维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)03-0343-06

一氧化氮合酶基因 5 个位点单核苷酸多态性及其与心动周期信号谱特征的关系

马厚勋[1],牛永红[2],李章勇[2],谢正祥[2]

(1. 重庆医科大学附属第一医院老年病科;2. 生物医学工程研究室,重庆 400016)

【摘 要】目的:探索汉族人群 NOS2 G-954C、NOS2 C-1173T、NOS3 T-786C 、NOS3 A-922G 与 NOS3 G894T 5 个位点单核苷酸多态性及其等位基因与心动周期信号谱的关系。方法:随机选择自然人群个体 166 为研究对象(男 89 例,女 77 例,年龄为 62.40 ± 2.5 岁),获取其静脉血白细胞基因组 DNA。采用等位基因特异性引物 PCR 技术检测 NOS3 5 个位点的基因型。利用聚类分析法研究 NOS3 的 5 种 SNP 的等位基因;利用《HPS 谱及其混沌特征分析系统软件》检测人群的心动周期信号谱(HPS)参数。结果:NOS2 G-954C 携带 GG 与 GC 等位基因者其 APU、RPU、RUH、 APH、RPH 以及 TPV 等参数无显著性差异 ($P>0.05$)。NOS2 C-1173T SNP 携带 CC 等位基因者的 HPS 谱参数中, 仅 RPH 较 TT 等位基因者低, 有显著性差异 ($P<0.05$)。NOS3 T-786C 中携带 TT、TC 与 CC 各等位基因者 HPS 谱参数均无显著性差异($P>0.05$)。NOS3 A-922G 中携带 AA、AG 与 GG 各等位基因者 HPS 谱参数亦无显著性差异($P>0.05$)。NOS3 G894T 中携带 GG、GT 与 TT 各等位基因者 HPS 谱参数比较,携带 GG 等位基因者仅 APH 较 TT 等位基因者降低,有显著性差异($P<0.01$)。结论:NOS2 C-1173T SNP 突变型 TT 与其 RPH 增高有关,NOS3 G894T 突变型 TT 亦与其 APH 增高有关, 提示 NOS2 C-1173T 与 NOS3 G894T SNP 可能是导致其 HPS 谱特征差异性的深层次原因。

【关键词】一氧化氮合酶; 单核苷酸多态性; 心动周期信号

【中国图书分类法分类号】R349.5 R544.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2005-11-29

Association between heart period signal spectrum features and single nucleotide polymorphisms at 5 sites of nitric oxide synthase gene

MA Houxun, et al

(*Department of Geriatric, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objectives*: To search for association between heart period signal spectrum features and single nucleotide polymorphisms at five sites of inducible nitric oxide synthase (iNOS, NOS2) and endothelial nitric oxide synthase (ecNOS, NOS3) of NOS2 G-954C, NOS2 C-1173T, NOS3 T-786C, NOS3 A-922G and NOS3 G894T in the Chinese Han nationality population. *Methods*: Genomic DNA from 166 individuals (female 77 and male 89, age 62.40 ± 2.5 yrs) selected randomly from Chinese Han nationality population as research objects was obtained. The SNPs of NOS2 G-954C, NOS2 C-1173T, NOS3 T-786C, NOS3 A-922G and NOS3 G894T were genotyped by allele-specific primer (ASP) PCR technique. The allelic genotypes of five sites SNPs of NOS2 and NOS3 were determined by clustering analysis technique. The analytical software for spectral features of heart period signal (HPS) was applied to determine the spectral parameters of heart period signal in the groups. *Results*: The spectral parameters of HPS, including absolute ultra-low frequency power (AUP), relative ultra-lower frequency power (RPU), ratio of AUP to AHP (RUH), absolute high frequency power (APH), relative high frequency power (RPH) and total power value (TPV), were not significantly different between the groups with GG genotypes and with GC allelic genotypes of NOS2 G-954C ($P>0.05$). Among the above parameters of HPS spectrum, only RPH in the group with CC genotypes was significantly lower than that in the group with TT allelic genotypes of NOS2 C-1173T ($P<0.05$). There was no significant difference in the parameter values of HPS spectrum among the group with TT, TC or CC allelic genotypes of NOS3 T-786C ($P>0.05$). No significant difference in the parameter values of HPS spectrum was noted among the groups with AA, AG or GG allelic genotypes of NOS3 A-922G ($P>0.05$). The comparison of the above HPS parameters showed that only APH was significantly lower than that in the group with TT allelic genotypes of NOS3 G894T ($P<0.01$). *Conclusion:* The TT allelic genotype of NOS2 C-1173T is associated with the increase of RPH and TT allelic genotype of NOS3 G894T is associated with the increase of APH in

作者介绍: 马厚勋(1966-),男,副主任医师,博士生,主要研究方向:老年心血管疾病基础与临床研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

the HPS parameters. This suggests that single nucleotide polymorphisms of NOS2 C-1173T and NOS3 G894T may be the further causes of the variability of HPS spectral parameters.

【Key words】Nnitric oxide synthase; Sngle nucleotide polymorphisms; Hart period signal

心动周期信号(heart period signal, HPS)功率谱分析作为一种检测自主神经系统活动的高度敏感、无创性方法倍受关注。殷跃辉等[1]阐明 HPS 谱超低频带反映了交感神经系统活性;HPS 谱高频带反映胆碱能神经系统的活性[2,3]。已有研究表明[4],心率变异性(heart rate variability, HRV)与压力反射敏感性减低是心脏病预后不良的独立预测指标。一氧化氮(nitric oxide, NO)作为一种交感神经阻滞剂,具有降低脑干交感兴奋性神经元活动,减少中枢性交感传出冲动,减弱心脏对交感神经刺激的反应,同时 NO 也具有增加中枢迷走运动神经元的活动,增强心脏对迷走神经刺激的反应等作用。Souza 等[5]研究发现,在 L-NAME(L- 硝基精氨酸甲酯)诱导的高血压大鼠其低频带的心率谱密度功率变异性减低。Chowdhary 等[6]研究还发现 NO 可使心率变异性(HRV)的高频成份增高。Wang 等[7]报道人体 NO 水平变化,有 30% 是受到一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)基因多态性的影响。为此,本文就内皮源性一氧化氮合酶 (endothelial NOS,ecNOS/NOS3.) 基因 T-786C、A-922G 与 G894T 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms,SNP)以及诱导性一氧化氮合酶(inducible NOS,iNOS/NOS2.)G-954C 和 C-1173T SNP 与 HPS 功率谱特征的关系进行研究,探索上述基因多态性与 HPS 功率谱特征的可能联系,以寻找可能影响 HPS 功率谱特征的等位基因型。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

随机选择自然人群个体 166 人作为研究对象,男 89 例,女 77 例,男:女为 1.16:1 年龄为 35~75 岁,平均年龄 62.40±7.5 岁。研究对象来源于重庆市某高校健康的教职工,他们系来自全国各地的汉族人群。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 取 EDTA 抗凝外周静脉全血 1ml,用 DNA 提取专业试剂盒法(由上海华舜生物工程有限公司提供)抽提白细胞染色体基因组 DNA,并通过 1%脂糖凝胶电泳,溴化乙锭(EB)染色,WD-9403D 型紫外分析仪检测提取的 DNA。

1.2.2 NOS3 与 NOS2 基因 SNP 研究

1.2.2.1 引物设计 研究所有引物序列设计(如 NOS3 基因序列来自 GenBank NO. AF032908. Homo sapiens endo...[gi:2642641];NOS2 基因序列来自 genBank NO. AF017634. Homo sapiens indu...[gi:3421050])均经美国 NIH 的 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 的 BLAST 软件搜索,具有特异性。经第三方软件 Primer 5.0 检验具有优良的性能。

上述设计引物序列均由中国大连宝生生物技术有限公司合成。所设计引物序列如表 1 所示。

1.2.2.2 NOS3 与 NOS2 基因 SNP 检测方法 利用套式等位基因特异性引物 (nested allele-specific primer)PCR 技术(NASP-PCR) 检测 NOS3 T-786C、NOS3 G894T、NOS2G-954C 与 NOS2C-1173T SNP 以及利用单一等位基因特异性引物(single allele-specific primer)PCR 技术[8,9](SASP-PCR)检测 NOS3 A -922G SNP。具体方法:参照文献[7,8]中所采用检测方法进行上述基因多态性分析。

1.2.2.3 PCR 体系及其反应条件 检测 NOS3 T -786C 与 NOS3 A-922G SNP 的 PCR 反应体系中所用 EX Taq 酶、10× EX Taq 酶缓冲液、$MgCl_2$、dNTP (dATP、dTTP dGTP dCTP)由中国大连宝生物有限公司提供。NOS3 G894T、NOS2G-954C 与 NOS2C-1173T 的 PCR 反应中所用 Hotstart Taq 酶、10× Hotstart Taq 酶缓冲液、$MgCl_2$、dNTP(dATP、dTTP dGTP dCTP)由中国天为时代(Times)生物有限公司提供。PCR 体系及其反应条件:参照文献[8,9]所采用的 PCR 体系及其反应条件进行。

1.2.2.4 PCR 产物分析方法 其扩增产物用 2%琼脂糖凝胶电泳(电泳仪为 DYY-11 电脑三恒多用电泳仪,北京六一仪器厂),琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭(EB)染色(琼脂糖和 EB 皆为大连宝生生物有限公司产品),WD-9403D 型紫外分析仪(北京六一仪器厂)检测证实 PCR 结果。

1.2.2.5 HPS 功率谱特征检测方法 本研究采用由重庆医科大学生物工程研究室研制设计的《HPS 谱及其混沌特征分析系统》检测所选人群的心动周期信号(heart period signal, HPS)谱。该分析系统包括电极、ECS 放大器、采样板及计算机系统四个部分,以 300Hz 的采样频率采集 CM5 导联的心电信号(ECS)。将从 ECS 提取 512 RR 间期组成的数字时间序列,称为 HPS。本研究以心动周期信号谱特征来代表自主神经系统活性。

对随机选择的无亲戚关系的 166 例受试者采集仰卧位时 8min 的心动周期信号(HPS),利用《HPS 谱及其混沌特征分析系统》作 HPS 功率谱特征分析。HPS 功率谱包括总功率(total power value, TPV),绝对与相对超低频功率(absolute ultra-low frequency power / relative ultra-lower frequency power, AUP/RUP)、绝对与相对高频功率 (absolute high frequency power / relative high frequency power, AHP/RHP)及其超低频 /

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 NOS3 T-786C、NOS3 G894T、NOS3 A -922G、NOS2G-954C 与 NOS2C-1173T 所设计的引物序列

SNP	primer
NOS3 G894T	T0 5′ -AGT CAA TCC CTT TGG TGC TCAC-3′
	G0 5′ -CAT GAG GCT CAG CCC CAG AAC-3′
	NOS3 894T: 5′ -TGC TGC TGC AGG CCC CAG ATT-3′
	NOS3 894G: 5′ -GAA GGA AGA GTT CTG GGG GCTC-3′
NOS3T-786C	C0:5′ -TTT CTC CAG CCC CTC AGA TG-3′
	NOS3-786C:5′ - GGC AGA GGC AGG GTC AGA CG-3′
	NOS3-786T:5′ - CAT CAA GCT CTT CCC TGT CT-3′
	T0:5′ - AGG CCC AGC AAG GAT GTA GT-3′
NOS3 A -922G	P1 5′ -ACC TTA TCC TCC ACT GCT TTT CAG-3′
	P2-1(-922A) 5′ - GCT GGG GTT TGT AGT TGC GT-3′
	P2-2(-922G) 5′ - GCT GGG GTT TGT AGT TGC GG-3′
NOS2-G954C	P1 5′ - CTC AAC TTC TCC CTA ATG TAG TTG-3′
	P2 5′ -TGC CCA GGT TCC AGA AGG CCA G-3′
	NOS2-954C: 5′ - GCT TCA GAG TTC GAG ACC AC-3′
	NOS2-954G: 5′ - GTT TCA CCT TGT TGT CCT TGC-3′
NOS2-C1173T	P1:5′ -GAC AAA GTT AAT ATA TTA TGC TG-3′
	P2:5′ -CCC ATA CAT ATG CAT TTT TCC-3′
	NOS2-1173C 5′ - TGG TAG CAA AGT GTT GGG AC-3′
	NOS2-1173T 5′ -AGT CAC CCT TGA TCT CAC CA-3′

注：SNP 单核苷酸多态性位点 wprimer 引物 引物序列中加框及有背景的字母代表等位基因特异性位点。

高频比值（ratio of AUP to AHP, RUH）、低频 / 高频比值（ratio of absolute low frequency power to AHP, RLH）。

1.2.3 数据分析

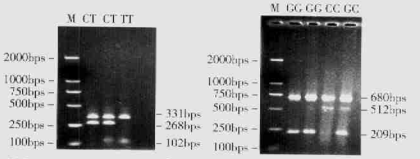
1.2.3.1 聚类分析 对每个 SNP 位点的等位基因，分别进行聚类分析，获得每个等位基因的分布频数。

1.2.3.2 统计分析 采用分类资料相关分析，以 $P<0.05$ 作为统计学差异的判别标准。同类数据以均数 ± 标准差表示，以 $P<0.05$ 作为统计学差异的判别标准。数据处理和图表绘制主要在 MS-OFFICE2000 的 EXEL 软件下完成。

2 结 果

2.1 汉族人群一氧化氮合酶基因 5 个位点 SNP 的 PCR 产物电泳分析结果

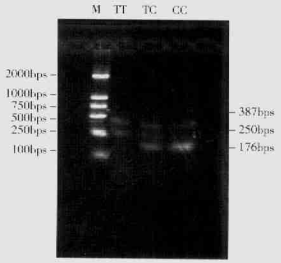
汉族人群 NOS2 C-1173T 与 NOS2 G-954C SNP 的 PCR 产物电泳结果（图 1）。



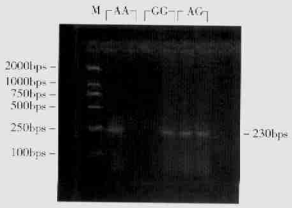
NOS2 C-1173T SNP 电泳图 NOS2 G-954C SNP 电泳图

图 1 汉族人群 NOS2 电泳结果图

汉族人群 NOS3 T-786C、NOS3 A-922G 与 NOS3 G 894T SNP 的 PCR 产物电泳结果（图 2）。



NOS3 T786C SNP 电泳图



NOS3 A-922G SNP 电泳图

维普资讯 http://www.cqvip.com

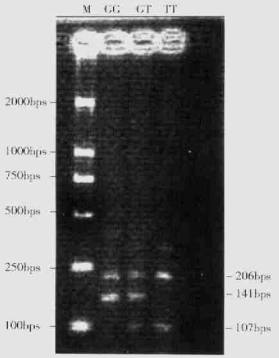


图 2 汉族人群 NOS3 电泳结果图

2.2 汉族人群一氧化氮合酶基因 5 个位点 SNP 等位基因及其单倍型频率分布

NOS2 G-954C SNP GG、GC 及 CC 等位基因型的频率分别为 57.83%(96 例)、41.57%(69 例)及 0.60%(1 例),G 与 C 等位基因单倍型频率分别为 78.62%与 21.38%;NOS2 C-1173T SNP CC、CT 及 TT 等位基因型的频率分别为 60.84%(101 例)、31.93%(53 例)及 7.23%(12 例),C 与 T 等位基因单倍型频率分别为 76.81%与 23.19%;NOS3 G894T SNP GG、GT 及 TT 等位基因型的频率分别为 52.20%(85 例)、38.55%(64 例)及 10.24%(17 例),G 与 T 等位基因单倍型频率分别为 71.48%与 28.52%;NOS3 A-922G SNP AA、AG 及 GG 等位基因型的频率分别为 52.41%(87 例)、42.77%(71 例)及 4.82%(8 例),A 与 G 等位基因单倍型频率分别为 73.80%与 26.20%;NOS3 T-786C SNP TT、TC 及 CC 等位基因型的频率分别为 55.42%(92 例)、28.92%(48 例)及 15.66%(26 例),T 与 C 等位基因单倍型频率分别为 69.88%与 30.12%。

2.3 汉族人群一氧化氮合酶基因 5 个位点 SNP 各等位基因的 HPS 功率谱特征

2.3.1 汉族人群 NOS2 G-954C SNP 各等位基因型的 HPS 功率谱特征 携带 NOS2 G-954C SNP 的 GG、GC 等位基因型的 HPS 功率谱参数 APU、APH、RPU、RPH、RUH、RLH 以及 TPV 比较,结果显示:携带 GG 等位基因者 APU、RPU、RUH 较 GC 等位基因者低,但无显著性差异($P>0.05$);携带 CC 等位基因者 APH、RPH、RLH 以及 TPV 较 TT 等位基因者高,但无显著性差异($P>0.05$)。其余详见表 2。

2.3.2 汉族人群 NOS2 C-1173T SNP 各等位基因型的 HPS 功率谱特征 携带 NOS2 C-1173T SNP 的

表 2 汉族人群 NOS2 及 NOS3 5 个位点 SNP 各等位基因及其与心功率谱特征

Allele genotype	Numbers (n)	APU ms²	APH ms²	RPU %	RPH %	RUH %	RLH %	TPV ms²
NOS3 T-786T	92	475.4 ± 371.7	242.1 ± 335.3	56.9 ± 17.4	24.0 ± 16.6	4.89 ± 8.01	1.17 ± 0.82	889.1 ± 711.2
NOS3 T-786C	48	558.5 ± 471.8	309.4 ± 507.7	58.2 ± 18.3	23.0 ± 18.7	5.65 ± 7.35	1.48 ± 1.46	1020.2 ± 814.0
NOS3 C-786C	26	474.3 ± 483.4	237.1 ± 480.3	60.3 ± 16.0	22.3 ± 16.9	5.71 ± 6.15	1.26 ± 1.04	834.7 ± 854.4
NOS3 G894G	85	536.6 ± 458.7	198.3 ± 316.8	59.6 ± 16.2	21.2 ± 14.4	6.05 ± 9.25	1.41 ± 1.21	895.1 ± 758.6
NOS3 G894T	64	407.1 ± 319.9	3363 ± 551.9	55.3 ± 20.1	26.7 ± 20.6	4.11 ± 4.14	1.09 ± 0.86	896.5 ± 840.9
NOS3 T894T	17	458.7 ± 352.3	585.5 ± 1307.4	54.8 ± 19.0	28.9 ± 19.0	3.20 ± 2.67	0.83 ± 0.60	1247.3 ± 1732.7
NOS3 A-922A	87	473.5 ± 404.1	301.0 ± 695.1	58.5 ± 17.7	23.1 ± 17.5	5.57 ± 8.94	1.31 ± 1.18	940.9 ± 1045.4
NOS3 A-922G	71	495.8 ± 416.4	271.9 ± 448.9	56.0 ± 19.2	24.7 ± 18.1	4.56 ± 4.90	1.14 ± 0.84	942.2 ± 765.9
NOS3 G-922G	8	698.0 ± 537.2	355.0 ± 369.1	56.8 ± 11.8	26.9 ± 13.7	3.14 ± 2.80	0.91 ± 0.82	1226.0 ± 963.3
NOS2C-1173C	101	514.4 ± 504.2	226.3 ± 390.7	59.8 ± 16.5	21.6 ± 14.7	5.23 ± 7.56	1.24 ± 0.97	957.8 ± 964.6
NOS2C-1173T	53	454.9 ± 422.6	294.8 ± 464.9	54.6 ± 19.7	26.3 ± 20.9	5.15 ± 7.09	1.34 ± 1.20	924.5 ± 849.3
NOS2T-1173T	12	780.2 ± 1239.3	389.6 ± 472.7	51.0 ± 19.6	32.4 ± 19.7	2.68 ± 2.48	0.73 ± 0.53	985.8 ± 871.1
NOS2G-954G	96	484.7 ± 415.4	327.6 ± 744.6	56.4 ± 19.4	24.1 ± 19.1	4.60 ± 4.57	1.28 ± 1.00	979.4 ± 1054.6
NOS2G-954C	69	494.9 ± 406.4	258.4 ± 417.1	58.2 ± 16.5	23.7 ± 16.0	5.22 ± 8.46	1.22 ± 1.09	915.5 ± 810.6
NOS2C-954C	1	808.02	1051.20	39.46	49.58	0.80	0.22	2047.73

Allele genotype:基因型 APU:绝对超低频功率 APH:绝对与相对高频功率 RPU:相对超低频功率
RPH:相对高频功率 RUH:超低频/高频比值 RLH:低频/高频比值 TPV:总功率

维普资讯 http://www.cqvip.com

CC、CT 与 TT 等位基因型的 HPS 功率谱参数比较，其结果显示：携带 CC 等位基因者 APU、APH、RPH 与 TPV 较 TT 等位基因者低，仅 RPH 有显著性差异（$P<0.05$）；携带 CC 等位基因者 RPU、RUH、RLH 较 TT 等位基因者高，但无显著性差异性（$P>0.05$）。其余详见表 2。

2.3.3 汉族人群 NOS3 G894T SNP 各等位基因型的 HPS 功率谱特征 携带 NOS3 G894T SNP 的 GG、GT 与 TT 等位基因型的 HPS 功率谱参数比较，其结果显示：携带 GG 等位基因者 APH、RPH 以及 TPV 较 TT 等位基因者低，仅 APH 有显著性差异（$P<0.01$；$t=2.754$）；携带 GG 等位基因者 APU、RPU、RUH、RLH 较 TT 等位基因者高，但未达到统计学上显著性差异（$P>0.05$）。其余详见表 2。

2.3.4 汉族人群 NOS3 A-922G SNP 各等位基因型的 HPS 功率谱特征 携带 NOS3 A-922G SNP 的 AA、AG 与 GG 等位基因型的 HPS 功率谱参数比较，其结果显示：携带 AA 等位基因者 APU、APH、RPH 以及 TPV 较 GG 等位基因者低，但无显著性差异性（$P>0.05$）；携带 AA 等位基因者 RPU、RUH、RLH 较 GG 等位基因者高，也无显著性差异性（$P>0.05$）。其余详见表 2。

2.4.5 汉族人群 NOS3 T-786C SNP 各等位基因型的 HPS 功率谱特征 携带 NOS3 T-786C SNP 的 TT、TC 与 CC 等位基因型的 HPS 功率谱参数比较，其结果显示：携带 TT 等位基因者 APU、APH、RPH 以及 TPV 较 CC 等位基因者高，均无显著性差异性（$P>0.05$）；携带 TT 等位基因者 RPU、RUH 以及 RLH 较 CC 等位基因者低，但也无显著性差异性（$P>0.05$），其余详见表 2。

3 讨 论

NO 作为一种具有多种生物活性分子在心血管系统具有维持血管张力、调节血压，并在调节心肌收缩与舒张功能及心肌重塑等方面起着极其重要的作用。已有研究证实 NO 对中枢及周围植物神经系统功能具有神经调节作用。Chowdhary 等[10]研究发现在健康人群 NO 对迷走神经控制心率具有增强作用；该组学者[11]还发现在慢性心力衰竭患者其血浆 NO 产物（$NO_2^-+NO_3^-$）含量显著高于健康人，证实在慢性心力衰竭患者压力反射所介导的心脏副交感神经激活作用依赖于内源性 NO 合成，这说明干预 NO 途径可为纠正心衰时已受损的心脏副交感神经功能提供一种新治疗方法。

心率变异功率谱分析是研究自主神经系统活动的重要手段之一。1996 年《欧洲心脏病学会和北美洲起搏与电生理学学会》Task Force 研究组就报道分析了心率变异性的检测标准、生理学上的解释以及临床应用等方面问题，肯定了心率变异性的生理意义及应用价值[12]。1999 年国内学者殷跃辉等[1]提出用心动周期信号谱特征分析代替心率变异性来研究自主神经系统活动更为恰当，并首次报道 HPS 谱的超低频带所代表的生理意义，重新评价低频带的生理作用，提出了 HPS 谱混沌特征分析方法。已有研究证实 NO 作为拟交感神经阻滞剂对心脏自主神经系统活性起调节作用。Chowdhary 等[13]比较 NOS 抑制剂 L-NMMA（L- 硝基单甲基精氨酸）与苯肾上腺素对人类心率变异性影响时发现，输注 NOS 抑制剂组其心率变异性指标较输注苯肾上腺素组的反应更小；还发现 NOS 抑制剂组 LF/HF 比值较输注苯肾上腺素者增高明显，即提示 NO 具有使心率变异（HRV）的高频成份（HF）增高的作用。而 Gori 等[14]研究却发现持续使用硝酸甘油（作为 NO 供体）的人群其平均 RR（持续心电图相邻 RR 间期）明显缩短，RRSD（R-R 间期标准差）显著降低，同时低频功率 / 高频功率比值增加，即说明持续使用硝酸甘油有减弱反射性迷走神经的心率调节作用。

关于心率变异性及其相关参数受到遗传变异性的影响研究已有报道[15]，如 Wang 等[16]发现在脑卒中患者血管紧张素转化酶基因的 DD 基因型携带者其心率变异性组分（包括 TP、LF、HF 及 LF/HF 比值等）明显高于 II 或 ID 基因型携带者，这就提示携带 DD 基因型脑卒中患者处于脑 - 心植物性神经功能紊乱的高危状态。Stolarz 等[17]研究发现当受试者钠外排量 < 190 mmol/d 时，携带 CYP11B2 -344T 等位基因者其仰卧心率、LF 与 LF/HF 比值增高，HF 减低；而 AT1R 1166C 等位基因携带者其 LF, HF 与 LF/HF 比值体位性变化效应减弱。Suzuki 等[18]研究日本年轻人 α-2B AR12Glu9 多态性与心率变异性功率谱的关系时，发现携带 α-2B AR（α-2B 肾上腺素能受体基因）Glu9/Glu9（Glu：甘氨酸）的等位基因携带者低频与极低频功率明显高于 α-2B AR Glu12/Glu12；这就提示 α-2BAR 12Glu9 多态性通过影响自主神经系统功能导致代谢紊乱。Sivenius

维普资讯 http://www.cqvip.com

等[19]也发现携带 α-2BAR Glu9/Glu9 非糖尿病的男性患者其总体自主神经紧张性受抑，这种作用在向心性肥胖者更为显著。Yasuda 等[20]研究 GNAS1（Gs 蛋白 α 亚基 -1）T393C SNP 与自主神经系统功能关系时发现 GNAS1 TT+TC 携带者仰卧静息时的高频率成份与副交感神经指标较 CC 携带者明显降低，这提示该基因多态性与自主神经系统活动有关。上述说明不同基因多态性对自主神经系统活动（由心率变异性表征）的作用有显著性差异。

目前关于 NOS 基因多态性与心率变异性的关系研究甚少，而就中国汉族人群的 NOS3、NOS2 基因多态性与心率变异性的关系研究尚无报道。本研究以心动周期信号谱特征作为自主神经系统活性检测指标。采用由重庆医科大学生物工程研究室研制设计的《HPS 谱及其混沌特征分析系统》检测人群的心动周期信号谱。本文通过对中国汉族人群 NOS2 G-954C、NOS2 C-1173T、NOS3 T-786C 、NOS3 A-922G 与 NOS3 G894T 5 个位点 SNP 及其等位基因与心动周期信号谱的相关性研究发现：(1) NOS2 C-1173T SNP 携带 CC 等位基因者 HPS 谱参数（包括 APU、RPU、RUH、APH、RPH 以及 TPV 等）中，仅 RPH 值较 TT 等位基因者明显降低，有显著性差异（$P<0.05$）。(2)NOS3 G894T SNP 中携带 GG、GT 与 TT 各等位基因者 HPS 谱参数比较，携带 GG 等位基因者其 APH 值较 TT 等位基因者降低（$P<0.01$），其余均无显著性差异（$P>0.05$）。(3)其余 NOS2 G-954C、NOS3 A-922G 及 NOS3 T-786C SNP 各等位基因者的心动周期信号谱参数均无显著性差异（$P>0.05$）。上述研究结果显示 NOS2 C-1173TSNP 突变型 TT 与其 RPH 增高有关，NOS3 G894T 突变型 TT 亦与其 APH 增高有关，这就提示 NOS2 C-1173T 与 NOS3 G894T SNP 可能是导致其 HPS 谱特征差异性的深层次原因。已有研究报导体内 NO 水平变化，有 30%是受 NOS 基因多态性的影响[7]，因此，可以推断，NOS 基因多态性对 HPS 影响可能是通过影响 NO 水平而发挥作用的，或至少是部分通过影响 NO 水平而发挥作用的。

（通讯作者：谢正祥　地址：重庆医科大学生物医学工程研究室　E-mail:bmezxxie@163.com）

参 考 文 献

[1] 殷跃辉，陈　丽，徐小红，等. 心动周期信号功率谱超低频带的生理意义 [J]. 中国心脏起搏与电生理杂志，1999;13(2):78.

[2] 谢正祥，牛永红，殷跃辉，等. 阿托品的心脏自主神经系统效应 [J]. 中国药房，2002;13(5):265.

[3] 谢正祥，牛永红，殷跃辉，等. 倍他乐克对心脏自主神经系统影响 [J]. 中国药房，2002;13(9):522.

[4] Nolan J., Batin P. D., Andrews R, et al. Prospective study of heart rate variability and mortality in chronic heart failure. Results of the United Kingdom Heart failure Evaluation and Assessment of Risk Trial (UK-Heart) [J]. Circulation, 1998;98:1510-1516.

[5] Souza HCD, Ballejo G, Salgado MC, et al. Cardiac sympathetic overactivity and decreased baroreflex sensitivity in L-NAME hypertensive rats [J].Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001;280:H844-H850.

[6] Chowdhary S, Vaile JC, Fletcher J, et al. Nitric oxide and cardiac autonmic control in human [J]. Hypertension, 2000;36:264-269.

[7] Wang XL, Mahaney MC, Sim AS, et al. Genetic contribution of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide levels[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997;17(11):3147-3153.

[8] 马厚勋，谢正祥，牛永红，等. 等位基因特异性引物 PCR 技术及其应用研究 [J]. 生物技术杂志，2005;15(1):15-18.

[9] 马厚勋，谢正祥，牛永红，等. 中国汉族人群 NOS3 基因启动子区 T-786C、A-922G 与第 7 外显子 G894T 多态性等位基因及其组合分布[J].中国老年学杂志，2004;24(12):1137-1140.

[10] Chowdhary S, Nuttal S L, Coote J H, et al. L-arginine augments cardiac vagal control in healthy human subjects[J]. Hypertension, 2002;39:51-56.

[11] Chowdhary S, G. Andre NG, Nuttall SL, et al. Nitric oxide and cardiac parasympathetic control in human heart failure [J]. Clinical Science, 2002;102:397-402.

[12] Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use [J]. Circulation, 1996;93:1043-1065.

[13] Chowdhary S, Vaile JC, Fletcher J, et al. Nitric oxide and cardiac autonmic control in human [J].Hypertension,2000;36:264-269.

[14] Gori T, Floras J S,Parker JD, et al. Effects of nitroglycerin treatment on baroreflex sensititivity and short-term heart rate variability in humans[J]. J Am Coll Cardiol, 2002;40(11):2000-2005.

[15] Busjahn A, Voss A, Knoblauch H, et al. Angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene polymorphisms and

（下转第 376 页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

总的来说 LN 表达随病变的恶性化程度增加而降低，LN-R 却呈相反趋势。这一点与安瑞芳等[9]对葡萄胎、侵蚀性葡萄胎以及绒毛膜癌组织中 LN 和受体 LN-R 的研究结果相符合。恶性滋养细胞疾病的转移能力是非常强的，这也是它发病致死的主要原因，所以在恶性滋养细胞疾病发展过程中依赖于 LN 的细胞粘附和基膜突破必然存在。本实验结果提示在有恶变倾向的葡萄胎组织 LN 表达减弱，上皮基膜中已经出现了 LN 的减少甚至缺失。理论上讲，LN 的降低会削弱细胞的粘附能力，这与恶性滋养细胞疾病在病变早期就可能脱离原发病灶而通过血道发生远处转移的特点相互矛盾，但是参与肿瘤细胞侵袭、粘附、转移的粘附分子除 LN 外，还有钙粘蛋白家族、选择蛋白家族、免疫球蛋白超家族和 CD44 粘附分子等，可能在葡萄胎发生恶变的过程中发挥主要粘附作用的分子并非 LN，而有恶变倾向葡萄胎组织 LN 表达减弱则可能是基底膜发生早期损伤的一种分子表现。虽然三组之间比较 LN-R 强表达无显著性差异，但是与正常早孕绒毛的规则包绕性表达不同，恶变组的强表达并不是以细胞基底膜侧为主，而显示出无序的整个细胞膜表面强表达，胞浆里则多见粗大的染色颗粒。

因此 LN 和 LN-R 不仅在正常绒毛胎盘形成中发挥重要的作用，而且还参与了妊娠滋养细胞疾病，尤其是良性滋养疾病向恶性滋养细胞疾病进展，以及恶性细胞的侵袭、转移过程。并且在滋养细胞疾病发展中有着特征性的表现，可以为疾病的预测和预后提供有用的信息，对临床诊断和治疗有一定指导意义。

参 考 文 献

[1] Li HW, Tsao SW, Cheung An. Current understandings of the molecular genetics of gestational trophoblastic disease[J]. Placenta, 2002;23(1): 20-31.

[2] Molino A, Pedersini R, Micciolo R, et al. Prognostic significance of laminin, laminin receptor and bone marrow micrometastases in breast cancer patients: are these markers of aggressive behavior and metastatic potential [J]? Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2003;11(4):311-318.

[3] 乐杰主编. 妇产科学[M]. 第 6 版，北京：人民卫生出版社，2004；325-326.

[4] Constantine A, Monteagudo C, Merino MJ, et al. Immunohistochemical detection of P glycoprotein in endometrial adenocarcinoma[J]. Am J Pathol, 1991; 138(4): 799-806.

[5] Givant-Horwitz V, Davidson B, Van de Putte G, et al. Expression of the 67 kDa laminin receptor and the alpha6 intergrin subunit in serous ovarian carcinoma [J]. Clin Exp Metastasis, 2003; 20(7):599-609.

[6] Skiba E, Lebensztejn DM, Werpachowska I, et al. The evaluation of hyaluronic acid and laminin concentration in serum in children with chronic hepatitis B treated with lamivudine, unresponsive to previous interferon-alpha therapy[J]. Pol Merkuriusz Lek, 2005; 18(105):268-270.

[7] 龙洪清.层粘连蛋白在早妊小鼠子宫内膜中的表达[J].咸宁医学院学报，2000;14(3):156-159.

[8] 崔彩莲，李 英.人胎盘绒毛层粘连蛋白及其受体的定位与定量研究[J]. 北京医科大学学报，1998;30(4):302-304.

[9] 安瑞芳，王 姝，张永爱，等.层粘连蛋白及其受体在妊娠滋养细胞肿瘤中的表达及意义 [J]. 四川大学学报 (医学版)，2005;36(3):344-346.

(上接第 348 页)

heart rate variability in twins[J]. Am J Cardiol, 1998;81(6):755-760.

[16] Wang YM, Liu XD, Dong WW, et al. The relationship between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and heart rate variability in cerebral stroke [J]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi, 2004;21(2):156-160.

[17] Stolarz K, Staessen JA, Kawecka-Jaszcz K. Genetic variation in CYP11B2 and AT1R influences heart rate variability conditional on sodium excretion[J]. Hypertension, 2004;44(2):156-162.

[18] Suzuki N, Matsunaga T, Nagasumi K. Alpha(2B)-adrenergic receptor deletion polymorphism associates with autonomic nervous system activity in young healthy Japanese[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003;88(3):1184-1187.

[19] Sivenius K, Niskanen L, Laakso M. Uusitupa M A deletion in the alpha2B-adrenergic receptor gene and autonomic nervous function in central obesity [J]. Obes Res, 2003;11(8):962-970.

[20] Yasuda K, Matsunaga T, Moritani T. T393C polymorphism of GNAS1 associated with the autonomic nervous system in young, healthy Japanese subjects [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2004; 31(9):597-601.