• 基础实验研究论著 •

微卫星 DNA 与慢性阻塞性肺疾病易感性的研究

于丽丽

(赤峰学院附属医院检验科, 内蒙古赤峰 024000)

摘要:目的 探讨微卫星 DNA 与慢性阻塞性肺疾病(COPD)易感性的关系。方法 将 64 例 COPD 患者作为 COPD 组,以 100 例健康者作为对照组。采用聚合酶链反应(PCR)-短串联重复序列(STR)复合扩增技术对受检者的 D18S51、D8S1179、D21S11、D7S820、CSF1PO、D3S1358、D5S818、D13S317、D16S539、D2S1338、D19S433、VWA、D12S391、D6S1043 基因位点的遗传多态性进行分析。结果 COPD 组患者 D18S51-19、D7S820-9 及 D6S1043-17 的阳性率分别为 18.75%、25.00% 及 20.31%,均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组其他等位基因检出率的差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 D18S51-19、D7S820-9 及 D6S1043-17 基因位点附近可能存在 COPD 的易感基因。

关键词:微卫星重复; 肺疾病,慢性阻塞性; 多态性,单核苷酸; 疾病遗传易感性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.21.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)21-2806-02

A study on microsatellite DNA and susceptibility of chronic obstructive pulmonary disease

Yu Lili

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chifeng University, Chifeng, Inner Mongolia 024000, China)

Abstract: Objective To explore the relationship of microsatellite DNA and susceptibility of chronic obstructive pulmonary disease(COPD). **Methods** 64 patients with COPD were served as COPD group and 100 healthy people as control group. Polymerase chain reaction(PCR)-short tandem repeats(STR) multiplex PCR technique were employed to analyze genetic polymorphism of D18S51, D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, D5S818, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, VWA, D12S391 and D6S1043 genetic loci of the subjects. **Results** The positive rates of D18S51-19, D7S820-9 and D6S1043-17 of patients in COPD group were 18.75%, 25.00% and 20.31%, respectively, which were all higher than those in control group, with statistically significant difference($P < 0.05$). The difference of detection rates of other alleles in the two groups showed no significant($P > 0.05$). **Conclusion** There may be COPD susceptibility gene near the D18S51-19, D7S820-9 and D6S1043-17 genetic loci.

Key words: microsatellite repeats; pulmonary disease, chronic obstructive; polymorphism, single nucleotide; genetic predisposition to disease

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary diseases, COPD)是一种严重的慢性呼吸系统疾病,患病者多,病死率高。2007 年世界卫生组织公布 COPD 居全球患者病死原因的第 4 位,估计到 2020 年, COPD 将位居世界疾病经济负担的第 5 位^[1]。目前 COPD 的发病机制尚未完全明了,引起 COPD 的危险因素包括个体易感因素及环境因素这 2 个方面,二者相互影响。在个体易感因素中,某些遗传因素可增加 COPD 发病的危险性,越来越多的研究开始关注 COPD 的遗传学特征^[2],微卫星 DNA 又称为短串联重复序列(short tandem repeats, STR),是基因研究中应用最多的一种遗传标记系统。本研究通过对 COPD 患者外周血中 15 个微卫星基因座位的遗传多态性进行分析,探讨与 COPD 发病有关的易感基因区域,现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 一般资料 选择本院呼吸科 2010~2012 年收治的 64 例 COPD 患者,将其作为 COPD 组,其中,男 32 例,女 32 例;平均年龄(66.80±10.96)岁;COPD 诊断标准参照《COPD 诊治指南》(2007 年修订版)。以同期 100 例体检健康者作为对照组, COPD 组患者与对照组健康者的一般临床特征无显著差异($P > 0.05$)。

1.2 主要试剂与仪器 主要试剂为美国应用生物系统公司

AmpFISTR Identifiler STR 基因座系统分型试剂盒;主要仪器:美国应用生物系统公司 ABI 3100 DNA 测序仪、美国 PerkinElmer 公司 PE 9600 型聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增仪、英国 Biochrom 公司紫外分光光度计、海门市其林贝尔仪器制造有限公司 QL-861 型旋涡混合器; STR 分析软件:3100Ddata Collection v2.1、3100 GeneScan v3.1 及 3100 Genotyper v2.5.2。

1.3 检测方法 采集受试者外周血标本 2 mL,采用乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA)抗凝,以 Chelex-100 法快速提取 DNA,采用 PCR-STR 复合扩增技术对受检者的 D18S51、D8S1179、D21S11、D7S820、CSF1PO、D3S1358、D5S818、D13S317、D16S539、D2S1338、D19S433、VWA、D12S391、D6S1043 基因位点的遗传多态性进行分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,率比较采用 χ^2 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

COPD 组患者 D18S51-19、D7S820-9 及 D6S1043-17 的阳性率分别为 18.75%、25.00% 及 20.31%,这 3 个位点等位基因的检出率均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1~3。两组其他等位基因检出率的差异无统计学意义($P >$

0.05)。

表 1 COPD 组与对照组 D18S51-19 阳性率的比较

组别	n	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)
COPD 组	64	12	52	18.75*
对照组	100	4	96	4.00
合计	164	16	148	9.75

*: $P < 0.05$, 与对照组比较。

表 2 COPD 组与对照组 D7S820-9 阳性率的比较

组别	n	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)
COPD 组	64	16	48	25.00*
对照组	100	10	90	10.00
合计	164	26	138	15.85

*: $P < 0.05$, 与对照组比较。

表 3 COPD 组与对照组 D6S1043-17 阳性率的比较

组别	n	阳性(n)	阴性(n)	阳性率(%)
COPD 组	64	13	51	20.31*
对照组	100	4	96	4.00
合计	164	17	147	10.37

*: $P < 0.05$, 与对照组比较。

3 讨 论

COPD 是一种复杂的呼吸系统疾病, 主要累及肺脏, 但也可引起全身(或称肺外)的不良反应, 严重影响患者生活质量及劳动能力, 给家庭和社会造成巨大负担, 该病呈进行性发展, 最终导致呼吸衰竭而死亡。COPD 是一种具有气流受限特征的可预防和治疗的疾病, COPD 的发病机制尚未完全明了。目前普遍认为 COPD 是以气道、肺实质和肺血管的慢性炎症为特征。除炎症外, 肺部的蛋白酶和抗蛋白酶失衡, 氧化与抗氧化失衡及自主神经功能紊乱等也在 COPD 的发病中发挥了重要作用。COPD 的各种危险因素, 如吸入有害气体或颗粒、吸烟等都可产生类似的炎症过程, 从而导致 COPD 的发生^[3]。引起 COPD 的危险因素包括个体易感因素及环境因素, 两者相互影响^[4-5]。COPD 和遗传学研究表明, 虽然吸烟是目前 COPD 最重要的环境危险因素, 但是所有重型吸烟者中, 仅有不到一半的人发展为 COPD, 这表明对个体疾病易感性来说, 遗传起到一定作用^[6]。目前认为多基因遗传方式的可能性最大。

关于 COPD 进展中候选基因的作用尚未阐明, 多态性的研究仍尚无定论^[7-8]。既往国内、外关于这方面的研究主要包括与 COPD 进展有关的 3 个主要途径, 即炎症途径、蛋白酶-抗蛋白酶平衡系统途径及抗氧化途径, 如 Tnfa-308G/A、Gstp1 1105V、IL1rn VNTR 等^[9-10], 这些基因研究配合全基因组扫描, 可以更好地寻找 COPD 发生、发展中的易感基因。

STR 是目前在基因定位的研究中应用最多的标记系统^[11-13], 具有高度的多态杂合性, 信息量大。结合 PCR 技术, 可以方便地进行连锁分析。目前, 疾病基因定位最有效的分子遗传学手段仍然是利用已知 STR 物理图谱进行全基因组扫描

分析^[14]。本研究表明 D18S51-19、D7S820-9、D6S1043-17 三个基因位点与 COPD 的发生有明显关联, 且 COPD 组患者的基因位点频率明显高于对照组, 说明在这 3 个位点附近可能存在 COPD 的易感基因。未发现其他位点与 COPD 有明显关联。鉴于人们普遍认为 COPD 多基因遗传方式的可能性最大, 所以该研究有待进一步深入^[15]。本文 STR 为美国应用生物系统公司推荐的 15 个核心基因座, 检测稳定性好, 研究结果提示上述 STR 可以直接用于基因分析和遗传倾向的研究。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 慢性阻塞性肺疾病诊断标准[J]. 国际呼吸杂志, 2011, 31(1): 1-2.
- [2] 杨永胜, 关键, 许西琳, 等. D2S388 D2S2232 微卫星多态性与新疆维吾尔族吸烟者慢性阻塞性肺疾病易感性研究[J]. 中国实用内科杂志, 2011, 31(4): 282-284.
- [3] Molfino NA, Coyle AJ. Gene-environment interactions in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2008, 3(3): 491-497.
- [4] Antoniu SA. Predictors of depression in chronic obstructive pulmonary disease patients[J]. Expert Rev Respir Med, 2011, 5(3): 333-335.
- [5] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 63-67.
- [6] Vacca G, Schwabe K, Dück R, et al. Polymorphisms of the beta2 adrenoreceptor gene in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Ther Adv Respir Dis, 2009, 3(1): 3-10.
- [7] Zhang X, Wang C, Dai H, et al. Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and exercise performance in patients with COPD[J]. Respirology, 2008, 13(5): 683-688.
- [8] Castaldi PJ, Hersh CP, Reilly JJ, et al. Genetic associations with hypoxemia and pulmonary arterial pressure in COPD[J]. Chest, 2009, 135(3): 737-744.
- [9] Smolonska J, Wijmenga C, Postma DS, et al. Meta-analyses on suspected chronic obstructive pulmonary disease genes: a summary of 20 years' research[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 180(7): 618-631.
- [10] Ishikawa N, Ohlmeier S, Salmenkivi K, et al. Hemoglobin α and β are ubiquitous in the human lung, decline in idiopathic pulmonary fibrosis but not in COPD[J]. Respir Res, 2010, 11(1): 123-124.
- [11] Bossé Y. Genetics of chronic obstructive pulmonary disease: a succinct review, future avenues and prospective clinical applications [J]. Pharmacogenomics, 2009, 10(4): 655-667.
- [12] 左俊. 医学遗传学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 250-251.
- [13] 裴黎. 现代 DNA 分析技术理论与方法[M]. 北京: 中国人民公安大学出版社, 2002: 63-643.
- [14] 胡维新. 临床分子生物学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 13-14.
- [15] Silverman EK, Spira A, Paré PD. Genetics and genomics of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Proc Am Thorac Soc, 2009, 6(6): 539-542.

(收稿日期: 2013-06-02)