

· 经验交流 ·

冠心病患者与PON2及PPARG基因变异的关联研究

陈虹飞 马荣国 沈胜强

冠心病是发展中国家发病率和死亡率的主要原因。目前对冠心病的发病机制了解甚少,但普遍认为是由遗传、环境、生活方式等因素之间相互作用的一种疾病^[1]。冠心病以动脉粥样硬化为特征,可导致血管狭窄和闭塞。血脂异常被认为是冠心病的危险因素,有报道称血脂水平可以预测冠心病的危险^[2],对氧化酶(paraoxonase, PON)家族与血浆高密度脂蛋白水平低相关,从而可能增加冠心病的风险。PON2存在于内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞等组织中^[3]。核受体超家族成员(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)根据结构特点可分为 α 、 β 和 γ 类型^[4]。PPAR γ (PPARG)基因在动脉粥样硬化病变的泡沫细胞中表达,可能通过催化低密度脂蛋白的摄取和调节斑块失稳相关的基因来促进动脉粥样硬化的发生发展^[5-7]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有受试者均选自2015年10月至2019年2月杭州市余杭区第二人民医院就诊的冠心病患者(冠心病组)112例,其中男性47例、女性65例,平均年龄(59.04 ± 8.20)岁。同时选取同期健康体检者(非冠心病组)108例,其中男性44例、女性64例,平均年龄(55.38 ± 7.48)岁。所有以上研究对象均是无血缘联系的汉族人群,冠心病组患者均经冠状动脉造影证实有三条主动脉(右冠状动脉、前降支、回旋支)或两条左主干中至少有一条冠状动脉狭窄($\geq 50\%$);排除感染性疾病、风湿病、恶性肿瘤、冠状动脉狭窄、肝肾功能明

显异常者。非冠心病组排除有相关冠心病的家族史的患者。本次研究方案经余杭区第二人民医院伦理委员会批准,并获得所有受试者的书面知情同意。

1.2 方法 采集患者2 ml外周静脉血于EDTA抗凝管中。根据盐析法提取基因组DNA,保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱等待检测。PON2 S311C(SS, SC, CC)、PPARG C161T(CC, CT, TT)基因多态性均由聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)进行检测,高分辨率溶解曲线进行基因分型。PON2 S311C上游引物:ACA TGC ATG TAC GGT GGT CTT ATA;下游引物:AGC AAT TCA TAG ATT AAT TGT TA。PCR扩增条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性1 min,50 $^{\circ}\text{C}$ 退火90 s;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸2 min;重复30个循环。PPARG C161T上游引物:GCC AAG CTG CTC CAG AAA ATG A;下游引物:TGG CAG TGG CTC AGG ACT CTC T。PCR扩增条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,50 $^{\circ}\text{C}$ 退火90 s;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸4 min;重复32个循环。

1.3 统计学方法 采用SPSS 23.0软件进行统计处理。用哈迪温伯格平衡检验来验证样本的群体代表性。采用 t 检验比较研究样本的均值;用 χ^2 检验比较不同基因型间的关系;方差分析分析PON2 S311C、PPARG C161T基因多态性与所有受试对象的一般临床资料的关系。通过SHEsis在线软件二元logistic回归分析PON2 S311C、PPARG C161T基因交互作用与冠心病的关系。设双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PON2 S311C、PPARG C161T基因多态性的哈迪温伯格平衡分析显示两组均具有样本代表性。两组受试者PON2 S311C、PPARG C161T的基因型和等位基因频率的比较见表1。

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2020.009.021

基金项目:杭州市卫生科技计划项目(2016A02)

作者单位:311121 浙江杭州,杭州市余杭区第二人民医院心内科

通讯作者:沈胜强,Email:3656889@qq.com

表1 两组 PON2 S311C 基因多态性的基因型及等位基因频率分布/例(%)

基因		冠心病组	非冠心病组
PON2 S311C	SS	59(52.69)	32(29.63)
	SC	31(27.68)	45(40.18)
	CC	22(19.63)	31(30.19)
	SC+CC	53(47.31)	53(70.37)
	SC+SS	53(80.37)	77(69.81)
	S	149(66.52)	109(50.46)
PPARG C161T	C	75(33.48)	107(49.54)
	CC	46(52.69)	16(14.81)
	CT	28(27.68)	43(39.81)
	TT	38(19.63)	49(45.38)
	CT+TT	66(47.31)	92(85.19)
	CT+CC	74(80.37)	59(54.62)
	C	120(53.57)	75(34.72)
	T	104(46.43)	141(65.28)

由表1可见,在PON2 S311C中,两组基因型分布不同($\chi^2=12.05, P<0.05$)。两两比较发现冠心病且的SC+CC基因频率明显低于SS($P<0.05$)。冠心病组S等位基因频率高于非冠心病组($\chi^2=11.68, P<0.05$);在PPARG C161T中,两组的基因型分布不同($\chi^2=19.01, P<0.05$)。两两比较发现,冠心病组的CT+TT基因频率明显低于CC($P<0.05$)。

2.2 PON2 S311C 和 PPARG C161T 基因多态性与所有受试对象的一般临床资料的比较见表2

由表2可见,在S311C基因变异位点中,S311C基因突变与TC、LDL、HDL、FBG水平相关,差异均有统计学意义(F 分别=16.86、14.64、3.69、4.28, P 均 <0.05);在C161T基因变异位点中,C161T基因突变与TC、LDL水平相关,差异有统计学意义(F 分别=7.89、3.81, P 均 <0.05)。

2.3 PON2 S311C、PPARG C161T 基因交互作用与冠心病的关系见表3

表2 PON2 S311C 和 PPARG C161T 基因多态性与所有受试对象的一般临床资料间的比较

一般资料	PON2 S311C			PPARG C161T		
	SS($n=91$)	SC($n=76$)	CC($n=53$)	CC($n=62$)	CT($n=81$)	TT($n=77$)
性别(男/女)	34/57	30/46	27/26	24/38	35/46	32/45
年龄/岁	57.50 $\pm$ 8.12	56.40 $\pm$ 8.03	56.10 $\pm$ 8.19	57.93 $\pm$ 8.35	57.66 $\pm$ 8.29	56.26 $\pm$ 8.05
Hcy/ μ mol/L	11.51 $\pm$ 4.02	10.13 $\pm$ 4.15	10.69 $\pm$ 3.42	12.20 $\pm$ 4.62	11.06 $\pm$ 3.43	10.65 $\pm$ 3.69
TG/mmol/L	1.86 $\pm$ 0.97	1.39 $\pm$ 0.38	1.71 $\pm$ 1.51	1.88 $\pm$ 0.97	1.76 $\pm$ 0.80	1.79 $\pm$ 1.12
TC/mmol/L	5.73 $\pm$ 1.27	4.73 $\pm$ 0.92	5.17 $\pm$ 1.08	5.83 $\pm$ 1.12	5.50 $\pm$ 1.23	5.07 $\pm$ 1.15
LDL/mmol/L	3.02 $\pm$ 0.91	2.32 $\pm$ 0.78	2.77 $\pm$ 0.78	3.02 $\pm$ 0.83	2.94 $\pm$.93	2.65 $\pm$ 0.86
HDL/mmol/L	1.70 $\pm$ 0.67	1.52 $\pm$ 0.58	1.43 $\pm$ 0.55	1.52 $\pm$ 0.69	1.55 $\pm$ 0.48	1.60 $\pm$ 0.61
FBG/mmol/L	6.79 $\pm$ 3.05	5.81 $\pm$ 1.03	6.06 $\pm$ 1.83	6.52 $\pm$ 2.38	6.26 $\pm$ 1.85	6.19 $\pm$ 2.23

3 讨论

PON2属于对氧化酶基因家族。PON2广泛表达并定位于核膜、内质网和线粒体^[8]。在线粒体内,PON2可能定位于线粒体内膜,与电子传递链的复合体Ⅲ结合^[9]。细胞中过表达的PON2可防止内质网应激、线粒体超氧化物形成、心磷脂过氧化和细胞凋亡,降低细胞中PON2的水平可导致内质网应激反应的增加,从而导致动脉粥样硬化严重程度增加^[10,11]。PON是一种高密度脂蛋白相关酶,可抑制氧化低密度脂蛋白,从而影响冠心病的风险。多项研究清楚地表明,血浆中低密度脂蛋白胆固醇的水平与冠状动脉事件的发生率直接相关^[12,13]。血浆低密度脂蛋白胆固醇

浓度在个体之间存在较大差异,部分原因由于遗传变异引起的^[14]。有研究表明,亚洲印度人和中国人PON2 S311C基因变异与冠心病相关^[15,16],本次研究证实罹患冠心病可能与PON2 S311C、PPARG C161T基因变异相关。PPARG主要表达在脂肪组织和免疫系统,与脂肪细胞的分化,身体免疫力和胰岛素抵抗密切相关,影响PPARG分化的关键因素有前脂肪细胞和噻唑烷二酮类的靶向分子^[17]。此外,已有研究表明PPARG与糖尿病、肥胖、动脉粥样硬化等多种疾病相关^[18-20]。本研究发现罹患冠心病可能与PPARG C161T基因相关,TT基因型可能与低水平的甘油三酯和低密度脂蛋白相关,与前研究结果大致相同^[21]。在两位

点基因交互作用分析中发现,S311C的C和C161T的T、S311C的S和C161T的T交互作用,可能是冠心病的保护因素,而S311C的S和C161T的C的交互作用,可能增加冠心病的发生率。

表3 PON2 S311C、PPARG C161T基因交互作用与冠心病的比较

项目	OR	P	95%CI
PPARG C161T			
CC	Ref.		
CT	0.62	<0.05	0.41 ~ 0.94
TT	0.56	<0.05	0.37 ~ 0.85
PON2 S311C			
SS	Ref.		
SC	0.92	<0.05	0.87 ~ 0.97
CC	0.89	<0.05	0.84 ~ 0.94
交互(C161T* S311C)			
CC*CC	0.99	>0.05	0.92 ~ 1.06
CC*SC	0.84	>0.05	0.45 ~ 1.59
CT*CC	0.52	<0.05	0.34 ~ 0.81
CT*SC	0.93	<0.05	0.87 ~ 0.97

本研究有以下局限性,鉴于在PON2 S311C、PPARG C161T基因变异与冠心病的关联分析中,除基因多态性的种族异质性外,本研究样本数量有限、环境暴露因素不同,都可能作为混杂因素干扰实验结果,因此准确可靠的实验结果需要在今后大规模的标准化研究中进一步验证。基因交互作用的分析中未考虑基因-环境交互影响,也待将来进一步研究。

参考文献

- Ward-Caviness C, Haynes C, Blach C, et al. Gene-smoking interactions in multiple Rho-GTPase pathway genes in an early-onset coronary artery disease cohort [J]. Hum Genet, 2017, 132(46): 1371-1382.
- Wu N, Liu G, Huang Y, et al. Study of the association of 17 lipid-related gene polymorphisms with coronary heart disease [J]. Anatol J Cardiol, 2018, 19(6): 360-367.
- Qian Y, Li P, Zhang J, et al. Association between peroxisome proliferator-activated receptor- α , δ , and γ polymorphisms and risk of coronary heart disease: A case-control study and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96: e5949.
- Zhu Y, Kan L, Qi C, et al. Isolation and characterization of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) interacting protein (PRIP) as a coactivator for PPAR [J]. J Biol Chem, 2015, 275(18): 13510-13516.
- Ricote M, Huang J, Fajas L, et al. Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) in human atherosclerosis and regulation in macrophages by colony stimulating factors and oxidized low density lipoprotein [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 95(13): 7614-7619.
- Liu Y, Yuan Z, Liu Y et al. PPAR γ gene C161T substitution is associated with reduced risk of coronary artery disease and decreased proinflammatory cytokine expression [J]. Am Heart J, 2007, 154(4): 718-724.
- Bluhner M, Klemm T, Gerike T, et al. Lack of association between peroxisome proliferator-activated receptor- γ gene variants and the occurrence of coronary heart disease in patients with diabetes mellitus [J]. Eur J Endocrinol, 2014, 146(4): 545-551.
- Horke S, Witte I, Wilgenbus P, et al. Paraonase-2 reduces oxidative stress in vascular cells and decreases endoplasmic reticulum stress-induced caspase activation [J]. Circulation, 2016, 115(15): 2055-2064.
- Devarajan A, Bourquard N, Hama S, et al. Paraonase 2 deficiency alters mitochondrial function and exacerbates the development of atherosclerosis [J]. Antioxid Redox Signal, 2016, 14(3): 341-351.
- Altenhofer S, Witte I, Teiber J.F, et al. One enzyme, two functions: PON2 prevents mitochondrial superoxide formation and apoptosis independent from its lactonase activity [J]. J Biol Chem, 2014, 285(32): 24398-24403.
- Witte I, Altenhofer S, Wilgenbus P, et al. Beyond reduction of atherosclerosis: PON2 provides apoptosis resistance and stabilizes tumor cells [J]. Cell Death Dis, 2016, 2: e112.
- Zhou YJ, Hong SC, Yin RX, et al. Polymorphisms in the GCKR are associated with serum lipid traits, the risk of coronary artery disease and ischemic stroke [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(7): 10678-10686.
- Burnett JR, Hooper AJ. Common and rare gene variants affecting plasma LDL cholesterol [J]. Clin Biochem Rev, 2012, 29(1): 11-26.
- Wang M, Lang X, Zou L, et al. Four genetic polymorphisms of paraonase gene and risk of coronary heart disease: A meta-analysis based on 88 case-control studies [J]. Atherosclerosis, 2011, 214(2): 377-385.
- Sanghera DK, Aston CE, Saha N, et al. DNA polymorphisms in two paraonase genes (PON1 and PON2) are associated with the risk of coronary heart disease [J]. Am J Hum Genet, 2016, 62: 36-44.

(下转第845页)

后的并发症如T管细菌定植、移位、断裂等在本次研究中未发现,仍需在今后的工作中继续随访及扩大样本量来进一步研究。

参考文献

- Stauffer JL, Olson DE, Petty TL. Complications and consequences of endotracheal intubation and tracheotomy. A prospective study of 150 critically ill adult patients[J]. Am J Med, 1981, 70(1): 65-76.
- Melkane AE, Matar NE, Haddad AC, et al. Management of postintubation tracheal stenosis: appropriate indications make outcome differences[J]. Respiration, 2010, 79(5): 395-401.
- Grillo HC. Primary reconstruction of airway after resection of subglottic laryngeal and upper tracheal stenosis[J]. Ann Thorac Surg, 1982, 33(1): 3-18.
- 李志刚, 李强, 周维正, 等. 硬质气管镜下 Montgomery T管治疗声门下气管良性狭窄[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(4): 308-309.
- 谢冬, 姜格宁, 徐志飞, 等. 插管后气管狭窄的治疗进展[J]. 中华胸心血管外科杂志, 2013, 29(3): 180-182.
- Wain JC. Postintubation tracheal stenosis[J]. Semin Thorac Cardio, 2009, 21(3): 284-289.
- Saghebi SR, Zangi M, Tajali T, et al. The role of T-tubes in the management of airway stenosis[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2013, 43(5): 934-939.
- Carretta A, Casiraghi M, Melloni G, et al. Montgomery T-tube placement in the treatment of benign tracheal lesions[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2009, 36(2): 352-356, 356.
- 王继旺, 董艳彬, 金宇. Montgomery-T型管在治疗气管狭窄中的作用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(10): 807-810.
- Prasanna KS, Ravikumar A, Senthil K, et al. Role of Montgomery T-tube stent for laryngotracheal stenosis[J]. Auris Nasus Larynx, 2014, 41(2): 195-200.
- Noirez L, Musani AI, Laroumagne S, et al. Montgomery T-tube migration: A rare and life-threatening complication[J]. J Bronchology Interv Pulmonol, 2015, 22(4): e14-e15.
- 王强, 张庆泉, 张天振, 等. 喉气管狭窄T形管置入术失败原因分析[J]. 临床误诊误治, 2013, 26(4): 100-102.
- 张杰, 王娟, 王婷, 等. 经支气管镜治疗良性瘢痕增生性气道狭窄方法的比较[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(5): 334-338.
- 姚志刚, 李宾, 吴波, 等. 气管镜下热消融联合冷冻切除术治疗气道良性肿瘤的临床分析[J]. 心肺血管病杂志, 2014, 33(4): 566-569.

(收稿日期 2020-05-14)

(本文编辑 蔡华波)

(上接第839页)

- Wang XL, Fan ZJ, Huang JF, et al. Extensive association analysis between polymorphisms of PON gene cluster with coronary heart disease in Chinese Han population[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(2): 328-334.
- Quinn CE, Hamilton PK, Lockhart CJ, et al. Thiazolidinediones: effects on insulin resistance and the cardiovascular system[J]. Br J Pharmacol, 2013, 153(4): 636-645.
- Majithia AR, Flannick J, Shahinian P, et al. Rare variants in PPARG with decreased activity in adipocyte differentiation are associated with increased risk of type 2 diabetes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 111(64): 13127-13132.
- Hsiao TJ, Lin E. The Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG) gene in relation to obesity and metabolic phenotypes in a Taiwanese population[J]. Endocrine, 2016, 48(16): 786-793.
- Zhang Y, Yang X, Bian F, et al. TNF-alpha promotes early atherosclerosis by increasing transcytosis of LDL across endothelial cells: crosstalk between NF-kappaB and PPAR-gamma[J]. J Mol Cell Cardiol, 2014, 72(19): 85-94.
- Ding S, Liu L, Zhuque QC, et al. The meta-analysis of the association of PPARG P12A, C161T polymorphism and coronary heart disease[J]. Wien Klin Wochenschr, 2012, 124(18): 671-677.

(收稿日期 2019-12-11)

(本文编辑 蔡华波)