

溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性与 中国北方人群脑血栓形成发病无关

赵 勇¹, 孙 慧², 马丽媛³, 王建春¹, 邵建华¹, 刘力生³

(1. 山东省立医院保健科, 山东省济南市 250021; 2. 济南市中心医院, 山东省济南市 250012;

3. 中国医学科学院 中国协和医科大学心血管病研究所 阜外心血管病医院, 北京市 100037)

[关键词] 流行病学; 溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性与脑血栓形成发病无关; 聚合酶链反应; 溶基质素 1; 启动子; 基因多态性; 脑血栓形成

[摘要] 为了解溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性与脑血栓形成之间的关系, 利用聚合酶链反应和分子杂交技术对该多态性在中国北方人群脑血栓患者(1 122 例)中的分布进行检测和分析, 并与无脑血管病变的人群(1 123 例)进行比较。结果发现, 5A/6A 多态性在两组人群中的分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律, 脑血栓患者中 5A5A、5A6A、6A6A 三种基因型频率分别为 2.50%、27.63% 和 69.88%, 对照组分别为 2.23%、26.18% 和 71.59%; 两组人群 5A 等位基因频率分别为 16.31% 和 15.32%, 均无统计学差异($P > 0.05$)。结果提示, 溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性不是中国人群脑血栓形成发病的遗传学标记物。

[中图分类号] R18

[文献标识码] A

5A/6A Polymorphism in the Promoter of Stromelysin-1 Gene Is Not Associated with Cerebral Thrombosis in Northern Chinese Population

ZHAO Yong¹, SUN Hui², MA Li-Yuan³, WANG Jian-Chun¹, SHAO Jian-Hua¹, and LIU Li-Sheng³

(1. Department of Gerontology, Shandong Provincial Hospital, Jinan 250021; 2. Jinan City Central Hospital, Jinan 250013; 3. Fuwai Heart Hospital, CAMS & PUMC, Beijing 100037; China)

[KEY WORDS] Stromelysin 1; Promoter; Gene Polymorphism; Cerebral Thrombosis; Allele Frequencies; Genotypes

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the relationship between 5A/6A polymorphism in the promoter of stromelysin-1 gene and cerebral thrombosis in Chinese population. **Methods** The stromelysin-1 promoter 5A/6A polymorphism in 1 122 patients with cerebral thrombosis and 1 123 controls were screened by polymerase chain reaction (PCR), and then corresponding probe hybridization was performed. **Results** The distribution of 5A/6A polymorphism was in agreement with Hardy-Weinberg Equilibrium in both patients and controls. The prevalence of 5A5A, 5A6A and 6A6A genotypes were 2.50%, 27.63% and 69.88% in patients, and 2.23%, 26.18% 71.59% in controls, respectively. No significant difference was observed between these two groups ($P > 0.05$). The 5A allele frequencies were 16.31% in patients, and 15.32% in controls. There is no dramatic distinction between cases and controls, either ($P > 0.05$). **Conclusion** 5A/6A polymorphism in the promoter of stromelysin-1 gene is not a genetic marker of cerebral thrombosis in Chinese population.

流行病学研究资料表明, 我国城乡脑卒中平均年发病率为 120~180/10 万, 年死亡率为 80~120/10 万。其中 75%~90% 为缺血性脑卒中^[1]。缺血性脑卒中包括脑血栓形成、脑栓塞和腔隙性脑梗死, 脑血栓形成 80% 发生在颈内动脉系统, 最常见的病因是动脉粥样硬化。脑梗死幸存者中, 颈动脉粥样硬化的超声检出率为 72.5%^[2]。国外研究发现, 溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性与颈动脉粥样硬化

发生有关^[3]。为揭示脑血栓形成的遗传学背景, 本文对 5A/6A 多态性在我国动脉粥样硬化性血栓性脑梗死患者中的分布进行了病例-对照研究。

1 对象与方法

1.1 研究对象

有临床症状的缺血性脑卒中患者 1 122 例, 非脑卒中对照者 1 123 例, 两组人群按照年龄(相差不超过 3 岁)、性别以及血压分级进行匹配。缺血性脑卒中患者均经 CT 或 MRI 证实, 并排除腔隙性脑梗死以及因瓣膜性心脏病、感染性心内膜炎、心房纤颤等原因引起的心源性脑栓塞; 血压测量采用汞柱式血

[收稿日期] 2004-02-07

[修回日期] 2004-07-01

[作者简介] 赵勇, 医学博士, 主治医师, 主要从事老年心脑血管病研究。孙慧, 住院医师, 现为山东大学齐鲁医院心血管内科在读博士研究生。马丽媛, 医学博士, 副教授, 主要从事心脑血管病研究。

压计,测量值取自入选本研究时未服降压药物的上午血压值,分级标准:0级为收缩压<140 mm Hg,舒张压<90 mm Hg;1级为收缩压>140 mm Hg、<180 mm Hg或舒张压>90 mm Hg、<105 mm Hg;2级为收缩压>180 mm Hg或舒张压>105 mm Hg。所有受试者均来自北京、河北、黑龙江、山东、山西、陕西和天津。

1.2 研究方法

取外周静脉血 5 mL,根据血细胞 DNA 快速提取法提取基因组 DNA。采用 PCR 技术扩增溶基质素 1 基因启动子区含有 5A/6A 多态性的核苷酸序列(所用引物由瑞士 Roche 药厂提供,产品批号 102099)。PCR 反应总容积为 50 μ L,反应条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 7 min;96 $^{\circ}$ C 变性 15 s,60 $^{\circ}$ C 退火 1.0 min,72 $^{\circ}$ C 延伸 1.25 min,循环 33 次;68 $^{\circ}$ C 延伸 5 min,10 $^{\circ}$ C 保温直至 PCR 反应管被移走。将扩增产物与生物素标记的溶基质素 1 基因探针进行杂交,经显色后判读多态性结果。

1.3 统计学方法

利用 SAS 6.12 统计软件对计量资料采用 student *t* 检验;计数资料采用 χ^2 分析, $P < 0.05$ 认为差异有显著性。

2 结果

2.1 病例组和对照组临床资料分析

病例组和对照组的年龄、性别比例、血压水平均无显著性差异(表 1, Table 1)。

表 1. 病例组和对照组的临床资料比较

Table 1. Comparison of demographic information between patients and controls

指 标	病例组 (<i>n</i> = 1 122)	对照组 (<i>n</i> = 1 123)
性别 (男/女)	689/433	692/431
年龄 (岁)	62.69 \pm 10.33	62.62 \pm 10.15
收缩压 (mm Hg)	145.69 \pm 22.90	145.12 \pm 23.18
舒张压 (mm Hg)	86.92 \pm 12.52	85.91 \pm 13.44
血压水平 (例)		
0 级	392	378
1 级	626	629
2 级	104	116

2.2 病例组和对照组溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性位点基因型和等位基因频率分布

病例组溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性位点基因型和等位基因频率分布与对照组均无明显差异。该多态性位点在两组人群中分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律(表 2, Table 2)。

表 2. 病例组和对照组溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性位点基因型和等位基因频率分布

Table 2. Distribution of genotype and allele of stromelysin-1 promoter 5A/6A polymorphism in patients and controls

		病例组 (<i>n</i> = 1 122)	对照组 (<i>n</i> = 1 123)
基因型	5A5A	28 (2.49%)	25 (2.23%)
	5A6A	310 (27.63%)	294 (26.18%)
	6A6A	784 (69.88%)	804 (71.59%)
等位基因	5A	366 (16.31%)	344 (15.32%)
	6A	1 878 (83.69%)	1 902 (84.68%)

3 讨论

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)家族分为间质胶原酶、溶基质素、明胶酶和弹性蛋白酶 4 个亚族。溶基质素 1 又称 MMP-3,其前体分子量为 51 kDa,至少含有 477 个氨基酸,蛋白结构分为 5 部分^[4]。活化后的溶基质素 1 有 45 kDa 和 28 kDa 两种形式,两者具有相同的底物特异性。溶基质素 1 的底物主要有蛋白纤维连接蛋白、层粘蛋白、多糖核心蛋白,通过降解基质成分导致斑块不稳定^[5]。

5A/6A 多态性位于溶基质素 1 基因启动子区 1612 位点。瞬时转染实验、脱氧核糖核酸酶足纹法和电泳迁移率改变分析表明,同 5A 位点相比,含 6A 启动子的溶基质素 1 基因核心 DNA 序列中结合状态的核蛋白因子较多,基因转录不活跃,启动子活性降低,动脉壁中溶基质素 1 表达能力较弱,因此血管壁基质分解代谢延缓,结缔组织积聚,斑块增厚,动脉管腔变窄。这可能是 5A/6A 多态性引起动脉粥样硬化的分子生物学机制^[6]。某些国外临床研究也证实,6A 等位基因不仅可能导致 60 岁以上人群升主动脉硬化^[7],而且与颈内动脉狭窄有关^[8]。

为进一步明确溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性是否是脑血栓形成的危险因素,本文进行了此项病例-对照研究,结果发现脑血栓患者 5A5A、5A6A、6A6A 三种基因型频率分别为 2.50%、27.63% 和 69.88%,对照组为 2.23%、26.18% 和 71.59%;两组人群 5A 等位基因频率分别为 16.31% 和 15.32%,均无统计学差异,未能证实溶基质素 1 基因启动子区 5A/6A 多态性与脑血栓形成发病有

关。另外, 来自美国^[9]和台湾^[10]的研究表明, 5A 等位基因分布频率为 20% ~ 39%; 而本研究发现该位点在中国大陆人群分布频率为 15.3% ~ 16.31%, 较文献中报道的低, 这可能与样本人群的选择, 以及实验方法不同等因素有关。

[参考文献]

- [1] 周定标. 积极开展缺血性脑血管病的外科治疗. 中华神经外科杂志, 1999, 15 (3): 129-130
- [2] 郭毅, 周志斌, 李富康, 马可夫, 王晓萍. 脑梗死患者颈动脉斑块及其稳定性. 中国动脉硬化杂志, 2004, 12 (2): 186-188
- [3] Rauramaa R, Vaisanen SB, Luong LA, Schmidt-Trucksass A, Penttilä IM, Bourchard C, et al. Stromelysin 1 and interleukin 6 gene promoter polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20 (12): 2 657-662
- [4] Saus J, Quinones S, Otani Y, Nagase H, Harris ED Jr, Kurkinen, M. The complete primary structure of human matrix metalloproteinase-3 Identity with stromelysin. J Biol Chem, 1988, 263 (14): 6 742-745
- [5] 于 滢, 杨向红. 基质金属蛋白酶与动脉粥样硬化及斑块破裂的关系. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11 (6): 592-595
- [6] Ye S, Eriksson P, Hamsten A, Kurkinen M, Humphries SE, Henney AM. Progression of coronary atherosclerosis is associated with a common genetic variant of the human stromelysin 1 promoter which results in reduced gene expression. J Biol Chem, 1996, 271 (22): 13 055-060
- [7] Medley TL, Kingwell BA, Gatzka CD, Pillay P, Cole TJ. Matrix metalloproteinase-3 genotype contributes to age-related aortic stiffening through modulation of gene and protein expression. Circ Res, 2003, 92 (11): 1 254-261
- [8] Ghilardi G, Biondi ML, DeMonti M, Turri O, Guagnellini E, Scorza R. Matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-3 gene promoter polymorphisms are associated with carotid artery stenosis. Stroke, 2002, 33 (10): 2 408-412
- [9] Rundek T, Elkind MS, Pittman J, Bodur Albala B, Martin S, Humphries SE, et al. Carotid intima-media thickness is associated with allelic variants of stromelysin 1, interleukin 6, and hepatic lipase genes: the Northern Manhattan Prospective Cohort Study. Stroke, 2002, 33 (5): 1 420-423
- [10] Beyzade S, Zhang S, Wong YK, Day IN, Eriksson P, Ye S. Influences of matrix metalloproteinase-3 gene variation on extent of coronary atherosclerosis and risk of myocardial infarction. J Am Coll Cardiol, 2003, 41 (12): 213-137

(此文编辑 文玉珊)

• 征稿征订 •

欢迎向《中华现代眼科学杂志》和 《中华现代皮肤科学杂志》投稿

《中华现代眼科学杂志》和《中华现代皮肤科学杂志》为中华临床医学学会主办的医学专业学术刊物, 月刊, 具有 ISSN/CN 标准刊号。现已被中华首席医学网(www.shouxi.net), 全文收录。国内外读者可以在网上免费阅读杂志全文。两刊贯彻党和国家的卫生工作方针政策, 反映我国临床科研工作的重大进展, 促进国内外学术交流, 刊登眼科学、皮肤科学领域的科研成果和临床诊治经验、学术研究、技术改进、以及对临床有指导作用的专家评论, 等等。

《中华现代眼科学杂志》主要栏目: 论著、综述、临床医学、中西医结合、中医中药(专科经方验方)、新技术新材料、专题讲座、技术与方法、学术动态、国外研究进展、病例报告、误诊分析、经验交流、流行病学与人群防治、基层园地、保健知识讲座、专科检查与临床、药物与临床、专科护理等。

《中华现代皮肤科学杂志》主要栏目: 论著、综述、基础研究、临床与病理、美容外科、临床医学、中西医结合、中医中药、药物与临床、检验与临床、经验交流、病例报告、误诊分析、技术改进、预防医学、临床护理、医学教育、调查报告、会议纪要等。

两刊发表周期短, 免收审稿费。论文发表后颁发论文证书。对省/部级以上部门科研基金资助项目的论文优先刊登。欢迎投稿!

来稿请寄: 北京 100035-55 信箱编辑部收(来稿请注明所投杂志名称)

邮 编: 100035, 电话: 010-62245829, 62252528。

电子邮件: 《中华现代眼科学杂志》 yankexue@sohu.com

《中华现代皮肤科学杂志》 pifuke@sohu.com