

giography in patients with acute pulmonary embolism: systematic review and meta-analysis[J]. J Thromb Haemost, 2013, 11(12): 2092-2102.

- [19] Van der Bijl N, Klok FA, Huisman MV, et al. Measurement of right and left ventricular function by ECG-synchronized CT scanning in patients with acute pulmonary embolism: usefulness for predicting short-term outcome [J]. Chest, 2011, 140(4): 1008-1015.
- [20] Engelke C, Rummeny EJ, Marten K. Acute pulmonary embolism on MDCT of the chest: prediction of cor pulmonale and short-term patient survival from morphologic embolus burden [J]. AJR Am J Roentgenol, 2006, 186(5): 1265-1271.
- [21] Venkatesh SK, Wang SC. Central clot score at computed tomography as a predictor of 30-day mortality after acute pulmonary embolism [J]. Ann Acad Med Singapore, 2010, 39(6): 442-447.

- [22] Pengo V, Lensing AWA, Prins MH, et al. Incidence of chronic thromboembolic pulmonary hypertension after pulmonary embolism [J]. N Engl J Med, 2004, 350(22): 2257-2264.
- [23] Ohno Y, Koyama H, Yoshikawa T, et al. Contrast-enhanced multidetector-row computed tomography vs. Time-resolved magnetic resonance angiography vs. contrast-enhanced perfusion MRI: assessment of treatment response by patients with inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension [J]. J Magn Reson Imaging, 2012, 36(3): 612-623.
- [24] McCabe C, Deboeck G, Harvey I, et al. Inefficient exercise gas exchange identifies pulmonary hypertension in chronic thromboembolic obstruction following pulmonary embolism [J]. Thromb Res, 2013, 132(6): 659-665.

(收稿日期: 2016-06-17 修回日期: 2016-07-09)

• 综述 • doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2016.28.045

## 体细胞突变在常染色体显性多囊肾发病中作用的研究进展

王琛<sup>1,2</sup>, 孔祥阳<sup>2</sup>, 徐剑<sup>1</sup>, 李喙<sup>1</sup>, 冯超<sup>1</sup>综述, 袁红伶<sup>1△</sup>审校

(1. 昆明理工大学附属医院肾内科 650032; 2. 昆明理工大学

医学院疾病与药物遗传实验室 650500)

[关键词] 多囊肾, 常染色体显性; PKD1 基因; PKD2 基因; 三链 DNA

[中文图书分类号] R692.1 [文献标识码] A [文章编号] 1671-8348(2016)28-4014-03

常染色体显性多囊肾 (autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD) 是一种遗传性单基因疾病, 由多囊肾基因 1 (polycystic kidney disease gene, PKD1)、PKD2 基因突变所致, 称 I 型 ADPKD, II 型 ADPKD。其发病率很高, 1/1 000~1/400, 为常见肾脏遗传病<sup>[1-2]</sup>。一般成年发病, 又称成人型多囊肾, 临床上也见不同年龄患者。PKD2 突变 50% 的患者在 60 岁左右可发展为终末期肾病 (end-stage renal disease, ESRD), 约占晚期肾病的 10% (I 型 ADPKD 比 II 型 ADPKD 发病早 20 年, I 型 ADPKD 恶化为终末期肾病的平均年龄为 54.3 岁, 而 II 型 ADPKD 为 74.0 岁)<sup>[1,3]</sup>。除了损伤双侧肾脏以外, ADPKD 基因还累及全身多个器官, 例如多囊肝、颅内动脉血管瘤、二尖瓣脱垂综合征、腹股沟疝、大肠憩室、主动脉夹层、胆囊增生, 严重危害人类健康<sup>[4]</sup>。

### 1 PKD 基因的研究

目前, 已报道克隆 ADPKD 的致病基因有 3 个: PKD1、PKD2、PKD3。其中约 85% 的患者为 I ADPKD, 由 PKD1 基因突变所致; 约 15% 的患者为 II ADPKD, 由 PKD2 基因突变所致。前二者基因已被克隆, PKD3 为罕见型多囊肾目前未被克隆。

**1.1 PKD1 基因及相关基因** TSC2 基因 PKD1 定位于 16 号染色体 1 区 3 带 3 亚带 (16p13.3), 基因长度约为 52 kb [开放阅读框 (ORF) 为 12 909 bp], 含 46 个外显子, 编码多囊蛋白-1 (polycystin1, PC1)<sup>[5-6]</sup>。PC1 是一个大的 (4 303 个氨基酸) 有 11 个跨膜结构域的完整膜蛋白, 细胞外区域由多种结构域组成, 包括 12 个 PKD 结构域, 这一区域在其他蛋白质中与蛋白-

白和蛋白-糖类的相互作用相关, 总的来说 PC1 有受体或黏附分子的结构<sup>[1]</sup>。TSC2 基因长度约为 45 kb, 含 41 个外显子, 编码结节蛋白。在基因结构上与 PKD1 基因毗邻, 也定位于 16 号染色体 1 区 3 带 3 亚带 (16p13.3), 基因相邻, 在 NCBI 与 UCSC 数据库中都可可见 PKD1 与 TSC2 重复 2 个碱基。科学家们发现 TSC2 基因的突变会使 I 型 ADPKD 的病情加重<sup>[7-8]</sup>, 说明 TSC2 基因对 PKD1 基因有修饰作用。

**1.2 PKD2 基因** PKD2 基因定位于 4q21~23, 基因长度为 68 kb (ORF 为 2 904 bp), 15 个外显子, 编码多囊蛋白-2 (polycystin-2, PC2)。PC2 是一种非选择性 Ca<sup>2+</sup> 通道, 转运 Ca<sup>2+</sup>。PC1 和 PC2 的六次跨膜区存在一定同源性<sup>[1]</sup>。

**1.3 PKD3 基因** PKD3 约占致病基因的 1%。Daoust 等<sup>[9]</sup>、Almeida 等<sup>[10]</sup>和 Ariza 等<sup>[11]</sup>分别报道了既不于 16 号染色体也不于 4 号染色体连锁的家系<sup>[9-11]</sup>, 说明 ADPKD 除了前面两种, 可能还存在第 3 种, 这一基因被称为 PKD3。目前, PKD3 尚未被定位。也有学者认为不存在 PKD3, III 型多囊肾可能为转-杂合型 (即 PKD1 与 PKD2 混合型多囊肾)<sup>[12]</sup>。

### 2 ADPKD 发病机制

与其他典型的单基因疾病不同, ADPKD 患者具有显著临床表现异质性, 同一基因的不同基因型, 在不同家系差异很大。即使在同一个家族同一基因突变所致, 年龄相仿、性别相同的患者, 临床表现差异也很大。ADPKD 病理学研究发现, ADPKD 患者的肾脏中仅有 1%~5% 的肾单位形成囊肿。显然, 只用纯粹孟德尔单基因遗传病无法解释 ADPKD 的发病机制。目前, ADPKD 发病的机制存在多种学说, 但多数学者认为“二

次打击”在 ADPKD 的发病中起重要作用。它能解释 ADPKD 患者发病年龄及病情的差异。本文主要介绍“二次打击”学说及其发生机制。

**2.1 “二次打击”学说** “二次打击”学说类比 Knudson Rb 基因的“二次打击”学说,也叫体细胞突变学说,认为 ADPKD 的发生不仅需要生殖细胞遗传携带 PKD1 或 PKD2 基因突变,还需要体细胞受后天诸多因素影响,打击到另一正常拷贝,使另一等位基因发生突变,最终促使囊肿的形成。Takakura 等<sup>[13]</sup>认为肾衰为第三次打击加快 ADPKD 患者病情的恶化。由于“二次打击”的存在,所以有学者认为多囊肾病在细胞水平是一个隐性病<sup>[14]</sup>。

**2.1.1 经典“二次打击”** Qian 等<sup>[15]</sup>研究 I 型 ADPKD 患者肾脏组织,通过囊肿组织与外周血对比,发现存在杂合型丢失与点突变,也就是说 I 型 ADPKD 发生体细胞突变,即“二次打击”。Lu 等<sup>[16]</sup>建立 PKD1“二次打击”的转基因小鼠,发现小鼠生长过程有相似的病理改变。随后 Pei 等<sup>[17]</sup>研究 II 型 ADPKD 患者肾脏组织,也发现 II 型 ADPKD 患者发生体细胞突变即“二次打击”。Wu 等<sup>[18]</sup>建立 PKD2“二次打击”的转基因小鼠,发现小鼠生长过程也有相似的病理改变。

**2.1.2 转-杂合型(trans-heterozygous)** 与经典的“二次打击”不同,转-杂合型是指 I 型 ADPKD 遗传获得一个 PKD1 突变,后天体细胞发生 PKD2 突变,或 II 型 ADPKD 获得一个 PKD2 突变,后天体细胞发生 PKD1 突变。Koptides 等<sup>[19]</sup>证实 PC1 与 PC2 形成复合体,表达在细胞膜表面。并且发现 I 型 ADPKD,不仅体细胞有 PKD1 的突变,也有 PKD2 的突变。Wu 等<sup>[20]</sup>建立转杂合型小鼠,发现这种类型小鼠比单一突变小鼠病情更严重。

### 3 三链 DNA 与体细胞“二次打击”

**3.1 三链 DNA** 三链 DNA 是一类广泛存在生物体内的 DNA 高级结构,近些年研究表明其或参与多种疾病的发生。三链 DNA 是由于 DNA 分子内存在多聚嘧啶或多聚嘌呤,而形成分子内三链构象。三链 DNA 的功能:三链 DNA 在基因表达过程中可以作为反义抑制剂,影响基因转录与翻译;三链 DNA 可以作为限制性内切酶来切割 DNA 片段;三链 DNA 还可能与染色体的状态及凝聚过程有关<sup>[21]</sup>。

**3.2 体细胞“二次打击”可能不是随机发生的** 科学家们发现,PKD1 基因的内含子 21 含有由 23 个回文结构序列组成的 2.5 kb 嘧啶富含区<sup>[22]</sup>。内含子 22 则含有较短富含嘧啶的片段,大约 0.55 kb<sup>[23]</sup>。PKD2 基因外显子 2,4,5,6,11,12 等也存在嘌呤嘧啶富含区。PKD 基因上的嘌呤嘧啶富含区,在 DNA 的复制过程中,形成三链 DNA<sup>[24]</sup>。这三链 DNA, H-DNA 具有多效性通过多种途径参与 DNA 的修饰,最终导致突变的发生<sup>[25]</sup>。

### 4 展 望

PKD1 基因存在 6 个假基因,而且 PKD1 基因长度约为 52 kb(ORF 为 12 909 bp),含 46 个外显子,PKD2 长度为 68 kb(ORF 为 2 904 bp),含 15 个外显子。PKD 基因长度过长也可能增加其突变出错的频率,而肾脏又是排毒器官,常常会积累毒素,这样就会发生体细胞突变促使疾病发生。随着第二代测序技术与生物信息学的发展,已经可以用第二代测序技术(next generation sequencing, NGS)<sup>[26-29]</sup>来对 ADPKD 作基因诊断。或许可以从 NGS 产生的大数据中找到 ADPKD 的发病机制。而对体细胞突变及寡聚三链 DNA 性质的研究,或许我们可以找到早期干预的靶标,这样就可以找到治疗 ADPKD 的有效药物。

### 参考文献

- [1] Harris PC, Torres VE. Polycystic kidney disease[J]. *Annu Rev Med*, 2009, 60: 321-337.
- [2] Chapin HC, Caplan MJ. The cell biology of polycystic kidney disease[J]. *J cell Biol*, 2010, 191(4): 701-710.
- [3] Wu G, Somlo S. Molecular genetics and mechanism of autosomal dominant polycystic kidney disease[J]. *Mol Genet Metab*, 2000, 69(1): 1-15.
- [4] Paul BM, Vanden Heuvel GB. Kidney: polycystic kidney disease. [J]. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2014, 3(6): 465-487.
- [5] Harris PC, Ward CJ, Peral B, et al. Polycystic kidney disease. 1: Identification and analysis of the primary defect [J]. *J Am Soc Nephrol*, 1995, 6(4): 1125-1133.
- [6] Bakel IV, Sepp T, Ward S, et al. Mutations in the TSC2 gene: analysis of the complete coding sequence using the protein truncation test (PTT) [J]. *Human Molecular Genetics*, 1997, 6(9): 1409-1414.
- [7] Hartman TR, Liu D, Zilfou JT, et al. The tuberous sclerosis proteins regulate formation of the primary cilium via a rapamycin-insensitive and polycystin 1-independent pathway [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 18(1): 151-63.
- [8] Bonnet CS, Aldred M, Von Ruhland C, et al. Defects in cell polarity underlie TSC and ADPKD-associated cystogenesis [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(12): 2166-2176.
- [9] Daoust MC, Reynolds DM, Bichet DG, et al. Evidence for a third genetic locus for autosomal dominant polycystic kidney disease [J]. *Genomics*, 1995, 25(3): 733-736.
- [10] De Almeida S, De Almeida E, Peters D, et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease; evidence for the existence of a third locus in a Portuguese family [J]. *Hum Genet*, 1995, 96(1): 83-88.
- [11] Ariza M, Alvarez V, Marín R, et al. A family with a milder form of adult dominant polycystic kidney disease not linked to the PKD1 (16p) or PKD2 (4q) genes [J]. *J Med Genet*, 1997, 34(7): 587-589.
- [12] Paul BM, Consugar MB, Moonnoh RL, et al. Evidence of a third ADPKD locus is not supported by re-analysis of designated PKD3 families [J]. *Kidney Int*, 2013, 85(2): 383-92.
- [13] Takakura A, Contrino L, Zhou X, et al. Renal injury is a third hit promoting rapid development of adult polycystic kidney disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(14): 2523-2531.
- [14] Bosl WJ, Li R. The role of noise and positive feedback in the onset of autosomal dominant diseases [J]. *BMC Syst Biol*, 2010, 4: 93.
- [15] Qian F, Watnick TJ, Onuchic LF, et al. The molecular basis of focal cyst formation in human autosomal dominant polycystic kidney disease type I [J]. *Cell*, 1996, 87(6): 979-987.
- [16] Lu W, Peissel B, Babakhanlou H, et al. Perinatal lethality with kidney and pancreas defects in mice with a targeted Pkd1 mutation [J]. *Nat Genet*, 1997, 17(2): 179-181.

- [17] Pei Y, Watnick T, He N, et al. Somatic PKD2 mutations in individual kidney and liver cysts support a “two-hit” model of cystogenesis in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 1999, 10(7): 1524-1529.
- [18] Wu G, D’agati V, Cai Y, et al. Somatic inactivation of Pkd2 results in polycystic kidney disease[J]. *Cell*, 1998, 93(2): 177-188.
- [19] Koptides M, Mean R, Demetriou K, et al. Genetic evidence for a trans-heterozygous model for cystogenesis in autosomal dominant polycystic kidney disease[J]. *Hum Mol Genet*, 2000, 9(3): 447-452.
- [20] Wu G, Xin T, Nishimura S, et al. Trans-heterozygous Pkd1 and Pkd2 mutations modify expression of polycystic kidney disease[J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11(16): 1845-1854.
- [21] Kumar V, Kesavan V, Gothelf KV. Highly stable triple helix formation by homopyrimidine(L)-acyclic threoninol nucleic acids with single stranded DNA and RNA[J]. *Org Biomol Chem*, 2015, 13(8): 2366-2374.
- [22] Yavuz A, Lantinga-Van L I, Lia S, et al. Large deletions in the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene[J]. *Human Mutation*, 2004, 23(1): 99.
- [23] Patel HP, Lu L, Blaszk RT, et al. PKD1 intron 21: trip-lex DNA formation and effect on replication[J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 32(4): 1460-1468.
- [24] Faruqi AF, D’atta HJ, Carroll D, et al. Triple-helix formation induces recombination in mammalian cells via a nucleotide excision repair-dependent pathway[J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(3): 990-1000.
- [25] Martin KJ, Pardee AB. Identifying expressed genes[J]. *PNAS*, 2000, 97(8): 3789-3791.
- [26] Renkema KY, Stokman MF, Giles RH, et al. Next-generation sequencing for research and diagnostics in kidney disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2014, 10(8): 433-444.
- [27] Trujillano D, Bullich G, Ossowski S, et al. Diagnosis of autosomal dominant polycystic kidney disease using efficient PKD1 and PKD2 targeted next-generation sequencing[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2014, 2(5): 412-421.
- [28] Tan AY, Michael A, Liu G, et al. Molecular diagnosis of autosomal dominant polycystic kidney disease using next-generation sequencing[J]. *J Mol Diagn*, 2014, 16(2): 216-228.
- [29] Yang T, Meng Y, Wei X, et al. Identification of novel mutations of PKD1 gene in Chinese patients with autosomal dominant polycystic kidney disease by targeted next-generation sequencing[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 433: 12-19.

(收稿日期: 2016-06-29 修回日期: 2016-07-20)

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.28.046

## 磁共振弥散加权成像理论及应用进展

牟 灿<sup>1</sup>综述, 曾勇明<sup>2</sup>审校

(1. 重庆市妇幼保健院放射科 400010; 2. 重庆医科大学附属第一医院放射科 400016)

[关键词] 弥散加权成像; 磁共振波谱学; 影像

[中图分类号] R445.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)28-4016-03

弥散加权成像(DWI)作为MRI技术的发展与创新,可提供不同于常规MRI技术图像的组织对比,在急性脑梗死与其他急性脑部病变的鉴别上较为敏感,特别是随着新的DWI相关技术的出现,DWI已广泛应用于全身多种组织器官的疾病诊断与鉴别诊断。本文将从DWI技术的成像理论、技术进展、临床应用及研究进展等方面进行如下综述。

### 1 DWI的成像理论

1950年,Hahn在报道自旋回波序列设计时,阐明了水弥散对磁共振信号的影响作用;Stejskal和Tanner在1965年首次将弥散改变进行量化,并获得基于弥散产生的影像对比,通过利用水分子的弥散使内部生理结构更加形象化,从而检测组织器官的异常改变。弥散是分子根据温度、分子大小等周围环境在某一系统中进行的运动和迁移现象,且分子在任何液体中的运动均为随机性。由于对个体分子弥散规律的研究较为困难,所以大多数学者通常研究一组分子,如体素内的分子运动,此时弥散表示实体分子表从T<sub>0</sub>到T<sub>1</sub>的总移位。分子在自由媒介中能向各个方向自由弥散,而这种没有优先定向的弥散被称为各向同性弥散,如在脑脊液中弥散的各个方向就是均等

的。然而在受限的介质内,分子的运动会受到障碍物的限制,这种情况下的弥散是各向异性的,分子向各个方向的弥散量不均等。这种定向性很大程度上依赖于组织内细胞结构与细胞完整性,如神经束中水分子沿束轴方向的弥散较横向更多<sup>[1]</sup>。

水在人体中分为细胞内液及细胞外液,在人体内占有重要比重。根据组织结构及功能,水分子在生物组织内的弥散遵从一定规律。在某些病理情况下,如急性脑卒中,组织内水分子的弥散规律被扰乱,导致受损区域的弥散量改变。因此,通过研究组织内弥散量的改变,即可检测组织的异常改变。在常规SE序列中,180°脉冲两侧对称地施加一个对弥散敏感的梯度脉冲,且其长度、幅度和位置均相同。质子沿梯度场进行弥散,同时自旋频率发生改变,回波时间内相位分散不能完全重聚,进而信号下降。而DWI成像技术利用相同的成像参数进行两次成像,通过使用和不使用对弥散敏感的梯度脉冲,两次相减即为弥散运动的质子在梯度脉冲方向引起的信号下降的成分,形成由组织间的不同弥散系数所产生的DWI图像。

### 2 DWI的技术进展

DWI的影像对比反映组织间不同的弥散度。由于DWI