

华南汉族健康人群纤维蛋白原基因 β 链 G455A 多态性分布

张胜男¹, 黄志军^{△2}, 易朝晖², 柏承文², 展亭², 朱莹², 林秀华²

1. 深圳市福田区慢病院; 2. 深圳市人民医院 (暨南大学第二临床医学院) 急诊科 518020

摘要: 目的 观察纤维蛋白原 (fibrinogen, Fbg) β 链基因 G455A 多态性在华南汉族健康人群中的分布。方法 提取华南汉族 138 名正常健康者外周血基因组 DNA, 应用多聚酶链反应 (PCR) 技术和限制性内切酶片段长度多态性技术检测上述人群的 β -Fbg G455A 基因型。结果 华南汉族人群 β -Fbg 基因 G455A 具 3 种基因型 (GG, GA, AA), 其中 GG 基因型 104 人, 占 75.4%, GA 基因型 32 人, 占 23.2%, AA 基因型 2 人, 占 1.4%。

β -Fbg 等位基因 G455A G、A 基因频率在人群中分别为 87.0%, 13.0%。结论 华南汉族健康人群 β -Fbg 基因 G455A 多态具 3 种基因型 (GG, GA, AA), G 等位基因携带频率明显高于 A 等位基因。

关键词: 纤维蛋白原; 基因多态性; 华南汉族; 健康人群

一些研究显示凝血因子基因多态性分布与种族、地域有关, 并与疾病的发生、发展相关。如有研究表明中国人群 HLA - DRB1 基因多态性与宫颈癌易感性相关【1, 2】。本文应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (Polymerase chain reaction -restriction fragment length polymorphism, PCR -RFLP) 核苷酸分型技术, 研究了纤维蛋白原 (fibrinogen, Fbg), 又称凝血因子 I (coagulation factor I, FI) β 基因 G455A 多态在华南汉族正常人中的分布。其意义是通过华南汉族正常人群 Fbg β 基因 G455A 多态分布的了解, 总结这一特定地区、特定人群此基因多态分布的特点, 其资料可与其它地区、其它人群做比较, 也有利于今后进一步研究此基因多态在华南汉族缺血性心脑血管病中的作用。

1 对象与方法

1.1 对象 正常健康者 138 名, 其中男性 69 名, 女性 69 名, 平均年龄 (56.4 ± 9.6) 岁。所有研究对象均来自广东地区汉族人群, 无血缘关系。健康入选者经病史、体格检查、实验室和心电图检查无疾病的表现, 且家族史中无心梗或脑梗塞史者。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 取外周静脉血 3~4 ml, 枸橼酸钠抗凝; 以深圳晶美公司提供试剂盒抽提 DNA。

1.2.2 β -Fbg G455A 基因分型引物, β -Fbg 引物设计: ①上游: 5' -GGAATGCAATCTCTGCTACCT-3; ②下游: 5' -TGTCGTTGACACCTTGGGAC-3'。

1.2.3 β -Fbg-455G/A 基因多态性分析: 每 50ul 反应体系含 10×buffer 5ul, 4×dNTP 各 1ul, 引物①、②各 1ul, 模板 DNA 5ul, TaqDNA 聚合酶 2U, 双蒸水 32ul。PCR 热循环条件为: 94°C 10min 预变性; (1)94°C 1min, (2)60°C 1min, (3)72°C 2min, (1)(2)(3) 循环

* 基金项目: 深圳市科技局科研计划课题 (批准文号 200405020, 200703083)

作者简介: 张胜男 (1965—), 女, 湖南益阳人, 本科学历, 主任医师, 主要从事慢性疾病预防工作。

△ 黄志军 (1965—) 通讯作者, 男, 硕士, 主任医师。研究方向: 心脑血管病的防治及急诊诊治。E-mail: szhuangzhi jun@163.com

30次;72℃条件下延伸10min。得到PCR产物,长度1300bp。Hae III酶切体系:10×buffer 2ul, Hae III 5u, PCR产物10ul,加双蒸水至20ul,混合后37℃水浴5h。将上述酶消化产物用2%琼脂糖凝胶(含溴化乙锭 $0.5\mu\text{g/mL}$), 1×TBE中电泳(电压5V/cm)40min,紫外检测仪分析电泳结果。

1.3 统计分析:基因型和等位频率采用计数法统计。

2 结果

2.1 健康人群组的临床特点 健康人群的血压、血脂均在正常范围。收缩压(125.1 ± 12.8) mmHg;舒张压(68.5 ± 7.6) mmHg;总胆固醇(4.6 ± 0.9) mmol/L;甘油三酯(1.6 ± 0.6) mmol/L;空腹血糖(5.4 ± 0.5) mmol/L;体重(65.5 ± 7.2) kg;尿素氮(5.1 ± 0.6) mmol/L。

2.2 基因型分析 β -Fg-455G/A基因PCR-RFLP结果GG型342bp、383bp、575bp三条带;GA型342bp、383bp、575bp、958bp四条带;AA型342bp、958bp两条带;

2.3 健康人群Fbg G455A基因型多态性分布比较:138例中基因型(Genotype)GG型104例,占75.4%;GA型32例,占23.2%;AA型2例,占1.4%。Fbg等位基因(Alleles)G、A频率在健康人群中分别为87.0%和13.0%。

3 讨论

纤维蛋白原是一种糖蛋白,是一种由肝脏合成的,参与凝血过程活动的蛋白质,是最先发现的凝血因子,又称凝血因子I。是纤维蛋白的前体。分子量340,000,半衰期4~6日。血浆中参考值2~4克/升。纤维蛋白原由 α 、 β 、 γ 三对不同多肽链所组成,多肽链间以二硫键相连。在凝血酶作用下, α 链与 β 链分别释放出A肽与B肽,生成纤维蛋白单体。在此过程中,由于释放了酸性多肽,负电性降低,单体易于聚合成纤维蛋白多聚体。但此时单体之间借氢键与疏水键相连,尚可溶于稀酸和尿素溶液中。进一步在 Ca^{+2} 与活化的XIII因子作用下,单体之间以共价键相连,则变成稳定的不溶性纤维蛋白凝块,完成凝血过程。肝功能严重障碍或先天性缺乏,均可使血浆纤维蛋白原浓度下降,严重时可有出血倾向。而纤维蛋白原活性增高或浓度增大,与闭塞性心脑血管病的发生有关【3,4】。

血浆纤维蛋白原是由2组完全对称的分子构成,每一组分子包含3条多肽链: $\text{A}\alpha$ 、 $\text{B}\beta$ 和 γ ,并分别被 α 纤维蛋白原(血浆纤维蛋白原A)、 β 纤维蛋白原(血浆纤维蛋白原B)和 γ 纤维蛋白原(血浆纤维蛋白原G)3种独立基因所编码,所有基因都集中位于第4号染色体长臂末端(4q23~q32)。纤维蛋白原 β 链的合成是血浆纤维蛋白原合成的限速步骤,因此编码 β 链的基因被认为是影响血浆纤维蛋白原水平的主要基因【5,6】。国内外研究已经发现的 β 纤维蛋白原基因多态性达10余种, β -455G/A是 β 纤维蛋白原基因多态性中发现最早、研究最多的位点。多数研究发现, β 纤维蛋白原基因的-455A等位基因与血浆纤维蛋白原水平升高相关,认为A等位基因与血浆纤维蛋白原升高正相关。在体研究证实 β 链合成决定了纤维蛋白原的生成速率,因此影响 β 链的合成的基因多态性也影响纤维蛋白原的生成。位于 β 链基因启动子的G-455A基因多态性对 β 链基因的转录速率有明显作用,携带-455A等位基因的个体在人群中比率约为20%,其血浆纤维蛋白原水平较基因型为GG的纯合子约升高7%~10%。Smith等对1999年至2004年间的16项关于 β G-455A基因多态性与冠心病发病的病例对照研究及队列研究进行了荟萃分析【7】。其中6项临床试验同时进行了 β G-455A基因多

[在此处键入]

态性与血浆纤维蛋白原水平关系的研究,结果显示血浆纤维蛋白原水平在各基因型之间符合 AA>GA>GG 的规律,在为数不多的前瞻性研究中, Tybjerg-Hansen 等的样本量达 9 127 例的队列研究结果显示, β G-455A 基因多态性与血浆纤维蛋白原水平相关【8】。

研究发现等位基因 A 可使纤维蛋白原 β 链的基因转录速率提高。由于 β 链的合成在纤维蛋白原生成中是限速步骤,对其合成速率的微小影响将导致血浆纤维蛋白原水平的改变。

通过竞争性结合的实验发现在肝细胞核内有三种蛋白质能与 β -Fg-455G/A 两侧区域的 (-468~439bp)DNA 片段结合,其中之一(ComplexIII)能牢固地与 G-455 结合,而与 A-455 则相反,可能具有类似阻遏蛋白的作用。由于 G-455 易受到阻遏,可以解释为何 A-455 携带者血浆 Fg 水平高于 GG 基因型者。从培养的 HepG2 细胞中扩增含有 Fg β 链-636~-+16 碱基序列的 DNA 片段,将其克隆至 pGL2 载体上,然后又转染 HepG2 细胞, pGL2A-455 比 pGL2G-455 表达增高约 1.4 倍;用 IL-6 刺激 16h 后,发现 pGL2G-455 表达增高 3.2 倍,而 pGL2A-455 则增高了 4.8 倍,两者相差有统计学意义($P<0.05$)。可见体外实验亦证明 A 等位基因与 β 链转录增高关联【9】。

本文就 β -Fg-455G/A 多态性进行了研究,结果 华南汉族人群 β -Fbg 基因 G455A 具 3 种基因型(GG, GA, AA),其中 GG 基因型 104 人,GA 基因型 32 人,AA 基因型 2 人。 β -Fbg 等位基因 G455A G、A 基因频率在人群中分别为 87.0%,13.0%。G 等位基因携带频率明显高于 A 等位基因。

参考文献

- [1]蔡芬,宋治,陈皓,等.不同检测方法检测比较 ABCA1 基因多态性与脑梗死的关系.实用预防医学 2014, 21: 497-198
- [2]魏林珍,王海琳,录亚鹏,等.中国人 HLA - DRB1 基因多态性与宫颈癌易感性的 Meta 分析.实用预防医学 2014, 21: 264-266
- [3]龚五星,蔡月明,彭健,等.冠心病患者纤维蛋白原 B β 启动区基因多态性.中国动脉硬化杂志, 2002, 10: 140-143.
- [4]王爱玲,余元勋,徐岩,等. β 纤维蛋白原基因 455G /A 多态性与急性心肌梗死的关系.安徽医科大学学报, 2005, 40:238-240.
- [5] Doggen CJM, Bertina RM, Manger Cats V, et al. Fibrinogen polymorphisms are not associated with the risk of myocardial infarction. Br J Haemato 2000, 110: 935-938.
- [6] Leander K, Wiman B, Hallqvist J, et al. The G-455A polymorphism of the fibrinogen B β -gene relates to plasma fibrinogen in male cases, but does not interact with environmental factors in causing myocardial infarction in either men or women. J Int Med 2002, 252: 332-341.
- [7] Smith GD, Harbord R, Milton J, et al. Does elevated plasma fibrinogen increase the risk of coronary heart disease? Evidence from a meta-analysis of genetic association studies. Arterioscler Thromb Vasc Bio 2005, 25: 2228-2233.
- [8] Anne Tybjerg-Hansen, Birgit Agerholm-Larsen, Steve E. Humphries, et al. A common mutation (G-455→A) in the-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, 99:3034-3039.
- [9] Folsom A R, Aleksic N, Ahn C. Beta-fibrinogen gene 455G /A polymorphism and

[在此处键入]

coronary heart disease incidence: The athero-sclerosis risk in communities (ARIC) study. Ann Epidemio 2001, 11: 166-170.