

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)18-1639-04

shRNA 介导的 RNAi 载体构建及对肝癌耐药细胞 MDR1 基因表达的抑制

秦维超¹, 张有顺², 周新³, 胡礼仪² (¹ 郧阳医学院附属人民医院, 湖北 十堰 442000, ² 郧阳医学院附属东风医院, 湖北 十堰 442008, ³ 武汉大学中南医院, 湖北 武汉 430071)

shRNA-mediated construction of RNAi expression plasmid and its inhibitory effect on MDR1 expression in hepatocellular carcinoma cell SMMC-7721/R

QIN Wei-Chao¹, ZHANG You-Shun², ZHOU Xin³, HU Li-Yi²¹People's Hospital, Yunyang Medical College, Shiyan 442000, China, ²Dongfeng Hospital, Yunyang Medical College, Shiyan 442008, China, ³Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China

【Abstract】 AIM : To construct a recombinant plasmid generating short hairpin RNA(shRNA) containing multi-drug resistance gene MDR1 segment in mammalian cells and to investigate its suppression on MDR1 mRNA and P-glycoprotein(P-gp) expressions in hepatocellular carcinoma cells. **METHODS** : Based on the design of two fragments of oligonucleotides for shRNA expression which targeted MDR1 gene(sh-MDR1-1, sh-MDR1-2), RNAi plasmids (psh-MDR1) were constructed and transfected into SMMC-7721/R cells by LyoVecTM. Drug sensitivity was measured by MTT assay, P-gp expression and intracellular Rh123 accumulation were determined by flow cytometry(FCM). **RESULTS** : Recombinant psh-MDR1 vectors were identified by PCR and confirmed by sequencing analysis. They could suppress P-gp expression in hepatocellular carcinoma cells. Drug sensitivity was increased significantly after pshRNA-MDR1 was transfected in SMMC-7721/R cells. The level of P-gp expression was reduced significantly. The intracellular accumulation of Rh123 was increased greatly after psh-MDR1 treatment in SMMC-7721/R cells. The sh-MDR1-1 was more effective in the suppression of MDR1. **CONCLUSION** : Recombinant psh-MDR1 vector can suppress the expressions of MDR1 mRNA and P-gp in SMMC-7721/R cells. The inhibitory effect of the shRNA generated from the DNA vector is highly related to the target sites and to the different cell lines.

【Keywords】 RNA interference ; drug resistance , multiple ; short hairpin RNA ; recombination , genetic ; plasmids ; gene expression

【摘要】目的 : 重组构建抑制多药耐药 MDR1 基因表达的 shRNA 真核表达载体, 研究其对肝癌耐药细胞 MDR1 基因表达的抑制作用, 以及对 P-糖蛋白(P-gp)表达和功能的抑制作用。方法 : 根据 MDR1 基因序列, 设计两段 21 个碱基的 MDR1 特异性靶序列作为 shRNA 目标序列(sh-MDR1-1, sh-MDR1-2), 重组构建 psh-MDR1 表达质粒。采用脂质体介导转染肝癌耐药细胞 SMMC-7721/R, 用 MTT 法测定细胞对化疗药物阿霉素(ADM)的敏感性, 流式细胞仪检测细胞膜表面 P-糖蛋白(P-gp)表达和细胞内 Rhodamine123(Rh123)的滞留。结果 : PCR 和 DNA 测序证实了 psh-MDR1-1 和 psh-MDR1-2 重组质粒的成功构建, 均能有效地抑制细胞 P-gp 表达, 转染细胞后均能够一定程度地恢复耐药细胞对化疗药物 ADM 敏感性, P-gp 表达水平明显降低, 细胞内的 Rh123 稳态积累量均明显增高; 第 1 条序列更能有效的抑制 MDR1 基因表达。结论 : 体外完成 shRNA RNAi 载体的构建, 能有效地逆转肝癌耐药细胞 MDR1 基因过度表达, 抑制 P-gp 介导的多药耐药。从 DNA 载体产生的 shRNA 在肝癌耐药细胞内能诱导 RNAi, 能够序列特异性地抑制 MDR1 基因表达。

【关键词】 RNA 干扰 ; 抗药性 ; 多药 ; 短发夹 RNA ; 重组 ; 遗传 ; 质粒 ; 基因表达

【中图分类号】 R733 **【文献标识码】** A

0 引言

肿瘤化疗失败的重要原因之一是肿瘤产生多药耐药(multi drug resistance, MDR)。多药耐药基因 MDR1 基因的过度表达是导致肿瘤细胞产生耐药的重要机制^[1-2]。RNA 干扰(RNAi)是新近发展起来的一种封闭基因表达的有效方法, 它通过将双链 RNA (dsRNA) 导入细胞后, 在 Dicer 酶的作用下产生有活性的小干扰 RNA(siRNA), 使与该段 RNA 同源的目的 mRNA 产生特异性降解, 从而导致特异基因表达抑制的转录后基因沉默现象^[3-4]。本实验我们运用 PGE-1 载体, 构建了含多药耐药基因(MDR1)的短发夹状 RNA(shRNA)真核表达载体, 观察其对肝癌耐药细胞株 SMMC-7721/R 的 MDR1, P-糖蛋白(P-gp)表达的抑制作用。

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌细胞株 SMMC-7721 为同济医科大

收稿日期 2007-02-02 ; 接受日期 2007-06-21

基金项目 湖北省教育厅资助(2004D006)

通讯作者 张有顺. Tel : (0179) 8272286 Email : zlib125@126.com

作者简介 秦维超, 硕士生(导师张有顺, 周新), 主管技师. Tel :

(0719) 8637268 Email : qinweichao1018@163.com

学免疫教研室沈关心教授惠赠, 本研究所传代培养。SMMC-7721/R 细胞由本室用阿霉素对其敏感细胞株诱导成功后冻存。宿主菌大肠埃希氏菌 SCS1, PGE-1 质粒及 PGE-1 阴性对照质粒 (sh-neg), TaqDNA 聚合酶, T₄DNA 连接酶和 MgCl₂ 均购自 Promega 公司, 限制性内切酶 *Bam*HI 和 *Xba*I 购自 MBI 公司, 低熔点琼脂糖购自 Gibco 公司, 小量质粒提取试剂盒和回收质粒纯化试剂盒均购自上海申能博彩公司。转染试剂 LyoVecTM 为 InvivoGen 公司产品, 抗 P-gp 抗体为 Neo-Markers 产品, FITC-标记的羊抗鼠 IgG 为 KPL 产品, 罗丹明 123 (Rh123) 和四甲基偶氮唑盐 (MTT) 为 Sigma 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 引物的设计

针对质粒 PGE-1 序列, 利用引物设计软件设计 PCR 引物序列, Forward: 5'-CGT CGA TTT TTG TGA TGC TCG TCA G-3', Reverse 5'-GAA GCA TTT ATC AGG GTT ATT GTC TCA TG-3'。根据 GeneBank 中的 MDR1 mRNA 序列设计 MDR1 引物 1 5'-CAGGAGATAGGCTGGTTTGATGCT-3', 引物 2: 5'-TTAGCTTCCAACCACGT GTAAATC-3', 其产物为 172 bp 引物和 DNA 片段由上海生工有限公司合成。

1.2.2 重组质粒的构建与鉴定

1.2.2.1 shRNA 的设计与合成

按照 shRNA 的设计原则^[5] 根据 GeneBank MDR1 基因已知序列, 选取 2 段含 21 nt 的 MDR1 特异性靶序列作为 shRNA 目标序列 (sh-MDR1-1: GGA GGC CAA CAT ACA TGC CTT; sh-MDR1-2: GAT CGC TAC TGA AGC AAT AGA) 在 GeneBank 数据库进行同源序列搜索, 以证明其特异性。合成该目的序列的反向互补序列, 中间通过 8 nt 的回折序列 (GAAGCTTG) 将此两段序列相连, 形成茎环结构, 3' 端添加 5 个 T 作为 RNA 聚合酶 III 的终止子, 形成 62 nt 的寡核苷酸正义链。

1.2.2.2 pshRNA-MDR1 重组质粒的构建

合成 2 对 62 nt 寡核苷酸链, 溶解在 ddH₂O 中, 终浓度为 0.2 g/L。正义链和互补链的 Oligos 退火形成双链 DNA (dsDNA), 分别与经过酶切回收后的 PGE-1 线性载体连接, 得到重组质粒, 命名为 pshRNA-MDR1-1 和 pshRNA-MDR1-2。转化感受态细胞, 37℃ 培养过夜筛选, 获得阳性转化子菌落。

1.2.2.3 重组质粒的鉴定

挑选阳性转化菌落扩增, 提取质粒。用 PCR 方法初步鉴定, 同时设计未带插入片段的 PGE-1 质粒作为对照。扩增条件: 94℃ 变性 3 min, 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 35 个循环后, 72℃ 延伸 5 min。取 PCR 产物和 DNA Marker 经 50 mol/L 的聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴

定。提取重组质粒, 送大连宝生物工程技术有限公司进行序列测定。

1.2.3 细胞转染

培养调整细胞 1×10^{11} /L, 接种于 6 孔板, 培养: 100 mL/L 小牛血清, 37℃, 50 mL/L CO₂ 待细胞贴壁至 80% 汇片后, 换入无血清 RPMI1640 培养基, 同时分别加入 AB 混合液 (A 液: 一定量 20 μL 的重组质粒稀释于 100 μL 无血清 RPMI 1640 中, B 液: 25 μL 脂质体稀释于 100 μL 无血清 RPMI 1640 中, 混合 AB 液。)置室温孵育 30 min, 培养 5 h 后加小牛血清终止转染, 24 h 后换完全培养基, 然后培养不同时间备用。同时设立 PGE-1 阴性对照质粒 (sh-neg) 转染组。

1.2.4 重组质粒在细胞内表达

MTT 法检测细胞对 ADM 药物敏感性, 各试验组细胞转染 24 h 后, 取对数生长期细胞 (包括试验组, 对照组), 调整细胞浓度为 1×10^{11} /L。接种于 96 孔板, 加入不同浓度的 ADM, 置 50 mL/L CO₂, 37℃ 培养箱中孵育 48 h 后, 加入 MTT 10 μL (5 g/L), 继续培养 4 h 后弃培养上清液, 加入 DMSO, 振荡 10 min 后, 570 nm 测出吸光度值。每个浓度组平行 4 孔, 取平均值, 计算细胞存活率 (90%) = $A_{\text{实验组}}/A_{\text{对照组}} \times 100\%$, 以药物浓度为横轴, 细胞存活率为纵轴绘制浓度效应曲线, 求出回归方程, 确定半数抑制浓度 (IC₅₀)。耐药指数 (resistance index RI) = $\text{实验组 IC}_{50}/\text{亲本细胞 IC}_{50}$ 。

1.2.5 用 FCM 检测质粒转染后细胞表面膜蛋白 P-gp 表达

各试验组转染细胞 72 h 后, 胰酶消化, 调整最终浓度 1×10^{11} /L, 混匀细胞。20 g/L 甲醛室温固定 20 min, 冷 PBS 洗涤 2 次, 加入 P-gp 抗体, 4℃ 孵育 2 h, 混匀细胞, PBS 洗 2 次, 加入 FITC 标记的羊抗鼠 IgG, 室温避光孵育 30 min。PBS 洗涤后, 立即用流式细胞仪检测。相同处理组平行 5 孔, 以未经处理的 SMMC-7721/R 细胞为空白对照。

1.2.6 FCM 检测转染后细胞内 Rh123 的滞留

各实验组转染细胞 72 h 后, 用 PBS 洗 2 遍, 加入 Rh123 (0.2 mg/L), 37℃ 培养箱中共孵育 45 min。冷的 PBS 洗 2 遍, 胰酶消化各组细胞, 调整最终浓度 1×10^9 /L, 在 30 min 内用流式细胞仪测细胞内 Rh123 的强度。

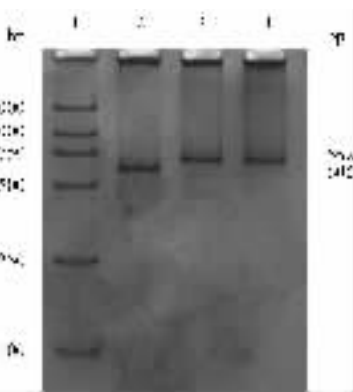
统计学处理: 数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 运用 SPSS12.0 统计软件对数据进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 组间比较利用 LSD 法检测其差异性, 判断标准以 $P < 0.05$ 为有统计学显著性差异。

2 结果

2.1 shRNA 真核表达载体的构建及鉴定

未带插入片段的 PGE-1 质粒扩增产物电泳结果在 605 bp

处,插入 62 nt 的 pshRNA- MDR1-1 和 pshRNA- MDR1-2 重组质粒的扩增产物在 652 bp 处,其电泳结果与实验预计的结果完全相符(图 1)。重组质粒的测序结果与设计合成的 sh-MDR1 靶向目标序列完全一致,证明把合成的 62 nt 的寡核苷酸插入到了 RNAi 载体 PGE-1 中的预计位点,且序列完全一致。



1: Marker 2 PGE-1 扩增产物 3 psh-MDR1-1 扩增产物 4 psh-MDR1-2 扩增产物。

图 1 重组质粒 PCR 产物聚丙烯酰胺凝胶电泳

2.2 MTT 法检测各组细胞药物敏感性 SMMC-7721/R + sh-neg 与 SMMC-7721/R 细胞组相比较,差异无显著性($P > 0.05$)。SMMC-7721/R + sh-MDR1-1, SMMC-7721/R + sh-MDR1-2 细胞组分别与 SMMC-7721/R 细胞组相比较, IC_{50} 明显降低,有显著性差异($P < 0.05$);比较 psh-MDR1-1 和 psh-MDR1-2 质粒在细胞内表达同样存在显著性差异($P < 0.05$)。以上表明重组构建的质粒转染细胞后均一定程度地恢复耐药细胞对化疗药物 ADM 敏感性(表 1)。

表 1 shRNA 对 SMMC-7721/ADM 细胞 IC_{50} 的影响($n = 5$)

组别	IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$) ($\bar{x} \pm s$)	RX (%)
SMMC-7721/S	0.031 \pm 0.007	1.00
SMMC-7721/R	1.012 \pm 0.006	32.64
SMMC-7721/R + sh-neg	1.008 \pm 0.005	32.50
SMMC-7721/R + sh-MDR1-1	0.433 \pm 0.015 ^a	13.96
SMMC-7721/R + sh-MDR1-2	0.581 \pm 0.044 ^{ac}	18.76

^a $P < 0.05$ vs SMMC-7721/R, ^c $P < 0.05$ vs SMMC-7721/R + sh-MDR1-1.

2.3 P-gp 表达水平变化 psh-MDR1-1 和 psh-MDR1-2 重组质粒转染 MMC-7721/R 细胞后,细胞膜表达 P-gp 分别为(45.7 \pm 6.3)%和(60.0 \pm 4.5)% ,与 SMMC-7721/R 细胞(91.3 \pm 5.3)% 比较,有显著性差异($P < 0.05$)。psh-MDR1-1 和 psh-MDR1-2 重组质粒转染细胞后,在细胞内 P-gp 表达同样存在显著

性差异($P < 0.05$)。表明重组构建 psh-MDR1 质粒转染细胞后,在细胞内可以逆转 MDR1 基因过度表达 P-gp,并且两段序列分别所诱导的 RNAi 效果也具有显著性差异($P < 0.05$)。

2.4 P-gp 功能检测 重组质粒转染细胞 48 h 后,流式细胞仪检测细胞内的 Rh123 积累量分别为(73.0 \pm 5.2)%,(56.1 \pm 3.2)% ,未转染 SMMC-7721/R 细胞 Rh123 积累量为(24.5 \pm 2.6)% ;SMMC-7721/R + sh-MDR1-1, MMC-7721/R + sh-MDR1-2 与 SMMC-7721/R 细胞内的 Rh123 积累量比较,存在显著差异($P < 0.05$);但与敏感株细胞内的 Rh123 积累量(98.6 \pm 1.2)% 相比,其细胞内的 Rh123 积累量还是相对较低,存在显著差异($P < 0.05$)。psh-MDR1-1 和 psh-MDR1-2 质粒转染细胞后,细胞内的 Rh123 的滞留也有显著性差异($P < 0.05$)。

3 讨论

P-gp 是一种 ATP 依赖跨膜药物外流泵,将细胞内多种 MDR 相关药物泵出细胞外,导致肿瘤细胞内药物浓度下降而不能杀伤肿瘤细胞,为临床肿瘤化疗失败的主要原因^[6]。因此,研究产生 MDR 现象的机制及克服 MDR 现象的方法为提高肿瘤化疗效果的主要途径之一,已成为重要的研究课题。研究肿瘤细胞 MDR 的一个重点是耐药性的逆转,已发现多种药物有逆转 MDR 的作用。国外近年开始应用反义技术于肿瘤耐药逆转的研究,近来才开始考虑采用 RNAi 的方法。本研究就是针对肝癌细胞 MDR1 基因设计相应的特异序列,连接到带有人 U6 启动子的质粒 DNA 载体上(PGE-1 载体)采用脂质体转染方法,将其导入细胞内,在 U6 启动子的作用下转录产生 shRNA,从而特异地抑制 MDR1 基因及 P-gp 的过度表达,使其保持在静寂状态来逆转肿瘤 MDR 细胞对多种化疗药物的耐受性,恢复对化疗药物的敏感性,达到提高肿瘤化疗效果的目的。克服化学合成 RNA 成本高的缺点,采用脂质体转染方法,可克服合成 siRNA 可能造成的 RNase 的污染,更利于 RNAi 技术的推广应用^[7]。如果对克隆重组子结合抗性筛选后,克服瞬时因转染效率不同所带来的基因表达差异,实现了高效抑制,而且能维持较长时间的基因沉默^[8]。

研究结果表明, psh-MDR1-1 和 psh-MDR1-2 转染 SMMC-7721/R 细胞后,其细胞 P-gp 表达水平均有明显下降,与 SMMC-7721/R 相比较,具有显著性差异($P < 0.05$);比较 psh-MDR1-1 和 psh-MDR1-2 转染组之间细胞 P-gp 表达,存在显著性差异($P < 0.05$)。表明重组构建 psh-MDR1 质粒转染细胞后,在细胞内可

以逆转 MDR1 基因过度表达,同样设计的两段序列在细胞内产生对 MDR1 基因的抑制效果具有显著性差异,可以证明 shRNA 在肝癌耐药细胞内能诱导 RNAi 抑制效果与所选目的基因的靶位点高度相关,其机制还有待进一步探讨。

Rh123 在 P-gp 的功能检测中有重要的价值^[9]。Rh123 是 P-gp 较特异的作用底物,可被 P-gp 泵出细胞外使细胞内 Rh123 浓度降低,表达 MDR1 的细胞内 Rh123 滞留相对较少,通过检测细胞内 Rh123 浓度能直观地反映其功能。研究表明,psh-MDR1 质粒转染细胞后,细胞内 Rh123 的荧光表达明显升高,分别与未转染组细胞(SMMC-7721/R)比较,具有显著性差异($P < 0.05$),说明转染 psh-MDR1 后 P-gp 外排 Rh123 功能减弱。进一步表明所构建的 psh-MDR1 真核表达质粒可以抑制 MDR1 基因过度表达 P-gp,使得 P-gp 表达减少。

实验证明,siRNA 干扰能够特异地抑制 MDR1 基因的表达,降低耐药细胞表面膜蛋白 P-gp 的表达,从而达到逆转肝癌耐药细胞 MDR1,恢复细胞对化疗药物的敏感性,以达到提高肿瘤化疗效果的目的。研究以特异性 shRNA 介导的 RNAi 系统,为逆转 MDR1

介导肝癌耐药细胞 MDR 的临床应用提供了实验基础,也为增强肝癌的化疗效果、改善预后带来了希望。

【参考文献】

- [1] Ford JM, Brufferman EP. Cellular and biochemical characterization of thioxanthines for reversal of Multi-drug resistance in human and murine cell lines[J]. Cancer Res, 1999, 50(1):1748-1756.
- [2] 王玮,岑建龙,李建勇,等. 急性白血病中 MDR1 MRP 和 bcl-2 基因表达及其临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2003, 30(7):470-473.
- [3] Hannon GL. RNA interference[J]. Nature, 2002, 418(6894):244-251.
- [4] 亓同钢,汪运山. RNA 干涉在肿瘤研究中的应用进展[J]. 肿瘤防治杂志, 2003, 10(12):1333-1335.
- [5] Tuschl T. Expanding small RNA interference[J]. Nat Biotechnol, 2002, 20(5):446-448.
- [6] Hilgendorf C, Spahn-Langguth H, Rhedin M, et al. Selective down-regulation of the MDR1 gene product in caco-2 cells by stable transfection to prove its relevance in secretory drug transport[J]. Mol Pharm, 2005, 2(1):64-73.
- [7] Sui G, Soohoo C, Affarelli B, et al. A DNA vector-based RNAi technology to suppress gene expression in mammalian cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(8):5515-5520.
- [8] 刘家云,李庆霞,黄红艳,等. 瞬时转染和稳定转染对 RNAi 抑制乙型肝炎病毒 S 基因表达的影响[J]. 第四军医大学学报, 2005, 26(11):961-964.
- [9] Oselin K, Gerloff T, Mrozikiewicz PM, et al. MDR1 polymorphisms G2677T in exon 21 and C3435T in exon 26 fail to affect rhodamine 123 efflux in peripheral blood lymphocytes[J]. Fundam Clin Pharmacol, 2003, 17(4):463-469.

编辑 井晓梅

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2007)18-1642-01

家族性高胆固醇血症黄色瘤病致缺血性心肌病 1 例

吴轲,张俊松,邓节喜

(解放军第 175 医院心血管老年病科,福建 漳州 363000)

【关键词】家族性高胆固醇血症,黄色瘤病,缺血性心肌病
【中图分类号】R542.2 【文献标识码】B

1 临床资料 男,43 岁。因劳力性胸闷、胸痛 2 a,全身多发性结节 20 余年于 2006-12-20 入我院心血管内科治疗。患者 15 岁时出现双侧肘膝及踝关节突起约黄豆大小深黄色皮疹,无触痛,轻度瘙痒,3 mo 后皮疹波及肩背、臀、双侧眼睑及肘膝关节附近。随年龄增大,皮疹增多,结节增大。近 2 a 来出现劳力性胸闷、气短、心悸、乏力渐重。多次于发作时行心电图检查提示下壁、广泛前壁 ST-T 压低、T 波倒置,呈缺血性改变。患者发育及智力正常。母亲及同胞妹妹患有同样疾病。父亲及另一位同胞姐姐无皮疹,血脂正常。父母非近亲结婚。体检:一般情况好,双手、肩背、臀、双侧眼睑及肘膝关节附近可见大小不等圆形结节,最大如鸡蛋大小,蜡黄色,色泽光亮,质韧,无触痛。实验室检查:空腹血糖 5.65 mmol/L,甘油三酯 2.24 mmol/L,总胆固醇 15.80 mmol/L,低密度脂蛋白:11.32 mmol/L,肌酐 143.1 mmol/L,载脂蛋白 A1:0.94 g/L,载脂蛋白 B 1.84 g/L。心电图检查提示:窦性心律,II,III,avF,VI-V6 导联 ST-T 下斜性压低,T 波呈对称性倒置。心脏彩超示:主动脉瓣退行性变,左房、左室增大,节段性室壁运动异常,左室舒张期顺应性假性正常,收缩功能正常,彩色血流示二尖瓣中量返流,三尖瓣少量返流。左室射血分数(LVEF):52%。冠状动脉造影:左前降支中段局部狭窄,狭窄段超过

70%,回旋支近段呈树枝样改变,全段血管闭塞无法显影,右冠状动脉中段狭窄约 50%。余冠脉各段大致正常。组织病理:表皮轻度肥厚,真皮内可见大片组织细胞浸润,局部较多泡沫细胞。未见明显 Touton 巨细胞。结合临床表现,诊断:家族性高胆固醇血症黄色瘤病(纯合子型)缺血性心肌病。入院后给予口服他汀类、低分子肝素钙、鲁南欣康、雅施达等药物治疗。目前,患者一般情况较好,劳力性心绞痛症状较前改善,2 mo 后复查总胆固醇 10.20 mmol/L。

2 讨论 家族性高胆固醇血症(familial hypercholesterolemia, FH)是常染色体显性遗传疾病,具不完全外显率^[1]。FH 临床诊断有它的标准。FH 的主要特征为皮肤上出现橘黄色结节或斑块等改变,在这些组织中含有脂质的细胞(黄色瘤细胞)浸润,也可侵犯内脏器官,常伴有心血管损害,多伴有高脂蛋白血症,本病主要发生在青、中年人,女性多见,病因主要是该类患者细胞膜上的低密度脂蛋白受体较正常明显减少。LDL-C 对患者细胞内的 3-羟甲基-3-甲酰戊二酰辅酶 A 还原酶的合成不起反馈抑制作用,TC 合成增加,导致 β 脂蛋白清除受影响,LDL-C 增加引起发病,病理分析主要考虑由于真皮内弥漫分布泡沫状组织细胞,至皮肤、黏膜及浆膜下,使心脏损伤,同时长期高脂血症导致胆固醇沉着在肌腱、血管壁和其他组织内,血清中胆固醇积聚常发生于冠状血管,逐渐造成冠状动脉粥样斑块形成引起心绞痛和冠状血管闭塞。心电图表现为心肌缺血性 T 波改变,窦性心律不齐,各种类型的传导阻滞。皮肤黄色瘤、血管并发症和内脏脂质沉积为其基本临床表现。根据患者已出现高脂蛋白血症,结合临床表现和家族史,可明确诊断为 FH 伴发黄色瘤(纯合子型)伴缺血性心肌病,心功能不全。FH 的确诊有赖于 LDL 受体功能分析和 LDL 受体基因的检测。由于 FH 是冠心病的一个重要危险因素,故须提高对 FH 患者检出和诊断率,在致命性动脉硬化发生之前进行治疗。

【参考文献】

- [1] 陆宗良. 脂代谢异常与冠心病[A]. 见:陈在嘉,主编. 临床冠心病学[M]. 北京:人民军医出版社,1998:77.

编辑 井晓梅

收稿日期 2007-04-24; 接受日期 2007-05-12

作者简介:吴轲,学士,医师。Tel: (0596)2975537 Email: wuke611@sina.com