

[文章编号] 1007-3949(2011)19-01-0049-06

• 临床研究 •

# 增殖抑制基因单核苷酸多态性与原发性高血压的相关性

王佐广, 牛秋丽, 楼煜清, 刘雅, 刘洁琳, 刘阔, 文杰, 温绍君, 吴兆苏

(首都医科大学附属北京安贞医院 北京市心肺血管疾病研究所, 北京市 100029)

[关键词] 增殖抑制基因; 单核苷酸多态性; 原发性高血压

**[摘要]** **目的** 探讨增殖抑制基因第二内含子 7 个单核苷酸多态性位点与原发性高血压的相关性。**方法** 筛选正常血压人群 500 名和原发性高血压患者 930 名, 提取血中白细胞基因组 DNA 后设计特定的单核苷酸多态性引物进行定量多聚酶链反应, 通过荧光定量方法确定该基因是否存在某种特定的多态性位点。**结果** 7 个不同的单核苷酸多态性中有 3 种即 rs873457、rs2336384 和 rs4846085 的基因型频率在正常血压组和原发性高血压组之间存在明显的差别 ( $P < 0.05$ ), 分别为 TT:TC:CC = 21.8% : 46.6% : 31.6% / 22.3% : 53.0% : 24.3%、CC:CA:AA = 21.8% : 46.8% : 31.4% / 22.8% : 52.6% : 24.6% 及 TT:TC:CC = 22.6% : 46.4% : 31.0% / 23.4% : 51.8% : 24.7%, 等位基因频率在正常血压组与原发性高血压组之间也存在明显差别 ( $P < 0.05$ ), 分别为 T:C = 45.1% : 51.0% / 49.0% : 51.0%、C:A = 45.2% : 54.8% / 49.1% : 50.9% 及 T:C = 45.8% : 54.2% / 49.1% : 50.6%, 其余 4 个单核苷酸多态性位点在正常血压组和原发性高血压组之间不存在明显的差别。对不同性别进行分析后发现在男性正常血压组与原发性高血压组的 7 个单核苷酸多态性位点之间均存在着明显的差别 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 而在女性正常血压组与原发性高血压组之间没有明显差别 ( $P > 0.05$ )。相关性分析发现体质指数、年龄和基因型与血压之间存在着明显的相关性 ( $P < 0.05$ )。在进行了年龄和性别调整后, 回归分析发现体质指数和 rs873457 与血压密切相关。单倍体型分析发现 C-G-A-A-A-C-C (以 rs873457、rs2336384、rs1474868、rs4846065、rs4240897、rsrs2236055 和 rs873458 为序) 无论在总体人群、男性还是女性人群中, 均存在着明显的差别 ( $P < 0.01$ )。**结论** 增殖抑制基因的基因多态性与高血压尤其是男性高血压之间存在着明显的差别。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## Association of Single Nucleotide Polymorphism of Hyperplasia Suppressor Gene and Essential Hypertension

WANG Zuo-Guang NIU Qiu-Li LOU Yu-Qin LIU Ya LIU Jie-Ling LIU Kuang WEN Jie WEN Shao-Jun and WU Zhao-Su

(Beijing Anzhen Hospital, Attached to Capital Medical University &amp; Beijing Institute of Heart Lung Blood Vessel Diseases, Beijing 100029, China)

[KEY WORDS] Hyperplasia Suppressor Gene; Single Nucleotide Polymorphism; Essential Hypertension

**[ABSTRACT]** **Aim** To investigate the association between 7 single nucleotide polymorphisms in intron 2 of hyperplasia suppressor gene (HSG) and essential hypertension. **Methods** 500 normotensive subjects (NT group) and 930 essential hypertensive patients (EH group) were screened and DNA was acquired from white blood cells. Real-time quantitative PCR was used for the detection of 7 SNPs in intron 2 of HSG. **Results** The results showed that genotypes distribution and allelic frequency of rs873457, rs2336384 and rs4846085 were significantly different ( $P < 0.05$ ) between EH group and NT group. TT:TC:CC = 21.8% : 46.6% : 31.6% / 22.3% : 53.0% : 24.3% (rs873457), CC:CA:AA = 21.8% : 46.8% : 31.4% / 22.8% : 52.6% : 24.6% (rs2336384), TT:TC:CC = 22.6% : 46.4% : 31.0% / 23.4% : 51.8% : 24.7% (rs4846085) for genotypes distribution frequency and T:C = 45.1% : 51.0% / 49.0% : 51.0% (rs873457), C:A = 45.2% :

[收稿日期] 2010-10-25

[基金项目] 国家 863 高技术项目基金资助 (2008AA02Z441); 北京市自然科学基金 (7102045)

**[作者简介]** 王佐广, 博士, 助理研究员, 医师, 主要从事心血管疾病的临床与基础研究工作, Email 为 wzg70@hotmail.com。刘雅, 硕士, 助理研究员, 医师, 主要从事心血管疾病的临床与基础研究工作。通讯作者温绍君, 研究员, 博士研究生导师, 主要从事循环系统内分泌、高血压病的基础与临床工作。

54.8% /49.1% : 50.9% (rs2336384), T: C = 45.8% : 54.2% /49.1% : 50.6% (rs4846085) for allelic frequency.

When subgrouped by sex, the genotypes distribution and allelic frequency of all the SNP were significantly different in male ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) but not in female groups ( $P > 0.05$ ). Correlation analysis indicated that body mass index (BMI), age and genotype were related with essential hypertension. Logistic regression showed that BMI and rs873457 were closely associated with blood pressure after adjusting for age. The frequency of C-G-A-A-C-C haplotype was significantly higher in essential hypertensive patients verse control individuals either in entire population, in male or female group ( $P < 0.01$  for all). As for other haplotypes, most of haplotypes were only significantly different in the entire population and male subjects. **Conclusion** The genetic variations of HSG may be associated with essential hypertension in male Chinese.

血管异常增殖是原发性高血压 (EH) 比较常见的原因, 同时也是原发性高血压最常见的结果。但是其潜在的分子机制还不清楚。最早在 1997 年, 陈光慧等<sup>[1]</sup>从自发性高血压大鼠中分离出来一种可以抑制细胞增殖的基因, 后来被统一命名为增殖抑制基因 (HSG), 也称线粒体融合基因 2。该基因位于 1 号染色体的短臂, 属于大 GPT 结合蛋白家族。

研究发现, HSG 基因在自发性高血压大鼠的动脉血管平滑肌细胞 (VSMC) 和球囊损伤后增殖的 WKY 大鼠动脉中表达明显降低。而过表达的 HSG 可以明显抑制培养的 VSMC 增殖, 并能阻断球囊损伤所诱导的大鼠颈动脉 VSMC 增殖和再狭窄<sup>[1]</sup>。近来发现 HSG 的抗增殖作用是由 ERK/MAPK 信号通路介导并与随后的细胞周期顿抑有关<sup>[2-4]</sup>。因而, HSG 是一个具有细胞增殖抑制作用的基因, 而其功能的异常则会导致细胞增殖异常。同时, 作为二种线粒体融合蛋白中的一种<sup>[5,6]</sup>, HSG 可通过调节细胞内能量代谢、氧化磷酸化、钙信号转导异常以及凋亡等参与高血压和动脉硬化等一系列的病理生理学反应<sup>[7]</sup>。因此, 本研究在对 HSG 基因分析的基础上, 对与 HSG 基因表达调控密切相关的第二内含子上 7 个单核苷酸多态性 (SNP) 进行研究, 以期进一步揭示该基因与原发性高血压的相关性。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象选择

健康成年正常血压者 500 例, 年龄  $51.72 \pm 8.80$  岁; 原发性高血压患者 930 例, 年龄  $52.78 \pm 9.65$  岁。血压按 JNC-7 标准确定<sup>[8]</sup>。所有患者均为第一次诊断并经过临床确诊为原发性高血压, 未进行任何相关的抗高血压药物治疗, 无其他相关疾病如继发性高血压、应激状态、糖尿病及免疫系统疾病等。每周饮酒量小于 8.83 g, 每年吸烟量小于 1 包。排除体质指数 (BMI) 在  $30 \text{ kg/m}^2$  以上或者  $18.5 \text{ kg/m}^2$  以下者<sup>[9]</sup>。

### 1.2 血样和 DNA 抽提

抽取静脉血 5 mL, 收集无抗凝和 EDTA 抗凝血, 于  $4^\circ\text{C}$ 、1600 g 离心 20 min, 收集血清和血浆 -  $80^\circ\text{C}$  备用。DNA 的抽提使用美国 Gentra Systems 公司的 PURGENE 试剂盒, 然后贮存于  $-20^\circ\text{C}$  备用<sup>[10]</sup>。

### 1.3 基因型检测

选择 rs873457 (C/G)、rs2336384 (G/T)、rs1474868 (A/G)、rs4846085 (A/G)、rs4240897 (A/G)、rs2236055 (C/A) 和 rs873458 (C/T) 共 7 个多态性位点, 均位于第二内含子。所用 SNP 基因型检测试剂盒 C\_11461995\_10 (rs2336384) 购自 Applied Biosystems 公司, 引物和相关的双标记 G 和 T 特异性标记探针 (VIC 和 FAM 荧光标记) 也来自于该公司。约 5 ng 基因组 DNA 加入到终体积约为 5  $\mu\text{L}$  体系中。使用 9700 型高通量荧光定量 PCR 仪进行 PCR 反应。程序为  $95^\circ\text{C}$  变性 1 min,  $95^\circ\text{C}$  10 s,  $60^\circ\text{C}$  30 s 共 40 个循环。经 ABI HT 7900 型荧光扫描仪扫描。以 SDS 2.0 图像分析软件 Allelic Discrimination 程序进行终点分析, 通过检测不同等位基因所标的 FAM 和 VIC 荧光强度, 判断各待测样本基因分型为野生纯合子、突变纯合子还是杂合子。rs1474868 使用 C\_1267235\_20 试剂盒, rs4846085 使用 C\_1267226\_10 试剂盒, rs4240897 使用 C\_26207636\_10 试剂盒, rs2236055 使用 C\_15953632\_10 试剂盒, rs873458 使用 C\_8861262\_10 试剂盒<sup>[11]</sup>。

### 1.4 统计学方法

所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。基因型和等位基因频率与高血压的相关性采用  $\chi^2$  检验, 收缩压、舒张压和 BMI 等在不同组间的差别采用  $t$  检验。采用多元 Logistic 回归分析不同 SNP 在高血压中的效应。在对年龄进行调整后对正常血压组与原发性高血压组进行不同性别分析, 研究性别与基因多态性之间的相关性。所有的分析采用 SPSS v. 17.0 进行分析。多倍体分布频率分析采用  $\chi^2$  检验。病例对照单倍

体型分析、连锁不平衡分析以及 Hardy-Weinberg 平衡分析采用 HAPSTAT、Pro Version 3.0 进行分析,  $P < 0.05$  被认为统计学上存在明显差别<sup>[12]</sup>。

## 2 结 果

### 2.1 基本临床特征

正常血压组和原发性高血压组人群在年龄、甘

油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL)、血糖和血尿素氮、肌酐和尿酸水平之间不存在明显差别。原发性高血压组 BMI 总胆固醇 (TC) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL) 水平明显高于正常血压组 ( $P < 0.05$ ), 女性高血压患者与女性正常血压组之间也存在明显差别 ( $P < 0.01$ )。原发性高血压组收缩压和舒张压明显高于正常血压组 ( $P < 0.01$ ; 表 1)。

表 1. 不同血压水平组患者基本临床特征

Table 1. Basic clinical characteristics in patients of different blood pressure level groups

项 目	男 性 + 女 性		男 性		女 性	
	正常血压组 ( $n = 500$ )	EH 组 ( $n = 930$ )	正常血压组 ( $n = 297$ )	EH 组 ( $n = 589$ )	正常血压组 ( $n = 203$ )	EH 组 ( $n = 341$ )
年龄 (岁)	51.72 ± 8.80	52.78 ± 9.65	50.14 ± 7.68	51.16 ± 9.22	51.90 ± 8.09	53.44 ± 9.18
BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	21.87 ± 4.01	27.56 ± 2.72 <sup>a</sup>	21.36 ± 3.23	25.53 ± 3.41 <sup>a</sup>	23.68 ± 3.86	28.92 ± 2.13
收缩压 (mmHg)	114.54 ± 13.56	141.32 ± 14.96 <sup>b</sup>	104.34 ± 24.75	143.18 ± 21.21 <sup>b</sup>	106.13 ± 20.66	145.94 ± 14.08 <sup>b</sup>
舒张压 (mmHg)	76.77 ± 10.53	90.16 ± 11.12 <sup>b</sup>	81.38 ± 4.09	92.31 ± 9.66 <sup>b</sup>	73.51 ± 10.75	94.47 ± 11.76 <sup>b</sup>
TG (mmol/L)	1.89 ± 0.64	2.01 ± 0.73	1.32 ± 0.61	1.22 ± 0.77	1.24 ± 0.75	1.34 ± 0.49
TC (mmol/L)	4.62 ± 1.23	5.11 ± 1.76	4.18 ± 1.09	4.54 ± 1.36	4.86 ± 1.76	5.86 ± 1.57
HDL (mmol/L)	1.75 ± 0.63	1.79 ± 0.72	1.42 ± 0.54	1.51 ± 0.64	1.81 ± 0.74	1.53 ± 0.29
LDL (mmol/L)	1.77 ± 1.59	3.15 ± 1.43 <sup>b</sup>	2.28 ± 1.83	2.51 ± 1.46	2.23 ± 1.54	4.09 ± 1.49 <sup>b</sup>
血糖 (mmol/L)	4.09 ± 1.75	4.53 ± 1.67	4.37 ± 1.29	4.59 ± 1.64	4.46 ± 1.37	4.89 ± 1.43
尿素氮 (mmol/L)	5.14 ± 1.31	5.69 ± 1.53	5.25 ± 1.48	6.21 ± 1.87	5.36 ± 1.08	5.87 ± 1.56
肌酐 ( $\mu\text{mol}/\text{L}$ )	87.91 ± 13.26	91.25 ± 13.68	86.99 ± 14.74	91.95 ± 13.22	87.91 ± 16.08	92.99 ± 13.13
尿酸 ( $\mu\text{mol}/\text{L}$ )	84.44 ± 20.51	90.45 ± 16.66	85.62 ± 20.80	90.24 ± 16.07	85.77 ± 15.23	90.07 ± 15.65

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与正常血压组相比。

### 2.2 基因型和等位基因频率分布

正常血压组期望基因频率和实际观察频率均符合 Hardy-Weinberg 平衡。对基因型和等位基因频率的分析中发现, rs873457、rs2336384 和 rs4846085 三个 SNP 位点的基因型频率在正常血压组和原发性高血压组之间均存在着明显差别 ( $P < 0.05$ ), 分别为 TT:TC:CC = 21.8% : 46.6% : 31.6% / 22.5% : 53.0% : 24.5%、CC:CA:AA = 21.8% : 46.8% : 31.4% / 22.8% : 52.6% : 24.6% 及 TT:TC:CC = 22.6% : 46.4% : 31.0% / 23.4% : 51.8% : 24.7%。等位基因频率在正常血压组与原发性高血压组之间也均存在明显差别 ( $P < 0.05$ ), 分别为 T:C = 45.1% : 51.0% / 49.0% : 51.0%、C:A = 45.2% : 54.8% / 49.1% : 50.9% 及 T:C = 45.8% : 54.2% / 49.1% : 50.6%。其它 4 个 SNP 位点在正常血压组和原发性高血压组之间不存在明显差别。将正常血

压组和原发性高血压组按照男女性别进行分析后发现, 在男性的 7 个 SNP 位点之间均存在明显差别 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 而在女性正常血压者和高血压者之间没有明显差别 (表 2)。

### 2.3 单倍体型分析

在单倍体型分析中, 发现 C-G-A-A-A-C-C (以 rs873457、rs2336384、rs1474868、rs4846065、rs4240897、rs2236055 和 rs873458 为序) 无论在总体人群、男性还是女性人群中, 均为不同血压组之间差别最为明显的一个 ( $P < 0.01$ )。其它单倍体型也有明显差别, 但是主要表现在正常血压和高血压整体人群与男性中, 而女性正常血压和高血压组之间没有明显差别 (表 3)。

### 2.4 相关性分析

逐步回归分析发现, BMI 年龄和基因型与血压之间存在着明显的相关性 ( $P < 0.05$ ), 在进行了年龄和性别调整后, BMI 和 rs873457 与血压密切相关 (表 4)。

表 2. 7 个 HSG SNP 的基因型和等位基因频率在不同血压和性别人群中的分布

Table 2. 7 HSG SNPs genotype and allele frequencies distribution in different populations of blood pressure and gender

SNP	基因型	男性 + 女性			男 性			女 性		
		正常血压组 (n = 500)	EH 组 (n = 930)	P	正常血压组 (n = 297)	EH 组 (n = 589)	P	正常血压组 (n = 203)	EH 组 (n = 341)	P
rs873457	TT	109( 21. 8% )	209( 22. 5% )	0. 013	58( 19. 5% )	130( 22. 0% )	0. 005	51( 25. 1% )	79( 23. 2% )	0. 649
	TC	233( 46. 6% )	493( 53. 0% )		136( 45. 8% )	316( 53. 7% )		97( 47. 8% )	177( 51. 9% )	
	CC	158( 31. 6% )	228( 24. 5% )		103( 34. 7% )	143( 24. 3% )		55( 27. 1% )	85( 24. 9% )	
	T	451( 45. 1% )	911( 49. 0% )	0. 048	252( 42. 4% )	576( 48. 9% )	0. 010	199( 49. 0% )	335( 49. 1% )	0. 973
	C	549( 54. 9% )	949( 51. 0% )		342( 57. 6% )	602( 51. 1% )		207( 51. 0% )	347( 50. 9% )	
	OR		0. 856			0. 770			0. 996	
	95% CI		0. 733~ 0. 998			0. 631~ 0. 939			0. 779~ 1. 273	
rs2336384	CC	109( 21. 8% )	212( 22. 8% )	0. 020	59( 19. 9% )	135( 22. 9% )	0. 006	50( 24. 6% )	77( 22. 6% )	0. 686
	CA	234( 46. 8% )	489( 52. 6% )		137( 46. 1% )	313( 53. 1% )		97( 47. 8% )	176( 51. 6% )	
	AA	157( 31. 4% )	229( 24. 6% )		101( 34. 0% )	141( 23. 9% )		56( 27. 6% )	88( 25. 8% )	
	C	452( 45. 2% )	913( 49. 1% )	0. 047	255( 42. 9% )	583( 49. 5% )	0. 009	197( 48. 5% )	330( 48. 4% )	0. 966
	A	548( 54. 8% )	947( 50. 9% )		339( 57. 1% )	595( 50. 5% )		209( 51. 5% )	352( 51. 6% )	
	OR		0. 856			0. 768			1. 005	
	95% CI		0. 733~ 0. 998			0. 629~ 0. 936			0. 786~ 1. 286	
rs1474868	TT	94( 18. 8% )	187( 20. 1% )	0. 118	53( 17. 8% )	124( 21. 1% )	0. 036	41( 20. 2% )	63( 18. 5% )	0. 844
	TC	231( 46. 2% )	467( 50. 2% )		132( 44. 4% )	293( 49. 7% )		99( 48. 8% )	174( 51. 0% )	
	CC	175( 35. 0% )	276( 29. 7% )		112( 37. 7% )	172( 29. 2% )		63( 31. 0% )	104( 30. 5% )	
	T	419( 42. 1% )	841( 45. 2% )	0. 089	238( 40. 1% )	541( 45. 9% )	0. 019	181( 44. 6% )	300( 44. 02% )	0. 849
	C	581( 57. 9% )	1019( 54. 8% )		356( 59. 9% )	637( 54. 1% )		225( 55. 4% )	382( 56. 0% )	
	OR		0. 874			0. 787			1. 024	
	95% CI		0. 748~ 1. 021			0. 644~ 0. 962			0. 800~ 1. 312	
rs4846085	TT	113( 22. 6% )	218( 23. 4% )	0. 034	62( 20. 9% )	139( 23. 6% )	0. 011	51( 25. 1% )	79( 23. 2% )	0. 759
	TC	232( 46. 4% )	482( 51. 8% )		135( 45. 5% )	308( 52. 3% )		97( 47. 8% )	174( 51. 0% )	
	CC	155( 31. 0% )	230( 24. 7% )		100( 33. 7% )	142( 24. 1% )		55( 27. 1% )	88( 25. 8% )	
	T	458( 45. 8% )	918( 49. 4% )	0. 070	259( 43. 6% )	586( 49. 7% )	0. 015	199( 49. 0% )	332( 48. 7% )	0. 915
	C	542( 54. 2% )	942( 50. 6% )		335( 56. 4% )	592( 50. 3% )		207( 51. 0% )	350( 51. 3% )	
	OR		0. 867			0. 781			1. 013	
	95% CI		0. 743~ 1. 012			0. 641~ 0. 952			0. 793~ 1. 296	
rs4240897	TT	121( 24. 2% )	180( 19. 4% )	0. 098	82( 27. 6% )	110( 18. 7% )	0. 006	39( 19. 2% )	70( 20. 5% )	0. 642
	TC	243( 48. 6% )	476( 51. 2% )		142( 47. 8% )	298( 50. 6% )		101( 49. 8% )	178( 52. 2% )	
	CC	136( 27. 2% )	274( 29. 5% )		73( 24. 6% )	181( 30. 7% )		63( 31. 0% )	93( 27. 3% )	
	T	485( 48. 5% )	836( 44. 9% )	0. 069	306( 51. 5% )	518( 44. 0% )	0. 003	179( 44. 1% )	318( 46. 6% )	0. 416
	C	515( 51. 5% )	1024( 55. 1% )		288( 48. 5% )	660( 56. 0% )		227( 55. 9% )	364( 53. 4% )	
	OR		1. 154			1. 354			0. 903	
	95% CI		0. 989~ 1. 346			1. 111~ 1. 650			0. 705~ 1. 156	
rs2236055	TT	96( 19. 2% )	195( 21. 0% )	0. 131	52( 17. 5% )	129( 21. 9% )	0. 030	44( 21. 7% )	66( 19. 4% )	0. 774
	TC	228( 45. 6% )	456( 49. 0% )		132( 44. 4% )	286( 48. 6% )		96( 47. 3% )	170( 49. 9% )	
	CC	176( 35. 2% )	279( 30. 0% )		113( 38. 0% )	174( 29. 5% )		63( 31. 0% )	105( 30. 8% )	
	T	420( 42. 0% )	846( 45. 5% )	0. 074	236( 39. 7% )	544( 46. 2% )	0. 010	184( 45. 3% )	302( 44. 3% )	0. 739
	C	580( 58. 0% )	1014( 54. 5% )		358( 60. 3% )	634( 53. 8% )		222( 54. 7% )	380( 55. 7% )	
	OR		0. 868			0. 768			1. 043	
	95% CI		0. 734~ 1. 014			0. 629~ 0. 939			0. 815~ 1. 335	
rs873458	TT	81( 16. 2% )	121( 13. 0% )	0. 243	58( 19. 5% )	77( 13. 1% )	0. 016	23( 11. 3% )	44( 12. 9% )	0. 399
	TC	236( 47. 2% )	448( 48. 2% )		141( 47. 5% )	274( 46. 5% )		95( 46. 8% )	174( 51. 0% )	
	CC	183( 36. 6% )	361( 38. 8% )		98( 33. 0% )	238( 40. 4% )		85( 41. 9% )	123( 36. 1% )	
	T	398( 39. 8% )	690( 37. 1% )	0. 156	257( 43. 3% )	428( 36. 3% )	0. 005	141( 34. 7% )	262( 38. 4% )	0. 223
	C	602( 60. 2% )	1170( 62. 9% )		337( 56. 7% )	750( 63. 7% )		265( 65. 3% )	420( 61. 6% )	
	OR		1. 121			1. 336			0. 853	
	95% CI		0. 957~ 1. 313			1. 093~ 1. 634			0. 660~ 1. 102	

表 3. HSG 的 7 个 SNP 在正常血压和原发性高血压人群中单倍体型分析

Table 3. Haplotype analysis for 7 HSG SNPs in normotensive and hypertensive population

单倍型	男性 + 女性			男 性			女 性		
	正常血压组 (n = 500)	EH 组 (n = 930)	P	正常血压组 (n = 297)	EH 组 (n = 589)	P	正常血压组 (n = 203)	EH 组 (n = 341)	P
GTGGGAT	0.1368	0.1247	0.0000	0.1465	0.1374	0.0000	0.1284	0.1175	1.0008
GTGGGAC	0.0681	0.0804	0.0000	0.0587	0.0698	0.0000	0.0621	0.0654	1.0004
GTGGCAC	0.0041	0.0002	0.3095	0.0459	0.0538	0.0014	0.0089	0.0007	0.4527
GTAGGCT	0.0319	0.0255	0.0000	0.0468	0.0275	0.0004	0.0254	0.0361	1.0012
GTAAGCT	0.0045	0.0053	0.0169	0.0048	0.0059	0.0417	0.0087	0.0093	0.3651
CGGAGAC	0.0023	0.0007	0.0387	0.0081	0.0019	0.0972	0.0072	0.0097	0.5867
CGAAGAT	0.0045	0.0002	0.4360	0.0042	0.0000	0.4589	0.0058	0.0021	0.5519
CGAAACC	0.7782	0.7893	0.0000	0.6523	0.6814	0.0000	0.6917	0.7458	0.0000

表 4. 危险因素与血压相关性的多元回归分析

Table 4. Multiple regression analysis for risk factors associated with blood pressure

危险因素	Wald 值	P	OR	95% CI
男性 + 女性				
BM I	27.62	< 0.01	1.83	1.17~ 6.02
rs873457	54.78	< 0.01	1.07E6	32.14E3~ 4.98E7
男性				
BM I	38.06	< 0.01	3.71	3.57~ 7.59
rs873457	860.75	< 0.01	2.83E6	1.39E6~ 8.05E6
女性				
BM I	23.55	< 0.01	1.74	0.81~ 9.62
rs873457	708.78	< 0.01	3.371E6	8.62E5~ 9.19E6

### 3 讨 论

HSG 是一个新近发现的基因, 目前这方面的研究还比较少。2003 年我们通过对原发性高血压患者和正常血压人群的研究发现了两个新的 SNP 位点, 这两个位点可能与高血压的发病存在明显的相关性 (已经提交 NCBI SNP 数据库, 相关的参考序列为 ss4472758 和 ss5606974)。近来, 研究者们发现大约有 30 个多态性位点可能会导致 Charcot-Marie-Tooth 疾病<sup>[13]</sup>。目前, 已经发现 HSG 有 387 个 SNP 位点, 但是与高血压相关的 SNP 则没有报道。

在本研究中, 我们发现 3 个 SNP 即 rs873457、rs2336384 和 rs4846085 在正常血压人群和原发性高血压人群之间存在着明显的差别, 表明这 3 个多态性位点与高血压之间存在着明显的相关性。由于在对基因序列进行分析时发现第二内含子存在着大量的转录调控序列, 如 TATA 盒、CCAAT 盒以及转录起始位点。在以前的研究中, 我们发现 HSG 在高血压患者中低表达<sup>[14]</sup>, 因此, 这些处于内含子调控

区域的位点如果存在突变将很可能会引起 HSG 基因表达的调控异常, 从而激活 ERK MAPK 信号通路<sup>[15]</sup>, 并最终导致 VSMC 增殖以及血压增高。但是这种突变引起 HSG 基因表达下降、VSMC 增殖以及高血压的机制还需要进一步的研究。

我们以前的研究表明 HSG 不但可以抑制 ras 蛋白, 调节 ERK MAPK 信号通路, 同时也参与了线粒体融合的调控<sup>[11]</sup>。HSG 在调节线粒体的代谢、细胞凋亡、细胞器的形态以及细胞周期中均具有重要作用<sup>[16-17]</sup>。由于线粒体会生成细胞内绝大部分的过氧化物, 过氧化物的过度生成或者清除不足将会引起高血压和动脉硬化<sup>[18]</sup>。另外, 大量的研究也表明线粒体内钙的异常调控对于控制氧化磷酸化的速率、线粒体通透性的改变、细胞凋亡和胞浆钙释放也十分重要<sup>[19-20]</sup>。因此, 调控线粒体形态结构和功能的 HSG 突变更应该受到重视, 但是目前对于机制的研究比较少, 整体上还处于起步阶段。

本研究中, 男性正常血压者和原发性高血压患者的 7 个 SNP 存在着更为明显的差别。由于无论是整个人群、男性还是女性人群, 其基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡, 因此, 这种差异不应该是由于人群选择偏倚引起的。已经有研究发现在人类高血压中, 基因突变可能与性别之间存在着相互作用<sup>[21-24]</sup>。其原因可能是由于男性与女性相比更多地暴露于高血压危险因素如吸烟、大量饮酒, 更多地处于应激状态, 以及较少的体力活动等<sup>[25]</sup>, 而上述的 SNP 突变可能对于这些危险因素更为敏感, 因此, 男性与女性相比出现了不同的 SNP 差异。另外, 性激素的差异可能是另外的原因, 这方面还需要进一步的深入研究。多变量回归分析发现 rs873457 与高血压之间存在着明显的相关性。在本研究中, 有 6 个单倍体型与高血压明显相关, 由于基因型的

分布符合 Hardy-Weinberg 平衡, 因此, 正常血压组与高血压组之间单倍体型的差异不可能由人群选择偏倚或者其它因素引起, 最大可能就是这 6 个多倍体型与高血压之间存在着差别。

本研究是目前为止样本量最大、检测 HSG SNP 最多的一项研究, 发现了有 3 个 SNP 与整体人群高血压相关, 7 个 SNP 与男性高血压相关, 但与女性高血压无关。进一步的研究应该增加样本量, 检测更多的 SNP 位点, 并对可能的机制进行研究。

#### [参考文献]

- [1] Chen KH, Guo X, Ma D, et al. Dysregulation of HSG triggers vascular proliferative disorders [J]. *Nat Cell Biol* 2004; 6: 872-883.
- [2] Guo X, Chen KH, Guo Y, et al. Mitofusin 2 triggers vascular smooth muscle cell apoptosis via mitochondrial death pathway [J]. *Circ Res* 2007; 101: 1113-1122.
- [3] Xia Y, Wu Y, He X, et al. Effects of mitofusin-2 gene on cell proliferation and chemotherapy sensitivity of MCF-7 [J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2008; 28: 185-189.
- [4] de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 a mitochondria-shaping protein with signaling roles beyond fusion [J]. *Antioxid Redox Signal* 2008; 10: 621-633.
- [5] Herzig S, Martinou JC. Mitochondrial dynamics to be in good shape to survive [J]. *Curr Mol Med* 2008; 8: 131-137.
- [6] Liesa M, Palacin M, Zorzano A. Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease [J]. *Physiol Rev* 2009; 89: 799-845.
- [7] 王佐广, 温绍君, 吴兆苏. 氧化应激与高血压的相关性研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2009; 30: 581-584.
- [8] Lenfant C, Chobanian AV, Jones DW, et al. Seventh report of the Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7): resetting the hypertension sails [J]. *Hypertension* 2003; 41: 1178-1179.
- [9] Wang Z, Peng X, Tao Y, et al. Is prehypertension really different from normotension and hypertension? A case-control pilot proteomic study in Chinese [J]. *Clin Exp Hypertens* 2009; 31: 316-329.
- [10] Wang Z, Liu Y, Liu J, et al. A pilot study on level of blood vasoactive factors in prehypertensive and hypertensive patients [J]. *Clin Exp Hypertens* 2008; 30: 598-605.
- [11] Pmares E, Riera M, Pemanyer J, et al. Comprehensive SNP-chip for retinitis pigmentosa-Leber congenital amaurosis diagnosis: new mutations and detection of mutational founder effects [J]. *Eur J Hum Genet* 2010; 18: 118-124.
- [12] Cunningham MS, Kay C, Avery PJ, et al. STK39 polymorphisms and blood pressure: an association study in British Caucasians and assessment of cis-acting influences on gene expression [J]. *BMC Med Genet* 2009; 10: 135.
- [13] Carboni R, Martinou JC. Role of mitofusin 2 mutations in the physiopathology of Charcot-Marie-Tooth disease type 2A [J]. *Exp Neurol* 2009; 218: 268-273.
- [14] 刘亚萍, 温绍君, 刘雅, 等. 增殖抑制基因在原发性高血压患者血管平滑肌细胞增殖中的作用 [J]. *中华心血管病杂志*, 2007; 35: 914-918.
- [15] Guo YH, Chen K, Gao W, et al. Overexpression of Mitofusin 2 inhibited oxidized low-density lipoprotein induced vascular smooth muscle cell proliferation and reduced atherosclerotic lesion formation in rabbit [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363: 411-417.
- [16] Suen DF, Norris KL, Youle RJ. Mitochondrial dynamics and apoptosis [J]. *Genes Dev* 2008; 22: 577-590.
- [17] de Brito OM, Scorrano L. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria [J]. *Nature* 2008; 456: 605-610.
- [18] Jezek P, Plecit-Hlavat L. Mitochondrial reticulum network dynamics in relation to oxidative stress, redox regulation, and hypoxia [J]. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 1790-804.
- [19] Parekh A. Calcium signalling: mitofusins promote interorganellar crosstalk [J]. *Curr Biol* 2009; 19: R200-R203.
- [20] Koshiba T, Demer SA, Kaiser JJ, et al. Structural basis of mitochondrial tethering by mitofusin complexes [J]. *Science* 2004; 305: 858-862.
- [21] Russo P, Loguercio M, Lauria F, et al. Age- and gender-dependent association of the -344C/T polymorphism of CYP11B2 with blood pressure in European populations [J]. *J Hum Hypertens* 2007; 21: 333-336.
- [22] Chen W, Srinivasan SR, Li S, et al. Gender-specific influence of NO synthase gene on blood pressure since childhood: the Bogalusa Heart Study [J]. *Hypertension* 2004; 44: 668-673.
- [23] 顾菲菲, 吕树铮, 陈韵岱, 等. 冠状动脉临界病变患者临床特点及病变形态学的性别差异 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010; 18: 296-299.
- [24] Rana BK, Insel PA, Payne SH, et al. Population-based sample reveals gene-gender interactions in blood pressure in White Americans [J]. *Hypertension* 2007; 49: 96-106.
- [25] 周筱琼, 于小妹, 叶雄伟, 等. 高脂血症患者血浆致动脉硬化粥样硬化指数与血栓形成危险因子的相关性 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010; 18: 799-802.

(此文编辑 文玉珊)