

[文章编号] 1007-3949(2005)13-01-0091-03

•临床研究•

血红素氧合酶 1 基因多态性与冠状动脉支架术后再狭窄相关

杨俊娟, 罗奕龙, 高 伟, 霍 勇, 刘兆平, 周爱儒

(北京大学第一医院心内科, 北京市 100034)

[关键词] 内科学; 血红素氧合酶与再狭窄相关; 聚合酶链反应; 血红素氧合酶; 支架置入术; 再狭窄; 基因多态性

[摘要] 目的 为探讨血红素氧合酶 1 基因启动子双核苷酸重复序列的微卫星多态性与冠状动脉支架术后再狭窄的关系。方法 回顾分析 118 名冠状动脉支架置入术患者, 随访冠状动脉造影分为支架内再狭窄组和无再狭窄组; 提取患者外周血 DNA, 经聚合酶链反应扩增微卫星序列后采用 Spreadex 凝胶电泳进行基因分型。结果 入选患者中有 58% (68/118) 发生支架内再狭窄, 其中携带双核苷酸重复 < 25 次等位基因患者的再狭窄率为 47.5%, 携带两条双核苷酸重复均 ≥ 25 次等位基因患者的再狭窄率为 68.4% ($P < 0.05$)。经多元回归分析校正冠心病危险因素及介入治疗的相关影响因素后, 两组的再狭窄率仍有统计学差异 (OR 为 0.406, 95% CI 为 0.185~0.891, $P < 0.05$)。结论 血红素氧合酶 1 基因启动子微卫星多态性与再狭窄相关, 对调控血红素氧合酶 1 基因来防治再狭窄有积极意义。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Microsatellite Polymorphism in the Heme Oxygenase 1 Gene Promotor Associated with Restenosis After Percutaneous Coronary Intervention

YANG Jun Juan, LUO Yi Long, GAO Wei, HUO Yong, LIU Zhao Ping, and ZHOU Ai Ru

(Department of Cardiology, the First Hospital, Peking University, Beijing 100034, China)

[KEY WORDS] Heme Oxygenase; Stent Implantation; Restenosis; Gene Polymorphism; Coronary Heart Disease; GT Repeat

[ABSTRACT] **Aim** To determine if an association exists between restenosis after percutaneous coronary intervention and heme oxygenase 1 (HO-1). A dinucleotide (guanosine thymidine, GT) repeat in the promotor region of the HO-1 gene shows a polymorphism that modulates the level of gene transcription. **Methods** This retrospective study included 118 patients of the Han nationality (92 men; mean age 62.3 years, standard deviation 9.8) who underwent successful stent implantation. Patency follow-up was evaluated using angiography. The length of GT repeat was confirmed using polymerase chain reaction (PCR) amplification and electrophoresis. Selected samples were sequenced by means of Sanger's method. The association of patency and the length of GT repeat in the HO-1 gene promotor was assessed in univariate and multivariate analyses. **Results** In-stent restenosis was found in 68 (58%) out of 118 patients. Patients with short (< 25GT) dinucleotide repeats in the HO-1 gene promotor on either allele had restenosis significantly less often than patients without short dinucleotide repeat (47.5% vs 68.4%, $P < 0.05$). Multivariate analysis revealed a significantly similar result after controlling certain possible confounding factors (odd ratio 0.406, 95% CI 0.185~0.891, $P < 0.05$). **Conclusions** In this patient population, short GT repeat alleles of the HO-1 gene promotor polymorphism were associated with reduced post-PCI restenosis.

人类血红素氧合酶 1 (heme oxygenase 1, HO-1) 基因启动子区域有一双核苷酸 (guanosine thymidine, GT) 重复序列, 有高度多态性, 又称为微卫星多态性^[1]。体外实验表明 GT 重复次数与 HO-1 的转录水平呈负相关^[2], HO-1 降解血红素产生内源性一氧化碳、胆红素和铁蛋白, 这些代谢产物有抑制

血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 增殖、促进 VSMC 凋亡、抑制内皮细胞凋亡、抗炎和抗氧化等作用^[3-7]。整体动物试验发现血管损伤后 HO-1 表达上调可减轻再狭窄的程度^[8]。

本研究通过测定中国北方汉族冠心病患者 HO-1 基因微卫星, 旨在探讨 HO-1 基因微卫星多态性与冠状动脉支架术后再狭窄的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

来自我院成功接受冠状动脉支架置入术, 入选术后三个月以上行冠状动脉造影随访的中国北方汉

[收稿日期] 2004-03-09

[修回日期] 2004-08-21

[作者简介] 杨俊娟, 博士, 副主任医师, 副教授, 主要从事心血管内科专业研究, E-mail 为 yjj66@yahoo.com.cn。罗奕龙, 硕士研究生, 研究方向为冠心病基础和临床研究。高伟, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事动脉粥样硬化疾病、冠心病及其介入治疗的基础和临床研究。

采用多因素逐步 Logistic 回归分析, 调整可能存在的影响因素, 包括: 高龄、性别、肥胖、吸烟、高血压、糖尿病、置入支架数、支架长度和直径, 只有短 GT 重复进入回归方程 $P = \exp 0.78 - 0.208X / 1 + \exp 0.78 - 0.208X$, P 表示再狭窄的概率, X 表示携带 S 等位基因的基因型, 变量选入标准为 0.05, 排除标准为 0.1, OR 为 0.406, 95% CI 为 0.185 ~ 0.891, $P = 0.025$ 。

3 讨论

Tulis 等^[8]在球囊损伤大鼠颈动脉后发现局部血管壁 HO-1 表达增加, 若在球囊损伤动脉后即刻局部导入 HO-1 基因使 HO-1 过度表达, 可抑制新生内膜形成和动脉壁中层重塑, 表明血管损伤后 HO-1 表达上调可减轻再狭窄的程度。由于 HO-1 为细胞内酶, 目前无法直接测定人类冠状动脉介入术后局部 HO-1 表达情况。人类 HO-1 基因位于 22 号染色体的长臂 12 区带 (22q12), 在基因启动子的热休克元件和顺式反应元件之间有一 GT 重复序列^[1], GT 重复次数在 15~40 次不等, 属于微卫星, 在人群中具有高度多态性。体外实验表明 HO-1 基因启动子微卫星影响 HO-1 的转录, 在同等程度的氧化应激作用下, GT 重复 < 25 次者, HO-1 基因转录增加; 而 GT 重复 ≥ 29 次者, 则转录水平增加不明显, 因此 GT 重复次数可间接反映人体内 HO-1 的表达水平^[2]。

本研究发现携带 S 等位基因(定义为 GT 重复 < 25 次)与不携带 S 等位基因的冠心病患者相比, 支架内再狭窄率较低(47.5% 比 68.4%, $P < 0.05$)。表明 HO-1 启动子微卫星多态性与冠状动脉支架置入术后再狭窄相关, 与 Schillinger 等^[10]报导的 HO-1 启动子微卫星多态性与外周血管成形术后再狭窄的关系相似, GT 重复次数少者(< 25 GT)较少发生再狭窄。但是, 再狭窄的发生及程度受多种因素影响, 包括患者相关因素、病变相关因素和手术相关因素等。属于遗传因素的微卫星多态性仅为多种再狭窄影响因素之一, 校正冠心病危险因素及介入治疗的相关影响因素后, 携带 S 等位基因的患者支架内再狭窄率仍然低于不携带者($P < 0.05$)。

经皮冠状动脉介入治疗是冠心病的主要治疗手段, 手术成功率达 95% 以上, 但由于约 20% ~ 40% 患者在术后出现再狭窄, 严重影响其远期疗效。大量的基础和临床研究发现, 冠状动脉支架术后再狭

窄主要是由于 VSMC 过度增殖和凋亡不足所致, 也与内皮细胞损伤、血栓形成及炎症等因素有关^[11]。我们推测携带 S 等位基因的患者介入治疗后血管内皮及平滑肌细胞表达 HO-1 增加, 上调的 HO-1 可能通过抑制 VSMC 过度增殖、促进 VSMC 凋亡、抑制内皮细胞凋亡和减轻血管壁炎症等不同途径减轻再狭窄^[12-14]。HO-1 微卫星多态性与再狭窄相关, 为调控 HO-1 基因来防治再狭窄提供了理论基础。

本研究为回顾性研究, 不足之处在于存在选择偏倚, 以致总的再狭窄率高达 58%, 是因为一般患者出现心肌缺血的临床症状后才同意接受冠状动脉造影复查, 故再狭窄率高于文献报导的 20% ~ 40%。

[参考文献]

- [1] Kimpara T, Takeda A, Watanabe K, Itoyama Y, Ikawa S, Watanabe M, et al. Microsatellite polymorphism in the human heme oxygenase 1 gene promoter and its application in association studies with Alzheimer and Parkinson disease. *Hum Genet*, 1997, **100** (1): 145-147
- [2] Yamada N, Yamaya M, Okinaga S, Nakayama K, Sekizawa K, Shibahara S, et al. Microsatellite polymorphism in the heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to emphysema. *Am J Hum Genet*, 2000, **66** (1): 187-195
- [3] Peyton KJ, Reyna SV, Chapman GB, Ensenat D, Liu XM, Wang H, et al. Heme oxygenase-1 derived carbon monoxide is an autocrine inhibitor of vascular smooth muscle cell growth. *Blood*, 2002, **99** (12): 4 443-448
- [4] Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, Tobiasch E, Bach FH, Choi AM, et al. Carbon monoxide generated by heme oxygenase-1 suppresses endothelial cell apoptosis. *J Exp Med*, 2000, **192** (7): 1 015-026
- [5] Tomaro ML, Del AM, Barile C. Bilirubin: its role in cytoprotection against oxidative stress. *IJBCB*, 2002, **34**: 216-220
- [6] Lee TS, Chau LY. Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of interleukin-1 in mice. *Nat Med*, 2002, **8**: 240-246
- [7] 胡昌兴, 马兴新, 付度关, 任 澎. 内源性一氧化碳对血管紧张素 II 诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖的抑制作用. *中国心血管杂志*, 2003, **8** (1): 4-5
- [8] Tulis DA, Durante W, Liu X, Evans AJ, Peyton KJ, Schafer AI. Adenovirus-mediated heme oxygenase-1 gene delivery inhibits injury-induced vascular neointima formation. *Circulation*, 2001, **104** (22): 2 710-715
- [9] Luqmani YA, Temmin L, Mathew M, Lobo S. High resolution separation of microsatellite fragments on Spreadex gels. *Proc Amer Assoc Cancer Res*, 1999, **40**: 12-14
- [10] Schillinger M, Exner M, Mlekusch W, Ahmadi R, Rumpold H, Mannhalter C, et al. Heme oxygenase-1 genotype is a vascular anti-inflammatory factor following balloon angioplasty. *J Endovasc Ther*, 2002, **9** (4): 385-394
- [11] Hoffmann R, Mintz GS, Dussaillant GR, Popma JJ, Pichard AD, Satler LF, et al. Patterns and mechanisms of in-stent restenosis: a serial intravascular ultrasound study. *Circulation*, 1996, **94** (6): 1 247-1254
- [12] 胡昌兴, 马兴新. 血红素加氧酶-CO 系统与血管成形术后再狭窄. *心血管康复医学杂志*, 2003, **12** (2): 189
- [13] 徐少平, 李鲁光, 程友琴, 唐朝枢, 沙 鸥, 余燕秋. 血红素加氧酶/一氧化碳系统对家兔动脉粥样硬化发病的影响. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (2): 114-116
- [14] 喻 陆, 何作云. 实验性兔动脉粥样硬化发病过程中内源性一氧化碳及其合成酶基因表达的改变. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (2): 120-124

(此文编辑 文玉珊)