论著

文章编号:1000-5404(2010)22-2394-06

SLC22A3-LPAL2-LPA 基因单核苷酸多态性与冠心病的关系研究

丁艳辉[1],柳 青[1],雷 寒[2] (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院:临床研究中心[1],心血管内科[2])

【摘要】 目的 探讨 SLC22A3-LPAL2-LPA 基因多态性与冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary artery disease,CAD)的相关性。**方法** 用聚合酶链反应-单链构象多态性(PCR-SSCP)方法和核苷酸测序技术检测 165 例 CAD 患者和 166 例对照的 SLC22A3-LPAL2-LPA 基因多态性。**结果** CAD 组和对照组中 rs2048327 位点均检测出 AA、AG 基因型,GG 基因型未检出,G 等位基因频率组间有统计学差异(19.7% *vs* 11.1%,$P=0.002$);rs3127599 位点均检测出 AG、GG 基因型,AA 基因型未检出,A 等位基因频率组间有统计学差异(7.6% *vs* 13.2%,$P=0.017$);rs7767084 位点均检测出 CC、CT、TT 3 种基因型,C 等位基因频率组间差异有统计学意义(16.4% *vs* 30.7%,$P=0.000$);rs10755578 位点均检测出 CG、GG 基因型,CC 基因型未检出,C 等位基因频率组间有统计学差异(18.5% *vs* 12.7%,$P=0.038$);使用 Logistic 回归分析排除年龄、吸烟、高血压等因素的影响后,除 rs10755578 位点外($P=0.077$),其余各位点等位基因频率组间差异依然有统计学意义($P<0.05$);单倍型 AGC、AGT、GGC、GGT 组间分布有统计学差异($P<0.05$);分别比较各位点不同基因型的血脂水平,并未发现有统计学差异的指标($P>0.05$)。**结论** SLC22A3-LPAL2-LPA 基因 rs2048327、rs3127599、rs7767084 多态性位点可能与 CAD 发病相关,携带 AGT、GGC、GGT 单倍型的人群罹患 CAD 的风险性可能较正常人高,各位点基因多态性可能与血脂水平无关。

【关键词】 冠状动脉粥样硬化性心脏病;单核苷酸多态性;单链构象多态性;单倍型

【中图法分类号】 R394-33;R394.3;R541.4 **【文献标志码】** A

Association of single nucleotide polymorphism rs2048327-rs3127599-rs7767084-rs10755578 on chromosome 6q26-q27 with coronary artery disease in Chinese Han population

Ding Yanhui[1], Liu Qing[1], Lei Han[2] ([1]Department of Clinical Research Center, [2]Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the association of single nucleotide polymorphism (SNP) on chromosome 6q26-q27 with coronary artery disease (CAD). **Methods** A case-control association study of 165 identified unrelated CAD patients who admitted in our hospital from September 2008 to April 2010 and 166 matched normal controls from a Chinese Han population was performed. PCR-SSCP and nucleotide sequencing were used to genotype the SNP rs2048327-rs3127599-rs7767084-rs10755578 in SLC22A3-LPAL2-LPA gene. **Results** There were genotype AA and AG in CAD and control groups, but not GG in rs2048327, and the frequency of allele G was different between 2 groups (19.7% *vs* 11.1%, $P=0.002$). In rs3127599, genotype AG and GG was found in both groups, but no AA, and the frequency of allele A was different between 2 groups (7.6% *vs* 13.2%, $P=0.017$). Genotype CC, CT and TT in rs7767084 was found in both groups, and the frequency of allele C was different between 2 groups (16.4% *vs* 30.7%, $P=0.000$). Genotype CG and GG were seen in rs10755578 of both groups, but no CC was found, and the frequency of allele C was different between 2 groups (18.5% *vs* 12.7%, $P=0.038$). The frequencies of minor allele of the other SNPs were also significantly different after removing the confounding factors with logistical analysis except rs10755578. There was also statistical significance in the haplotype AGT, AGC, GGC and GGT between 2 groups ($P<0.05$), but not in the levels of TC, TG, HDL and LDL among different genotypes ($P>0.05$). **Conclusion** Our findings suggest that the genetic polymorphisms in rs2048327-rs3127599-rs7767084 may be associated with the develop-

【基金项目】 重庆市卫生局医学科研计划项目(2010-2-118)

【通信作者】 柳 青,电话:(023)89012600,E-mail:qingliu5566@yahoo.cn

ment of CAD in Chinese Han population. The incidence rate of CAD in the crowd with haplotype AGT, GGC and GGT may be higher and there may be no association between genotype and the levels of TC, TG, HDL and LDL.

[Key words] coronary artery disease; single nucleotide polymorphism; single-strand conformational polymorphism; haplotype

Supported by the Project of Medical Research Plan of Chongqing Municipal Health Bureau (2010-2-118). Corresponding author: Liu Qing, Tel: 86-23-89012600, E-mail: qingliu5566@yahoo.cn

冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary artery disease,CAD)包括稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛和心肌梗死,是全世界每年导致人类死亡的重大疾病之一[1]。目前人们普遍认为CAD是遗传和环境因素共同作用所致的一种多基因遗传性疾病,且遗传性因素在其发病中居主要地位[2,3],因此研究CAD的遗传危险因素对于大规模开展有针对性的人群预防,延缓或防止CAD的发生、发展具有重大意义。大规模单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)相关性研究是近年阐明疾病发病机制的重要手段之一[4]。最近,一项多中心大样本白种人的SNP相关性研究发现SLC22A3-LPAL2-LPA基因的4个SNP位点(rs2048327、rs3127599、rs7767084和rs10755578)与CAD的发病显著相关[5]。

随着大规模全基因组扫描技术及基因连锁和候选基因研究方法的应用,CAD作为一种多基因遗传性疾病,备受世界各国学者的重视,并成功报道了多个与之发病密切相关的易感基因[6,7]。然而目前国内尚少见上述基因位点与汉族人群关系的相关报道,故本研究以西南地区的汉族人群为研究对象,通过病例-对照研究探讨SLC22A3-LPAL2-LPA基因的4个SNP位点(rs2048327、rs3127599、rs7767084和rs10755578)与CAD发病的关系,希望能够在中国汉族人群中揭示其与CAD发病的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

选取重庆医科大学附属第一医院2008年9月至2010年4月心血管内科住院患者,遵循知情同意原则。①CAD组(165例):男性118例,女性47例,均为来自中国西南地区的汉族人群,无血缘关系。纳入标准:冠脉造影检查结果示冠状动脉主要分支狭窄程度≥70%或左主干狭窄程度≥50%,符合WHO关于冠心病诊断标准。②对照组(166例):男性102例,女性64例,均来自中国西南地区汉族人群,无血缘关系。纳入标准:经冠脉造影检查结果示阴性且通过病史查体及器械检查排除器质性心脏疾病者。2组在性别方面无统计学差异($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 DNA的提取 肘静脉血5 ml,EDTA抗凝,采用饱和盐析法制备外周血白细胞DNA,紫外分光光度计测定DNA浓度,-20 ℃保存。

1.2.2 PCR分别扩增SLC22A3 rs2048327、LPAL2 rs3127599、LPA rs7767084和rs10755578位点及其侧翼区 使用软件Primer Premier 5.0分别设计引物,序列见表1。随后利用NCBI(美国生物信息中心)的Blast软件检验其扩增特异性后统一交予上海生物工程有限公司合成。PCR反应体系包括TaKaRa公司的Premix *Taq* Version 2.0[*Taq*酶1.25 U/25 μl;dNTP(2×),各0.4 mmol/L;PCR Buffer(2×);$MgCl_2$ 3 mmol/L]7.5 μl,DNA模板1 μl,上下游引物各0.5 μl(10 μmol/L),加水至15 μl。反应体系上层用2 μl石蜡油封闭后放入热循环仪中进行PCR扩增反应,反应条件见表2。反应结束后,1.5%的琼脂糖凝胶电泳,goldview染色,凝胶成像系统观察PCR产物的特异性。

表1 SLC22A3-LPAL2-LPA基因4个SNP位点引物序列

SNP位点	引物序列(5′→3′)	长度(bp)
rs2048327	上游:TTCTGAGCAGGTTGGATTAT	360
	下游:AGTGACATTTGCCTTAGTGG	
rs3127599	上游:AGCCTATCGCCACCTAAAGC	315
	下游:ATGCCACAAACCAGAAATGAG	
rs7767084	上游:AGGCTTTGGTCAAATTGGATG	328
	下游:TGGGAAGGTCTTGGGCTGGTC	
rs10755578	上游:TAGGCTTGGAACCTGGATGAC	444
	下游:CCCAGTCTGTCTCGGGTATTT	

1.2.3 单链构象多态性(single-strand conformation polymorphism, SSCP)分析 反应体系包括PCR产物若干,2×变性上样缓冲液(98%去离子甲酰胺,0.05%溴酚蓝,0.05%二甲苯青FF,10 mmol/L EDTA)若干,混匀后沸水10 min变性,而后迅速置于冰上以防复性,12%非变性聚丙烯酰胺凝胶(30%丙烯酰胺3.0 ml,5×TBE 1.5 ml,AP 55 μl,TEMED 5 μl,去离子水2.94 ml)电泳完成后,goldview染色30 min,应用自动凝胶成像仪初步判定结果并根据带型不同分组,反应条件见表3。

表2 SLC22A3-LPAL2-LPA基因4个SNP位点PCR反应条件

SNP位点	预变性			变性			退火			延伸			终延伸		
	温度(℃)	时间(min)	循环次数	温度(℃)	时间(s)	循环次数	温度(℃)	时间(s)	循环次数	温度(℃)	时间(min)	循环次数	温度(℃)	时间(min)	循环次数
rs2048327	95.0	2	1	95.0	40	30	53.4	40	30	72.0	1	30	72.0	5	1
rs3127599	95.0	2	1	95.0	30	30	52.4	30	30	72.0	1	30	72.0	5	1
rs7767084	95.0	2	1	95.0	40	30	54.4	30	30	72.0	1	30	72.0	5	1
rs10755578	95.0	2	1	95.0	40	30	53.0	40	30	72.0	1	30	72.0	5	1

表3　SSCP反应条件

SNP位点	PCR产物(μl)	变性上样缓冲液(μl)	电压(V)	时间(h)
rs2048327	6	4	165	3
rs3127599	7	3	175	2.5
rs7767084	6	4	180	2
rs10755578	6	4	180	2

1.2.4　测序　依据SSCP结果从不同分组中选出带型清晰的样本送样测序，最终判定基因型。

1.3　统计学分析

Hardy-Weinberg平衡定律检验各个SNP位点的基因型分布，估计样本的群体代表性，要求$P>0.05$。采用SPSS 17.0统计软件处理数据，基因记数法计算各组基因型和等位基因频率，各组基因型和等位基因频率之间比较用χ^2检验，计量资料用t检验，以$\bar{x}\pm s$表示，多因素分析采用Logistic回归分析，单倍型分析采用SHEsis在线分析软件，应用协方差分析调整年龄、BMI后分析不同基因型个体间血脂水平的差异。

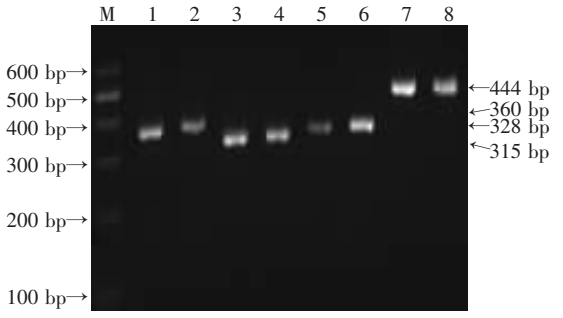
2　结果

2.1　CAD组与对照组的一般特征比较

2组的体质指数(BMI)基本匹配，传统CAD危险因素如吸烟、高血压及血清HDL-c水平在2组构成上有统计学差异($P<0.01$)。见表4。

2.2　CAD组和对照组各SNP位点基因型检测

SLC22A3 rs2048327(A/G)检测到的基因型有2种：AA型和AG型，GG型未检出。LPAL2 rs3127599(A/G)检测到2种基因型：GG型和AG型，AA型未检出。LPA rs7767084(C/T)检测到3种基因型：TT型、CT型和CC型。LPA rs10755578(C/G)检测到的基因型有2种：GG型和CG型，CC型未检出。见表5。CAD组和对照组人群经过Hardy-Weinberg平衡定律检验，对照组各位点均满足Hardy-Weinberg平衡($\chi^2<3.84$，$P>0.05$)，CAD组rs2048327和rs10755578位点不满足Hardy-Weinberg平衡(($\chi^2>3.84$，$P<0.05$)，但依然满足病例对照研究中至少对照满足Hardy-Weinberg平衡的基本要求[8]，可以继续进行相关性分析。见图1、2。



M：DNA标准；1，2：SLC22A3基因rs2048327(360 bp)；3，4：LPAL2基因rs3127599(315 bp)；5，6：LPA基因rs7767084(328 bp)；7，8：LPA基因rs10755578(444 bp)

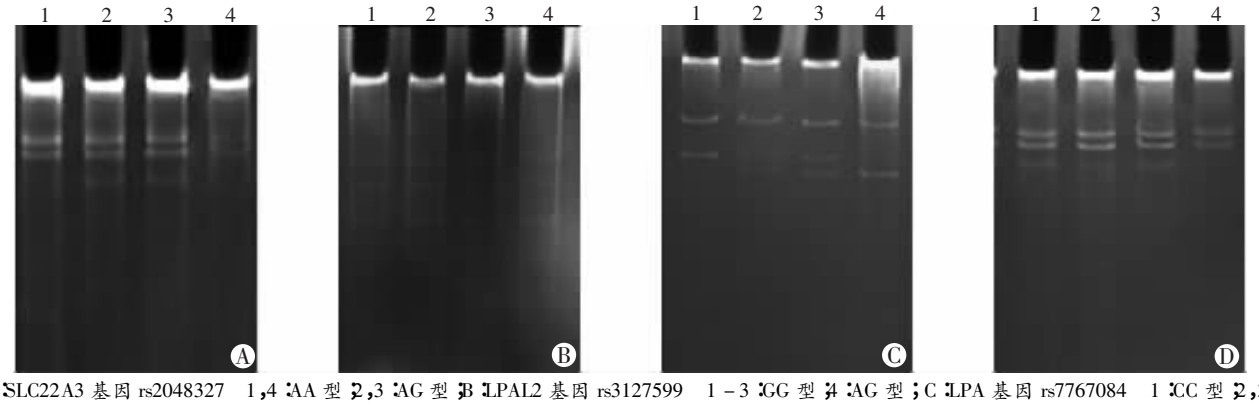
图1　165例CAD患者和166例对照SLC22A3-LPAL2-LPA基因的PCR检测结果

2.3　CAD组与对照组基因多态性比较

CAD组与对照组SLC22A3 rs2048327位点AG基因型频率、G等位基因频率比较差异有统计学意义($P<0.01$)；CAD组与对照组LPAL2 rs3127599位点AG基因型频率、A等位基因频率比较差异有统计学意义($P<0.05$)；CAD组与对照组LPA rs7767084位点CC基因型频率、C等位基因频率比较差异有统计学意义($P<0.01$)；CAD组与对照组LPA rs10755578位点CG基因型频率、C等位基因频率比较差异有统计学意义($P<0.05$)；因CAD组和对照组在一般临床特征上存在有统计学差异的指标，故我们对传统危险因素(如吸烟、高血压等)、年龄及基因型差异与CAD的发病情况进行Logistic回归分析以排除这些因素的干扰，调整后除LPA rs10755578位点外($\chi^2=3.125$，$P=0.077$)，组间其余各位点基因型比较依然有统计学差异($P<0.05$)。见表5。

表4　CAD组与对照组的临床特征

组别	n	年龄(岁)	BMI(kg/m²)	吸烟(%)	高血压(%)	糖尿病(%)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL-c(mmol/L)	LDL-c(mmol/L)
CAD组	165	65.58±10.56	23.77±3.15	48.2	58.2	17.6	4.48±1.03	1.75±1.00	1.13±0.38	2.56±0.84
对照组	166	51.28±11.97	24.45±3.44	24.0	35.6	10.2	4.69±0.92	1.76±1.68	1.27±0.35	2.49±0.66
P值		<0.01	0.107	<0.01	<0.01	0.115	0.105	0.940	0.005	0.512



A：SLC22A3基因rs2048327　1，4：AA型；2，3：AG型；B：LPAL2基因rs3127599　1－3：GG型；4：AG型；C：LPA基因rs7767084　1：CC型；2，3：CT型；4：TT型；D：LPA基因rs10755578　1－3：GG型；4：CG型

图2　165例CAD患者和166例对照SLC22A3-LPAL2-LPA基因的SSCP结果

表 5 CAD 组与对照组基因多态性分布情况 [例数(%)]

SNP 位点		CAD 组 (n = 165)	对照组 (n = 166)	χ^2值	P 值
rs2048327					
基因型频率	AA	100(60.6)	129(77.7)	11.356	0.001
	AG	65(39.4)	37(22.3)		
等位基因频率	A	265(80.3)	295(88.9)	9.287	0.002
	G	65(19.7)	37(11.1)		
rs3127599					
基因型频率	GG	140(84.9)	122(73.5)	6.466	0.011
	AG	25(15.1)	44(26.5)		
等位基因频率	G	305(92.4)	288(86.8)	5.713	0.017
	A	25(7.6)	44(13.2)		
rs7767084					
基因型频率	CC	7(4.2)	21(12.7)		
	CT	40(24.3)	60(36.1)	16.362	0.000
	TT	118(71.5)	85(51.2)		
等位基因频率	C	54(16.4)	102(30.7)	18.945	0.000
	T	276(83.6)	230(69.3)		
rs10755578					
基因型频率	GG	104(63.0)	124(74.7)	5.256	0.022
	CG	61(37.0)	42(25.3)		
等位基因频率	G	269(81.5)	290(87.3)	4.288	0.038
	C	61(18.5)	42(12.7)		

2.4 CAD 组与对照组单倍型频率分析

除外 rs10755578 位点的 3 个 SNP 位点尝试构建单倍型(表 6)。单倍型 AGC、AGT、GGC、GGT 频率在 CAD 组与对照组的分布具有统计学差异(P <0.05),提示单倍型 AGC、AGT、GGC、GGT 可能与西南地区汉族人群 CAD 发病有关。

表 6 CAD 组和对照组单倍型频率分布

单倍型	CAD 组	对照组	χ^2值	P 值	OR 值	95% CI
AAC	6.10(0.018)	12.95(0.039)	2.527	0.112	0.462	0.174 ~ 1.224
AAT	16.36(0.050)	27.15(0.082)	2.845	0.092	0.583	0.309 ~ 1.098
AGC	30.27(0.092)	79.23(0.239)	26.165	0.000	0.320	0.204 ~ 0.502
AGT	212.27(0.643)	175.66(0.529)	8.641	0.003	1.599	1.168 ~ 2.189
GAC	0.24(0.001)	3.22(0.010)	-	-	-	-
GAT	2.30(0.007)	0.67(0.002)	-	-	-	-
GGC	17.39(0.053)	6.59(0.020)	5.072	0.024	2.737	1.101 ~ 6.799
GGT	45.07(0.137)	26.52(0.080)	5.438	0.020	1.815	1.094 ~ 3.012

单倍型分析位点从左至右依次为:rs2048327、rs3127599、rs7767084;所有频率 <0.03 的单倍型不予分析

2.5 基因多态性与血脂水平的协方差分析

鉴于早已认定 LPA 基因通过脂质代谢途径影响 CAD 的发生、发展,而本研究亦涉及该基因,故尝试通过分析 2 组受试者不同基因型间血脂水平的差异以初步探讨各基因多态性是否亦通过脂质代谢途径影响 CAD 发生,结果显示并无统计学差异(P >0.05);同时因 2 组样本量有限,故亦合并 2 组资料以求提高统计效能,但结果显示并无统计学差异(P >0.05,表 7)。

3 讨论

当前对于糖尿病、心脑血管疾病等复杂疾病的遗传学研究方法主要有 2 种:候选基因的关联分析和采用基因芯片技术的全基因组关联分析[7]。候选基因的关联分析即直接研究疾病候选基因的突变与疾病表型之间的关系,该方法主要基于对家系或者人群散发的病例-对照关联分析,简便、直接、快捷,为多基因遗传疾病所广泛采用。本研究采用此方法探讨 SLC22A3-LPAL2-LPA 基因多态性位点与 CAD 发病的相关性。

rs2048327-rs3127599-rs7767084-rs10755578 多态性位点分别位于相互毗邻的 6q25.3 SLC22A3 基因、6q26-27 LPAL2 基因及 6q26 LPA 基因的 3′端非编码区,是 Tregouet 等[5]新近提出的与 CAD 发病相关的基因多态性位点。广泛分布于前中期胎盘、骨骼肌、前列腺、大动脉、肝脏、胎肺、唾液腺和肾上腺等组织器官的 SLC22A3 基因[9],编码阳离子转运蛋白 3(人类编码 EMT 蛋白,大鼠编码 OCT3 蛋白)。目前对于该基因的研究尚多集中于心血管系统以外的组织器官病变[10-14],作为 CAD 易感基因概念的提出尚属首次。LPA 基因更是早已认定的 CAD 发生、发展危险基因[15,16]。LPAL2 基因则属于 LPA 伪基因范畴。基于这些位点的研究目前还只局限于西方白种人群,少见汉族人群的相关研究报道,因此研究西南地区汉族人群 SLC22A3-LPAL2-LPA 基因 rs2048327、rs3127599、rs7767084

表 7 受试者血脂水平与基因多态性协方差分析 ($\bar{x} \pm s$)

血脂 (mmol/L)		rs2048327			rs3127599			rs7767084			
		AA	AG	P 值	GG	AG	P 值	CC	CT	TT	P 值
TC	CAD 组	4.44 ±0.12	4.84 ±0.19	0.070	4.55 ±0.10	4.69 ±0.47	0.775	4.22 ±1.04	4.69 ±0.20	4.51 ±0.12	0.701
	对照组	4.71 ±0.10	4.16 ±0.24	0.041	4.52 ±0.12	4.86 ±0.18	0.131	4.56 ±0.33	4.64 ±0.15	4.61 ±0.14	0.974
	合并	4.55 ±0.09	4.63 ±0.12	0.566	4.56 ±0.08	4.72 ±0.19	0.421	4.51 ±0.34	4.64 ±0.13	4.56 ±0.09	0.859
TG	CAD 组	1.83 ±1.12	1.69 ±0.20	0.552	1.76 ±0.11	2.32 ±0.50	0.281	1.59 ±1.10	1.90 ±0.21	1.76 ±0.12	0.833
	对照组	1.67 ±0.15	1.54 ±0.35	0.747	1.59 ±0.17	1.78 ±0.27	0.557	1.47 ±0.46	1.53 ±0.21	1.79 ±0.20	0.635
	合并	1.78 ±0.11	1.65 ±0.14	0.487	1.71 ±0.09	1.88 ±0.23	0.484	1.41 ±0.41	1.69 ±0.15	1.78 ±0.11	0.635
HDL-c	CAD 组	1.08 ±0.05	1.27 ±0.07	0.024	1.13 ±0.04	1.19 ±0.19	0.764	0,89 ±0.41	1.14 ±0.08	1.14 ±0.05	0.836
	对照组	1.30 ±0.47	1.16 ±0.11	0.269	1.27 ±0.05	1.29 ±0.09	0.896	1.22 ±0.14	1.31 ±0.07	1.26 ±0.06	0.771
	合并	1.18 ±0.04	1.20 ±0.05	0.715	1.18 ±0.03	1.27 ±0.09	0.297	1.19 ±0.14	1.23 ±0.05	1.17 ±0.04	0.616
LDL-c	CAD 组	2.56 ±0.10	2.70 ±0.15	0.436	2.62 ±0.08	2.13 ±0.38	0.219	2.75 ±0.84	2.74 ±0.16	2.55 ±0.09	0.573
	对照组	2.50 ±0.07	2.26 ±0.17	0.201	2.46 ±0.08	2.46 ±0.14	0.996	2.40 ±0.22	2.45 ±0.10	2.48 ±0.10	0.940
	合并	2.51 ±0.07	2.60 ±0.09	0.408	2.58 ±0.06	2.28 ±0.16	0.092	2.45 ±0.27	2.56 ±0.10	2.54 ±0.07	0.929

和 rs10755578 多态性位点与 CAD 发病的相关性实有必要。

本研究针对中国西南地区汉族人群进行 rs2048327、rs3127599、rs7767084 和 rs10755578 多态性位点的基因型检测，发现我国西南地区的汉族人群在这些位点同样存在着碱基多态性。SLC22A3 rs2048327 位点 A/G 组间多态性分布均是以 AA 型为主，AG 型少见，未见 GG 型；LPAL2 rs3127599 位点 A/G 组间多态性分布均是以 GG 型为主，AG 型少见，未见 AA 型；LPA rs7767084 位点组间多态性分布 3 种基因型 CC、CT、TT 均可见；rs10755578 位点 C/G 组间多态性分布均是以 GG 型为主，CG 型少见，未见 CC 型；但频率报道与国外有差异[5]。同时进行的组间比较结果显示，4 个位点基因型和等位基因的分布频率在组间的差异均有统计学意义，但是在进一步排除临床干扰因素的 Logistic 回归分析过程中淘汰了 rs10755578 位点。本研究得出的基因频率分布与 HapMap 计划报道的中国人的基因型频率略有不同，分析原因可能是：样本均一性不足，可能表现在性别、年龄以及地域的差异等；受试者样本含量的差异等等。尽管 HapMap 计划显示 rs2048327、rs3127599 和 rs7767084 多态性位点并未在同一个 LD block 内，但考虑它们分布在 3 个相互毗邻的基因（跨越 328 kb），故在研究中我们亦尝试针对这 3 个位点做单倍型分析，结果显示单倍型 AGC、AGT、GGC、GGT 频率组间比较有统计学差异，*P* 值分别为 0.000、0.003、0.024、0.020。携带 AGC 单倍型的人群 *OR* 值为 0.320，95% *CI* 为 0.204～0.502，罹患 CAD 的风险较低；携带 AGT、GGC、GGT 单倍型的人群 *OR* 值分别为 1.599、2.737、1.815，95% *CI* 分别为 1.168～2.189、1.101～6.799、1.094～3.012，罹患 CAD 的风险较正常人高。同时针对成功构建单倍型的多态性位点与受试者血脂水平间的相关性分析未得出有统计学差异的结论，分析可能有以下几种原因：①这 3 个位点可能不是通过影响脂质代谢的途径致病；②研究对象的录入标准并未对患者的服药史进行严格限制，可能存在降脂药物干扰；③本研究样本含量有限。

目前，我们还只是初步探讨了上述位点与 CAD 发病的相关性，具体的致病机制尚待研究。国外研究发现 SLC22A3 rs2048327 多态性位点可以有效降低组胺转运蛋白 OCT3 的 mRNA 水平[12]；而作为组胺转运蛋白的 OCT3，通过摄取和释放组胺，可以双向调节组胺水平[17]。组胺作为 L-组氨酸在组氨酸脱羧基酶（histidine decarboxylase，HDC）作用下合成的较强炎症介质，早有研究表明 HDC 和组胺受体（histamine receptors，HHR）在动脉粥样硬化斑块中的巨噬细胞、血管平滑肌细胞和嗜碱性粒细胞中表达有所增强[18,19]。由此，我们是否可以做出这样的假设：rs2048327 位点的多态性亦通过锁定炎症反应致病。而与此同时提出的 LPA 基因虽早已被认定通过脂质代谢途径影响 CAD 的发生、发展[15,16]，但尚少见关于 rs7767084 位点的报道，这亦是我们接下来关注的焦点。

综上所述，本研究认为在中国西南地区汉族人群中 SLC22A3-LPAL2-LPA（rs2048327、rs3127599，rs7767084）基因多态性与 CAD 发生具有明显相关性，可能是西南地区汉族人群 CAD 发生的易感基因，而其中携带 AGT、GGC、GGT 单倍型的人群罹患 CAD 的风险可能较正常人高。但由于本研究样本含量及来源有限，尚不能提供充分的证据来证实这些位点对于 CAD 的影响，故尚需更多多中心、大样本的研究来明确其预测价值。同时，关于该基因的功能及致 CAD 发生的具体机制仍需进一步研究。

参考文献：

[1] Mathers C D, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030[J]. PLoS Med, 2006, 3(11): e442.

[2] Topol E J, Smith J, Plow E F, *et al*. Genetic susceptibility to myocardial infarction and coronary artery disease[J]. Hum Mol Genet, 2006, 15(Spec No 2): R117－R123.

[3] Wang Q. Molecular genetics of coronary artery disease[J]. Curr Opin Cardiol, 2005, 20(3): 182－188.

[4] Abecasis G, Tam P K, Bustamante C D, *et al*. Human Genome Variation 2006: emerging views on structural variation and large-scale SNP analysis[J]. Nat Genet, 2007, 39(2): 153－155.

[5] Tregouet D A, Konig I R, Erdmann J, *et al*. Genome-wide haplotype association study identifies the SLC22A3-LPAL2-LPA gene cluster as a risk locus for coronary artery disease[J]. Nat Genet, 2009, 41(3): 283－285.

[6] Samani N J, Erdmann J, Hall A S, *et al*. Genomewide association analysis of coronary artery disease[J]. N Engl J Med, 2007, 357(5): 443－453.

[7] Franchini M, Peyvandi F, Mannucci P M. The genetic basis of coronary artery disease: from candidate genes to whole genome analysis [J]. Trends Cardiovasc Med, 2008, 18(5): 157－162.

[8] 陈竺. 医学遗传学[M]. 北京：人民卫生出版社，2005：284.

[9] Verhaagh S, Schweifer N, Barlow D P, *et al*. Cloning of the mouse and human solute carrier 22a3 (Slc22a3/SLC22A3) identifies a conserved cluster of three organic cation transporters on mouse chromosome 17 and human 6q26-q27 [J]. Genomics, 1999, 55(2): 209－218.

[10] Vialou V, Balasse L, Callebert J, *et al*. Altered aminergic neurotransmission in the brain of organic cation transporter 3-deficient mice [J]. J Neurochem, 2008, 106(3): 1471－1482.

[11] Lee W K, Reichold M, Edemir B, *et al*. Organic cation transporters OCT1, 2, and 3 mediate high-affinity transport of the mutagenic vital dye ethidium in the kidney proximal tubule[J]. Am J Physiol Renal

Physiol, 2009, 296(6): F1504 – F1513.
[12] Nies A T, Koepsell H, Winter S, *et al*. Expression of organic cation transporters OCT1 (SLC22A1) and OCT3 (SLC22A3) is affected by genetic factors and cholestasis in human liver[J]. Hepatology, 2009, 50(4): 1227 – 1240.
[13] Waters K M, Le-Marchand L, Kolonel L N, *et al*. Generalizability of associations from prostate cancer genome-wide association studies in multiple populations[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2009, 18(4): 1285 – 1289.
[14] Yokoo S, Masuda S, Yonezawa A, *et al*. Significance of organic cation transporter 3 (SLC22A3) expression for the cytotoxic effect of oxaliplatin in colorectal cancer[J]. Drug Metab Dispos, 2008, 36(11): 2299 – 2306.
[15] Shiffman D, O 'Meara E S, Bare L A, *et al*. Association of gene variants with incident myocardial infarction in the Cardiovascular Health Study[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(1): 173 – 179.
[16] Luke M M, Kane J P, Liu D M, *et al*. A polymorphism in the protease-like domain of apolipoprotein(a) is associated with severe coronary artery disease[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(9): 2030 – 2036.
[17] Schneider E, Machavoine F, Pleau J M, *et al*. Organic cation transporter 3 modulates murine basophil functions by controlling intracellular histamine levels[J]. J Exp Med, 2005, 202(3): 387 – 393.
[18] Murata Y, Tanimoto A, Wang K Y, *et al*. Granulocyte macrophage-colony stimulating factor increases the expression of histamine and histamine receptors in monocytes/macrophages in relation to arteriosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(2): 430 – 435.
[19] Higuchi S, Tanimoto A, Arima N, *et al*. Effects of histamine and interleukin-4 synthesized in arterial intima on phagocytosis by monocytes/macrophages in relation to atherosclerosis[J]. FEBS Lett, 2001, 505(2): 217 – 222.

(收稿:2010-08-10 修回:2010-10-13)
(编辑 王 红)

文章编号:1000-5404(2010)22-2399-01

个案与短篇

母女同患系统性红斑狼疮临床分析

李海霞,向 阳 (116021 辽宁 大连,解放军第 210 医院中医血液科)

【关键词】 系统性红斑狼疮;遗传
【中图法分类号】 R593.241 【文献标志码】 B

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematous,SLE)是一种自身免疫系统疾病,以自身反应细胞的活化和大量自身抗体的产生为其主要免疫病理学特点[1]。在发病机制上,遗传起到了非常重要的作用,具有高度家族危险性,临床报道多为同胞、同卵双生及异卵双生,母女同时患病较少,现将我们收治的母女同患 SLE 病例报告如下。

1 临床资料

患者张某,女性,19 岁,因间断周身关节疼痛伴低热 1 年,耳后红斑伴双下肢浮肿 1 周于 2004 年 8 月 3 日入我科。2003 年 8 月中旬,患者自称"感冒"并出现周身关节疼痛,伴低热,口服"复方盐酸伪麻黄碱缓释胶囊、布洛芬缓释胶囊"等好转,此后患者间断出现关节痛、低热,未治疗。2004 年 8 月 3 日,患者自觉病情加重入我科。入院后查体:脉搏 97/min,血压 140/95 mmHg,体温 37.3 ℃,呼吸 29/min,双耳后散在分别红色斑丘疹,突出皮肤,压之褪色,表面有脱屑,局部轻度角化;双肺下叶呼吸音减弱,肺底部可及细小水泡音;心率 97/min,律齐,各瓣膜听诊区未及病理性杂音;肝脾肋下未触及,双下肢无浮肿。血常规:白细胞 2.2×10^9/L,血小板 100×10^9/L,血红蛋白108 g/L。生化:白蛋白 31.2 g/L,肾功、血糖、免疫球蛋白正常。补体 C3 0.4 g/L(参考值 0.9 ~ 1.8 g/L),补体 C4 正常。荧光抗核抗体(+),抗核抗体滴度 1∶1 000,抗核抗体核模型为均质 + 颗粒型,抗双链 DNA 抗体(+),ENA 抗体谱示抗 Sm(+),nRNP(+)。血沉 96 mm/h。尿常规:蛋白 +++,潜血 ++,颗粒管型 +++。心电图正常。心脏彩超提示少量心包积液,少量胸腔积液。诊断:系统性红斑狼疮。给予 COMP(长春新碱2 mg + 环磷酰胺 1.2 g + 甲氨蝶呤 30 mg + 强的松 60 mg)方案治疗 6 周,复查血常规:白细胞 7.4×10^9/L,血小板 157×10^9/L,血红蛋白 116 g/L。ENA 抗体谱、荧光抗核抗体、抗双链 DNA 均转为阴性。补体 C3 0.97 g/L。尿常规蛋白 +-,潜血 +-。患者病情好转出院,此后近 6 年,患者在本科随访治疗。

患者顾某,女性,46 岁,系张某母亲,因周身皮肤瘀斑 1 个月,阴道流血不止 15 d 于 2008 年 6 月 30 日入我科。患者于 2008 年 5 月中旬发现磕碰后皮肤易见淤斑,未治疗,入院前 15 d 前患者月经来潮,量较以往明显增多,伴大量血块,历经 15 d 阴道流血仍未停止,在本科门诊查血常规:白细胞 11.4×10^9/L,血小板 14×10^9/L,血红蛋白 51 g/L。以"血小板减少性紫癜"入院。追问病史患者无关节痛、光敏感等。入院后查体:脉搏 112/min,重度贫血貌,周身皮肤散在大片淤斑;心率 112/min,律齐,各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音;肝脾肋下未触及;双下肢无浮肿。生化检查未见异常,抗核抗体可疑阳性,ENA 抗体谱、抗双链 DNA 抗体均阴性。补体 C3、C4 正常。血沉 21 mm/h。骨髓象示特发性血小板减少性紫癜。心电图提示窦性心动过速。附件彩超检查示子宫内膜 9 mm,双侧卵巢未见异常。结合病史及理化检查诊断为特发性血小板减少性紫癜,继发性贫血,给予地塞米松静滴,输注红细胞悬液,并行刮宫术后患者阴道流血逐渐停止,血小板上升至 64×10^9/L 后出院。此后近 2 年患者定期在我科门诊口服强的松配合中药,血小板波动在 $(21\sim50)\times10^9$/L。2010 年 3 月 20 日患者再次因阴道流血不止入北京军区总医院,入院后查体:中度贫血貌,颜面部散在不典型红斑,按压褪色,表面无脱屑,双下肢散在细小出血点。查

(下转 2403 页)

【通信作者】 向 阳,电话:(0411)85841093,E-mail:tcm210dl@yahoo.com.cn