

# CX3CR1基因多态性与冠心病的相关性

肖宏凯<sup>1</sup>, 金莉子<sup>1</sup>, 谢桂庭<sup>2</sup>, 陈剑<sup>1</sup>, 陈筱潮<sup>1</sup>, 徐明彤<sup>3</sup>

(1. 中山大学附属第五医院心血管内科, 广东省珠海市 519000; 2. 惠州市中心人民医院心血管内科, 广东省惠州市 516001; 3. 中山大学附属第二医院内分泌科, 广东省广州市 510120)

[关键词] Fractalkine CX3CR1; 基因多态性; 冠心病

[摘要] 目的 研究 Fractalkine受体 CX3CR1基因多态性(249V/I和 280T/M)与冠心病的相关性。方法 应用聚合酶链反应限制片段多态性方法对 139例冠心病患者和 90例对照者的 CX3CR1基因多态性进行分析, 比较 CX3CR1基因多态性在两组之间的差异性。结果 等位基因 I249在对照组中的分布频率明显高于冠心病组( $P < 0.05$ ); 冠心病组 280T/M 基因型和等位基因频率分布与对照组比较无显著性差异( $P > 0.05$ )。结论 Fractalkine受体 CX3CR1等位基因 I249变异可能与冠心病的发病危险性下降有关, CX3CR1基因多态性与中国南方汉族人群冠心病的发生存在相关性。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## A Study on Association of Fractalkine Receptor CX3CR1 Gene Polymorphism to Coronary Heart Disease

XIAO Hong-Kai<sup>1</sup>, JIN Li-Zi<sup>1</sup>, XIE Gui-Ting<sup>2</sup>, CHEN Jian<sup>1</sup>, CHEN Xiao-Chao<sup>1</sup>, and XU Ming-Tong<sup>3</sup>

(1. Department of Cardiovascular, the Fifth Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Zhuhai Guangdong 519000 China; 2. Department of Cardiovascular, Huizhou Municipal Central Hospital, Huizhou, Guangdong 516001, China; 3. Department of Endocrinology, the Secondary Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510120 China)

[KEY WORDS] Fractalkine CX3CR1; Gene Polymorphism; Coronary Heart Disease

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between Fractalkine receptor CX3CR1 gene polymorphism and coronary heart disease (CHD). **Methods** By polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), CX3CR1 gene polymorphism was analyzed in 139 CHD patients and 90 control individuals, and the distribution of CX3CR1 genotype was compared in CHD group and control group. **Results** The proportion of I249 allele was higher in control group than in CHD group (24.4% and 9.4%,  $P < 0.05$ ). There were no significant differences in 280T/M genotype frequencies and allele frequencies between CHD group and control group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion**

The I249 allele of the Fractalkine receptor CX3CR1 gene may be associated with a reduced risk of coronary heart disease; the CX3CR1 gene polymorphism is associated with CHD in Han nationality of South China.

目前认为, 遗传和环境危险因素在冠状动脉粥样硬化性心脏病的发病机制中起重要作用。越来越多的证据表明, 趋化因子 Fractalkine 及其受体 CX3CR1在炎症过程介导白细胞的游出、黏附和聚集, 对炎症的发生、发展起着重要作用, 可能参与动脉粥样硬化和心血管疾病的病理生理过程。本研究分析了汉族冠心病患者和对照者人群中 CX3CR1两个基因多态位点的多态性分布情况, 旨在探讨它与冠心病易感性的关系。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

我院心内科住院病人和部分参加我院健康体检者, 均为我国南方汉族人群, 并排除严重的肝、肾疾病和甲状腺功能紊乱。冠心病患者 139例, 其中男性 84例, 女性 55例, 年龄  $63.39 \pm 11.22$  岁, 符合以下任一项: ①冠状动脉造影证实一支或以上血管内径狭窄  $\geq 50\%$ ; ②急性心肌梗死; ③陈旧性心肌梗死。对照者 90例, 其中男性 52例, 女性 38例, 年龄  $60.47 \pm 13.80$  岁, 符合以下任一项: ①冠状动脉造影证实血管无病变; ②无冠心病相关的临床症状; ECG、运动平板试验、UCG 均正常的其它疾病住院患者或健康体检者。

### 1.2 全血基因组 DNA 提取

使用血细胞基因组纯化试剂盒 (Takara 公司)

[收稿日期] 2010-07-30 [修回日期] 2010-12-07

[作者简介] 肖宏凯, 硕士, 医师, 主要从事心血管病研究, Email 为 zixh@tom.com。金莉子, 硕士, 主治医师, 主要从事心血管病研究。陈筱潮, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心血管病电生理及介入治疗研究。

提取基因组 DNA。

### 1.3 CX3CR1基因多态性分析

PCR扩增 CX3CR1中含 249V/I和 280T/M 两个酶切位点的片段。上游引物为 5'-CCG AGG TCC TTC AGG AAA TCT-3', 下游引物为 5'-TCA GCA TCA GGT TCA GGA ACT C-3'。PCR 反应条件: 94℃预变性 1 min, 94℃变性 30 s, 50℃退火 40 s, 72℃延伸 55 s, 共 34个循环, 最后 72℃终末延伸 5 min, 4℃保存。PCR 产物经测序, 总长为 588 bp, NCBI上进行 BLAST, 确认为目的基因, 符合研究设计。分别使用限制性内切酶 Psp1406I和 Esp3I对 249V/I和 280T/M 的酶切位点进行酶切。结果显示, 249V/I多态位点中, VV 纯合子有 205 bp, 383 bp两个条带, II纯合子仅 588 bp一个条带, VI杂合子有 205 bp, 383 bp, 588 bp三个条带; 280T/M 多态位点中, TT纯合子有 297 bp, 216 bp, 75 bp三个条带, MM 纯合子有 372 bp, 216 bp两个条带, TM 杂合子有 372 bp, 297 bp, 216 bp, 75 bp四个条带(图 1)。

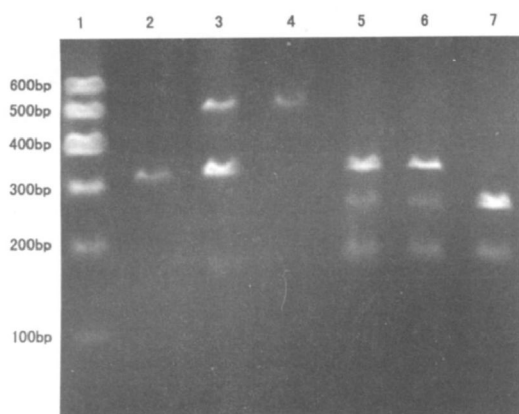


图 1 CX3CR1基因 249V/I和 280T/M 酶切电泳图谱 泳道 1为 DNA marker 泳道 2-4分别为 VV 基因型、VI基因型和 II基因型; 泳道 5和 6为 TM 基因型, 泳道 7为 TT基因型。

### 1.4 统计学方法

计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 *t* 检验; 计数资料比较采用  $\chi^2$  检验, 采用 Logistic 回归分析比较基因型与冠心病的相关性, 其关联性用比值比 (OR) 和 95% 可信度 (95% CI) 表示, 显著性水准为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 临床资料比较

两组性别、年龄构成和糖尿病患病率以及甘油三酯 (TG) 水平未见明显差异 ( $P > 0.05$ )。冠心病组高血压患病率和吸烟比例明显高于对照组, 而低

密度脂蛋白胆固醇 (LDLC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL) 水平明显低于对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ; 表 1)。

### 2.2 Hardy-Weinberg平衡

对冠心病组与对照组的 CX3CR1 基因多态性进行 Hardy-Weinberg 平衡检验, 两组之间不存在显著性 ( $P = 0.5630$ ), 说明群体基因遗传平衡来自同一孟德尔群体。

### 2.3 CX3CR1两个多态位点的基因型分析

两组 CX3CR1 基因 249V/I 多态性等位基因频率和基因型频率差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ; 表 2), 而 CX3CR1 基因 280T/M 多态性等位基因频率和基因型频率差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ; 表 3)。多因素 Logistic 回归分析显示, CX3CR1 多态位点 249V/I 多态性与冠心病有关联, VI 和 II 基因型在非冠心病患者中的分布明显增多, 并独立于冠心病其余危险因素, 其差异有统计学意义 (OR = 0.260, 95% CI 为 0.105~0.645,  $P = 0.004$ ), 而 280T/M 多态性与冠心病无关联 (OR = 1.748, 95% CI 为 0.552~5.538,  $P = 0.342$ )。

表 1 一般临床资料比较

项 目	冠心病组	对照组
男/女(例)	84/55	52/38
年龄(岁)	63.39 ± 11.22	60.47 ± 13.80
高血压	61.4% <sup>a</sup>	44.9%
糖尿病	17.1%	11.2%
吸烟	51.4% <sup>b</sup>	26.5%
总胆固醇 (mmol/L)	4.77 ± 1.15	5.04 ± 1.20
TG (mmol/L)	1.77 ± 1.52	1.65 ± 1.15
LDLC (mmol/L)	2.97 ± 0.93 <sup>a</sup>	3.26 ± 1.86
HDL (mmol/L)	1.14 ± 0.29 <sup>b</sup>	1.31 ± 0.35

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

## 3 讨论

研究表明, Fractalkine (Fkn) 是一种膜结合型趋化因子, 含 373 个氨基酸残基、分子量约 95 kDa。膜结合型 Fkn 由四部分组成: 趋化功能区、粘蛋白样茎、跨膜区和胞内区。大多数的 Fkn 表达在活化的内皮细胞表面, 既有趋化作用又有黏附功能。Imai 等研究发现 CX3CR1 是 Fkn 的高亲和力受体, 属于趋化因子受体超家族, 具有 7 次跨膜 G 蛋白偶联结构域。CX3CR1 表达细胞能迅速与膜结合型 Fkn 或

表 2 CX3CR1 基因 249V /I 基因型分布

分 组	基因型 (例)				等位基因频率	
	VV	VI	II	VI+ II	V	I
冠心病组	126 ( 90 . 6% ) <sup>a</sup>	13 ( 9 . 4% ) <sup>a</sup>	0 ( 0% ) <sup>a</sup>	13 ( 9 . 4% ) <sup>b</sup>	0 . 953 <sup>a</sup>	0 . 047 <sup>a</sup>
对照组	68 ( 75 . 6% )	19 ( 21 . 1% )	3 ( 3 . 3% )	22 ( 24 . 4% )	0 . 861	0 . 139

a为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; b为  $P < 0.01$ , 两组间 VV 基因型与 VI+ II 基因型比较。

表 3 CX3CR1 基因 280T /M 基因型分布

分 组	基因型 (例)				等位基因频率	
	TT	TM	MM	TM + MM	T	M
冠心病组	129 ( 92 . 8% )	10 ( 7 . 2% )	0 ( 0% )	10 ( 7 . 2% )	0 . 964	0 . 036
对照组	81 ( 90 . 0% )	9 ( 10 . 0% )	0 ( 0% )	9 ( 10 . 0% )	0 . 950	0 . 050

Fkn表达细胞高亲和力结合,参与白细胞向炎症组织的游走。CX3CR1跨膜区存在 5个单核苷酸多态性位点的遗传变异,其中 2个遗传突变子 249V /I和 280T /M 在受检人群中出现频率分别为 25 . 7% 和 13 . 5%。研究表明 249V /I和 280T /M 存在连锁不平衡,249V /I和 280T /M 两个多态位点的变异对 CX3CR1和 Fkn的亲和力产生明显影响,从而影响炎症过程中白细胞的游走、黏附和聚集,对冠心病患者动脉粥样硬化的发生发展密切相关<sup>[1]</sup>。

近年来国外学者针对 CX3CR1基因多态性与动脉粥样硬化性疾病易感性的相关性进行了不同程度的探讨,有学者认为 CX3CR1的 249I等位基因和 280M 等位基因与急性冠状动脉综合征发生的危险性下降有关,并且独立于冠心病的危险因素,提示 249I等位基因的存在可能对冠心病患者的心血管病变起着保护作用<sup>[2-3]</sup>。但亦有学者报道 CX3CR1的 249I等位基因和 280M 等位基因变异可能与急性冠状动脉事件、脑卒中发生的风险增加有关<sup>[4-5]</sup>。这提示了对 CX3CR1在冠心病发生发展过程中的作用仍然存在很大争议。

在本研究中,我们检测了入选人群的 249V /I和 280T /M 多态性分布情况。结果发现冠心病组和对照组间 CX3CR1基因 249V /I多态位点的基因型和等位基因频率分布在两组间有显著性差异,249I等位基因在对照组中的分布明显增多。经多因素 Logistic回归分析,CX3CR1基因的 249I等位基因与冠心病发生的危险性下降明显相关,独立于冠心病其

他危险因素。而另一个多态位点 280T /M 的基因型和等位基因频率分布在两组间无显著性差异。

本研究提示 CX3CR1的 249V /I多态位点变异和冠心病的发病显著相关,249I等位基因的变异可能对冠心病患者的心血管病变起着保护作用。其潜在的可能机制为 249I等位基因的变异,导致了 CX3CR1表达减少,减弱了单核细胞与受损内皮细胞的相互作用,减少了动脉粥样硬化的发生<sup>[2]</sup>。可能鉴于样本量、地域和种族限制,以及冠心病发病基因的多样性,本研究尚未能发现 CX3CR1的 280T /M 多态位点与冠心病的相关性以及 CX3CR1多态性和不同冠状动脉病变程度间的关联。要更确切地显示 CX3CR1多态性与冠心病易感性的关系,尚需大样本、多临床中心的进一步研究。

[参考文献]

[1] 冯皓,郭葆玉.趋化因子受体 CX3CR1 的分子结构及生物学功能[J].国外医学·分子生物学分册. 2002 24 (6): 378-380

[2] Didier Moatti, Sophie Faure. Polymorphism in the fractalkine receptor CX3CR1 as a genetic risk factor for coronary artery disease[J]. Blood. 2001, 97: 925-928

[3] McDermott DH, Halecox JPI. Association between polymorphism in the chemokine receptor CX3CR1 and coronary vascular endothelial dysfunction and atherosclerosis[J]. Circ Res. 2001, 89: 401-407

[4] Stavros Apostolakis, Stavroula Baritaki. Effects of polymorphisms in chemokine ligands and receptors on susceptibility to coronary artery disease[J]. Thromb Res. 2007, 119 (1): 63-71

[5] Hidenori Hattori, Daisuke Ito, Norio Tanahashi et al. T280M and V249I polymorphisms of fractalkine receptor CX3CR1 and ischemic cerebrovascular disease[J]. Neuroscience Letters. 2005, 374: 132-135

(此文编辑 文玉珊)