

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.03.030

贵州省 1 例家族性高胆固醇血症家系基因突变筛查与评估*

赵德龙¹ 罗振华^{2,3} 郑丹¹ 周海燕⁴ 李伟^{1Δ}

(1 贵州医科大学附属第一医院心内科 贵州 贵阳 550004; 2 贵州省人民医院中心实验室 贵州 贵阳 550002;

3 贵州省人民医院肺免疫相关疾病重点实验室 贵州 贵阳 550002; 4 贵州医科大学附属第一医院临床医学研究中心 贵州 贵阳 550004)

摘要 目的:探讨贵州省 1 例家族性高胆固醇血症(FH)家系基因突变筛查与评估结果。**方法:**参照荷兰脂质诊断网络(DLCN)指南诊断标准于 2021 年 11 月-2022 年 11 月贵阳市某三甲医院选取 1 例临床诊断 FH 的患者进行研究,分析其家系系谱,采用 C8000 型全自动生化分析仪检测家系成员总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、LDL-C、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平;并采集家系临床相关数据,收集血清样本提取白细胞 DNA 进行全基因组外显子测序致病基因,筛选出 4 个 FH 相关基因[低密度脂蛋白受体(LDLR)、载脂蛋白 B(ApoB)、西布曲明 9a 型(PCSK9)、LDLR 衔接蛋白 1(LDLRAP1)]的单核苷酸多态性(SNP)位点情况,采用 Polyphen-2 和 SIFT 软件对 SNP 位点进行致病性分析;同时回顾性分析双重滤过血浆置换(DFPP)吸附治疗期间的心血管疾病发生情况及治疗前后的载脂蛋白 A(ApoA)、载脂蛋白 E(ApoE)、载脂蛋白 B(ApoB)、脂蛋白 a(LPa)、TC、TG、HDL-C、LDL-C、游离脂肪酸(FFA)水平变化情况。**结果:**该家系 I-1 成员血清 LDL-C 达 8.16 mmol/L, II-1 成员血清 LDL-C 达 7.0 mmol/L, II-2 成员血清 LDL-C 达 3.45 mmol/L,按照 DLCN 标准, I-1 评 7 分, II-1 评 6 分,均提示患 FH 可能性大,达到 FH 临床诊断标准。利用 Polyphen-2 预测,该家系 ApoB 基因中 rs676210、rs679899 分别得分 0.999、0.998,1 个新位点 c.10094A>T 得分为 0.829,均提示可能致病,SIFT 软件预测以上三个位点均有害。DFPP 治疗后患者病情稳定,至今无心绞痛严重心血管事件发生。与吸附治疗前比较,吸附治疗后 ApoA、ApoE、ApoB、LPa、TG、HDL-C、LDL-C、TC 水平较低 FFA 水平较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**ApoB 基因 SNP 位点突变很可能是该家系引起 FH 的主要原因,而 DFPP 治疗有利于调节 FH 患者血脂水平,进而降低心血管疾病的发生风险。

关键词:家族性高胆固醇血症;基因突变;筛查;评估

中图分类号:R589.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)03-557-05

Screening and Evaluation of Gene Mutations in Familial Hypercholesterolemia Pedigrees in Guizhou Province*

ZHAO De-long¹, LUO Zhen-hua^{2,3}, ZHENG Dan¹, ZHOU Hai-yan⁴, LI Wei^{1Δ}

(1 Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, 550004, China;

2 Central laboratory, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou, 550002, China;

3 Key Laboratory of Pulmonary Immunity-Related Diseases, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou, 550002, China;

4 Clinical Medicine Research Center, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou, 550004, China)

ABSTRACT Objective: To explore the results of gene mutation screening and evaluation in familial hypercholesterolemia (FH) families in Guizhou Province. **Methods:** According to the diagnostic criteria of the Dutch Lipid Diagnostic Network (DLCN) guidelines, a patient diagnosed with FH was selected from a tertiary hospital in Guiyang City from November 2021 to November 2022 for study. The pedigree was analyzed, and the total cholesterol (TC), triglyceride (TG), LDL-C, and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels of family members were detected by C8000 automatic biochemical analyzer. The clinical data and DNA of the family were collected, and the pathogenic genes were sequenced by whole genome exon sequencing. The single nucleotide polymorphism (SNP) sites of four FH-related genes [low density lipoprotein receptor (LDLR), apolipoprotein B (ApoB), sibutramine 9a (PCSK9), LDLR adaptor protein 1 (LDLRAP1)] were screened out, and the pathogenicity of SNP sites was analyzed by Polyphen-2 and SIFT software. The incidence of cardiovascular disease during dual filtration plasma exchange (DFPP) adsorption therapy and the changes in apolipoprotein A (ApoA), apolipoprotein E (ApoE), apolipoprotein B (ApoB), lipoprotein a (LPa), TC, TG, HDL-C, LDL-C, and free fatty acid (FFA) levels before and after treatment were also retrospectively analyzed. **Results:** The serum TC of I-1, II-1 and II-2 members of the family was 8.91 mmol/L, 8.12 mmol/L and 7.98 mmol/L, respectively. I-1, II-1 and II-2 met the diagnostic criteria of FH. The scores of rs676210 and rs679899 in the ApoB gene of the family were 0.998 and 0.996, respectively, and the score of c.10094 A > T was 0.795. SIFT software predicted that

* 基金项目:贵州省科学技术厅人才计划项目(黔科合平台人才 GCC(2022)040-1)

作者简介:赵德龙(1989-),男,本科,主治医师,研究方向:心血管病内科,E-mail:zhao308752@163.com

Δ 通讯作者:李伟(1971-),男,博士研究生,主任医师,研究方向:心血管病内科,E-mail:zhao308752@163.com

(收稿日期:2023-07-06 接受日期:2023-07-28)

the above three sites were harmful. The patient's condition was stable after DFPP treatment, and no serious cardiovascular events occurred. Compared with before adsorption treatment, the levels of ApoA, ApoE, ApoB, Lp(a), TG, HDL-C, LDL-C and TC after adsorption treatment were lower than those before adsorption treatment, and the levels of FFA were higher than those before adsorption treatment. The difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** Mutations in the two SNPs of the ApoB gene are likely to cause FH, and DFPP treatment is beneficial to regulate blood lipid levels in FH patients, thereby reducing the risk of cardiovascular disease.

Key words: Familial hypercholesterolemia; Gene mutation; Screening; Evaluation

Chinese Library Classification(CLC): R589.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)03-557-05

前言

家族性高胆固醇血症(Familial hypercholesterolemia, FH) 主要因低密度脂蛋白受体(Low density lipoprotein receptor, LDLR)基因突变后细胞膜表面 LDLR 缺失或结构功能异常, LDLR 无法与含有载脂蛋白 B(alipoproteina B, ApoB)和载脂蛋白 E(alipoproteina E, ApoE)的 LDL 充分结合,使得血浆胆固醇在组织内过度淤积所致^[1]。低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平升高、皮肤/腱黄色瘤是 FH 的主要临床表现,一般在儿童时期就存在 LDL-C 升高的情况,易早发动脉粥样硬化(arteriosclerotic cardiovascular disease, ASCVD),对患者生命安全存在较大威胁^[2,3]。因此早筛查、早确诊、早治疗,在改善 FH 患者预后方面具有重要意义^[4]。我国拥有较大的人口基数,潜在 FH 患者相对较多,但目前国内对于该疾病在普通人群中患病率的研究相对较少,贵州省甚至无相关数据,再加上无统一的 FH 诊断标准,其诊断主要依据临床表现及相关指标变化情况证实,无法明确其相应的遗传变异情况,因此需要与基因检测相结合^[5,6]。近几年,全基因组测序逐渐在临床辅助诊断中广泛应用,主要通过未知基因组序列的物种进行个体的基因组测序的方式,获取不同基因的变异信息,以明确疾病的主要致病基因,从而为治疗提供依据^[7,8]。基于此,本文就贵州省 FH 家系基因突变筛查与临床指标检查结果进行分析,并对相关治病基因进行生物信息学的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)功能预测,以明确该家系的致病基因,报告如下。

1 材料与方 法

1.1 纳入对象

筛查标准: (1) FH 诊断标准: 参照荷兰脂质诊断网络(Dutch Lipid Clinic Network, DLCN)^[9]诊断标准。① DLCN 诊断标准: (1)家族史[一级亲属有早发冠心病史(男性 <55 岁,女性 <60 岁)或一级亲属中血 LDL-C 水平超过人群 95%CI(经年龄和性别校正)评 1 分、一级亲属有腱黄色瘤和(或)脂性角膜弓或 <18 岁的患者血 LDL-C 水平 >95%CI(经年龄和性别校正)评 2 分]; (2)临床病史[早发冠心病(男性 <55 岁,女性 <60 岁)评 2 分、早发脑血管病或外周血管病(男性 <55 岁,女性 <60 岁)评 1 分]; (3)体格检查[腱黄色瘤评 6 分、脂性角膜弓(<45 岁)评 4 分]; (4)血 LDL-C 水平 >8.5 mmol/L 评 8 分、6.5-8.4 mmol/L 评 5 分、5.0-6.4 mmol/L 评 3 分、4.0-4.9 mmol/L 评 1 分; (5)分子遗传学实验(DNA 分析, LDLR、ApoB 或 PCSK9 基

因上发现致病突变评 8 分); 若评分 >8 分为确诊 FH、6-8 分为 FH 可能性大、3-5 分为可能的 FH。② 患者及亲属 DLCN 评分大于 6 分; ③ 本身或直系亲属四肢存在黄色瘤; ④ 直系亲属有高胆固醇血症; ⑤ 家族内有成员儿童时期确诊为高胆固醇血症; ⑥ 受试者完全知情同意。(2)排除标准: ① 心肺脏器功能异常; ② 合并免疫性或感染性疾病; ③ 合并内分泌疾病; ④ 接受器官移植; ⑤ 因药物影响引起的继发性高胆固醇血症; ⑥ 因患有精神类疾病无法正常交流。

1.2 一般资料

研究对象来源于 2021 年 11 月-2022 年 11 月贵州省贵阳市某三甲医院体检发现 LDL-C 异常患者及自愿参与社会人士, 选取其中 1 名 DLCN 诊断标准评分 7 分(LDL-C 8.16 mmol/L, 评 5 分, 一级亲属中血 LDL-C 水平超过人群 95%可信限, 评 1 分, 女性小于 60 岁有早发外周血管病, 评 1 分)的患者作为研究对象, 女, 58 岁。绘制家系图, 对患者及其直系亲属进行编号, I 表示第一代, II 表示第二代, 每代成员由 1 开始依次编号, 包括 I-1(本人)、I-2(丈夫, 已故)、II-1(儿子)、II-2(女儿)。该家系 3 名成员均无肌腱黄色瘤, 且未服用调脂药物治疗。

1.3 血脂吸附治疗

患者于 2021 年 6 月~2022 年 6 月期间, 在外院共进行 6 次血脂吸附治疗, 收集患者治疗前后检测载脂蛋白 A(ApoA)、载脂蛋白 E(ApoE)、载脂蛋白 B(ApoB)、脂蛋白 a(Lp(a))、TC、TG、HDL-C、LDL-C、游离脂肪酸(FFA)水平变化情况, 回顾性分析 DFPP 治疗 FH 的价值。

1.4 血样采集

入院第二日清晨各采集 FH 家系成员 3 mL 空腹外周静脉血, 将血液样本送至贵州省贵阳市某三甲医院采用 C8000 型全自动生化分析仪[美国雅培(集团)有限公司]检测总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)4 项生化指标。

1.5 全基因组外显子测序

通过查找文献的方式对相关致病基因进行筛选, 将包括 ApoB、西布曲明 9a 型(Porprotein convertase subtilisin/kexin 9, PCSK9)、LDLR、LDLR 衔接蛋白(LDLR adaptor protein, LDLRAP)在内的疑似基因纳入检测范围。将 3ml 空腹外周血送至华大基因, 提取 DNA, 质检(Nanodrop 2000)后打碎样本(100~700bp), PCR 扩增, 纯化产物, 再次质检, 行全基因组外显子测序, 利用 Burrows Wheeler Aligner(BWA)比对测序结果, 并通过 SOAPsnp, SAMtools 或 GATK 软件检测 SNP 位点。AnnoDB 注释 SNP。

1.6 数据分析

通过 Polyphen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) 和 SIFT(<https://sift.bii.a-star.edu.sg/>)数据库预测 LDLR、APOB、PCSK9、LDLRAP1 这 4 个公认的 FH 致病基因各个位点的功能和保守性危害。PolyPhen-2 初筛突变定位,获取变异位点,并定性评价致病的可能性(0~0.446 分:良性;0.447~0.908 分:可能;0.909~1.000 分:很可能)。同时利用 SIFT 计算碱基发生替换的可能性,并对氨基酸改变的非同义的 SNP 进行预测,≤0.05 分表示有害,>0.05 分表示可容忍。

1.7 统计学方法

采用统计学软件(SPSS 23.0)进行组间检验运算,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,对吸附治疗前后数据进行配对样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FH 家系成员的血脂情况分析

该家系 I -1 成员血清 LDL-C 达 8.16 mmol/L, II -1 成员血清 TC 达 7.0 mmol/L, II -2 成员血清 TC 达 3.45 mmol/L,按照 DLCN 标准, I -1 评 7 分, II -1 评 6 分,均提示患 FH 可能性大,达到 FH 临床诊断标准,见表 1。

表 1 分析 FH 家系成员的血脂情况(mmol/L)

Table 1 Analysis of blood lipids in FH family members(mmol/L)

Member number	Sexuality	Age (years)	Kinship	TC	TG	HDL-C	LDL-C
I -1	Female	58	Principal	11.06	1.01	1.67	8.16
II -1	Males	27	Son	8.65	1.17	0.95	7.00
II -2	Female	35	Daughter	4.91	0.75	1.31	3.45

2.2 FH 家系的相关致病基因的 SNP 位点分析

该家系 ApoB 基因中 rs676210、rs679899 分别得分 0.999、

0.998,1 个新位点 c.10094A>T 得分为 0.829,SIFT 软件预测以上三个位点均有害,见表 2。

表 2 分析 FH 家系的相关致病基因的 SNP 位点

Table 2 Analyzed the SNP loci of related pathogenic genes in FH families

Gene name	Variations		SIFT	Polyphen-2	SNP
	cDNA	Protein			
ApoB	c.8216C>T	p.Pro2739Leu	harmful(0)	probably(0.999)	rs676210
ApoB	c.1853C>T	p.Ala618Val	harmful(0.008)	probably(0.998)	rs679899
ApoB	c.10094A>T	p.His3365Leu	harmful(0.026)	perhaps(0.829)	-
PCSK9	c.2009G>A	p.Gly670Glu	tolerable(1)	optimum(0)	rs505151
PCSK9	c.1420G>A	p.Val1474Ile	tolerable(0.426)	optimum(0.005)	rs562556
LDLRAP1	c.604T>C	p.Ser202Pro	tolerable(0.154)	optimum(0.045)	rs6687605
LDLRAP1	c.67G>G	p.Gly23Arg	tolerable(0.169)	optimum(0.463)	-

2.3 心血管疾病发生情况

经 DFPP 治疗后患者病情控制效果较为稳定,至今未引发心绞痛或其他严重心血管事件。颈动脉超声检查结果:2022 年 5 月发现双侧存在颈动脉粥样斑块,左、右侧颈动脉狭窄分别为 40%、50%;2022 年 11 月双侧颈动脉仍有粥样斑块,左、右颈内动脉起始处狭窄率 40%~50%。

2.4 血脂吸附治疗前后患者血脂变化情况

与吸附治疗前比较,吸附治疗后 ApoA、ApoE、ApoB、Lp(a)、TG、HDL-C、LDL-C、TC 水平较低 FFA 水平较高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

3 讨论

FH 是由 LDL-R 受体基因缺陷所致,主要分为杂合子(heterozygote, He)、纯合子(homozygote, Ho)、复合杂合子、双重杂合子 4 种类型,其中以 HeFH、HoFH 较为常见,HoFH 细胞膜

LDL 受体完全缺陷,病情较严重,若不采取治疗措施,极有可能早发 ASCVD^[10,11]。然而 FH 患者多是在首次发生冠状动脉事件后才确诊,死亡风险较大,因此早确诊、早治疗十分有必要^[12,13]。近几年,国内有团队参照 DLCN 指南及我国人群 LDL-C 水平及 FH 特点,编制了《家族性高胆固醇血症筛查与诊治中国专家共识》的 FH 诊断标准,该诊断标准更适合我国人群的 FH 筛查及临床诊断评估,同时还检测到 LDLR、ApoB、PCSK9 和 LDLRAP1 基因致病性突变与 FH 的发生、发展及其预后有关,是诊断 FH 的金标准^[4,15]。但专家共识也提出,未发现上述基因突变仍不能除外 FH,更准确的 FH 诊断需要结合临床指标和基因检测^[16,17]。

本次研究在贵州省贵阳市某三甲医院发现了 1 例疑似 FH 患者,对其家系进行血脂检测后发现 I -1、II -1 成员的血清 LDL-C 浓度均超过正常上限 2 倍以上,结合其他资料,符合 FH 临床诊断标准,说明 LDL-C 可作为诊断 FH 的临床指标。血

表 3 血脂吸附前后患者血脂变化情况(n=6, $\bar{x} \pm s$)
Table 3 Changes of blood lipid in patients before and after lipid adsorption(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Index	Before adsorption therapy	After adsorption therapy	t	P
ApoA(g/L)	0.91± 0.12	0.63± 0.10	4.548	0.001
ApoE(g/L)	7.05± 0.58	3.57± 0.46	11.457	0.000
ApoB(g/L)	2.34± 0.18	0.95± 0.10	16.360	0.000
LPa(g/L)	0.14± 0.03	0.07± 0.02	4.772	0.001
TG(mmol/L)	0.76± 0.05	0.35± 0.04	15.158	0.000
HDL-C(mmol/L)	0.96± 0.10	0.60± 0.06	7.785	0.000
LDL-C(mmol/L)	9.93± 0.72	3.74± 0.32	19.273	0.000
TC(mmol/L)	9.49± 0.65	4.82± 0.35	15.576	0.000
FFA(mmol/L)	0.36± 0.03	0.63± 0.12	-5.345	0.000

脂异常目前已被确认与 FH 的发生存在密切关联^[18,19]。王晓娜^[20]团队通过在国际血脂异常调查 - 中国研究数据库中对 FH 的发病现状、血脂状况及心血管疾病发病情况进行调查后发现,我国血脂异常患者的 FH 检出率并不低,但血脂水平控制不佳,心血管疾病发病风险较高。本次研究通过筛查该 FH 家系 4 个公认的 FH 致病基因后发现,该家系的 SNP 位点多位于 APOB、PCSK9、LDLRAP1 基因上,APOB 基因中的 rs676210、rs679899、c.10094A>T 三个点位得分均处于 0.829~0.999 之间,SIFT 软件预测这三个点位有害,但这些位点均不与疾病表型共分离,其位点功能还有待进一步探讨。结果与 Hori M^[21]团队的研究结果相似,该团队在 1 个日本家系中发现了 APOB 基因 (Arg3527Gln) 变异,明确了致病性 APOB 变异株可引起 FH。ApoB 基因共 29 个外显子,其位置主要处于 2 号染色体短臂上 (2p24.1),是 LDLR、LpA 等蛋白的载体蛋白,主要包括 ApoB48 和 ApoB100 两种亚型,前者由小肠合成,后者由肝合成^[22]。LDL 每个颗粒均含有 ApoB100 分子,可与 LDL 受体结合,并在 LDLR 介导下充分将 LDL-C 作为代谢废物排出,因此 ApoB 基因一旦突变,机体血清 ApoB 将会异常升高,导致 LDL-C 无法被清除,一定程度上加大了脂代谢紊乱和心血管疾病的发生风险^[23]。FH 的治疗上,目前多开展血液吸附治疗治疗,血液吸附可选择性清除血浆中含有的 ApoB 成分的 LpA^[24,25]。本次研究结果显示,FH 患者经 DFPP 治疗后患者病情控制效果较为稳定,至今未引发心绞痛或其他严重心血管事件,且治疗后患者的 ApoA、ApoE、ApoB、LpA、TG、HDL-C、LDL-C、TC 水平均比治疗前低,FFA 水平比治疗高。与 Albayrak M^[26]、陈志斌^[27]等团队的研究结果一致。Albayrak M 团队认为 DFPP 可有效降低纯合子 FH 患者的 LpA 和血脂浓度,且启动 DFPP 治疗后无心脏事件发生。陈志斌团队也认为血液净化技术可有效降低 FH 患者的 TC 和 LDL-C 水平。说明 DFPP 治疗可帮助 FH 患者降低血脂浓度,抑制病情进展,同时还能充分降低患者的心血管疾病发生风险。推测可能是因为 DFPP 疗法可将血浆分为两部分进行处理,首先通过一级膜分离全血中的血浆和血细胞,再通过二级膜分离 LDL-C 与其白蛋白等血浆成分,最后重新将分离出的血细胞和不含 LDL-C 的其他血浆成分输回患者体内,即可达到清除 LDL-C 的目的,避免血脂浓度过高而造成

颈内动脉狭窄,有利于降低因颈动脉狭窄而引发的不良心血管事件^[28,29]。本次研究不足之处:① 本次研究仅针对一个家系进行分析,纳入样本量较少;② SIFT 软件预测未能发现 PCSK9、LDLRAP1 基因中的有害位点;③ 未发现 LDLR 基因及其位点;④ 未进行功能验证实验等。建议临床在后续研究中多纳入几个家系共同分析,并增加检测指标,从多方面证实 SNP 位点与 FH 之间的关联,才能进一步提升研究结果的真实性、可靠性。

综上所述,血脂指标变化与 FH 的发生、发展存在密切关联,基因检测还能明确 FH 的致病和可能致病位点;且血液净化治疗的方式,可在一定程度上调节 FH 患者的血脂浓度,有助于降低患者引发心血管疾病的风险,可有效保障患者的预后。

参考文献(References)

- [1] 彭道泉,赵水平.中国家族性高胆固醇血症诊疗现状及进展[J].中国循环杂志,2020,35(4): 411-416.
- [2] Jasani R, Ahmad Z, Schneider R, et al. Applying an LDL-C threshold-based approach to identify individuals with familial hypercholesterolemia[J]. J Clin Lipidol, 2022, 16(4): 508-515.
- [3] Lazarte J, Hegele R A. Pediatric dyslipidemia-beyond familial hypercholesterolemia[J]. Can J Cardiol, 2020, 36(9): 1362-1371.
- [4] Meshkov A, Ershova A, Kiseleva A, et al. The LDLR, APOB, and PCSK9 variants of index patients with familial hypercholesterolemia in Russia[J]. Genes, 2021, 12(1): 66.
- [5] Ghaleb Y, Elbitar S, Philippi A, et al. Whole Exome/Genome Sequencing Joint Analysis of a Family with Oligogenic Familial Hypercholesterolemia[J]. Metabolites, 2022, 12(3): 262.
- [6] Mikhailova S, Ivanoshchuk D, Timoshchenko O, et al. Genes potentially associated with familial hypercholesterolemia [J]. Biomolecules, 2019, 9(12): 807.
- [7] Berta E, Zsíros N, Bodor M, et al. Clinical Aspects of Genetic and Non-Genetic Cardiovascular Risk Factors in Familial Hypercholesterolemia[J]. Genes (Basel), 2022, 13(7): 1158.
- [8] Taylan C, Weber L T. An update on lipid apheresis for familial hypercholesterolemia[J]. Pediatr Nephrol, 2023, 38(2): 371-382.
- [9] Gokhale S, Nazir N. Prevalence and Treatment of Familial Hypercholesterolemia According to the Dutch Lipid Clinic Network

- Score (DLCNS): a Retrospective, Single Centered[J]. *J Clin Lipidol*, 2020, 14(4): 553-554.
- [10] Rocha V Z, Santos R D. Past, present, and future of familial hypercholesterolemia management[J]. *Methodist Debaque Cardiovasc J*, 2021, 17(4): 28.
- [11] Nohara A, Tada H, Ogura M, et al. Homozygous familial hypercholesterolemia [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2021, 28 (7): 665-678.
- [12] Hu H, Chen R, Hu Y, et al. The LDLR c.501C>A is a disease-causing variant in familial hypercholesterolemia [J]. *Lipids Health Dis*, 2021, 20(1): 101.
- [13] Jasani R, Ahmad Z, Schneider R, et al. Applying an LDL-C threshold-based approach to identify individuals with familial hypercholesterolemia[J]. *J Clin Lipidol*, 2022, 16(4): 508-515.
- [14] Moffa S, Mazzuccato G, De Bonis M, et al. Identification of two novel LDLR variants by Next Generation Sequencing [J]. *Ann Ist Super Sanita*, 2020, 56(1): 122-127.
- [15] Beheshti S O, Madsen C M, Varbo A, et al. Worldwide prevalence of familial hypercholesterolemia: meta-analyses of 11 million subjects [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(20): 2553-2566.
- [16] Cabrera Pivaral CE, Rincón Sánchez AR, Ramí rez-Garcí a SA. Familial hypercholesterolemia associated to variant nt14810 C>G in MT-CYTB[J]. *Med Clin (Barc)*, 2022, 159(8): 401-402.
- [17] Sánchez-Hernández RM, Civeira F. Homozygous familiar hypercholesterolemia: still a long way to go [J]. *Lancet*, 2022, 399 (10326): 696-697.
- [18] Kordonouri O, Arens S, Lange K, et al. Direct LDL-C estimation in preschoolers: Practicable first step for FH screening[J]. *J Clin Lipidol*, 2023, 17(2): 255-260.
- [19] Nagahara K, Hachiya R, Tada H, et al. A Japanese case of familial hypercholesterolemia with a novel mutation in the LDLR gene[J]. *Clin Pediatr Endocrinol*, 2019, 28(1): 19-22.
- [20] 王晓娜,王凡,叶平等.中国血脂异常门诊患者FH的横断面调查: DYSIS-China 研究分析 [J]. *中华心血管病杂志*, 2021, 49(6): 564-571.
- [21] Hori M, Takahashi A, Son C, et al. The first Japanese cases of familial hypercholesterolemia due to a known pathogenic APOB gene variant, c. 10580 G> A: p.(Arg3527Gln)[J]. *J Clin Lipidol*, 2020, 14 (4): 482-486.
- [22] Medeiros AM, Bourbon M. Polygenic contribution for familial hypercholesterolemia (FH) [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2021, 32 (6): 392-395.
- [23] Trinder M, DeCastro M L, Azizi H, et al. Ascertainment bias in the association between elevated lipoprotein (a) and familial hypercholesterolemia [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75 (21): 2682-2693.
- [24] Elkins JC, Fruh S. Early diagnosis and treatment of familial hypercholesterolemia[J]. *Nurse Pract*, 2019, 44(2): 18-24.
- [25] Kersten S. Bypassing the LDL receptor in familial hypercholesterolemia[J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(8): 775-776.
- [26] Albayrak M, Yıldız A, Ateş N, et al. The efficacy of double filtration plasmapheresis in the treatment of homozygous familial hypercholesterolemia: A single-center experience [J]. *Transfus Apher Sci*, 2019, 58(1): 61-64.
- [27] 陈志斌,王子秋,王朝晖,等.家族性高胆固醇血症基因突变分析及长期血脂吸附疗效研究[J].*内科理论与实践*, 2019, 14(4): 219-224.
- [28] 赵量,高莹,刘庚,等.血脂净化治疗家族性高胆固醇血症的单中心研究[J].*中华心血管病杂志*, 2022, 50(6): 585-590.
- [29] Hirano R, Namazuda K, Hirata N. Double filtration plasmapheresis: Review of current clinical applications [J]. *Ther Apher Dial*, 2021, 25 (2): 145-151.