

· 综述 ·

母系遗传性糖尿病伴耳聋发病机制及诊治

王超群 陆斌 许忆峰 郭庆军 郑骄阳

【摘要】 母系遗传性糖尿病伴耳聋(MIDD)是一种线粒体疾病,在糖尿病患者中约占 1%。其中 tRNA^{Leu(UUR)} A3243G 突变引起胰岛 β 细胞胰岛素分泌功能障碍是其致糖尿病的主要原因,但具体机制仍不明确。近年 EndoC- β H1 细胞系的建立为研究其机制提供了途径。尿道上皮细胞与线粒体疾病表型相关性最好,尿液可作为临床诊断和检测线粒体 DNA 异质性首选的样本,而 MIDD 的治疗仍以抗氧化剂和预防糖尿病并发症为主。A3243G 突变的临床表型和 MIDD 突变的组织异质性仍是研究的热点,其研究对 MIDD 的诊断和治疗具有重要的指导意义。

【关键词】 母系遗传性糖尿病伴耳聋;线粒体疾病;异质性

Pathogenesis, diagnosis and treatment of maternally inherited diabetes mellitus with deafness Wang Chaoqun*, Lu Bin, Xu Yifeng, Guo Qingjun, Zheng Jiaoyang. * Department of Endocrinology, Shanghai Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
Corresponding author: Zheng Jiaoyang, Email: zhengjiaoyang@hotmail.com

【Abstract】 Maternally inherited diabetes mellitus with deafness (MIDD) is a mitochondrial disorder, accounting for 1% of patients with diabetes mellitus. Insulin secretion dysfunction of β cell caused by tRNA^{Leu(UUR)} A3243G mutation may be the main reason of mutation induced diabetes, but the mechanism is not clear. The establishment of EndoC- β H1 cell line provides a way for the study of its mechanism. Heteroplasmy in urinary epithelial cells had the strongest correlation with the phenotype of mitochondrial disease and was considered as the preferred sample to genetic diagnosis and test the heteroplasmy mtDNA. The treatment of MIDD is still focusing on the antioxidant and prevention of diabetic complications. The various clinical phenotypes of A3243G mutations and the heterogeneity of MIDD mutations are still the focus of research, which is of great significance to guide the diagnosis and treatment of MIDD.

【Key words】 Maternally inherited diabetes mellitus with deafness; Mitochondrial diseases; Heterogeneity

母系遗传性糖尿病伴耳聋(MIDD)是由线粒体 DNA(mtDNA)突变引起的疾病,并由 van den Ouweland 等^[1]首次在 1992 年报道。他们发现一个表现为母系遗传的非胰岛素依赖型糖尿病(NIDDM)合并感音神经性听力障碍的家系,其线粒体基因 tRNA^{Leu(UUR)} 的一个保守位置存在 3243 位核苷酸从 A 突变成 G(A3243G)。此后,越来越多的证据表明,线粒体 DNA 点突变是 MIDD 的主要发病因素,其中还包括在 8281 位和 568 位的 mtDNA 突变。但与 A3243G 突变的比例相比,这些新的突变非常少见。超过 75% 的 A3243G 突变的糖尿病患者伴有神经性耳聋,或其他合并症包括:中枢神经和精神特征,眼科疾病、肌病、心脏疾病、

肾脏疾病、内分泌疾病、胃肠道疾病等^[2]。

1 MIDD 的发病机制

目前为止,已经发现引发糖尿病的 mtDNA 突变位点有 40 多个,85% 的 MIDD 患者能检测到 mtDNA A3243G 的突变^[3]。除了 A3243G 突变,还有其他突变位点与 MIDD 相关。Mezghani 等^[4]报道,在一对 MIDD 异卵双胞胎中,在骨骼肌细胞和白细胞中检测到了新的突变位点:NADH 脱氢酶 1(ND1) T3308C 和 12S rRNA A1555G 突变。其他导致 MIDD 的点突变还包括 mtDNA 突变如 mtDNA G9267C、mtDNA T14530C、mtDNA T14709C、mtDNA G3421A 等^[5-8]。除了点突变,Janssen 等^[9]发现了某些 MIDD 患者中 mtDNA nt568 和 nt8281 长度的改变。

MIDD 的主要特点是胰岛素分泌缺陷而非胰岛素抵抗^[10]。胰岛 β 细胞线粒体 A3243G 突变是引起 MIDD 的主要原因,但其机制仍不明确。胰岛 β 细胞分泌胰岛素受血糖水平的调节。因为 β 细胞内乳

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2017.06.013

作者单位:200433 上海,第二军医大学长海医院内分泌科(王超群,许忆峰,郭庆军);200433 上海,第二军医大学药学院生化药理学教研室(陆斌);200003 上海,第二军医大学长征医院内分泌科(郑骄阳)

通信作者:郑骄阳,Email:zhengjiaoyang@hotmail.com

酸脱氢酶水平很低,几乎所有被摄取的葡萄糖最终进入线粒体并产生 ATP,因此,胰岛细胞内的 ATP/ADP 比值能很好地反映外周血糖的浓度^[11]。胰岛 β 细胞利用葡萄糖产生 ATP 本身不依赖胰岛素。ATP 的产生和 ATP/ADP 比值升高可以导致细胞膜 K^+ 通道关闭,而膜去极化使电压依赖性钙通道开放,钙离子内流致细胞内钙浓度升高,触发胰岛素释放。Silva 等^[12] 通过特异性干扰小鼠胰岛 β 细胞中核基因编码线粒体转录因子 A (mtTFA) 成功构建了 MIDD 模型,并从 7~9 周龄突变小鼠分离出的胰岛细胞中,发现线粒体膜电位超极化降低, Ca^{2+} 通路受损,血糖刺激后胰岛素释放较正常减少。于是提出:由于 mtDNA 突变编码出有缺陷的电子传递链复合物,氧化呼吸链受损,从而导致 ATP 不足和活性氧簇增加。活性氧簇可直接参与糖尿病的病理生理机制,而 ATP 不足可影响 ATP 敏感性钾通道的关闭,从而影响细胞膜的去极化和 Ca^{2+} 内流,最终使得囊泡不能正常释放胰岛素^[13]。

de Andrade 等^[14] 利用胞质杂合技术将去除 mtDNA 的人骨肉瘤 143B 细胞系与 A3243G 突变的 MIDD 患者的去核皮肤成纤维细胞融合构建得到不同突变程度的 mtDNA 胞质杂合细胞,证实 A3243 点突变确实能明显降低细胞线粒体的葡萄糖有氧化功能,进而降低葡萄糖刺激的胰岛素分泌。但是,由于当时还没有构建好的胰岛 β 细胞系而使用的是人骨肉瘤 143B 细胞,而胰岛 β 细胞的乳酸脱氢酶水平较骨肉瘤细胞低,其细胞内糖代谢并不完全相同,因此得到的结论有所争议。第 1 例人类胰岛 β 细胞系由 Ravassard 等^[15] 于 2011 年报道。他们将带有胰岛素启动子 SV40LT 基因的慢病毒载体转染到人胚胎胰腺前体细胞,由此产生的 β 细胞再导入人端粒酶逆转录酶 (hTERT),并移植到重症联合免疫缺陷小鼠从而产生细胞系。其中 EndoC- β H1 细胞系能表达很多 β 细胞的标志物,并且能够在糖或者其他促分泌剂刺激下释放胰岛素。这个新兴的细胞系能够处理成 mtDNA 突变的胰岛 β 细胞系,可用来研究 A3243G mtDNA 突变如何影响胰岛素分泌机制。

2 MIDD 的异质性

2013 年英国医学研究理事会 (MRC) 的一项研究中,来自于 83 个不同家系共 129 例伴有 A3243G 突变的患者,其中 30% 表现为 MIDD, 10% 表现为线粒体脑病伴乳酸酸中毒及卒中样发作综合征 (MELAS), 6% 表现为 MELAS 合并 MIDD, 5% 表现为 MIDD 合并慢性进行性眼外肌瘫痪 (CPEO), 2% 表现为 MELAS 合并 CPEO, 还有 28% 的患者虽然有多种临床症状但又不能诊断为以上任何一个综合征,另

外 9% A3243G 突变者无临床症状^[16]。mtDNA A3243G 突变引起的患者异质性的机制尚不清楚。一种解释是,不同的组织和细胞类型对 mtDNA 突变的反应不同,有些可以代偿其突变引起的损害,而有些不能。另一种可能是,在不同类型的细胞,突变的 mtDNA 的异质性程度不同。细胞中线粒体 DNA 突变越多,相关组织的疾病就越严重;同一个体不同组织中的线粒体 DNA 异质性差异很大,甚至在同一组织不同细胞间也有差异^[17]。而关于组织异质性水平差异性的确切分子机制还有待研究,最近 Jokinen 等^[18] 发现, GTP 酶 IMAF 家族成员 3 (Gimap3) 能通过其 C 端跨膜结构域锚定到线粒体外膜,调节组织特异性线粒体 DNA 的分离。

3 MIDD 的基因诊断

研究报道, MIDD 约占糖尿病的 0.5%~2.8%^[2]。由于 MIDD 及其并发症的临床处理不同于其他糖尿病,所以确诊 MIDD 很有意义。当有糖尿病家族史并伴有耳聋或视网膜色素变性应高度考虑 MIDD 的可能。微血管并发症如视网膜和肾脏表现与糖尿病病程不符时,需要与糖尿病并发症相鉴别,并应考虑 MIDD 的可能。对于 MIDD 患者的女性亲属,均应考虑检查是否有 mtDNA 突变并长期随访。

由于 MIDD 患者的临床表现各不相同,基因诊断是诊断和预测 MIDD 患者的重要标准。尽管检测直接参与线粒体疾病的靶组织 (听觉细胞、肌肉、肾脏、胰岛 β 细胞、视网膜色素上皮细胞等) 的异质性水平更合适和准确,但通常选择容易获取的组织包括血液、尿液和毛囊等进行诊断^[19]。异质性突变的突变负荷在不同组织和细胞的分布不同,也就是说线粒体疾病患者不同组织和细胞内突变型 mtDNA 的比例不尽相同,突变负荷较高的组织更易发病。其中血白细胞与其他组织相比,异质性水平最低,且其异质性与疾病表型的相关性还不明确^[20]。有研究认为,尿液上皮细胞与线粒体疾病表型相关性最好,尿液可作为检测 mtDNA 异质性首选的样本^[21]。而毛囊检测也是一种无创、可代替血液白细胞检测的方法,其检测突变型 mtDNA 的灵敏度远高于血液白细胞^[22]。

除了选择突变型 mtDNA 含量较高的组织,检测技术的改进也可以提高诊断的灵敏度和准确性。检测 A3243G 最常用的方法是限制性片段长度多态性-聚合酶链反应技术,但限制性片段长度多态性检测不到突变负荷低于 5% 血白细胞样本,而实时定量 PCR 和连接介导 PCR 方法能使可检测的异质性水平分别达到 0.1% 和 0.01%^[23]。

4 MIDD 的治疗

目前对 MIDD 的治疗研究相对滞后,且大多数的

研究都是单中心试验。药物主要是基于去除有毒代谢产物的活性氧清除剂和其他对症治疗药物。MIDD 患者的异质性使基因治疗很难实施,仍处于试验阶段,但作为治疗本病的根本措施,将来有望能应用于临床治疗。

4.1 抗氧化剂 辅酶 Q10 是线粒体呼吸链的一种电子载体,它作为抗氧化剂可保护线粒体膜蛋白和血清低密度脂蛋白的过氧化损伤。Liou 等^[24]长期用辅酶 Q10 治疗 MELAS 患者,发现辅酶 Q10 可促进胰岛素分泌,延缓听力损失,改善肌病症状和充血性心力衰竭等并发症。其他辅因子包括肉毒碱和维生素 B、C、K 在一些线粒体疾病中也能改善 ATP 合成能力^[25]。

4.2 糖尿病和其他并发症的治疗 磺脲类药物可用于胰岛功能尚可的患者,但大多数情况下,由于大多数 MIDD 患者胰岛 β 细胞胰岛素分泌缺陷,通常诊断为糖尿病平均 2 年后需要接受胰岛素治疗^[10]。由于双胍类药物增加 MIDD 患者乳酸酸中毒的风险,故此这类患者应避免使用。另外,慎用其他对线粒体功能有害的药物,包括抗生素如四环素和氯霉素;抗癫痫药如苯妥英钠、丙戊酸钠、抗逆转录病毒药物等。

对于合并听力损失的患者,如果神经通路和功能完整,均可考虑人工耳蜗植入术^[26]。早期使用血管紧张素转换酶抑制剂,严格控制血压对于 MIDD 患者有助于预防肾脏并发症,并且鼓励使用肾组织活检以排除局灶节段性肾小球硬化^[27]。定期随访、监测心脏自主神经病变和左心室肥厚的发生,建议 35 岁以上患者行心电图和超声心动图检查^[28]。

MIDD 是一个多系统线粒体疾病综合征,需要多学科专家协同合作,正确诊断并提供最佳的临床治疗。既往由于缺乏人类胰岛 β 细胞系及 mtDNA 基因工程的难度,A3243G 突变如何影响胰岛 β 细胞胰岛素分泌的机制仍然不清楚。而新建立的人胰岛 β 细胞系 EndoC- β H1 为此提供了途径。mtDNA 突变在不同组织中的异质性也是一个难题,这些都需要未来进行更多的研究。

参 考 文 献

[1] van den Ouweland JM, Lemkes HH, Ruitenbeek W, et al. Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness [J]. Nat Genet, 1992, 1(5): 368-371. DOI: 10.1038/ng0892-368.

[2] Cardenas-Robledo S, Saber Tehrani A, Blume G, et al. Visual, ocular motor, and cochleo-vestibular loss in patients with heteroplasmic, maternally-inherited diabetes mellitus and deafness (MIDD), 3243 transfer RNA mutation [J]. J Neuroophthalmol, 2016,

36(2):134-140. DOI:10.1097/WNO.0000000000000340.

[3] Naing A, Kenchaiah M, Krishnan B, et al. Maternally inherited diabetes and deafness (MIDD): diagnosis and management [J]. J Diabetes Complications, 2014, 28(4): 542-546. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2014.03.006.

[4] Mezghani N, Mnif M, Mkaouer-Rebai E, et al. A maternally inherited diabetes and deafness patient with the 12S rRNA m. 1555A > G and the ND1 m. 3308T > C mutations associated with multiple mitochondrial deletions [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 431(4): 670-674. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.01.063.

[5] Tabei M, Mkaouer-Rebai E, Mnif M, et al. A novel mutation MT-COIII m.9267G > C and MT-COI m.5913G > A mutation in mitochondrial genes in a Tunisian family with maternally inherited diabetes and deafness (MIDD) associated with severe nephropathy [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 459(3): 353-360. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.01.151.

[6] Bannwarth S, Abbassi M, Valéro R, et al. A novel unstable mutation in mitochondrial DNA responsible for maternally inherited diabetes and deafness [J]. Diabetes Care, 2011, 34(12): 2591-2593. DOI: 10.2337/dc11-1012.

[7] Perucca-Lostanlen D, Taylor RW, Narbonne H, et al. Molecular and functional effects of the T14709C point mutation in the mitochondrial DNA of a patient with maternally inherited diabetes and deafness [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1588(3): 210-216.

[8] Chen FL, Liu Y, Song XY, et al. A novel mitochondrial DNA missense mutation at G3421A in a family with maternally inherited diabetes and deafness [J]. Mutat Res, 2006, 602(1-2): 26-33. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2006.07.006.

[9] Janssen GM, Neu A, 'T Hart LM, et al. Novel mitochondrial DNA length variants and genetic instability in a family with diabetes and deafness [J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2006, 114(4): 168-174. DOI: 10.1055/s-2006-924066.

[10] Maassen JA, 'T Hart LM, Van Essen E, et al. Mitochondrial diabetes: molecular mechanisms and clinical presentation [J]. Diabetes, 2004, 53(Suppl 1): S103-S109.

[11] Schuit F, Flamez D, De Vos A, et al. Glucose-regulated gene expression maintaining the glucose-responsive state of beta-cells [J]. Diabetes, 2002, 51(Suppl 3): S326-S332.

[12] Silva JP, Köhler M, Graff C, et al. Impaired insulin secretion and beta-cell loss in tissue-specific knockout mice with mitochondrial diabetes [J]. Nat Genet, 2000, 26(3): 336-340. DOI: 10.1038/81649.

[13] Dongre UJ, Meshram VG. Is mitochondrial DNA responsible for maternally inherited type 2 diabetes mellitus-A hypothetical review [J]. Int J Pharm Sci Rev Res, 2014, 28(1): 179-187.

[14] de Andrade PB, Rubi B, Frigerio F, et al. Diabetes-associated mitochondrial DNA mutation A3243G impairs cellular metabolic pathways necessary for beta cell function [J]. Diabetologia, 2006, 49(8): 1816-1826. DOI: 10.1007/s00125-006-0301-9.

[15] Ravassard P, Hazhouz Y, Pechberty S, et al. A genetically engineered human pancreatic β cell line exhibiting glucose-inducible insulin secretion [J]. J Clin Invest, 2011, 121(9): 3589-3597. DOI: 10.1172/JCI58447.

- [19] 余家会, 何霞, 张蓓, 等. 新疆地区维吾尔族和汉族人群 ABCG2 基因 rs2231142 位点多态性与高尿酸血症的相关性[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(2):142-146. DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2015.02.16.
- [20] Kim YS, Kim Y, Park G, et al. Genetic analysis of ABCG2 and SLC2A9 gene polymorphisms in gouty arthritis in a Korean population[J]. Korean J Intern Med, 2015, 30(6):913-920. DOI: 10.3904/kjim.2015.30.6.913.
- [21] Dong Z, Guo S, Yang Y, et al. Association between ABCG2 Q141K polymorphism and gout risk affected by ethnicity and gender: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Rheum Dis, 2015, 18(4):382-391. DOI:10.1111/1756-185X.12519.
- [22] Huffman JE, Albrecht E, Teumer A, et al. Modulation of genetic associations with serum urate levels by body-mass-index in humans[J]. PLoS One, 2015, 10(3):e0119752. DOI:10.1371/journal.pone.0119752.
- [23] Matsuo H, Ichida K, Takada T, et al. Common dysfunctional variants in ABCG2 are a major cause of early-onset gout[J]. Sci Rep, 2013, 3:2014. DOI: 10.1038/srep02014.
- [24] Stiburkova B, Miyata H, Závada J, et al. Novel dysfunctional variant in ABCG2 as a cause of severe tophaceous gout: biochemical, molecular genetics and functional analysis[J]. Rheumatology (Oxford), 2016, 55(1):191-194. DOI:10.1093/rheumatology/kev350.
- [25] Li R, Miao L, Qin L, et al. A meta-analysis of the associations between the Q141K and Q126X ABCG2 gene variants and gout risk[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(9):9812-9823.
- [26] Burke BT, Köttgen A, Law A, et al. Gout in older adults: the atherosclerosis risk in communities study[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2016, 71(4):536-542. DOI: 10.1093/gerona/glv120.
- [27] He W, Phipps-Green A, Stamp LK, et al. Population-specific association between ABCG2 variants and tophaceous disease in people with gout[J]. Arthritis Res Ther, 2017, 19(1):43. DOI: 10.1186/s13075-017-1254-8.
- [28] Roberts RL, Wallace MC, Phipps-Green AJ, et al. ABCG2 loss-of-function polymorphism predicts poor response to allopurinol in patients with gout[J]. Pharmacogenomics J, 2017, 17(2):201-203. DOI:10.1038/tpj.2015.101.
- [29] 李静. 复方土茯苓颗粒治疗痛风患者高尿酸血症疗效及基于 ABCG2 降尿酸机制研究[D]. 广州中医药大学, 2016.
- [30] 卢芳, 周琦, 张颖, 等. 基于痛风性关节炎 ABCG2 尿酸转运靶点的穿山龙调控机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(5):1057-1061. DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2016.05.010.
- [31] 施琬, 李钟, 顾祖莲, 等. 虎杖-桂枝药对配伍对大鼠慢性高尿酸血症和肾、肠尿酸转运体表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(2):107-112. DOI:10.13422/j.cnki.syfx.2016020107.

(收稿日期:2017-04-23)

(上接第 410 页)

- [16] Nesbitt V, Pitceathly RD, Turnbull DM, et al. The UK MRC mitochondrial disease patient cohort study: clinical phenotypes associated with the m.3243A > G mutation--implications for diagnosis and management[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2013, 84(8):936-938. DOI:10.1136/jnnp-2012-303528.
- [17] Chinnery PF, Hudson G. Mitochondrial genetics[J]. Br Med Bull, 2013, 106:135-159. DOI:10.1093/bmb/ldt017.
- [18] Jokinen R, Marttinen P, Sandell HK, et al. Gimap3 regulates tissue-specific mitochondrial DNA segregation[J]. PLoS Genet, 2010, 6(10):e1001161. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001161.
- [19] Shanske S, Pancrudo J, Kaufmann P, et al. Varying loads of the mitochondrial DNA A3243G mutation in different tissues: implications for diagnosis[J]. Am J Med Genet A, 2004, 130A(2):134-137. DOI:10.1002/ajmg.a.30220.
- [20] Laloi-Michelin M, Meas T, Ambonville C, et al. The clinical variability of maternally inherited diabetes and deafness is associated with the degree of heteroplasmy in blood leukocytes[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2009, 94(8):3025-3030. DOI:10.1210/jc.2008-2680.
- [21] de Laat P, Koene S, van den Heuvel LP, et al. Clinical features and heteroplasmy in blood, urine and saliva in 34 Dutch families carrying the m.3243A > G mutation[J]. J Inher Metab Dis, 2012, 35(6):1059-1069. DOI:10.1007/s10545-012-9465-2.
- [22] Sue CM, Quigley A, Katsabanis S, et al. Detection of MELAS A3243G point mutation in muscle, blood and hair follicles[J]. J Neurol Sci, 1998, 161(1):36-39.
- [23] Singh R, Ellard S, Hattersley A, et al. Rapid and sensitive real-time polymerase chain reaction method for detection and quantification of 3243A > G mitochondrial point mutation[J]. J Mol Diagn, 2006, 8(2):225-230. DOI:10.2353/jmolx.2006.050067.
- [24] Liou CW, Huang CC, Lin TK, et al. Correction of pancreatic beta-cell dysfunction with coenzyme Q(10) in a patient with mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes syndrome and diabetes mellitus[J]. Eur Neurol, 2000, 43(1):54-55. DOI:8130.
- [25] Dongre UJ, Meshram VG. Evaluation of glutathione dependant antioxidant enzymes in maternally inherited type 2 diabetes mellitus[J]. J Pharm Sci Res, 2015, 7(3):137-140.
- [26] Sinnathuray AR, Raut V, Awa A, et al. A review of cochlear implantation in mitochondrial sensorineural hearing loss[J]. Otol Neurotol, 2003, 24(3):418-426.
- [27] Guéry B, Choukroun G, Noël LH, et al. The spectrum of systemic involvement in adults presenting with renal lesion and mitochondrial tRNA(Leu) gene mutation[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(8):2099-2108.
- [28] Silveiro SP, Canani LH, Maia AL, et al. Myocardial dysfunction in maternally inherited diabetes and deafness[J]. Diabetes Care, 2003, 26(4):1323-1324.

(收稿日期:2017-02-09)