

CETP TaqIB、KCNE1 S38G 和 eNOS T-786C 基因多态性与非瓣膜性心房颤动的关联研究

徐力辛 杨炜宇 张怀勤 陶志华 段成城

【摘要】 目的 研究浙江省汉族人群胆固醇酯转运蛋白基因 TaqIB (CETP TaqIB)、心肌缓慢延迟整流钾离子通道(*I_{ks}*) β 亚单位基因 S38G(KCNE1 S38G)和内皮型一氧化氮合酶基因 T-786C(eNOS T-786C)遗传多态性与非瓣膜性心房颤动(房颤)易感性的关联。方法 选取非瓣膜性房颤患者 147 例,病区对照 147 例,采用聚合酶链反应-限制性内切酶片段长度多态性(PCR-RFLP)鉴定 CETP TaqIB、KCNE1 S38G 和 eNOS T-786C 遗传多态性的基因型和等位基因分布。结果 (1)CETP B1 等位基因频率在非瓣膜性房颤组明显高于对照组,差异有统计学意义($OR = 1.763, 95\% CI: 1.247 \sim 2.492, P = 0.002$);(2)logistic 回归分析:校正性别、年龄、高血压、吸烟、BMI 等混杂因素之后,CETP TaqIB 基因多态性在病例组和对照组之间差异具有统计学意义;(3)多因子降维法分析表明,CETP TaqIB、KCNE1 S38G 和 eNOS T-786C 存在交互作用,3 个基因多态性同时存在危险度优势比为 CETP TaqIB 单独存在时的 1.849 倍。结论 CETP B1 等位基因是非瓣膜性房颤遗传易感性的独立危险因素。CETP B1 等位基因、KCNE1 S38G 等位基因和 eNOS T-786C 等位基因同时存在可能增加非瓣膜性房颤遗传易感性。

【关键词】 心房颤动,非瓣膜性;多因子降维法;单核苷酸多态性;基因交互作用

Study on the correlation between CETP TaqIB, KCNE1 S38G and eNOS T-786C gene polymorphisms for predisposition and non-valvular atrial fibrillation XU Li-xin, YANG Wei-yu, ZHANG Huai-qin, TAO Zhi-hua, DUAN Cheng-cheng. Department of Cardiovascular Medicine, The First Affiliated Hospital, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China

【Abstract】 Objective To study whether CETP TaqIB, KCNE1 S38G and eNOS T-786C genetic polymorphisms are associated with non-valvular atrial fibrillation in the Han population from Zhejiang province. Methods Polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism assay was used to detect the distribution of alleles and genotypes of CETP TaqIB, KCNE1 S38G and eNOS T-786C in 147 patients with non-valvular atrial fibrillation and in 147 subjects as controls in Han population of Zhejiang province. Results (1) The frequency of CETP B1 allele in NVAf patients was higher than that of the control group and showing a statistically significant difference ($OR = 1.763, 95\% CI: 1.247-2.492, P = 0.002$). (2) Results from logistic regression analysis revealed that: after adjustment of confounding variables such as sex, age, smoking, hypertension and body mass index, data from the binary logistic analysis showed a statistically significant difference in CETP TaqIB genetic polymorphism between patients and controls. (3) From multifactor dimensionality reduction analysis, results showed an interaction of CETP TaqIB, KCNE1 S38G and eNOS T-786C genetic polymorphisms. Odds ratio of the three simultaneously existing genetic polymorphisms was 1.849 times more than CETP TaqIB alone. Conclusion CETP B1 allele was an independent risk factor for predisposition to non-valvular atrial fibrillation. These findings suggested that the simultaneous existence of CETP B1, KCNE1 S38G and eNOS T-786C allele might be elevated with the predisposition to non-valvular atrial fibrillation in the Han population of Zhejiang province.

【Key words】 Non-valvular atrial fibrillation; Multifactor dimensionality reduction; Single nucleotide polymorphism; Gene-gene interaction

电重构在心房颤动(房颤)的发生中发挥重要作用^[1]。电重构的电生理基础为细胞内钙超载、L型钙通道电流内流减少为主的离子通道功能障碍^[1,2]。缓慢型延迟整流性钾通道电流(slowly activating component of the delayed rectifier potassium channel current, I_{ks})减少能够相对延长2期平台,在L型钙通道电流减少的情况下,仍能造成钙超载。心肌缓慢延迟整流钾离子通道(potassium channel subunit genes, KCNE1)基因 S38G 多态性与 I_{ks} 通道功能障碍相关^[3];内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)基因 T-786C 多态性与 L 型钙通道功能障碍相关^[4,5]。国外研究表明^[6], eNOS T-786C 和 KCNE1 S38G 基因多态性同时存在与意大利白人非瓣膜性房颤发病显著相关。Framingham 研究证实^[7]:高血压病、糖尿病、心肌梗死都是与非瓣膜性房颤有关的独立危险因素,胆固醇酯转运蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)基因 TaqIB 遗传多态性与上述疾病密切相关^[8,9]。基于 Framingham 的一项嵌套研究显示^[10], CETP TaqIB 多态性和高加索白人房颤之间具有相关性。本研究采用病例对照研究设计对我国汉族人群中上述 3 个基因多态性与非瓣膜性房颤易感性关联进行探讨,同时应用多因子降维法分析基因多态性之间的交互作用。

对象与方法

1. 研究对象:采用病例对照研究方法。非瓣膜性房颤组(病例组)来自 2006 年 1 月至 2007 年 5 月在温州医学院附属第一医院住院及曾经住院明确诊断为非瓣膜性房颤,再次就诊的 147 例患者。纳入标准为非瓣膜性房颤患者有除风湿性心脏病以外的其他心脏病(如冠心病、充血性心肌病、肺心病等)和全身性疾病(如高血压、甲状腺机能亢进、肺炎、电解质紊乱、发热等)而同时合并发生的房颤^[11]。选取持续性房颤(持续时间 7 天至 1 年)和永久性房颤(持续时间 > 1 年)。对照组选取与病例组来自同一病区、无房颤病史,且其所有心电图包括 Holter 无房颤表现的患者 147 例。病例组和对照组均为汉族,无血缘关系,无异族通婚家族史,排除合并瓣膜性心脏病、肝肾疾病、2 周内外伤、炎症反应、风湿性疾病及恶性肿瘤患者。本研究已经获得温州医学院附属第一医院伦理委员会批准,每名受试者均签署知情同意书。

2. 研究方法:

(1)基因组 DNA 提取:取空腹 12 h 静脉血 2 ml, EDTA 抗凝,应用 DNA 提取试剂盒(Gentra 公司)抽提外周血白细胞基因组 DNA, -80℃ 冰箱储存备用。

(2)引物的设计与合成:参照文献[6,12,13]方法设计引物,由上海生工生物工程技术有限公司合成。CETP 基因 TaqIB 位点引物序列:上游 5'-CAC TAG CCC AGA GAG AGG AGG CC-3',下游 5'-CTG AGC CCA GCC GCA CAC TAA C-3'; KCNE1 基因 S38G 位点引物序列:上游 5'-TGT GGC AGG AGA CAG TTC AG-3',下游 5'-GCT TCT TGG AGC GGA TGT AG-3'; eNOS 基因 T-786C 位点引物序列:上游 5'-GTG TAC CCC ACC TGC ATT CT-3',下游 5'-CCC AGC AAG GAT GTA GTG AC-3'。

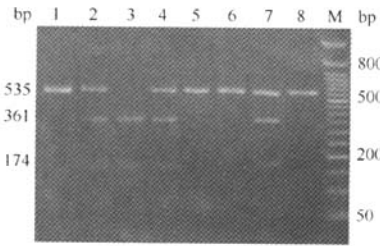
(3)聚合酶链反应:基因扩增仪(Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler,美国应用生物系统公司)。PCR 反应体系为 50 μl:10×PCR 缓冲液 5.0 μl,模板 DNA 2 μl(约 1 μg),引物分别为 2 μl(40 pmol/L),dNTP 1 μl(200 μmol/L),Taq DNA 聚合酶 1 U,用超纯水补足至 50 μl。PCR 反应条件:CETP 基因 TaqIB 为 95℃ 预变性 3 min,95℃ 变性 30 s,60℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 45 s,进行 30 个循环;最后 72℃ 延伸 5 min。KCNE1 基因 S38G 为 94℃ 预变性 3 min,94℃ 变性 30 s,58℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,进行 30 个循环;最后 72℃ 延伸 5 min。eNOS T-786C 为 95℃ 预变性 3 min,95℃ 变性 30 s,56℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 45 s,进行 30 个循环;最后 72℃ 延伸 5 min。每批反应均以超纯水替代 DNA 作为阴性对照。

(4)扩增产物限制性酶切:限制性内切酶均为 New England Biolabs 公司产品。CETP TaqIB 扩增产物使用限制性内切酶 TaqI(重组快切酶)消化,20 μl 酶切反应体系包括:10×缓冲液 2 μl,PCR 产物 10 μl,10 U(0.5 μl)限制性内切酶,并加超纯水 7.5 μl,65℃ 温浴 1 h 进行酶切。KCNE1 S38G 扩增产物使用 BstI 限制性内切酶消化,20 μl 酶切反应体系包括:10×缓冲液 2 μl,PCR 产物 10 μl,10 U(1 μl)限制性内切酶,并加超纯水 7 μl,37℃ 温浴 16 h 进行酶切。eNOS T-786C 扩增产物使用 NgoMIV 限制性内切酶消化,20 μl 酶切反应体系包括:10×缓冲液 2 μl,PCR 产物 10 μl,10 U(1 μl)限制性内切酶,并加超纯水 7 μl,37℃ 温浴 10 h 进行酶切。

(5)基因型判定方法:每 100 ml 琼脂糖中加入北

京赛百盛公司 Goldview 5 μ l。CETP TaqIB 酶切产物以 2% 琼脂糖凝胶电泳分析,在 120 V 电压下电泳 40 min,在波长 300 nm 紫外光下观察并照相; KCNE1 S38G 为 3.5% 琼脂糖凝胶电泳分析酶切产物,在 80 V 电压下电泳 30 min; eNOS T-786C 为 3% 琼脂糖凝胶电泳分析酶切产物,在 80 V 电压下电泳 40 min。每次酶切反应均以一个确定的纯合子基因型作为对照。基因分型结束后,随机抽取 10% 的样本进行重复分型,吻合率达 100%。

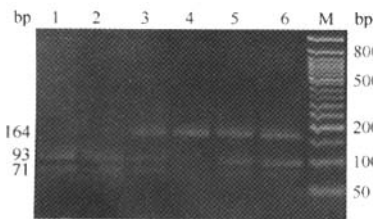
CETP TaqIB 基因多态性是位于第 1 内含子 277 位的 G→A 点突变(G277A)。扩增产物片段大小为 535 bp,经限制性内切酶消化后,电泳可见 3 种基因型:若该位点为 G,则形成 TaqI 酶切位点,即为等位基因 B1;若为 A 则为等位基因 B2,由此区分 3 种基因型: B1B1 型, 174、361 bp 两条片段; B1B2 型, 174、361、535 bp 三条片段; B2B2 型, 单条 535 bp 片段(图 1)。



注:Marker:50 bp 标记物; 1、5、6、8: B2B2 型; 2、4、7: B1B2 型; 3: B1B1 型

图1 CETP TaqIB 基因型分布

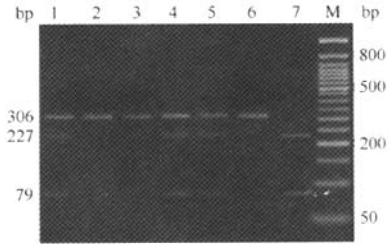
KCNE1 S38G 基因多态性为外显子区域存在 112 A→G 点突变(A112G),导致编码蛋白 38 位点的丝氨酸转变为甘氨酸(S38G)。扩增产物片段大小为 164 bp,经限制性内切酶消化后,电泳可见 3 种基因型。若该位点为 A,则形成 Bts I 酶切位点,即为等位基因 S;反之,为等位基因 G。酶切后得到 71、93 bp 两条片段为 SS 型;71、93 和 164 bp 三条片段为 SG 型;单条 164 片段为 GG 型(图 2)。



注:Marker:50 bp 标记物; 1、2:SS 型; 3、5、6:SG 型; 4:GG 型

图2 KCNE1 S38G 基因型分布

eNOS T-786C 基因多态性是 5' 侧翼区启动区 T→C 点突变。扩增产物片段大小为 306 bp,经限制性内切酶消化后,电泳可见 3 种基因型。若该位点为 T,则形成 NgoMIV 酶切位点,即为等位基因 T;反之,为等位基因 C。酶切后得到 79、227 bp 两条片段,基因型为 TT 型; CC 型不能被酶切,为单条 306 bp 片段;酶切后得到 79、227、306 bp 三条片段者为 TC 型(图 3)。



注:Marker:50 bp 标记物; 1、4、5: TC 型; 2、3、6: CC 型; 7: TT 型

图3 eNOS T-786C 基因型分布

3. 统计学分析:计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并进行正态检验和齐性检验,组间比较采用 *t* 检验。计数资料采用 χ^2 检验。基因型和等位基因频率采用基因计数方法计算。Hardy-Weinberg 平衡采用 χ^2 检验,单个基因型及组间等位基因频率比较采用四格表 χ^2 检验,OR 值和 95% 可信区间(95% CI)表示基因与疾病之间的关联强度。非条件 logistic (Forward:Ward)用来校正其他非瓣膜性房颤危险因素如年龄、吸烟、高血压和 BMI 等混杂因素可能对结果造成的影响,以 $P < 0.05$ (双侧)为差异有统计学意义。上述数据采用 SPSS 13.0 统计软件包进行统计学分析。同时,采用开源免费 MDR Software 程序(版本 1.0.0,可在 <http://www.epistasis.org/mdr.html> 免费下载)进行多因子降维法(multifactor dimensionality reduction, MDR)统计分析^[14],明确 3 个基因多态性之间是否存在交互作用。最佳模型 $P < 0.05$ 为基因多态性之间有交互作用。置换检验: $P < 0.05$ 验证有统计学意义。一致性检验表明统计结果符合程度,10 为完全相符。

结 果

1. 一般情况比较:147 例非瓣膜性房颤中,持续性房颤 86 例(58.50%),永久性房颤 61 例(41.50%)。病例组和对照组性别、年龄、高血压病史、吸烟和 BMI 构成间的差异均无统计学意义(表 1)。

表1 两组研究对象的一般情况

| 特征 | 病例组 (n = 147) | 对照组 (n = 147) | P 值 |
|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------|
| 性别(男/女) | 86/61 | 89/58 | 0.170 |
| 年龄(岁, $\bar{x} \pm s$) | 65.73 ± 13.12 | 65.54 ± 11.77 | 0.446 |
| 高血压病史 | 88(59.9) | 87(59.2) | 0.452 |
| 吸烟 | 79(53.7) | 75(51.0) | 0.320 |
| BMI | 63(42.9) 56(38.1) 28(19.0) | 68(46.3) 47(31.9) 32(21.8) | 0.269 |

注: 括号外数据为例数, 括号内数据为构成比(%); BMI: 18.5~24=1(体重正常), ≥24=2(超重), ≥28=3(肥胖)

2. Hardy-Weinberg 平衡、等位基因及基因型频率比较:

(1) 两组 CETP TaqIB 基因多态性基因型符合 Hardy-Weinberg 平衡 (病例组 $\chi^2 = 1.379, P = 0.240$; 对照组 $\chi^2 = 2.199, P = 0.139$); 两组基因型分布和等位基因频率经 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9.210, P = 0.010$ 和 $\chi^2 = 10.444, P = 0.002$); B1 等位基因发生非瓣膜性房颤的风险是 B2 等位基因的 1.763 倍, 95% CI: 1.247~2.492 (表 2)。

表2 两组病例 CETP TaqIB 基因多态性基因型分布和等位基因频率 (%)

| 分组 | CETP TaqIB 基因型 | | | 等位基因 | |
|---------------|----------------|----------|----------|--------------------|-----------|
| | B1B1 | B1B2 | B2B2 | B1 | B2 |
| 病例组 (n = 147) | 80(54.4) | 53(36.1) | 14(9.5) | 213(72.4) | 81(27.6) |
| 对照组 (n = 147) | 57(38.8) | 62(42.2) | 28(19.0) | 176(59.9) | 118(40.1) |
| χ^2 值 | 9.210 | | | 10.444 | |
| P 值 | 0.010 | | | 0.002 | |
| OR 值(95% CI) | | | | 1.763(1.247~2.492) | |

(2) 两组 KCNE1 S38G 基因多态性基因型符合 Hardy-Weinberg 平衡 (病例组 $\chi^2 = 0.459, P = 0.498$; 对照组 $\chi^2 = 1.239, P = 0.266$); 两组基因型分布和等位基因频率经 χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.171, P = 0.354$ 和 $\chi^2 = 0.678, P = 0.464$) (表 3)。

表3 两组病例 KCNE1 S38G 基因多态性基因型分布和等位基因频率 (%)

| 分组 | KCNE1 S38G 基因型 | | | 等位基因 | |
|---------------|----------------|----------|----------|--------------------|-----------|
| | SS | SG | GG | S | G |
| 病例组 (n = 147) | 9(6.1) | 61(41.5) | 77(52.4) | 79(26.9) | 215(73.1) |
| 对照组 (n = 147) | 16(10.9) | 56(38.1) | 75(51.0) | 88(29.9) | 206(70.1) |
| χ^2 值 | 2.171 | | | 0.678 | |
| P 值 | 0.354 | | | 0.464 | |
| OR 值(95% CI) | | | | 0.860(0.601~1.231) | |

(3) 两组 eNOS T-786C 基因多态性基因型符合 Hardy-Weinberg 平衡 (病例组 $\chi^2 = 1.584, P = 0.208$; 对照组 $\chi^2 = 3.577, P = 0.06$); 两组基因型分布和等位

基因频率经 χ^2 检验, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.659, P = 0.843$ 和 $\chi^2 = 0.411, P = 0.631$) (表 4)。

表4 两组病例 eNOS T-786C 基因多态性基因型分布和等位基因频率 (%)

| 分组 | eNOS T-786C 基因型 | | | 等位基因 | |
|---------------|-----------------|----------|--------|--------------------|---------|
| | TT | TC | CC | T | C |
| 病例组 (n = 147) | 126(85.7) | 19(12.9) | 2(1.4) | 271(92.2) | 23(7.8) |
| 对照组 (n = 147) | 130(88.4) | 15(10.2) | 2(1.4) | 275(93.5) | 19(6.5) |
| χ^2 值 | 0.659 | | | 0.411 | |
| P 值 | 0.843 | | | 0.631 | |
| OR 值(95% CI) | | | | 0.814(0.433~1.529) | |

3. 多因素分析: 应用 logistic 回归分析, 校正性别、年龄、高血压、吸烟、BMI 等混杂因素之后, 评价各基因多态性对于非瓣膜性房颤的贡献, 结果显示 CETP TaqIB 在两组之间的差异有统计学意义。回归系数 (β) 为 0.510, $P = 0.003$, 说明 B1 等位基因是非瓣膜性房颤的独立危险因子。与 B2B2 基因型相比, B1 等位基因存在能够增加非瓣膜性房颤易感性 1.666 倍 (95% CI: 1.194~2.324) (表 5)。两组间 eNOS T-786C、KCNE1 S38G 基因多态性差异未进入方程, 说明这两个基因多态性在两组之间的差异无统计学意义, 与 χ^2 检验结果一致。

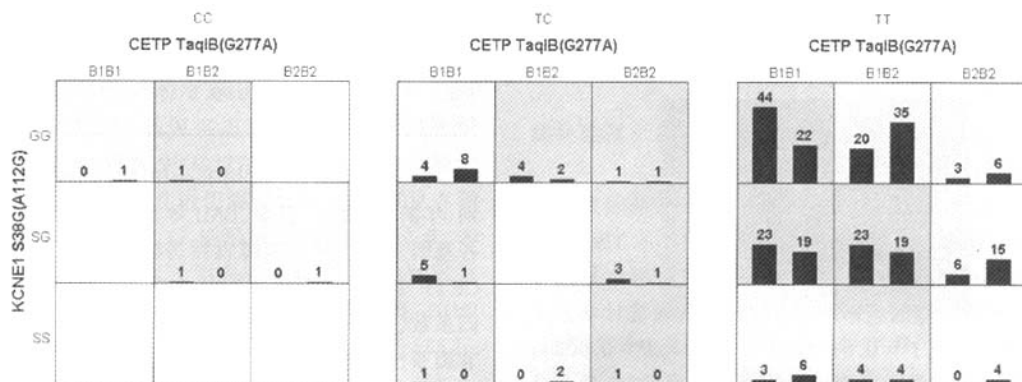
表5 非瓣膜性房颤全部检测项目 logistic 回归分析 (进入方程中的自变量及有关参数估计值)

| 选入变量 | β | P 值 | OR 值(95% CI) |
|------------|---------|-------|--------------------|
| CETP TaqIB | 0.510 | 0.003 | 1.666(1.194~2.324) |
| 常数项 | -0.678 | 0.008 | 0.508 |

4. MDR 分析: 应用 MDR Software 分析交互作用最佳模式及与非瓣膜性房颤的关系, 最佳模式为 CETP TaqIB、eNOS T-786C 和 KCNE1 S38G 同时存在, 符号检验 $P = 0.011$, 一致性检验为 10。并且上述 3 个基因多态性同时存在情况下 OR 值的 95% CI 为 3.486 (2.122~5.725), 显著高于 CETP TaqIB 基因多态性单独存在的 OR 值 95% CI: 1.885 (1.185~2.999), 为 1.849 倍。经 1000 次置换检验证明这个模型的 P 值为 0.01~0.001 之间, 一致性检验为 10, 模型有意义。证实上述三者之间存在基因交互作用, 为非瓣膜性房颤最佳预测模型 (表 6, 7), 与非瓣膜性房颤易感性显著相关的 3 个基因多态性交互作用模式前三位依次是: CETP TaqIB B1B1 + KCNE1 38GG + eNOS -786TT; CETP TaqIB B1B1 + KCNE1 38SG + eNOS -786TT; CETP TaqIB B1B2 + KCNE1 38SG + eNOS -786TT (图 4)。

表6 CETP TaqIB, eNOS T-786C, KCNE1 S38G 基因型交互作用 MDR 分析

| 模型 | OR 值(95% CI) | χ^2 值 | P 值 | 交叉检验 准确度 | 验证 准确度 | P 值 | 预测误差 (%) | 一致性 检验 |
|-------------------------------------|--------------------|------------|-------|-------------|-----------|----------|-------------|-----------|
| CETP TaqIB | 1.885(1.185~2.999) | 7.231 | 0.007 | 0.578 | 0.579 | 8(0.045) | 42.07 | 10/10 |
| CETP TaqIB+ KCNE1 S38G | 2.340(1.457~3.761) | 12.552 | 0.000 | 0.605 | 0.548 | 6(0.377) | 45.21 | 6/10 |
| CETP TaqIB+ KCNE1 S38G+ eNOS T-786C | 3.486(2.122~5.725) | 25.274 | 0.000 | 0.644 | 0.625 | 9(0.011) | 37.55 | 10/10 |



注:单元格中左侧条带表示病例组百分比(%),右侧条带表示对照组百分比(%),在三维的每个多因子分类(单元格)中,计算病例数与对照例数的比值,若病例、对照组例数之比达到或超过 ≥ 1 ,则标记为高危(深阴影),反之则为低危(淡阴影)和无作用(空白)。图中显示与非瓣膜性房颤显著相关的 13 个高危组合,根据包含危险作用 SNP(eNOS T-786C 和 KCNE1 S38G 为变异体纯合子或杂合子,CETP TaqIB 为野生型或杂合子)的个数分为:3 个 SNP 均为上述范围内的 5 个;2 个 SNP 的 7 个;1 个 SNP 的 1 个。图中示 7 个无作用空白,其中 6 个为 CETP TaqIB B2B2 与 KCNE1 38SS(或 eNOS-786 TT)同时存在

图4 MDR 分析 CETP TaqIB, eNOS T-786C, KCNE1 S38G 基因型交互作用

表7 CETP TaqIB, eNOS T-786C, KCNE1 S38G 基因型交互作用 MDR 分析置换检验

| 置换检验 | 临界值(α) | | | |
|-------|-----------------|-------|-------|-------|
| | 0.001 | 0.01 | 0.05 | 0.10 |
| 验证准确度 | 0.645 | 0.595 | 0.578 | 0.569 |
| 一致性检验 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| P 值 | 0.001 | 0.01 | 0.05 | 0.10 |

讨 论

基于群体的复杂性疾病的病因研究中,统计学交互作用通常可以用对潜在的生物学意义的机制(生物学交互作用)进行一定的解释^[15]。多基因病的位点变异存在交互作用^[16],但其主效应可能很小或无,限制了 logistic 回归分析实际应用。MDR 分析是一种非参数、无需遗传模式的分析基因交互作用的统计方法^[14]。因此,本研究采用 logistic 回归模型用于检测多态位点与疾病的独立关联;采用 MDR 分析 3 个基因多态性交互作用与非瓣膜性房颤易感性的关联。

本研究报道汉族人群 CETP TaqIB, KCNE1 S38G, eNOS T-786C 与非瓣膜性房颤的关系。通过

logistic 方法分析发现 CETP TaqIB 与非瓣膜性房颤发病显著相关。CETP 基因位于人类染色体 16q12-21,长约 25 kb,含 16 个外显子和 15 个内含子。编码 CETP 蛋白,是一种疏水性糖蛋白,催化血浆脂蛋白间非极性脂质的交换和平衡,特别是将大量胆固醇酯从 HDL-C 逆向转运到 LDL-C,并在机体炎症应答反应中起一定作用。人类 CETP B2 等位基因导致血浆中 CETP 水平降低,胆固醇酯逆向转运作用减弱,血浆 HDL-C 升高,LDL-C 降低且氧化减少,降低血管壁的炎症^[17]。B1 等位基因的作用与之相反,越来越多的证据显示,B1 等位基因与冠心病、高血压病相关,这两种疾病都与房颤的发生强烈相关^[8,9]。Asselbergs 等^[10]的研究第一次显示了在 CETP TaqIB 多态性和高加索白人房颤之间的相关性,并且有报道称^[18],他汀类降脂药能够减少充血性心衰犬模型的房颤发生,推测 CETP B1 等位基因存在时增高 LDL-C,加重血管壁炎症,进而与非瓣膜性房颤的危险因素,如冠心病、高血压相关,造成了非瓣膜性房颤的遗传易感性。

本研究提出 CETP TaqIB, KCNE1 S38G, eNOS

T-786C 基因多态性之间存在交互作用,能够增加非瓣膜性房颤易感性。Fatini 等^[6]研究显示,eNOS T-786C 和 KCNE1 S38G 基因多态性同时存在与意大利白人非瓣膜性房颤发病显著相关,本研究没有发现这种组合,可能与人种地域差异有关。唐迅等^[19]综述了成功应用 MDR 分析方法的文献,发现这些研究的总样本量介于 177~2163 之间。本研究的样本量为 294,在这个范围之内。而且本研究为病例对照研究,病例组和对照组样本量相等,一般情况差异无统计学意义,符合 MDR 分析方法的应用范围,能够得出比较可信的结论。

KCNE1 基因位于人类染色体 21q22.1~21q22.2 (在染色体上反向排列,亦有研究者将 KCNE1 S38G 写作 KCNE1 G38S),全长 408 bp,有 1 个外显子,编码 mink 蛋白(130 个氨基酸)构成心脏 I_{ks} 通道的 β 亚单位。生理状态下,心脏 I_{ks} 通道参与心室复极化,特别是作用于动作电位的终末期,与频率依赖性动作电位时程缩短和心房组织电重构有关。最近,Ehrlich 等^[3]证实 mink38G 等位基因存在能够造成 I_{ks} 电流减少,动作电位时程轻度延长,相对不应期轻度延长;诱导电交替,特定条件下诱发早期后除极,增加快速性心律失常发生概率。心房动作电位复极化期延长能够引发心房钙超载,造成 L 型钙通道功能障碍,间接促进房颤的发生。陈义汉等^[20]研究发现 I_{ks} 通道功能障碍参与了家族性房颤发病。Lai 等^[21]进行的一项病例对照研究显示 mink38G 变异体存在更高的房颤风险。

本研究提示:CETP TaqIB、KCNE1 S38G、eNOS T-786C 之间存在交互作用,同时存在增加非瓣膜性房颤易感性 1.849 倍。这种交互作用可能与炎症、氧化应激影响离子通道及内皮功能,从而造成心肌电重构和结构重构相关。CETP B1 等位基因导致 LDL-C 升高,引起血管壁炎症及氧化应激^[17],造成非瓣膜性房颤基础病变的病理改变;eNOS T-786C 等位基因造成 NO 水平下降,进而导致 L 型钙通道功能障碍^[5],动作电位有效不应期缩短和氧化应激增加^[4],内皮功能障碍^[22],可能引起窦房结功能异常,并增加心血管疾病的易感性;KCNE1 S38G 等位基因造成心肌缓慢延迟整流钾离子流减少,动作电位相对不应期延长,其中 2 期平台相对延长,在 L 型钙通道电流减少的情况下,仍然能够造成钙超载的发生,形成电重构的恶性循环;缓慢延迟整流钾离子流减少诱发早期后除极^[3],增加快速性

心律失常发生概率,为房颤的发生提供了电生理基础。与 Fatini 等^[6]在意大利白人中的研究不同,本研究没有显示 KCNE1 S38G、eNOS T-786C 之间存在交互作用,可能与入种差异有关。

本研究采用病例对照研究,病例组与对照组性别构成、年龄、高血压、吸烟(包括被动吸烟)、BMI 差异无统计学意义,基因分型清楚,符合 Hardy-Weinberg 平衡,在此基础上得出的差异应当是基因型的差异,结果较为可靠。对照组中,CETP 基因 TaqIB 遗传多态性,B1 和 B2 等位基因频率分别为 0.599 和 0.401,与北京市自然人群^[23](0.595, 0.405)及高加索白人^[10](0.551, 0.449)相似;KCNE1 基因 S38G 遗传多态性,S 和 G 等位基因频率分别为 0.299 和 0.701,与华东地区汉族(0.269 和 0.731)相似^[24],与意大利白人(0.503 和 0.497)差异明显^[6];eNOS 基因 T-786C 遗传多态性,T 和 C 等位基因频率分别为 0.935 和 0.065,与甘肃地区汉族(0.961 和 0.039)相似^[25],与意大利白人(0.602 和 0.398)存在明显差异^[6]。

非瓣膜性房颤是一种多因素多基因遗传性疾病,对于这种疾病的研究一定要承认其复杂性,应用针对这种复杂性的统计方法,分析研究数据,能够得出比较客观的结果,从而为非瓣膜性房颤易感性分子生物学机制的深入研究提供方向。

参 考 文 献

- [1] Nattel S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature*, 2002, 415(6868): 219-226.
- [2] Nattel S. Atrial electrophysiological remodeling caused by rapid atrial activation: underlying mechanisms and clinical relevance to atrial fibrillation. *Cardiovasc Res*, 1999, 42: 298-308.
- [3] Ehrlich JR, Zicha S, Couto P, et al. Atrial fibrillation-associated mink 38G/S polymorphism modulates delayed rectifier current and membrane localization. *Cardiovasc Res*, 2005, 67: 520-528.
- [4] Kubota I, Han X, Opel DJ, et al. Increased susceptibility to development of triggered activity in myocytes from mice with targeted disruption of endothelial nitric oxide synthase. *J Mol Cell Cardiol*, 2000, 32: 1239-1248.
- [5] Mery PF, Pavoine C, Belhassen L, et al. Nitric oxide regulates cardiac Ca_v2 current. Involvement of cGMP-inhibited and cGMP-stimulated phosphodiesterases through guanylyl cyclase activation. *J Biol Chem*, 1993, 268: 26286-26295.
- [6] Fatini C, Sticchi E, Genuardi M, et al. Analysis of mink and eNOS genes as candidate loci for predisposition to non-valvular atrial fibrillation. *Eur Heart J*, 2006, 27(14): 1712-1718.
- [7] Benjamin RJ, Levy D, Vaziri SM, et al. Independent risk factors

- for atrial fibrillation in a population-based cohort: the Framingham Heart Study. *JAMA*, 1994, 271(11): 840-844.
- [8] Boekholdt SM, Sacks FM, Jukema JW, et al. Cholesteryl ester transfer protein TaqIB variant, high-density lipoprotein cholesterol levels, cardiovascular risk, and efficacy of pravastatin treatment; individual patient meta-analysis of 13, 677 subjects. *Circulation*, 2005, 111: 278-287.
- [9] Dixit M, Bhattacharya S, Mittal B. Association of CETP TaqI and APOE polymorphisms with type II diabetes mellitus in North Indians: a case control study. *BMC Endocr Disord*, 2005, 5: 7.
- [10] Asselbergs FW, Moore JH, van den Berg MP, et al. A role for CETP TaqIB polymorphism in determining susceptibility to atrial fibrillation; a nested case control study. *BMC Med Genet*, 2006, 7: 39.
- [11] 周自强, 胡大一, 陈捷, 等. 中国心房颤动现状的流行病学研究. *中华内科杂志*, 2004, 43(7): 491-494.
- [12] Ordovas JM, Cupples LA, Corella D, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein — TaqIB polymorphism with variations in lipoprotein subclasses and coronary heart disease risk: the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20: 1323-1329.
- [13] Cinzia F, Francesco S, Anna MG, et al. Endothelial nitric oxide synthase -786T→C, but not 894G→T and 4a4b, polymorphism influences plasma homocysteine concentrations in persons with normal vitamin status. *Clinical Chemistry*, 2005, 51: 1159-1164.
- [14] 唐迅, 李娜, 胡永华, 等. 应用多因子降维法分析基因-基因交互作用. *中华流行病学杂志*, 2006, 27: 437-441.
- [15] 胡永华. 基于群体的复杂性疾病的病因研究. *北京大学学报(医学版)*, 2007, 39(2): 113-115.
- [16] 李璞. 多基因病//李璞. 医学遗传学. 2 版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2004: 83-103.
- [17] Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, et al. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res*, 2004, 95: 764-772.
- [18] Shiroshita-Takeshita A, Brundel BJ, Burstein B, et al. Effects of simvastatin on the development of the atrial fibrillation substrate in dogs with congestive heart failure. *Cardiovasc Res*, 2007, 74(1): 75-84.
- [19] 唐迅, 李娜, 陈大方, 等. 多因子降维法分析基因-基因交互作用的应用进展. *中华流行病学杂志*, 2007, 28: 918-921.
- [20] Chen YH, Xu SJ, Bendahhou S, et al. KCNQ1 gain-of-function mutation in familial atrial fibrillation. *Science*, 2003, 299: 251-254.
- [21] Lai LP, Su MJ, Yeh HM, et al. Association of the human Mink gene 38G allele with atrial fibrillation: evidence of possible genetic control on the pathogenesis of atrial fibrillation. *Am Heart J*, 2002, 144: 485-490.
- [22] Han X, Shimoni Y, Giles WR. A cellular mechanism for nitric oxidemediated cholinergic control of mammalian heart rate. *J Gen Physiol*, 1995, 106: 45-65.
- [23] 刘静, 赵冬, 刘斌, 等. 胆固醇酯转运蛋白基因 TaqIB 多态性和血浆浓度的人群分布特征和相互关系. *中华流行病学杂志*, 2003, 24: 300-303.
- [24] 楼盛, 陆林, 吴立群, 等. 人类 KCNE1 基因单核苷酸多态性与心律失常关系的研究. *中国分子心脏病学杂志*, 2007, 32: 4-8.
- [25] 冉军川, 白锋, 张钰, 等. eNOS 基因 5' 侧翼区 T-786C 多态性与冠心病的相关性研究. *临床内科杂志*, 2006, 23: 689-691.

(收稿日期: 2007-11-01)

(本文编辑: 张林东)

· 征订启事 ·

本刊 2008 年征订启事

《中华流行病学杂志》是由中华医学会主办的流行病学及其相关学科的高级专业学术期刊、国内预防医学和基础医学核心期刊、国家科技部中国科技论文统计源期刊, 2004-2006 年被中国科学技术信息研究所定为“百种中国杰出学术期刊”, 为美国国立图书馆医学文献联机数据库和美国化学文摘社收录。读者对象为预防医学、临床医学、基础医学及流行病学科研与教学工作者。征稿内容: 重点或新发传染病现场调查与控制; 慢性非传染病的病因学及流行病学调查(含社区人群调查)、干预与评价; 环境污染与健康; 食品安全与食源性疾病; 流动人口与疾病; 行为心理障碍与疾病; 分子流行病学、基因学与疾病控制; 我国西部地区重点疾病的调查与控制等。本刊设有述评、重点原著、现场调查、疾病监测、实验室研究、临床流行病学、疾病控制、基础理论与方法、国家课题总结、文献综述、问题与探讨等重点栏目。

全年出版 12 期, 每期定价 9 元(含邮费), 全年 108 元, 由全国各地邮局统一订阅, 邮发代号: 2-73。本刊编辑部常年办理邮购。地址: 北京昌平流字五号《中华流行病学杂志》编辑部, 邮编: 102206, 电话(传真): 010-61739449, 投稿网址: <http://zhjxb.medline.org.cn>, 查询事宜: Email: lxbonly@public3.bta.net.cn 欢迎广大读者踊跃投稿, 积极订阅。

本刊编辑部