, 而女性亲属及与该家系无关的 50 例正常人均扩增出 1 条 292 bp 的 DNA 片段、1 条 160 bp 的 DNA 片段和 1 条 363 bp 的 DNA 片段, 大小与 STS 基因的外显子 1、外显子 2 和外显子 10 一致;空白对照无 PCR 产物(图 3、4)。测序结果符合外显子 1 的序列。

以上结果说明该 XLI 家系患者 STS 基因部分缺失, 属于缺失突变。

3 讨论

XLI 是通过 X 染色体隐性遗传的疾病, 其发病率为 1:2000~1:6000 (男性), 通常一个家族中的只有

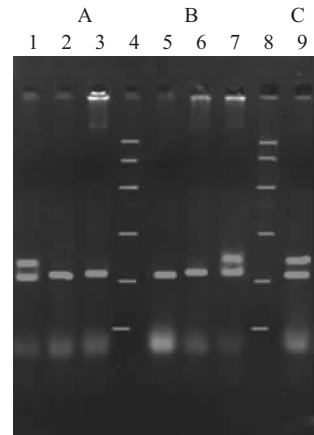


图 3 PCR 电泳图(外显子 1 和外显子 10)

**Fig.3 PCR analysis of the STS gene(Exon1 and Exon10)**  
PCR results of the exons 1 and 10 are shown by the lower and upper bands, respectively. A: The first pedigree; B: The second; C: Control. Lanes 2, 3, 5, 6: Patients with partial deletion of the STS gene; Lanes 1 and 7: Normal members of the pedigrees; Lane 9: Positive control; Lanes 4 and 8: Marker(100 bp)

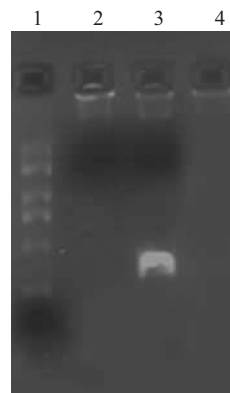


图 4 PCR 电泳图(外显子 2)

**Fig.4 PCR analysis of the STS gene(Exon2)**  
Lane 1: Marker(100 bp); Lanes 2 and 4: Patients with partial deletion of the STS gene; Lane3: Normal members of the pedigree

男性发病, 而女性很少发病。临床上主要表现为婴幼儿期发病, 皮损可泛发或局限, 以面部两侧、颈部、头皮受累最重, 腹部比背部严重, 可累及肘窝、腋窝及腘窝<sup>[1]</sup>。XLI 是由于 STS 基因突变引起。1981 年 Muller 等通过缺失位点的分析最终将 STS 定位于 X 染色体短臂(Xp22.3)。STS 是广泛分布于哺乳动物组织中的一种微粒体酶, 它的缺失与角质层的胆固醇硫酸酯酶的减少有关, 这导致了皮肤脱屑的正常过程延迟。脂质是皮肤的重要成分, 占表皮净重的 11%。这些脂质约有 10%是固醇类, 包括胆固醇硫酸盐, 其中 5%分布于颗粒层, 大部分分布于角质层和表皮的最下层。胆固醇硫酸盐存在于角质层的下层的比例大于表层, 这证实胆固醇硫酸盐与皮肤正常脱屑存在一定的联系, 相当高含量的胆固醇硫酸盐可以改变角质层细胞膜的物理特性, 增加细胞膜的稳定性和细胞间的凝聚程度。由于颗粒层是产生胆固醇的场所, 角质层下层的胆固醇硫酸盐通过反馈机制可调节邻近层的类固醇

合成。因此,通过胆固醇硫酸盐,STS 能够间接控制表皮颗粒层的类固醇合成,从而导致角质层细胞持久性粘着,干扰了角质层正常脱屑过程,表现出特有的皮肤病变<sup>[10]</sup>。患者全身皮肤干燥、粗糙,附着鳞片,这正是由于 STS 基因缺失影响了角质层正常脱屑所致。目前已知 STS 基因含有 10 个外显子,约 146 kb,紧邻 X 染色体特异区与其拟常染色体区的交界处<sup>[11]</sup>。本项 PCR 检测中,5' 端一对引物被设计在 STS 基因起始位点上游约 900 bp 处,3' 端一对引物被设计在 STS 基因第 10 外显子的末端,均具有其特异性,有效地避免了在 Y 染色体上其假基因的假阳性扩增。大部分的病人被证实是属于 STS 基因完全缺失;而部分病人是属于部分缺失的,这种缺失多半被定位在 STS 基因的 3' 端,即外显子 1 存在,而外显子 2-10 有可能缺失;当然也有一小部分人是在 STS 基因中发现点突变的<sup>[12]</sup>。

通过本次试验,我们可以判断该 2 XLI 家系均属于 STS 基因外显子 2-10 缺失。目前国际上关于 XLI 的基因突变报道,90%以上的病人属于 STS 基因完全缺失,而部分缺失和点突变占了不到 10%,报道的部分缺失中有缺失外显子 1-5,或其他外显子,也有 G1344C,C1371T 等个别碱基发生变化的。在国内,近 10 年来仅报道了一个部分缺失的 XLI 家系。上述这些变化大都发生在 STS 基因的 3' 端,显示出这一部分在 STS 基因的功能表达上具有重要作用。当这一部分有较大片段的缺失时,将会使患者产生较严重的临床症状。当然,如果缺失的片段比较大,同样也会影响 STS 基因的功能表达,即使缺失的部分不在 3' 端,也会产生较重的临床症状。

#### 参考文献:

[1] 赵 辨. 临床皮肤病学[M]. 南京:江苏科学技术出版社,2002.

1062-4.

- [2] Cuevas SA, Jimenez AL, Gonzalez LM. Somatic and germinal mosaicism for the steroid sulfatase gene deletion in a steroid sulfatase deficiency carrier[J]. *J Invest Dermatol*, 2002, 119(4): 972-5.
- [3] Gonzalez LM, Riviera MR, Kofman SH. Novel missense mutation (Arg432Cys) in a patient with steroid sulphatase-deficiency[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2003, 59(2): 263-4.
- [4] Jimenez AL, Valdes Mdel R, Rivera MR. Deletion pattern of the STS gene in X-linked ichthyosis in a Mexican population[J]. *Mol Med*, 2001, 7(12): 845-9.
- [5] Lesca G, Sinilnikova OM, Theuil G, *et al.* Xp22.3 microdeletion including VCX-A and VCX-B1 genes in an X-linked ichthyosis family: no difference in deletion size for patients with and without mental retardation[J]. *Clin Genetics*, 2005, 67(4): 367.
- [6] 徐 哲, 杨 勇, 季素珍. 伴房间隔缺损的 X- 连锁鱼鳞病 1 例[J]. *临床皮肤科杂志*, 2004, 33(3): 160-1.  
Xu Z, Yang Y, Ji SZ. A case of X-linked ichthyosis with interatrial septal defect[J]. *J Clin Dermatol*, 2004, 33(3): 160-1.
- [7] 齐之丽. X 连锁隐性遗传寻常型鱼鳞病一家系报告[J]. *潍坊医学院学报*, 2002, 24(3): 206  
Qi ZL. A report of a pedigree with X-ichthyosis[J]. *J Weifang Med Coll*, 2002, 24(3): 206.
- [8] 黎曼依, 张卫红, 司宝敏. 遗传性鱼鳞病五代 7 人家系分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 1999, 7(5): 61.  
Li MN, Zhang WH, Si BM. Investigation of a hereditary ichthyosis pedigree of seven people in five dynasties [J]. *Chin J Birth Health Heredity*, 1999, 7(5): 61.
- [9] Valdes M, Kofman SH, Vaca AL, *et al.* Mutation report: a novel partial deletion of exons 2-10 of the STS gene in recessive X-linked ichthyosis[J]. *J Invest Dermatol*, 2000, 114(3): 591-3.
- [10] Hernandez A, Gonzalez R, De Unamuno P. X-linked ichthyosis: an update[J]. *Br J Dermatol*, 1999, 141(4): 617-27.
- [11] Shapiro LJ, Yen P, Pomerantz D, *et al.* Molecular studies of deletion at the human steroid sulfatase locus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 8477-81.
- [12] Margarita VF, Susana HK, Ana LJ, *et al.* A novel partial deletion of exons 2-10 of the STS gene in recessive X-link ichthyosis [J]. *J Invest Dermatol*, 2000, 114(3): 591-3.

## 更 正

作者夏荣发表于本学报第 25 卷第 6 期 687~690 页原论文文题“外周血干细胞移植后 GVHD 的动态监控可溶性人类白细胞抗原 - I 及临床意义”更正为“可溶性人类白细胞抗原 - I 对外周血干细胞移植后 GVHD 的动态监控及临床意义”。