

## · 临床流行病学 ·

# 纤维蛋白原 $\beta$ 链启动子区域基因多态性与 中国汉族人群肺血栓栓塞症相关性的 病例对照研究

翟振国 王辰 杨媛华 庞宝森 肖白 刘艳梅 毛燕玲

**【摘要】** 目的 探讨纤维蛋白原基因  $\beta$  链启动子区域-455G/A、-148C/T 多态性与中国汉族人群肺血栓栓塞症(PTE)发生的相关性。方法 采用病例对照研究,病例组为经放射性核素肺通气/灌注显像和(或)螺旋 CT 肺动脉造影(CTPA)检查并结合临床资料确诊的 PTE 患者 101 例;对照组为与 PTE 患者来自相同地区汉族人群,性别、年龄相匹配的健康对照 101 人。应用碘化钾-氯仿-异丙醇法提取基因组。应用聚合酶链反应(PCR)、HaeⅢ限制性内切酶、HindⅢ限制性内切酶分别检测纤维蛋白原  $\beta$ -455G/A、-148C/T 多态性位点。结果 (1)健康对照人群纤维蛋白原-455 位点等位基因 G 和 A 的频率分别为 0.931、0.069, -148 位点等位基因 C 和 T 的频率分别为 0.777、0.223, 基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。(2)-455G 基因 AA、GA、GG 基因型在 PTE 病例组分布为 3(3.0%)、33(32.7%)、65(64.4%), 在对照组分布为 1(1%)、12(11.9%)、88(87.1%),  $\chi^2 = 14.258$ , 差异有统计学意义; -148C 基因 TT、CT、CC 的分布在病例组和对照组差异无统计学意义。(3)-455 A 等位基因在病例组与对照组分别为 0.193、0.169, 两组比较  $\chi^2 = 13.573$ , 差异有统计学意义; -148 T 等位基因在病例组与对照组差异无统计学意义。(4)进行单变量 logistic 回归探讨  $\beta$ -455G/A 基因多态性与 PTE 的关系, 相对于 GG 基因型而言, GA 杂合型与 GA + AA 均能显著增加 PTE 发生的危险性, OR 值(95% CI)分别为 3.723(1.786~7.759)、3.749(1.842~7.630),  $P < 0.05$ 。在  $\beta$ -148C/T 基因多态性中, 相对于 CC 基因型而言, CT + TT、TT、CT 基因型都没有显著增加个体 PTE 发生的危险。结论 纤维蛋白原  $\beta$  链启动子区域-455G/A 基因多态性可能与 PTE 有关, GA 杂合型与 GA + AA 型与 PTE 发生显著相关, A 等位基因可能是与 PTE 发病有关的遗传因素,  $\beta$ -148C/T 基因多态性可能与 PTE 无关。

**【关键词】** 肺血栓栓塞症; 纤维蛋白原; 基因多态性; 单核苷酸多态性

**Study on the relationship between polymorphisms of susceptible genes in coagulation pathway related to pulmonary thromboembolism in Chinese Han population** ZHAI Zhen-guo, WANG Chen, YANG Yuan-hua, PANG Bao-sen, XIAO Bai, LIU Yan-mei, MAO Yan-ling. Division of Pulmonary Disease, Beijing Institute of Respiratory Medicine, Beijing Chaoyang Hospital, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100020, China

Corresponding autor: WANG Chen, Email: cyh-birm@263.net

**【Abstract】** **Objective** To determine the prevalence of beta-fibrinogen gene -455G/A, -148C/T polymorphisms in Chinese Han population and to investigate whether they were associated with pulmonary thromboembolism(PTE). **Methods** The subjects consisted of 101 patients with PTE and 101 healthy controls matched with age and sex, from the same geographic area. All patients were diagnosed by high probability of lung ventilation/perfusion scan and/or multi-slice CT pulmonary angiography as well as medical history and clinical manifestations. Genome DNA was extracted from whole blood using KI-phenol-chloroform. Genotypes and allele frequencies of fibrinogen beta gene -455G/A, -148C/T polymorphisms were examined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Restriction enzyme HaeⅢ and HindⅢ digestion were used for detecting -455G/A, -148C/T polymorphisms respectively. **Results** Regarding fibrinogen beta gene -455G/A and -148C/T, the allele frequencies G and A of fibrinogen beta -455 in the controls were 0.931, 0.069 while C and T of -148 were 0.777, 0.223 respectively, which were in good agreement with Hardy-Weinberg equilibrium. There was significant

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30370614)

作者单位:100020 首都医科大学附属北京朝阳医院 北京呼吸疾病研究所

通讯作者:王辰, Email: cyh-birm@263.net

difference of -455G/A genotype frequencies distribution of AA, GA, GG between cases and in controls respectively, but no significant difference was found in the -148C/T polymorphisms. The frequencies of mutation allele -455A were 0.193, 0.169 in cases and in controls with  $P < 0.05$  but there was no statistically significant difference of -148T allele. The presence of A allele of fibrinogen beta -455 was found to be a greater risk factor in cases than in controls. The odds ratio (OR) of GA and GA + AA were 3.723 (1.786-7.759), 3.749 (1.842-7.630), respectively. When compared with GG genotype, the P value was 0.0001. **Conclusion** There was a complete linkage disequilibrium between fibrinogen beta -148C/T and -455G/A found. The frequencies of -455A, alleles in PTE disease were apparently higher than that of healthy adults but there was no difference in -148T alleles.

**[Key words]** Pulmonary thromboembolism; Fibrinogen beta; Gene polymorphism; Single nucleotide polymorphism

肺血栓栓塞症(PTE)是一种急性致死性疾病,绝大多数PTE与深静脉血栓形成(DVT)并存,二者合称为静脉血栓栓塞症(VTE)。早在20世纪中期就有关于家族遗传性VTE易感性的报道,近年来人们对VTE有了更好的理解<sup>[1]</sup>。相应的研究最初多来源于对抗凝机制的探讨,如抗凝血酶-III(AT-III)、遗传性蛋白C缺乏症、遗传性蛋白S缺乏症、活化蛋白C抵抗(APCR)等<sup>[2,3]</sup>;1996年荷兰学者Poort等<sup>[4]</sup>发现了凝血酶原基因3'端非翻译区20210G-A突变在DVT发生中的价值。人们研究的视角开始涉足凝血系统。研究发现,纤维蛋白原β链启动子区域的Bcl-1多态性、455G/A突变、148C/T突变及α链的Thr312Ala突变均能够影响纤维蛋白原水平<sup>[5]</sup>,使纤维蛋白原的血浆水平升高。有研究发现纤维蛋白原基因多态性与冠心病和VTE发生可能有关联<sup>[6]</sup>,但在VTE中的研究资料非常有限。本研究联合应用分子生物学与遗传学的研究方法,采用候选基因多态性等分子生物学手段对纤维蛋白原基因调控序列的单核苷酸多态性(SNP)进行筛查;为阐明PTE病因学中的遗传学机制提供科学依据。

### 对象与方法

1. 研究对象:病例组101例PTE患者,男67例,女34例,年龄17~75岁,平均年龄48岁±15岁,所有病例均根据中华医学会呼吸病学分会制定的《肺血栓栓塞症诊断和治疗指南(草案)》标准<sup>[7]</sup>,按照规定方法:经过核素肺灌注显像高度可能,和/或螺旋CT/电子束CT或MRI及肺动脉造影发现管腔充盈缺损确诊。同时进行下肢深静脉显像和/或下肢超声,明确是否伴有DVT。与PTE患者1:1配对的101名健康人群(主要来自门诊体检者和健康志愿者)为对照组,男67人,女34人,年龄17~75岁,平均年龄48岁±15岁;均来自与PTE患者相

同地区汉族人群,性别、年龄近似(±2岁),既往无DVT、PTE病史,与PTE患者无血缘关系,无心、脑、肺、肾、血液、内分泌系统疾病。研究对象遵守医学伦理学的一般原则,特别是尊重研究对象的自主权、知情同意权、隐私权和保密权。所有研究对象在接受本研究之前,均填写《知情同意书》,并由医学伦理委员会进行伦理学问题的监控及处理。

2. 实验方法:抗凝或溶栓治疗前采血,采血量10 ml;分放于3支EDTA抗凝管中;双手揉搓试管以使血液与抗凝剂EDTA混匀;将试管保存于-80℃冰箱备用。应用碘化钾-氯仿-异丙醇法提取基因组DNA。用琼脂糖凝胶电泳方法,以大连宝生物工程公司的DNA ladder作为分子量标准参考物,对所提取的DNA进行定量,并用0.1×TE稀释至0.1 μg/μl, -20℃保存备用。

(1)纤维蛋白原-455G/A基因:参照文献[8]设计引物,引物1:5'-aag aat ttg gga atg caa tct ctg cta cct-3',引物2:5'-ctc ctc att gtc gtt gac acc ttg gga c-3',在GeneBank中进行核对并寻找相应序列。采用PCR扩增仪480(美国PE公司)进行基因扩增,25 μl PCR反应体系的设计:基因组DNA 200 ng,引物各20 pmol, 10×Ex Taq buffer 2.5 μl, dNTP混合物250 μmol/L, TaKaRa Ex Taq酶2.5 U, 灭菌双蒸水16.7 μl。PCR反应条件:预变性93℃ 3 min,变性93℃ 1 min,复性55℃ 1 min,延伸72℃ 1.5 min, 40个循环,后延伸72℃ 10 min。电泳分析PCR产物。取PCR产物5 μl,以1.5%的琼脂糖凝胶电泳20~30 min,紫外灯下显影。PCR产物长度为1301 bp,内含有一个正常的限制性内切酶HaeIII切割位点。

RFLP反应体系的设计:buffer R+ 2 μl, HaeIII限制性内切酶10 U, 灭菌双蒸水7 μl, PCR产物10 μl。RFLP反应体系:HaeIII体系,置37℃水浴中孵育3 h。电泳分析酶切片段:取酶切产物5 μl,以2.5%的琼脂糖凝胶电泳40 min,紫外灯下显影,凝

胶经银染显带后照相保存。

结果判定:PCR 反应产物均可见到 1301 bp 的目的条带。Hae III 酶切可得到 3 种基因型:纤维蛋白原-455 基因野生纯合子(GG):575、383、343 bp,纤维蛋白原-455 突变纯合子(AA):958、343 bp,纤维蛋白原-455 基因杂合子(GA):958、575、383、343 bp。

(2)纤维蛋白原-148C/T:参照文献[9]设计引物,引物 1:5'-cct aac ttc cca tea ttt tgt c-3',引物 2:5'-atg gtt tta agt ttg tgg aag c-3'。在 GeneBank 中进行核对并寻找相应序列。采用 PCR 扩增仪 480 进行基因扩增:PCR 反应体系的设计(25 μl):基因组 DNA 200 ng,引物各 25 pmol,10×Ex Taq buffer 0.5 μl,dNTP 混合物 200 μmol/L,TaKaRa Ex Taq 酶 2.5 U,灭菌双蒸水 17 μl。PCR 反应条件:预变性 95℃ 3 min,变性 95℃ 1 min,复性 50℃ 1 min,延伸 72℃ 1 min,30 个循环,后延伸 72℃ 10 min。电泳分析 PCR 产物:取 PCR 产物 5 μl,以 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳 20~30 min,紫外灯下显影;可得到一个 300 bp 的 PCR 产物。

RFLP 反应体系的设计:RE 10×buffer 2 μl,Acetylated BSA 0.2 μl,Hind III 限制性内切酶 1 μl,灭菌双蒸水 6.8 μl,PCR 产物 10 μl。置 37℃ 水浴中孵育 3 h。

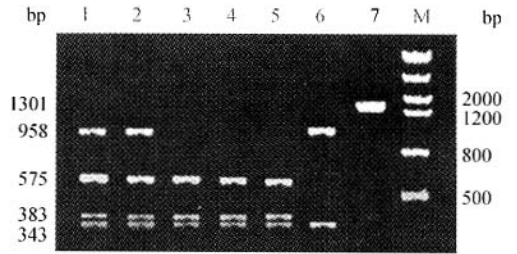
电泳分析酶切片段:取酶切产物 5 μl,以 2.5% 的琼脂糖凝胶电泳 40 min,紫外灯下显影,凝胶经银染显带后照相保存。结果判定:PCR 反应产物均可见到 300 bp 的目的条带。酶切可得到 3 种基因型:-148 基因野生纯合子(CC),202、98 bp;纤维蛋白原-148 突变纯合子(TT),300 bp;纤维蛋白原-148 基因杂合子(CT),300、202、98 bp。

3. 统计学分析:采用 SPSS 11.0 统计软件建立数据库并进行数据整理与分析。对一般情况做描述统计;对 PTE 患者与健康对照者一般情况和基因型的分布做  $\chi^2$  检验或 *t* 检验;计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,计数资料以构成比或率表示。基因频率采用基因计数法计算,基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律及两组间等位基因频率的差异比较采用  $\chi^2$  检验。用 logistic 回归分析探讨基因多态性与 PTE 发生的关系。

结 果

1. 纤维蛋白原 455 和 148 基因 PCR 产物分析:

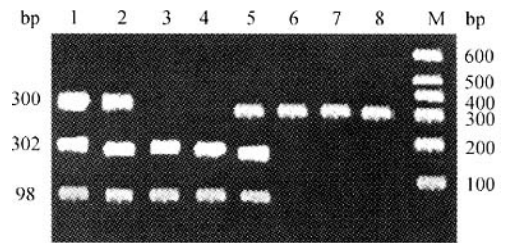
纤维蛋白原-455 基因扩增出一条目的 DNA 片段(1301 bp)。Hae III 酶切后得到 3 种 DNA 条带。野生纯合子(GG)基因型由于存在 2 个 Hae III 酶切位点,可见 575、383 及 343 bp 3 个片段;突变纯合子(AA)基因型由于只存在 1 个 Hae III 酶切位点酶切后只见 958、343 bp 2 个片段;杂合子(GA)基因型可见 958、575、383 及 343 bp 4 个片段(图 1)。



1,2:杂合型;3~5:纯合野生型;6:纯合突变型;7:PCR 产物阳性对照

图 1 纤维蛋白原  $\beta$ -455G/A-PCR-RFLP 产物

纤维蛋白原-148 基因扩增出一条目的 DNA 片段(300 bp)。Hind III 酶切后可得到 3 种 DNA 条带:野生纯合子(CC)基因型可见 202 bp 及 98 bp 2 个片段;突变纯合子(TT)基因型由于缺乏 Hind III 酶切位点,酶切后仅见与 PCR 扩增产物一样的 300 bp 片段;杂合子(CT)基因型酶切后可见 300、202 和 98 bp 3 个片段(图 2)。



1,2,5:杂合型;3,4:纯合野生型;6,7:纯合突变型;8:PCR 产物阳性对照

图 2 纤维蛋白原  $\beta$ -148C/T-PCR-RFLP 产物

2. 纤维蛋白原基因型在正常健康人群中的分布:纤维蛋白原-455G 基因 GG、GA、AA 基因型在健康对照组的分布频数分别为 88、12、1;等位基因 G 和 A 的频率分别为 0.931、0.069。对不同基因型实际频数和期望频数做  $\chi^2$  检验,差异无统计学意义。纤维蛋白原-148C 基因 CC、CT、TT 在健康对照组的分布频数分别为 66、25、10;等位基因 C 和 T 的频率分别为 0.777、0.223。对不同基因型实际频数和

期望频数做  $\chi^2$  检验, 差异未见有统计学意义。基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡。

3. 病例组与对照组中纤维蛋白原基因型分布和等位基因频率的比较: PTE 病例组纤维蛋白原-455G 基因 AA、GA、GG 分别为 3 (3.0%)、33 (32.7%)、65 (64.4%); 对照组分别为 1 (1%)、12 (11.9%)、88 (87.1%),  $\chi^2 = 14.258$ ; -455 A 等位基因在病例组与对照组分别为 0.193、0.069, 两组比较  $\chi^2 = 13.573$  (表 1)。PTE 病例组纤维蛋白原-148C 基因 TT、CT、CC 分别为 10 (9.9%)、29 (28.7%)、62 (61.4%); 对照组分别为 10 (9.9%)、25 (24.8%)、66 (65.3%),  $\chi^2 = 0.421$ ; -148T 等位基因在病例组与对照组分别为 0.243、0.223, 两组比较  $\chi^2 = 0.222$  (表 2)。

表1 纤维蛋白原 455 基因型频率和等位基因频率在 PTE 患者和健康对照组中分布的比较

基因型	病例组 (n=101)		对照组 (n=101)	
	频数	百分率 (%)	频数	百分率 (%)
野生纯合子 GG	65	64.4	88	87.1
杂合子 GA	33	32.7*	12	11.9
突变纯合子 AA	3	3.0	1	1.0
等位基因 G	163	0.807	188	0.931
等位基因 A	39	0.193#	14	0.069

\*  $\chi^2 = 14.258, P = 0.001$ ; #  $\chi^2 = 13.573, P = 0.000$

表2 纤维蛋白原 148 基因型和等位基因频率在 PTE 患者和健康对照组中分布的比较

基因型	病例组 (n=101)		对照组 (n=101)	
	频数	百分率 (%)	频数	百分率 (%)
野生纯合子 CC	62	61.4	66	65.3
杂合子 CT	29	28.7	25	24.8
突变纯合子 TT	10	9.9	10	9.9
等位基因 C	153	0.757	157	0.777
等位基因 T	49	0.243	45	0.223

4. 纤维蛋白原基因  $\beta$ -455G/A、 $\beta$ -148C/T 多态中不同基因型对 PTE 的相对危险度: 进行单变量 logistic 回归探讨  $\beta$ -455G/A 基因多态性与 PTE 的关系, 结果显示, 相对于 GG 基因型而言, GA 杂合型与 GA+AA 均能显著增加 PTE 发生的危险性, OR 值 (95% CI) 分别为 3.723 (1.786~7.759)、3.749 (1.842~7.630),  $P = 0.0001$ 。突变纯合子 AA 型的 OR 值 (95% CI) 为 4.062 (0.413~39.938),  $P = 0.229$  (表 3)。进行单变量 logistic 回归探讨  $\beta$ -148C/T 基因多态性与 PTE 的关系, 结果显示, 相对于 CC 基因型而言, CT+TT、TT、CT 基因型的 OR 值 (95% CI) 分别为 1.186 (0.669~2.104)、1.235

(0.653~2.336)、1.065 (0.415~2.732),  $P$  值分别为 0.559、0.517、0.897。都没有显著增加个体 PTE 发生的危险 (表 4)。

表3 纤维蛋白原 455 不同基因型对 PTE 的相对危险度

基因型	病例组 (n=101)	对照组 (n=101)	OR 值 (95% CI)	P 值
GA+AA	36	13	3.749 (1.842~7.630)	0.000
AA	3	1	4.062 (0.413~39.938)	0.229
GA	33	12	3.723 (1.786~7.759)	0.000
GG	65	88		

表4 纤维蛋白原 148 不同基因型对 PTE 的相对危险度

基因型	病例组 (n=101)	对照组 (n=101)	OR 值 (95% CI)	P 值
CT+TT	39	35	1.186 (0.669~2.104)	0.559
TT	10	10	1.235 (0.653~2.336)	0.517
CT	29	25	1.065 (0.415~2.732)	0.897
CC	62	66		

5. 纤维蛋白原  $\beta$ -148C/T 和  $\beta$ -455G/A 连锁不平衡分析: 连锁不平衡是指不同基因座上的等位基因之间实际观察到的某两个基因出现在同一单体型上的频率与预期值有一定差异。我们发现, 148C/T 和  $\beta$ -455G/A 两位点等位基因非随机分布, 部分研究对象 455G 和 148C 成对出现, 说明两种多态性间存在连锁不平衡, 2 个多态性位点中 G-455、C-148 或 A-455、T-148 分别紧密连锁, 202 人中  $\beta$ -455 与  $\beta$ -148 两个多态性位点基因型情况完全一致有 137 人 (占 67.8%)。

### 讨论

纤维蛋白原是血液凝固过程中的关键蛋白, 在凝血、纤溶调节的过程中起重要作用。纤维蛋白原是一个 340 kD 的糖蛋白, 由 3 种具有高度同源性的多肽链  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  构成, 通过二硫键相连。编码人纤维蛋白原的多肽链基因位于第 4 号染色体的长臂的 q23~q32,  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  基因分别编码三种多肽链。纤维蛋白原在肝细胞合成, 其中  $\beta$  链的合成是纤维蛋白原合成的限速步骤,  $\beta$  链合成速率可影响另两条链的合成速率。Humphries 等<sup>[6]</sup>最早探讨了遗传机制在纤维蛋白原水平调解中的作用, 在纤维蛋白原的 3 条链上发现了多个多态性位点。Hamsten 等<sup>[10]</sup>发现近 51% 的纤维蛋白原异常和基因遗传缺陷有关。在已发现的基因多态性位点中, 与其基因表达密切相关的主要位于  $\beta$  链转录起始点上游启动子区, 我们所研究的  $\beta$ -455、-148 两个多态性位点就

位于此区域。

纤维蛋白原  $\beta$ -455G/A 基因多态性位点是一个能够被 Hae III 限制性内切酶识别的位点,是导致个体间血浆纤维蛋白原水平差异的遗传决定因素之一<sup>[11]</sup>。当-455 位点为 G 时,复合物可优先连接至此位点,抑制了下游纤维蛋白原  $\beta$  基因的转录,抑制纤维蛋白原  $\beta$  链的合成,使循环中纤维蛋白原减少; $\beta$ -455A 等位基因的存在使这种抑制作用部分减弱,并可增加纤维蛋白原  $\beta$  链的转录,并进一步导致循环中纤维蛋白原增加。研究表明<sup>[12,13]</sup>, -455GG 纯合子与-455GA 型杂合子及-455AA 型纯合子相比, GG 型个体的血浆纤维蛋白原水平最低, GA 型次之, AA 型最高。有关  $\beta$ -纤维蛋白原-455G/A 基因多态性与 PTE 间的关系文献报道不多。Harrington 等<sup>[14]</sup>最近对 PTE 存活病例的纤维蛋白原-455G/A 变异进行了检测,发现在存活 PTE 病例中纤维蛋白原 A 等位基因的频率显著低于对照组, -455AA 纯合子在 PTE 中的发生频率(1.7%)也显著低于对照人群(11.7%),这种 A 等位基因的低表达可能和 PTE 的病死率有关,因此认为进行纤维蛋白原-455G/A 变异检测有助于评价病情的预后,这种多态性的存在可能与 VTE 特别是 PTE 的预后有关。本研究结果显示, PTE 病例组 AA、GA 频率分别为 3.0%、32.7%;对照组分别为 1.0%、11.9%,相对于对照组,突变基因型(GA + AA)的 OR 值为 3.749, A 等位基因在病例组与对照组分别为 0.193、0.069,差异有显著性。推测  $\beta$ -纤维蛋白原-455 位点 G/A 单个碱基的改变可能影响了纤维蛋白原的表达,而在 PTE 的发病中起着重要作用。此基因多态性可用于易感人群的检测,对 PTE 的早期防治有重要意义。

纤维蛋白原  $\beta$ -148C/T 多态性与 VTE 发病的相关性尚无确切结论。 $\beta$ -148C/T 多态性位点非常接近 IL-6 最远的作用元件,可影响核蛋白与 IL-6 反应元件的相互作用, $\beta$ -148C/T 多态性位点与  $\beta$ -455G/A 多态性位点完全连锁不平衡,在急性反应中, $\beta$ -148C/T 多态性可能会影响转录因子与  $\beta$ -455 这一调节点点的相互作用,从而导致使血浆纤维蛋白原升高。我们检测的结果是 PTE 病例组纤维蛋白原-148C 基因 TT、CT 频率分别为 9.9%、28.7%,对照组分别为 9.9%、24.8%,突变基因型(CT)的 OR 值为 1.235,从 OR 值分析也表现出微弱的致栓危险度。T 等位基因在病例组与对照组的差异无显

著性。其机制尚不清楚。我们的研究结果与国外一些报道不同,这可能与人种和地区不同有关。

PTE-DVT 的发生可能与其他遗传性危险因素或后天获得始动因素有关<sup>[15]</sup>。在以后的研究中,我们将进一步探讨各种危险因素,并深入探讨 PTE-DVT 的危险分层以及对治疗和预防策略的选择。

#### 参 考 文 献

- 1 Goodnight 3H, Hathaway WE. Disorders of hemostasis & thrombosis. 2nd ed. New York: The McGraw-Hill Co, 2001.
- 2 Comp PC, Nixon RR, Cooper MR, et al. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. J Clin Invest, 1984, 74:2082-2088.
- 3 Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C, prediction of a cofactor to activated protein C. Proc Natl Acad Sci, USA, 1993, 90: 1004-1008.
- 4 Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, et al. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and increase in venous thrombosis. Blood, 1996, 88:3698-3703.
- 5 Carter AM, Catto AJ, Grant PJ. Association of the  $\alpha$ -fibrinogen Thr312Ala polymorphism with post stroke mortality in subjects with atrial fibrillation. Circulation, 1999, 99:2423-2426.
- 6 Humphries SE, Cook M, Dubowitz M, et al. Role of genetic variation at the fibrinogen locus in determination of plasma fibrinogen concentrations. Lancet, 1987, 1:1452-1455.
- 7 中华医学会呼吸病学分会. 肺血栓栓塞症的诊断与治疗指南(草案). 中华结核和呼吸杂志, 2001, 24:259-264.
- 8 Thomas AE, Green FR, Kelleher CH, et al. Variation in the promoter region of the beta fibrinogen gene is associated with plasma fibrinogen levels in smokers and non-smokers. Thromb Haemost, 1991, 65:487-490.
- 9 李凤芹, 刘国勋, 蔡望伟, 等. 纤维蛋白原  $\beta$ -455G/A、-148C/T、448G/A 基因多态性与血浆纤维蛋白原水平的关系. 中华血液学杂志, 2000, 21:463-465.
- 10 Hamsten A, Iselius L, De Faire U, et al. Genetic and cultural inheritance of plasma fibrinogen concentrations. Lancet, 1987, 2: 988-991.
- 11 Friedlander Y, Elkana Y, Sinreich R, et al. Genetic and environmental sources of fibrinogen variability in Israeli families: The Kibbutzim Study. Am J Hum Genet, 1995, 56:1194.
- 12 Tybjaerg-Hansen A, Agerholm-Larsen B, Humphries SE, et al. A common mutation (G-455-A) in the b-fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischemic heart disease: a study of 9,127 individuals based on the Copenhagen City Heart Study. J Clin Invest, 1997, 99:3034.
- 13 Martiskainen M, Pohjasvaara T, Mikkelsson J, et al. Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke. Stroke, 2003, 34:886-891.
- 14 Harrington DJ, Malefora A, Schmeleva V, et al. Genetic variations observed in arterial and venous thromboembolism—relevance for therapy, risk prevention and prognosis. Clin Chem Lab Med, 2003, 41:496-500.
- 15 Goldhaber SZ, Elliott CG. Acute pulmonary embolism: part II: risk stratification, treatment, and prevention. Circulation, 2003, 108: 2834-2838.

(收稿日期:2005-10-13)

(本文编辑:张林东)