维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2008)09-1108-03

汉族人群酒精性肝病 ALDH2 和 CYP2E1 基因多态性研究

冷爱民,王德强,袁伟建

(湖南省长沙市中南大学湘雅医院消化科,长沙 410008)

【摘 要】目的:研究乙醛脱氢酶(Aldehyde dehydrogenase,ALDH)和细胞色素 P4502E1(Cytochrome P4502E1,CYP2E1)基因多态性与汉族人群酒精性肝病(Alcoholic liver disease,ALD)的关系。方法:应用聚合酶链反应-限制性片断长度多态性(PCR-RFLP)方法检测汉族人群中对照组(45 例)、ALD 组(48 例)、嗜酒无肝病组(38 例)和非酒精性肝病组(42 例)中 ALDH 和 CYP2E1 各基因型及等位基因的频率并进行比较。结果:ALDH2*1、ALDH2*2 2 种等位基因在对照组与 ALD 组和非酒精性肝病组与 ALD 组之间的分布差异有显著性($P<0.05$),在嗜酒组和 ALD 组中以 ALDH2*1/1 基因型为主。CYP2E1 的 c1、c2 两种等位基因在ALD 组与其他 3 组比较分布均有显著性差异($P<0.05$)。结论:ALDH 与 CYP2E1 基因多态性与 ALD 的发生关系密切。等位基因 ALDH2*2 可能是汉族人群中嗜酒和 ALD 的负性危险因素。B(c1/c2)型基因型在 ALD 发生中起着重要的作用,c2 等位基因与 ALD 的发生有关。

【关键词】酒精性肝病;乙醛脱氢酶;细胞色素 P4502E1;基因多态性

【中国图书分类法分类号】R575 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-11-14

Research on the relationship between ALDH2 and CYP2E1 gene polymorphism and alcoholic liver disease in Han people

LENG Ai-min,et el

(*Department of Gastroenterology,Xiangya Hospital,Central South University*)

【Abstract】*Objective*:To explore the relationship between genetic polymorphism of ALDH2 and CYP2E1 and alcoholic liver disease(ALD) in Han people. *Methods*:PCR-RFLP was used to detect the frequencies of gene types and allele of ALDH and CYP2E1 in health control group(45 cases),ALD group(48 cases),alcohol dependent group(38 cases) and non-ALD(NALD) group(42 cases),and the frequencies were compared. *Results*:The difference of the frequencies of ALDH2*1 and ALDH2*2 had statistic significance between health control group and ALD group,and between in ALD group and NALD group($P<0.05$). ALDH2*1 was the main gene type for alcohol dependent group and ALD group. The frequency of CYP2E1 c1 and c2 had statistically significant difference from the orther three groups($P<0.05$). *Conclusion*:The gene polymorphism of ALDH2 has close relationship to the pathogenesis of ALD. ALDH*2 allele may be a negative risk factor for alcoholism and ALD in Chinese Han people. The gene polymorphism of CYP2E1 has close relationship to the pathogenesis of ALD. The genotype of B(c1/c2)plays a important role in the development of ALD and c2 allele is relevant to the pathogenesis of ALD.

【Key words】 Alcoholic liver disease;Aldehyde dehydrogenase;Cytochrome P4502E1;Gene polymorphism

ALD 是因长期、大量饮用各种含乙醇的饮料引起的肝脏损害性病变,其确切发病机制仍不十分清楚。流行病学调查显示,遗传因素在 ALD 的发病机制中有重要的作用,不同遗传背景对酒精性肝病的发病机率有明显影响[1]。ALDH 及 CYP2E1 均有遗传多态性,不同基因个体表达的酶活性不同,因而影响机体对乙醇的易感性[1],因此有关 ALDH 及 CYP2E1 多态性与 ALD 的研究也日益引起人们的重视。我们应用分子生物学方法测定和分析 ALDH2 和CYP2E1 的基因型,研究其与 ALD 发生的关系,为临床酒精中毒和 ALD 的防治提供理论依据。

作者介绍:冷爱民(1963-),男,副教授,硕士,研究方向:肝病的防治研究。

基金项目:湖南省卫生厅课题(编号:B2004-40)。

1 材料与方法

1.1 研究对象

维普资讯 http://www.cqvip.com

试验所选对象均为汉族,男性,年龄为 25～80 岁,平均年龄为(48.33±14.31)岁。(1)健康对照组 23 例,选自本院门诊健康体检者和志愿者,无酒精中毒史,平时不饮或偶尔饮少量低度酒。无肝病史。(2)酒精性肝病组 27 例,选自本院住院病人,均符合“ALD 的诊断标准”[2]。(3)嗜酒无肝病组 7 例,选自本院住院病人,诊断标准见文献[3],经检查肝炎病毒指标 HAV～HEV 阴性,肝功能及肝脏超声检查基本正常。临床检查无明显的肝脏病的症状和体征。(4)非酒精性肝病组 24 例,选自本院住院病人,此组病人不饮酒,临床和实验室检查有明显的肝脏病变证据。

1.2 材料及实验方法

空腹抽取静脉血 5ml,EDTA-Na2 抗凝,分离白细胞,苯酚－氯仿法提取白细胞 DNA。ALDH2 的 PCR 反应条件为 94℃变性 5min,94℃,60s;50℃,60s;72℃,60s;35 个循环,72℃延伸 10min,引物设计参照文献[4],引物序列 sense 5'-CCCTTTGGTGGCTAGAAGATG-3',anti-sense 5'-CCACACTCACAGTTTCTCT TT-3',用内切酶 *Mbo* Ⅱ 37℃消化 PCR 产物 3h,加样于 16%聚丙烯酰胺凝胶电泳。CYP2E1 的 PCR 反应条件为 94℃变性 5min,94℃,50s;50℃,50s;72℃,50s;35 个循环,72℃延伸 10min,引物序列 sense 5'-CCAGTC-GAGTCTACATTGTCA-3',anti-sense5'-TTCATTCTGTCTTC-TAACTGC-3'。产物分别用限制性内切酶 *Rsa* Ⅰ和 *Pst* Ⅰ37℃消化 3h,加样于 2%琼脂糖凝胶电泳。凝胶成像系统分析结果。

1.3 统计学处理

分类资料选用四格表及行 χ^2 表的卡方检验。

2 结 果

2.1 ALDH2 的基因多态性

ALDH2:扩增片段长度 96bp;*Mbo* Ⅱ酶切后电泳带:ALDH2*1/1 为 55bp 1 条带,ALD112*1/2 为 65bp 和 55bp2 条带,ALDH2*2/2 为 65bp 1 条带。

ALDH2*1 等位基因频率在健康对照组、ALD 组、嗜酒无肝病组和非酒精性肝病组分别为57.78%、93.75%、87.72%和 52.38%;ALDH2*2 等位基因频率在以上各组中分别为 42.22%、6.25%、8.33%和 47.62%。2 种等位基因在 ALD 组与健康对照组和非酒精性肝病组之间的分布均有显著差异($P<0.05$),但在ALD 组与嗜酒无肝病组之间的分布无明显差异($P>0.05$)。各组各基因型频率详见表 1。

2.2 CYP450Ⅱ E1 基因的多态性

PCR 产物长为 410 bp,经限制性内切酶 *Pst* Ⅰ及 *Rsa* Ⅰ酶切后产生 A、B、C 3 种基因型。A 型为野生纯和子(c1/c1),用 *Pst* Ⅰ不消化,而用 *Rsa* Ⅰ把 PCR 产物消化成 360bp 和 50bp 片段;B 型为杂合子(c1/c2),用 *Pst* Ⅰ消化成 290bp 及 120bp 片段,而用 *Rsa* Ⅰ则消化成 360bp 及 50bp 片段;C 型为突变型纯合子(c2/c2),用 *Pst* Ⅰ消化成 290bp 及 120bp 片段,而用 *Rsa* Ⅰ不消化 PCR 产物。

c1 等位基因频率在健康对照组、酒精性肝病组、嗜酒无肝病组和非酒精性肝病组分别为84.78%、51.85%、100%和 81.25%,c2 等位基因频率在以上各组中分别为 15.22%、48.15%、0 和 18.75%。酒精性肝病组分别与健康对照组、嗜酒无肝病组和非酒精性肝病组比较均有显著差异($P<0.05$),嗜酒无肝病组

表 1 ALDH2 基因型频率(例,%)

组别	例数	基因型频率		
		ALDH2*1/1	ALDH2*1/2	ALDH2*2/2
健康对照组	45	16(35.56)	10(22.22)	19(42.22)
ALD 组	48	35(72.92)	10(20.83)	3(6.25)
嗜酒无肝病组	36	27(71.05)	6(16.67)	3(8.33)
非酒精性肝病组	42	13(30.95)	9(21.43)	20(47.62)

表 2 CYP2E1 基因型频率和等位基因频率(例,%)

组别	例数	基因型频率		
		A 型	B 型	C 型
健康对照组	45	31(68.89)	14(31.11)	0(0.00)
ALD 组	48	4(8.33)	42(87.50)	2(4.17)
嗜酒无肝病组	38	38(100.00)	0(0.00)	0(0.00)
非酒精性肝病组	42	27(64.280)	15(35.72)	0(0.00)

维普资讯 http://www.cqvip.com

分别与健康对照组和非酒精性肝病组比较均有显著差异($P<0.05$)。各组各基因型频率详见表 2。

3 讨 论

乙醇在体内的代谢产物乙醛是酒精性肝病的主要原因，而体内乙醛转化为乙酸主要依靠 ALDH 同工酶中的 ALDH2，由于 ALDH2*1 的基因序列发生突变形成 ALDH2*2 等位基因[5]，二者随机组合可编码形成 ALDH2*1/1、ALDH2*2/2 或 ALDH2*1/2 3 种基因型，Yamato 的研究结果表明，饮酒后携带纯合子 ALDH2*2/2 基因型者血液中的乙醇浓度是携带纯合子 ALDH2*1/1 的 19 倍，是携带杂合子ALDH2*1/2 者的 3 倍，提示 ALDH2 基因多态性与人们饮酒后血液中的乙醛浓度存在着明显的相关关系。

我们的实验中 ALDH2*2 等位基因的频率在嗜酒无肝病组(8.33%)和 ALD 组(6.25%)明显低于健康对照组(42.22%)和非酒精性肝病组(47.62%)。有 ALDH2*2/2 基因型的个体摄入少量酒精就会因乙醛在体内积聚而使其出现强烈不适症状，故该人群不能大量饮酒，因此不易导致酒精中毒和 ALD，提示 ALDH2*2 纯合子可防止个体发展至酒精中毒和 ALD。国内阎明等[6]的实验结果与本实验基本一致，故认为：等位基因 ALDH2*2 在汉族人群中是一种酒精中毒和 ALD 的负性危险因素，纯合子的 ALDH2*2可防止酒精中毒和 ALD 的发生。

在肝脏内表达的 CYP2E1 与酒精代谢密切相关。CYP2E1 氧化乙醇的作用在饮酒者中最初占的比例较小，但乙醇可诱导其活性增加。在 CYP2E1基因的 5'端非编码区，由于基因突变产生 *Rsa* Ⅰ和 *Pst* Ⅰ的酶切位点，产生野生型等位基因(c1)和突变型等位基因(c2)，形成 A(c1/c1)、B(c1/c2)和 C(c2/c2)3 种基因型。有研究发现带 c1/c2 等位基因者乙醇清除率较带 c1/c1 等位基因者高，带 c2/c2 和带 c1/c2等位基因者血乙醇浓度低于带 c1/c1 等位基因者[7,8]，说明不同的基因型对乙醇的氧化能力是不同的。

本实验健康对照组中 CYP2E1 的 A 型、B 型和 C 型分别占 68.89%、31.11%和 0%，说明正常人群中以 A 型为主，C 型罕见。在嗜酒无肝病组则全部为A 型。在非酒精性肝病组中，各基因型分布与正常人群相似，说明非酒精性肝病的发生与 CYP2E1 基因多态性无关。在 ALD 组中 A 型、B 型和 C 型分别占8.33%、87.50%和 4.17%，说明 B 型(c1/c2)基因型在 ALD 发生中起着重要的作用，Tsutsumi D 等[9]的一项研究结果也显示 CYP2E1 的 c2 等位基因频率在 ALD 组均显著高于与其他组，因此 CYP2E1 的基因多态性与 ALD 的发展过程有关，c2 基因在 ALD 的发生中起重要作用。

参 考 文 献

[1] Zintzaras E, Stefanidis I, Santos M, et al. Do alcohol-metabolizing enzyme gene polymorphisms increase the risk of alcoholism and alcoholic liver disease[J]. Hepatology, 2006; 43(2): 352-361.

[2] 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学分组.酒精性肝病诊断标准[J].中华肝脏病杂志, 2003; 11(2): 72.

[3] 厉有名.酒精性肝病的分类及其诊断标准的若干问题[J].中华消化杂志, 2002; 22(1): 38-39.

[4] Chao YC, Liou SR, Chung YY, et al. Polymorphism of alcohol and aldehyde dehydrogenasegenes and alcoholic cirrhosis in Chinese patients[J]. Hepatology, 1994; 19: 360-366.

[5] Crabb DW. Bliological markers for increased risk of alcoholism and for quantization of alcohol consumption[J]. J Clin, Invest, 1990; 85: 311-315.

[6] 阎 明，朱孔锡，孟繁立，等.乙醛脱氢酶基因多态性与酒精性肝病的关系[J].中华肝脏病杂志, 2003; 11(11): 654-656.

[7] Ueno Y, Adachi J, Imamichi H. et al. Effect of the cytochrome P-450 Ⅱ E1 genotype on ethanol elimination rate in alcoholics and control subjects[J]. Alcohol Clin Exp Res, 1996; 20(1 suppl): 17A-21A.

[8] Yoshihara E, Ameno K, Nakamura K, et al. The effects of the ALDH2*1/2, CYP2E1 C1/C2 and C/D genotypes on blood ethanol elimination[J]. Drug Chem Toxicol, 2000; 23(2): 371-379.

[9] Tsutsumi M, Takada A, Wang JS. Genetic polymorphisms of cytochrome P4502E1 related to the development of alcoholic liver disease[J]. Gastroentero-logy, 1994; 107(5): 1430-1435.

(责任编辑：关蕴良)

欢迎投稿，欢迎订阅