

汉族人群 NOS3 A-922G、NOS3 T-786C 与 NOS3 G894T SNP 的等位基因及其组合分布与高血压的相关性

马厚勋¹, 谢正祥², 牛永红², 李章勇², 周平¹

(1. 重庆医科大学附属第一医院老年病科, 重庆 400016; 2. 重庆医科大学基础医学院生物医学工程研究室, 重庆 400016)

摘要: 为了分析汉族人群一氧化氮合酶基因 NOS3 A-922G、NOS3 T-786C 与 NOS3 G894T 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 的等位基因及其组合分布与高血压病的相关性, 选取无亲缘关系的高血压病人 192 例 (男 97 例, 女 95 例) 以及无亲缘关系的健康个体 122 例 (男 76 例, 女 46 例) 为对照组, 提取静脉血白细胞基因组 DNA, 采用等位基因特异性引物 PCR 技术检测 NOS3 A-922G、NOS3 T-786C 与 NOS3 G894T 3 个位点的基因型。其结果显示: 高血压病组与对照组 NOS3 G894T、NOS3A-922G 及 NOS3 T-786C 各等位基因型及其基因单倍型频率比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。男、女性别分层研究: 无论男亚组还是女亚组均未发现 NOS3 A-922G、NOS3 T-786C 与 NOS3 G894T 各个位点 SNP 与高血压病有相关性。等位基因组合分布研究发现 NOS3 G894G + A-922G + T-786T 组合基因型总体频率分布在高血压病组与正常对照组之间有显著性差异 ($P < 0.05$, $\chi^2 = 4.5944$)。男、女性别分层研究: 男亚组上述 3 个位点 SNP 的各个组合基因型分布频率在高血压病组与正常对照组之间无显著性差异 ($P > 0.05$); 女亚组中携带 NOS3 G894G + A-922G + T-786C 的组合基因型分布频率在高血压病组与正常对照组之间有显著性差异 ($P < 0.01$, $\chi^2 = 8.502$)。研究发现, 在中国汉族人群中 NOS3A-922G、NOS3 T-786C 与 NOS3 G894T SNP 与高血压病无明确的相关性, 且无性别差异。组合分布研究发现, NOS3 G894G + A-922G + T-786C 的组合基因型分布频率在高血压病女性亚组较健康女性亚组明显减低, 提示携带该组合基因型女性人群可能不易患高血压病。

关键词: 内皮源性一氧化氮合酶; 组合分布; 单核苷酸多态性; 高血压病; 等位基因

中图分类号: R349.5 R544.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2006)01-0003-08

Single Nucleotide Polymorphisms in NOS3 A-922G, T-786C and G894T: a Correlation Study of the Distribution of Their Allelic Combinations with Hypertension in Chinese Han Population

MA Hou-Xun¹, XIE Zheng-Xiang², NIU Yong-Hong², LI Zhang-Yong², ZHOU Ping¹

(1. Department of Geriatrics, The First Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China;

2. Department of Biomedical Engineering, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China)

Abstract: To study single nucleotide polymorphisms (SNP) in A-922G, T-786C and G894T of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) and to correlate the distribution of their allelic combinations with hypertension in Chinese Han nationality population, genomic DNA was isolated from venous blood leukocytes from 192 unrelated patients with hyperten-

收稿日期: 2004-12-26; 修回日期: 2005-05-12

作者简介: 马厚勋 (1966—), 男, 四川简阳县人, 副主任医师, 博士生, 研究方向: 老年心血管疾病基础与临床研究。E-mail: mahouxun66@yahoo.com.cn

通讯作者: 谢正祥 (1938—), 男, 四川成都人, 教授, 博士生导师, 研究方向: 基因型与表现型。E-mail: bmezxxie@sohu.com

sion (95 females and 97 males) and 122 healthy unrelated individuals (46 females and 76 males) as controls. SNPs of NOS3 A-922G, T-786C and G894T were genotyped by allele-specific primer (ASP) PCR. The distribution of genotype combinations of three SNPs was determined by clustering analysis. There were no difference in allele genotype distribution frequency and haplotype frequency of NOS3 G894T, NOS3 A-922G and NOS3 T-786C between the essential hypertension group and the healthy population ($P > 0.05$). According to sex stratification, no association between essential hypertension and SNP of NOS3 A-922G, NOS3 T-786C or NOS3 G894T has been found in either the male subgroup or the female subgroup. In respect of allele genotype combination frequency in the natural distribution of NOS3 A-922 G, NOS3 T-786C and NOS3 G894T SNP, there was significant difference only in the allele genotype combination frequency of NOS3 G894G + A-922G + T-786T between the hypertension group and the healthy group ($P < 0.05$, $\chi^2 = 4.5944$). According to sex stratification, there was no significant difference in all above allele genotype combination frequency in three sites of NOS3 SNP between the hypertension male subgroup and the healthy male subgroup ($P > 0.05$). There was significant difference in the allele combination frequency of NOS3 G894G + A-922G + T-786C between the hypertension female subgroup and the healthy female subgroup ($P < 0.001$, $\chi^2 = 8.502$). There was no association of SNP in NOS3 A-922G, NOS3 T-786C or NOS3 G894T with hypertension in the Chinese Han nationality population, nor was there a sex difference. The combination frequency of allele NOS3 G894G + A-922G + T-786C in the hypertension female subgroup was much lower than that in the healthy female subgroup, suggesting that female population with this combination genotype may be less susceptible to hypertension.

Key words: endothelial nitric oxide synthase; single nucleotide polymorphisms; combination distribution; essential hypertension; allele

基因多态性是人类健康和疾病的个体差异性的重要原因,特别是单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)。目前关于基因多态性与整体生理和疾病表现型联系的研究,多数局限于单个基因,甚至是单个位点的多态性^[1]。鉴于大多数疾病为多基因特征,提示在一个个体中多基因多态性的组合是同时起作用的。因此研究基因多态性组合分布特征与疾病的相关性具有极其重要的研究价值。近几年来有关 NOS3 G894T (NOS3 Glu298 Asp) SNP 与高血压病的关系研究大多数报道 NOS3 G894T 突变等位基因与高血压病有相关性,如 Yasujima 等^[2,3] 研究发现 NOS3 基因 298Asp (894T) 突变等位基因与高血压病发病明显的相关性,国内学者狄群等^[4] 发现 NOS3 基因 Glu298Asp 突变可能是中国人原发性高血压病的一种遗传易感指标;而同期 Kato 等^[5,6] 却报道 NOS3 G894T 突变等位基因与高血压病无相关性。这说明有关 NOS3 G894T SNP 与高血压病相关性问题的研究,还需更进一步研究加以证实。国外学者 Hyndman 等^[7] 研究 NOS3 T-786→C 位点的基因多态性与高血压病的相关性时,发现携带 NOS3 C-786C 基因型人群有更高的收缩压水平,且其患高血压病的危险性亦增高;而同期日本学者 Tsujita 等^[8,9] 研究报道在日本人的 NOS3 基因 T-786→C 突变等位基因对其高

血压病易感性中的无影响。而就有关中国人 NOS3 基因 T-786C SNP 与高血压病的研究目前尚未见报道。为此,本文就汉族人群内皮源性一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, *ecNOS*, NOS3) NOS3 A-922G、NOS3 T-786C 与 NOS3 G894T SNP 的等位基因及其组合分布与高血压相关性进行研究,以寻找与高血压有明确相关性的等位基因及其组合基因型。

1 研究对象和方法

1.1 研究对象

随机选择无亲戚关系的汉族高血压病个体 192 例(男 97 例,女 95 例)作为高血压病研究对象,年龄 42~89 岁,平均年龄 62.11±3.5 岁;同时选择正常无亲戚关系的汉族个体 122 例(男 76 例,女 46 例)作为正常对照组,年龄 40~87 岁,平均年龄 61.91±3.4 岁。上述两组研究对象来源于重庆市某高校教职工,他们来自全国各地的汉族人群,两组年龄方面具有可比性。高血压病诊断以 1996 年 WHO 推荐的高血压病诊断标准血压 ≥140/90 mmHg 为入选标准。正常对照组入选标准:血压 <140/90 mmHg;无心、脑、肾、肝胆、糖尿病及肿瘤等病史,且心电图、尿常规、肝、肾功能及血糖、血脂正常者。

1.2 研究方法

1.2.1 DNA 提取

采取 EDTA 抗凝外周静脉全血 1 mL,用 DNA 专用提取试剂盒法(上海华舜生物工程有限公司)抽提白细胞基因组 DNA。

1.2.2 NOS3 基因 SNP 检测

1.2.2.1 引物序列选取及设计 根据研究需要通

过美国 NCBI(美国国家生物信息中心)的 GenBank 获取 NOS3 基因序列及其相应位点的 SNP 信息(GenBank No. AF032908)。利用 Primer5.0 软件设计符合研究需要的引物序列。引物序列如表 1 所示,全部设计引物均由中国大连宝生生物技术有限公司合成。

表 1 引物及其退火参数

Table 1 Primers and annealing parameters

单核苷酸多态性位点 SNP sites	引物 Primer	引物长度 Primer length (bp)	鸟嘌呤核苷酸与胞嘧啶核苷酸总计 GC(bp)	腺嘌呤核苷酸与胸腺嘧啶核苷酸总计 AT(bp)	理论退火温度 Theoretical annealing temperature (°C)	退火温度 Annealing temperature (°C)	运行温度 Operation temperature (°C)	退火时间 Duration of annealing of primers (S)
NOS3 G894T	(P1) _{T0} AGT CAA TCC CTT TGG TGC TCAC	22	11	11	66	61	63	63
	(P2) _{G0} CAT GAG GCT CAG CCC CAG AAC	21	13	8	68	63		
	894T: TGC TGC TGC AGG CCC CAG AT [T]	21	13	8	68	63		
	894G: GAA GGA AGA GTT CTG GGG GCT [C]	21	12	9	66	61		
NOS3 T-786C	(P1) _{C0} : TTT CTC CAG CCC CTC AGA TG	20	11	9	62	57	60	60
	2684C: GGC AGA GGC AGG GTC AGA C [G]	20	14	6	68	63		
	2684T: CAT CAA GCT CTT CCC TGT C [T]	20	10	10	60	55		
	(P2) _{T0} : AGG CCC AGC AAG GAT GTA GT	20	11	9	62	57		
NOS3 A-922G	P1 ACC TTA TCC TCC ACT GCT TTT CAG	24	11	13	70	65	59	30
	P2-1 GCT GGG GTT TGT AGT TGC G [T]	21	12	9	66	61		
	P2-2 GCT GGG GTT TGT AGT TGC G [C]	21	13	8	68	63		

1.2.2.2 NOS3 T-786C SNP 与 NOS3 G894T 以及 NOS3 A-922G SNP 检测方法^[10] 利用套式等位基因特异性引物 PCR(nested allele-specific primer, NASP-PCR)技术检测 NOS3 T-786C SNP 与 NOS3 G894T SNP,并利用单一等位基因特异性引物 PCR

(single allele-specific primer, SASP-PCR)技术检测 NOS3 A-922G SNP 等位基因型。具体方法参见文献^[10]。

1.2.2.3 PCR 反应条件及体系 PCR 反应条件及其反应体系如表 2、表 3。

表 2 PCR 反应条件
Table 2 PCR reaction conditions

单核苷酸 多态性位点 SNP site	产物长度 Product length	预变性 Predenaturation	变性 Denaturation	退火 Annealing	延伸 Extension	循环数 Cycle number
NOS3 T-786C	387 bp (C: 176 bp, T: 250bp)	96°C hot start	94°C 30 s	60°C 30 s	72°C 30 s	40
NOS3 A-922G	239 bp	95°C 3 min	94°C 30 s	59°C 30 s	72°C 30 s	40
NOS3 G894T	206 bp(G: 141 bp, T: 107 bp)	95°C 5 min	94°C 30 s	63°C 30 s	72°C 30 s	40

表 3 PCR 反应体系
Table 3 PCR reaction systems

单核苷酸 多态性位点 SNP site	双蒸水 ddH ₂ O	缓冲液 Buffer	氯化镁 MgCl ₂	脱氧核苷酸 dNTP	上游引物 Upstream primer	下游引物 Downstream primer	野生型等位基因 特异性引物 Wildtype allele specific primer(μmol/L)	突变型等位基因 特异性引物 Mutated allele specific primer(μmol/L)	Taq 酶 Taq polymerase (U)	模板 DNA Template DNA (ng)
NOS3T-786C	*	2	1.5	200	0.125	0.125	0.5	0.5	0.5	100
NOS3 A-922G	*	2	1.5	200	0.25		0.25	0.25	0.5	100
NOS3 G894T	*	2	1.5	200	0.125	0.125	0.5	0.5	0.5	100

* :加至总体积为 20 个微升。

* :add the whole volume up to 20 μL.

检测 NOS3 T-786C 与 NOS3 A-922G SNP 的 PCR 反应中所用 Taq 酶为 EX Taq 酶由中国大连宝生物有限公司提供。NOS3 G894T 的 PCR 反应中所用 Taq 酶为 Hotstart Taq 酶由中国天为时代 (Times) 生物有限公司提供。

1.3 资料分析方法

利用聚类分析法对每个 SNP 位点的等位基因, 分别进行组合分析, 获得每个组合等位基因的分布频数、频率。在对性别资料进行分析时, 先对获得每个组合等位基因进行组内聚类, 再分男女进行聚类分析。

采用分类资料相关分析, 以 $P < 0.05$ 作为统计学差异的判别标准。数据处理和图表绘制主要在 MS-OFFICE2000 的 EXCEL 软件下完成。

2 结果

2.1 汉族高血压病人群与正常人群 NOS3 基因的 3 个位点 SNP 的等位基因型及其等位基因单倍型分布

高血压病组与对照组 NOS3 G894T 各基因型 GG、GT、TT 及其 G、T 等位基因单倍型频率比较无显著性差异 ($P > 0.05$), 高血压病组与对照组 NOS3A-922G 各基因型分布 AA、AG、GG 及其 A、G

等位基因单倍型频率比较无显著性差异 ($P > 0.05$), 高血压病组与对照组 NOS3 T-786 C 各基因型分布 TT、TC、CC 及其等位基因单倍型频率比较无显著性差异 ($P > 0.05$), 其余见表 4。按性别分层研究, 无论在男亚组还是在女亚组中, 其高血压病组与对照组的 NOS3 G894T、NOS3A-922G 及 NOS3 T-786 C 各基因型及其等位基因单倍型频率比较均无显著性差异 ($P > 0.05$), 其余见表 4。

2.2 汉族高血压病人群与正常人群 3 种 NOS3 SNP 的组合基因型分布

192 例高血压病人群与 122 例正常人群中, 前 10 位组合基因型分别为 NOS3 G894T + A-922A + T-786T, NOS3 G894G + A-922A + T-786T, NOS3 G894T + A-922G + T-786T, NOS3 G894G + A-922A + T-786C, NOS3 G894T + A-922A + T-786C, NOS3 G894G + A-922G + T-786T, NOS3 G894T + A-922G + T-786C, NOS3 G894G + A-922G + T-786C, NOS3 G894G + A-922G + C-786C。比较发现高血压病组 NOS3 G894G + A-922G + T-786T 组合基因型频率较正常对照组高, 有显著性差异 ($P < 0.05$, $\chi^2 = 4.5944$), 其余组合基因型分布频率无显著性差异 ($P > 0.05$), 其余见表 5。

表 4 高血压病组与正常对照组的 NOS3 3 位点 SNP 等位基因频率分布

Table 4 Allele frequency distribution in three SNPs of NOS3 in the healthy vs. hypertensive Han nationality groups

高血压病组 Hypertension group						
等位基因型 Allele genotype	总体 Total	全样本频率 Frequency of total sample(%)	女亚组 Female subgroup	女亚组频率 Frequency of female subgroup (%)	男亚组 Male subgroup	男亚组频率 Frequency of male subgroup(%)
NOS3 G894G	76	39.58	42	43.30	34	35.79
NOS3 G894T	89	46.35	43	43.30	46	49.47
NOS3 T894T	27	14.06	13	13.40	14	14.74
NOS3 A-922A	98	51.40	48	48.45	50	53.68
NOS3 A-922G	75	39.06	43	44.33	32	33.68
NOS3 G-922G	19	9.90	7	7.22	12	12.64
NOS3 T-786T	113	58.85	62	63.92	51	53.68
NOS3 T-786C	48	25.00	18	18.56	30	31.58
NOS3 C-786C	31	16.15	17	17.53	14	14.74
正常对照组 Healthy group						
等位基因型 Allele genotype	总体 Total	全样本频率 Frequency of total sample(%)	女亚组 Female subgroup	女亚组频率 Frequency of female subgroup (%)	男亚组 Male subgroup	男亚组频率 Frequency of male subgroup(%)
NOS3 G894G	46	38.52	17	36.96	29	38.16%
NOS3 G894T	53	43.44	18	39.13	35	46.05
NOS3 T894T	23	18.85	11	23.91	12	15.79
NOS3 A-922A	62	50.82	24	52.17	38	50.00
NOS3 A-922G	40	32.79	17	36.96	23	30.26
NOS3 G-922G	20	16.39	5	10.87	15	19.74
NOS3 T-786T	61	50.00	25	54.35	36	47.37
NOS3 T-786C	41	33.61	18	39.13	23	30.26
NOS3 C-786C	20	16.39	3	6.52	17	22.37

表 5 汉族高血压病人群与正常人群 NOS3 3 种 SNP 的组合基因型分布

Table 5 Distribution of genotype combination in 3 SNPs of NOS3 in healthy vs. hypertensive Han nationality groups

组合基因型 Combination genotype				正常汉族人群组 Healthy group						高血压病组 Hypertension group					
NOS3 G894T	NOS3 T-786C	NOS3 A-922G	总体 Total	总体 (%)	女亚组 Female subgroup	女亚组 (%)	男亚组 Male subgroup	男亚组 (%)	总体 Total	总体 (%)	女亚组 Female subgroup	女亚组 (%)	男亚组 Male subgroup	男亚组 (%)	
1	GT	AA	TT	17	13.93	5	10.86	12	15.79	26	13.54	9	9.28	17	17.89
2	GG	AA	TT	14	11.48	5	10.86	9	11.84	26	13.54	15	15.46	11	11.58
3	TT	AA	TT	3	2.46	2	4.34	1	1.32	7	3.65	4	4.12	3	3.15
4	GT	AG	TT	9	7.38	6	13.04	3	3.95	19	9.90	13	13.40	6	6.32
5	GG	AG	TT	5	4.10*	2	4.34	3	3.95	21	10.94*	13	13.40	8	8.42

续表 5

组合基因型				正常汉族人群组						高血压病组					
Combination genotype				Healthy group						Hypertension group					
NOS3 G894T	NOS3 T-786C	NOS3 A-922G	总体 Total	女亚组		男亚组		总体 Total	女亚组		男亚组				
				(%)	Female subgroup	(%)	Male subgroup		(%)	Female subgroup	(%)	Male subgroup			
6	GT	AA	TC	8	6.56	4	8.70	4	5.26	15	7.81	8	8.25	7	7.37
7	GT	AG	TC	4	3.28	1	2.17	3	3.95	9	4.69	3	3.09	6	6.32
8	GG	AG	TC	7	5.74	4	8.70 [△]	3	3.95	4	2.08	0	0 [△]	4	4.20
9	GG	AG	CC	5	4.10	1	2.17	4	5.26	6	3.13	5	5.15	1	1.05
10	GT	GG	TT	5	4.10	1	2.17	4	5.26	5	2.60	2	2.06	3	3.15
11	GG	AA	TC	8	6.56	4	8.70	4	5.26	6	3.13	3	3.09	3	3.15
12	TT	AA	TC	5	4.10	2	4.34	3	3.95	3	1.56	2	2.06	1	1.05
13	TT	AG	TT	4	3.28	2	4.34	2	2.64	6	3.12	3	3.09	3	3.15
14	GT	AG	CC	3	2.46	0	0	3	3.95	5	2.60	4	4.12	1	1.05
15	GG	AA	CC	3	2.46	0	0	3	3.95	5	2.60	3	3.09	2	2.10
16	GT	AA	CC	3	2.46	1	2.17	2	2.64	8	4.17	3	3.09	5	5.26
17	GG	GG	TC	2	1.64	0	0	2	2.64	3	1.56	0	0	3	3.15
18	GG	GG	TT	2	1.64	1	2.17	1	1.32	1	0.52	1	1.03	0	0
19	GG	GG	CC	0	0	0	0	0	0	4	2.08	2	2.06	2	2.10
20	GT	GG	TC	3	2.46	0	0	3	3.95	2	1.04	0	0	2	2.10
21	GT	GG	CC	1	0.82	0	0	1	1.32	0	0	0	0	0	0
22	TT	AG	CC	2	1.64	0	0	2	2.64	1	0.52	0	0	1	1.05
23	TT	GG	TT	2	1.64	1	2.17	1	1.32	2	1.04	2	2.06	0	0
24	TT	GG	TC	3	2.46	2	4.34	1	1.32	2	1.04	0	0	2	2.10
25	TT	AA	CC	1	0.82	1	2.17	0	0	2	1.04	0	0	2	2.10
26	TT	GG	CC	2	1.64	0	0	2	2.64	0	0	0	0	0	0
27	TT	AG	TC	1	0.82	1	2.17	0	0	4	2.08	2	2.06	2	2.10
Total				122		46		76		192		97		95	

* : $P < 0.05$; Δ : $P < 0.01$.

97 例男性高血压病人群与 76 例男性正常人群中,前 10 位的上述 SNP 的组合基因型分布分别为: NOS3 G894T + A-922A + T-786T, NOS3 G894G + A-922A + T-786T, NOS3 G894T + A-922G + T-786T, NOS3 G894G + A-922A + T-786C, NOS3 G894T + A-922A + T-786C, NOS3 G894G + A-922G + T-786T, NOS3 G894T + A-922G + T-786C, NOS3 G894T + G-922G + T-786T, NOS3 G894G + A-922G + T-786C, NOS3 G894G + A-922G + C-786C。其结果显示:在男亚组中高血压病组与正常对照组中上述组合基因型分布频率比较无显著性差异性($P > 0.05$),其余见表 5。

95 例女性高血压病人群与 46 例女性正常人群中,前 10 位的上述 SNP 的组合基因型分布排序分别为: NOS3 G894T + A-922A + T-786T, NOS3 G894G + A-922A + T-786T, NOS3 G894T + A-922G + T-786T, NOS3 G894G + A-922AT-786C, NOS3 G894T + A-922A + T-786C, NOS3 G894G + A-922G + T-786T, NOS3 G894T + A-922G + T-786C, NOS3 G894T + G-922G + T-786T, NOS3 G894G + A-922G + T-786C, NOS3 G894G + A-922G + C-786C。其结果显示:在女亚组中高血压病组 NOS3 G894G + A-922G + T-786C 组合基因型频率较正常对照组低,有

显著性差异($P < 0.01$, $\chi^2 = 8.502$),其余组合基因型分布频率无显著性差异性($P > 0.05$),其余见表5。

3 讨论

一氧化氮(nitric oxide, NO)在心血管系统具有维持血管张力、调节血压,抑制血管平滑肌细胞迁移、增生,抑制血小板聚集与白细胞对血管壁的黏附、调节影响心肌收缩与舒张功能的作用,并在影响心率变异性与心脏重塑调节方面起重要作用^[11,12]。Wang等^[13]研究报导体内NO水平变化,有30%是受NOS基因多态性影响的,这说明NO、NOS对疾病的影响有可能是通过NOS基因多态性调控来实现的。

关于NOS3的SNP的研究都限于分别研究单一位点的SNP分布及其与心血管系统功能和疾病的易感性的关系。如Minushkina等^[14]研究发现NOS3(Glu298Asp, G894T)的Glu298(G894)等位基因与高血压左室肥厚有相关性,而NOS3 4a等位基因与其左室舒张功能障碍有关,该研究却未分析其组合分布与高血压病的相关性。Fatini等^[15]研究意大利人NOS3基因G894T、4a/4b和T-786C多态性与急性冠脉综合征关系时发现NOS3 4a/4a纯合子基因型是急性冠脉综合征的易患因素;并发现在携带NOS3 4a/4a纯合子基因型人群中,NOS3 C-786C基因型更增加其发生急性冠脉综合征的易感性。Park等^[16]研究韩国人NOS3 G894T、NOS3 4a/4b基因多态性与急性冠脉综合征相关性时,发现NOS3 4a/4b基因多态性的non-BB(AA+AB)基因型是防止发生急性冠脉综合征的一种保护因素;在NOS3 non-BB+GG基因型组中急性冠脉综合征病人百分比明显低于NOS3 BB+non-GG基因型组,这就提示除non-BB基因型之外NOS3基因多态性的GG基因型起着一种的有益作用。Gomma等^[17]报道在冠心病人中,同时有NOS3基因的298Asp和-786C突变等位基因的患者发生冠脉支架内再狭窄率更高。但同期亦有相反的报导,如Benjafield等^[6]研究报道NOS3 Asp298等位基因与NOS3 4a可变重复序列等位基因频率在高血压病与健康人之间无差别;Tsujita等^[8]也报道NOS3 Glu298Asp和/或T-786C多态性的基因型在高血压组与非高血压病组之间无差别,但上述研究并未分析其组合分布与高血压的相关性。Amoli等^[18]研究NOS3 G894T、NOS 34a/4b与NOS3 T-786C基因

单倍型与巨细胞动脉炎关系时,并未发现NOS3基因多态性的单个位点等位基因频率在巨细胞动脉炎病人组与对照组之间有差异性,然而评估NOS3 3个位点基因多态性组合单倍型频率时,则发现在巨细胞动脉炎病人中C/1/T组合单倍型频率较对照组明显增高而其C/1/G组合单倍型频率较对照组显著降低,这提示研究NOS3基因多态性与疾病的关系分析其组合单倍型较单个位点单倍型更有实际意义。

本研究发现中国汉族人群高血压病与正常对照组NOS3 G894T、NOS3 A-933G、NOS3 T-786C SNP的等位基因组合分布规律,其前10位:(1)高血压病组依次为:NOS3 G894T+A-922A+T-786T, NOS3 G894G+A-922A+T-786T, NOS3 G894G+A-922G+T-786T, NOS3 G894T+A-922G+T-786T, NOS3 G894T+A-922A+T-786C, NOS3 G894T+A-922G+T-786C, NOS3 G894G+A-922A+T-786C, NOS3 G894G+A-922G+C-786C, NOS3 G894T+G-922G+T-786T和NOS3 G894G+A-922G+T-786C。(2)正常对照组依次为:NOS3 G894T+A-922A+T-786T, NOS3 G894G+A-922A+T-786T, NOS3 G894T+A-922G+T-786T, NOS3 G894G+A-922A+T-786C, NOS3 G894T+A-922A+T-786C, NOS3 G894G+A-922G+T-786C, NOS3 G894G+A-922G+T-786T, NOS3 G894G+A-922G+C-786C, NOS3 G894G+A-922G+T-786T和NOS3 G894T+A-922G+T-786C。上述两组人群中NOS3 3个位点等位基因组合分布频率排序除前两位排序相似外,其余各等位基因组合分布排序及其频率存在不同程度差异性;两组分布频率比较:发现高血压病组NOS3 G894G+A-922G+T-786T组合基因型总体频率高于正常对照组有统计学上的差异性,而按性别分层研究却未发现在高血压病男性与女性亚组中NOS3 G894G+A-922G+T-786T组合基因型频率与正常对照亚组之间有差异,这就提示研究组合基因型分布特征与疾病相关性时需注意性别差异的影响。如余运贤等^[19]在研究中国原发性高血压患者 α -Adducin基因单核苷酸多态性(Gly460Trp)与血清胆红素含量相关性时,也发现女性患者Trp/Trp基因型与低的血清胆红素含量有直接关系,而在男性患者没有发现任何明显的相关性,这也证实基因多态性与高血压病的相关性还存在性别差异的影响。

本研究还发现中国汉族人群 NOS3 G894G + A-922G + T-786C 组合基因型分布频率在高血压病女性亚组较正常对照女性亚组明显减低,在统计学有显著性,提示携带该组合基因型女性人群可能不易患高血压病。即说明该组合基因型对女性人群的患高血压病可能具有保护作用。

参考文献(References):

- [1] XIE Zheng-Xiang, NIU Yong-Hong, MA Hou-Xun, LI Zhang-Yong. Genotypes distribution of single nucleotide polymorphisms of three subtypes of Beta-adrenergic receptor gene. *Journal of Chongqing Medical University*, 2003, 28(6): 707~711.
谢正祥,牛永红,马厚勋,李章勇. Beta 肾上腺素能受体 3 种亚型基因的 5 位点 SNP 的基因型分布. 重庆医科大学学报, 2003, 28(6): 707~711.
- [2] Yasujima M, Tsutaya S, Shoji M. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and hypertension. *Rinsho Byori*, 1998, 46(12): 1199~1204.
- [3] Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, Yoshimura M, Shimasaki Y, Nakayama M, Kamitani S, Harada M, Ishikawa M, Kuwahara K, Ogawa E, Hamanaka I, Takahashi N, Kaneshige T, Teraoka H, Akamizu T, Azuma N, Yoshimasa Y, Yoshimasa T, Itoh H, Masuda I, Yasue H, Nakao K. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. *Hypertens*, 1998, 32(1): 3~8.
- [4] DI Qun, ZHAN Yi-Yang, CHENG Wen-Lin, DING Xiao-Jian. The relationship of endothelial NOS Glu298Asp polymorphism with essential hypertension in the aged. *Chinese General Practice*, 2002, 5(5): 355~357.
狄群,占伊扬,程蕴琳,丁小建. 老年人群血管 eNOS 基因 Glu298Asp 多态性与原发性高血压病的关系. 中国全科医学, 2002, 5(5): 355~357.
- [5] Kato N, Sugiyama T, Morita H, Nabika T, Kurihara H, Yamori Y, Yazaki Y. Lack of evidence for association between the endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension. *Hypertension*, 1999, 33(4): 933~936.
- [6] Benjafield A V, Morris B J. Association analyses of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms in essential hypertension. *Am J Hypertens*, 2000, 13(9): 994~998.
- [7] Hyndman M E, Parsons H G, Verma S, Bridge P J, Edworthy S, Jones C, Lonn E, Charbonneau F, Anderson T J. The T-783 → C mutation in endothelial nitric oxide synthase is associated with hypertension. *Hypertension*, 2002, 39(4): 919~922.
- [8] Tsujita Y, Baba S, Yamauchi R, Mannami T, Kinoshita M, Yamamoto R, Katsuya T, Higaki J, Ogihara T, Ogata J, Iwai N. Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: The Suita study. *J hypertens*, 2001, 19(11): 1941~1948.
- [9] Kajiyama N, Saito Y, Miyamoto Y, Yoshimura M, Nakayama M, Harada M, Kuwahara K, Kishimoto I, Yasue H, Nakao K. Lack of association between T-786 → C mutation in the 5'-flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene and essential hypertension. *Hypertens Res*, 2000, 23(6): 561~565.
- [10] MA Hou-Xun, XIE Zheng-Xiang, NIU Yong-Hong, LI Zhang-Yong. Genotype combination distribution and frequency distribution of three single nucleotide polymorphisms of nitric oxide synthase in the Chinese Han nationality population. *Chinese Journal of Gerontology*, 2004, 24(12): 1137~1140.
马厚勋,谢正祥,牛永红,李章勇. 中国汉族人群 NOS3 基因启动子区 T-786C、A-922G 与第 7 外显子 G894T 多态性等位基因及其组合分布. 中国老年学, 2004, 24(12): 1137~1140.
- [11] Saqib CHOWDHARY, G Andre N G, Sarah L NUTTALL, John H COOTE, Hamish F ROSS, Jonathan N TOWNEND. Nitric oxide and cardiac parasympathetic control in human heart failure. *Clinical Science*, 2002, 102: 397~402.
- [12] Yun-He Liu, Jiang Xu, Xiao-Ping Yang, Fang Yang, Edward Shesely, Oscar A Carretero. Effect of ACE inhibitors and angiotensin II Type 1 receptor antagonists on endothelial NO synthase knockout mice with heart failure. *Hypertension*, 2002, 39: 375~381.
- [13] Wang X L, Mahaney M C, Sim A S, Wang J, Wang J, Blangero J, Almasy L, Badenhop R B, Wilcken D E. Genetic contribution of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17(11): 3147~3153.
- [14] Minushkina L O, Zateishchikov D A, Zateishchikova A A, Zotova I V, Kudriashova O Y, Nosikov V V, Sidorenko B A. NOS3 gene polymorphism and left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension. *Kardiologija*, 2002, 42(3): 30~34.
- [15] Fatini C, Sofi F, Sticchi E, Gensini F, Gori A M, Fedi S, Lapini I, Rostagno C, Comeglio M, Brogi D, Gensini G, Abbate R. Influence of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (G894T, 4a4b, T-786C) and hyperhomocysteinemia on the predisposition to acute coronary syndromes. *Am Heart J*, 2004, 147(3): 516~521.
- [16] Park K W, You K H, Oh S, Chae I H, Kim H S, Oh B H, Lee M M, Park Y B. Association of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene polymorphism with acute coronary syndrome in Koreans. *Heart*, 2004, 90(3): 282~285.
- [17] Gomma A H, Elrayess M A, Knight C J, Hawe E, Fox K M, Humphries S E. The endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp and 786T>C) gene polymorphisms are associated with coronary in-stent restenosis. *Eur heart J*, 2002, 23(24): 1955~1962.
- [18] Amoli M M, Garcia-Porrúa C, Llorca J, Ollier W E, Gonzalez-Gay M A. Endothelial nitric oxide synthase haplotype associations in biopsy-proven giant cell arteritis. *J Rheumatol*, 2003, 30(9): 2019~2022.
- [19] YU Yun Xian, Scott A Venner, NIU Tian-Hua, CHEN Chang-Zhong, HUANG Ai-Qun, ZHANG Yan, FENG Yan, LI Dong, XING Hou-Xun, WU Di, PENG Shao-Jie, XU Xi-Ping. Significant association of the α-Adducin gene Gly460Trp polymorphisms with serum bilirubin concentrations in Chinese essential hypertension patients. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(9): 941~949.
余运贤, Scott A Venner, 牛天华, 陈常中, 黄爱群, 张岩, 冯雁, 李栋, 邢厚询, 吴迪, 彭少杰, 徐希平. 原发性高血压患者 α-Adducin 基因单核苷酸多态性 (Gly460Trp) 与血清胆红素含量相关性. 遗传学报, 2004, 31(9): 941~949.