

- for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine[J]. N Engl J Med, 2007, 357: 1810-1820
- 15 Yamada Y, Koizumi W, Takiuchi H, *et al.* Phase II study of oxaliplatin plus S-1 as first-line treatment for advanced gastric cancer (G-SOX study)[J]. Ann Oncol, 2010, 21(5): 1001-1005
- 16 Sasako M. Risk factors for surgical treatment in the Dutch Gastric Cancer Trial[J]. Br J Surg, 1997, 84(11): 1567-1571
- 17 Grossmann EM, Longo WE, Virgo KS, *et al.* Morbidity and mortality of gastrectomy for cancer in department of veterans affairs medical centers[J]. Surgery, 2002, 131(5): 484-490
- 18 Shehepotin IB, Evans SR, Chorny VA, *et al.* Postoperative complications requiring relaparotomies after 700 gastrectomies performed for gastric cancer[J]. Am J Surg, 1996, 171(2): 270-273
- 19 Bonenkamp JJ, Songun I, Hermans J, *et al.* Randomised comparison of morbidity after D1 and D2 dissection for gastric cancer in 996 Dutch patients[J]. Lancet, 1995, 345(8952): 745-748
- 20 Marcus SG, Cohen D, Lin K, *et al.* Complications of gastrectomy following CPT-11-based neoadjuvant chemotherapy for gastric cancer[J]. J Gastrointest Surg, 2003, 7(8): 1015-1022

(收稿日期: 2013-11-19)

(修回日期: 2013-11-27)

MT-ND1 3571C > T 突变与 Leber 遗传性视神经病变相关研究

朱金萍 孟祥娟 张 赛 高 敏 张娟娟 赵福新 刘晓玲 童 绎 管敏鑫

摘 要 目的 探讨 3 个携带 m. 3571C > T 突变的中国 Leber 遗传性视神经病变家系 (Leber's hereditary optic neuropathy, LHON) 的临床和分子遗传学特征。方法 对 3 个 LHON 家系中 66 名成员和 116 例正常对照者线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 相关区域进行 PCR 扩增突变、纯化及测序, 并对测序结果进行生物信息学分析。结果 线粒体 DNA 序列分析结果显示, 3 个家系所有受试者和正常对照者均未发现 m. 3460G > A、m. 11778G > A 和 m. 14484T > C 这 3 个常见的原发突变位点, 而 3 个先证者及其母系成员均携带 m. 3497C > T 和 m. 3571C > T 突变位点, 非母系成员和 116 例正常对照均不携带 m. 3497C > T 和 m. 3571C > T 突变位点。m. 3497C > T 是已知与 LHON 相关的突变位点。结论 m. 3497C > T 和 m. 3571C > T 突变可能协同增加 LHON 的发生, 考虑为 LHON 的易感位点。

关键词 Leber 遗传性视神经病变 线粒体 DNA ND1 突变 不完全外显

[中图分类号] R3 [文献标识码] A

Study on MT-ND1 3571C > T Mutation in Leber's Hereditary Optic Neuropathy Pedigrees. Zhu Jinping, Meng Xiangjuan, Zhang Sai, *et al.* School of Laboratory Medicine and Life Science, Wenzhou Medical University, Zhejiang 325035, China

Abstract Objective To study clinical, genetic, and molecular characterization of Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) with MT-ND1 3571C > T mutation in three Chinese families. **Methods** Sixty-six members in 3 pedigrees and 116 healthy people were enrolled. PCR and DNA sequencing were used to screen for the presence of mtDNA mutation. The results were analyzed by bioinformatics. **Results** Molecular analysis of mitochondrial DNA in these pedigrees revealed the absence of three common LHON associated m. 3460G > A, m. 11778G > A and m. 14484T > C mutations but the presence of homoplasmic LHON associated m. 3497C > T and m. 3571C > T mutations in probands and all matrilineal relatives, and not in paternal relatives and 116 Chinese healthy controls. It is well known that m. 3497C > T is associated with LHON. **Conclusion** m. 3497C > T and m. 3571C > T mutations may increase the danger of LHON development. We can consider the susceptibility locus of LHON family.

Key words Leber's hereditary optic neuropathy; Mitochondrial DNA; ND1 mutations; Incomplete penetrance

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81200724); 温州医学院眼视光创新引导课题 (YNCX201010)

作者单位: 325035 温州医科大学检验医学院、生命科学学院 (朱金萍、孟祥娟、张赛、高敏、管敏鑫); 310023 杭州, 浙江大学生命科学学院 (张娟娟、管敏鑫); 325000 温州医科大学附属眼视光医院 (赵福新、刘晓玲); 350005 福州, 福建医科大学附属第一医院 (童绎)

通讯作者: 管敏鑫, 电子信箱: gminxin88@gmail.com

Leber 遗传性视神经病变 (Leber's hereditary optic neuropathy, LHON) 呈母系遗传方式, 是一种主要累及视盘黄斑束纤维, 导致视神经退行性的遗传疾病。本病男性患者居多, 常于 20~35 岁发病^[1,2]。自 1988 年 Wallance 等^[3]发现 LHON 与线粒体 DNA 突变 (mitochondrial DNA, mtDNA) 突变相关以来, 目前

报道与 LHON (http://www.mitomap.org/) 有关的位点有 60 多个。其中,95% 的临床病例是由 MT - ND4 11778G > A、MT - ND1 3460G > A、MT - ND6 14484T > C 这 3 个原发位点中的一个突变所致^[4],仍有 5% 的病例原因不明。为了进一步完善 LHON 的基因突变频谱,我们对收集的 LHON 家系进行了较为完善的研究,先后报道了许多与 LHON 相关的 mtDNA 继发突变位点(m. 3394T > C、m. 3635G > A、m. 3866T > C、m. 11696G > A m. 12338T > C、m. 14502T > C、tRNA^{Glu} 14693A > G)^[5-11]。本研究对 3 个同时携带 m. 3497C > T 和 m. 3571C > T 继发突变位点的 LHON 汉族家系成员进行了临床特征和分子生物学评估,发现

m. 3497C > T 和 m. 3571C > T 突变可能协同作用 LHON 的发生。

对象与方法

1. 研究对象:3 例临床诊断为 LHON 的中国家系(图 1),图 1 中 A、C 来自温州医科大学附属眼视光医院、B 来自福建医科大学附属第一医院。排除已经死亡的成员 2 名,共 66 名(LHON 患者 13 名)成员纳入本研究。其中母系成员 43 名,非母系成员 23 名。对所有受试者进行详细的询问及临床眼科检查,并抽取外周静脉血 3ml。以上检查均经过所有受试者的知情同意和温州医学院伦理委员会的批准,患者填写知情同意书。同时,采集 116 例无血缘关系的中国正常人外周血作为对照。

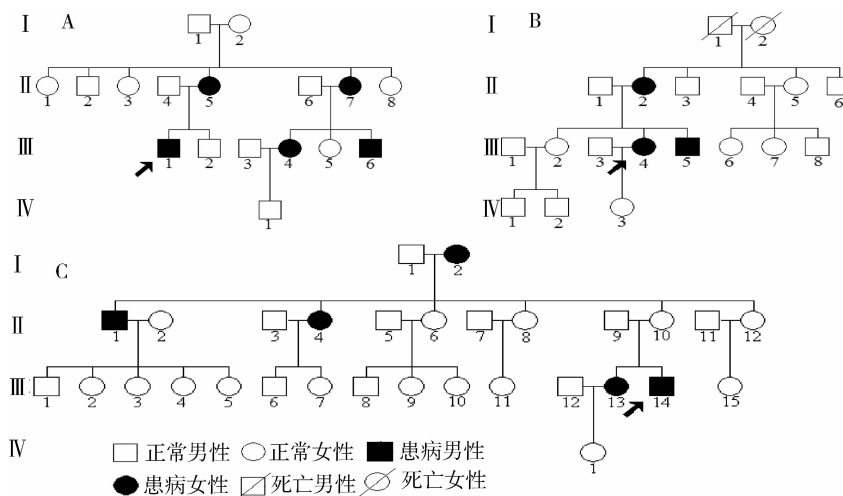


图 1 3 个家系图

A. WZ250; B. WZ252; C. WZ251。箭头所指为先证者

2. 方法:(1)临床眼科检查:对 3 个家系中所有成员进行临床眼科检查,包括标准对数视力表检测视力,俞自萍色觉图检查,德国蔡司 Humphrey 视野计按 SITA 标准程序检查(Humphrey Visual Field Analyzer Ili, SITA Standard),德国罗兰电生理仪(Roland Consult RETI port gamma, pattern or flash VEP)检查视觉诱发电位(visual evoked potentials, VEP)以及佳能眼底数码相机(Canon CR6 - 45NM fundus camera)拍摄眼底照片等检查。(2)基因组 DNA 提取:将 3 个家系成员(66 例)和 116 例正常对照者经 EDTA - K2 抗凝的全血用经典的酚/氯仿法提取全基因组 DNA,用 1% 的琼脂糖电泳检测 DNA 质量, NanoDrop1000 测定浓度, -20℃ 保存备用。(3)PCR 扩增及测序:以提取的 DNA 为模板,首先对 3 个家系成员(66 例)和 116 例正常对照者使用第 5 对、17 对、21 对引物对 m. 3460G > A、m. 11778G > A 和 m. 14484T > C 所在区域进行扩增。PCR 反应条件和反应体系参照文献[6]。为了进一步研究线粒体基因组突变位点和线粒体单体型,利用上述同样方法使用 24 对有部分重叠的正反向引物(表 1)对 3 个家系先证者线粒体全基因组进行扩增,PCR 产物使用 AxyPrep PCR Clean - up

Kit 纯化后并测序。

3. 结果分析:测序峰图用 Chromas Pro1.33 软件分析,测序结果用 DNASTAR 软件包中的 SeqMan 与修正的线粒体 DNA 剑桥参照序列(NC_012920) 比对^[12],查找突变位点;在网站(www.ncbi.nlm.nih.gov)查找人(NC_011137)、牛(NC_005971)、白额卷尾猴(NC_002763)、大猩猩(NC_011120)、白手长臂猿(NC_002082)、环尾狐猴(NC_004025)、猕猴(NC_005943)、巴巴利猕猴(NC_002764)、鼠(NC_005089)、蜂猴(NC_002765)、倭黑猩猩(NC_001644)、黑猩猩(NC_001643)、阿拉伯狒狒(NC_001992)、红毛猩猩(NC_001646)、苏门答腊猩猩(NC_002083)、马来跗猴(NC_002811)、非洲爪蟾(NC_001573)这 17 个不同物种 mtDNA 编码的氨基酸,用 ClustalX 软件对 17 个不同物种间的氨基酸进行保守性分析。DNASTAR 软件包中的 Seqman 进行全序拼接,根据东亚线粒体单体型进化树进行单体型分型^[15]。向 SOSUI 和 Swiss - Model 提交 ND1 多肽序列,进行蛋白二级结构和三级结构的预测;使用 PHD、GOR、SOPMA 分析工具对 ND1 表达的蛋白序列进行二级结构预测分析。

表 1 扩增线粒体基因组全序列所用引物及 PCR 产物长度

引物	引物序列(5'→3')	引物长度(bp)	扩增范围(bp)	扩增长度(bp)
Mit-1F	CTC CTC AAA GCA ATA CAC TG	20	592→1430	839
Mit-1R	TGC TAA ATC CAC CTT CGA CC	20		
Mit-2F	CGA TCA ACC TCA CCA CCT CT	20	1226→2026	801
Mit-2R	TGG ACA ACC AGC TAT CAC CA	20		
Mit-3F	GGA CTA ACC CCT ATA CCT TCT GC	23	1930→2688	859
Mit-3R	GGC AGG TCA ATT TCA CTG GT	20		
Mit-4F	AAA TCT TAC CCC GCC TGT TT	20	2480→3365	886
Mit-4R	AGG AAT GCC ATT GCG ATT AG	20		
Mit-5F	TAC TTC ACA AAG CGC CTT CC	20	3150→3980	831
Mit-5R	ATG AAG AAT AGG GCG AAG GG	20		
Mit-6F	TGG CTC CTT TAA CCT CTC CA	20	3777→4679	903
Mit-6R	AAG GAT TAT GGA TGC GGT TG	20		
Mit-7F	ACT AAT TAA TCC CCT GGC CC	20	4466→5443	976
Mit-7R	CCT GGG GTG GGT TTT GTA TG	20		
Mit-8F	CTA ACC GGC TTT TTG CCC	18	5238→6050	813
Mit-8R	ACC TAG AAG GTT GCC TGG CT	20		
Mit-9F	GAG GCC TAA CCC CTG TCT TT	20	5835→6661	827
Mit-9R	ATT CCG AAG CCT GGT AGG AT	20		
Mit-10F	CTC TTC GTC TGA TCC GTC CT	20	6450→7334	885
Mit-10R	AGC GAA GGC TTC TCA AAT CA	20		
Mit-11F	ACG CCA AAA TCC ATT TCA CT	20	7129→8114	986
Mit-11R	CGG GAA TTG CAT CTG TTT TT	20		
Mit-12F	ACG AGT ACA CCG ACT ACG GC	20	7908→8816	909
Mit-12R	TGG GTG GTT GGT GTA AAT GA	20		
Mit-13F	TTT CCC CCT CTA TTG ATC CC	20	8602→9416	815
Mit-13R	GTG GCC TTG GTA TGT GCT TT	20		
Mit-14F	CCC ACC AAT CAC ATG CCT AT	20	9211→10149	939
Mit-14R	TGT AGC CGT TGA GTT GTG GT	20		
Mit-15F	TCT CCA TCT ATT GAT GAG GGT CT	23	9967→10858	892
Mit-15R	AAT TAG GCT GTG GGT GGT TG	20		
Mit-16F	GCC ATA CTA GTC TTT GCC GC	20	10653→11511	859
Mit-16R	TTG AGA ATG AGT GTG AGG CG	20		
Mit-17F	TCA CTC TCA CTG CCC AAG AA	20	11295→12095	801
Mit-17R	GGA GAA TGG GGG ATA GGT GT	20		
Mit-18F	TAT CAC TCT CCT ACT TAC AG	20	11929→12793	865
Mit-18R	AGA AGG TTA TAA TTC CTA CG	20		
Mit-19F	AAA CAA CCC AGC TCT CCC TAA	21	12551→13526	976
Mit-19R	TCG ATG ATG TGG TCT TTG GA	20		
Mit-20F	ACA TCT GTA CCC ACG CCT TC	20	13319→14287	969
Mit-20R	AGA GGG GTC AGG GTT CAT TC	20		
Mit-21F	GCA TAA TTA AAC TTT ACT TC	20	14081→15017	937
Mit-21R	AGA ATA TTG AGG CGC CAT TG	20		
Mit-22F	TGA AAC TTC GGC TCA CTC CT	20	14837→15997	1161
Mit-22R	AGC TTT GGG TGC TAA TGG TG	20		
Mit-23F	TCA TTG GAC AAG TAG CAT CC	20	15792→31	809
Mit-23R	GAG TGG TTA ATA GGG TGA TAG	21		
Mit-24F	CAC CAT TCT CCG TGA AAT CA	20	16401→794	963
Mit-24R	AGG CTA AGC GTT TTG AGC TG	20		

结 果

1. 临床表现:3 个家系先证者都无明显的诱发因素而出现视力下降。VEP 检查 WZ250 家系和 WZ252

家系 P100 潜伏期延长,振幅值下降。WZ250 曾用激素治疗,但效果不明显。详细临床资料见表 2。

表 2 3 个先证者临床资料

编号	WZ250	WZ251	WZ252
先证者	Ⅲ - 1	Ⅲ - 14	Ⅲ - 4
其他患者	Ⅱ - 5, Ⅱ - 7, Ⅲ - 4, Ⅲ - 6	I - 2, Ⅱ - 1, Ⅱ - 4, Ⅲ - 13	Ⅲ - 5, Ⅱ - 2
性别	男性	男性	女性
检查年龄(岁)	32	22	27
发病年龄(岁)	8	22	21
右眼视力	0.01	0.05	0.2
左眼视力	0.025	0.05	0.2
临床表现	双眼视力同时突然下降	双眼视力同时渐进式下降	双眼视力同时突然下降
眼底检查	双眼瞳孔对光反射存在,视盘界清色苍白,黄斑中心凹反光	双眼视乳头颞侧色淡,视神经萎缩	双眼视盘色淡,黄斑反光可见,中心暗点
视力损伤	极重度	重度	轻度
外显率(%)	41.7	35.3	20.0

2. 线粒体基因组分析:测序结果分析发现该 3 个家系所有成员(66 例)均未发现 m. 3460G > A、m. 11778G > A 和 m. 14484T > C 和 m. 3460G > A 这 3 个原发突变位点。但发现 43 例母系成员(LHON 患者 13 例)均携带 m. 3497C > T 和 m. 3571C > T 同质性突变位点(图 2),非母系成员(23 例)和 116 例正常对照均未携带 m. 3497C > T 和 m. 3571C > T 突变位点。为了进一步研究线粒体基因突变对 LHON 的影响,对家系的先证者进行了全基因组的扩增、测序和生物信息学分析,测序结果分析显示 3 个先证者 mtDNA 序列上共携带 43 个线粒体基因突变位点(表 3),分别位于 D-loop 区 20 个,12SrRNA 4 个,16SrRNA 1 个,

蛋白编码区 18 个,其中包括 7 个错义突变和 11 同义突变,这些错义突变分别 MT - ND1: 3497C > T (A64V),3571C > T (L89F);MT - ATPase6:8860A > G (T112A);MT - ND5:13105A > G (I257V),14503A > G (T573A);MT - Cytb:14766C > T (T7I),15326A > G (T194A)。其中,m. 3497C > T 已报道与 LHON 相关的继发突变位点。对筛查到的突变位点进行 17 个不同物种间氨基酸保守性分析,发现 m. 3571C > T 的保守系数为 94.1%,其余位点均不保守。根据东亚线粒体单体型系统进化树分析,这 3 个家系的 mtDNA 序列均属于东亚单体型 B4c1b2^[13]。ND1 蛋白质二级结构和三级结构见图 3,ND1 蛋白有 8 个跨

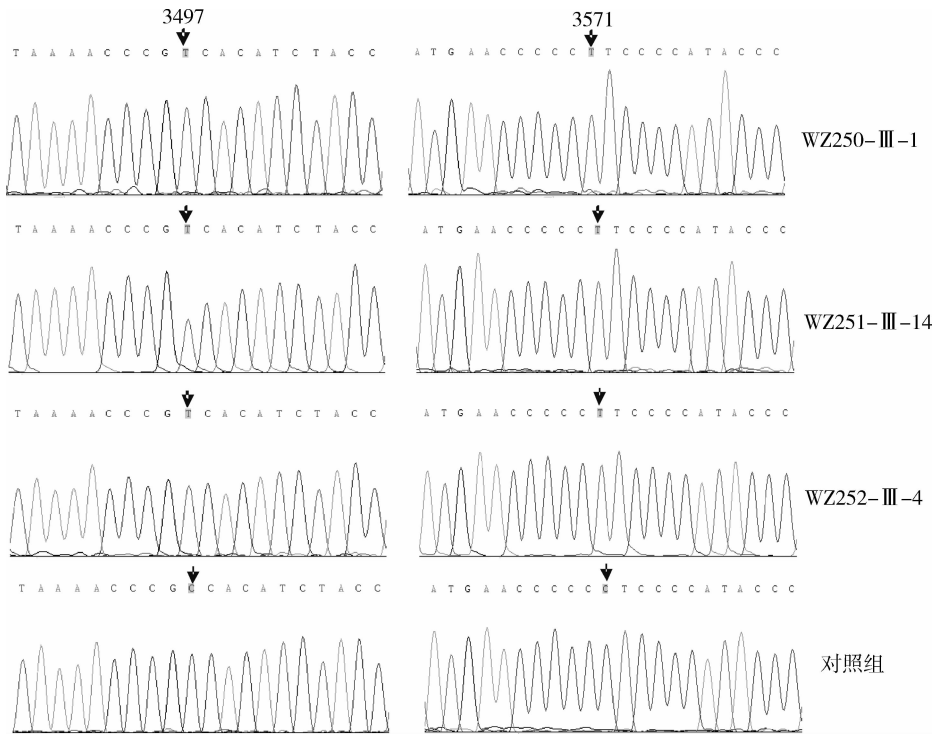


图 2 3 个先证者测序峰图(箭头所指为突变位点)

膜域组成的分子,其中 m. 3497C > T (A64V) 和 m. 3571C > T (L89F) 都位于蛋白亲水区,紧靠疏水跨膜区;使用 PHD、GOR、SOPMA 分析工具对 ND1 表达的

蛋白质序列进行二级结构预测分析发现,α - 螺旋、β - 折叠片、β - 转角和不规则卷曲均呈现不同程度的改变,详细结构见表 4。

表 3 3 个先证者 mtDNA 突变位点

基因	位点	碱基改变	氨基酸 改变	保守性(人/ 牛/鼠/爪蟾)	修正的剑桥 参考序列 ^[14]	WZ250	WZ251	WZ252	是否报道*
D - loop	73	A - G			A	G	G	G	是
	146	T - C			T	C	C	C	是
	150	C - T			C	T	T	T	是
	263	A - G			A	G	G	G	是
	310	T - CTC			T	CTC	CTC	TC	是
	523	A - Del			A			DelA	是
	524	C - Del			C			DelC	是
12S rRNA	709	G - A		G/A/A/-	G	A	A	A	是
	750	A - G		A/A/A/-	A	G	G	G	是
	1119	T - C		T/T/T/-	T	C	C	C	是
	1438	A - G		A/A/A/G	A	G	G		是
16S rRNA	2706	A - G		A/G/A/A	A	G	G	G	是
ND1	3497	C - T	Ala64Val	A/A/L/S	C	T	T	T	是
	3571	C - T	Leu89Phe	L/L/L/L	C	T	T	T	是
ND2	4769	A - G			A	G	G	G	是
COI	7028	C - T			C	T	T	T	是
NC7	8281_9	9 bpDel				9 bpDel	9bpDel	9bpDel	是
ATPase6	8772	T - C			T	C	C	C	是
	8860	A - G	Thr112Ala	T/A/A/T	A	G	G	G	是
COIII	9389	A - G			A		G		是
ND4L	10631	C - A			A		A		是
ND4	11719	G - A			G	A	A	A	是
ND5	12882	C - T			C	T			是
	13105	A - G	Ile257Val	I/I/I/I	A		G		是
	14053	A - G	Thr573Ala	T/A/M/M	A	G			是
	14659	C - T			C	T			是
Cytb	14766	C - T	Thr7Ile	T/S/T/S	C	T	T	T	是
	15301	G - A			G		A		是
	15326	A - G	Thr194Ala	T/M/I/I	A	G	G	G	是
	15346	G - A			G	A	A	A	是
D - loop	16093	T - C			T	C		C	是
	16129	G - A			G		A		是
	16140	T - C			T	C	C	C	是
	16182	A - C			A	C	C	C	是
	16183	A - C			A	C	C	C	是
	16189	T - C			T	C	C	C	是
	16197	C - T			C		T		是
	16217	T - C			T	C	C	C	是
	16274	G - A			G	A	A	A	是
	16311	T - C			T	C	C	C	是
	16335	A - G			A	G	G	G	是
	16338	T - C			T			C	是
	16519	T - C			T	C	C	C	是

* 见线粒体基因组数据库网站: <http://www.mitomap.org> 和 <http://www.genpat.uu.se/mtDB/>

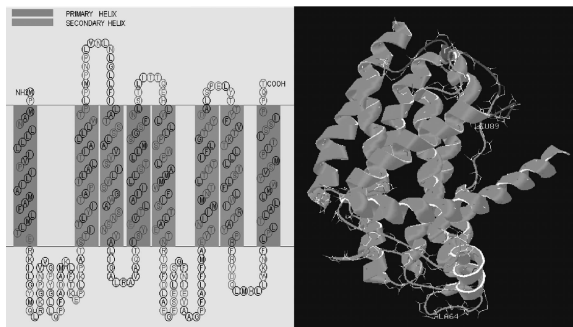


图 3 ND1 蛋白二级结构和三级预测结构图

表 4 用不同方法对携带 m.3497C>T 和 m.3571C>T 突变组和对照组 ND1 表达的蛋白二级结构预测分析(%)

方法	α-螺旋	β-折叠片	β-转角	不规则卷曲
PHD 法				
病例组	75.16	5.66	0	19.18
对照组	73.58	6.60	0	19.81
SOPMA 法				
病例组	57.23	15.72	3.77	23.27
对照组	59.12	11.32	3.14	26.42
GOR 法				
病例组	43.71	40.88	5.35	10.06
对照组	43.40	41.51	5.35	9.75

讨 论

从临床资料分析,3 个家系的先证者都具有典型的 LHON 临床特征。3 个家系先证者发病年龄分别为 8 岁、21 岁、22 岁,符合 LHON 好发于青壮年^[1,2]。3 个家系先证者视力损伤程度分别从轻度到极重度不等,与此前笔者曾报道的中国 LHON 家系情况基本相符^[14~16]。笔者发现,该 3 个家系男女性发病比例为 5:8,与 3 个原发位点的男女性发病比例 5.27:1 有所不同^[1,2],可能是由于笔者所收集的家系数目较少,引起的统计学误差。

对 3 个家系所有受试者线粒体基因组进行分析发现,3 个家系成员(66 例)均未发现 m.11778G>A、m.14484T>C、m.3460G>A 这 3 个原发突变位点,但先证者及其母系成员(43 例)均携带 m.3497C>T 和 m.3571C>T 同质性突变位点。m.3497C>T 突变位点是与 LHON 相关的线粒体继发突变位点,该位点突变使 ND1 亚基 64 位保守的丙氨酸变为缬氨酸。Phasukkiwatana 等^[17]在泰国家系中发现 m.3497C>T 可协同 m.11778G>A 影响 LHON 的发生。Yusnita 等^[18]提出 m.3497C>T 位于高度保守的区域,可改变 ND1 蛋白的结构和功能。m.3571C>T 突变导致

ND1 亚基 89 位脂肪族亮氨酸变为芳香族苯丙氨酸。该位点在 17 物种中保守系数为 94.1%。Shu 等^[19]在汉族家系中提出 m.3571C>T 可影响同时携带 m.11778G>A 和 m.3497C>T 的 LHON 家系的表型表达。蛋白二级结构和三级结构分析发现,ND1 蛋白有 8 个跨膜域组成的分子,A64V 和 L89F 都紧靠疏水跨膜区域,并且 α-螺旋、β-折叠片、β-转角和不规则卷曲均呈现不同程度的改变,据此推测位于 ND1 基因上 m.3497C>T 和 m.3571C>T 突变引起 ND1 蛋白质此区域亲水性的改变,从而引起了 ND1 亚基的空间构型的改变,进而导致复合体 I 酶活性降低,影响了线粒体 ATP 的产生,最终导致了 LHON 的发生。

线粒体单体型已证实与 LHON 的外显率和表现度有关。Hudson 等^[20]发现线粒体单倍型 J 是欧洲 LHON 家系的遗传易感型,这表明某些单体型的某些基因对 LHON 起有害或保护作用。在中国人群中, Ji 等^[21]发现 M7b1'2 单体型增加了对携带 G11778A 的家系的患病风险,而 M8a 单体型具有保护作用。参照文献[13]确立的东亚单体型分型标准,这 3 个家系先证者的线粒体单体型都属于 B4c1b2,这表明携带 m.3497C>T 和 m.3571C>T 突变的单体型 B4c1b2 可能影响该 3 个家系的外显率和表现度。

我们在 LHON 家系中同时发现了 m.3497C>T 和 m.3571C>T 突变位点,而在正常对照中未发现,提示这两个突变位点可能会协同增加 LHON 的发生,但与 LHON 未呈现“共分离”结果(仅在 LHON 家系患者中检测出该突变,在家系中正常成员中未检测出该突变)。未出现“共分离”现象并不能确定不是致病位点,该 3 个家系的外显率分别为 41.7%、35.3%、20%,与 LHON 家系本身具有的不完全外显的特性相一致,提示可能其他因素(遗传异质性、核修饰基因、环境因素)影响 LHON 的外显率。

LHON 是一种典型的母系遗传性疾病,线粒体 DNA 单个突变位点或多个突变位点均能导致 LHON 的发生。本研究中 m.3497C>T 和 m.3571C>T 同质性突变同时存在于这 3 个家系中的母系成员中,符合了 LHON 母系遗传的特征。本研究结果表明 m.3497C>T 和 m.3571C>T 突变可能协同增加 LHON 的发生,为 LHON 易感位点。因此 m.3497C>T 和 m.3571C>T 同质性突变可作为 LHON 易感人群的筛查位点,这将有助于提高中国 LHON 人群的早期遗传咨询和产前诊断。

参考文献

- 1 Man PY, Turnbull DM, Chinnery PF. Leber hereditary optic neuropathy[J]. J Med Genet, 2002, 39(3):162-169
- 2 Yen MY, Wang AG, Wei YH. Leber's hereditary optic neuropathy: a multifactorial disease[J]. Prog Retin Eye Res, 2006, 25(4):381-396
- 3 Wallace DC, Singh G, Lott MT, *et al.* Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy[J]. Science, 1988, 242(4884):1427-1430
- 4 Mackey DA, Oostra RJ, Rosenberg T, *et al.* Primary pathogenic mtDNA mutations in multigeneration pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy[J]. Am J Hum Genet, 1996, 59(2):481-485
- 5 米慧, 林蓓, 朱金萍, 等. 7 个中国 Leber 遗传性视神经病变家系的线粒体 DNA 突变分析[J]. 中华眼底病杂志, 2013, 3(29):261-265
- 6 赵福新, 周翔天, 张永梅, 等. 携带 ND1 基因 G3635A 突变的 Leber 遗传性视神经病变三家系线粒体基因突变位点检测及其分子遗传致病机制[J]. 中华眼底病, 2011, 5(27):419-422
- 7 Zhou XT, Qian Y, Zhang J, *et al.* Leber's hereditary optic neuropathy is associated with the T3866C mutation in mitochondrial ND1 Gene in Three Han Chinese Families[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(8):4586-4594
- 8 Zhou XT, Wei QP, Yang L, *et al.* Leber's hereditary optic neuropathy is associated with the mitochondrial ND4 G11696A mutation in five Chinese families[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 340(1):69-75
- 9 冀延春, 刘晓玲, 赵福新, 等. 线粒体 T12338C 突变可能是与 Leber 遗传性视神经病变相关的突变位点[J]. 遗传, 2011, 33(4):322-328
- 10 林蓓, 米慧, 孟祥娟, 等. Leber 遗传性视神经病变线粒体 ND6 T14502C 突变的三个汉族家系[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2013, 9(15):537-542
- 11 张永梅, 冀延春, 刘晓玲, 等. 线粒体 tRNA^{Glu} A14693G 可能是与 Leber 遗传性视神经病变相关的基因突变[J]. 遗传, 2010, 32(4):353-359
- 12 Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, *et al.* Reanalysis and revision [J]. Nat Genet, 1999, 23(2):147
- 13 Kong QP, Bandelt HJ, Sun C, *et al.* Updating the East Asian mtDNA phylogeny: a prerequisite for the identification of pathogenic mutations [J]. Hum Mol Genet, 2006, 15(13):2076-2086
- 14 Tong Y, Sun YH, Zhou X, *et al.* Very low penetrance of Leber's hereditary optic neuropathy in five Han Chinese families carrying the ND1 G3460A mutation[J]. Mol Genet Metab, 2010, 99(4):417-424
- 15 Qu J, Zhou X, Zhang J, *et al.* Extremely low penetrance of Leber's hereditary optic neuropathy in 8 Han Chinese families carrying the ND4 G11778A mutation[J]. Ophthalmology, 2009, 116(3):558-564
- 16 Qu J, Zhou X, Zhao F, *et al.* Low penetrance of Leber's hereditary optic neuropathy in ten Han Chinese families carrying the ND6 T14484C mutation[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1800(3):305-312
- 17 Phasukkijwatana N, Chuenkongkaew WL, Suphavilai R, *et al.* The unique characteristics of Thai Leber hereditary optic neuropathy: analysis of 30 G11778A pedigrees [J]. J Hum Genet, 2006, 51(4):298-304
- 18 Yusnita Y, Norsiah MD, Rahman AJ. Mutations in mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 1 (mtND1) gene in colorectal carcinoma[J]. Malays J Pathol, 2010, 32(2):103-110
- 19 Shu L, Zhang YM, Huang XX, *et al.* Complete mitochondrial DNA sequence analysis in two southern Chinese pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy revealed secondary mutations along with the primary mutation[J]. Int J Ophthalmol, 2012, 5(1):28-31
- 20 Hudson G, Carelli V, Spruijt L, *et al.* Clinical expression of Leber hereditary optic neuropathy is affected by the mitochondrial DNA - haplogroup background[J]. Am J Hum Genet, 2007, 81(2):228-233
- 21 Ji Y, Zhang AM, Jia X, *et al.* Mitochondrial DNA haplogroups M7b1'2 and M8a affect clinical expression of leber hereditary optic neuropathy in Chinese families with the m. 11778G > A mutation[J]. Am J Hum Genet, 2008, 83(6):760-768

(收稿日期:2013-11-18)

(修回日期:2013-12-02)

西部 4 省市城乡居民医疗消费行为研究

李勤瑶 刘 超 郑小华 李家伟 广冬梅 刘治君 赖 倩

摘 要 目的 研究西部 4 省市城乡居民医疗消费行为的现状, 分析其影响因素。**方法** 采用 SPSS 17.0 软件对 2012 年西

基金项目: 国家社会科学基金资助项目(12BJY092); 教育部人文社科基金资助项目(09YJC630043)

作者单位: 610071 成都中医药大学管理学院(李勤瑶、李家伟、广冬梅、刘治君、赖倩); 510420 广东外语外贸大学新闻与传播学院(刘超); 610071 成都, 四川省医学科学院卫生政策与信息技术研究所(郑小华)

通讯作者: 李家伟, 电子信箱: 921820259@qq.com