

• 临床研究 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-12-1024-03

补体因子 H 1277T>C 多态性与不稳定型心绞痛的相关性

袁海军¹, 袁梅², 曾高峰¹

(1 南华大学附属第二医院心内科, 湖南省衡阳市 421001; 2 中南大学湘雅医院神经内科, 湖南省长沙市 410008)

[关键词] 不稳定型心绞痛; 补体因子 H; 基因多态性

[摘要] 目的 研究补体因子 H 基因 1277T>C 多态性与不稳定型心绞痛发病的相关性。方法 运用聚合酶链反应限制片段多态性检测补体因子 H 1277T>C 单核苷酸多态性位点基因型, 观察其多态性的基因型及等位基因在湖南籍汉族 150 例不稳定型心绞痛患者和 146 例健康对照者中的分布频率。结果 不稳定型心绞痛组与健康对照组 TT、TC 基因型和 T、C 等位基因频率分布差异显著 ($P < 0.05$), TC+CC 基因型频率分布差异亦有显著性 (OR 为 3.06, 95% CI 为 1.60~5.86, $P < 0.01$)。结论 湖南汉族人群中补体因子 H 1277T>C 多态性与不稳定型心绞痛有明显相关性, 该基因多态性可能是冠心病遗传易感标志。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Association of 1277T>C Polymorphism in the Complement Factor H Gene with Unstable Angina Pectoris

YUAN Hai-Jun¹, YUAN Mei², and ZENG Gao-Feng¹

(1 Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang 421001, China; 2 Institute of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

[KEY WORDS] Unstable Angina Pectoris; Complement Factor H; Gene Polymorphism

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the association of the complement factor H (CFH) 1277T>C polymorphism and unstable angina pectoris (UAP). **Methods** Frequency distribution of the genotypes and alleles of 1277T>C single nucleotide polymorphisms (SNP) of CFH were detected by using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method in 150 cases with UAP and 146 normal controls of Hunan Han. **Results** Obvious frequency distribution difference of TT, TC genotypes and T, C alleles in CFH 1277T>C was observed between the UAP and the control groups ($P < 0.05$), and the difference of the frequency of the CFH 1277C allele carriers (TC+CC genotypes) between the two groups was statistically significant (OR was 3.06, 95% CI was 1.60~5.86, $P < 0.01$). **Conclusion** It is suggested that CFH 1277T>C SNP is significantly associated with UAP in Hunan Han population.

不稳定型心绞痛 (UAP) 是在动脉粥样硬化的基础上, 冠状动脉出现急性或亚急性供血供氧减少, 是急性冠状动脉综合症的常见类型, 部分患者可发展为急性心肌梗死或猝死。研究表明, 补体系统是产生和维持动脉内膜上炎症反应的关键因素之一^[1], 炎症反应在动脉粥样硬化及冠心病的发生发展过程中起着重要的作用, 一些炎症因子如胎盘生长因子和白细胞介素 $10^{[2]}$ 等与冠心病有关。补体因子 H (CFH) 是一个重要的补体、炎症调节因子。国外一些研究报道 CFH 1277T>C 单核苷酸多态性与冠心病有关相关性, 国内近年虽有较少报道, 但结论并不一致。本研究旨在分析该多态性在湖南汉族 UAP 患者和健康对照人群的分布情况, 以探讨该多态性与 UAP 发病是否存在相关性。

1 对象和方法

1.1 对象

本研究对象均为湖南汉族人, UAP 组 150 例, 男 85 例, 女 65 例, 年龄 57.9 ± 7.2 岁, 均符合 2000 年中华医学会心血管病学分会、中华心血管病杂志编辑委员会关于《不稳定型心绞痛诊断和治疗建议》的标准, 并经 ECG 和心肌酶学检查证实, 排除急性心肌梗死; 对照组 146 例, 男 84 例, 女 62 例, 年龄 56.9 ± 6.8 岁, 来自于同期本院体检中心无亲属关系的健康普查人群的随机个体, 经病史及家族史询问、体格检查和 ECG, 均排除冠心病及家族史。入选者均排除患有严重肝肾疾病、血液系统疾病、肺部疾病、脑部疾病及近期有手术、外伤、感染史。本研究征得了受检者的知情同意。

1.2 血标本采集及 DNA 提取

于清晨用 EDTA- Na_2 抗凝管留取受检者外周静脉血 5 mL, 用常规酚/氯仿抽提法提取 DNA, TE 液

[收稿日期] 2009-11-03

[修回日期] 2009-12-05

[作者简介] 袁海军, 硕士研究生, 研究方向为冠心病防治, Email 为 navy-yuan@qq.com。袁梅, 博士研究生。通讯作者曾高峰, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, Email 为 qichingnoudou@tm.com。

溶解,置于 -20°C 冰箱保存。

1.3 引物、PCR 及基因多态性分析

参考文献 [3] 设计 PCR 引物,上游引物为 5'-TCA TTG TTA TGG TCC TTA GGA AA-3',下游引物为 5'-TTA GAA AGA CAT GAA CAT GCT AGG-3'。PCR 产物为 241 bp T 等位基因型片段可被 TasI 酶切成 60 bp 和 181 bp 的两小片段,而 C 等位基因型片段不被酶切。PCR 引物及反应酶由上海生工生物工程有限公司提供, TasI 和 100 bp DNA Marker 由上海欧韦达生物技术有限公司提供。

1.4 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验。所有数据采用 SPSS13.0 统计软件进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较

两组性别和年龄构成比以及糖尿病史、高血压史、甘油三酯水平、高密度脂蛋白水平差异无显著性 ($P > 0.05$),而吸烟史、体质指数、总胆固醇和低密度脂蛋白水平差异显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$; 表 1)。

表 1 一般资料比较

项 目	对照组 ($n=146$)	UAP 组 ($n=150$)
男/女 (例)	84/62	85/65
年龄 (岁)	56.9 ± 6.8	57.9 ± 7.2
高血压史 (例)	32 (21.9%)	46 (30.7%)
糖尿病史 (例)	17 (11.6%)	25 (16.7%)
吸烟史 (例)	33 (22.6%)	54 (36.7%) ^a
甘油三酯 (mmol/L)	1.55 ± 1.13	1.75 ± 0.70
总胆固醇 (mmol/L)	4.23 ± 0.89	4.80 ± 0.97^b
低密度脂蛋白 (mmol/L)	3.02 ± 0.56	3.26 ± 0.88^a
高密度脂蛋白 (mmol/L)	1.36 ± 0.36	1.28 ± 0.68
体质指数 (kg/m^2)	22.9 ± 2.3	23.6 ± 2.1^a

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.2 补体因子 H 1277T > C 基因型判断

PCR 扩增结束后经琼脂糖凝胶电泳显示条带为 241 bp (图 1), 表明 PCR 扩增成功。加入 TasI 进行酶切, 所得酶切产物经琼脂糖凝胶电泳后, 以确定其基因分型 (图 2)。每个样本进行 1 次重复试验, 两次结果不一致时再重复试验。

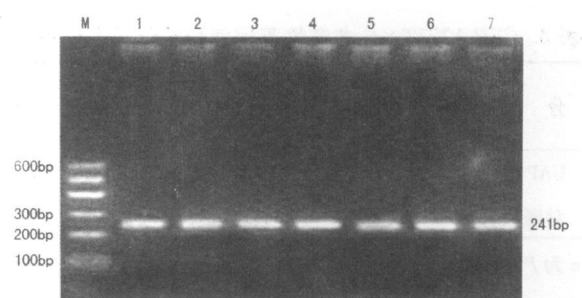


图 1 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳图 M 为 100 bp DNA marker 1~7 为 CFH 1277T > C PCR 扩增产物。

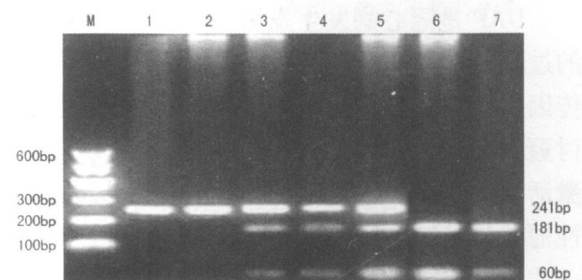


图 2 PCR 酶切产物琼脂糖凝胶电泳图 M 为 100 bp DNA marker 1 和 2 为 CC 基因型, 3, 4 和 5 为 TC 基因型, 6 和 7 为 TT 基因型。

2.3 补体因子 H 1277T > C 基因型和等位基因频率分布

两组基因频率符合 Hardy-Weinberg 平衡, 具有群体代表性。两组间 TT、TC 基因型和 T、C 等位基因频率分布差异有统计学意义 ($P < 0.05$), TC + CC 基因型频率分布差异亦有统计学意义 (OR 为 3.06, 95% CI 为 1.60~5.86, $P < 0.01$), 建立 Logistic 回归分析模型进行分析, 经危险因素调整后这种相关性仍存在 (表 2)。

3 讨论

研究表明^[4], 炎症在动脉粥样硬化发生发展过程中起着重要作用, CFH 作为炎症调节因子, 在补体旁路激活途径中起主要作用的负调控因子, 通过结合 C3b 加速了旁路途径中 C3 转化酶的灭活, 可避免补体系统过度激活所致的病理损伤反应, 具有抗动脉粥样硬化作用。CFH 基因位于染色体 1q32-q32.1。CFH 1277T > C 多态性位于该基因第 9 外显子, 为 1277 位置上发生由 C 代替 T 的突变, 导致其编码产物 CFH 的 402 位氨基酸残基发生由疏水性酪氨酸被带正电荷组氨酸取代的错义突变 (Y402H), 该突变将降低 CFH 对 C3b 的亲合力^[5], 减弱其对补体系统激活的抑制, 从而影响其抗动脉

表 2 CFH 1277T>C 多态性基因型和等位基因频率分布

分 组	例数	基因型 (例)			等位基因	
		TT	TC	CC	T	C
UAP组	150	111(74.0%) ^a	34(22.7%) ^b	5(3.3%)	85.3% ^a	14.7% ^a
对照组	146	131(89.7%)	12(8.2%)	3(2.1%)	93.8%	6.2%

a为 $P < 0.05$, b为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

粥样硬化作用, 导致该基因携带者动脉粥样硬化及冠心病^[6-8]、年龄相关性黄斑变性^[3]等疾病的发病。

UAP是冠心病发生发展中一个非常重要、特殊的过程。冠心病的病因涉及多种环境因素和基因遗传因素。越来越多的研究从基因多态性遗传方面探讨冠心病的发病病因, 如曾高峰等^[9]发现纤溶酶原激活物抑制剂 4G/5G 基因多态性与国人冠心病急性冠状动脉综合征发病之间存在相关性。目前已有的一些关于 CFH 1277T>C 与冠心病相关性的研究报道。Zee等^[10]发现该多态性与心肌梗死没有相关性, 同样以美国人群为研究对象的另一个报道^[6]却发现 CFH 1277CC 基因型与女性冠心病有明显相关性, 而与男性冠心病不相关; Kardys等^[7]报道在荷兰人群该多态性与男性冠心病有相关性, 而与女性的相关性不明显; 英国人群的研究则不支持其相关性^[11]; 国内南京的一个病例对照研究^[8]报道该多态性与国人早发型冠心病有明显相关性, 而孙彩琴等^[12]却报道无关。

本研究结果发现, UAP组和对照组间 TT、TC 基因型和 T、C 等位基因频率分布差异有统计学意义, TC+CC 基因型频率分布差异亦有统计学意义, 表明该基因多态性的突变基因能增加 UAP 的风险, 这与先前国内的相关性结论^[8]一致, 与孙彩琴等^[12]的结论不同, 与国外的一些大样本研究^[6, 7, 10, 11]的相关性结论尚不完全一致。本研究发现湖南人群 CFH 基因的这种单核苷酸多态性突变频率低于欧美白人^[6, 7], 而与国内南京人^[8]相似。这种偏差可能是群体种族差异, 也可能是由于该基因多态性与冠心病(包括冠心病的不同临床分型)本身没有统计学意义, 或者由于本研究样本量有限, 亦有可能导致结论不一致。总之, 有关 CFH 1277T>C 多态性与冠

心病及冠心病的不同临床分型的相关性有待进一步更大样本研究。

[参考文献]

- [1] Oksjoki R, Kovanen PT, Penttinen MO. Role of complement activation in atherosclerosis [J]. *Curr Opin Lipidol* 2003; **14** (5): 477-482
- [2] 袁娜, 曾高峰, 李振龙, 等. 胎盘生长因子和白细胞介素 10 水平与急性冠状动脉事件的相关性 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008; **16** (12): 969-972
- [3] 季翔, 曲毅. CFH Y402H 多态性与新生血管性年龄相关性黄斑变性的相关性 [J]. *山东大学学报 (医学版)*, 2008; **46** (9): 877-879
- [4] Oksjoki R, Järva H, Kovanen PT, et al. Association between complement factor H and proteoglycans in early human coronary atherosclerotic lesions: implications for local regulation of complement activation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; **23** (4): 630-636
- [5] Giannakis E, Jokiranta TS, Male DA, et al. A common site within factor H SCR 7 responsible for binding heparin, C-reactive protein and streptococcal M protein [J]. *Eur J Immunol* 2003; **33** (4): 962-969
- [6] Pai JK, Manson JE, Rexrode KM, et al. Complement factor H (Y402H) polymorphism and risk of coronary heart disease in US men and women [J]. *European Heart J* 2007; **28** (11): 1297-303
- [7] Kardys I, Kluiver CC, Despriet DD, et al. A common polymorphism in the complement factor H gene is associated with increased risk of myocardial infarction: the Rotterdam Study [J]. *J Am Coll Cardiol* 2006; **47** (8): 1568-575
- [8] Qian Q, Chen Z, Ma G, et al. Complement factor H Y402H polymorphism, plasma concentration and risk of coronary artery disease [J]. *Mol Biol Rep* 2009; **36** (6): 1257-261
- [9] 曾高峰, 刘格修, 王燕, 等. 纤溶酶原激活物抑制剂活性及其 4G/5G 基因多态性与急性冠状动脉综合征发病的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005; **13** (6): 760-762
- [10] Zee RY, Diehl KA, Rinker PM. Complement factor H Y402H gene polymorphism, C-reactive protein and risk of incident myocardial infarction, ischemic stroke, and venous thromboembolism: a nested case-control study [J]. *Atherosclerosis* 2006; **187** (2): 332-335
- [11] Meng W, Hughes A, Patterson CC, et al. Genetic variants of complement factor H gene are not associated with premature coronary heart disease: a family-based study in the Irish population [J]. *BMC Med Genet* 2007; **8**: 62
- [12] 孙彩琴, 陈忠, 马根山. 补体因子 H 基因 1277T/C 多态性与早发冠心病的相关性研究 [J]. *交通医学*, 2008; **22** (6): 606-608

(此文编辑 文玉珊)