

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.30.006

文章编号: 1005-8982(2017)30-0036-05

rs671 和 rs1801157 基因多态性与云南汉族人群心肌梗死的易感性分析*

刘萍¹, 光雪峰², 张富荣¹, 何亮¹, 杨麦巧¹, 王芳¹

(昆明医科大学附属延安医院 1.麻醉科, 2.心内科, 云南 昆明 650051)

摘要:目的 对云南高海拔地区汉族人群 rs671 和 rs1801157 单核苷酸多态性(SNP)进行分析,探讨其与心肌梗死(MI)易感性的关系。**方法** Sequenom MassArray 系统基因分型方法对 500 例云南高海拔地区汉族 MI 患者和 350 例对照组患者 rs671 和 rs1801157 的基因多态性进行检测,结合患者 CAD/MI 主要独立危险因素(性别、年龄、高血压、糖尿病、脂质浓度、肥胖程度、烟酒史及家族史等),分析 MI 与 SNP 变化之间的潜在关联性。**结果** rs671 和 rs1801157 基因型在 MI 组和对照组中达到遗传平衡($P>0.05$)。MI 组中 rs671AA、AG 及 A 等位基因频率与 rs1801157 的 GG、GA 及 G 等位基因均高于对照组,而 rs671 的 GG 基因型和 rs1801157 的 AA 频率、A 等位基因低于对照组($P<0.05$)。加性模型下,rs671 A 等位基因能增加 MI 的患病风险[OR=2.57(95%CI:1.96, 3.37) $P<0.05$],而 rs1801157 基因型 G 等位基因能增加 MI 的患病风险[OR=2.68(95%CI:1.84, 3.15) $P<0.05$];在显性模型下,rs671 A 等位基因能增加 MI 的患病风险[OR=3.69(95%CI:2.68, 5.08) $P<0.05$];在隐性模型下,rs671 和 rs1801157 与 MI 无相关,OR=3.86(95%CI:0.88, 17.03, $P=0.074$)和 2.06(95%CI:0.68, 4.89, $P=0.12$)。在非饮酒患者中 rs671 A 等位基因能增加 MI 的患病风险[OR=1.27(95%CI:1.05, 2.93) $P=0.032$];在饮酒患者中 rs671 A 等位基因不能增加 MI 的患病风险OR=1.58(95%CI:0.84, 1.87, $P=0.36$),在饮酒与否的患者中 rs1801157 均不增加 MI 的患病风险。**结论** rs671 和 rs1801157 位点的多态性变异与 MI 遗传易感性相关,rs671A 和 rs1801157 等位基因能增加 MI 患者的患病风险。

关键词: 心肌梗死;rs671;基因多态性;遗传易感性

中图分类号: R542.22

文献标识码: A

Correlation analysis of rs671 and rs1801157 polymorphisms and myocardial infarction in Han population of Yunnan province*

Ping Liu¹, Xue-feng Guang², Fu-rong Zhang¹, Liang He¹, Mai-qiao Yang¹, Fang Wang¹

(1. Department of Anesthesiology, the Affiliated Yan'an Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650051, China; 2. Department of Cardiology, the Affiliated Yan'an Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650051, China)

Abstract: Objective To investigate the potential correlation of single nucleotide polymorphism (SNP) of rs671 as well as rs1801157 and myocardial infarction (MI) in a group of Chinese Han population from Yunnan province. **Methods** Sequenom MassArray system genotyping was utilized to identify the polymorphisms of rs671 and rs1801157 in 500 MI patients as well as 350 healthy volunteers. The potential association between MI and SNPs was analyzed in addition to consideration of major independent risk factors such as gender, age, hypertension, diabetes, lipid concentration, obesity, smoking, drinking and family history. **Results** Genotypes of rs671 and rs1801157 were equally distributed in MI group and control group. Frequency of AA, A and AG

收稿日期:2017-04-10

* 基金项目:云南省应用基础研究计划(昆医联合专项)(No.2013FZ288)

[通信作者] 王芳, E-mail: yawangfang@163.com

genotype in rs671 of MI group was higher while GG genotype was lower significantly than that in control group ($P < 0.05$). Frequency of GG, GA and G genotype in rs1801157 of MI group was higher while AA and A genotype was significantly lower than that in control group ($P < 0.05$). In additive model, A allele of rs671 and G allele of rs1801157 increased risk of MI with OR equal to 2.57 (95% CI: 1.96, 3.37, $P < 0.05$). In dominant model, A allele of rs671 increased risk of MI with OR equal to 3.69 (95% CI: 2.68, 5.08, $P < 0.05$). In recessive model, no significant correlation between rs671 as well as rs1801157 and MI was observed with OR equal to 3.86 (95% CI: 0.88, 17.03, $P = 0.074$). A allele of rs671 increased risk of MI in non-drinking patients with OR equal to 1.27 (95% CI: 1.05, 2.93, $P = 0.032$), while no such association was observed in drinking patients with OR equal to 1.58 (95% CI: 0.84, 1.87, $P = 0.36$). No correlation was founded between drinking and rs1801157 polymorphism as MI risk factors. **Conclusions** Polymorphic variation of rs671 and rs1801157 is closely associated with susceptibility to MI in Chinese Han population of Yunnan province. Alleles of rs671 and rs1801157 are genetic risk factors of MI.

Keywords: myocardial infarction; rs671; gene polymorphism; susceptibility

冠状动脉粥样硬化性心脏病 (coronary artery disease, CAD)(冠心病)是多基因遗传病,在世界范围内致病率和致死率均居首位^[1]。研究证实,单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP)与 CAD 发生密切相关且成为目前研究的热点,尤其是由乙醛脱氢酶 2 (aldehyde dehydrogenase, ALDH2) 基因编码的 Glu504Lys(rs671)以及有基质细胞衍生因子 -1(stromal cell derived factor-1, SDF-1)编码的 rs1801157,在日本、韩国等研究报道 ALDH2 单核苷酸多态性与冠心病有关^[2-3],而 SDF-1 单核苷酸多态性与肿瘤等疾病有关,国内外研究结果已证实, SDF-1 A 等位基因频率在世界不同区域和人种中变化较大。但目前尚未见其与云南省汉族人群的相关报道^[4-5]。本研究通过对云南汉族人群心肌梗死 (myocardial infarction, MI)患者和对照组患者 rs671 和 rs1801157 基因多态性进行检测,探讨该人群中 SNP 与 MI 的关联性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

所有研究对象均来源于昆明市延安医院暨云南省心血管病医院,MI 组(500 例)为心脏大血管内科收治的符合世界卫生组织制定的 MI 诊断标准的心肌梗死患者,对照组(350 例)为其他科室收治的无冠心病患者,排除心脏性疾病以及潜在有影响的疾病如瓣膜性心脏病、心肌病、感染性疾病、肿瘤、甲状腺功能性疾病、自身免疫性疾病或结缔组织性疾病。均为 3 代以内居住在云南本地汉族居民,无血缘关系,同时收集性别、年龄、高血压、糖尿病、脂质浓度、肥胖程度、烟酒史及家族史等 MI 相关的主要危险因素。

1.2 DNA 提取

在签署知情同意书的原则下,采集 MI 组和对照组患者 EDTA 抗凝静脉血 5 mL,采用美国 OMEGA 公司提供的人全血基因组 DNA 提取试剂盒提取外周血基因组 DNA,置入 -20°C 冰箱冷冻保存。

1.3 引物设计合成

结合文献并采用 Assay Designer 3.1 软件进行引物设计。rs671 和 rs1801157 引物由北京华诺时代科技有限公司合成,rs671 正向引物:5'-ACGTTGGA TGTTGGTGGCTACAAGATGTCG-3',反向引物:5'-ACGTTGGATGAGTCCCACACTCACAGTTT-3'。退火温度 45.3°C ,PCR 产物 112 bp。rs1801157 正向引物:5'-ACACGTTGGATGTCACACTGCTGCTGCCTCAGCTC-3',反向引物:5'-ACGTTGGATGACCCCTTCTCCA TCCACAT-3'。退火温度 45.3°C ,PCR 产物 112 bp。

1.4 SNP 检测

SNP 分型采用 Sequenom Mass Array 系统基因分型,检测结果使用 Ttpcr 4.0 软件(sequenom)分型并输出结果。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 Hardy-Weinberg 平衡检验遗传平衡,基因频率计数法比较基因型和等位基因频率,采用 t 检验,两组间基因型和等位基因频率分布用 χ^2 检验,加性模型、显性模型和隐性模型下用多因素 Logistic 回归分析基因多态性与心肌梗死的关联性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般情况

两组间年龄、性别、糖尿病、高血压、肥胖、吸烟

及高脂血症等各项临床资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

2.2 哈温平衡检验

rs671 和 rs1801157 的基因型频数分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律 ($P>0.05$), 说明样本来源于遗传平衡的总体, 代表性较好, 2 个基因位点的电泳图见图 1。

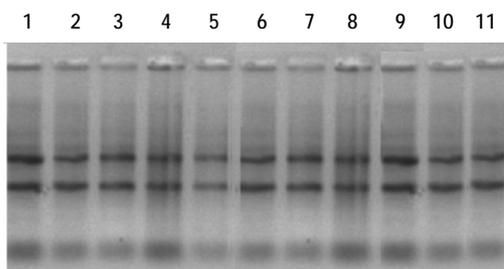
2.3 基因型和等位基因频率分布

MI 组 AA、AG 基因型、A 等位基因频率均高于对照组, 而 GG 基因型、G 等位基因频率低于对照组, 两组基因型分布差异有统计学意义 ($P<0.05$); 提示 rs671 A 等位基因可能是 MI 的危险等位基因。见表 2。

MI 组 AG、GG 基因型、G 等位基因频率高于对

表 1 研究对象一般情况

组别	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$)	女 / %	糖尿病 / %	高血压 / %	肥胖 / %	吸烟史 / %	饮酒史 / %	高脂血症 / %
MI 组 ($n=500$)	60.9 \pm 9.5	25.88	11.89	28.29	11.40	41.67	47.73	33.55
对照组 ($n=350$)	60.1 \pm 10.1	29.12	10.73	21.46	8.05	34.10	45.15	29.82
t/χ^2 值	0.482	0.482	0.482	0.482	0.482	0.482	0.482	0.482
P 值	0.239	0.347	0.234	0.064	0.150	0.063	0.249	0.064



1 ~ 5: rs671; 6 ~ 11: rs1801157

图 1 rs671 和 rs1801157 的电泳图谱

对照组, 而 AA 基因型频率、A 等位基因频率低于对照组差异有统计学意义 ($P<0.05$), 提示 rs1801157 等位基因可能是 MI 的危险等位基因。见表 3。

2.4 基因多态性与心梗易感性分析

采用多因素 Logistic 回归分析在加性、显性和隐性模型下进行 rs671 和 rs1801157 基因多态性与 MI 的易感性分析, 结果显示: 在加性模型下, rs671A 等位基因频率、rs1801157 G 等位基因频率与 MI 相关且能增加 MI 的患病风险; 在显性模型下, rs671 A 等位基因频率、rs1801157 G 等位基因频率与 MI 相关,

表 2 rs671 基因型频率及等位基因频率

rs671	基因型频率			等位基因频率	
	AA	AG	GG	A	G
MI 组	2.95 [†]	59.25 [†]	37.80 [†]	32.58 [†]	67.42 [†]
对照组	0.78	30.08	69.14	15.82	84.18
χ^2 值	16.541			32.527	
P 值	0.035			0.012	

注: [†] 与对照组比较, $P<0.05$

表 3 rs1801157 基因型频率及等位基因频率

rs1801157	基因型频率			等位基因频率	
	AA	AG	GG	A	G
MI 组	4.82 [†]	36.21 [†]	69.56 [†]	15.13 [†]	77.12 [†]
对照组	8.71	26.24	40.23	30.15	50.36
χ^2 值	6.433			28.961	
P 值	0.045			0.022	

注: [†] 与对照组比较, $P<0.05$

且能增加 MI 的患病风险; 在隐性模型下, rs671 A 等位基因频率、rs1801157 G 等位基因频率与 MI 无关。

表 4 不同模型下基因多态性与心梗易感性分析

模型类型	因素	b	S_e	Wald χ^2	95%CI		P 值
					下限	上限	
加性模型	rs671 A	2.572	0.567	49.238	1.961	3.369	0.000
	rs1801157 G	2.681	2.464	2.893	1.843	3.149	0.002
隐性模型	rs671 A	3.856	1.313	80.231	0.878	17.035	0.074
	rs1801157 G	1.583	0.967	1.235	0.841	1.873	0.36
显性模型	rs671 A	3.690	1.536	67.560	2.681	5.084	0.000
	rs1801157 G	2.890	1.253	12.364	1.679	4.676	0.023

见表 4。

2.5 饮酒、吸烟情况和心肌梗死多因素分析

采用多因素 Logistic 回归分析,以心肌梗死为应变量,以是否饮酒、吸烟为自变量,结果显示,饮酒、

吸烟可能会增加 rs671 A 等位基因患者患 MI 的风险,而 rs1801157 G 等位基因是否饮酒不会增加其 MI 患病风险,rs1801157 G 等位基因可能会增加吸烟患者患 MI 的疾病风险。见表 5。

表 5 饮酒、饮酒情况与心肌梗死的 Logistic 回归分析

变量	因素	b	S _b	Wald χ^2	95%CI		P 值
					下限	上限	
饮酒	rs671 A	1.272	0.921	12.560	1.053	2.931	0.0241
	rs1801157 G	1.082	0.858	1.204	0.931	5.643	0.081
吸烟	rs671 A	2.131	0.677	15.686	1.453	3.150	0.013
	rs1801157 G	2.510	1.010	11.412	1.322	2.453	0.030

3 讨论

CAD 及其严重临床类型 MI 是引起我国乃至世界人口死亡的主要原因,也是当今造成人类社会经济落后,人口寿命降低等的首要原因。目前,对于 CAD 及其严重临床类型心肌梗死研究的重点在于如何有效的预防和控制,降低其发病率和死亡率。2007 年以来,关于 CAD/MI 发病的研究深入到基因组学中,尤其是从分子基因角度方面阐述 CAD 的发病机制成为研究热点。目前研究证实,至少有 51 个相关基因位点与 CAD/MI 的发病有关,但只能解释约 10% 的基因遗传性,CAD/MI 的大部分遗传性仍未得到解答,仍需今后进行大量的研究探索。

rs671 是代谢限速酶 -ALDH2 基因第 12 个外显子内存在一个 SNP,全世界 6% 的人携带突变基因,在欧美等国家的白种人中突变率很低,在中、日或韩等东亚黄种人中突变率高达 30% ~ 50%。且突变的 rs671 是中、日、韩人群独立于传统危险因素和饮酒之外的急性冠状动脉综合征或 CAD 的危险因素,也是 CAD 的一个遗传易感基因位点^[6]。韩国和我国均报道 rs671 越来越多的证据提示 ALDH2 基因突变型是 CAD 的危险因素。国内外很多研究报道,rs1801157 位点 G 等位基因可能与 CAD 的发生有关,可能与 SDF-/CXCR4 生物轴发挥的作用有关,但是具体机制不是很清楚。研究证实,在云南的彝族、哈尼族、傣族等人群间 rs1801157 位点基因型和等位基因频率均有差异;同时与美国黑人和西班牙人相比,汉族人的突变率更高。

本研究结果显示,两组中 rs671 和 rs1801157 位点基因型在 MI 组和对照组中均达到遗传平衡,说明样本的代表性好,且前期样本量计算本研究样本

量较大。MI 组 rs671 基因的 A 等位基因频率高于对照组,G 等位基因频率低于对照组 ($P < 0.05$),而 rs1801157 A 等位基因频率低于对照组,G 等位基因频率高于对照组,研究结果与在山东地区研究一致,健康人群 ALDH2 基因突变率低于急性冠脉综合征患者的基因突变发生率;而 rs1801157 的汉族人群突变率高于鄂伦春族人群突变率^[7]。多因素 Logistic 回归分析结果提示,显性模型和加性模型下,rs671 A 等位基因、rs1801157 基因型 G 等位基因均能增加 MI 的患病风险;在隐性模型下,rs671 和 rs1801157 与 MI 无关。与云南人群研究结果一致,提示 rs671 A 和 rs1801157 等位基因是 MI 的危险等位基因。与国内大量的研究结果一致的是,Meta 分析^[8-9]证明 ALDH2 rs671 多态性和 rs1801157 能增加亚洲人群 CAD 和 MI 的患病风险;进一步研究证实 ALDH1b1 和 ALDH2 基因影响汉族人群 CAD 的发生、发展^[10]说明 ALDH2 和 SDF 基因突变是 ACS 患者预后不良(发生 MACE 事件和心源性死亡)的独立预测因素。目前研究证实,ALDH2 rs671 基因能影响饮酒行为,与饮酒行为呈强相关,尤其是 rs671 A 等位基因携带者的 ALDH2 活性比野生纯合型减低^[11-12],饮酒后引起乙醛在体内蓄积和代谢障碍,进而出现如恶心、呕吐、心动过速、呼吸困难等一系列不良反应^[13]。因此,ALDH2 突变纯合型基因频率显著低于非酗酒者且 A 等位基因携带者会因为不适而自发减少饮酒甚至戒酒。

本研究发现,rs1801157 与 CAD 的发生有关,但是作用机制不是很清楚,同时考虑到 rs1801157 的突变性较大且本研究是在局部地区进行,其他地区未出现相关的研究结果,所以本研究不能反映整个中

国人群的情况。本研究下一步将了解 SDF-1/CXCR4 作用机理具有重要意义。大量流行病学资料表明饮酒与 CAD/MI 关系密切,那 rs671 和 rs1801157 是不是通过影响饮酒行为而影响 CAD/MI 的发生、发展呢?饮酒情况和心梗多因素 Logistic 回归分析结果提示,在饮酒患者中 rs671 A 等位基因可能会增加 MI 的患病风险;在饮酒与否的患者中 rs1801157 均未增加 MI 的患病风险。与谭峥^[14]的研究结果一致, ALDH2 GA+AA 突变基因型是 MI 的危险因素; ALDH2 CA+AA 突变基因型是非饮酒人群 MI 的危险因素,而不是饮酒人群 MI 的危险因素; ALDH2 CA+AA 突变基因型是晚发 MI 的危险因素,而不是早发 MI 的危险因素。究其原因可能与饮酒患者大多为非 A 等位基因携带者即野生基因型有关,而且样本数较少,还需要进一步大规模深入研究探讨。而 rs1801157 对其酒精的作用机制尚未明确,需要进一步研究。

综上所述,rs671 和 rs1801157 基因到底如何影响 CAD/MI 研究者们普遍认为可能通过饮酒、血脂、血糖、氧化应激、炎症因子及内皮细胞的作用影响动脉粥样硬化和冠脉综合征的发生、发展,但具体机制仍不清楚,仍需进行大量的更深入的研究。

参 考 文 献:

- [1] CONSORTIUM TWTCC. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3000 shared controls[J]. Nature, 2007, 447(7145): 661-678.
- [2] SCHUNKERT H, GOTZ A, BRAUND P, et al. Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9P21.3 and coronary artery disease[J]. Circulation, 2008, 117(13): 1675-1684.
- [3] TAKAGI S, IWAI N, YAMAUCHI R, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 gene is a risk factor for myocardial infarction in Japanese men[J]. Hypertens Res, 2002, 25(5): 677-681.
- [4] JO S A, KIM E K, PARK M H, et al. A Glu487Lys polymorphism in the gene for mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 is associated with myocardial infarction in elderly Korean men[J]. Clin Chim Acta, 2007, 382(1/2): 43-47.
- [5] GUO Y J, CHEN L, BAI Y P, et al. The ALDH2 Glu504Lys polymorphism is associated with coronary artery disease in Han Chinese: relation with endothelial ADMA levels[J]. Atherosclerosis, 2010, 211(2): 545-550.
- [6] TAKEUCHI F, YOKOTA M, YAMAMOTO K, et al. Genome-wide association study of coronary artery disease in the Japanese[J]. Eur J Hum Genet, 2012, 20(3): 333-340.
- [7] WANG Q I, ZHOU S, WANG L, et al. ALDH2 rs671 Polymorphism and coronary heart disease risk among asian populations: a meta-analysis and meta-regression[J]. DNA and Cell Biology, 2013, 32(7): 393-399.
- [8] HAN H, WANG H, YIN Z, et al. Association of genetic polymorphisms in ADH and ALDH2 with risk of coronary artery disease and myocardial infarction: a meta-analysis[J]. Gene, 2013, 526(2): 134-41.
- [9] WANG Y, DU F, ZHAO H, et al. Synergistic association between two alcohol metabolism relevant genes and coronary artery disease among Chinese hypertensive patients[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e103161.
- [10] 徐峰. 乙醛脱氢酶 2 基因 Glu504Lys 多态与急性冠脉综合征的关系及其机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2012.
- [11] CHEN Z, FOSTER M W, ZHANG J, et al. An essential role for mitochondrial aldehyde dehydrogenase in nitroglycerin bioactivation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(34): 12159-12164.
- [12] TAKEUCHI F, ISONO M, NABIKA T, et al. Confirmation of ALDH2 as a major locus of drinking behavior and of its variants regulating multiple metabolic phenotypes in a Japanese population[J]. Circ J, 2011, 75(4): 911-918.
- [13] YU C, LI Y, CHEN W, et al. Genotype of ethanol metabolizing enzyme genes by oligonucleotide microarray in alcoholic liver disease in Chinese people[J]. Chin Med J, 2002, 115(7): 1085-1087.
- [14] 谭峥. 乙醛脱氢酶 2 活性水平及基因型与冠心病的相关性研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.

(王荣兵 编辑)