

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2010.00141

线粒体 *ND1* 基因 T3866C 突变可能是 Leber's 遗传性视神经病和四肢畸形跛行相关的突变

刘燕^{1,2}, 庄淑流³, 童绎⁴, 瞿佳², 周翔天², 赵福新², 张娟娟², 张永梅^{1,2}, 章豫^{1,2}, 管敏鑫^{1,5,6}

1. 温州医学院浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325035;
2. 温州医学院附属眼视光医院, 温州 325027;
3. 福州东南眼科医院, 福州 350004;
4. 福建医科大学附属第一医院, 福州 350005;
5. Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH 45229, USA;
6. Department of Pediatrics, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, OH 45229, USA

摘要: 线粒体 DNA(Mitochondrial DNA, mtDNA)突变与人类许多疾病的发病机制相关。现报道 1 个具有典型母系遗传特征的中国人 Leber's 遗传性视神经病和四肢畸形跛行的家系。该家系共 5 代 60 人, 共 27 名母系成员, 其中 4 人只有 Leber's 遗传性视神经病症状, 1 人呈现四肢畸形跛行症状, 4 人同时具有上述两种临床症状, 而其他成员无临床症状。对先证者的 mtDNA 全序列进行分析, 发现 *ND1* 基因 T3866C 突变位点和 43 个多态位点, 经系统进化树分析属于东亚单体型 D4a3。MtDNA *ND1* 3866 位点 T-C 碱基的改变使 *ND1* 亚基第 187 位进化高度保守的异亮氨酸转变为苏氨酸, 从而改变该蛋白的结构, 进而影响其功能。在 135 名正常对照中未发现该突变。因此, 线粒体 *ND1* T3866C 可能是与 Leber's 遗传性视神经病和四肢畸形跛行相关的线粒体基因突变。

关键词: Leber's 遗传性视神经病; 线粒体 DNA; 突变; 视力障碍; 四肢畸形跛行

Leber's hereditary optic neuropathy and limbs abnormality claudication may be associated with the mitochondrial *ND1* T3866C mutation

LIU Yan^{1,2}, ZHUANG Shu-Liu³, TONG Yi⁴, QU Jia², ZHOU Xiang-Tian², ZHAO Fu-Xin², ZHANG Juan-Juan², ZHANG Yong-Mei^{1,2}, ZHANG Yu^{1,2}, GUAN Min-Xin^{1,5,6}

1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetics, School of Life Sciences, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;
2. School of Ophthalmology and Optometry, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China;
3. Fuzhou Southeastern Eye Hospital, Fuzhou 350004, China;
4. The First Affiliated Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China;
5. Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati OH 45229, USA;
6. Department of Pediatrics, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati OH 45229, USA

收稿日期: 2009-09-12; 修回日期: 2009-11-24

基金项目: 浙江省自然科学基金重大项目(编号: Z204492), 国家杰出青年科学基金及海外、港澳青年学者合作研究基金项目(编号: 30628013)和浙江省自然科学基金项目(编号: Y2090649)资助

作者简介: 刘燕(1981-), 女, 在读硕士研究生, 专业方向: 视神经疾病。Tel: 15825668527; E-mail: liuyan6607@126.com

通讯作者: 管敏鑫(1962-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 人类遗传学和线粒体疾病。E-mail: gminxin88@gmail.com

Abstract: Mutations in mitochondrial DNA have been associated with a wide spectrum of clinical abnormalities. We reported here the clinical, genetic and molecular characterization of a five-generation Han Chinese pedigree with Leber's Hereditary Optic Neuropathy (LHON) and limbs abnormality claudication. Of 27 matrilineal relatives, four exhibited only LHON, one suffered from only limbs abnormality claudication, and four had both LHON and limbs abnormality claudication. Sequence analysis of mitochondrial genome in this family identified the known T3866C mutation in *ND1* gene and other 43 variants belonging to the Asian haplogroup D4a3. The T3866C (I187T) mutation resulted in the replacement of isoleucine at position 187 with threonine. The isoleucine at position 187 located at one of transmembrane domain in *ND1* polypeptide. The isoleucine at position 187 was extremely conserved among 29 organisms, while other variants showed no evolutionary conservation. Furthermore, the T3866C was absent in 135 Chinese control subjects. The T3866C mutation likely alters the complex I activity, which causes mitochondrial dysfunction associated with LHON and limbs abnormality claudication. Therefore, the T3866C mutation is likely associated with LHON and limbs abnormality claudication.

Keywords: Leber's hereditary optic neuropathy; mitochondrial DNA; mutation; vision loss; limbs abnormality claudication

Leber's 遗传性视神经病 (Leber's hereditary optic neuropathy, LHON) 是 1858 年由 Von Grafe 等首先报道, 1871 年以德国眼科医生 Leber 的名字命名的。它是一种主要累及视网膜、巩膜筛板前部视乳头黄斑束纤维, 导致视神经退行性变的母系遗传病。临床主要表现为双眼同时或先后的急性或亚急性无痛性视力减退, 多在 20~30 岁间出现症状^[1]。本病男性发病比例多于女性, 如白种人中男女发病比平均约为 5:1^[2]。线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 突变是导致其发病的主要分子基础, 目前已发现 50 多个相关位点^[3]。其中 *ND4* G11778A、*ND1* G3460A、*ND6* T14484C 3 个原发突变在不同种族的 LHON 家系中占 50% 以上^[4-6], 这提示还有其他 LHON 相关的 mtDNA 突变存在。为了深入研究中国人群中 LHON 发病的分子机制和突变频谱, 最近几年我们对全国范围内多个 LHON 家系进行了系统性的研究。在筛查过程中发现 1 个携带线粒体 *ND1* 基因 T3866C 突变的 WZ205 家系, 并对该家系进行临床和分子遗传学分析。

1 对象与方法

1.1 研究对象和眼科学检查

对携带线粒体 *ND1* 基因 T3866C 突变的 WZ205 家系患者及其他成员进行深入细致的眼科学和其他临床检查 (如四肢、神经系统检查等), 并结合家族遗传特征, 临床诊断为 LHON。眼科学检查内容包括视力检测, 视野、眼底、色觉及电生理检查等。视力损害程度分级标准: 正常 ≥ 0.3 ; 0.1 轻度 < 0.3 ; 0.05

中度 < 0.1 ; 0.02 重度 < 0.05 ; 极重度 < 0.02 (参考世界卫生组织标准)。同时选取 135 名正常对照进行 mtDNA T3866C 突变筛查。以上检查均按照温州医学院伦理委员会管理规定, 在患者及家系成员签署知情同意后完成。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取

对先证者及母系成员抽取外周静脉血, 用经典的酚-氯仿法提取基因组 DNA。

1.2.2 PCR 扩增及测序

以提取的 DNA 为模板, 首先对先证者及母系成员 3 个原发位点所在的片段进行扩增^[4,7], 进而使用 24 对引物^[2]对先证者及对照者的线粒体全基因组进行扩增^[8]。对全部 PCR 产物进行纯化、测序。

1.2.3 序列分析

测序结果使用 DNASTAR 软件包中的 SeqMan 与修正的剑桥参照序列进行比对^[7]; 经 Chromas Pro1.33 软件观察峰图形状; 用 Clustalx 软件对不同物种间的 *ND1* 氨基酸序列进行序列相似性比较。根据东亚线粒体单体型树进行单体型分型^[9]。向 SOSUI (<http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui/>) 提交 *ND1* 多肽序列进行二级结构预测^[10]。

2 结果与分析

2.1 临床资料的分析

WZ205 家系中先证者 (-1), 男, 57 岁, 30 岁时

自感视物不清, 期间未经治疗, 现经眼科学检查示双眼视力为眼前指数, 色觉正常, 瞳孔对光反射存在, 眼底示双侧视神经萎缩, 视觉诱发电位(VEP)显示双眼 P100 波振幅降低, 潜时延长, 呈现典型的 LHON 症状。此外, 还表现为轻度四肢畸形, 左足微跛, 言语不清。我们对该家系共 5 代 60 人(图 1)其他成员进行了详细的临床和遗传学评估(表 1)。由表 1 可知, 有两位患者双眼视力及四肢

畸形跛行较严重: -7, 男, 43 岁, 双眼视力 0.01, 双眼底视神经萎缩, 管状视野, 四肢畸形跛行较严重, 言语不清; IV-13, 男, 23 岁, 右眼视力眼前指数, 左眼视力 0.04, 双视神经萎缩, 讲话言语不清, 四肢畸形跛行较严重; 有一位患者双眼视力正常, 但有轻微的畸形跛行: -22, 男, 38 岁, 视力正常, 右侧脚畸形, 轻度跛行。该家系其他成员中呈现 LHON 症状者 4 人(-2、 -10、 -20、 -25), 呈现四肢

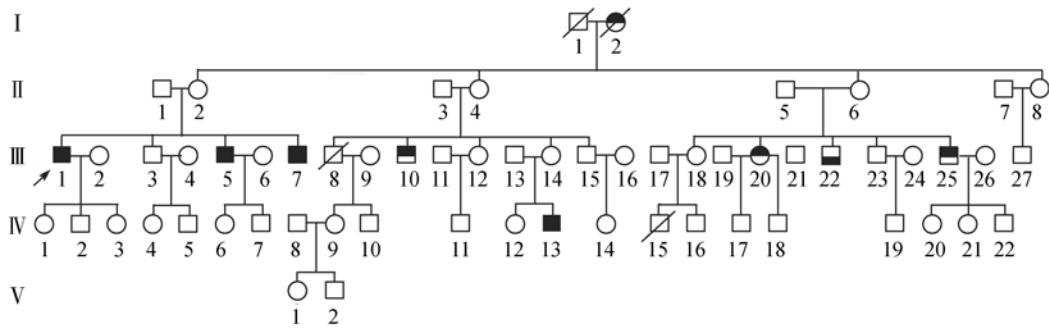


图 1 WZ205 家系图
■●表示 LHON 患者; /表示先证者; □表示四肢畸形跛行患者; ■表示既有 LHON 也有四肢畸形跛行患者。

表 1 WZ205 家系部分母系成员的临床资料

家系成员	性别	年龄	左眼视力	右眼视力	相关病史(备注)
I - 1	男	已故	正常	正常	无
I - 2	女	已故	发病	发病	(50 岁左右去世)
II - 2	女	77	正常	正常	眼部视力及眼底正常
II - 4	女	74	正常	正常	眼部视力及眼底正常
II - 6	女	67	正常	正常	眼部视力及眼底正常
II - 8	女	未知	正常	正常	(一家三口均无异常, 其为公务员, 儿子未婚, 拒绝调查)
III - 1	男	57	眼前指数	眼前指数	30 岁发病, 双视力眼前指数, 双视神经萎缩, 四肢畸形, 左足微跛, 言语不清
III - 3	男	51	正常	正常	无
III - 5	男	48	眼前指数	眼前指数	44 岁发病, 双视力眼前指数, 双视神经萎缩, 管状视野, 左足微跛
III - 7	男	43	0.01	0.01	10 多岁发病, 双视神经萎缩, 管状视野, 四肢畸形跛行, 讲话言语不清(严重)
III - 8	男	已故	正常	正常	无(40 多岁因肝硬化去世)
III - 10	男	49	0.08	0.08	23 岁发病, 双视神经萎缩(未抽血)
III - 12	女	47	正常	正常	无
III - 14	女	45	正常	正常	无
III - 15	男	43	正常	正常	无
III - 18	女	47	正常	正常	无
III - 20	女	45	0.06	0.06	21 岁发病, 双视神经萎缩
III - 22	男	38	正常	正常	右侧脚畸形, 轻度跛行(未婚)
III - 23	男	39	正常	正常	无眼病
III - 25	男	33	0.15	0.05	10 多岁发病, 双视神经萎缩
IV - 10	男	22	1.2	1	双视力正常, 眼底无异常
IV - 12	女	24	正常	正常	双视力正常, 眼底无异常
IV - 13	男	23	眼前指数	0.04	5 岁左右走路不稳, 十几岁吃饭不能自理, 20 岁左右视力下降, 服中药有所改善, 双视神经萎缩, 讲话言语不清, 四肢畸形跛行(严重)
IV - 19	男	12	正常	正常	眼底无异常, 视力未检查, 未发现障碍, 右下肢行走有异样?

畸形跛行者 1 人(-22), 呈现以上两种临床症状者 4 人(-1、 -5、 -7、 -13), 且发病者均为母系成员, 符合母系遗传方式。LHON 患者发病年龄从 10 岁到 44 岁不等; 视力损害程度从正常到极重度不等; 男性发病 6 人, 女性发病 2 人; 外显率为 29.6%。另外, 该家系成员无其他临床症状。

2.2 线粒体基因组突变分析

首先对 WZ205 家系 27 位母系成员 mtDNA 携带 *ND1*、*ND4*、*ND6* 基因的片段进行筛查, 未发现 3 个 mtDNA 原发突变。为进一步研究该家系的线粒体基因突变对 LHON 的影响, 我们对先证者的线粒体全基因组进行扩增测序并比对。在全序列中发现 44 个多态位点: D-Loop 区 11 个, 12S rRNA 2 个, 16S rRNA 3 个, 蛋白编码区 28 个(17 个同义突变和 11 个错义突变)(表 2)。错义突变包括: *ND1* 基因 T3866C(I187T) (图 2), *ND2* 基因 C5178A(L237M)、A5466G(T333A), *ATP8* 基因 C8414T(L17F), *ATP6* 基因 A8701G(T59A)、A8860G(T112A), *ND3* 基因 G10197A(A47T)、A10398G(T114A), *Cyt b* 基因 C14766T(T7I)、T14979C(I70T)、A15326G(T194A)。以上除 *COI* 基因存在一个未报道过的同义突变(A7295C)外, 其余均已报道^[3]。由于线粒体 DNA *COI* 基因 A7295C 突变经分析为同义突变可能是一个多态性位点, 因此该位点的改变不会影响线粒体的功能。该 mtDNA 序列属于东亚线粒体单体型 D4a3^[9]。通过与人(*Homo sapiens*)、牛(*Bos taurus*)、小鼠(*Mus musculus*)、非洲爪蟾(*Xenopus laevis*) mtDNA 的种系发生学分析, 发现这些变异位点除 T3866C 外进化上都不保守。为进一步确定 T3866C 位点的保守性, 在哺乳动物中选取 29 种物种进行进化保守性分析, 保守系数为 100%(图 3)。我们进而对 WZ205 家系除先证者外的其他成员和 135 名正常对照进行 mtDNA T3866C 突变筛查, 结果 WZ205 家系所有母系成员均携带该突变, 非母系成员和 135 名正常对照均不携带此突变。以上结果提示, T3866C 突变可能是与 LHON 相关的 mtDNA 突变。

2.3 蛋白结构预测结果分析

为进一步确定 T3866C 突变对 *ND1* 多肽二级结构的影响, 我们对 *ND1* 多肽二级结构进行预测^[10]。

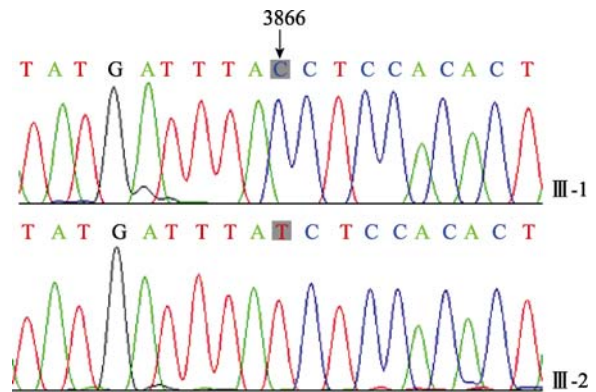


图 2 先证者(III-1)及正常对照(III-2)mtDNA *ND1* 基因部分测序峰图

箭头所指为 T3866C 突变位点。

结果如图 4 所示: *ND1* 多肽为跨膜蛋白, 由 8 个跨膜域组成。跨膜蛋白是由亲水性的氨基酸构成的亲水性区域暴露于脂双层外的水相中, 而疏水性氨基酸构成的疏水区域则与脂分子非极性尾部相互作用。可见氨基酸的疏水性和极性对该类蛋白结构的维持具有重要意义。T3866C (I187T) 突变造成 *ND1* 多肽第 187 位异亮氨酸转变成苏氨酸, 该氨基酸位于 *ND1* 蛋白二级结构的第 5 个跨膜区, 且该氨基酸的疏水性极性发生了改变, 这可能会影响整个蛋白的三维构象, 从而影响该多肽的功能。

3 讨论

本研究对一个具有典型 LHON 表现不携带 3 个原发突变的 5 代中国汉族家系的临床和分子遗传学进行了探讨。临床和遗传学评估揭示: 发病年龄不同, 视力损害程度不等(表 2)。该家系平均发病年龄为 24 岁, 包括在 LHON 高发年龄阶段; 发病程度较之前报道的家系^[11, 12]重。WZ205 家系中男女发病比为 3:1, 在高加索人中从 2.3:1 到 7.7:1^[13], 而在我们已报道的中国人群中为 1:2 至 3.5:1^[11-16]。外显率为 29.6%, 比已报道的单独 G11778A 的 LHON 家系的外显率高^[17], 而比原发位点协同继发位点家系的外显率低^[11, 12, 14-16], 比 Zhou^[18]等报道的 5 个携带 G11696A 突变的家系外显率高。另外, 该家系有些成员同时具有 LHON 和四肢畸形跛行症状(III-1、III-5、III-7、IV-13); 有些成员只具有 LHON 症状(I-2、III-10、III-20、III-25); 而 III-22 只表现为四肢畸形跛行。这是第一个除具有典型 LHON 症状外

表 2 先证者线粒体 DNA 突变位点

基因	位点	碱基(氨基酸)改变	保守性(人/牛/鼠/爪蟾)	报道与否 ^[3]
D-LOOP	73	A→G		是
	152	T→C		是
	228	G→T		是
	263	A→G		是
	310	T→CTC		是
	489	T→C		是
	16093	T→C		是
	16129	G→A		是
	16223	C→T		是
	16249	T→C		是
	16362	C→T		是
12S rRNA	750	A→G	A/A/A/-	是
	1438	A→G	A/A/A/G	是
16S rRNA	2706	A→G	A/G/A/A	是
	3010	G→A	G/G/A/A	是
	3206	C→T	C/A/T/A	是
<i>ND1</i>	3483	G→A		是
	3866	T→C(Ile → Thr)	I/I/I/I	是
<i>ND2</i>	4769	A→G		是
	4883	C→T		是
	5178	C→A(Leu → Met)	L/T/T/T	是
	5466	A→G(Thr → Ala)	T/S/S/S	是
<i>CO</i>	7028	C→T		是
	7295	A→C		否
<i>ATP8</i>	8414	C→T(Leu → Phe)	L/F/M/W	是
	8473	T→C		是
<i>ATP6</i>	8701	A→G(Thr → Ala)	T/S/L/Q	是
	8860	A→G(Thr → Ala)	T/A/A/T	是
<i>CO</i>	9540	T→C		是
<i>ND3</i>	10197	G→A(Ala → Thr)	A/A/A/M	是
	10398	A→G(Thr → Ala)	T/T/T/A	是
	10400	C→T		是
<i>ND4</i>	10873	T→C		是
	11719	G→A		是
<i>ND5</i>	12705	C→T		是
	13401	T→C		是
<i>ND6</i>	14668	C→T		是
<i>Cyt b</i>	14766	C→T(Thr → Ile)	T/S/T/S	是
	14783	C→T		是
	14979	T→C(Ile → Thr)	I/I/L/L	是
	15043	G→A		是
	15301	G→A		是
	15326	A→G(Thr → Ala)	T/M/I/I	是
	15412	T→C		是

	185	187	195	205	215
	----	----	----	----	----
Proband	LPSWPLAMMW	FTSTLAETNR	TPFDLAEGES	ELUSGFNIEY	
<i>Homo sapiens</i>	LPSWPLAMMW	FISTLAETNR	TPFDLAEGES	ELUSGFNIEY	
<i>Balaenoptera musculus</i>	FPSWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Balaenoptera physalus</i>	FPSWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Gorilla gorilla gorilla</i>	LPTWPLAMMW	FISTLAETNR	TPFDLAEGES	ELUSGFNIEY	
<i>Pan paniscus</i>	LPTWPLAMMW	FISTLAETNR	TPFDLTEGES	ELUSGFNIEY	
<i>Pan troglodytes</i>	LPTWPLAMMW	FISTLAETNR	TPFDLTEGES	ELUSGFNIEY	
<i>Pongo pygmaeus</i>	LPSWPLALMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNTEY	
<i>Hylobates lar</i>	LPTWPLAMMW	FISTLAETNR	TPFDLTEGES	ELUSGFNTEY	
<i>Equus caballus</i>	FPSWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Rhinoceros unicornis</i>	FPSWPLTHMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Ceratotherium simum</i>	FPSWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLAEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Bos taurus</i>	LPAWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Ovis aries</i>	FPAWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Equus asinus</i>	FPSWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Sus scrofa domestica</i>	FTSWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Hippopotamus amphibius</i>	FPSWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Mus musculus castaneus</i>	LPAWPMAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Rattus norvegicus</i>	IPAWPMAMMW	YISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Myoxus glis</i>	LPTWPLAMWU	UISTLAETNR	ARSDLTGES	ELUSGFNUEY	
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	LPAWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Felis catus</i>	IPAWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFDUEY	
<i>Halichoerus grypus</i>	FPAWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Phoca vitulina</i>	FPAWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Canis lupus familiaris</i>	FPAWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Artibeus jamaicensis</i>	YPSWPLTHMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Dasyurus novemcinctus</i>	FPLWPLAMMW	FISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Didelphis virginiana</i>	MMTWPLTHMW	YISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Macropus robustus</i>	UATWPLAMMW	YISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	
<i>Xenopus laevis</i>	IPGWPMAMW	YISTLAETNR	APFDLTEGES	ELUSGFNUEY	

图 3 不同物种间 *ND1* 基因的保守性分析
箭头所指为 T3866C (I187T)在 *ND1* 多肽部分氨基酸序列中的位置。

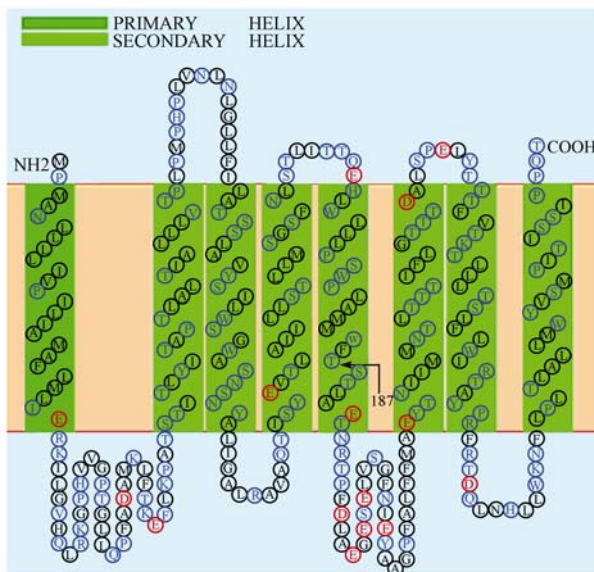


图 4 蛋白二级结构预测
箭头所指为 I187T 在 *ND1* 蛋白二级结构中的位置(SOSUI: <http://bp.nuap.nagoya-u.ac.jp/sosui/>).

还表现为四肢畸形跛行的家系。

具有LHON表现和(或)四肢畸形跛行的患者只存在于母系成员中,提示mtDNA 突变可能为其发病的分子基础。通过对先证者的线粒体全基因组进行分析,发现了一个可能与LHON和四肢畸形跛行相关的线粒体*ND1* T3866C突变以及其他 43 个 mtDNA 变异位点,属于东亚D4a3 线粒体单体型。在这些突变中其他 43 个突变位点进化上并不保守,因此可以认为他们为多态性位点。另外,在 135 名正常对照中未发现该突变。但 T3866C 突变使 NADH脱氢酶*ND1* 亚单位第 187 位非极性疏水性异亮氨酸转变为极性中性苏氨酸,该氨基酸在 29 种物种中的保守系数达 100%(图 3)。同时其蛋白二级结构SOSUI预测分析显示*ND1* 蛋白为 8 个跨膜域组成的分子,其中 I187T 位于第 5 个跨膜区,位于跨膜区氨基酸的疏水性极性改变会影响整个蛋白的三维

构象, 从而影响 *ND1* 蛋白的功能, 使 *NADH* 脱氢酶活性减低, 进而影响线粒体 *ATP* 的产生^[13]。视神经属于中枢神经系统, 在组成视神经的纤维中直径小的多属于乳头黄斑束, 它们对能量的需求较高; 而由于无髓鞘视网膜神经节细胞轴突的存在, 视网膜的能量需求比脑部更高, 对能量缺乏很敏感, 故当有视神经变性、能量衰竭时, 最易受损。因此, 线粒体 *ATP* 产生减少可能会首先累及乳头黄斑束和视网膜而发病。

线粒体 *ND1* T3866C 可能是与 LHON 和四肢畸形跛行相关的突变。然而该家系成员不完全外显及发病年龄不同和视力损害程度不等, 说明 T3866C 突变本身可能不足以致病, 其他修饰因子如核修饰基因、环境因素等在疾病的发生发展中起到一定的作用。

参考文献(References):

- [1] Qu J, Guan MX. Molecular pathogenetic mechanism of Leber's hereditary optic neuropathy. *Chinese J of Optometry & Ophthalmol*, 2006, 8(6): 341-348.
- [2] Man PY, Turnbull DM, Chinnery PF. Leber hereditary optic neuropathy. *J Med Genet*, 2002, 39(3): 162-169. [\[DOI\]](#)
- [3] MITOMAP: A Human Mitochondrial Genome Database. <http://www.mitomap.org>.
- [4] Brown MD, Torroni A, Reckord CL, Wallace DC. Phylogenetic analysis of Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA's indicates multiple independent occurrences of the common mutations. *Hum Mutat*, 1995, 6(4): 311-325. [\[DOI\]](#)
- [5] Mackey DA, Oostra RJ, Rosenberg T, Nikoskelainen E, Bronte-Stewart J, Poulton J, Harding AE, Govan G, Bolhuis PA, Norby S, Bleeker-Wagemakers EM, Savontaus ML, Cahn C, Howell N. Primary pathogenic mtDNA mutations in multigeneration pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Hum Genet*, 1996, 59(2): 481-485.
- [6] Mashima Y, Yamada K, Wakakura M, Kigasawa K, Kudoh J, Shimizu N, Oguchi Y. Spectrum of pathogenic mitochondrial DNA mutations and clinical features in Japanese families with Leber's hereditary optic neuropathy. *Curr Eye Res*, 1998, 17(4): 403-408. [\[DOI\]](#)
- [7] Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Turnbull DM, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. Reanalysis and revision of the Cambridge Reference Sequence. *Nat Genet*, 1999, 23(2): 147. [\[DOI\]](#)
- [8] 赵福新, 周翔天, 瞿佳, 韦企平, 童绎, 杨丽, 吕建新, 管敏鑫. 中国 Leber 遗传性视神经病变 G11696A 突变两个家系分析. *中华医学遗传学杂志*, 2007, 24(5): 556-559.
- [9] Kong QP, Bandelt HJ, Sun C, Yao YG, Salas A, Achilli A, Wang CY, Zhong L, Zhu CL, Wu SF, Torroni A, Zhang YP. Updating the East Asian mtDNA phylogeny: a prerequisite for the identification of pathogenic mutations. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(13): 2076-2086. [\[DOI\]](#)
- [10] Hirokawa T, Boon-Chiang S, Mitaku S. SOSUI: classification and secondary structure prediction system for membrane proteins. *Bioinformatics*, 1998, 14(4): 378-379. [\[DOI\]](#)
- [11] Qu J, Li RH, Zhou XT, Tong Y, Lu F, Qian YP, Hu YW, Mo JQ, West CE, Guan MX. The novel A4435G mutation in the mitochondrial tRNA^{Met} may modulate the phenotypic expression of the LHON-associated ND4 G11778A mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(2): 475-483. [\[DOI\]](#)
- [12] Li RH, Qu J, Zhou XT, Tong Y, Hu YW, Qian YP, Lu F, Mo JQ, West CE, Guan MX. The mitochondrial tRNA^{Thr} A15951G mutation may influence the phenotypic expression of the LHON-associated ND4 G11778A mutation in a Chinese family. *Gene*, 2006, 376(1): 79-86. [\[DOI\]](#)
- [13] Saxena R, de Bakker PI, Singer K, Mootha V, Burt N, Hirschhorn JN, Gaudet D, Isomaa B, Daly MJ, Groop L, Ardlie KG, Altshuler D. Comprehensive association testing of common mitochondrial DNA variation in metabolic disease. *Am J Hum Genet*, 2006, 79(1): 54-61. [\[DOI\]](#)
- [14] Qu J, Li RH, Zhou XT, Tong Y, Yang L, Chen J, Zhao FX, Lu CJ, Qian YP, Lu F, Guan MX. Cosegregation of the ND4 G11696A mutation with the LHON-associated ND4 G11778A mutation in a four generation Chinese family. *Mitochondrion*, 2007, 7(1-2): 140-146. [\[DOI\]](#)
- [15] Tong Y, Mao YJ, Zhou XT, Yang L, Zhang JJ, Cai WS, Zhao FX, Wang XJ, Lu F, Qu J, Guan MX. The mitochondrial tRNA^{Glu} A14693G mutation may influence the phenotypic manifestation of ND1 G3460A mutation in a Chinese family with Leber's hereditary optic neuropathy. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 357(2): 524-530. [\[DOI\]](#)
- [16] Cai WS, Fu Q, Zhou XT, Qu J, Tong Y, Guan MX. Mitochondrial variants may influence the phenotypic manifestation of Leber's hereditary optic neuropathy-associated ND4 G11778A mutation. *J Genet Genomics*, 2008, 35(11): 649-655. [\[DOI\]](#)
- [17] Qu J, Zhou XT, Zhang JJ, Zhao FX, Sun YH, Tong Y, Wei QP, Cai WS, Yang L, West CE, Guan MX. Extremely Low Penetrance of Leber's Hereditary Optic Neuropathy in 8 Han Chinese Families Carrying the ND4 G11778A Mutation. *Ophthalmology*, 2009, 116(3): 558-564. [\[DOI\]](#)
- [18] Zhou XT, Wei QP, Yang L, Tong Y, Zhao FX, Lu CJ, Qian YP, Sun YG, Lu F, Qu J, Guan MX. Leber's hereditary optic neuropathy is associated with the mitochondrial ND4 G11696A mutation in five Chinese families. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340(1): 69-75. [\[DOI\]](#)