

[文章编号] 1007-3949(2010)18-10-0807-03

· 临床研究 ·

血红素氧合酶 1 基因启动子区 (GT)_n 重复序列多态性与广东潮汕人群冠心病易感性的关系

张国红¹, 麦瑞琴², 陈宋明²

(汕头大学医学院 1. 病理学教研室, 广东省汕头市 515031; 2 附属第一医院心血管内科, 广东省汕头市 515041)

[关键词] 冠心病; 血红素氧合酶 1; 基因多态性; 易感性

[摘要] 目的 探讨血红素氧合酶 1 基因启动子区 (GT)_n 重复序列多态性与广东潮汕人群冠心病易感性的关系。方法 采用荧光标记 PCR 和毛细管电泳相结合技术检测血红素氧合酶 1 基因启动子区 (GT)_n 重复序列多态性在 300 例冠心病患者以及性别、年龄相匹配的 182 例对照者中等位基因和基因型频率分布差异, 重复次数 $n \leq 25$ 为 S 型等位基因, $n > 25$ 为 L 型等位基因。Logistics 回归分析基因型与吸烟、高血压、糖尿病、高血脂、家族史等冠心病危险因素间的交互作用。结果 等位基因和基因型频率在冠心病组与对照组中分布差异无显著性, 基因型与吸烟 (OR 为 1.790, 95% CI 为 1.110-2.886)、高血压 (OR 为 1.552, 95% CI 为 1.045-2.304)、糖尿病 (OR 为 1.727, 95% CI 为 1.018-2.928) 交互作用增加个体冠心病患病风险, SL+LL 基因型与吸烟作用最为显著 (OR 为 2.517, 95% CI 为 1.206-5.253)。结论 血红素氧合酶 1 基因启动子区 (GT)_n 重复序列多态性可作为潮汕人群伴危险因素个体冠心病易感风险评估的分子标记。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Association of (GT)_n Polymorphism in Heme Oxygenase-1 Gene Promoter and Susceptibility of Coronary Heart Disease in Chaoshan Population

ZHANG Guohong¹, MAI Ruqin², and CHEN Songming²

(1 Department of Pathology, Medical College, Shantou University, Shantou, Guangdong 515031, China; 2 Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, Medical College, Shantou University, Shantou, Guangdong 515041, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease; Heme Oxygenase-1; Gene Polymorphism; Susceptibility

[ABSTRACT] **Aim** To assess the association between the length of (GT)_n repeats in the heme oxygenase-1 (HO-1) gene promoter and the susceptibility for coronary heart disease (CHD) of Chaoshan population. **Methods** 300 patients with CHD and 182 control subjects with sex and age matching were collected. Amplification and labeling of PCR products for capillary electrophoresis were performed to genotype. (GT)_n repeat polymorphism was classified into short ($n \leq 25$ for S allele) and long ($n > 25$ for L allele) alleles. **Results** Allelic and genotypic frequency did not differ significantly between CHD patients and control subjects. However, there were interaction between genotype and smoking (OR was 1.790, 95% CI was 1.110-2.886), hypertension (OR was 1.552, 95% CI was 1.045-2.304) and diabetes (OR was 1.727, 95% CI was 1.018-2.928). Specially, the SL+LL genotype had the highest risk (OR was 2.517, 95% CI was 1.206-5.253). **Conclusion** Our findings indicated that longer (GT)_n repeat allele in HO-1 promoter is a susceptibility marker of CHD with risk factors in Chaoshan population.

血红素氧合酶 1(HO-1)具有抗氧化应激、抗炎反应、抗凋亡和促血管舒张作用,被认为是一种血管保护因子^[1]。HO-1在缺氧、活性氧族(ROS)等刺激下触发而被诱导表达,基因启动子存在(GT)_n重复序列与单核苷酸多态性(SNP), (GT)_n多态性和HO-1基因启动子转录活性密切相关。研究证实HO-1启动子区(GT)_n重复次数 < 25, 转录活性高,

重复次数 > 25, 则相反,从而影响HO-1的抗氧化应激能力^[2]。氧化应激水平增强,抗氧化应激能力相对减弱是冠心病发病的基础^[3,4]。我们先前研究发现冠心病患者HO-1表达水平不仅在冠心病患者与正常对照个体间差异显著,同时HO-1表达水平的高低与冠状动脉病变严重程度也相关^[5,6]。

近年研究显示,在潮汕地区冠心病发病不仅呈逐年升高趋势,而且出现发病年轻化趋势,提示遗传背景在该地区冠心病发病中发挥重要作用。本研究旨在探讨HO-1基因启动子区(GT)_n重复序列多态性与广东潮汕人群冠心病易感性间的关系。

[收稿日期] 2010-07-11 [修回日期] 2010-10-07

[基金项目] 广东省自然科学基金资助(07008215)

[作者简介] 张国红, 博士, 讲师, 主要从事复杂性疾病易感基因定位研究。麦瑞琴, 硕士, 技师, 主要从事复杂性疾病易感基因定位研究。通信作者陈宋明, 博士, 主任医师, 教授, 研究方向为冠心病, E-mail为 csm1002@126.com。

1 对象和方法

1.1 病例与血样收集

以 2007 年 9 月以来,在汕头大学医学院附属第一医院心导管室行冠状动脉造影的患者为研究对象,造影过程死亡或造影未成功者除外,同时排除合并肿瘤或其他重症者。选择冠状动脉(左前降支、左回旋支、右冠状动脉或左主干)至少有一处直径狭窄 $\geq 50\%$ 的 300 例个体列入冠心病组,选择性别、年龄与冠心病组相仿,造影未发现冠状动脉明显病变的 182 例个体列入对照组。记录患者性别、年龄、冠心病家族史、糖尿病病史、高血压病史、高脂血症病史和吸烟史。取研究对象外周抗凝血 5 mL。

1.2 基因分型

采用 QIAGEN 试剂盒提取基因组 DNA, Primer5.0 软件设计扩增启动子区引物。正向为 5'-TCC CAG CTT TCT GGA ACC TT-3', 反向为 5'-ACA GCT GAT GCC CAC TTT CT -3'。FAM 荧光标记引物, 5 μ L 体系进行 PCR 反应, 反应条件: 94°C 预变性 5 min, 94°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 30 s 循环 10 次; 89°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 30 s 循环 25 次; 72°C 延伸 10 min。PCR 产物纯化后 ABI 3730XL 行毛细管电泳; GenM apper 软件基因分型, GT 重复次数 ≤ 25 为 S 等位基因, GT 重复次数 > 25 为 L 等位基因, 分别构成 SS, SL, LL 三种基因型。

1.3 关联分析

对冠心病组和对照组分别作 Hardy-Weinberg 平衡检验。卡方检验分析冠心病组和对照组之间等位基因、基因型频率的分布差异。以非条件 Logistic 回归模型分析多态性与冠心病风险之间的相关性 OR 值及其 95% CI 均经年龄、性别校正。

表 2 等位基因和基因型频率分布

分 组	等位基因		基因型		
	S	L	SS	SL	LL
对照组	140(38.46%)	224(61.54%)	27(14.84%)	86(47.25%)	69(37.91%)
冠心病组	223(37.17%)	377(62.83%)	39(13.00%)	145(48.33%)	116(38.67%)

2.4 基因型与危险因素的交互作用

非条件 Logistic 回归结果显示, 高脂血症 (OR 为 1.288, 95% CI 为 1.051-1.578)、高血压 (OR 为 1.03, 95% CI 为 1.01-1.05)、吸烟 (OR 为 1.656, 95% CI 为 1.05-2.61)、糖尿病 (OR 为 1.206, 95%

2 结果

2.1 一般情况

冠心病组中男性 228 例, 女性 72 例, 年龄为 62.96 ± 12.07 ; 对照组中男性 106 例, 女性 76 例, 年龄为 64.63 ± 12.09 。冠心病组与对照组吸烟、高脂血症、高血压、糖尿病等危险因素差异显著 (表 1)。

表 1 冠心病组与对照组危险因素情况比较

危险因素	对照组 (n=182)	冠心病组 (n=300)
吸烟	70(38.46%)	173(57.67%) ^b
高脂血症	41(22.53%)	98(32.67%) ^a
高血压	91(50.00%)	189(63.00%) ^b
糖尿病	26(14.29%)	70(23.33%) ^a

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

2.2 (GT)_n重复次数分布

在研究人群中, (GT)_n重复次数从 16 到 39 次不等, 在所有研究对象及各组内均呈双峰分布, 23 次和 31 次频率最高, 是主要的等位基因片段。两组均符合 Hardy-Weinberg 平衡 (图 1)。

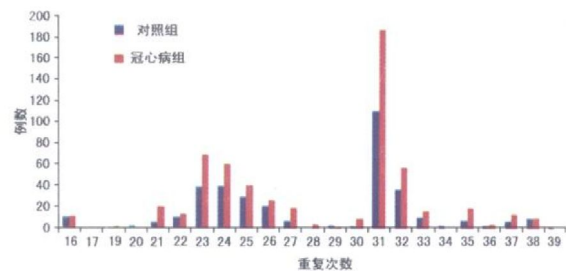


图 1 (GT)_n重复次数在对照组与冠心病组间的频率分布

2.3 等位基因和基因型频率分布

等位基因和基因型频率在对照组与冠心病组中差异无统计学意义 (表 2)。

CI 为 1.011-1.437)、家族史 (OR 为 1.209, 95% CI 为 1.032-1.417) 增加个体冠心病发病风险, 而基因型仍然对冠心病发病风险无影响 (OR 为 1.13, 95% CI 为 0.529-2.413)。Logistic 回归交互作用结果显示, 基因型与吸烟、高血压与糖尿病间存在交互作

用,其中以吸烟最为显著(表 3)。考虑吸烟是已确认的冠心病危险因素,且与 HO-1 基因型存在明显交互作用,故按个体的吸烟状况进行分层,进一步分析各不同基因型与吸烟的交互作用及其对冠心病发病风险的影响,结果发现,以 SS 基因型为参照,SL+LL 基因型与吸烟交互作用明显(表 4)。

表 3 基因型与各危险因素交互作用情况

危险因素	OR	95% CI	P
高血压	1.552	1.045-2.304	0.029
糖尿病	1.727	1.018-2.928	0.042
高脂血症	1.489	0.953-2.326	0.081
家族史	1.743	0.901-3.371	0.098
吸烟	1.790	1.110-2.886	0.016

表 4 不同基因型与吸烟的交互作用

吸烟	冠心病组 (n=300)	对照组 (n=182)	OR	95% CI
不吸烟			1	
SS	17(5.67%)	17(9.34%)		
SL+LL	110(36.67%)	95(52.20%)	1.158	0.560-2.393
吸烟				
SS	22(7.33%)	10(5.49%)	2.200	0.805-6.012
SL+LL	151(50.33%)	60(32.97%)	2.517	1.206-5.253

3 讨论

HO-1 基因启动子多态性与多种氧化应激介导的疾病相关,如原发性高血压、糖尿病。Chen 等^[7]在台湾人群中研究发现 HO-1 启动子区 (GT)_n 重复序列多态性与糖尿病合并冠心病易感性相关联。Chen 等^[8] 和王迎洪等^[9] 也发现 HO-1 启动子区 (GT)_n 重复序列多态性与冠状动脉狭窄程度以及支架术后血管造影再狭窄相关。本研究探索 HO-1 基因启动子多态性与广东潮汕人群冠心病易感性间的关联,结果发现等位基因、基因型频率在冠心病与对照组中分布差异无显著性,提示独立的 HO-1 启动子区 (GT)_n 重复序列多态性与冠心病风险无关。这一结果与张英等^[10] 发现短重复次数增加个体冠心病患病风险的结果不同,可能与研究的人群相关。另外,基因型与高血压、糖尿病、吸烟存在交互作用,明显增加冠心病风险,提示个体在伴随高血压、糖尿病及吸烟等危险因素存在的情况下,患病风险增加。因此,在同等应激水平或者相同危险因素作用下,HO-1 基因启动子区 (GT)_n 重复序列多态性可作为一个易感风险评估多态标记。

与基因型交互作用的高血压、糖尿病、吸烟均能增加氧化应激水平。糖尿病通过胰岛素抵抗,高血

压造成内源性超氧阴离子和过氧化氢堆积,吸烟个体通过烟雾中的高浓度氧自由基和氧化剂加强氧化应激水平。在交互作用的危险因素中,又以吸烟最为显著,SL+LL 基因型与吸烟交互作用 OR 值可达 2.517,提示吸烟同时携带 L 等位基因个体是非吸烟与非 L 等位基因携带个体发病风险的 2.5 倍。这一现象,可能与吸烟产生大量氧自由基影响高血压、高密度脂蛋白水平降低的同时,还可以引发炎症反应,携带 L 基因型,HO-1 基因表达受限,HO-1 抗氧化应激、抗炎作用减弱,则增加冠心病发病风险。因此,长期暴露于二手烟烟雾的个体,携带 L 基因型者,须警惕冠心病发病风险的提高,对于冠心病患者,通过戒烟,尤其是对于携带有危险基因型的群体,也许可以降低冠心病的发病。

综上所述,HO-1 基因启动子区 (GT)_n 重复序列多态性增加潮汕人群伴危险因素个体冠心病发病风险,危险因素中又以吸烟作用最为显著。然而,冠心病属多基因、复杂性疾病,是由多个基因的累加作用和某些环境因子作用所致。因此,研究多基因、基因-基因、基因-环境危险因素间的交换作用,为全面解析冠心病易感性提供证据。

[参考文献]

- [1] Wang CY, Chau LY. Heme oxygenase-1 in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical perspectives [J]. *Chang Gung Med J*, 2010, 33 (1): 13-24
- [2] Exner M, Minar E, Wagner O, et al. The role of heme oxygenase-1 promoter polymorphisms in human disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 2004, 37 (8): 1097-104
- [3] Harrison DG, Gongora MC. Oxidative stress and hypertension [J]. *Med Clin North Am*, 2009, 93 (3): 621-635
- [4] Buttgerit F, Bumester GR, Lipworth BJ. Inflammation, glucocorticoids and risk of cardiovascular disease [J]. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 2009, 5 (1): 18-19
- [5] Chen SM, Li YG, Wang DM. Study on changes of heme oxygenase-1 expression in patients with coronary heart disease [J]. *Clin Cardiol*, 2005, 28 (4): 197-201
- [6] 陈宋明,李玉光,王东明,等. 冠心病患者外周血白细胞血红素氧合酶 1 的表达与冠状动脉病变程度有关 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, 12 (5): 581-584
- [7] Chen YH, Lin SJ, Lin MW, et al. Microsatellite polymorphism in promoter of heme oxygenase-1 gene is associated with susceptibility to coronary artery disease in type 2 diabetic patients [J]. *Hum Genet*, 2002, 111 (1): 1-8
- [8] Chen YH, Chau LY, Chen JW, et al. Serum bilirubin and ferritin levels link heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism and susceptibility to coronary artery disease in diabetic patients [J]. *Diabetes Care*, 2008, 31 (8): 1615-620
- [9] 王迎洪,马依彤,付真彦,等. 血红素加氧酶 1 基因启动子区多态性与冠心病的相关性及其对血清胆红素水平的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, 16 (10): 834-837
- [10] 张英,杨志惠,林燕,等. HO-1 基因启动子 (GT)_n 多态性对伴危险因素冠心病的影响 [J]. *山东医药*, 2008, 48 (1): 10-12

(此文编辑 文玉珊)