

胱氨酸尿症基因型和表型研究进展*

赵振强¹ 葛玉成¹ 刘宇坤¹ 何龙芝¹ 王文莹¹

[摘要] 胱氨酸尿症是由 *SLC3A1* 和 *SLC7A9* 2 个基因突变引起的一类少见遗传病。随着现代技术的不断发展和进步,对于胱氨酸尿症的诊断和治疗也在不断革新,关于其基因型、表型以及基因型和表型的关系也有了更进一步的认识;此外,基因编辑有可能通过修补突变的碱基达到治愈疾病的目的。本文将对胱氨酸尿症的基因型、表型、基因型和表型关系以及治疗进展进行综述。

[关键词] 胱氨酸尿症;肾结石;基因型;表型;治疗

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2024.03.016

[中图分类号] R692.4 **[文献标志码]** A

Research progress on genotype and phenotype of cystinuria

ZHAO Zhenqiang GE Yucheng LIU Yukun HE Longzhi WANG Wenying

(Department of Urology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100050, China)

Corresponding author: WANG Wenying, E-mail: miniaowwy@aliyun.com

Abstract Cystinuria is an uncommon genetic disease caused by *SLC3A1* and *SLC7A9* gene mutations. With the continuous development and progress of modern technology, the diagnosis and treatment of cystinuria have been constantly innovated, and the genotype, phenotype and relationship between genotype and phenotype have been further understood. Moreover, gene editing is a possible method to cure this kind of diseases by repairing the mutated bases. In this paper, the genotypes, phenotypes, correlation between genotype and phenotype of cystinuria will be summarized and the future treatment direction will be reviewed.

Key words cystinuria; kidney stone; genotype; phenotype; treatment

胱氨酸尿症(Cystinuria)是一种少见的遗传性疾病,是由于基因突变导致近端肾小管氨基酸转运载体异常,从而引起 4 种氨基酸重吸收障碍,其中包括鸟氨酸、精氨酸、赖氨酸以及胱氨酸,由于前 3 种氨基酸在尿液中相对容易溶解,而胱氨酸易达到饱和析出浓度形成胱氨酸结石。胱氨酸尿症在全球范围内的患病率为 1:7000,在地中海东海岸地区患病率为 1:1887,在犹太人群中为 1:2500,而瑞典人群低发,仅为 1:100000^[1]。胱氨酸尿症所引起的结石占全部肾结石的 1%~2%,而在小儿结石中占比可达 6%~8%^[2]。胱氨酸尿症典型的临床表现是高复发率的胱氨酸结石,反复发生的肾结石将会导致血尿、肾绞痛、感染甚至肾功能下降并严重影响生活质量,多次碎石手术会造成肾功能损害,也将增加患者的经济负担。对胱氨酸尿症基因型及表型的研究将有助于该病的早期诊断、治疗和

预防,未来也有望成为个体化治疗方案的依据^[3]。本文拟对胱氨酸尿症的基因型、表型、基因型与表型的关系及其治疗进展作一综述。

1 胱氨酸尿症的基因型

尿液中的胱氨酸主要由肾小管刷状缘的异二聚亚氨基酸转运体吸收,该转运体由 rBAT 及 b⁰⁺AT 组成,2 个亚单位分别由 *SLC3A1* 基因和 *SLC7A9* 基因编码,2 种基因均可发生多种类型的突变,包括错义突变、无义突变、缺失突变、插入突变、重复突变、移码突变和剪接位点突变等。胱氨酸尿症的基因型与种族人群相关,不同地区、不同种族的人群突变类型也存在一定差异,所发生的突变种类占比也不尽相同,存在一定的种族差异性,例如在叙利亚儿童中,因胱氨酸尿症所致的结石占比为 21.9%,显著高于总人群平均 6%~8%的水平^[4]。目前根据其突变基因的不同,胱氨酸尿症可以分为 *SLC3A1* 突变造成的 A 型,*SLC7A9* 突变造成的 B 型,还有 2 个基因共同突变所导致的 AB、AAB、ABB 等其他类型^[5]。

*基金项目:北京市医院管理中心临床技术创新项目(No: XMLX202101)

¹首都医科大学附属北京友谊医院泌尿外科(北京,100050)
通信作者:王文莹,E-mail: miniaowwy@aliyun.com

1.1 SLC3A1 基因

SLC3A1 位于 2 号染色体短臂上 (2p16.3-21), 编码 rBAT, 正常情况下是由 685 个氨基酸组成的 4 次跨膜胱氨酸转运蛋白体重链。在英国患者中, SLC3A1 最常见的突变类型是错义突变, 等位基因频率为 45%。最常见的基因型是外显子 5~9 的重复突变, 等位基因频率为 24% (15/62), 此区域内的碱基重复不会引起阅读框的移动, 但可影响转运体的蛋白质结构, 从而影响胞内运输。其次是位于第 8 外显子的错义突变 *c. 1400T > C* (*p. Met467Thr*), 等位基因频率为 23% (14/62), 这一等位基因在总人群中的携带频率为 0.002 414 (基因携带频率数据均来自于 gnom ADv2.1.1), 在德系犹太人群中的携带率则显著高于普通人群, 为 0.005 597, 该突变失去了与残基 Gly645、Asp 628 的连接, 获得了与 Leu 597 的连接, 改变了蛋白结构^[6-7]。英国患者中还有一种较为常见的移码突变 *c. 2020dupT* (*p. Tyr674Leufs * 20*), 等位基因频率为 10% (6/62)^[6], 而在总人群中则十分罕见, 携带频率为 0.000 008 053。

在欧洲东南部, SLC3A1 最常见的突变是 *c. 647C > T* (*p. Thr216Met*), 等位基因频率 24.5%, 在总人群中的频率为 0.000 0849, 而在欧洲非芬兰人群中占 0.000 1593, 其余为 *c. 1400T > C* (*p. Met467Thr*) 和 *c. 1094G > T* (*p. Arg365Leu*), 等位基因频率分别是 16.3% 和 11.2%。这种突变的流行率很可能与吉卜赛人群相关^[8]。SLC3A1 基因在沙特人群中最常表现为隐性基因的纯合子, 这可能与高近亲结婚率相关, 导致了更多纯合子的发生, 沙特人群中最常见的基因型为 *c. 1400T > A* (*p. Met467Lys*), 见于 38% 的患者^[9], 在总人群中的携带频率为 0.000 091 58, 其主要分布在南亚, 突变频率为 0.000 555 4, 高于总人群水平。而在阿曼人群中, 同样因为高血亲关系导致胱氨酸尿症发病率高于其他人群^[10]。在中国人中, SLC3A1 最常见的突变类型为错义突变, 最常见的突变位点位于外显子 6, 7 和 8, *c. 647C > T* (*p. Thr216Met*) 和 *c. 1113C > A* (*p. Tyr371Ter*) (4/53) 是潜在的突变热点^[11], 而这 2 种突变在总人群中都较为罕见, 携带频率分别为 0.000 084 87 和 0.000 015 91, 其中 *c. 1113C > A* (*p. Tyr371Ter*) 为无义突变, 可能因为多肽链的合成提前终止而影响蛋白功能。

1.2 SLC7A9 基因

SLC7A9 位于 19 号染色体的长臂上 (19q12-13), 编码 b⁰⁺AT, 是一个由 487 个氨基酸组成的跨膜 12 次胱氨酸转运蛋白体轻链亚基。在英国患者中, SLC7A9 最常见的突变类型是错义突变。但最常见的基因型是位于外显子 6 的移码突变 *c. 614dupA* (*p. Asn206Glufs * 3*), 等位基因频

率为 24% (15/63), 该基因在总人群中的携带频率为 0.000 145 1。其次是位于外显子 6 的错义突变 *c. 671C > T* (*p. Ala224Val*), 等位基因频率为 16% (10/63), 总人群携带率为 0.000 038 89。另外 2 种错义突变 *c. 313G > A* (*p. Gly105Arg*) 以及 *c. 544G > A* (*p. Ala182Thr*), 分别造成蛋白质表达水平下降和蛋白功能异常, 等位基因频率均为 13% (8/63), 第 12 外显子的缺失占等位基因频率的 10%^[6, 12-13]。在欧洲东南部, SLC7A9 的突变基因型主要为 *c. 313G > A* (*p. Gly105Arg*), 在胱氨酸尿症中等位基因频率为 21.4%, 而在 SLC7A9 中占 70%, 此基因型在总人群中携带频率为 0.000 265 6, 而在欧洲非芬兰人群中携带频率为 0.000 543 3, 明显高于总人群^[8]。在中国人群中, 相比于 SLC3A1 的突变位点, SLC7A9 的突变位点则更为分散, 并未像 SLC3A1 突变那样集中于某些外显子, 但 *c. 1399 + 2_3insT* 可能为潜在的突变热点^[11]。

由此可见, 无论是 SLC3A1 还是 SLC7A9 基因突变, 在不同地区及不同人群中都表现出了很大的差异性, 而这种不同突变类型和热点的差异很有可能与人群所携带的基因频率不同相关, 值得注意的是婚俗习惯对遗传类疾病的基因型和突变所占比例有着很大的影响。

2 胱氨酸尿症的基因型和表型的关系

胱氨酸尿症最典型的症状为反复发生的泌尿系结石, 纯胱氨酸结石在 CT 上的表现也颇有特点, 表现为 CT 值较为均质, 且绝大多数结石平均密度小于 800 HU, CT 最大值与最小值差值较小, 而 SLC3A1 突变与 SLC7A9 突变所造成的结石 CT 值无明显差异^[14]。同时胱氨酸尿症患者群体中, 高血压的发病率也高于正常人群, 并且男性患者高血压的发病率高于女性^[15]。在阿曼人群中开展的研究认为胱氨酸尿症的发病在男女性别比例上无显著差异^[10]。但 Dello Strologo 等^[5]研究发现胱氨酸尿症男性患者比女性患者表型更为严重, 男性患者每年结石增大或需要外科处理的平均次数为 0.42, 而女性患者为 0.21, 男性患者是女性患者的 2 倍, 男性患者比女性患者更容易出现结石。

不同分型患者的临床表现存在差异, A 型中杂合子患者一般表现为正常的氨基酸排泄; 而 B 型中, 大多数的杂合子患者表现为胱氨酸排泄增加, 少数患者也可表现为正常。AB 型患者既可以表现出轻度的胱氨酸尿症, 也可表现为无症状的突变携带者, 这可能是因为部分患者携带其他未被检测出的 SLC3A1 突变或 SLC7A9 突变, 从而存在 ABB 型或 AAB 的差异^[5]。在对英国人群基因型和表型的研究发现, AA 型患者与 BB 型患者在发病年龄中位数 (AA 型 21 岁, BB 型 23 岁, $P=0.96$)、每年需处理结石次数中位数 (AA 型 0.44, BB 型 0.48,

$P=0.32$)以及对肾功能影响上(肾小球滤过率低于90%,AA型70%,BB型82%)差异无统计学意义^[6]。而在中国人人群中,SLC7A9突变的患者更倾向于发生双侧结石(SLC7A9 100%,SLC3A1 33%, $P=0.03$),患者男女比例、发病年龄及结石大小等方面差异无统计学意义^[11]。

对于SLC3A1基因,携带错义突变患者的尿胱氨酸排泄水平 $[(182.1 \pm 8.89) \text{ mmol/molCr}]$ 与携带其他类型突变(无义,移码和剪切以及外显子的缺失和重复)的患者 $[(207.2 \pm 19.23) \text{ mmol/molCr}]$ 差异无统计学意义^[16]。在欧洲人群的研究中发现 $c.647C>T(p. Thr216Met)$ 纯合突变的患者尿液中的胱氨酸浓度 $[(336.2 \pm 69.6) \text{ mmol/molCr}]$ 比其他纯合子基因突变的患者 $[(189.9 \pm 103.7) \text{ mmol/molCr}]$ 更高^[8]。在SLC7A9突变中,存在复合杂合突变的患者比携带单杂合突变的患者更早出现临床症状^[17]。胱氨酸尿症对于肾功能的影响相对较轻, Kim等^[18]研究发现,8例胱氨酸患者中有6例出现了不同程度的肾功能不全,所有患者均接受不同方案的内科药物预防治疗。在最后1次随访中有3例患者存在轻度到中度的肾功能不全。81.8%(9/11)的胱氨酸尿症患者体重指数(BMI)低于WHO所认定的标准^[11]。患儿BMI下降可能是因为长期大量的氨基酸从尿液中丢失所致。从表型上看,不同基因型所导致的患者表型也并不完全相同,但是这种差异不能完全排除饮食或环境等后天因素对疾病造成的影响,在这一方面或许还需要更加深入的研究。

3 胱氨酸尿症的治疗进展

胱氨酸尿症的传统治疗包括大量饮水,通过枸橼酸钾或碳酸氢钠碱化尿液,可以一定程度上预防结石的发生;口服硫醇类药物,可以通过二硫化物的交换作用使胱氨酸转化成溶于水的二硫化物衍生物,但其毒副作用限制了其临床应用^[19-21]。在小鼠的基因模型中,一些药物也能起到一定的作用,比如:在SLC3A1-/-小鼠模型中证实, α -硫辛酸可以通过增加胱氨酸在尿液中的溶解度从而减少结石的形成,并且这种作用是通过 α -硫辛酸的代谢产物进入尿中实现的且并不改变尿液的pH值,从而减少因pH值改变增强感染性结石的可能性^[22-23]。托伐普坦在SLC7A9-/-的小鼠模型的实验中被证实可以增加尿量并且减少胱氨酸结石的负荷量^[24]。胱氨酸的外科治疗主要包括输尿管镜碎石、经皮肾镜取石等方式,两者相比较,输尿管镜手术对于胱氨酸结石碎石效率低,且有可能导致输尿管狭窄,而经皮肾镜取石因为需要穿透肾实质有较大的出血风险^[25]。新兴的3D打印技术,可以帮助提高复杂肾结石行经皮肾镜碎石手术的效率^[26]。Takahashi等^[27]的一项研究中还预示,胱氨酸结石

患者诊断年龄小于50岁与结石事件和手术干预显著相关,与50岁之后确诊的患者相比,50岁之前确诊的患者发生再次结石事件的时间间隔更短(中位时间间隔分别是1.5年和5.0年, $P=0.02$),需要再次手术干预的时间间隔更短(中位时间间隔分别是1.5年和5.0年, $P=0.04$)。

对于基因突变所造成的遗传病,已有部分可通过基因药物得到有效的治疗。基因编辑通过导入正常基因来纠正因为基因突变所造成的代谢紊乱,从根本上治愈疾病。现有的基因编辑技术已经可以通过对小鼠的基因进行编辑从而获取Slc7a9基因缺失的小鼠模型^[28]。通过小鼠的病理模型,不仅可以了解胱氨酸尿症的发病机制,还可以直接用于研究不同药物对胱氨酸尿症的治疗效果,甚至可以作为基因编辑修复受损基因治疗本身的研究^[29-30]。但是目前肾脏基因导入疗法依然困难重重,首先对于基因表达载体的构建,过小的载体可能不足以携带目的基因,而过大的载体又会增加导入的难度,表达载体如何躲避机体的免疫机制也是一项问题^[28]。其次如何精确地将携带目的基因的载体导入也是一项难题,通常通过注射的方法确实可以使部分表达载体到达肾脏,但是因为血液经过肝脏和脾脏的作用,已有大部分表达载体被过滤,而肾脏本身的免疫作用也使得能够进入靶细胞的表达载体十分有限^[31]。如果目的基因未能按照计划导入靶细胞,而被随意地导入机体其他细胞内,那很可能造成灾难性的后果。即使前述过程都能顺利地进行,最后成功导入靶细胞的目的基因,在导入位置是否会因为新的基因插入造成新的基因突变,新基因能否正常在靶细胞表达以及是否可以通过细胞增殖遗传给下一代新生细胞都是后续研究需要解决的问题。

总之,胱氨酸尿症作为少见的基因病,致病基因SLC3A1和SLC7A9的突变基因型与人群相关,不同的人群有着不同的突变热点或潜在突变热点。同时,不同基因型的临床表型也有一定的差异性。对于胱氨酸尿症的治疗,目前最重要的方式还是预防结石形成和肾功能损害,而对于已经发生的结石,外科手术是治疗的最佳选择。基因治疗将会成为未来基因病的治疗方向,目前仍有较多的难题需要攻克,在胱氨酸尿症的治疗方面,已通过基因技术成功地制作出小鼠病例模型用于发病机制的研究和药物的研发。虽然目前尚无成功的基因治疗方案应用于胱氨酸尿症,但基因技术也极大地促进了对于胱氨酸尿症的认知,相信在不久的将来基因技术会为胱氨酸尿症患者带来曙光。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Krombach P, Wendt-Nordahl G, Knoll T. Urinary

- Tract Stone Disease[M]. London: Springer London, 2011:207-215.
- [2] Palacín M, Borsani G, Sebastio G. The molecular bases of cystinuria and lysinuric protein intolerance[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2001, 11(3):328-335.
- [3] Kovacevic L. Diagnosis and Management of Nephrolithiasis in Children[J]. *Pediatr Clin North Am*, 2022, 69(6):1149-1164.
- [4] Klib M, Ghandour M, Wannous H. Urinary stone disease in Syrian children[J]. *Pediatr Nephrol*, 2023, 38(8):2699-2709.
- [5] Dello Strologo L, Pras E, Pontesilli C, et al. Comparison between SLC3A1 and SLC7A9 cystinuria patients and carriers; a need for a new classification[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(10):2547-2553.
- [6] Rhodes HL, Yarram-Smith L, Rice SJ, et al. Clinical and genetic analysis of patients with cystinuria in the United Kingdom[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2015, 10(7):1235-1245.
- [7] Mahdavi M, Koulivand L, Khorrami M, et al. In silico analysis of SLC3A1 and SLC7A9 mutations in Iranian patients with Cystinuria[J]. *Mol Biol Rep*, 2018, 45(5):1165-1173.
- [8] Popovska-Jankovic K, Tasic V, Bogdanovic R, et al. Molecular characterization of cystinuria in south-eastern European countries[J]. *Urolithiasis*, 2013, 41(1):21-30.
- [9] Alghamdi M, Alhasan KA, Taha Elawad A, et al. Diversity of Phenotype and Genetic Etiology of 23 Cystinuria Saudi Patients: A Retrospective Study[J]. *Front Pediatr*, 2020, 8:569389.
- [10] Al-Marhoon MS, Bayoumi R, Al-Farsi Y, et al. Urinary stone composition in Oman; with high incidence of cystinuria[J]. *Urolithiasis*, 2015, 43(3):207-211.
- [11] Zhan R, Ge Y, Liu Y, et al. Genetic and clinical analysis of Chinese pediatric patients with cystinuria[J]. *Urolithiasis*, 2022, 51(1):20.
- [12] Lee B, Lee SY, Han DH, et al. Interpretation of SLC3A1 and SLC7A9 variants in cystinuria patients: The significance of the PM3 criterion and protein stability[J]. *Urolithiasis*, 2023, 51(1):94.
- [13] Martell HJ, Wong KA, Martin JF, et al. Associating mutations causing cystinuria with disease severity with the aim of providing precision medicine[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(Suppl 5):550.
- [14] Warren H, Poon D, Srinivasan R, et al. Non-contrast computed tomography characteristics in a large cohort of cystinuria patients[J]. *World J Urol*, 2021, 39(7):2753-2757.
- [15] Kum F, Wong K, Game D, et al. Hypertension and renal impairment in patients with cystinuria; findings from a specialist cystinuria centre[J]. *Urolithiasis*, 2019, 47(4):357-363.
- [16] Wong KA, Mein R, Wass M, et al. The genetic diversity of cystinuria in a UK population of patients[J]. *BJU Int*, 2015, 116(1):109-116.
- [17] Andreassen KH, Pedersen KV, Osther SS, et al. How should patients with cystine stone disease be evaluated and treated in the twenty-first century? [J]. *Urolithiasis*, 2016, 44(1):65-76.
- [18] Kim JH, Park E, Hyun HS, et al. Genotype and Phenotype Analysis in Pediatric Patients with Cystinuria[J]. *J Korean Med Sci*, 2017, 32(2):310-314.
- [19] Sahota A, Tischfield JA, Goldfarb DS, et al. Cystinuria; genetic aspects, mouse models, and a new approach to therapy[J]. *Urolithiasis*, 2019, 47(1):57-66.
- [20] Modersitzki F, Goldfarb DS, Goldstein RL, et al. Assessment of health-related quality of life in patients with cystinuria on tiopronin therapy[J]. *Urolithiasis*, 2020, 48(4):313-320.
- [21] Moussa M, Papatsoris AG, Abou Chakra M, et al. Update on cystine stones: current and future concepts in treatment[J]. *Intractable Rare Dis Res*, 2020, 9(2):71-78.
- [22] Thoma C. Stones: Cystinuria-supplement supports solubilization[J]. *Nat Rev Urol*, 2017, 14(6):324.
- [23] Zee T, Bose N, Zee J, et al. α -Lipoic acid treatment prevents cystine urolithiasis in a mouse model of cystinuria[J]. *Nat Med*, 2017, 23(3):288-290.
- [24] Bai Y, Tang Y, Wang J, et al. Tolvaptan treatment of cystine urolithiasis in a mouse model of cystinuria[J]. *World J Urol*, 2021, 39(1):263-269.
- [25] 张国庆, 印胡滨, 朱鑫, 等. 胱氨酸结石诊疗新进展[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2023, 38(7):557-561.
- [26] 万正华, 许丽明, 白培德, 等. 3D打印技术在复杂性肾结石经皮肾镜碎石术中的应用研究[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2021, 42(3):170-175.
- [27] Takahashi T, Somiya S, Ito K, et al. The Long-Term Follow-Up of Patients with Cystine Stones; A Single-Center Experience for 13 Years[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(7):1336.
- [28] Bai Y, Tang Y, Han P, et al. Gene therapy for cystinuria[J]. *Urolithiasis*, 2019, 47(3):309-310.
- [29] Zhang Z, Zheng R, Chen Z, et al. Differences in renal cortex transcriptional profiling of wild-type and novel type B cystinuria model rats[J]. *Urolithiasis*, 2022, 50(3):279-291.
- [30] 许悦贤, 郝宗耀. 泌尿系结石动物模型的最新进展[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2022, 37(7):559-563.
- [31] WareJoncas Z, Campbell JM, Martínez-Gálvez G, et al. Precision gene editing technology and applications in nephrology[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14(11):663-677.