

• 基础实验研究论著 •

AGT 基因 rs1926723、rs699 及 rs4762 多态性与肺血栓栓塞症的相关性研究*

陈旭^{1,2}, 孙亮³, 肖飞³, 许小毛⁴, 方保民⁴, 郭健^{2,3△}

(1. 卫生部北京医院卫生部临床检验中心, 北京 100730; 2. 中国医学科学院北京协和医学院研究生院, 北京 100730; 3. 卫生部北京医院卫生部北京老年医学研究所, 北京 100730; 4. 卫生部北京医院呼吸与危重症医学科, 北京 100730)

摘要:目的 探讨中国汉族人血管紧张素原(AGT)基因 3 个常见变异位点 rs1926723、rs699 和 rs4762 与肺血栓栓塞症(PTE)易感性的关系。方法 将确诊的 95 例 PTE 患者作为 PTE 病例组,均来自无血缘关系的汉族人群;163 例健康人作为对照组。采集上述人员空腹静脉血 0.5 mL,用 BioChain 全血基因组 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA,紫外分光光度计定量。挑选 AGT 基因中次要等位基因频率(MAF) > 0.05 的 3 个常见单核苷酸多态性位点(rs1926723、rs699 和 rs4762),经聚合酶链反应(PCR)-Sanger 法测序验证,比较两组人员各位点基因型及等位基因分布频率的差异,通过 Haploview 4.2 软件分析其连锁不平衡性及单倍型与 PTE 的相关性。结果 AGT 基因 rs1926723(C/T)及 rs699(A/G)位点在 PTE 病例组和对照组间的分布均存在显著性差异($P < 0.05$);rs1926723 中 TT 基因型及 rs699 中 GG 基因型与 PTE 的发生呈负关联, $OR(95\%CI)$ 分别为 0.484(0.289~0.810)和 0.463(0.263~0.816);调整年龄、性别混杂前后,rs4762(G/A)位点在 PTE 病例组和对照组间的分布均无显著性差异($P > 0.05$)。PTE 病例组和对照组中 T-G-G 单倍型的分布存在显著性差异[$P < 0.05$, $OR(95\%CI)$: 0.493(0.342~0.710)]。结论 AGT 基因 rs1926723 及 rs699 位点的变异与 PTE 相关,rs1926723 中 TT 基因型携带、rs699 中 GG 基因型携带及单倍型 T-G-G 携带可预示较低的 PTE 发病风险。

关键词:血管紧张素原; 多态性,单核苷酸; 连锁不平衡; 肺血栓栓塞症

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)09-1057-03

A correlation research of rs1926723,rs699,rs4762 polymorphisms in AGT gene and pulmonary thromboembolism disease*

Chen Xu^{1,2}, Sun Liang³, Xiao Fei³, Xu Xiaomao⁴, Fang Baoming⁴, Guo Jian^{2,3△}

(1. National Center for Clinical Laboratories/Beijing Hospital, Ministry of Health, Beijing 100730, China; 2. Graduate School, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China; 3. Beijing Institute of Geriatric Medicine/Beijing Hospital, Ministry of Health, Beijing 100730, China; 4. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Beijing Hospital, Ministry of Health, Beijing 100730, China)

Abstract: **Objective** To elucidate the relationship of three common variation loci of angiotensinogen(AGT) gene (rs1926723, rs699 and rs4762) in Chinese Han people with pulmonary thromboembolic disease(PTE) susceptibility. **Methods** Ninety-five patients with confirmed PTE which had been selected from Chinese Han population without blood relationship served as PTE group, while 163 healthy people as control group. 0.5 mL of fasting venous blood was collected from above-mentioned people. Genomic DNA was extracted using BioChain whole blood genomic DNA extraction kit and quantified by ultraviolet spectrophotometer. Three common loci(rs1926723,rs699 and rs4762) with single nucleotide polymorphism and minor allele frequency over 0.05 in AGT gene were selected and sequenced by polymerase chain reaction(PCR)-Sanger method. Differences of genotypes of each locus and allele frequencies of people in the two groups were compared, and the correlation of their linkage disequilibrium and haplotype with PTE were analyzed by Haploview 4.2 software. **Results** Distributions of rs1926723(C/T) and rs699(A/G) in AGT gene of people between PTE group and control group showed significant difference($P < 0.05$). rs1926723 with genotype TT and rs699 with genotype GG were negatively related to PTE occurrence[$OR(95\%CI)$ were 0.484(0.289—0.810) and 0.463(0.263—0.816), respectively]. Distributions of rs4762(G/A) between PTE group and control group demonstrated no significant difference($P < 0.05$), while that of T-G-G hypotype between PTE group and control group exited significant difference[$P < 0.05$, $OR(95\%CI)$: 0.493(0.342—0.710)]. **Conclusion** rs1926723 and rs699 loci variation in AGT gene are associated with PTE, rs1926723 with genotype TT, rs699 with genotype GG and T-G-G hypotype can indicate the low risk of PTE onset.

Key words: angiotensinogen; polymorphism, single nucleotide; linkage disequilibrium; pulmonary thromboembolism

肺血栓栓塞症(pulmonary thromboembolism, PTE)是危害人民群众健康的常见疾病。PTE 是由来自静脉系统或右心的血栓阻塞肺动脉或其分支所致,流行病学资料显示其发病率

在千分之一以上,且每年患病人数约 60 万^[1];PTE 无特异性临床表现,不容易被及时诊断,其误诊率高达 60%,病死率可在 50%以上。随着临床对该疾病日益关注,发现除继发因素

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81071431);国家自然科学基金项目(81170050);北京市科技新星计划(Z121107002512058)。作者简介:陈旭(1987~),男,硕士研究生,主要从事人类复杂疾病遗传易感性的基础及临床应用研究。△ 通讯作者, E-mail: guojian@cma.org.cn。

外,遗传背景的差异也是 PTE 易感的主要原因^[2],所以从遗传角度去解释 PTE 易感性以及基因分子水平致病机制对 PTE 的早期预防、临床诊断与治疗有着举足轻重的作用。目前国内外对 PTE 的遗传学研究进展较慢,尤其缺乏系统性研究^[3]。血管紧张素原(angiotensinogen, AGT)基因是重要的候选基因之一,已有研究证实 AGT 基因多态性与高血压、糖尿病、脑梗死、冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)等多种疾病相关^[4-7],但涉及 AGT 基因和 PTE 的相关性研究却较为罕见,尤其缺乏中国人群的基础数据。因此,笔者基于前期对 AGT 基因新一代测序(next generation sequencing, NGS)数据所提示的 3 个常见单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)变异,在中国 PTE 患者及正常人群中进行了相关分析,旨在中国人群中评价 AGT 基因和 PTE 的关系,为 PTE 的预防及临床个体化诊疗提供理论依据及必要参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2008 年 11 月至 2012 年 3 月卫生部北京医院及北京朝阳医院呼吸科确诊的 PTE 患者 95 例作为 PTE 病例组,均来自无血缘关系的汉族人群,病例选择根据中华医学会呼吸病学分会 2001 年制定的《肺血栓栓塞症诊断和治疗指南(草案)》^[8],其中,男 44 例,女 51 例;平均年龄(53.8±16.2)岁。选择北京医院体检中心的 163 例健康人作为对照组,其中,男 82 例,女 81 例;平均年龄(50.2±13.6)岁;性别、年龄与 PTE 病例组匹配,既往无心脑血管、血液、内分泌、肝、肾疾病,且无深静脉血栓、PTE 病史。

1.2 基因组 DNA 提取及基因分型方法 采集上述 PTE 患者及健康者空腹静脉血 0.5 mL[乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)抗凝],用 BioChain 全血基因组 DNA 提取试剂盒(北京博尔诚科技有限公司)提取基因组 DNA,紫外分光光度计定量,并经琼脂糖电泳质检合格后置-80℃冰箱保存备用。

rs1926723、rs699 和 rs4762 三个位点的信息来自本课题前期 NGS 筛查结果,经过样本量和统计学效能的计算原则,笔者挑选 AGT 基因区段中次要等位基因频率(minor allele frequency, MAF)>0.05 的 3 个常见 SNP 位点经聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)-Sanger 法扩大样本量进行后续分型验证。参照 UCSC(refseq GRCh37. p5)数据库选取 AGT 基因 3 个目标区域 chr1:230839500-230840700, chr1:230845200-230846400, chr1:230845400-230846600,用 Primer3 软件分别设计扩增引物:F1(5'-CAG GAC CAT GGA ACA CAC AC-3'), R1(5'-GGA TGC CAA AAG ATG GAA GA-3'); F2(5'-ACC CCA GTT CCT GAC CTT CT-3'), R2(5'-CTA CAG GCA ATC CTG GGT GT-3'); F3(5'-TGC ACA TAG TAG GGC AGC AG-3'), R3(5'-CTG TGG ATG AAA AGG CCC TA-3')。PCR 反应体系为:模版 DNA 各 1 μL, TaqDNA 聚合酶(5 U/μL) 0.5 μL,含 Mg²⁺的 10×PCR 缓冲液 5 μL(大连宝生物工程有限公司),dNTP Mixture 4 μL(各 2.5 mmol/L),前、后引物(100 pmol/μL)各 0.25 μL,双蒸水 39 μL;反应条件:94℃预变性 2 min,94℃变性 30 s,56℃退

火 30 s,72℃延伸 1 min,循环 35 次;72℃后延伸 2 min。产物大小分别为 878 bp、831 bp 和 829 bp。PCR 产物经 1.25% 琼脂糖电泳后,经 PCR 产物回收试剂盒(美国 Axygen 公司)回收目的条带,送上海英骏生物技术有限公司进行 Sanger 法测序。

1.3 生物信息学注释 采用 Genewindow 在线软件(<http://genewindow. nci. nih. gov>)对 3 个 SNP 位点进行生物信息学注释,拟合优度检验判断是否符合 Hardy-Weinberg 平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)定律,并用 Haploview 4.2 软件分析其连锁不平衡性及单倍型与 PTE 的相关性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析,计量资料如符合正态分布,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验和方差分析;如不符合正态分布用中位数和四分位数间距表示,组间比较采用秩和检验;用多因素 Logistic 回归调整年龄、性别混杂,组间等位基因频率和基因型频率的比较采用 χ^2 检验、Fisher 精确检验或 Pearson 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 rs1926723、rs699 和 rs4762 位点的生物信息学注释 AGT 基因由 5 个外显子组成,其中外显子 2、3、4、5 参与编码蛋白产物。3 个常见变异的生物信息学注释信息见表 1, rs1926723 为 1 号染色体上 AGT 基因第 1 个内含子内 230840096 处 T 突变成 C,其 MAF 值为 0.145; rs699 与 rs4762 分别为 AGT 基因第 2 个外显子内 230845794 和 230845977 处发生的错义突变,rs699(A/G)编码蛋白由蛋氨酸(Met)转变为苏氨酸(Thr),MAF 值为 0.338;而 rs4762(G/A)编码蛋白则由苏氨酸(Thr)转变为蛋氨酸(Met),其 MAF 值为 0.104。

2.2 基因分型及等位基因分布频率比较 基因分型及等位基因分布频率见表 2,拟合优度检验显示 3 个 rs 位点在 PTE 病例组及对照组中均符合 Hardy-Weinberg 平衡,人群代表性好。AGT 基因 rs1926723(C/T)及 rs699(A/G)位点在 PTE 病例组和对照组间的分布均存在显著性差异,等位基因分布的 *P* 值分别为 0.009 和 0.006,主要等位基因纯合子基因型分布的 *P* 值分别为 0.005 和 0.007;通过多因素 Logistic 回归调整年龄、性别混杂后,差异仍然存在;此外,rs1926723 中 TT 基因型及 rs699 中 GG 基因型与 PTE 的发生负关联,均为 PTE 发生的保护因素,OR(95%CI)分别为 0.484(0.289~0.810)和 0.463(0.263~0.816)。然而,调整年龄、性别混杂前后,rs4762(G/A)位点在 PTE 病例组和对照组间分布均无显著性差异($P>0.05$)。

2.3 连锁不平衡分析和单倍型分析 连锁不平衡分析提示 rs1926723、rs699 和 rs4762 在 PTE 病例组和对照组间的分布模式不同,存在不同的连锁不平衡关系,见图 1。在连锁不平衡块中,进一步进行单倍型分析提示,PTE 病例组和对照组中 T-G-G 分别为 72 例和 179 例,分布存在显著性差异[$P<0.05$,OR(95%CI):0.493(0.342~0.710)],其携带是 PTE 发病的保护性因素。

表 1 rs1926723、rs699 和 rs4762 常见 SNP 变异位点注释

rs 位点	染色体位置(refseq GRCh37. p5)	所在功能区	突变类型	MAF 值
rs1926723(C/T)	1 号染色体(230840096)	第 1 个内含子	未知	0.145
rs699(A/G)	1 号染色体(230845794)	第 2 个外显子	错义突变(Met268Thr)	0.338
rs4762(G/A)	1 号染色体(230845977)	第 2 个外显子	错义突变(Thr207Met)	0.104

表 2 AGT 基因 3 个常见变异的等位基因和基因型分布

等位基因	次要等位基因 [M,n(%)]	主要等位基因 [N,n(%)]	P(HWE)	MM [n(%)]	MN [n(%)]	NN [n(%)]
rs1926723(C/T)						
PTE 病例组	71(0.370)	121(0.630)	0.621	12(0.125)	47(0.490)	37(0.385)
对照组	85(0.261)	241(0.739)	0.236	14(0.086)	57(0.350)	92(0.564)
rs699(A/G)						
PTE 病例组	38(0.198)	154(0.802)	0.877	4(0.042)	30(0.312)	62(0.646)
对照组	36(0.110)	290(0.890)	0.420	3(0.018)	30(0.184)	130(0.798)
rs4762(G/A)						
PTE 病例组	11(0.057)	181(0.943)	0.552	0(0.000)	11(0.115)	85(0.885)
对照组	26(0.080)	300(0.920)	0.304	2(0.012)	22(0.135)	139(0.853)

rs1926723、rs699、rs4762 的主要/次要等位基因(M/N)分别为 C/T、A/G、A/G。

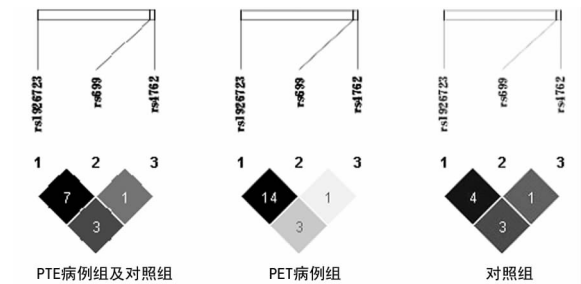


图 1 rs1926723、rs699 和 rs4762 在 PTE 病例组和对照组中的连锁不平衡分析

3 讨 论

候选基因的 SNP 研究能为 PTE 的临床诊治提供有效指导,尽管国内、外相继报道了与 PTE 相关的基因多态性位点,但由于信息零散而不系统,以及人种、生活习惯、环境因素等的差异,目前所报道的 PTE 相关 SNP 并不能为中国临床诊治提供有效参考。从 NGS 前期数据所得的 SNP 位点中选取几个常见变异在更大样本中进一步分析验证,在保证全面覆盖的基础上提高检验效能,可为今后小样本系统性 SNP 研究提供新的思路。

骨折及外科手术后下肢静脉血栓形成、长时间制动、凝血异常和一些全身性疾病等获得性因素被认为是 PTE 发生的主要原因,所以临床上对手术前患者普遍采用大剂量抗凝疗法来防止血栓形成,此方法缺乏必要的用药依据,可能加剧手术后大出血的风险,也会造成血液制品不必要的浪费。遗传因素所引起的凝血、纤溶系统异常(如抗凝血酶Ⅲ、遗传性蛋白 C 缺乏症、遗传性蛋白 S 缺乏症以及活化蛋白 C 抵抗)与 PTE 等血栓性疾病的发生、发展关系更为紧密^[9-11],也是临床个体化诊治的切入点之一。人的 AGT 基因定位于染色体 1q42-43,全长 13 kb,含 5 个外显子和 4 个内含子,它所编码的 AGT 是肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system,RAS)中肾素的水解底物,目前大多数研究显示 RAS 主要与醛固酮分泌及血压调节有关^[12],也有少数研究证实 RAS 还可影响凝血、纤溶系统及血小板,对血栓的形成有一定促进作用,但大多数仅涉及血管紧张素,对纤溶酶原激活剂抑制物-1(plasminogen activator inhibitor-1,PAI-1)、组织因子及血小板活化的调节,目前还缺乏 RAS 初始限速底物 AGT 蛋白与血栓性疾病的系统研究^[13]。

本研究通过对 AGT 基因区段进行变异扫描,挑出 3 个常见变异位点进行更大规模验证表明,AGT 基因内含子区 230840096T>C 与 PTE 相关,TT 基因型频率为 38.5%,明显低于对照组频率(56.4%),提示其为 PTE 的保护性因素,这可能与非编码区的调控有关。第 2 个外显子区 24363573A>

G 错义突变导致的 Met268Thr 是 PTE 的相关保护性因素,而 230845977G>A 错义突变也导致 Thr207Met,由于两者均涉及疏水性 Met 与亲水性 Thr 之间的转换,且在 AGT 蛋白质 3D 结构中,与 268 位 Met 相邻的是 236 位 Met,与 207 位 Thr 相邻的是 175 位 Thr,故推测这 2 个突变导致的不同结果可能是不同极性氨基酸间相互作用及构象变化改变了 AGT 在 RAS 中的活性,从而影响凝血、纤溶系统中相应成分的活化或灭活,促进或阻碍了肺血栓的形成。

但值得注意的是,PTE 是一种多因素导致的复杂性疾病,它的发生不仅涉及血液中凝血、纤溶系统异常,还与血小板膜表面糖蛋白,甚至炎症因子相关,可能由多个功能系统间的平衡失调所致,故多个基因的 SNP 及其特定组合可能是造成疾病易感性最重要的原因,也将是探究多基因疾病的发病机制,指导临床诊断、药物治疗与预防最有效的方式之一^[14-15],这有待后续研究进一步探索。

参考文献

[1] Goldhaber SZ. Venous thromboembolism: Epidemiology and magnitude of the problem[J]. Best Pract Res Clin Haematol,2012,25 (3): 235-242.

[2] Baglin T. Inherited and acquired risk factors for venous thromboembolism[J]. Semin Respir Crit Care Med,2012,33(2):127-137.

[3] Rosendaal FR,Reitsma PH. Genetics of venous thrombosis[J]. J Thromb Haemost,2009,7 Suppl 1:S301-304.

[4] Satoh M,Kikuya M,Ohkubo T,et al. Role of angiotensinogen and relative aldosterone excess in salt-sensitive hypertension[J]. Hypertension,2012,59(6):e57.

[5] Sawaguchi M,Araki SI,Kobori H,et al. Association between urinary angiotensinogen levels and renal and cardiovascular prognoses in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. J Diabetes Investig,2012,3(3):318-324.

[6] Phillips MI,de Oliveira EM. Brain renin angiotensin in disease[J]. J Mol Med (Berl),2008,86(6):715-722.

[7] Jia EZ,Xu ZX,Guo CY,et al. Renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms and coronary artery disease: detection of gene-gene and gene-environment interactions[J]. Cell Physiol Biochem,2012,29(3/4):443-452.

[8] 中华医学会呼吸病学分会. 肺血栓栓塞症的诊断与治疗指南(草案)[J]. 华结核和呼吸杂志,2001,24(5):5-10.

[9] Scandura S,Mangiafico S,Capodanno D,et al. Surgical thromboembolctomy for a massive pulmonary embolism after several venous thromboembolic episodes caused by congenital antithrombin III deficiency[J]. J Cardiovasc Surg (Torino), (下转第 1062 页)

表 2 标准培养与双抗体夹心 ELISA 试剂盒对 *B. pseudomallei* 检测的比较

土壤样品	标准培养	ELISA 试剂盒	细菌浓度(CFU/g)
中东 1	阳性	阳性	337
中东 2	阳性	阳性	402
南宁 1	阳性	阳性	103
南宁 2	阳性	阳性	73
南宁 3	阳性	阳性	27
南宁 4	阳性	阳性	203
钦州 1	阳性	阳性	189
钦州 2	阳性	阳性	521
钦州 3	阳性	阴性	23
防城 1	阳性	阳性	354
防城 2	阳性	阳性	267
北海 1	阳性	阳性	431
北海 2	阳性	阳性	206

3 讨 论

B. pseudomallei 鞭毛基因具有显著特异性,广泛用于 *B. pseudomallei* 的检测^[8-9]。由于 *B. mallei* 也含有相同的鞭毛基因,用基因检测法不能区分 *B. pseudomallei* 和 *B. mallei*;但 *B. mallei* 无鞭毛,*B. pseudomallei* 有 6~8 根鞭毛,通过检测其鞭毛抗原的方法可很容易地区分 *B. pseudomallei* 和 *B. mallei*。本实验用 *B. pseudomallei* 鞭毛的单克隆抗体作为捕获抗体进行双抗体夹心 ELISA 试剂盒的研究。

研究结果表明该试剂盒具有很好的特异性和敏感性。检测试剂盒的最低检测浓度为 105 CFU/mL,这个结果是 2000 年采用直接单克隆抗体凝集方法检测 *B. pseudomallei* 敏感性的 50 倍。在对广西土壤样品的检测过程中,出现 1 例假阴性,对该例假阴性土壤的分析表明,该土壤样品的 *B. pseudomallei* 浓度是所有土壤样品中浓度最低的(23 CFU/mL),土壤样品较干燥,且在实验室保存了 1 年,这些原因可能导致了细菌的死亡。文献表明,*B. pseudomallei* 可在 15 种不同类型的土壤中存活 439 d,但在含水量低于 10% 的土壤中,其生存时间只有 70 d^[10]。

为了检测土壤培养物中的 *B. pseudomallei*,本研究用含庆大霉素和黏杆菌素的 LB 培养基培养土壤样品,这 2 种抗菌药能显著抑制大多数细菌的生长与繁殖^[11],而 *B. pseudomallei* 却不受这 2 种抗菌药影响^[12]。通过在典型土壤中接种不同浓度 *B. pseudomallei*,获得双抗体夹心 ELISA 试剂盒检测的最低检测浓度(10 CFU/mL)。相关文献表明,老挝和泰国境内的土壤中 *B. pseudomallei* 浓度为 10~120 CFU/mL^[13],本研究中,广西地区阳性土壤中 *B. pseudomallei* 的浓度为 23~521 CFU/mL,即疫源地 *B. pseudomallei* 在土壤中的浓度达到

10 CFU/g 以上时才能用培养的方法检测到细菌,双抗体夹心 ELISA 试剂盒的最低检测浓度与培养法一致。

最后,培养法需要 21 d 才能获得检测结果,ELISA 法只需 28 h(培养 24 h 后检测)。以上结果表明:双抗体夹心 ELISA 试剂盒检测法是一种敏感性高、特异性强的检测方法,可用于疫源地 *B. pseudomallei* 分布情况的流行病学调查,具有重大的公众卫生意义。

参考文献

[1] 陈光远,曾夏杏,冯欣,等. 广东省雷州半岛地区类鼻疽病流行的调查[J]. 中华流行病学杂志,2004,25(5):390-390.

[2] 莫成锦,谷海瀛,王旭明,等. 类鼻疽病血清学调查[J]. 中国卫生工程学,2002,1(4):230-230.

[3] Yang S. Melioidosis research in China[J]. Acta Trop, 2000, 77(2):157-165.

[4] 毛旭虎. 加强类鼻疽的研究[J]. 第三军医大学学报,2011,33(13):1315-1317.

[5] Ashdown LR. Identification of pseudomonas pseudomallei in the clinical laboratory[J]. J Clin Pathol,1979,32(5):500-504.

[6] Kaestli M, Mayo M, Harrington G, et al. Sensitive and specific molecular detection of Burkholderia pseudomallei, the causative agent of melioidosis, in the soil of tropical northern Australia[J]. Appl Environ Microbiol,2007,73(21):6891-6897.

[7] Pongsunk S, Thirawattanasuk N, Piyasangthong N, et al. Rapid identification of Burkholderia pseudomallei in blood cultures by a monoclonal antibody assay[J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(11): 3662-3667.

[8] 方瑶,顾江,王海光,等. 抗类鼻疽伯克霍尔德菌多抗血清的制备及评价[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(3):292-294.

[9] Suprom C, Wang D, Leelayuwat C, et al. Development of real-time PCR assays and evaluation of their potential use for rapid detection of Burkholderia pseudomallei in clinical blood specimens[J]. J Clin Microbiol,2007,45(9):2894-2901.

[10] 佟世德,陆振豸,何维海. 类鼻疽杆菌生态学研究[J]. 中国兽医学报,1995(2):125-129.

[11] Ashdown LR. Rapid differentiation of Pseudomonas pseudomallei from Pseudomonas cepacia[J]. Lett Appl Microbiol,1992,14(5): 203-205.

[12] Howard K, Inglis TJ. Novel selective medium for isolation of Burkholderia pseudomallei[J]. J Clin Microbiol,2003,41(7):3312-3316.

[13] Smith MD, Wuthiekanun V, Walsh AL, et al. Quantitative recovery of Burkholderia pseudomallei from soil in Thailand[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg,1995,89(5):488-490.

(收稿日期:2012-11-23)

(上接第 1059 页)

2011,52(6):899-900.

[10] Zhang YJ, Miao YF, Cheng KB, et al. Protein C polymorphism and susceptibility to PTE in China[J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2012,23(8):693-699.

[11] Ikejiri M, Tsuji A, Wada H, et al. Analysis three abnormal Protein S genes in a patient with pulmonary embolism[J]. Thromb Res, 2010,125(6):529-532.

[12] Fournier D, Luft FC, Bader M, et al. Emergence and evolution of the renin-angiotensin-aldosterone system[J]. J Mol Med (Berl), 2012,90(5):495-508.

[13] Numaguchi Y, Ishii M, Kubota R, et al. Ablation of angiotensin IV receptor attenuates hypofibrinolysis via PAI-1 downregulation and reduces occlusive arterial thrombosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2009,29(12):2102-2108.

[14] Fridley BL, Biernacka JM. Gene set analysis of SNP data: benefits, challenges, and future directions[J]. Eur J Hum Genet,2011, 19(8):837-843.

[15] Hill WG. Quantitative genetics in the genomics era[J]. Curr Genomics,2012,13(3):196-206.

(收稿日期:2013-01-31)