基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001384

ADAMTS4和 ADAMTS5 基因多态性与冠心病相关性研究

陈小云，柳　青，雷家俨，丁艳辉，李美玲，翟秀明
（重庆医科大学附属第一医院临床研究中心，重庆　400016）

【摘　要】**目的**：探讨 ADAMTS4 和 ADAMTS5 基因单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphisms，SPN）和冠心病（coronary artery disease，CAD）的相关性。**方法**：用聚合酶链反应-单链构象多态性（polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism，PCR-SSCP）方法和聚合酶链反应-限制性片段长度多态性（polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism，PCR-RFLP）方法检测 307 例 CAD 患者和 315 例对照的 rs4233367、rs2830585 和 rs229072 SNP 多态性位点基因型的分布情况。**结果**：SNPrs2830585 在 CAD 组和对照组中基因型频率为 CC（87.0% vs. 78.4%）、CT（12.7% vs. 20.6%）和 TT（0.3% vs. 1.0%），差异有统计学意义（χ^2=8.291，P=0.016），2 组间 T 等位基因频率分别为 6.7%和 11.3%，差异有统计学意义（χ^2=8.004，P=0.005），经过 logistic 回归分析后，rs2830585 的 CT+TT 基因型组间差异依然有统计学意义（OR=1.777，95%CI=1.071~2.949，P=0.026）。SNPrs4233367 和 SNPrs229072 在 CAD 组和对照组中基因型和等位基因频率分布差异均无统计学意义（P>0.05）。**结论**：ADAMTS5 基因 rs2830585 多态性位点与 CAD 发病相关，C 等位基因可能是 CAD 发生的易感基因。

【关键词】冠心病；单核苷酸多态性；ADAMTS4 基因；ADAMTS5 基因
【中图分类号】R394.3　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2017-04-18

Association of the single nucleotide polymorphisms of ADAMTS4 and of ADAMTS5 with coronary heart disease in Chinese Han population

Chen Xiaoyun, Liu Qing, Lei Jiayan, Ding Yanhui, Li Meiling, Zhai Xiuming
(*Department of Clinical Research Center, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To investigate the association of single nucleotide polymorphisms (SNP) of ADAMTS4 and ADAMTS5 gene with coronary artery disease (CAD). ***Methods***: A case-control association study of 307 unrelated CAD patients and 315 normal controlfrom a Chinese Han Population was performed. Genotype and allele were determined bypolymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) for SNP rs4233367, rs2830585 and rs229072. ***Results***: The genotype frequencies of SNP rs2830585 in CAD group and the control group respectively were CC (87.0% vs. 78.4%), CT (12.7% vs. 20.6%) and TT (0.3% vs. 1.0%), with statistically significance between the two groups (χ^2=8.291, P=0.016). The genotype frequencies of T allele were 6.7% and 11.3% respectively, with statistically significance between the two groups (χ^2=8.004, P=0.005). Logistic regression analysis revealed thatADAMTS5 gene rs2830585 had a strong associ ation with CAD (OR=1.777, 95%CI=1.071 to 2.949, P=0.026). Thefrequencies of the genotype and alleles ofrs4233367 and rs229072 had no statistical significance between two groups (P>0.05). ***Conclusion***: SNP rs2830585 polymorphisms of the ADAMTS5 gene may be associated with CAD. The C allele of the SNP rs2830585 may be a genetic risk factor for CAD.

【Key words】coronary artery disease; single nucleotide polymorphism; ADAMTS4 gene; ADAMTS5 gene

冠心病（coronary artery disease，CAD）发病率、死亡率高，严重危害人类身体健康，是导致全世界人类死亡的首要原因[1]。CAD 的主要病理过程是冠状动脉粥样硬化使官腔狭窄、堵塞导致的心肌缺血、缺氧。研究表明，CAD 是由环境因素和遗传因素共同作用导致的一种复杂性疾病[2-4]，遗传因素更是至关重要，但仍有许多未知的基因或分子参与其中，因此需要继续探索与 CAD 发病相关的基因。经研究

作者介绍：陈小云，Email：411940750@qq.com，
研究方向：医学分子遗传学。
通信作者：柳　青，Email：qingliu5566@aliyun.com。
优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170630.1057.058.html（2017-06-30）

发现，细胞外基质聚糖蛋白多糖可通过与低密度脂蛋白的结合使脂质在血管内沉积促进动脉粥样硬化的发生[5-6]。含人类Ⅰ类血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs，ADAMTS)4 和 5 具有蛋白聚糖酶的活性，能降解蛋白聚糖增加斑块的不稳定性，在动脉粥样硬化的发生发展中起到非常重要的作用[7-8]。Zha[9]和 Kashiwagi 等[10]研究表明ADAMTS4 通过降解细胞外基质、血管壁及纤维帽中的聚糖蛋白多糖 aggrecan 和 versican 导致动脉粥样斑块的不稳定。ADAMTS5 是降解 aggrecan 的主要酶[11]，同样与动脉斑块的稳定程度关系密切。

本研究根据文献报道、中国汉族人群的TagSNPs信息和生物学功能预测，选取了 ADAMTS4 的 rs4233367、ADAMTS5 的 rs2830585 和 rs229072 三个位点，意在通过病例对照研究发现 ADAMTS4 和 ADAMTS5 基因与 CAD 发病有关的遗传变异。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取 CAD 患者 307 例为 CAD 组，其中男 165 例，女 142 例；对照人群 315 例为对照组，其中男 173 例，女 142 例。CAD 组和对照组研究对象均来自重庆医科大学附属第一医院。纳入标准：CAD 组：满足下列之一情况者：①冠状动脉造影证实左主干狭窄≥50%或主要分支至少 1 支狭窄程度≥50%，出院诊断为急性冠脉综合征的患者；②接受过经皮冠状动脉成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty，PCTA)和冠状动脉旁路搭桥术(coronary artery bypass graft，CABG)手术。对照组：同期在同医院拟诊为 CAD 的患者，经冠脉造影未发现冠状动脉明显病变且通过病史查体及器械检查排除器质性心脏疾病、恶性肿瘤、慢性肝肾疾病等。

1.2 主要试剂

PremixTaq Version2.0(大连宝生物工程有限公司，lot# A3901A)；限制性内切酶 FastDigestSmaI(大连宝生物工程有限公司，lot#k5601GA)；DNA Marker(北京康为世纪生命科技有限公司，lot：1415G)；30%丙烯酰胺(上海生工生物工程股份有限公司，lot：C629KA3184)；TEMED(上海生工生物工程股份有限公司，lot：B626BA0024)。

1.3 方法

1.3.1 SNP 位点的选择 SNP 位点的挑选遵循最小等位基因频率 MAF>0.05，r^2>0.8。从 HapMap 数据库中挑选 3 个SNP 位点。其中 rs4233367(ADAMTS4)和 rs2830585(ADAMTS-5)位于外显子上，rs229072(ADAMTS-5)位于 3'-UTR。

1.3.2 DNA 的提取 采用饱和盐析法提取 5 mL 的 DTA 抗凝血基因组 DNA，经过 NanoDrop-1000 微量核酸蛋白检测仪测定 A260、A280，计算浓度，-80 ℃保存。

1.3.3 引物设计及 PCR 结合 DNAMAN 软件和 Primer Premier5.0 软件分别设计引物，经美国国立生物技术信息中心的 Blast 功能分析引物的特异性后统一交由上海英骏生物有限公司合成。引物序列见表 1。PCR 反应体系包括模板 DNA 1.0 μL，正反向引物各 1 μL(10 μmol/L)，Takara 公司 PremixTaq Version 2.0[*Taq* 酶：1.25 U/25 μL，dNTP(2×)，各 0.4 mmol/L，$MgCl_2$：3 mmol/L，PCR Buffer(2×)]7.5 μL，用水补充体系至 15 μL。SNPrs4233367 的反应条件为：95 ℃，5 min，1 个循环；95 ℃，45 s，59.5 ℃，45 s，72 ℃，1 min，30 个循环；72 ℃，5 min，1 个循环。SNPrs2830585 的反应条件为：95 ℃，5 min，1 个循环；95 ℃，45 s，51 ℃，45 s，72 ℃，30 s，30 个循环；72 ℃，5 min，1 个循环。SNPrs229072 的反应条件为：95 ℃，5 min，1 个循环；95 ℃，45 s，59 ℃，45 s，72 ℃，30 s，30 个循环；72 ℃，5 min，1 个循环。反应结束后，配 1.5%的琼脂糖凝胶，加入 Goldview 染色，取 2 μL 的 PCR 产物进行上样，在 130 V 30 min 的条件下进行电泳。电泳结束后用凝胶成像系统观察 PCR 产物的特异性。

表 1 3 个 SNP 位点引物序列

Tab.1 Primer sequence of three SNP sites

SNP位点	引物序列(5'→3')	长度(bp)
rs4233367	上游：CACGGGAAATAGGATAGGC	677
	下游：ACTGAGGACTGCCCAACT	
rs2830585	上游：CTGCATATTGGTGGAACT	201
	下游：AGAAACAACGGACGCTAC	
rs229072	上游：TGTCTTAGCGTCTGTAGGAA	262
	下游：TTTCTGTGTGAAGCAGGTGT	

1.3.4 基因分型 采用限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism，RFLP)方法对 rs4233367 进行分析。酶切体系包括：PCR reaction mixture 10 μL(0.2 μg)，nuclease-free water 17 μL，10×FastDigest Buffer 2 μL，FastDigestSmaI 1 μL，酶切体系置于金属浴 37 ℃ 5 min，反应结束后配制含 2 μL Goldview1.5%的琼脂糖凝胶，在 130 V 30 min 的条件下进行电泳，电泳结果用自动凝胶成像仪分析，酶切后得到 260 bp 和 417 bp 2 个片段。采用单链构象多态性(single-strand conformation polymorphism，SSCP)方法对 rs2830585 和 rs229076 进行分析。反应体系包括：PCR 反应产物 6 μL，变性上样缓冲液 5 μL(95%去离子甲酰胺，5 mmol/L EDTA，0.05%溴酚蓝，0.05%二甲苯青 FF)混匀后金属浴 100 ℃ 10 min 变性，置冰上 10 min 防止复性。配置 8%的非变性聚丙烯酰胺凝胶(30%丙烯酰胺 2.0 mL，5×TBE 1.5 mL，TEMED 5 μL，AP 55 μL，双蒸水 2.94 mL)，rs2830585 在 270 V，60 min 的条件下，rs229076 在 180 V，150 min 的条件下进行电泳。电泳结束后加 Goldview 染色 30 min，应用自动凝胶成像仪根据带型进行分型。

1.3.5 质量控制 个体质量控制：去掉缺失信息的个体。基

因分型质量控制：监控试验过程；病例和对照样本同一批次检测；酶切试验出现不同条带的样品，重复 1 次 PCR 和酶切，获相同结果送测序验证；SSCP 试验出现不同条带的样品，从 PCR 扩增到 SSCP 重复 3 次试验，获得相同结果送测序验证。SNP 质量控制：Hardy-Weinberg 平衡 $P<0.05$；MAF>0.05。

1.3.6　测序　将实验的部分 PCR 产物送上海英骏生物有限公司测序，验证分型结果。

1.4　统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件包进行数据处理。2 组计量资料采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，用独立样本 t 检验或 Mann-Whitney U 检验，2 组计数资料用相对数表示，用卡方检验。用 Hardy-Weinberg 平衡定律对 SNP 的基因型分布做检验，估计样本的群体代表性，要求 $P>0.05$。各位点 2 组间的基因型和等位基因频率的比较用卡方检验。多因素分析采用二元 logistic 回归分析，检验水准 $\alpha=0.05$。应用 Haploview 软件进行 SNP 连锁不平衡分析。

2　结　果

2.1　CAD 组与对照组的一般情况

2 组间年龄、吸烟史、高血压、糖尿病、总胆固醇、高密度脂蛋白及载脂蛋白 A 指标比较差异均有统计学意义（$P<0.05$）。CAD 组与对照组相比，年龄较大。其吸烟比率、合并高血压以及糖尿病的比率均高于对照组。而性别、甘油三酯、低密度脂蛋白、载脂蛋白 B 之间均无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表 2。

2.2　SNP 连锁不平衡分析

使用 Haploview 软件对 SNPrs2830585 和 rs229072 位点做连锁不平衡分析。数据结果显示，rs2830585 和 rs229072 两个位点之间 $r^2<0.8$，提示相互之间不存在连锁不平衡现象。分析结果如图 1 所示。方块颜色深浅表示连锁程度的高低，颜色越深连锁程度越高，颜色越浅连锁程度越低。

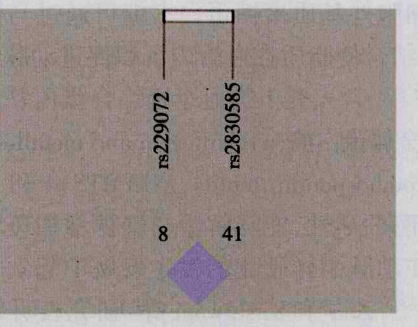


图 1　ADAMTS5 基因上 2 个 SNP 相互连锁程度

Fig.1　Linkage equilibrium of 2SNPS located in ADAMTS5 gene

2.3　Hardy-Weinberg 平衡检验

在 CAD 组和对照组中 SNPrs4233367、SNPrs2830585 和 SNPrs229072 的基因型分布均符合 Hardy-Weinber 平衡（SNPrs4233367 的基因型：$\chi^2=0.266$，$P=0.606$；$\chi^2=1.056$，$P=0.304$；SNPrs2830585 的基因型：$\chi^2=0.114$，$P=0.735$；$\chi^2=0.318$，$P=0.573$；SNPrs229072 的基因型：$\chi^2=2.546$，$P=0.111$；$\chi^2=0.858$，$P=0.354$）。表明样本来自遗传平衡的总体，具有良好的代表性。

2.4　CAD 组和对照组 3 个 SNP 位点基因型检测

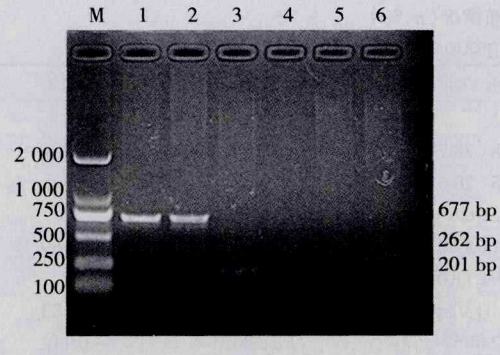
ADAMTS4 rs4233367 检测到 3 种基因型，PCR 产物用 FastDigestSmaI 酶切后可得到 417 bp 和 260 bp 的 2 个片段，未酶切的片段为 TT 型，部分酶切的片段为 CT 型，完全酶切的片段为 CC 型。ADAMTS5 rs2830585 检测到 CC、CT 和 TT 3 种基因型。rs229072 检测到 AA、AT 和 TT3 种基因型。3 个SNP 的 PCR 扩增产物大小及特异性如图 2 所示。SNPrs4233367 的 3 种不同基因型的 PCR 产物酶切电泳结果如图 3 所示。SNPrs2830585 的 3 种不同基因型结果如图 4 所示。SNPrs229072 的 3 种不同基因型结果如图 5 所示。ADAMTS4、ADAMTS5 PCR 产物测序结果如图 6 所示。

表 2　CAD 组和对照组的一般临床资料的比较

Tab.2　Comparison of clinical data between CAD group and control group

项目	CAD组（n=307）	对照组（n=315）	统计量值	P值
男/女	165/142	173/142	0.086[a]	0.769
年龄（岁）	66.82 ± 10.36	59.37 ± 11.42	8.510	0.000
吸烟史（%）	51.5	27.9	36.003[a]	0.000
高血压病史（%）	67.4	47.0	26.520[a]	0.000
糖尿病史（%）	32.6	11.1	42.143[a]	0.000
甘油三酯（mmol/L）	1.50 ± 0.90	1.38 ± 0.72	−1.361[b]	0.173
总胆固醇酯（mmol/L）	3.98 ± 0.98	4.20 ± 0.99	−2.834	0.005
高密度脂蛋白（mmol/L）	1.15 ± 0.32	1.29 ± 0.33	−5.806[b]	0.000
低密度脂蛋白（mmol/L）	2.44 ± 0.83	2.51 ± 0.82	−1.069	0.286
ApoA1（g/L）	1.26 ± 0.26	1.37 ± 0.26	−5.502	0.000
ApoB（g/L）	0.80 ± 0.23	0.80 ± 0.24	−0.178	0.858

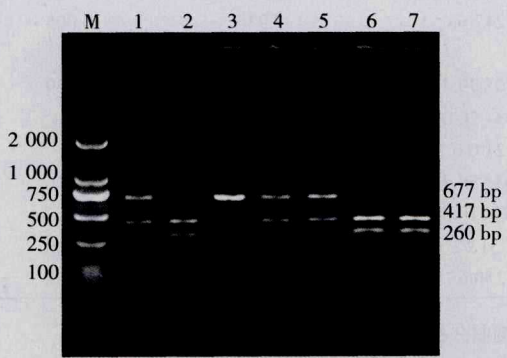
注：a 表示 χ^2 值，b 表示 Mann-Whitney U 检验值，其余为 t 值



M为 Marker；1、2 为 SNPrs4233367；3、4 为 SNPrs2830585；5、6 为 rs229072

图 2 ADAMTS4 和 ADAMTS5 基因 PCR 产物电泳图

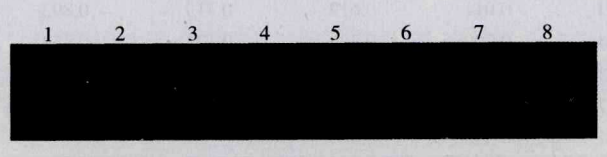
Fig.2 Electrophoregram of SNPrs4233367, SNPrs2830585 and SNPrs229072 PCR amplification



M为 Marker；1、4、5 为 CT 型；2、6、7 为 CC 型；3 为 TT 型

图 3 SNPrs4233367 酶切产物电泳图

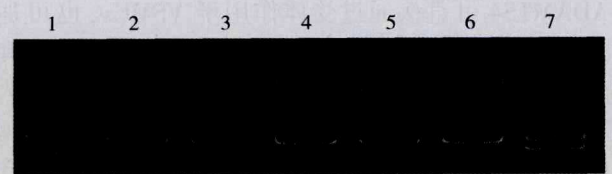
Fig.3 Electrophoregram of SNPrs4233367 enzyme-digested fragments



经测序验证 1、2 为 CT 型；3、5~8 为 CC 型；4 为 TT 型

图 4 SNP rs2830585 的 PCR-SSCP 电泳图

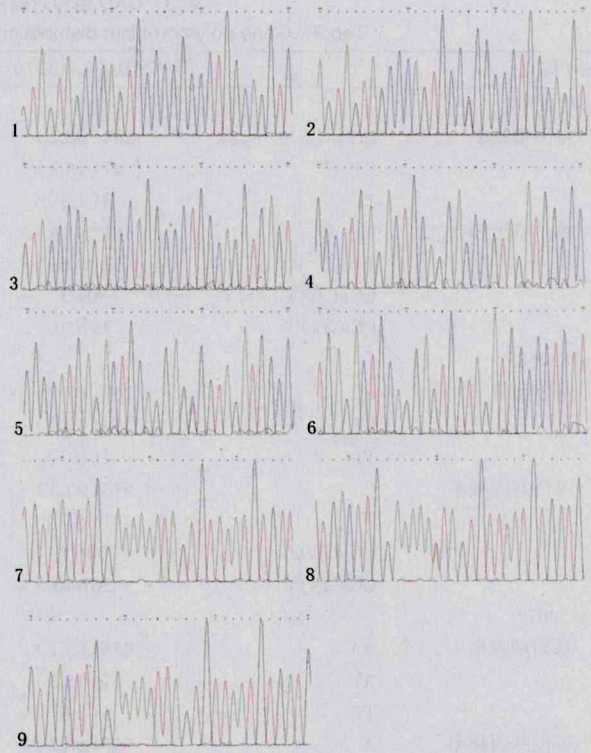
Fig.4 Electrophoregram of SNPrs2830585 PCR-SSCP amplification



经测序验证 1、2 为 AT 型；3~6 为 AA 型；7 为 TT 型

图 5 SNP rs229072 的 PCR-SSCP 电泳图

Fig.5 Electrophoregram of SNPrs229072 PCR-SSCP amplification



1~3：ADAMTS4 rs4233367-CC、CT、TT；4~6：ADAMTS5 rs2830585-CC、CT、TT；7~9：ADAMTS5 rs229072-AA、AT、TT

图 6 ADAMTS4、ADAMTS5 PCR 产物测序图

Fig.6 Sequence of ADAMTS4 and ADAMTS5 PCR products

2.5 CAD 组和对照组基因多态性比较

所有位点基因型和等位基因频率统计结果见表 3。统计结果显示，CAD 组和对照组相比 SNP 位点 rs4233367 基因型分布差异无统计学意义（χ^2=3.164，P=0.206），T 等位基因频率比较差异无统计学意义（χ^2=1.893，P=0.169）。SNP 位点 rs2830585 基因型分布差异有统计学意义（χ^2=8.291，P=0.016），T 等位基因频率比较差异有统计学意义（χ^2=8.004，P=0.005），在 CAD 组中 CC+CT 基因型构成比相对较高，2 组间差异无统计学意义（χ^2=0.956，P=0.328），CT+TT 基因型构成比相对较低，2 组间差异有统计学意义（χ^2=7.936，P=0.005）。SNP 位点 rs229072 基因型分布差异无统计学意义（χ^2=3.560，P=0.169），T 等位基因频率比较差异无统计学意义（χ^2=0.633，P=0.426）。

2.6 CAD 相关危险因素的二元 logistic 回归分析

因 CAD 组和对照组在一般临床资料上存在有统计学差异的指标，故运用向后逐步回归法对年龄、吸烟史、高血压、糖尿病、总胆固醇、高密度脂蛋白、载脂蛋白 A 及基因型差异与 CAD 的发病情况进行分析，以排除混杂因素的干扰。因变量组别中的 CAD 组参数编码为 1，对照组为 0；分类变量中的 SNP2830585 CC 参数编码为 1，CT+TT 为 0。非高血压的参数编码为 1，高血压为 0。非糖尿病的参数编码为 1，糖尿病为 0。非吸烟的参数编码为 1，吸烟为 0。统计结果见表 4。

表 3 CAD 组和对照中基因多态性分布情况（*n*,%）

Tab.3 Gene polymorphism distribution between CAD group and control group（*n*,%）

SNP位点		CAD组（*n*=307）	对照组（*n*=315）	χ^2值	*P*值
rs4233367					
基因型频率	CC	257（83.7）	248（78.7）	3.164	0.206
	CT	47（15.3）	65（20.6）		
	TT	3（1.0）	2（0.6）		
等位基因频率	C	561（91.4）	561（89.0）	1.893	0.169
	T	53（8.6）	69（11.0）		
	CC+CT/TT	304/3	313/2	0.228	0.633
	CC/CT+TT	257/50	248/67	2.528	0.112
rs2830585					
基因型频率	CC	267（87.0）	247（78.4）	8.291	0.016
	CT	39（12.7）	65（20.6）		
	TT	1（0.3）	3（1.0）		
等位基因频率	C	573（93.3）	559（88.7）	8.004	0.005
	T	41（6.7）	71（11.3）		
	CC+CT/TT	306/1	312/3	0.956	0.328
	CC/CT+TT	267/40	247/68	7.936	0.005
rs229072					
基因型频率	AA	255（83.1）	250（79.4）	3.560	0.169
	AT	47（15.3）	63（20.0）		
	TT	5（1.6）	2（0.6）		
等位基因频率	A	557（90.7）	563（89.4）	0.633	0.426
	T	57（9.3）	67（10.6）		
	AA+AT/TT	302/5	313/2	1.380	0.240
	AA/AT+TT	255/52	250/65	1.391	0.238

表 4 CAD 相关危险因素的 logistic 回归分析

Tab.4 Logistic regression analysis of risk factors for CAD

危险因素	*B*	*SE*	*Wals*	*df*	*P*	*OR*	95% *CI*	
							下限	上限
年龄	0.060	0.009	41.426	1	0.000	1.061	1.042	1.081
吸烟	−1.043	0.195	28.537	1	0.000	0.352	0.240	0.517
高血压	−0.492	0.193	6.491	1	0.011	0.612	0.419	0.893
糖尿病	−1.267	0.242	27.312	1	0.000	0.282	0.175	0.453
APOA1	−1.277	0.368	12.075	1	0.001	0.279	0.136	0.573
SNPrs2830585CT+TT	0.575	0.258	4.953	1	0.026	1.777	1.071	2.949
常量	−0.756	0.784	0.930	1	0.335	0.469		

在校正了混杂因素的影响后，SNPrs2830585 的 CT+TT 基因型在 2 组间的差异仍具有统计学意义（*P*=0.026，*OR*=1.777，95%*CI*=1.071~2.949）。其他因素包括年龄、吸烟、高血压、糖尿病等传统危险因素也参与了 CAD 的发生。另外数据显示 ApoA1 也是 CAD 的影响因素，有研究发现[12]ApoA1 基因多态性（+83 C>T）与 CAD 的发生相关联。

3 讨 论

CAD 是一种十分复杂的多基因疾病，随着人类基因组计划的实施，SNP 研究成为发现疾病相关基因的重要方法之一[13]。ADAMTS 家族是一类分泌性金属蛋白酶，涉及胞外基质的组装和降解、血管生成、人类遗传性疾病、关节炎和癌症等[14]。ADAMTS4 基因是家族中重要成员，定位于人染色体 1q31-q32，含有 9 个外显子，8 个内含子，编码由 837 个氨基酸组成的蛋白质，参与细胞外基质的降解，另外 ADAMTS4 可直接通过受体作用于 VSMCs，也可通过蛋白水解 versican 间接促进 VSMC 的增殖和迁移导致动脉粥样硬化[9]。ADAMTS5 基因定位于人染色体 21q21.3，含有 8 个外显子，7 个内含子，编码由 518 个氨基酸组成的蛋白质。ADAMTS4 和 ADAMTS5 都是炎症相关的分泌型蛋白，高表达于巨噬细胞丰富的不稳定的动脉粥样斑块中[15]。

ADAMTS 家族基因的多态性与多种疾病的易感性密切相关。如 rs4233367SNP 与腰椎间盘的退

变具有相关性[16]；rs2830585SNP 与肝细胞性肝癌的易感性相关[17]。本实验室的前期实验发现了 ADAMTS1 的 rs428785SNP 与 CAD 的易感性相关[18]。本研究针对西南地区汉族人群，采用病例对照研究探讨了 rs4233367、rs2830585 和 rs229072 与 CAD 易感的相关性。整体结果显示，rs4233367 和 rs229072 位点都存在基因突变，但等位基因频率和基因型均与 CAD 的发生无相关性。rs2830585 位点存在 CT 突变，基因型和等位基因的分布频率在 CAD 组和对照组间的差异均有统计学意义。在使用二元 logistic 回归分析校正了年龄、吸烟、高血压、糖尿病等临床干扰因素后等位基因频率组间差异仍具有统计学意义，携带 CT/TT 基因型的个体和携带 CC 基因型的个体相比明显降低了 CAD 的发生风险（OR=1.777，95% CI=1.071~2.949，P=0.026）。本研究结果首次揭示了 ADAMTS5(rs2830585)SNP 可能与 CAD 易感性相关。

ADAMTS5 在结构上由前体区、金属蛋白酶结构域、解聚蛋白样结构域和血小板结合蛋白基序（thrombospondin motifs，TSP）序列重复区域组成。最近相关文献表明了 ADAMTS5 通过降解细胞外基质聚糖蛋白多糖使斑块易损性增加，而 ADAMTS5 发挥作用的部位是 TSP 序列重复区域，因此该区域基因序列的变化很可能会影响其功能。rs2830585 是一个非同义的单核苷酸突变，位于编码 TSP 序列重复区域的序列中[19]，C 到 T 的碱基突变使蛋白质第 614 位的精氨酸变为组氨酸（Arg 变为 His），导致氨基酸的序列发生改变，使蛋白质结构发生改变，从而使该酶的活性发生改变，影响其对细胞外基质的作用。

综上所述，本研究的结果显示 ADAMTS5 基因的 rs2830585 位点的基因突变与中国西南地区汉族人群 CAD 的发生发展关系密切，且 C 等位基因可能是 CAD 的遗传易感基因。但是样本量的大小也会对实验结果的准确性产生影响，因此在接下来的实验中需要进一步的扩大样本量以确定我们的发现，并对于该基因致 CAD 发生的具体机制进行进一步的探索。

参 考 文 献

[1] Kelly BB, Narula J, Fuster V. Recognizing global burden of cardiovascular disease and related chronic diseases[J]. Mt Sinai J Med, 2012, 79(6): 632-640.

[2] Boffa MB. Emerging therapeutic options for lowering of lipoprotein (a): implications for prevention of cardiovascular disease[J]. Curr Atheroscler Rep, 2016, 18(12): 69.

[3] Prins BP, Lagou V, Asselbergs FW, et al. Genetics of coronary artery disease: genome-wide association studies and beyond[J]. Atherosclerosis, 2012, 225(1): 1-10.

[4] Kommuri NV, Zalawadiya SK, Veeranna V, et al. Association between various anthropometric measures of obesity and markers of subclinical atherosclerosis[J]. Expert Rev Cardiovasc Ther, 2016, 14(1): 127-135.

[5] Wight TN, Merrilees MJ. Proteoglycans in atherosclerosis and restenosis: key roles for versican[J]. Circ Res, 2004, 94(9): 1158-1167.

[6] Karangelis DE, Kanakis I, Asimakopoulou AP, et al. Glycosaminoglycans as key molecules in atherosclerosis: the role of versican and hyaluronan[J]. Curr Med Chem, 2010, 17(33): 4018-4026.

[7] Salter RC, Ashlin TG, Kwan AP, et al. ADAMTSproteases: key roles in atherosclerosis?[J]. J Mol Med (Berl), 2010, 88(12): 1203-1211.

[8] Worley JR, Baugh MD, Hughes DA, et al. Metalloproteinase expression in PMA-stimulated THP-1 cells. Effects of peroxisome proliferator-activatedreceptor-gamma (PPAR gamma) agonists and 9-cis-retinoic acid[J]. J Biol Chem, 2003, 278(51): 51340-51346.

[9] Zha Y, Chen Y, Xu F, et al. Elevated level of ADAMTS4 in plasma and peripheral monocytes from patients with acute coronary syndrome[J]. Clin Res Cardiol, 2010, 99(12): 781-786.

[10] Kashiwagi M, Tortorella M, Nagase H, et al. TIMP-3 is a potent inhibitor of aggrecanase 1 (ADAM-TS4) and aggrecanase 2 (ADAM-TS5)[J]. J Biol Chem, 2001, 276(16): 12501-12504.

[11] Stanton H, Rogerson FM, East CJ, et al. ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage in vivo and in vitro[J]. Nature, 2005, 434(7033): 648-652.

[12] Rai TS, Khullar M, Sehrawat BS, et al. Synergistic effect between apolipoprotein E and apolipoprotein A1 gene polymorphisms in the risk for coronary artery disease[J]. Mol Cell Biochem, 2008, 313(1-2): 139-146.

[13] Yates CM, Sternberg MJ. The effects of non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) on protein-protein interactions[J]. J Mol Biol, 2013, 425(21): 3949-3963.

[14] Wagstaff L, Kelwick R, Decock J, et al. The roles of ADAMTS metalloproteinases in tumorigenesis and metastasis[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2011, 16(16): 1861-1872.

[15] Lee CW, HwangI, Park CS, et al. Comparison of ADAMTS-1, -4 and -5 expression in culprit plaques between acute myocardial infarction and stable angina[J]. J Clin Pathol, 2011, 64(5): 399-404.

[16] Liu S, Wu N, Liu J, et al. Association between ADAMTS-4, gene polymorphism and lumbar disc degeneration in Chinese Han Population [J]. J Orthop Res, 2016, 34(5): 860-864.

[17] Li C, Xiong Y, Zhong Z, et al. Association between a variant in ADAMTS5 and the susceptibility to hepatocellular carcinoma in a Chinese Han Population[J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 72(1): 221-225.

[18] 翟秀明，柳 青，丁艳辉，等. ADAMTS1 基因多态性与冠心病的相关性研究[J]. 重庆医科大学学报，2016，41(12)：1210-1215.

[19] Rodriguez-Lopez J, Mustafa Z, Pombo-Suarez M, et al. Genetic variation including nonsynonymous polymorphisms of a major aggrecanase, ADAMTS-5, in susceptibility to osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(2): 435-441.

（责任编辑：冉明会）