

眼皮肤白化病常见亚型的基因与基因突变

李洪义¹, 吴维青¹, 郑 辉²

(1. 中山大学中山医学院医学遗传学教研室, 广州, 510089 2 暨南大学医学院生理学教研室, 广州, 510632)

关键词: 眼皮肤白化病; 酪氨酸酶基因; P 基因; 基因突变

中图分类号: R394.11 文献标识码: A 文章编号: 1006-9534(2004)01-0118-04

白化病(albinism)是一组由黑素合成相关的基因突变导致眼或眼、皮肤、毛发黑色素缺乏引起的遗传性疾病。受累个体相应部位颜色浅淡或缺如,发育过程中眼部黑色素的缺乏又可导致视网膜中央小凹发育不良、视神经通路异常,出现眼球震颤、斜视、视力低下等。皮肤缺乏色素的保护,对紫外线敏感,易于患皮肤癌。全身各部位均有色素缺乏的称为眼皮肤白化病(oculocutaneous albinism, OCA),仅有眼部症状的称为眼白化病(ocular albinism, OA)。根据涉及基因的不同,白化病可以分成十二种亚型,即眼皮肤白化病 I ~ IV(OCA1 ~ 4)、Henman-sky-Pudlak 综合征 I-6 型、Chediak-Higashi 综合征、眼白化病(OA),它们分别是由酪氨酸酶基因(tyrosinase, TYR)、P、TYRP-1、MATP、HPS1、ADTB3A、HPS3、HPS4、HPS5、HPS6、CHS1、OA1 等基因的突变引起^[1,2]。世界范围内 OCA 的发病率约为 1/20 000,其中由 TYR 基因和 P 基因突变引起的眼皮肤白化病 I 型和 II 型分别约占 40%、50%^[3],二者都呈常染色体隐性遗传(AR)。

1. 眼皮肤白化病 I 型(OCA1)与 TYR 基因突变

OCA1 是由于酪氨酸酶功能缺乏而引起的白化病类型。酪氨酸酶是黑色素合成过程中的关键酶。根据其是否还有残留的活性,将 OCA1 分为 OCA1A 和 OCA1B。前者活性完全丧失,全身各处均没有色素产生,并且终身不变;后者虽然最初也没有色素存在,但由于还有部分酶活性存在,随着年龄的增长,色素可以有所增加。眼部色素的增加尤为重要,能够使视力得到改善^[4]。

酪氨酸酶是黑色素合成过程中的限速酶,至少具有酪氨酸羟化酶和多巴氧化酶 2 种活性,催化黑色素生物合成过程中前两步反应,即酪氨酸羟化多巴和多巴氧化为多巴醌^[5]。此酶由 529 个氨基酸残基组成,包括 N 末端 18 个氨基酸的信号肽、两个铜原子结合位点(CuA、CuB)及 C 末端疏水跨膜区域^[6]。TYR 蛋白的分子量为 55KD,糖基化之后分子量为 65-75KD。酪氨酸酶是酪氨酸酶基因家族中的一员,此家族还包括引起 OCA3 的酪氨酸酶相关蛋白 1(TYRP-1),以及引起小鼠 Slaty 症状的酪氨酸酶相关蛋白 2(TYRP-2)^[7]。这三种酶的结构很相似,都包含了 N 末端信号肽、表皮生长因子相似区、胱氨酸保守位点、A 和 B 两个金属原子结合部位、C 末端跨膜区和胞质侧短尾。它们形成的三级结构也相似。酪氨酸酶靠跨膜肽段固定于黑素小体膜上,参与黑色素的合成。

TYR 基因定位于 11q14-q21,长度超过 65kb,由 5 个外

显子和 4 个内含子组成,其中第 1 子最长,几乎占了全部编码序列的一半。基因上游存在着 TATA、CAAT 盒等调控序列^[8]。在 11p11 至着丝粒区域,存在着一个 TYR 相关序列(tyrosinase-related sequence),是 TYR 第 4、5 外显子的同源序列(假基因),同源性高达 97%^[9]。

文献报道的 TYR 基因突变方式已经达到 116 种,其中大部分为错义突变,也包括移码突变、剪切位点突变、缺失突变等,参见图 1。详细的突变情况可浏览国际白化病中心的白化病数据网页^[2]。

从突变分布图可以看出,导致 OCA1 的无义突变和移码突变相对随机地分布于酪氨酸酶基因的编码区域,而错义突变则大部分位于成熟多肽的氨基末端和中间区域,尤其是两个铜原子结合位点及其附近^[10]。在表皮生长因子相似区域,仅发现 3 种突变方式。从外显子上看,第 1、2、3、4 外显子上的突变较多,第 5 外显子仅发现 2 种。

根据错义突变多簇集于 CuA、CuB 这一事实,曾推测这些突变或者影响酶与 Cu 原子的结合,或者干扰酶与底物的结合,从而影响酪氨酸酶活性^[11]。但是,后来的一些研究表明,OCA1 的发生可能还与酶蛋白在内质网(endoplasmic reticulum, ER)的质量控制(quality control)有关^[12]。将正常的和突变的 TYR 基因在 COS-7 细胞中表达,观察表达产物早期的移行和成熟情况,发现突变后的基因产物并不能象野生型那样通过内质网(ER),最终移行入黑素小体,而是滞留在 ER 内。ER 内的质量监控机制对蛋白质的微小异常高度敏感,因此酪氨酸酶即使只有很小改变都可能引起它在内质网内的降解,从而使得黑色小体内酶活性大幅度的降低甚是消失。这就可以解释那些位于非催化部位的突变何以引起表型严重的 OCA1A。

对中国台湾人群中 24 个 OCA1 患者进行基因筛查,发现了 9 种突变方式,分别位于第 1、2、3、4 外显子上,而 3、5 外显子没有发现突变。在这 9 种突变中,插入和缺失突变占了 37.5%,这和世界范围内的比例明显不同,提示不同民族存在着差异性^[13]。

2. 眼皮肤白化病 II 型(OCA2)与 P 基因突变

与小鼠红眼稀释 P 基因同源的人 P 基因的突变,导致眼皮肤白化病 II 型(OCA2)的发生^[14]。OCA2 基因也称为 P 基因,OCA2 即是 P 基因相关 OCA。

突变引起的 OCA 是世界范围内最常见的类型,约占全部患者的 50%^[14]。OCA2 在高加索人种中的发病率约为 1/

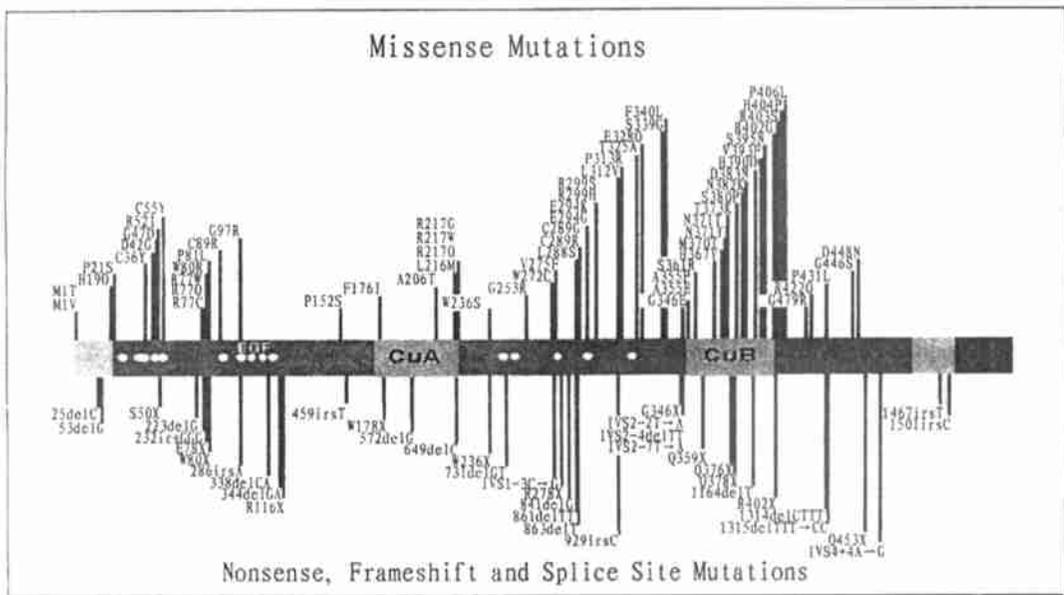


图 1 与 OCA1 相关的 TYR 基因突变及分布图

37,000, 非裔美洲黑人中约为 1/15,000, 而在南非班图人种中, 发病率高达 1/3900^[15]。在非洲的黑人中, 几乎没有发现由于 TYR 基因变异引起的 OCA^[16]。OCA2 临床表现较 OCA1 轻, 受累者出生时毛发因有少量色素而呈浅黄色, 并且可能随年龄的增长而有所增加, 但皮肤的色素一般不会因日晒而加深。OCA2 的表型变异较大, 也可出现棕色 OCA (Brown OCA), 主要发生于黑色人种^[17]。同时, P 基因突变也可产生 OA, 并可能与 Prader-Willi 综合征等有关^[18]。P 基因定位于 15q11.2-q12^[19], 基因总长 250-600kb, 包括 25 个外显子和 24 个内含子, 其中第 1 外显子编码 mRNA 5'端非翻译区, 翻译起始位点在第 2 外显子内。第 19 外显子包含一个可阻止 P 基因产物-P 蛋白全长翻译的终止密码子 TGA, 但第 19 外显子往往被选择性剪切掉, 仅存在于少数人成熟的 mRNA 中。

P 基因恰位于导致 Prader-Willi 综合征和 Angelman 综合征的染色体缺失区域内。大约有 1% 的 PWS 和 AS 患者有 OCA2 的表现, 这与 P 基因突变的总携带率基本一致, 推测可能由于 PWS 和 AS 和 P 基因的半合子所致^[14]。

由 838 个氨基酸组成的 P 蛋白有 12 个跨膜区、六个糖基化位点和四个磷酸化位点, 是一个完整的跨膜蛋白, 位于黑素小体膜上, 但其确切的功能尚不清楚^[14]。由于 P 蛋白跨膜区域与许多细菌的小分子物质转运因子有同源性, 曾推测前者可能参与了酪氨酸转运入黑素小体的过程^[16]。但 Gahl 等^[20]的研究结果似乎与此相悖, 因为小鼠 P 蛋白的缺失并没有引起酪氨酸转运的紊乱。此研究同时再一次证实, P 蛋白是产生黑素小体所必需的, 而对褐黑色素却没有影响, 这与 OCA2 患者的表型相一致。

另有研究表明, P 蛋白可能参与黑素小体内 pH 值的调节^[21, 22]。P 蛋白与 *E. coli* 的 Na⁺/H⁺ 双向转运因子有同源

性, 可能作为一种能道蛋白减少黑素小体内质子的浓度, 使局部微环境呈中性, 有利于维护高分子酪氨酸-TYRP1-TYRP2 复合体的稳定性, 促进酪氨酸酶功能的发挥。

在 50 多种 P 基因突变方式中, 基因内 2 kb 片段的缺失是最常见的类型。在南非黑人中, 该缺失突变所占的比例可达 77%, 有些地区甚至高达 92%^[23, 24]。这种突变首先由 Duham-Pierre 等^[25]在美国 3 个种族隔离群体的 OCA2 患者中检测出来。此种缺失包含整个第 7 外显子, 使 216-270 个氨基酸残基丢失, 导致 P 蛋白多肽在膜腔侧 (luminal) 第一个环处发生移码突变, 产生截断的无功能的基因产物。

虽然 2 kb 的缺失在非洲 OCA2 中最为常见, 但在不同地区其比例也明显不同。在非裔的美国黑人中, 此种突变类型并非普遍存在^[29]。根据单体型分析结果和各地区携带者频率的变化规律等, 可以确定 2 kb 的缺失源于非洲^[27], 大概发生于 2000-3000 年前人种尚未迁移的时候。这种高的携带率可能是由于杂合子存在某种选择性优势或者建立者效应所致。

P 基因的其他突变情况可浏览国际白化病中心的白化病数据库网页 (<http://www.cb.c.umn.edu/tad>)。部分突变分布情况参见图 2。从这个图可以看出, 错义突变并不象 TYR 基因那样集中, 但也并非随机分布, 这些错义突变主要全于肽链的中间部位的跨膜区及其附近的环上^[1]。不同突变方式和临床表型之间的联系尚不很清楚。

文献报道已发现 P 基因 42 种多态性, 其中 22 种位于外显子上, 部分引起编码氨基酸的改变, 这远远高于 TYR 基因多态性的数目, 尽管有更多 OCA1 患者被分析检测, 给基因突变的检查造成一定的困难。

3. OCA1 与 OCA2 的临床区别

由于 OCA1 和 OCA2 在表型上有重叠之处, 基因检测之

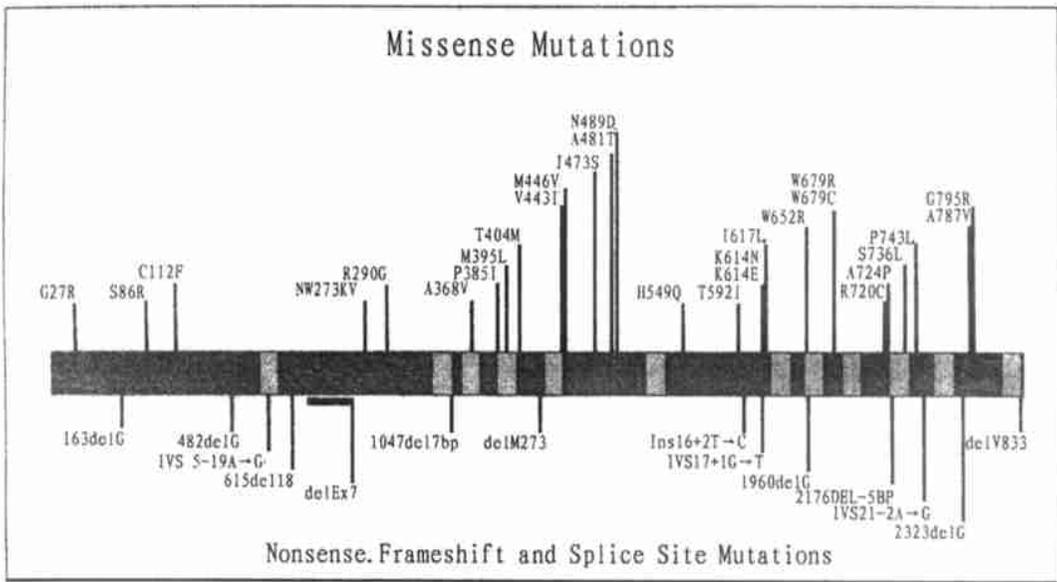


图 2 与 OCA2 相关的 P 基因突变及分布图

前有必要对患者亚型进行初步的判别。以前根据酪氨酸酶活性的有无, 将白化病分为酪氨酸酶- 阴性型 (tyrosinase- negative) 和酪氨酸酶- 阳性型 (tyrosinase- positive), 相对应现在所说的 OCA1 和 OCA2。但这种分法并不科学, OCA1B 本身就具有残存的酶活性。在临床水平上对二者的区别主要依靠病史^[1]。

OCA1 出生时皮肤、毛发呈白色, 虹膜呈蓝色。如果酪氨酸酶完全没有活性, 或者根本没有酶的产生, 那么这种情况将终生不变, 属于 OCA1A。如果至少有一条染色体上的基因还能编码产生有残留活性的酶, 则患者的全身的色素将随年龄的增长而有所增加, 尤其是在最初的十年里, 毛发可变为金黄色, 甚至棕色, 暴露于日光中的皮肤可能被晒的深一些, 虹膜可变为较深的黄色或灰色, 甚至棕色, 即为 OCA1B。

OCA2 出生时毛发已经有一定的色素沉着, 呈浅黄色或金黄色, 可随着年龄而加深, 也可能终生不变。但皮肤的白皙一般不会因为日晒而有所改变。虹膜一般呈蓝色或者棕色。对非洲黑人的棕色 OCA 来说, 皮肤、毛发、虹膜均为棕色。

4 结束语

本文综述了眼皮肤白化病两种常见类型的分子遗传学基础, 包括 TYR 和 P 基因的序列特点、蛋白质的功能、突变的特点以及两种类型白化病的临床区别等。在过去的十多年时间里, 对白化病的基础研究取得很多进展, 但仍然存在不少问题。各种各样的突变方式被检测出来, 但仍然有部分患者并没有查到突变, 可能因为基因的改变位于未检测的非编码区, 也可能是由于影响色素生成的其他基因改变引起。许多突变类型和表型的轻重之间并没有建立相应的联系, 尤其是 P 基因。P 基因可能参与调节黑素小体内 pH 值的调节, 但确切功能尚属未知。不同地区和种族基因改变的种类和特点还没有十分清楚。因此科研工作者还有许多基础研究

工作有待完成。同时相信, 随着不同民族或地区突变热点和突变谱的阐明, 白化病的基因和产前基因诊断将逐渐展开, 这将有利于降低白化病患儿的出生率和降低群体白化病基因频率, 从而提高人口的遗传素质。

参 考 文 献

- [1] Oetting WS, King RA. Molecular Basis of albinism: Mutations and polymorphisms of pigmentation genes associated with albinism[J] . Hum Mutat. 1999 13(2): 99- 155.
- [2] The International Albinism Center Albinism Database Web site; <http://www.cbc.umn.edu>.
- [3] Newton JM, Cohen- Barakq O, Hagiwara N, et al. Mutations in the human orthologue of the mouse underwhite gene (uw) underlie a new form of oculocutaneous albinism, OCA4[J] . Am J Hum Genet. 2001 Nov, 69 (5): 981- 8. Epub 2001 Sep 26.
- [4] Summers CG, Oetting WS, King RA. Diagnosis of oculocutaneous albinism with molecular analysis[J] . Am J Ophthalmol. 1996, 121(6): 724- 6.
- [5] Gibel LB, Musarella MA, Spritz RA. A nonsensemutation in the tyrosinase gene of Afghan patients with tyrosinase negative (type IA) oculocutaneous albinism[J] . J Med Genet, 1991 Jul; 28(7): 464- 7.
- [6] Hearing VJ and Jimenez M. Mammalian tyrosinase- the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation[J] . Int J Biochem, 1987, 19 (12): 1141- 7.
- [7] Stum RA, Teasdale RD, Box NF. Identification of new genes related to the myogenic differentiation arrest of human rhabdomyosarcoma cells[J] . Gene, 2001 Aug 22, 74(1- 2): 139- 49.
- [8] Ponzahagan S, Hou L, Kwon BS. Structural organization of the human tyrosinase gene and sequence analysis and characterization of its promoter region[J] . J Invest Dermatol. 1994 May, 102(5): 744- 8.
- [9] Gibel LB, Strunk KM, Spritz RA. Organization and nucleotide sequences of the human tyrosinase gene and a truncated tyrosinase- related segment[J] . Genomics. 1991 Mar, 9(3): 435- 45.

- [10] Spritz RA, Oh J, Fukai K, et al. Novel mutations of the tyrosinase (TYR) gene in type I oculocutaneous albinism (OCA1)[J]. Hum Mutat, 1997, 10(2): 171-4.
- [11] Spritz RA, Ho L, Funumura M, et al. Mutational analysis of copper binding by human tyrosinase[J]. J Invest Dermatol[J], 1997 Aug, 109(2): 207-12.
- [12] Toyofuku K, Wada I, Spritz RA, et al. The molecular basis of oculocutaneous albinism type 1 (OCA): sorting failure and degradation of mutant tyrosinases results in a lack of pigmentation[J]. Biochem J, 2001 Apr; 15: 355 (Pt2): 259-69.
- [13] Tsai CH, Tsai FJ, Wu JY, et al. Insertion/deletion mutations of type I oculocutaneous albinism in chinese patients from Taiwan[J]. Hum Mutat, 1999 Dec, 14(6): 542.
- [14] Rinchik EM, Bultman SJ, Horsfienke B, et al. A gene for the mouse pink-eyed dilution locus and for human type II oculocutaneous albinism[J]. Nature, 1993 Jan 7, 361(6407): 72-6.
- [15] Ramsay M, Colman SJ, Stevens G, et al. The tyrosinase-positive oculocutaneous albinism locus maps to chromosome 15q11.2-q12[J]. Am J Hum Genet, 1992 Oct, 51(4): 879-84.
- [16] Kerr R, Stevens G, Manga P, et al. Identification of P gene mutations in individuals with oculocutaneous albinism in sub-Saharan Africa[J]. Hum Mutat, 2000, 15(2): 166-72. Erratum in: Hum Mutat, 2000, 16(1): following 86.
- [17] Manga P, Kromberg J, Tumer A, et al. In Southern Africa, brown oculocutaneous albinism (BOCA) maps to the OCA2 locus on chromosome 15q. P gene mutations identified[J]. Am J Hum Genet, 2001 Mar, 68(3): 782-7.
- [18] Lee ST, Nicholls RD, Bunday S, et al. Mutations of the P gene in oculocutaneous albinism, ocular albinism, and Prader-Willi syndrome plus albinism[J]. N Engl J Med, 1994 Feb 24, 330(8): 529-34.
- [19] Lee ST, Nicholls RD, Jong MT, et al. Organization and sequence of the

human P gene and identification of a new family of transport proteins[J]. Genomics, 1995 Mar 20, 26(2): 354-63.

- [20] Gahl WA, Potter B, Durham-Pierre D, et al. Melanosomal tyrosine transport in normal and pink-eyed dilution murine melanocytes[J]. Pigment Cell Res, 1995 Oct, 8(5): 229-33.
- [21] Puri N, Gardner JM, Brilliant MH. Aberrant pH of melanosomes in pink-eyed dilution (p) mutant melanocytes[J]. J Invest Dermatol, 2000 Oct, 115(4): 607-13.
- [22] Puri N, Durham-Pierre D, Aquaron R, et al. Type 2 oculocutaneous albinism (OCA2) in Zimbabwe and Cameroon: distribution of the 2.7-kb deletion allele of the P gene[J]. Hum Genet, 1997 Oct, 100(5-6): 651-6.
- [23] Stevens G, Ramsay M, Jenkins T. Oculocutaneous albinism (OCA2) in sub-Saharan Africa: distribution of the common 2.7-kb P gene deletion mutation[J]. Hum Genet, 1997 Apr, 99(4): 523-7.
- [24] Lee ST, Nicholls RD, Schuur RE, et al. Diverse mutations of the P gene among African-Americans with type II (tyrosinase-positive) oculocutaneous albinism (OCA2)[J]. Hum Mol Genet, 1994 Nov 3(11): 2047-51.
- [25] Durham-Pierre D, Gardner JM, Nakatsu Y, et al. African origin of an intragenic deletion of the human P gene in tyrosinase-positive oculocutaneous albinism[J]. Nat Genet, 1994 Jun, 7(2): 176-9.
- [26] Lee ST, Nicholls RD, Schuur RE, et al. Diverse mutations of the P gene among African-Americans with type II (tyrosinase-positive) oculocutaneous albinism (OCA2)[J]. Hum Mol Genet, 1994 Nov 3(11): 2047-51.
- [27] Stevens G, van Beukering J, Jenkins T, et al. An intragenic deletion of the P gene is the common mutation causing tyrosinase-positive oculocutaneous African Negroids[J]. Am J Hum Genet, 1995 Mar, 56(3): 586-91.

收稿日期: 2003-07-14

(上接第 101 页)

使之对水的重吸收增加, 血液稀释, 血容量扩大引起稀释性低钠血症。(2) 缺氧造成细胞膜失去钠泵的主动转运作用, 使钠离子进入细胞内, 导致细胞内水肿和细胞外低钠。(3) 缺氧酸中毒等应激状态下, 机体产生大量内皮素, 反射性促进心房分泌心钠素(ANP)增多, ANP可抑制肾近曲小管和集合管对钠的重吸收, 增加肾髓质的血流量和肾小管滤过率, 改变球管平衡, 从而产生强大的利钠利尿效应。据此推测新生儿窒息低钠血症的发生可能是 ADH 和 ANP 协同作用的结果^[2]。钠是细胞外液主要阳离子, 功能是维持细胞内外容量和渗透压, 保持神经肌肉正常应激性。当血钠降低时, 细胞外液渗透压降低, 细胞外液移至细胞内致组织细胞水肿, 使窒息后多器官损害加重。

窒息新生儿常伴有低钙血症, 过去认为是由于甲状腺腺缺血性损伤所致, 近年来随着细胞内钙测定技术的发展, 认为其发病和钙内流有关^[9]。缺氧缺血时, 由于细胞膜受损导致其通透性改变, 加上 ATP 合成减少, 供能不足, 钙泵活性下降, 导致细胞内钙浓度异常升高而细胞外钙减少, 血钙下降。研究表明: 钙超载可激活磷脂酶 C 和脂质过氧化反应, 加重

细胞损伤, 又可使多器官损伤的程度加重^[7]。本文研究与之相符合。

通过本文资料观察可以提示, 新生儿窒息对血钠、血钙的监测, 有助于预防和阻止器官损害及判断病情程度和预后, 并为临床治疗提供依据。

参 考 文 献

- [1] 钱金强, 赵红. 100 例新生儿缺氧缺血性脑病患儿的电解质改变分析[J]. 临床儿科杂志, 1995, 13(2): 83-85.
- [2] 许苏东, 陈春丽. 80 例窒息新生儿生后 24h 血钠变化观察[J]. 临床儿科杂志, 1995, 13(2): 81-82.
- [3] 黄英. 34 例窒息新生儿血电解质的变化分析[J]. 临床儿科杂志, 1998, 16(2): 89-90.
- [4] 金汉珍, 黄德珉, 官希吉, 等. 实用新生儿学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 235.
- [5] 虞人杰, 李黎, 汤泽中, 等. 新生儿窒息多器官损害的临床研究[J]. 中华儿科杂志, 1997, 35(3): 139-141.
- [6] 沈惟堂. 新生儿低钙血症诊治工作的新认识[J]. 中华儿科杂志, 1993, 31(2): 115.
- [7] 董文斌, 冉隆端, 冯志强, 等. 氧自由基、钙超载及微循环障碍在新生大鼠窒息后脑损伤中的作用[J]. 实用儿科临床杂志, 1996, 11(5): 296-297.

收稿日期: 2003-03-03