维普资讯 http://www.cqvip.com

染色体上的脆性部位及其表达

生物教研室 魏若璋综述 邹增淳审校

脆性部位(Fragile Site)是染色体上的特异部位，于一定培养条件下，在染色体上表现出非随机的间隙或断裂的位点。它是可遗传的细胞学标志。近年来，人们对脆性部位的研究兴趣极大，本文拟围绕着脆性部位的表达及产生的机理等问题进行简要的综述和讨论。

脆性部位的分类

第八届国际基因定位会议，已确定的脆性部位有89个，可分为罕见型（遗传型）和常见型（结构型）两大类[1]。

一 罕见型脆性部位(r-fra)

在人类基因组中有18个r-fra，其中17个在常染色体上，一个在X染色体上，r-fra的发生率在人群中差别很大，可从几千分之一到四十分之一，但在一定培养条件下，表达频率可超过20%，且均为杂合子形式表达，根据诱发的条件，又可分为三个亚型。

(一) 叶酸敏感型脆性部位 这类脆性部位在培养基中缺乏叶酸时，因缺乏胸苷合成酶的辅助因子，使UMP转变为TMP降低，DNA合成的前体物质减少，从而促进脆性位点的表达[2]。因此，这类脆性部位可通过降低培养基中叶酸和胸腺嘧啶的浓度来诱发，亦可通过叶酸代谢的抑制剂氨甲蝶呤(MTX)或5-氟脱氧尿苷(FdU)来诱发，因为MTX能抑制叶酸代谢中二氢叶酸还原酶的活性，使脱氧胸苷酸(dTMP)降低，DNA合成的前体物质减少，从而提高脆性部位表达的频率，FdU是一种将dUMP(脱氧尿苷酸)转化为dTMP(脱氧胸苷酸)的胸腺嘧啶核苷合成酶的拮抗剂，故可用于阻断DNA的合成，有利于脆性部位的表达，还可以通过高浓度的胸腺嘧啶来诱发。

属于这类脆性部位的有2q11，2q13，6p23，7p11，8q22，9p21，9q32，10q23，11q13，11q23，12q13，16p12，20p11，22p13，Xp27，等15个[3]。

(二) 远霉素A诱发的脆性部位 这类脆性部位在外周血淋巴细胞培养时可自发产生，但常常也需要经过诱导才能表达，远霉素A是一种寡肽抗生素，它特异性地结合到DNA分子上富有A、T的区域，使染色体在此区产生不同的凝聚抑制，但这并不意味着脆性，Y染色体和16号染色体上均有一个A、T极丰富的区段，远霉素A对它们也表现出不凝聚，但没有脆性[4]，因此远霉素A诱发脆性部位表达的机制，目前还不清楚。

属于这类脆性部位的有16q22，17p12，等[5]，这些部位除了用远霉素A诱发外，还可用纺锤霉素，Hoechst 33258等诱导剂来诱导。

(三) 需BrdU的脆性部位 一般认为r-fra的10q25需要BrdU或BrdC来诱发[6]，在澳大利亚群体内r-fra(1/40)中最常见的部位是10q25。

二 常见脆性部位(c-fra)

现在已确定c-fra有71个，在不同的染色体上表达的频率不同，其中以3p14.7q22，16q23.3，Xq22.31位置上表达的频率最

维普资讯 http://www.cqvip.com

高[7]，可达2—9%，c-fra 可能都是纯合子形式表达，根据其诱发的条件亦可分为三个亚型。

(一) Aphidicolin 诱发的脆性部位 在诱发叶酸敏感型脆性部位的条件下，这类脆性部位也能表达，但表达水平较低。如果培养基中加入Aphidicolin可使表达频率增加，因为Aphidicolin是DNA聚合酶Ⅰ的抑制剂[8]，阻止DNA复制叉的进行，干挠相邻的DNA片段之间的连接，同时还能抑制另一种涉及DNA合成的胸苷合成酶的活性，直接引起脆性的表达。

属于这类脆性部位的较多，如1p31，2q32，3p14，6q26，7q32，14q24，16q23，Xq22，.38等等。

(二) 5-氮胞苷(5-AZA)诱发的脆性部位 5-AZA是类似胞苷的化合物[9]，掺入DNA分子中影响DNA的复制，从而有利于脆性的表达，如1q42，19q13，等。但值得注意的是5-AZA也可诱发1，7，9，16和Y染色体上产生C带异染色质非异固缩，此种情况应和脆性部位区别开。

(三) BrdU诱发的脆性部位 BrdU是胸腺嘧啶的类似物，掺入到DNA分子中的胸腺嘧啶位置，DNA复制时此区易导致断裂。

属于这类脆性部位的有6q23，9p21，10q25等。

脆性部位的表达

脆性部位可表达于体外培养的淋巴细胞中，也可表达于体外培养的成纤维细胞中，所以，它可能是存在于生殖细胞中的一种遗传特征。因此，对脆性部位表达来说，任何一个个体都是一种嵌合体[10]，即在一部份细胞中表达出脆性部位，另一部份细胞中则不表达。不同类型的脆性部位的表达，除了针对性的选择适合的培养基外，还要减少小牛血清的用量，适当增加培养时间，提高培养基中的pH值，降低秋水仙素的浓度和缩短处理时间等措施，以促进其表达。现介绍几种常用的方法如下：

方法1 采用不含或少含叶酸或胸腺嘧啶的培养基如MEM-FA，TC199或改良的F10等，但常用的是TC199培养基，加2-5%的小牛血清，内含青霉素100IU/ml、链霉素100IU/ml、PHA2mg/5ml，调*PH*7.4—7.5，取经肝素处理的外周血0.5ml，注入5ml上述培养基中，在37℃下培养96h。终止培养前2—3h加秋水仙素(0.1μg/ml)，常规气干法制片，Giemsa染色，每例至少观察100个中期分裂相，计算畸变率，将每个断裂点，裂隙摄影后退油，退色，按常规方法作G带，根据带型断裂点定位。用上述方法r-fra和某些c-fra都有较高的表达频率。唐泽忠[11]用此法对10例急性白血病患者和10例正常对照者外周血染色体脆性部位的检测，病人组检查出脆性1q44．2q11，2q23，3p14，6q26，8q22，8q24，9q13，10q25，11q13，12q12，13q34，14q24，14q31，16p12等15个。而正常对照者未发现脆性染色体。胡楠[12]检测70例肿瘤患者外周血染色体，检查出脆性2q23，3p14，4q31，……10个，刘永锡[13]等检测30例肺癌患者外周血染色体，发现脆性3p14，6p26，8q22，……9个。其中66.6%的患者携带有脆性3P14染色体，由此可见，用此种培养方法研究肿瘤患者的染色体脆性部位有一定的参考价值。

方法2 外周血淋巴细胞培养在含5%小牛血清的TC199培养基中，在细胞收获前24h加FdU(最终浓度0.3um)或MTX(最终浓度10μg/ml)，Barbi[14]用此方法检测了13例Martin-Bell综合征外周血淋巴细胞，发现脆性3p14，7p13，7q31.1，7q32，9q32，11p13，14q23，15q22，16q23，Xq22.2，Xq27等11个，频率最高为3p14 (5.9%)。他又将各患者培养的淋巴细胞分别用FdU和MTX来诱导，没有发现有规律的改变。

维普资讯 http://www.cqvip.com

就脆性3p14为例，某些患者用FdU诱导出现的频率高于MTX诱导出现的频率，但在另一些患者则相反，这就说明叶酸敏感性是个体染色体的遗传特征。Matter[15]测定淋巴细胞中脆性Xq28表达的最有利的条件，他研究5例Xq28的携带者外周血在不同条件下Xq28的表达情况，他采用磷酸缓冲液配制的含20%人血清的TC199培养基，培养分三种情况：(1)培养72h；(2)培养96h；(3)培养96h并在收获前24h加MTX(最终浓度10μg/ml)。结果：(1)断裂频率为12.8%，(2)断裂频率增加到20.8%，(3)断裂频率增加到25.2%。这表明加入MTX和延长培养时间结合起来对脆性Xq28的表达特别有利。

方法3　外周血淋巴细胞培养于含5%小牛血清的MEM-FA，或RPMI1640的培养基中，培养96h，细胞收获前5—8h加入5-AZA（最终浓度5μg/ml），可诱发脆性部位1q42，19q13。或在收获前4—6h加入BrdU(最终浓度50μg/ml)，可诱发6q23，9p21，10q26等[16]，值得注意的是5-AZA和BrdU加入的时间和浓度不同，表达的频率也不相同。Sutherland[17]随机检查30例新生儿脐带血，收获前7h加入5-AZA，最终浓度5μg/ml，脆性19q13出现的频率是2—22%，如果收获前24h加入，脆性19q13则不出现，如果收获前7h加入浓度只有1μg/ml，脆性19q13仅表达0—4%。

方法4　外周血淋巴细胞培养在含5%小牛血清的Eagle's或TC199培养基中，培养96h，收获前26h加入0.2μm Aphidicolin和0.02—0.1%乙醇，二者协同作用可提高c-fra的表达。Kuwano[18]用此方法检测两位健康妇女的外周血染色体，发现脆性1p31，2q32，3p14，6q22，8q22……35个，其中一个细胞中的染色体上出现22处断裂或裂隙，比单用Aphidicolin诱导出现的频率显著增高。

脆性部位表达的异质性

诱发脆性部位的表达或促使其表达频率升高的条件往往是多种多样的，例如，一般认为脆性10q25，是BrdU敏感型的，需要在培养基中加入BrdU或BrdC才能表达。Taylor[19]对一例小脑运动失调的患者外周血淋巴细胞，用不含BrdU的F10培养基，脆性10q25自发表达的频率为7%，如果在F10培养中加入BrdU后，脆性10q25增加至35%。但Pett[20]对一对因三次流产的比利时夫妇作染色体检查，发现男性15%的中期分裂相具有脆性10q25的自发表达，对其家属进行追踪，发现其母亲也有脆性10q25的表达。他用F10，F10+BrdU和TC199三种培养基对患者及其母亲作对比实验，结果发现脆性10q25的表达并不为BrdU所增高。Morgan[21]发现一例急性白血病患者的正常细胞，恶性细胞及骨髓细胞均有脆性10q25的自发表达，Taylor[18]认为脆性10q25的自发表达与疾病状态无关，可能由于在脆性10q25的区域中具有某种变异，导致在不同条件下的表达。又如脆性16q22诱发表达的因素很多，BrdU，远霉素A，Hoechst 33258，纺锤霉素和干扰素等均可诱发表达。由此可见，脆性部位的表达具有异质性，这是一个值得注意的问题，其意义在于某些肿瘤发生的脆性部位，究竟是肿瘤发生的原因，还是肿瘤发生的结果，为什么同一种肿瘤会出现几种不同的脆性部位？脆性3p14为什么在许多疾病中均能见到？关于这些问题有待进一步探讨。

脆性部位表达的机理

染色体脆性部位表达的机理还不十分清楚，近年来随着分子生物学研究的不断深

维普资讯 http://www.cqvip.com

入，许多学者从分子水平去探讨这一问题，从而提出一些新的观点和假说，主要的有下面几种：

1 **交替重复的多聚嘌呤/多聚嘧啶顺序扩增假说** Sutherland[22]等人发现，过高的胸腺嘧啶可诱导叶酸敏感脆性部位，但BrdU过多则没有诱导作用，并且证明DNA合成期dCTP/dTTP比例是影响脆性表达的关键因素，只有当dCTP/dTTP比例过高或过低时，染色体上脆性部位才能表达。据此，他提出脆性部位的产生可能是一段有交替重复的多聚嘌呤/多聚嘧啶结构顺序如(A GA GA G)n1(TCTCTC)n2发生扩增的结果。复制时，如果dTTP或dCTP供应不足，这种重复结构就会产生单链裂隙。但当BrdU存在时，由于它能与A或G配对，因此就不会产生单链裂隙。这种复制不完全的DNA，难以在有丝分裂期充分"包装"，脆性部位就是有丝分裂时不能被充分包装的DNA区域。

2 **富含嘧啶的DNA顺序(PRS)扩增假说** Nussbaum等[23]认为人类DNA分子中有PRS，这一顺序可能属于最初常见型叶酸敏感脆性部位，在正常条件下可正常复制，但在dTTP缺乏的S期，便可使dUMP误掺入DNA，引起DNA不完全复制或损伤。如果因某种原因引起PRS损伤部位扩增，这就造成脆性位点的最初损伤。在损伤的区域内，dUMP的误掺入会更加敏感也更难修复，从而导致染色体的脆性部位。如果此时嘧啶脱氧核苷酸被耗尽，那么校正dUMP误掺入的细胞修复能力就会受抑制，因此，在低叶酸水平或用胸苷合成酶抑制剂处理的培养条件下，脆性部位才得以诱导表达。

3 **可移动因子插入假说** Hoegerman[24]认为脆性X部位突变可能由于移动的因子插入所致，插入的位置大多在基因区及调控区之外，但也可插入到内含子上，影响内含子的剪切和外显子的连接；如果插入的可移动因子有突变，使它只能剪切而不能连接。脆性X综合征的形成，可能就是可移动的因子插入X染色体长臂远端Xq27.3区域后，只出现剪切效应而无连接效应，这就使插入位置到远端之间不能连接，造成远端基因丢失，从而表现出一系列的脆性X综合征的异常表现型。

上述几种假说尚未得到检验，除了这几种观点之外，有关DNA水平上脆性位点的情况以及导致脆性部位表达的组织培养因素与染色体上裂隙和断裂的关系，染色体脆性部位与肿瘤和其它疾病发生的关系等问题，尚不十分清楚，因此，阐明脆性表达的机理是十分重要的。

参 考 文 献

[1] Berger R, et al. Cytogenet Cell Genet 1985; 40:490—520

[2] Opitz JM, et al. Am J Med Genet 1984; 15:1

[3] Schmid M, et al. Hum Genet 1985; 71:342—350

[4] Ronne M, et al. Heredites 1982; 96:269—277

[5] Sutherland GR, et al. Am J Hum Genet 1984; 36:113—122

[6] Scheres NMJC, et al. Am J Hum Genet 1980; 32:628—629

[7] Tanarowsky E, et al. Nature 1982; 300:760

[8] Glover TW, et al. Hum Genet 1984; 67:136

[9] Jones PA, et al. Nucleic Acids Res 1985; 59, 9:2933—2947

[10] 李璞. 国外医学遗传分册 1985; 8(2): 57

[11] 唐泽忠, 等. 遗传与疾病 1986; 3(2):73

[12] 胡楠, 等. 遗传与疾病 1985; 2(3):135

[13] 刘永锡, 等. 遗传与疾病 1987; 4(1):26

[14] Barbi G, et al. Hum Genet 1984; 68:290—294

[15] Matter MG, et al. Am J Hum Genet 1981; 59:186

[16] Sutherland GR. Am J Hum Genet 1979; 31:125—135

(下转149页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

孕期心输出量和血容量增加，心率加快、阵痛、宫缩将进一步增加心脏负荷和耗氧量；再因换瓣术后，乳头肌切除造成心脏收缩功能障碍[1]，所以这类病人更易发生心力衰竭。为此有不少作者主张在分娩发作前择期剖宫产，以期消除阵痛，轻减自然分娩的体力消耗，减轻心脏负荷及耗氧量。

本文4例均用连续硬膜外麻醉，因为只要平面控制得当，镇痛完全、肌肉松弛，对呼吸和循环的干扰就小，又因麻醉后，下肢血管扩张，减少了回心血量，避免了产程中剧烈的血流动力学变化对心脏的不良影响，使这期间左心衰和肺水肿得以预防和缓解，降低了心脏病产妇的死亡率[2]。麻醉中例$_{1\sim3}$的生命体征较稳定，胎儿取出时例$_1$曾有短暂的血压下降，可能与腹压骤降、血液回流至内脏血管床有关。例$_4$行剖宫产时，由于已临产，明显的阵痛，体力耗尽，使心脏负荷已达高危状态，虽然取胎儿前麻醉与手术经过较顺利，但此后终因心衰和肺水肿加剧导致心源性休克而死亡。

二、 麻醉处理应注意以下几点：① 产妇应提前入院，积极进行术前准备，重点在改善心功能，有心衰和肺部感染者应积极给予强心利尿和抗感染等治疗；由于用机械瓣换瓣者术后需终身抗凝，术前2周应停服新抗凝片，改用潘生丁和阿斯匹林，使凝血酶原时间接近正常[3]。② 麻醉前用药应让病人镇静，消除恐慌心理，减轻产痛，但不抑制呼吸和循环。③ 加强术中监测，常规包括血压、呼吸、心率、尿量和ECG，必要时还应监测中心静脉压，严格控制输液量和速度，维持麻醉和术中血流动力学稳定，特别要预防低血压，为此在注射局麻药前应先开放静脉通道，采用小剂量分次注射局麻药，控制平面于T_8以下。麻醉后宜取左斜卧位，有心衰者下肢应低于心脏水平。根据术中病情变化采取必要的预防和治疗措施。④ 常规鼻管或面罩吸氧。避免使用呼吸抑制的药，必用辅助药时，应在胎儿取出后使用。⑤ 宫缩剂宜用小剂量催产素(10^{-4})肌注或加入500ml的液体中静滴。否则易致强直性宫缩和低血压，麦角新碱禁用，以防发生严重高血压和强直性宫缩[4]。⑥ 产后腹部应加压沙袋，以免回心血量突然变化，代偿功能不足而致休克。

最后，我们认为心脏换瓣术后妊娠行剖宫产者，只要有心功能减退的症状和体征，都应以心脏病人对待，慎重选择麻醉。小剂量硬膜外麻醉适用于这种病人的剖宫产术，但需严格控制平面，维持循环稳定，作好抢救准备。

参 考 文 献

[1] Kazama S, et al. Jpn Heart J 1986; 27(1):35～41

[2] 王淑贞，主编.实用妇产科学.第一版.人民卫生出版社 1987:290～292

[3] 李法荫，林尚清.胸心血管外科杂志 1988; 4(1):15～16

(上接167页)

[17] Sutherland GR. Hum Genet 1985; 69, 3:233—237

[18] Kuwano A, et al. Hum Genet 1987; 75:75—78

[19] Taylor AMR, et al. Am J Hum Genet 1983; 35:123—125

[20] Pett P, et al. Am J Hum Genet 1983; 35:126—127

[21] Morgan R, et al. Am J Med Genet 1985; 21:347

[22] Sutherland GR, et al. Am J Med Genet 1985; 22:433

[23] Nussbaum RL, et al. Am J Med Genet 1984; 23:715

[24] Hoegerman SF. Am J Med Genet 1956; 23:635