

磷酸二酯酶 4D 基因 rs153031 多态性与不稳定型心绞痛易感性的研究

许浩¹,何国平^{1△},戚传平²,许联红²,杨海涛¹,钱亿超¹

(江苏大学附属武进医院;1. 心血管内科;2. 中心实验室,江苏常州 213002)

摘要:目的 探讨中国常武地区汉族人群磷酸二酯酶 4D(PDE4D)基因 rs153031 多态性与不稳定型心绞痛(UAP)易感性的关系。方法 对 172 例 UAP 患者(UAP 组)和性别与年龄相匹配的 220 例非冠心病(CHD)患者(对照组)采用 Taqman 探针技术检测 PDE4D 基因 rs153031 多态性。结果 该人群 UAP 患者和非 CHD 者中存在 PDE4D 基因 rs153031 多态性。与对照组比较,UAP 组 rs153031 位点 GG、GA、AA 基因型和 G 等位基因频率差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 在中国常武地区汉族人群中,PDE4D 基因 rs153031 多态性与 UAP 的易感性无关。

关键词:心绞痛,不稳定型;环核苷酸磷酸二酯酶类,4 型;基因多态性

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.05.015

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)05-0551-02

Relationship of the phosphodiesterase 4D gene rs153031 polymorphism and the susceptibility of unstable angina pectoris

Xu Hao¹, He Guoping^{1△}, Qi Chuanping², Xu Lianhong², Yang Haitao¹, Qian Yichao¹

(1. Department of Cardiology; 2. Central Laboratory, the Affiliated Wujin Hospital of Jiangsu University, Changzhou, Jiangsu 213002, China)

Abstract: Objective To investigate the association between the phosphodiesterase 4D(PDE4D) gene rs153031 polymorphism and the susceptibility of unstable angina pectoris(UAP) in Chinese Han population of Changwu region. **Methods** The PDE4D gene rs153031 polymorphism was genotyped by Taqman probe in 172 UAP patients(UAP group), as well as in gender-and-age-matched 220 subjects without coronary heart disease(CHD)(control group). **Results** In this crowd, there was PDE4D gene rs153031 polymorphism in patients with UAP and in subjects without CHD. Compared with control group, frequencies of GG, GA, AA genotypes and G allele of rs153031 in UAP group showed no statistical differences($P>0.05$). **Conclusion** In Chinese Han population of Changwu region, PDE4D gene rs153031 polymorphism shows no association with the susceptibility of UAP.

Key words: angina, unstable; cyclic nucleotide phosphodiesterases, type4; gene polymorphism

不稳定型心绞痛(UAP)的病理基础是动脉粥样斑块的不稳定性,炎性反应贯穿动脉粥样硬化及斑块破溃的全过程^[1]。研究表明,细胞内第二信使 cAMP 在抑制血管平滑肌增生和移行以及血管受损处局部炎性反应方面起重要作用^[2-4],而磷酸二酯酶 4D(PDE4D)可特异性降解 cAMP。PDE4D 由 PDE4D 基因编码,2003 年 Gretarsdottir 等^[5]首次发现位于人类染色体 5q12 上的 PDE4D 基因单核苷酸多态性与冰岛人群缺血性脑卒中(ICVD)显著相关。随后,各国学者陆续对该基因与动脉粥样硬化相关性疾病的关系进行了研究,但国内外均未见有其与 UAP 关系的报道。本研究探讨 PDE4D 基因 rs153031 多态性与中国常武地区汉族人群 UAP 易感性的可能关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2007 年 7 月至 2012 年 11 月在本院住院的 UAP 患者 172 例(UAP 组),其中男 115 例,女 57 例,年龄 40~85 岁,平均(60.34±7.18)岁,均符合 2002 年美国心脏学会和美国心脏病学会(AHA/ACC)关于 UAP 的诊断标准^[6]。选取经冠状动脉造影证实非冠心病(CHD)者 220 例(对照组),其中男 130 例,女 90 例,年龄 29~85 岁,平均(59.17±9.89)岁。所有入选者均为中国常武地区汉族人群,均排除严重肝、肾功能不全、肿瘤、风湿类疾病和急性或严重慢性感染者。本研究经本院医学伦理委员会审核、批准,并征得所有入选对象知情同意。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有研究对象均在禁食 12 h 后,于清晨采集肘静脉血,枸橼酸钠抗凝。采用生工生物工程(上海)有限公司提供的 Ezup 柱式血液基因组 DNA 抽提试剂盒提取 DNA,严格按照配套说明书操作。-70℃保存,备用。

1.2.2 一般资料采集 使用统一表格记录入选对象的年龄、性别、吸烟史、高血压史、糖尿病史、血脂和冠状动脉造影等结果。两组在年龄、性别、血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平方面差异无统计学意义($P>0.05$);吸烟史两组间有一定差异,但差异无统计学意义($P>0.05$);高血压史、糖尿病史和总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平差异有统计学意义($P<0.05$)。

1.2.3 PDE4D 基因 rs153031 多态性检测 Taqman 探针由 ABI 公司设计(Part number: 4351379; Assay ID: C_2820039_10)。PCR 反应体系为:10 μL Universal PCR Master Mix 5 μL, Taqman 探针 0.2 μL, DNA 10 ng,加水至 10 μL。PCR 反应条件:95℃ 10 min;92℃ 15 s,60℃ 1 min,共 40 个循环。PCR 反应前后读板及 PCR 扩增均在 ABI 7500 上进行。以 SDS2.0 图像分析软件 Allelic Discrimination 程序进行终点分析,通过检测不同等位基因所标记的 FAM 和 VIC 荧光强度,判断各待测样本基因分型为野生纯合子、变异纯合子或者杂合子。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量

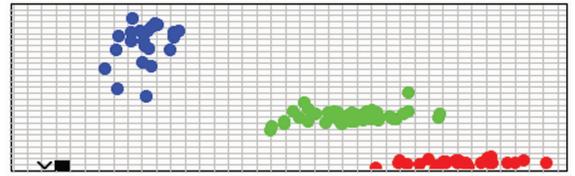
资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;基因型频率与 Hardy-Weinberg 平衡的符合程度和分类变量比较采用 χ^2 检验;关联程度用优势比 (OR) 和 95% CI 表示;PDE4D 基因 rs153031 多态性与 UAP 发病风险的相关性采用 Logistic 回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PDE4D 基因 rs153031 多态性检测结果 PCR 获得产物经 SDS2.0 图像分析软件 Allelic Discrimination 程序分析显示,在 UAP 组和对照组中,PDE4D 基因 rs153031 均存在 GG、GA 和 AA 3 种基因型,分析图谱上不同颜色区域代表不同基因型(图 1)。本研究人群经 χ^2 检验符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡规律,具有群体代表性,见表 1。

2.2 PDE4D 基因 rs153031 位点多态性分析 UAP 组和对照组的各基因型以及等位基因频率虽存在一定差异,但差异无统计学意义($P > 0.05$);经 Logistic 回归分析校正性别、年龄、吸烟史、高血压史、糖尿病史和血脂水平等 CHD 传统危险因素

后两组间各基因型以及等位基因频率差异亦无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。



红色荧光点:GG;绿色荧光点:GA;蓝色荧光点:AA;×:扩增失败无法判定,需重新分型;■:空白对照。

图 1 PDE4D 基因 rs153031 Taqman 探针分型

表 1 rs153031 基因型频率 Hardy-Weinberg 平衡检验结果(n)

组别	n	GG	GA	AA	G	A	χ^2	P
UAP 组	172	57	81	34	195	149	0.289	0.591
对照组	220	65	109	46	239	201	0.001	0.981

表 2 PDE4D 基因 rs153031 位点多态性与 UAP 易感性的关系[n(%)]

项目	UAP 组 (n=172)	对照组(n=220)	单因素分析		多因素分析	
			P	OR(95%CI)	P	OR(95%CI)
基因型						
GG	57(33.14)	65(29.55)	0.510	1.182(0.769~1.816)	0.413	1.217(0.760~1.950)
GA	81(47.09)	109(49.55)	0.684	0.906(0.608~1.351)	0.418	0.834(0.538~1.294)
AA	34(19.77)	46(20.91)	0.802	0.932(0.567~1.531)	0.950	1.018(0.591~1.754)
等位基因						
G	195(56.69)	239(54.32)	0.516	1.101(0.829~1.462)	0.618	1.082(0.794~1.474)
A	149(43.31)	201(45.68)				

3 讨论

CHD 的发病是由遗传因素和环境因素的相互作用而引起的。流行病学和遗传学研究表明,家族史是 CHD 的重要危险因素,这提示探寻 CHD 易感基因将是研究 CHD 致病机制的重要研究方向之一^[7]。CHD 与 ICVD 的发病机制具有相似之处,且 PDE4D 基因被认为是 ICVD 的易感基因,那么,PDE4D 基因是否与 CHD 的发病风险存在相关性?目前,国内外对于 PDE4D 基因与心脑血管疾病关系的研究主要集中在 ICVD 领域,而其与 CHD 关系的研究仅 2009 年 Banerjee 等^[8]在讨论多个炎症基因多态性与 CHD 的关系中涉及了 rs966221 位点,其研究结果显示,rs966221 位点与 CHD 无显著相关性。对于本研究涉及的 rs153031 位点,Nakayama 等^[9]在研究日本人群 PDE4D 与 ICVD 关系时有涉及,该研究认为 rs153031 多态性与 ICVD 无相关性,但由 rs966221、rs153031 和 AC008818-1 所构成的单倍体与 ICVD 的发病风险相关(当单倍体为 c-g-X 时为 ICVD 的危险因素,当单倍体为 T-g-X 时则起到保护作用),余未见 rs153031 多态性与心脑血管疾病的报道。

本研究收集中国常德地区汉族人群 172 例 UAP 患者和 220 例非 CHD 者,采用 Taqman 探针技术检测 PDE4D 基因 rs153031 多态性,发现其表型为 GG、GA、AA 3 种基因型。非 CHD 者 GG、GA、AA 基因型和 G、A 等位基因频率分别为 29.55%、49.55%、20.91% 和 54.32%、45.68%,与 NCBI 收录的 HapMap-HCB 基因型频率 34.1%、43.2%、22.7% 和 55.7%、44.3% 无显著差异;而与 Nakayama 等^[9]所报道的等位基因频率 46.8%、53.2% 存在一定差异,表明 rs153031 多态

性存在种族、地域差异。

本研究结果显示,UAP 组 PDE4D 基因 rs153031 位点基因型及等位基因频率与对照组相比存在一定差异,但是差异无统计学意义($P > 0.05$);Logistic 回归分析排除 CHD 传统危险因素的影响后亦未显示出相关性($P > 0.05$),提示 PDE4D 基因 rs153031 与 UAP 的易感性无关。该结果与 Nakayama 等^[9]研究结果相一致。目前认为,PDE4D 基因对心脑血管疾病的影响主要是通过“PDE4D 基因-PDE4D 蛋白表达-cAMP 水平-动脉粥样硬化”来实现^[5],而 rs153031 并未显现出对 UAP 发生发展的影响,笔者推测该位点多态性并未影响 PDE4D 蛋白结构、功能和(或)水平的表达。

综上所述,本研究对 PDE4D 基因 rs153031 多态性与 UAP 的可能关系进行探讨,研究结果显示该位点与 UAP 的易感性无关。由于本研究样本量偏小,且存在一定的地域局限性,现有资料表明,rs153031 多态性存在明显的种族、地域差异性,因此有必要进一步扩大样本量以及更大范围的进一步研究。

参考文献:

- [1] Lusis AJ. Atherosclerosis[J]. Nature, 2000, 407(6801): 233-241.
- [2] Fukumoto S, Koyama H, Hosoi M, et al. Distinct role of cAMP in the cell cycle control of vascular smooth muscle cells: cGMP delays cell cycle transition through suppression of cyclin D1 and cyclin-dependent (下转第 555 页)

本研究中,根据化疗 3 疗程后 CA125 较术前下降的百分比进行分组,通过分组发现,CA125 下降大于或等于 75% 组化疗总有效率为 85.71%,CA125 下降 51%~75% 组总有效率为 75.81%、下降 25%~50% 组总有效率为 56.25% 以及下降小于 25% 组总有效率为 39.47%,两两比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),从而提示 CA125 可作为化疗敏感性的预测指标,当 CA125 下降比例越大时,患者化疗总有效率越高,且经单因素分析可知 CA125 下降比例与患者化疗效果呈正相关 ($r = 0.396, P = 0.000$),因此 CA125 可作为判断上皮性卵巢癌、输卵管癌及腹膜癌敏感指标,通过测定血清中 CA125 的水平可预测患者对化疗的敏感程度,为及时调整化疗方案及药物剂量提供指导^[11]。采用 Kaplan-Meier 法计算患者生存率及中位生存时间可知,CA125 下降大于或等于 75% 组 5 年生存率及中位生存时间显著优于其他各组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),从而说明化疗后血清中 CA125 下降幅度越大,患者预后效果越理想,5 年生存率及中位生存时间显著提高,因此 CA125 除了能作为化疗敏感程度的预测指标外,同时也可作为肿瘤患者疾病预后及转归的预测指标^[12]。FIGO 分期、化疗效果、术后肿瘤大小是肿瘤患者预后的独立危险因素已获得一致的认可,本研究中经 COX 风险模型分析可知,除了 FIGO 分期、化疗效果、术后肿瘤大小外,CA125 水平也是影响上皮性卵巢癌、输卵管癌及腹膜癌预后的危险独立因素之一,与患者预后具有密切关系。

综上所述,通过测定患者血清中 CA125 下降的比例可了解患者化疗的效果及远期治疗效果,可作为评价腹腔肿瘤患者预后的指标。

参考文献:

- [1] 张宇,谌小卫,叶敏娟,等. 评价血清 CA125 诊断上皮性卵巢癌的意义[J]. 中华妇幼临床医学杂志: 电子版, 2010,4(5):468-469.
- [2] 赵肖波,陶洁,孙静. 血清 CA125 用于预测上皮性卵巢癌、输卵管癌及腹膜癌化疗反应性的研究[J]. 现代妇产科进展, 2012,8(5):145-146.
- [3] Osman N, O'Leary N, Mulcahy E. Correlation of serum CA125 with stage, grade and survival of patients with ep-

ithelial ovarian cancer at a single centre[J]. Irish Med J, 2008,6(8):678-679.

- [4] 龚妹,金鑫,方勇,等. 新辅助化疗治疗晚期卵巢癌的疗效观察[J]. 中国妇幼保健, 2011,18(2):362-363.
- [5] Kang H, Kim TJ, Lee YY. Topotecan combined with carboplatin in recurrent epithelial ovarian cancer; results of a single-institutional phase II study[J]. Gynecol Oncol, 2009,114(2):354-355.
- [6] 刘露,张木坤,陈景连,等. 血清 CA125、CA199 与 CEA 联合检测在卵巢癌诊断中的意义[J]. 重庆医学, 2011,24(5):378-379.
- [7] 陈武,吴元宝,刘洋,等. 血清 CA125、VEGF 表达水平与卵巢癌分期、疗效及生存时间的临床分析[J]. 中国妇幼保健, 2010,33(2):178-179.
- [8] Rocconi RP, Matthews KS, Kemper MK. The timing of normalization of CA-125 levels during primary chemotherapy is predictive of survival in patients with epithelial ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2009,114(2):478-479.
- [9] Kim HS, Park NH, Chung HH. Serum CA-125 level after 6 cycles of primary adjuvant chemotherapy is a useful prognostic factor for complete responders' survival in patients with advanced epithelial ovarian cancer[J]. Onkologie, 2008,31(2):436-437.
- [10] 祝英杰,杨宏英,董菊颖,等. 血清 CA125 水平监测在卵巢癌肿瘤细胞减灭术中的应用价值[J]. 临床肿瘤学杂志, 2010,2(5):478-479.
- [11] Chi, DS, Zivanovic, O, Palayekar, MJ. A contemporary analysis of the ability of preoperative serum CA-125 to predict primary cytoreductive outcome in patients with advanced ovarian, tubal and peritoneal carcinoma[J]. Gynecol Oncol, 2009,112(2):635-636.
- [12] 吴京,林珊娜,卓静. 动态监测血清 CA125 对上皮性卵巢癌疗效及预后评估[J]. 河北医学, 2012,10(2):638-640.

(收稿日期:2013-08-29 修回日期:2013-10-25)

(上接第 552 页)

- kinase 4 activation[J]. Circ Res, 1999,85(11):985-991.
- [3] Baillie G, MacKenzie SJ, Houslay MD. Phorbol 12-myristate 13-acetate triggers the protein kinase A-mediated phosphorylation and activation of the PDE4D5 cAMP phosphodiesterase in human aortic smooth muscle cells through a route involving extracellular signal related kinase(ERK)[J]. Mol Pharmacol, 2001,60(5):1100-1111.
- [4] Ariga M, Neitzert B, Nakae S, et al. Nonredundant function of phosphodiesterases 4D and 4B in recruitment to the site of inflammation[J]. J Immunol, 2004,173(12):7531-7538.
- [5] Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Reynisdottir ST, et al. The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke[J]. Nat Genet, 2003,35(2):131-138.
- [6] Chen MS, Bhatt DL. Highlights of the 2002 update to the

2000 American College of Cardiology/American Heart Association acute coronary syndrome guidelines[J]. Cardiol Rev, 2003,11(3):113-121.

- [7] Lusis AJ, Fogelman AM, Fonarow GC. Genetic basis of atherosclerosis; part I: new genes and pathways[J]. Circulation, 2004,110(13):1868-1873.
- [8] Banerjee I, Pandey U, Hasan OM, et al. Association between inflammatory gene polymorphisms and coronary artery disease in an Indian population [J]. J Thromb Thrombolysis, 2009,27(1):88-94.
- [9] Nakayama T, Asai S, Sato N, et al. Genotype and haplotype association study of the STRK 1 region on 5q12 among Japanese; a case-control study[J]. Stroke, 2006,37(1):69-76.

(收稿日期:2013-09-11 修回日期:2013-11-14)