

[文章编号] 1007-3949(2011)19-12-1037-06

• 流行病学研究 •

中国汉族人群基质金属蛋白酶 9 基因 -1562C > T 多态性与冠心病易感性的 Meta 分析

张步春, 周志文, 徐亚伟

(同济大学附属第十人民医院心内科, 上海市 200072)

[关键词] 冠心病; 基质金属蛋白酶 9; 基因多态性; 中国汉族人群; Meta 分析

[摘要] 目的 综合评价中国汉族人群基质金属蛋白酶 9 基因 -1562C > T 多态性与冠心病易感性相关。方法 通过文献检索收集 2010 年 12 月以前完成或发表的中国汉族人群基质金属蛋白酶 9 基因 -1562C > T 多态性与冠心病相关性的病例对照研究, 剔除不符合要求的文献, 以漏斗图检验入选文献的偏倚, 并根据各入选文献结果的同质性检验结果进行数据合并, 计算总 OR 值, Meta 分析采用 Revman5.0 及 Stata10.0 统计软件。结果 共 7 篇文献符合条件纳入研究, 入选文献无明显偏倚, Meta 分析显示 TT + CT 基因型比 CC 基因型 OR = 1.47 (95% CI 为 1.20 ~ 1.78, $P=0.0001$); T 等位基因比 C 等位基因 OR = 1.41 (95% CI 为 1.17 ~ 1.69, $P=0.0002$); CC 基因型比 CT + TT 基因型 OR = 0.68 (95% CI 为 0.55 ~ 0.82, $P<0.0001$); CT 基因型比 CC + TT 基因型 OR = 1.45 (95% CI 为 1.19 ~ 1.77, $P=0.0002$)。结论 基质金属蛋白酶 9 基因 -1562C > T 多态性与中国汉族人群冠心病易感性相关, T 等位基因可能是冠心病遗传危险因素。

[中图分类号] R18

[文献标识码] A

Association of -1562C > T Polymorphism of Matrix Metalloprotein-9 Gene and Coronary Artery Disease in Chinese Han Population: a Meta-analysis

ZHANG Bu-Chun, ZHOU Zhi-Wen, and XU Ya-Wei

(Department of Cardiology, The Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China)

[KEY WORDS] Coronary Artery Disease; Matrix Metalloprotein-9; Gene Polymorphism; Chinese Han Population; Meta-analysis

[ABSTRACT] **Aim** Association between the -1562C > T single nucleotide polymorphisms of matrix metalloprotein-9 gene and the occurrence coronary artery disease in Chinese Han population was studied. **Methods** Case-control studies published before 31 Dec. 2010 about the association of matrix metalloprotein-9 gene -1562C > T polymorphism and coronary artery disease in Chinese Han population were searched, all the literatures were evaluated and abstracted based on the defined selection criteria by two independent investigators. Publication bias was tested by funnel plot and the odd ratios of all studies were combined dependent on the result of heterogeneity test among the individual studies. The software Review Manager (version 5.0) and Stata (version 10.0) were used for meta-analysis. **Results** Seven studies were analyzed, there was no publication bias in 7 reviewed studies. The summarized odds ratios of TT and CT genotype combination versus CC genotype across all 7 studies was OR = 1.47 (95% CI was 1.20 ~ 1.78, $P=0.0001$); T genotype versus C genotype was OR = 1.41 (95% CI was 1.17 ~ 1.69, $P=0.0002$); CC genotype versus TT and CT genotype combination was OR = 0.68 (95% CI was 0.55 ~ 0.82, $P<0.0001$); CT genotype versus CC and TT genotype combination was OR = 1.45 (95% CI was 1.19 ~ 1.77, $P=0.0002$). **Conclusions** In Chinese Han population, -1562C > T polymorphism in matrix metalloprotein-9 gene is associated with susceptibility of coronary artery disease and T allele might be a risk factor for coronary artery disease.

基质金属蛋白酶 9 (MMP-9), 又称明胶酶 B, 定位于人 16 号染色体, 是 MMP 家族中的重要成员, 其

[收稿日期] 2011-03-13

[作者简介] 张步春, 博士研究生, 主治医师, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制, E-mail 为 zhangbc138@sina.com; 周志文, 博士, 主治医师, 研究方向为心血管疾病的基础与临床。通信作者徐亚伟, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为心血管疾病的介入治疗, E-mail 为 xuyaweicn@yahoo.com.cn。

可通过降解血管壁细胞外基质,影响动脉斑块的稳定性而与冠心病的发病密切相关,冠心病患者存在 MMP-9 高表达的现象^[1]。MMP-9 存在单核苷酸多态性(SNP),其启动子区的 -1562C>T 突变与 MMP-9 表达水平升高有关。由于基因多态性频率具有明显的种族异质性且不同研究间存在实验设计、病例选择标准和样本含量之间的差异,导致研究结论存在明显争议。近年国内外有较多 MMP-9 启动子区的 -1562C>T 多态性与冠心病相关性的研究,其中也存在各研究结果不一致的情况,如 Wang 等^[2]对 788 名经冠状动脉造影确诊的冠心病患者研究中,未发现 MMP-9 基因 -1562C>T 多态性与冠心病有相关性;Nuzzo 等^[3]对西西里 115 名急性心肌梗死患者、123 名健康对照组及 34 名百岁老人的研究发现,MMP-9 -1562C>T 基因型及 T 等位基因的分布频率无显著差异。为了综合分析 MMP-9 基因 -1562C>T 多态性与冠心病易感性的关系,并为预测人群冠心病发病和防治提供依据,我们应用 Meta 分析方法对以往研究结果进行综合定量评价,以期获得 MMP-9 基因 -1562C>T 多态性与冠心病发病关系的综合证据。

1 对象和方法

1.1 研究对象

收集公开发表的有关中国人 MMP-9 基因 -1562C>T 多态性与冠心病关系的研究资料,以冠心病患者为研究病例,诊断参照美国心脏病学会和协会诊断标准^[4],类型包括稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛、心肌梗死。以健康体检无冠心病证据的人群为对照组,通过分子生物学方法与技术检测研究病例和对照人群中 MMP-9 等位基因 C 和 T 的分布频率,以及 CC、CT 和 TT 基因型的构成比例,分析研究 MMP-9 基因 -1562C>T 多态性与冠心病的相关性。

1.2 资料来源

以“MMP-9”、“基因多态性”、“-1562C>T 基因”、“冠状动脉粥样硬化性心脏病”、“冠心病”、“心绞痛”、“心肌梗死”作为主题词,联合检索中国期刊全文数据库、重庆维普数据库、万方数据库以及优秀硕博论文库,获得全部有关 MMP-9 基因与冠心病相关性的中文文献;同时以“MMP-9”、“polymorphism”、“Coronary heart disease”、“stable angina pectoris”、“unstable angina”和“myocardial infarction”作为关键词联合检索 PubMed、Elsevier 西文数据库,获

得发表在国外期刊上的国内研究。检索时间为 1980 年 1 月 1 日至 2010 年 12 月 31 日。

1.3 文献纳入标准

原始资料为已公开发表及优秀硕士、博士学位论文数据库的文献;原始文献内容涉及中国汉族人群冠心病患者 MMP-9 基因 -1562C>T 多态性研究;原始文献研究方法均为病例对照研究,冠心病诊断以临床有明确稳定型心绞痛(SAP)、不稳定型心绞痛(UAP)、心肌梗死(AMI)病史,或冠状动脉造影至少有 1 支主要血管直径狭窄 $\geq 50\%$ 、或综合评估临床资料符合冠心病诊断,对照组为与患者无血缘关系的健康人群;病例组与对照组要有匹配方式,如年龄或性别的构成应基本相同;基因检测方法的标准统一,对照组基因型分布需符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律;原始文献直接提供了或可间接计算出统计指标比值比(OR);对于源人群相同、数据使用一致的文献,选择最初发表的一篇纳入分析。

1.4 数据提取与统计学处理

由 3 人分别评价文献的质量。采用 Revman5.0 统计软件包及 Stata10.0 统计软件包进行数据分析。观察指标分别采用 MMP-9 基因 -1562C>T 多态性 TT 和 CT 基因型比 CC 基因型、T 等位基因比 C 等位基因、CC 基因型比 CT 加 TT 基因型、CT 基因型比 CC + TT 基因型的 OR 值及其 95% 可信区间(CI)。首先对各研究对照组的基因型进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,不符合遗传平衡定律的文献予以剔除,以验证研究人群的代表性;绘制漏斗图评估发表偏倚。但是根据漏斗图的形状来判断有无发表偏倚主观性太强,为此采用检验效能较高的 Egger 回归分析来评价发表偏倚,以便更客观地进行发表偏倚评估;根据各个研究异质性检验结果,选用相应的数据合并方法。异质性检验采用 Q 检验,并给出 I^2 值。当 $P < 0.10$ 且 $I^2 > 50\%$ 时采用随机效应模型计算,否则采用固定效应模型进行数据合并。

2 结果

2.1 文献检索入选情况

共检索出 32 篇关于 MMP-9 基因 -1562C>T 多态性与冠心病相关性的文献,均为病例对照研究。其中 3 篇由同一研究单位完成,选其样本量较大且资料较为完整的 1 篇^[5];SCI 收录的英文文献 1 篇^[6];2 篇以冠心病患者冠状动脉病变支数为研究人群,不予入选;1 篇不符合遗传平衡定律,也不予入选。入选的 7 篇文献^[5-11]分别来自陕西、浙江、江

苏、湖南、山西、天津、浙江人群的研究。入选文献中,4 个研究^[5,7,10,11]中冠心病的诊断依据为冠状动脉造影结果阳性,另 3 个研究^[7,9,10]为冠状动脉造影结果阳性或有明确心肌梗死病史。入选研究的对照组均为经冠状动脉造影排除冠心病或健康体检人群中临床以及心电图等实验室检查无冠心病证据者。累计病例组 1022 例,对照组 912 例。入选研究病例

组和对照组的样本量、平均年龄、基因型分布、等位基因频率等详细资料见表 1 和表 2。

2.2 遗传平衡检验

各研究的基因型分别进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,入选的 7 项研究符合遗传平衡,7 篇文献对照组遗传平衡经 χ^2 检验均无显著差异 ($P > 0.05$;表 2)。

表 1. 纳入 Meta 分析文献的基本信息

Table 1. Basic information of the literatures incorporated into Meta-analysis

第一作者	发表时间	病例总数	对照总数	研究类型	诊断	地区	病例组年龄(岁)	对照组年龄(岁)
张 岩	2010	92	95	病例-对照	冠心病	陕西	54.5 ± 6.4	52.3 ± 6.9
雍粉娣	2010	128	106	病例-对照	冠心病 AMI	浙江	64 ± 10.4	61 ± 11.2
Hong Zhi	2010	762	555	病例-对照	冠心病 AMI	江苏	67.46 ± 9.61	69.90 ± 11.48
陈白玉	2007	90	70	病例-对照	UAP	湖南	59.2 ± 10.4	57.7 ± 10.2
王梅芳	2007	64	84	病例-对照	冠心病 AMI	山西	63.08 ± 13.3	62.55 ± 9.2
孟冬梅	2006	117	99	病例-对照	AMI SAP	天津	54.3 ± 8.1	56.4 ± 7.7
唐礼江	2005	101	105	病例-对照	ACS	浙江	64.1 ± 10.7	62.3 ± 11.2

表 2. 纳入 Meta 分析文献的基本信息及基因分布

Table 2. Basic information of the literatures and MMP-9 variant alleles distribution incorporated into Meta-analysis

第一作者	匹配方式	研究基础	病例组(例)			对照组(例)			病例组等位基因		对照组等位基因		χ^2 (对照组 H-W 检验)	多态性检测方法
			CC	CT	TT	CC	CT	TT	C	T	C	T		
张岩	年龄	医院	67	22	3	83	12	0	84.8%	15.2%	93.7%	6.3%	0.43	PCR-RFLP
雍粉娣	性别	医院	97	30	1	92	14	0	87.5%	12.5%	93.4%	6.6%	0.53	PCR-RFLP
	年龄 高血压 糖尿病 血脂													
Hong Zhi	性别 吸烟	医院	585	174	3	442	110	3	88.4%	50.2%	89.8%	50.3%	1.93	PCR-RFLP
	年龄 高血压 糖尿病 血脂													
陈白玉	性别 吸烟	医院	63	25	2	58	11	1	85.0%	51.1%	91.4%	50.7%	0.32	PCR-RFLP
	BMI													
王梅芳	年龄 高血压 糖尿病 血脂	医院	46	17	1	66	18	0	85.9%	50.8%	89.3%	50.0%	1.21	PCR-RFLP
	性别													
孟冬梅	年龄 性别	医院	91	26	0	80	18	1	88.9%	50.0%	90.4%	50.5%	0.00	PCR-RFLP
唐礼江	年龄 高血压 糖尿病 血脂 性别 吸烟	医院	73	27	1	91	13	1	86.1%	50.5%	93.3%	50.5%	0.47	PCR-RFLP

2.3 异质性检验

TT 和 CT 基因型比 CC 基因型的 OR 值 Q 检验统计量为 8.91, $P = 0.18$, $I^2 = 33$; T 等位基因比 C 等位基因的 OR 值 Q 检验统计量为 9.81, $P = 0.13$, $I^2 = 39$; CC 基因型比 CT + TT 基因型的 OR 值 Q 检验统计量为 10.25, $P = 0.11$, $I^2 = 41$; CT 基因型比 CC

+ TT 基因型的 OR 值 Q 检验统计量为 7.21, $P = 0.30$, $I^2 = 17$;按照 $\alpha = 0.10$ 水准认为各研究结果之间不存在显著异质性。

2.4 发表偏倚评估

使用 Stata10.0 软件对 TT + CT 基因型比 CC 基因型的文献数据进行漏斗图分析,发现各指标的图

形对称,所有点基本集中在漏斗中部(图1和表3)。Egger 检验 $P=0.159$,说明在整个研究中,没有明显的发表偏倚。

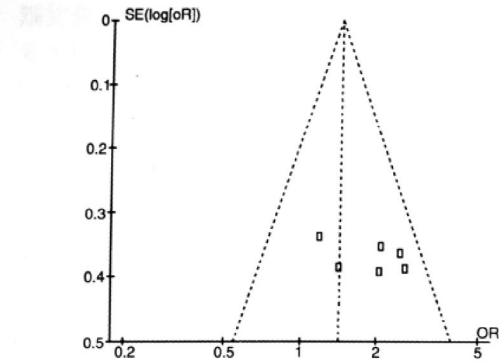


图1. MMP-9 基因 -1562C > T 多态性与冠心病易感性入选研究发表偏倚漏斗图

Figure 1. Funnel plot of studies about association of -1562C > T polymorphism with susceptibility of coronary artery disease

表3. 纳入试验的 Egger's 检验

Table 3. Egger's linear regression test of studies incorporated into Meta-analysis

参数	回归系数	标准误	t 值	P 值	95% CI
截距	-0.0574	0.117	0.49	0.645	-0.2434 ~ 0.3582
斜率	-0.1302	0.079	1.66	0.159	-0.0720 ~ 0.3325

2.5 Meta 分析

图2为MMP-9 基因 -1562C > T 等位基因携带者 TT + CT 基因型与 CC 基因型比较的森林图,结果显示 $OR = 1.47$ (95% CI 为 $1.20 \sim 1.78$, $P = 0.0001$);图3为T 等位基因与 C 等位基因比较的森林图,结果显示 $OR = 1.41$ (95% CI 为 $1.17 \sim 1.69$, $P = 0.0002$);图4为CC 基因型与 CT + TT 基因型比较 $OR = 0.68$ (95% CI 为 $0.55 \sim 0.82$, $P < 0.0001$);图5为CT 基因型与 CC + TT 基因型比较 $OR = 1.45$ (95% CI 为 $1.19 \sim 1.77$, $P = 0.0002$)。

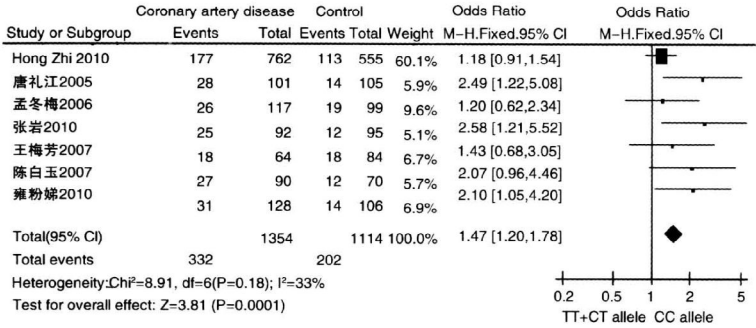


图2. MMP-9 基因 -1562C > T 位点 TT + CT/CC 多态性与冠心病易感性的关系

Figure 2. Meta-analysis of relation between MMP-9 gene -1562C > T polymorphism in dominant model (TT + TC/CC) and risk of coronary artery disease

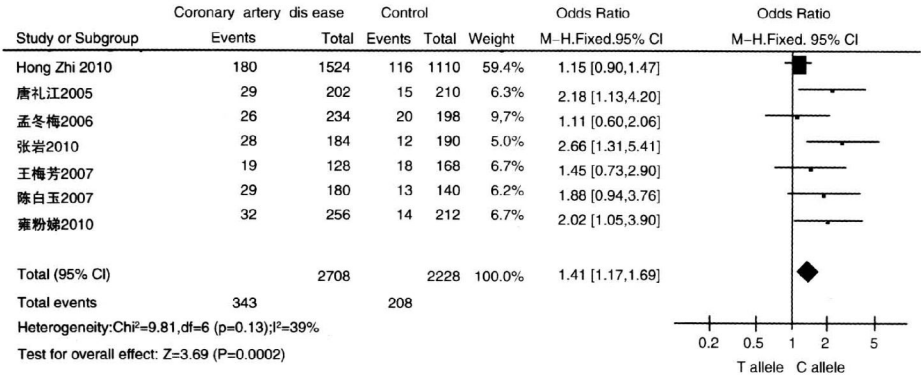


图3. MMP-9 基因 -1562C > T 位点 T/C 多态性与冠心病易感性的关系

Figure 3. Meta-analysis of relation between MMP-9 gene -1562C > T polymorphism in Codominant model (T/C) and risk of coronary artery disease

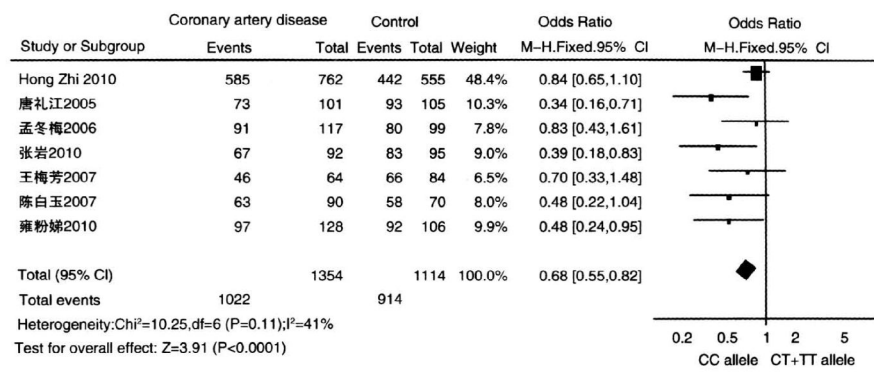


图 4. MMP-9 基因 -1562C > T 位点 CC/CT + TT 多态性与冠心病易感性的关系

Figure 4. Meta-analysis of relation between MMP-9 gene -1562C > T polymorphism (CC/CT + TT) and risk of coronary artery disease

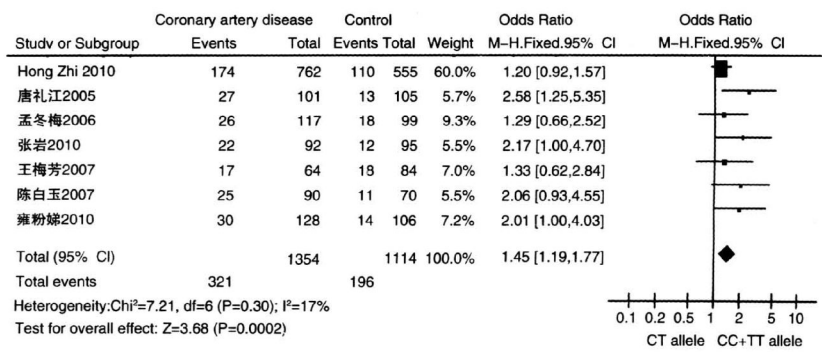


图 5. MMP-9 基因 -1562C > T 位点 CT/CC + TT 多态性与冠心病易感性的关系

Figure 5. Meta-analysis of relation between MMP-9 gene -1562C > T polymorphism (CT/CC + TT) and risk of coronary artery disease

3 讨 论

MMP-9 是 MMP 主要成员,是血管壁细胞表达和分泌最主要的 MMP,以前酶原的形式合成,分子量为 92 kDa,活化状态后为 8492 kDa,作用底物广泛,包括 I、Ⅲ、Ⅳ、V 型胶原及明胶、弹性蛋白等。IV 型胶原是粥样斑块基底膜和纤维帽的重要组成部分,MMP-9 可以高效降解 IV 型胶原,在血管再生、炎症反应、动脉粥样病变形过程中起关键作用。病理研究显示,在人和动物粥样硬化动脉中 MMP-9 的表达明显高于正常动脉,MMP-9 的分解活性多位于斑块肩区、脂质中心边缘及微血管形成区内^[12]。提示 MMP-9 可能与冠状动脉斑块稳定性和心肌梗死发病相关。

-1562C > T 多态性位于 MMP-9 基因的启动子部位,国外研究认为,该变异可从转录水平影响基因表达调控酶蛋白合成的数量,其机制可能是由于该突变位点正好位于该基因与其转录抑制蛋白结合的

区域内,当 C 突变为 T 后该结合区域的构型发生了变化,使基因与转录抑制蛋白结合能力下降,从而转录抑制作用减弱,最终表现为启动子活性增强,基因转录增强,MMP-9 表达量增加,导致细胞外基质的降解增加,使得冠状动脉破坏增加^[13]。Morgan 等^[14]研究也发现,T 等位基因的携带者在心肌梗死患者中比率升高。

本研究中共收录 7 篇文献,1022 例冠心病患者和 912 例对照人群被纳入。Meta 分析得出阳性的研究结果,被纳入的 7 项研究中冠心病组 TT + CT 基因型比 CC 基因型、CT 基因型比 CC + TT 基因型和 T 等位基因比 C 等位基因合并 OR 值分别为 1.47、1.41、1.45,均有统计学意义。研究结果表明中国汉族人群 -1562C > T 与冠心病的危险性增加有关,这与国内大多数研究结果一致。

本研究严格控制了纳入文献冠心病患者的诊断标准,最大限度地避免了误诊带来的偏差;同时还进行了 H-W 遗传平衡检验,将那些对照组不符合 H-W

遗传平衡定律的文献予以剔除,这样就保证了研究人群在遗传背景上的可比性。但是,本研究也存在一定的局限性:①本研究中,主要是以医院为基础的回顾性研究,死亡病例没有被纳入;②本次 Meta 分析只涉及单因素研究,未考虑到 MMP-9 基因多态性与环境因素的交互作用,而环境因素可能通过改变 MMP-9 基因的活性等途径影响个体对冠心病的易感性;可能存在一定的选择性偏倚,因此综合分析研究结论的普遍性也会受到一定程度的影响。

总之,通过本次 Meta 分析研究,进一步明确了中国汉族人群 MMP-9 基因 -1562C>T 与冠心病患病风险性增加有关,但由于入选研究之间存在差异和 Meta 分析方法学本身的不足,要完整准确地评价 MMP-9 基因多态性与冠心病易感性之间的关联,尚需更广泛的研究。

[参考文献]

- [1] Chen F, Eriksson P, Hansson GK, et al. Expression of matrix metalloproteinase 9 and its regulators in the unstable coronary atherosclerotic plaque [J]. *Int J Mol Med*, 2005, 15 (1): 57-65.
- [2] Wang J, Warzecha D, Wilcken D, et al. Polymorphism in the gelatinase B gene and the severity of coronary arterial stenosis [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2001, 101 (1): 87-92.
- [3] Nuzzo D, Vasto S, Balistreri CR, et al. Role of proinflammatory alleles in longevity and atherosclerosis: results of studies performed on -1562C/T MMP-9 in centenarians and myocardial infarction patients from Sicily [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1089 (11): 496-501.
- [4] Topol EJ, Califf RM, Prystowsky EN, et al. Textbook of cardiovascular medicine [M]. 3rd edition. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2007; 1628.
- [5] 陈白玉, 李熙芹, 何汉江, 等. 急性冠状动脉综合征患者基质金属蛋白酶 9 基因多态性 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15 (3): 209-212.
- [6] Zhi H, Wang H, Ren L, et al. Functional polymorphisms of matrix metalloproteinase-9 and risk of coronary artery disease in a Chinese population [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37 (1): 13-20.
- [7] 唐礼江, 陈晓锋, 朱敏, 等. 基质金属蛋白酶-9 基因多态性与急性冠状动脉综合征的关联研究 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2005, 22 (3): 313-316.
- [8] 孟冬梅, 毛用敏, 陈倩, 等. 基质金属蛋白酶基因多态性与冠心病的关系 [J]. *天津医药*, 2006, 34 (5): 295-298.
- [9] 王梅芳, 肖传实, 巩书文, 等. 基质金属蛋白酶-9 C-1562T 基因多态性与冠心病相关关系的初步研究 [J]. *临床血液学杂志*, 2007, 20 (1): 28-30.
- [10] 张岩, 王聪霞, 董新, 等. 基质金属蛋白酶 2、9 基因多态性与早发冠心病遗传易感性的研究 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2010, 31 (4): 429-433.
- [11] 雍粉娣, 施育平. 基质金属蛋白酶 9 基因多态性与冠心病的关系研究 [J]. 浙江大学 2010 硕士学位论文.
- [12] Speidl WS, Kastl SP, Hutter R, et al. The complement component C5a is present in human coronary lesions in vivo and induces the expression of MMP-1 and MMP-9 in human macrophages in vitro [J]. *FASEB J*, 2011, 25 (1): 35-44.
- [13] Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease [J]. *Circulation*, 2003, 107 (12): 1 579-585.
- [14] Morgan AR, Zhang B, Tapper W, et al. Haplotypic analysis of the MMP-9 gene in relation to coronary artery disease [J]. *J Mol Med*, 2003, 81 (5): 321-326.

(此文编辑 文玉珊)