

不稳定型心绞痛患者 C-反应蛋白基因多态性与其血清水平的相关性

杨海涛¹,何国平^{1*},戚传平²,许联红²,钱亿超¹

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

[摘要] 目的:探讨中国苏南地区汉族人群不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris,UAP)患者 C-反应蛋白(C-reactive protein,CRP)基因+1444C/T 多态性与其血清 CRP 水平的相关性。方法:本研究包括 172 例不稳定型心绞痛患者(UAP 组)和 230 例非冠心病者(对照组),分别应用酶联免疫吸附法和聚合酶链反应-限制性片段长度多态性法检测血清 CRP 水平及 CRP 基因+1444C/T 多态性。结果:①本研究人群存在 CRP 基因+1444C/T 多态性;②UAP 患者血清 CRP 水平(8.269/9.179 μg/ml)显著高于非冠心病者(3.578/2.236 μg/ml)($P < 0.001$),且经多因素 Logistic 回归校正各影响因素后,仍提示血清 CRP 水平与 UAP 发病风险相关;③血清 CRP 水平在 UAP 组与对照组各基因型之间无显著差异($P > 0.05$),进一步按性别和年龄分组后,仍未发现该基因多态性不同基因型间的血清 CRP 水平有任何差异($P > 0.05$)。结论:中国苏南地区汉族人群 CRP+1444C/T 基因多态性与血清 CRP 水平无相关性。

[关键词] 不稳定型心绞痛; C-反应蛋白; 基因多态性; +1444C/T; 血清 CRP 水平

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)09-1246-04

The correlation of CRP gene polymorphism and its serum level in patients with unstable angina pectoris

YANG Hai-tao¹, HE Guo-ping^{1*}, QI Chuan-ping², XU Lian-hong², QIAN Yi-chao¹

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

[Abstract] **Objective:** To investigate the correlation between C-reactive protein (CRP) gene +1444C/T polymorphism with the risk of unstable angina pectoris (UAP) and the serum CRP level in the ethnic Sunan Han population of China. **Methods:** The serum level of CRP was measured by enzyme-linked immunosorbent assay and the CRP gene +1444C/T polymorphism was genotyped by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism between 172 patients with UAP and 230 control subjects. **Results:** ① There was CRP gene +1444C/T polymorphism in this study population; ② The serum CRP level in UAP patients (8.269/9.179 μg/ml) was significantly higher than those in control subjects (3.578/2.236 μg/ml) ($P < 0.001$) and multivariate logistic regression analysis showed that the serum CRP level was a risk factor of UAP; ③ There was not difference in the serum CRP level in any genotypes of the CRP gene +1444C/T polymorphism between the UAP group and the control group ($P > 0.05$) and further grouped by gender and age. **Conclusion:** There was no relationship between CRP gene +1444C/T polymorphism with its serum level in the ethnic Sunan Han population of China.

[Key words] unstable angina pectoris(UAP); C-reactive protein(CRP); gene polymorphism; +1444C/T; serum CRP level

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(9): 1246-1249]

不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris,UAP)是冠心病(CHD)的一种类型,严重危害人类的健康,它的病理基础是在冠脉内稳定的粥样斑块的基础上发生斑块内出血、纤维帽裂隙、血小板聚集,从而刺

激冠状动脉痉挛,并最终导致心肌缺血。而炎症反应在动脉粥样硬化斑块不稳定和斑块破裂中起着重要作用。C 反应蛋白(CRP)是一种主要的急性期炎症反应蛋白,研究显示,血清 CRP 水平与 CHD 的发生直接相关^[1]。血清 CRP 水平可能受 CRP 基因多态性的影响^[2],然而,对于 CRP 基因+1444C/T 多态性与其血清水平的相关性仍存在争议^[3-6]。那么 UAP 患

[基金项目] 常州市科技计划项目[常科发(2009)90 号]

*通讯作者, E-mail: guopinghe6@sina.com

者的 CRP 基因+1444C/T 多态性是否会影响血清 CRP 水平呢? 本文就 UAP 患者为研究对象, 探讨 CRP 基因+1444C/T 多态性与 UAP 的发病风险及血清 CRP 水平的相关性。

1 对象和方法

1.1 对象

病例组:选自 2008 年 7 月~2011 年 7 月入住江苏大学附属武进医院心内科,经冠状动脉造影检查证实冠脉病变狭窄>50%,且临床表现、胸痛发作时的心电图等检查确诊的 UAP 患者 172 例,男 116 例,女 56 例,年龄 40~85(63.70 ± 8.78)岁。对照组:按照 1979 年 WHO 公布的 CHD 诊断标准^[7],经冠状动脉造影检查证实冠脉正常者 230 例,男 114 例,女 116 例,年龄 29~84(57.31 ± 9.97)岁。所有入选者均为中国苏南地区汉族人群,相互之间无血缘关系,均排除有长期服用抗炎、他汀、激素类药物史,及并发感染或非感染性炎症性疾病、风湿性心脏病、心衰、肝肾疾病、肿瘤及免疫系统疾病的患者。该研究经本院医学伦理委员会批准,并征得所有入选对象知情同意。

1.2 方法

1.2.1 一般资料采集

收集所有入选对象的基本资料,包括年龄、性别、吸烟史、高血压史、糖尿病史、血脂检查和冠状动脉造影等结果。

1.2.2 CRP 基因+1444C/T(rs1130864)多态性检测

参照本中心既往研究方法^[8]提取 DNA,PCR 扩增并进行 CRP 基因+1444C/T(rs1130864)多态性检测。

1.2.3 血清 CRP 水平检测

取入选者空腹静脉血 5 ml,室温下静置 0.5~1.0 h,离心后留取上层血清,-70℃冰箱保存待测。采用酶联免疫吸附法检测血清 CRP 水平,操作步骤按试剂盒(Adlitteram Diagnostic Laboratories,美国)说明书进行。

1.3 统计学方法

采用 SPSS17.0 软件进行统计分析。计量资料经 Kolmogorov-Smirnov Normality 检验为正态分布资料者采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验;偏态分布资料用中位数/四分位数间距(M/IQR)表示,采用 Wilcoxon 秩和检验;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;CRP 基因+1444C/T 多态性与其血清水平校

正各因素采用 Logistic 回归分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UAP 组与对照组的一般临床资料比较

UAP 组患者的年龄、男性、吸烟者、高血压病、糖尿病的比例及血清甘油三酯(TG)水平均高于对照组(表 1)。

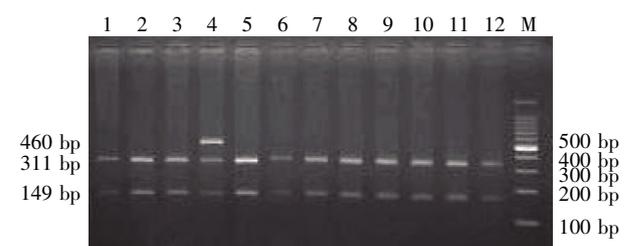
表 1 两组患者的临床资料

项 目	对照组($n = 230$)	UAP 组($n = 172$)
年龄(岁)	57.31 ± 9.97	63.70 ± 8.78*
男[n(%)]	114(49.57)	116(67.44)*
吸烟[n(%)]	28(12.17)	47(27.33)*
高血压病[n(%)]	81(35.22)	107(62.21)*
糖尿病[n(%)]	11(4.78)	23(13.37)*
TC(mmol/L)	4.21 ± 1.52	4.40 ± 1.32
TG(mmol/L)	1.63 ± 1.11	2.06 ± 1.54*
HDL-C(mmol/L)	1.10 ± 0.47	1.06 ± 0.36
LDL-C(mmol/L)	2.43 ± 0.97	2.57 ± 0.90

TC:总胆固醇;TG:甘油三酯;HDL-C:高密度脂蛋白胆固醇;LDL-C:低密度脂蛋白胆固醇;与对照组相比,* $P < 0.01$ 。

2.2 CRP 基因+1444C/T 多态性基因型鉴定

CRP 基因的 PCR 扩增产物为 460 bp 的特异性片段。酶切后,理论上显示 3 种基因型:TT 纯合型(460 bp)、CT 杂合型(460、311 和 149 bp)和 CC 纯合型(311 和 149 bp)。但本研究未发现 TT 纯合型者(图 1)。



4:CT 杂合型;其余为 CC 纯合型;M:Marker。

图 1 CRP 基因 PCR 产物酶切电泳图

Figure 1 Enzyme-digested gel electropherogram of PCR products of CRP gene

2.3 血清 CRP 水平(M/IQR)及其与 UAP 发病风险的相关性

UAP 组的血清 CRP 水平明显高于对照组,经 Logistic 回归分析校正性别、年龄、吸烟、高血压、糖尿病和血脂异常等因素后显示,血清 CRP 水平与 UAP 发病风险存在相关性($P < 0.001$,表 2)。

2.4 UAP 组和对照组 CRP 基因+1444C/T 多态性

与血清 CRP 水平的相关性

在 UAP 组和对照组中,CRP 基因+1444 不同基因型间血清 CRP 水平校正前后均无显著差异(表 3),进一步按性别、年龄(≥ 60 岁为老年、 < 60 岁为早发)分组后进行比较,仍未发现有任何差异,提示 CRP 基因多态性与血清 CRP 水平无相关性($P > 0.05$,表 4、5)。

表 2 对照组与 UAP 组血清 CRP 水平(M/IQR)的比较

Table 2 Comparison of the serum CRP levels (M/IQR) between control and UAP group

组别	CRP($\mu\text{g/ml}$)	<i>P</i>	OR(95%CI) [#]	<i>P</i> [#]
对照组	3.578/2.236	< 0.001	5.370(3.112~9.267)	< 0.001
UAP 组	8.269/9.179			

*:校正因素包括性别、年龄、吸烟、高血压、糖尿病和血脂异常。

表 3 UAP 组和对照组的组内 CRP 基因+1444C/T 基因型间血清 CRP 水平(M/IQR)比较

Table 3 Comparison of the serum CRP levels (M/IQR) among genotypes of the CRP gene +1444C/T in UAP and control group

	CRP($\mu\text{g/ml}$)	<i>P</i>	OR(95%CI) [#]	<i>P</i> [#]
UAP 组				
CC(<i>n</i> = 153)	8.075/9.492	0.50	0.593(0.207~1.695)	0.33
CT(<i>n</i> = 61)	8.550/7.241			
对照组				
CC(<i>n</i> = 200)	3.590/2.490	0.33	1.877(0.621~5.671)	0.26
CT(<i>n</i> = 30)	3.524/2.038			

*:校正因素包括性别、年龄、吸烟、高血压、糖尿病和血脂异常。

表 4 UAP 组组内 CRP 基因+1444C/T 基因型间血清 CRP 水平(M/IQR)比较

Table 4 Comparison of the serum CRP levels (M/IQR) among genotypes of the CRP gene +1444C/T in UAP group

UAP 组	CRP($\mu\text{g/ml}$)	<i>P</i>	OR(95%CI) [#]	<i>P</i> [#]
男性(<i>n</i> = 116)				
CC(<i>n</i> = 101)	8.995/8.568	0.95	0.844(0.263~2.709)	0.78
CT(<i>n</i> = 15)	9.464/7.181			
女性(<i>n</i> = 56)				
CC(<i>n</i> = 52)	7.329/10.755	0.55	0.717(0.060~8.612)	0.79
CT(<i>n</i> = 4)	4.643/4.440			
老年(<i>n</i> = 113)				
CC(<i>n</i> = 101)	9.975/9.616	0.57	1.227(0.343~4.388)	0.75
CT(<i>n</i> = 12)	10.859/7.466			
早发(<i>n</i> = 59)				
CC(<i>n</i> = 52)	7.112/9.142	0.27	0.249(0.025~2.472)	0.24
CT(<i>n</i> = 7)	5.480/3.634			

*:校正因素包括性别、年龄、吸烟、高血压、糖尿病和血脂异常。

表 5 对照组组内 CRP 基因+1444C/T 基因型间血清 CRP 水平(M/IQR)比较

Table 5 Comparison of the serum CRP levels (M/IQR) among genotypes of the CRP gene +1444C/T in control group

对照组	CRP($\mu\text{g/ml}$)	<i>P</i>	OR(95%CI) [#]	<i>P</i> [#]
男性(<i>n</i> = 114)				
CC(<i>n</i> = 100)	3.631/1.826	0.74	1.122(0.115~10.971)	0.92
CT(<i>n</i> = 14)	3.237/1.623			
女性(<i>n</i> = 116)				
CC(<i>n</i> = 100)	3.479/2.892	0.13	2.638(0.705~9.877)	0.15
CT(<i>n</i> = 16)	4.623/6.264			
老年(<i>n</i> = 97)				
CC(<i>n</i> = 82)	3.597/1.402	0.93	1.530(0.142~16.532)	0.73
CT(<i>n</i> = 15)	3.226/2.046			
早发(<i>n</i> = 133)				
CC(<i>n</i> = 118)	3.578/3.143	0.19	2.270(0.628~8.210)	0.21
CT(<i>n</i> = 15)	4.354/6.931			

*:校正因素包括性别、年龄、吸烟、高血压、糖尿病和血脂异常。

3 讨论

UAP 主要由于冠脉内粥样斑块的不稳定,使局部心肌血流量明显下降,从而加重心肌缺血。而导致斑块不稳定的因素包括血流动力学变化、应激及炎症反应等。CRP 作为非特异性急性期反应蛋白,在炎症或组织损伤发生后急剧增高^[9],因此被视为炎症标志物。本研究发现,UAP 组的血清 CRP 水平较对照组明显增高,进一步证明了 CRP 水平与 CHD 的关系。

CRP 基因位于人类染色体组 1q21~1q23 区带之间,长约 2.2 kb,含有 2 个外显子和 1 个内含子,编码 206 个氨基酸残基。近年来,CRP 基因多态性与疾病的关系逐渐受到人们的重视。如果能够发现与 CHD 发病相关的 CRP 基因位点,那么就能够尽早地干预携带该基因位点的人群,从而达到预防 CHD 发病的目的。本研究以苏南地区汉族人群的 UAP 患者为研究对象,检测了 CRP 基因+1444C/T 多态性,但是未发现 TT 基因型,这与本中心既往研究报道^[8]不符,可能是由于中国汉族人群携带该基因型者所占比例极少(PUBMED SNP 数据库公布的中国北京人群为 0)及本研究病例数有限所致。

个体之间基础 CRP 水平存在很大差异,已有研究表明^[10],基础 CRP 水平较高的个体患心血管疾病的危险相对较高,因此很多学者试图找出导致个体基础 CRP 水平差异的原因。一项 NHLBI Family Heart Study 队列研究发现,遗传因素能解释 35%~

40%的个体间 CRP 水平差异^[2]。体现了 CRP 基因多态性对血清 CRP 水平的影响,但结论却不尽一致。2003 年,Brull 等^[3]对 250 例训练前后的男性军人和 193 例冠状动脉旁路手术的患者研究后发现基因多态性与血清 CRP 水平相关,表现为 TT 纯合子 CRP 水平比携带 C 等位基因者高。而 Wang 等^[11]选取了欧美急性冠脉综合征患者和来自 1 245 个(657 个 CHD 高危家庭,588 个随机选择的家庭)2~3 代的家庭中 5 381 例研究对象,并筛选了 6 个单核苷酸多态性,其中包括 CRP 基因+1444C/T 多态性,但未发现该基因多态性会影响血清 CRP 水平。Pai 等^[5]对美国女性(护士健康研究)和男性(卫生保健人员健康随访研究)的两个前瞻性队列研究,以及 Kolz 等^[6]对欧洲 6 个城市的 1 003 例心肌梗死患者的研究结论也证实 CRP 基因+1444C/T 多态性与血清 CRP 水平无相关性。

本研究以中国苏南地区汉族人群为研究对象发现,UAP 组的年龄、男性、吸烟、高血压病、糖尿病比例及血清 TG 均高于对照组,提示它们对于 UAP 的发生和发展起了一定的促进作用。而 UAP 组与对照组的 CRP 基因+1444C/T 各基因型间的血清 CRP 水平无明显差异,这说明中国苏南地区汉族人群 CRP 血清水平可能不受 CRP 基因+1444C/T 多态性的影响。

综上所述,本中心既往研究^[12]发现 CRP 基因+1444C/T 多态性与 UAP 之间无相关性,而本研究首次以中国苏南地区汉族人群 UAP 患者为研究对象,进一步对 CRP 基因+1444C/T 多态性及血清 CRP 水平作了分析,未发现 CRP 基因+1444C/T 多态性与其血清 CRP 水平有相关性,该结论与国外大多数学者的一致。目前,对于 CRP 基因+1444C/T 多态性与血清水平关系的研究,国内外结论不尽一致。根据相关研究报道,笔者推测,该位点的突变可能仅仅只是一种同义突变,即虽然碱基突变后使密码子发生了改变,但是改变前后密码子所编码的氨基酸未变,故未发生突变效应,因此未影响到蛋白质的结构与功能;也可能该基因多态性仅仅是通过影响附近的突变位点来影响 CRP 的表达。另外,也可能受下列因素的影响,例如:疾病的不同发展时期、种族及环境因素、样本量的差异等。因此,CRP 基因多态性与血清 CRP 水平及 CHD 的关系是及其复杂的,后续的研究还将对 CHD 发病的不同时期、不同人群及 CRP 基因不同位点采取进一步扩大样本量来进行探讨。

[参考文献]

[1] Verma S, Kuliszewski MA, Li SH, et al. C-reactive protein

attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function; further evidence of a mechanistic link between C-reactive protein and cardiovascular disease [J]. *Circulation*, 2004, 109(17): 2058-2067

[2] Pankow JS, Folsom AR, Cushman M, et al. Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: the NHLBI family heart study [J]. *Atherosclerosis*, 2001, 154(3): 681-689

[3] Brull DJ, Serrano N, Zito F, et al. Human CRP gene polymorphism influences CRP levels; implications for the prediction and pathogenesis of coronary heart disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(11): 2063-2069

[4] Shakhnovich PM, Sukhinina TS, Barsova RM, et al. Polymorphism C1444T of C-reactive protein gene and C-reactive protein concentration in blood serum of healthy people and patients with myocardial infarction [J]. *Kardiologiia*, 2010, 50(8): 4-12

[5] Pai JK, Mukamal KJ, Rexrode KM, et al. C-reactive protein (CRP) gene polymorphisms, CRP levels, and risk of incident coronary heart disease in two nested case-control studies [J]. *PLoS One*, 2008, 3(1): e1395

[6] Kolz M, Koenig W, Müller M, et al. DNA variants, plasma levels and variability of C-reactive protein in myocardial infarction survivors; results from the AIRGENE study [J]. *Eur Heart J*, 2008, 29(10): 1250-1258

[7] 陈在嘉, 徐义枢, 孔华宇. 临床冠心病学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1994: 260-262

[8] 何国平, 戚猛, 高磊, 等. CRP 基因 C+1444T 多态性与中国苏皖地区汉族人群 ACS 的易感性无关 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2011, 31(4): 522-525

[9] De Beer FC, Shine B, Pepys MB. Radiometric ligand binding assay for C-reactive protein. Complexed C-reactive protein is not detectable in acute phase serum [J]. *Clin Exp Immunol*, 1982, 50(1): 231-237

[10] Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, et al. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17(6): 1121-1127

[11] Wang Q, Hunt SC, Xu Q, et al. Association study of CRP gene polymorphisms with serum CRP level and cardiovascular risk in the NHLBI Family Heart Study [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291(6): H2752-2757

[12] 何国平, 沈丹丹, 戚猛, 等. C 反应蛋白基因多态性 C+1444T 与 UAP 的相关性研究 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2009, 29(9): 1247-1250

[收稿日期] 2012-03-14