

髓过氧化物酶-463G/A 基因多态性与彝族原发性高血压的相关性

马承娅¹⁾, 杨江¹⁾, 陈曦¹⁾, 徐茜¹⁾, 尹丕轩¹⁾, 舒芯²⁾, 彭红瑜²⁾, 范志祥²⁾, 龙莉²⁾
(1)昆明医科大学基础医学院; 2)细胞生物学和医学遗传学系, 云南昆明 650500)

[摘要] **目的** 研究髓过氧化物酶(MPO)-463G/A 基因的多态性与云南彝族原发性高血压(EH)的相关性。**方法** 应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RELP)技术, 检测 2007 年 1 月至 2008 年 11 月由昆明医科大学第一附属医院采自云南省双河乡彝族高血压患者(EH 组, $n = 86$)和彝族正常人(对照组, $n = 100$)的 MPO-463G/A 基因多态性, 并计算 GG、GA、AA 基因型频率及 G、A 基因频率, 再进行关联分析。**结果** 在 EH 组和对照组中, MPO 基因-463G/A 多态的基因型频率 GG 为 66.28%、52.00%, GA+AA 为 33.72%、48.00%, 等位基因 G 频率为 79.65%、69.50%, 等位基因 A 频率为 20.35%、30.50%, 2 组基因型频率和基因频率分别相比, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。彝族女性 EH 组和女性对照组中 GG 和 GA+AA 基因型频率分别为 74.50%、49.30% 和 25.50%、50.70%, 等位基因 G 和 A 的频率分别为 85.50%、69.00% 和 14.50%、31.00%, 2 组基因型频率和基因频率分别相比, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$), EH 组 A 基因频率明显低于对照组。彝族男性 EH 组和男性对照组的基因型频率和基因频率分别比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** MPO 基因-463G/A 多态与云南彝族女性原发性高血压具有相关性, 是彝族女性高血压的易感基因。该位点 A 基因的表达在彝族女性 EH 的发生过程中起保护性作用。

[关键词] 髓过氧化物酶; 原发性高血压; 彝族; 基因多态性

[中图分类号] R544.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X(2024)04 - 0057 - 05

Association between Myeloperoxidase-463G/A Gene Polymorphism and Essential Hypertension in Yi Nationality

MA Chengya¹⁾, YANG Jiang¹⁾, CHEN Xi¹⁾, XU Xi¹⁾, YIN Pixuan¹⁾, SHU Xin²⁾,
PENG Hongyu²⁾, FAN Zhixiang²⁾, LONG Li²⁾

(1) School of Basic Medicine; 2) Dept. of Cell Biology and Medical Genetics, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** To study the correlation between the polymorphism of myeloperoxidase-463G/A gene and essential hypertension of Yi nationality in Yunnan Province. **Methods** The PCR-RFLP technique was used to detect the MPO-463G/A gene polymorphism in 86 Yi hypertensive patients and 100 normal Yi people in Shuanghe Township and Yunnan Province collected by the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University from January 2007 to November 2008. The frequencies of the GG, GA, and AA genotypes and the G and A allele frequencies were calculated, followed by association analysis. **Results** The genotype frequencies of MPO gene-463G/A polymorphism in EH group and control group GG were 66.28%, 52.00%, GA+AA were 33.72%, 48.00%, respectively. The frequencies of allele G were 79.65% and 69.50%, and the frequencies of allele A were 20.35% and 30.50%, respectively. There were statistically significant differences in genotype frequency and gene frequency between the two groups ($P < 0.05$). The genotype frequencies of GG and GA+AA were 74.50% and 49.30% in female EH group and 25.50% and 50.70% in female control group. The allele frequencies of G and A were 85.50% and

[收稿日期] 2023 - 09 - 23

[基金项目] 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目 [2019FE001-021; 2018FE001(-188)]; 昆明医科大学大学生创新性实验计划基金资助项目(2022JXD300)

[作者简介] 马承娅(2001~), 女, 云南普洱人, 在读本科生。

[通信作者] 龙莉, E-mail: longli@kmmu.edu.cn

69.00% in EH group and 14.50% and 31.00% in control group. The differences were statistically significant ($P < 0.05$). The frequency of A gene in female EH group was significantly lower than that in female control group. There was no significant difference in genotype frequency and gene frequency between EH group and control group in Yi male ($P > 0.05$). **Conclusion** MPO gene-463G/A polymorphism is related to essential hypertension in Yunnan Yi women and is a susceptibility gene for hypertension in Yi women. The expression of the A allele at this locus has a protective effect during the development of EH in Yi women.

[**Key words**] Myeloperoxidase; Essential hypertension; The Yi nationality; Gene polymorphism

原发性高血压 (essential hypertension, EH) 是一种以动脉血压升高为特征的慢性疾病^[1], 持续威胁着中老年人的生命健康。在全球范围内, EH 都有着很高的发病率和死亡率, 2018 年我国高血压患者已达 2.45 亿人^[2]。髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 被认为是一个独立且意义重大的心血管疾病监测指标^[3], 近年来有较多研究表明其在血管损伤方面以及高血压的发展中起到重要作用, 甚至有科学家在综合众多研究结果后, 认为其可以预测心血管疾病的患病风险、死亡率。有研究表明, MPO-463G/A 基因的多态性与高血压的发生具有较高相关性, 但对于 MPO 基因-463G/A 多态位点与彝族高血压的相关性, 国内外未见报道。

本研究旨在通过 PCR-RFLP 技术检测云南彝族 EH 组和对照组的 MPO 基因-463G/A 多态性, 从而进行关联分析并探讨其与云南彝族原发性高血压是否相关, 为能否将该位点作为判断云南彝族原发性高血压易感性的标记提供依据, 进一步阐明彝族高血压的发病机制。

1 资料与方法

1.1 研究对象

所有样本于 2007 年 1 月至 2008 年 11 月采自云南省昆明市晋宁县双河乡的 186 名彝族居民, 根据是否患有 EH 分为彝族高血压组 (EH 组, $n = 86$) 和正常对照组 (对照组, $n = 100$)。

该研究高血压诊断标准: 所有研究对象平静状态下, 由不同医师连续 3 次测血压后取平均值, 收缩压 ≥ 140 mmHg ($1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$) 和 (或) 舒张压 ≥ 90 mmHg^[4] 即诊断为高血压。EH 组纳入标准: 血压测量后诊断为高血压者或正在接受高血压治疗者; 对照组纳入标准: 收缩压 < 140 mmHg, 舒张压 < 90 mmHg 者。排除标准: EH 组和对照组均已排除资料不全者及患有继发性高血压、心肌梗死等心血管疾病者, 排除糖尿病、肝功能异常者^[5]。所有受试对象对本研究知情同意。

1.2 观测指标

收集患者一般资料如年龄、性别、血压值、合并症、相关体检结果等, 按照前述排除和纳入标准分组后, 用所提取的 DNA 进行基因型检测, 比较 2 组基因型和基因频率差异, 分析 MPO-463G/A 基因多态性与原发性高血压的相关性。

1.3 实验方法

目的片段 PCR 扩增: 将研究对象的外周血 2 mL 通过 EDTA 抗凝, 基因组 DNA 在用酚-氯仿有机抽提法提取^[6]后置于 -80°C 保存。特异性扩增包含 MPO 基因-463G/A 位点的基因组 DNA 片段, PCR 反应总体系为 20 μL , 模板 DNA 1 μL , 上、下游引物各 1 μL (引物浓度 10 P, 序列: 上游引物 5' ---CGGTATAGGCACACAATGGTGAG---3'; 下游引物 5' ---GCAATGGTTCAAGCGATTCTTC---3'^[7]; 北京擎科生物技术有限公司), 1.1 \times T3 Super PCR MIX 17 μL 。PCR 扩增程序: 98°C , 2 min; 98°C , 10 s; 58°C , 15 s; 72°C , 30 s; 35 个循环, 72°C 终末延伸 2 min, 4°C 下保存。PCR 扩增结束后将扩增产物在以 Gold-view 染色的 3% 琼脂糖凝胶上电泳, DL 500 DNA marker 作对照, 在凝胶成像仪下观测结果。

基因型鉴别: RFLP 检验。酶切体系 20 μL : PCR 产物 10 μL , 限制性内切酶 AciI 0.2 μL (New England Biolabs 公司), cutsmart 2 μL , 双蒸水 7.8 μL 。在 37°C 下水浴酶切 15 min, 酶切产物在用 Gold-view 染色的 3% 琼脂糖凝胶上电泳, DL 500 bp DNA marker 作对照, 在凝胶成像仪 (美国 Bio-Rad Laboratories 公司, 型号 Gel Doc XR+, 配有 Image Lab™ 软件) 下观察并保存酶切结果, 判读基因型。

1.4 统计学处理

Hardy-Weinberg 遗传平衡定律用于检测研究样本的群体代表性。该研究采用 SPSS27.0 软件进行数据分析, 各组基因型及等位基因频率之间的比较采用四格表 χ^2 检验。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验比较 2 组间均数的差异。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况

本次研究对象共 186 例, 其中 EH 组 86 例, 对照组 100 例, 所有对象均是彝族且长期生活在双河乡。其中 EH 组年龄 29~88 岁, 平均(55.92 ± 13.58)岁, 其中 40~69 岁人数最多(69.77%), 男性 31 例, 女性 55 例; 对照组年龄 29~81 岁, 平均(51.84 ± 15.04)岁, 其中 30~59 岁人数最多(62.00%), 男性 29 例, 女性 71 例。

2.2 一般临床指标比较

对照组与 EH 组间年龄比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 性别比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

2.3 Hardy-Weinberg 平衡检测

检测 MPO 基因 463-G/A 多态性在对照组和 EH 组中的分布, 均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($\chi^2 = 3.047, P = 0.081$; $\chi^2 = 2.635, P = 0.104$), 具有群体代表性。

表 1 EH 组和对照组一般临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of the general clinical data between EH and control group ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	年龄(岁)	男:女(n)
EH组	86	55.92 ± 13.58	31 : 55
对照组	100	51.84 ± 15.04	29 : 71
t/χ^2		-1.928	1.051
P		0.055	0.305

2.4 MPO 基因-463G/A 位点多态性

检测 PCR 特异性扩增产物为 350 bp 片段, 见图 1, 扩增产物用 Aci I 酶切。由于位于 MPO 基因启动子区域的-463 位点存在 G/A 多态性, 当-463 位点从 G 变为 A 后, 产生了新的 Aci I 的酶切位点-CCGC, 经 Aci I 内切酶消化后, 等位基因 G 被切开产生 169 bp、120 bp 和 61 bp 片段, 等位基因 A 被切开产生 289 bp 片段和 61 bp 片段, 所以酶切结果为: GG 基因型为 169 bp、120 bp 和 61 bp 共 3 个片段, GA 基因型为 289 bp、169 bp、120 bp 和 61 bp 共 4 个片段, AA 基因型为 289 bp 和 61 bp 共 2 个片段, 由于 61 bp 片段过小很难被琼脂糖凝胶电泳检测到, 故胶图中不展示 61 bp 条带, 见图 2

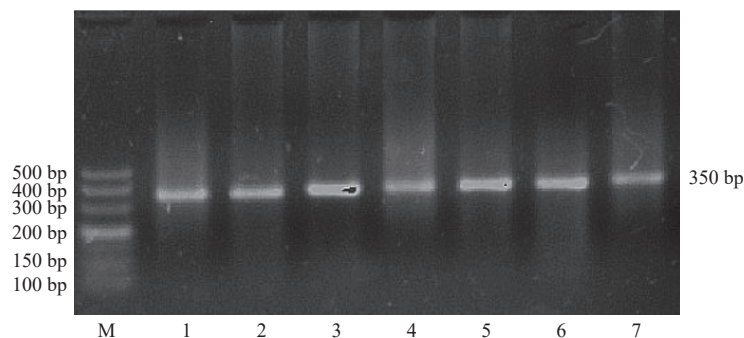


图 1 基因组 DNA PCR 扩增结果

Fig.1 Results of PCR amplification of genomic DNA

M 表示 Marker; 1~7 表示 1~7 号样本的 PCR 扩增产物。

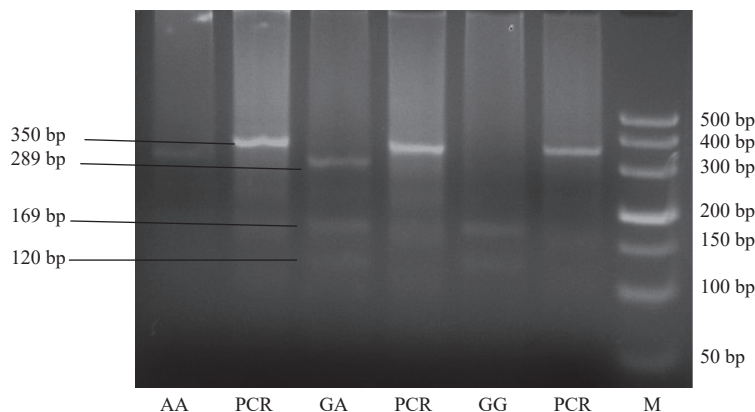


图 2 MPO 基因-463G/A 多态酶切结果

Fig.2 Results of MPO gene-463G/A polymorphism digestion

PCR 表示 PCR 扩增产物; AA、GA、GG 表示各基因型; M 表示 Marker。

2.5 MPO 基因-463G/A 基因多态性在云南彝族 EH 组与对照组中的分布比较

EH 组与对照组间 GG 和 GA+AA(由于 GA 和 AA 基因型样本例数较少,为使统计结果更为准确,所以对其进行合并处理)基因型频率及 G、A 基因频率分布差异均具有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。同时在男性群体和女性群体中分别计算,女性的基因型频率与等位基因频率分布差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 2 云南省彝族人群中 MPO 基因-463G/A 位点的基因型及等位基因频率比较 [n(%)]

Tab. 2 Comparison of genotype and allele frequency of MPO gene-463G/A locus in Yi people of Yunnan Province [n(%)]

组别	基因型			等位基因		
	n	GG	GA+AA	n	G	A
EH组	86	57(66.28)	29(33.72)	172	137(79.65)	35(20.35)
对照组	100	52(52.00)	48(48.00)	200	139(69.50)	61(30.50)
总计	186	109(58.60)	77(41.40)	372	276(74.19)	96(25.81)
χ^2	3.866			4.977		
P	0.049*			0.026*		

* $P < 0.05$ 。

表 3 男、女性 EH 组与对照组基因型分布和等位基因比较 [n(%)]

Tab. 3 Comparison of genotype distribution and alleles between male and female EH groups and control group [n(%)]

组别	基因型			等位基因		
	n	GG	GA+AA	n	G	A
男性						
EH组	31	16(51.60)	15(48.40)	62	43(69.40)	19(30.60)
对照组	29	17(58.60)	12(41.40)	58	41(70.70)	17(29.30)
总计	60	33(55.00)	27(45.00)	120	84(70.00)	36(30.00)
χ^2	0.297			0.025		
P	0.586			0.873		
女性						
EH组	55	41(74.50)	14(25.50)	110	94(85.50)	16(14.50)
对照组	71	35(49.30)	36(50.70)	142	98(69.00)	44(31.00)
总计	126	76(60.32)	50(39.68)	252	192(76.19)	60(23.81)
χ^2	8.255			9.235		
P	0.004*			0.002*		

* $P < 0.05$ 。

3 讨论

MPO 是由中性粒细胞、单核细胞和某些组织

的巨噬细胞分泌的含血红素辅基的血红素蛋白酶,是血红素过氧化物酶超家族成员之一^[8]。近年来诸多研究显示 MPO 与冠状动脉疾病、脑卒中、心力衰竭、肾脏损伤疾病等多种炎症性疾病有关^[9-12],其发病机制大多涉及氧化应激、炎症反应、血管内皮损伤^[13]。同时也有研究显示,高血压与免疫、炎症反应和内皮损伤相关^[14-16]。因为 MPO 与各类炎症性疾病的发生发展具有一定的相关性,因此其在原发性高血压形成和发展中的机制也成为近年来的研究热点。

关于 MPO 基因,目前大多数研究者把研究重点放在 MPO-463G/A 多态性。现有研究表明 MPO-463G/A 基因的多态性与高血压的发生可能有较高相关性,例如:Kisic 等^[17]在研究年龄相关性白内障疾病的发生因素时发现,在高血压患者血浆中检测到的 MPO 活性明显高于非高血压患者。周白丽等^[18]在对青海省人民医院、玉树州人民医院的高血压患者及健康人进行不同海拔地区高血压患者 MPO 含量变化研究时,发现中、高海拔地区高血压患者血清 MPO 含量均高于同海拔正常对照组。方金瑞等^[19]在对甘肃省人民医院高血压患者与正常人进行 MPO 基因多态与 EH 遗传易感性研究时,发现 MPO 基因多态性与原发性高血压遗传易感性相关,并且发现正常人组中 A 等位基因频率明显高于高血压组。该研究通过检测云南省 86 例彝族原发性高血压患者和 100 例彝族健康人的 MPO 基因-463G/A 多态性,得到 MPO-463G/A 基因的多态性与云南彝族女性原发性高血压的发生有相关性的结果,这一结果与前面报道的结果一致。

近年来虽有众多研究人员的研究结果为 MPO 基因多态性与高血压相关,但在不同性别层面却结论不一。例如马慧元等^[20]对甘肃省人民医院门诊及住院患者的研究表明,相较于女性来说,该位点 463A 基因在男性的高血压形成中表现出更加明显的保护作用。Bushueva 等^[21]在俄罗斯人群中开展调查时发现 MPO-643GA 基因型可降低高血压发病风险,但仅在女性中作用明显。考虑到性别差异的影响,该研究也对彝族男性和女性分别进行了比较,结果显示,彝族女性高血压患者和彝族正常女性的基因型分布和基因频率有显著性差异($P < 0.05$),且 463A 等位基因频率在对照组高于 EH 组,该位点 A 基因的表达在 EH 的发生过程中对女性起保护作用;而男性高血压组与对照组的基因型分布和基因频率差异无统计学

意义($P > 0.05$)。

总之, 本研究认为 MPO 基因-463G/A 多态与云南彝族女性原发性高血压具有相关性, 是彝族女性高血压的易感基因。该位点 A 基因的表达在女性 EH 的发生过程中起保护性作用。但 EH 是一个由许多因素引起且不断发展的心血管疾病, 其发病机制较为复杂, 且本研究样本量较小, 也有可能致结果偏差。为了推进和完善云南彝族原发性高血压的防控工作, 今后需进一步探讨该基因多态性在高血压的发生机制中的作用, 并尽可能加大样本量, 以便得出更准确的结果。

[参考文献]

- [1] Wang J, Zhang L, Wang F, et al. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in China: Results from a national survey[J]. *Am J Hypertens*, 2014, 27(11): 1355-1361.
- [2] Wang Z, Chen Z, Zhang L, et al. Status of hypertension in China: Results from the China hypertension survey, 2012-2015[J]. *Circulation*, 2018, 137(22): 2344-2356.
- [3] 李欢, 冯磊, 方绕红, 等. 髓过氧化物酶在临床心血管疾病中的意义和研究展望[J]. *心血管病防治知识*, 2022, 12(3): 90-94.
- [4] 孙恕, 易松. 2023年《中国高血压防治指南》更新临床实践[J]. *心电与循环*, 2023, 42(3): 203-206, 212.
- [5] 彭红瑜, 范志祥, 张延洁, 等. CYP11B2基因-344C/T位点多态性在云南彝族人群中的分布[J]. *医学研究杂志*, 2021, 50(5): 121-124.
- [6] 莫艳萍, 张彦, 张红星, 等. ACE基因多态性与云南彝族原发性高血压的相关性研究[J]. *昆明医学院学报*, 2009, 30(9): 67-72.
- [7] London S J, Lehman T A, Taylor J A. Myeloperoxidase genetic polymorphism and lung cancer[J]. *Cancer Research*, 1997, 57: 5001-5003.
- [8] 潘世扬, 陈进步. Assessment of hepatocyte injury for hepatitis B patient by quantitative analysis of plasma DNA[C]. //第5届全国检验与临床学术会议暨国际检验与临床高峰论坛论文集, 2010, 188.
- [9] 毕玉华, 鞠卫萍, 迟晓妮, 等. 髓过氧化物酶与动脉粥样硬化的关系及在脑卒中应用的研究进展[J]. *检验医学与临床*, 2020, 17(14): 2096-2100.
- [10] 王英, 陈会霞. 髓过氧化物酶在心血管疾病诊断中的意义[J]. *中华临床实验室管理电子杂志*, 2019, 7(3): 165-168.
- [11] 席可, 吴嘉, 汪俊军. 髓过氧化物酶在慢性肾病患者中的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(24): 3086-3089.
- [12] 赵倩, 陈还珍. 髓过氧化物酶在心血管疾病中作用的研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2022, 20(6): 1021-1024.
- [13] 唐桦, 诸国华, 孙希鹏, 等. 髓过氧化物酶在高血压发病机制中作用的研究进展[J]. *中国心血管杂志*, 2019, 24(5): 481-483.
- [14] 陈植, 陈宋明. 高血压病的免疫机制研究进展[J]. *汕头大学学报(自然科学版)*, 2021, 36(1): 69-75.
- [15] 潘力行. 高血压病与炎症反应相关性的研究[J]. *中国医学创新*, 2014, 11(7): 43-45.
- [16] 张竞之, 贾会欣, 张汛, 等. 高血压病与血管内皮细胞损伤的相关性研究进展[J]. *华中医学杂志*, 2008, 32(5): 377-378.
- [17] Kisic B, Miric D, Zoric L, et al. Xanthine oxidase activity in patients with age-related cataract associated with hypertension[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2018, 51(5): e6129.
- [18] 周白丽, 苏晓灵, 刘彦民, 等. 不同海拔地区高血压病患者血清髓过氧化物酶、脑利钠肽含量变化[J]. *高原医学杂志*, 2011, 21(1): 11-13.
- [19] 方金瑞, 张支明, 马丽雅, 等. 髓过氧化物酶基因多态性与原发性高血压遗传易感性的研究[J]. *临床心血管病杂志*, 2009, 25(3): 202-204.
- [20] 马慧元, 马丽雅, 方金瑞, 等. 髓过氧化物酶-463G/A基因多态性与原发性高血压相关性研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2010, 20(23): 3580-3582, 3587.
- [21] Bushueva O, Solodilova M, Ivanov V, et al. Gender-specific protective effect of the-463G>A polymorphism of myeloperoxidase gene against the risk of essential hypertension in Russians[J]. *J Am Soc Hypertens*, 2015, 9(11): 902-906.