

论著 · 基础研究

聚集素基因多态性及外周血聚集素水平与阿尔茨海默病相关性研究*

宋兴勃¹, 吴茜¹, 王旻晋¹, 周易¹, 应军², 向闰茜¹, 邓佳敏¹, 贺勇^{1△}
(1. 四川大学华西医院实验医学科, 成都 610041; 2. 三台县人民医院, 四川绵阳 621100)

摘要:目的 探讨西南地区汉族人群聚集素(CLU)基因多态性及外周血 CLU 与阿尔茨海默病(AD)的关系。方法 纳入 AD 患者 108 例(AD 组), 健康对照 115 例(对照组), 应用 SNaPshot SNP 分型技术对入选 11 个位点进行分型, 采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 AD 组与对照组外周血清 CLU 水平。结果 AD 组血清 CLU 水平显著高于对照组, 差异有统计学意义($P=0.001$)。CLU 基因 SNP 位点 rs3087554 在显性模型下差异有统计学意义($P=0.037, OR=0.523, 95\%CI=0.284\sim0.962$), 其余 8 个位点各基因型和等位基因在病例组和对照组的分布无差异。CLU 基因型和血清 CLU 水平相关性分析未发现显著性差异。结论 AD 患者血浆 CLU 水平较对照组明显升高, CLU 可能在 AD 的发生发展中发挥作用。CLU rs3087554 位点 CC 或 CT 基因型可能是 AD 的保护性因素。未发现其他 8 个 SNP 多态性与疾病的联系。

关键词:阿尔茨海默病; 聚集素; 单核苷酸多态性
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.003 **中图法分类号:**R749.1+6
文章编号:1673-4130(2018)20-2475-07 **文献标识码:**A

Correlation between clusterin level in peripheral blood and its gene polymorphism and Alzheimer disease*

SONG Xingbo¹, WU Qian¹, WANG Minjin¹, ZHOU Yi¹, YING Jun²,
XIANG Runxi¹, DENG Jiamin¹, HE Yong^{1△}

(1. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Santai People's Hospital, Mianyang, Sichuan 621100, China)

Abstract: **Objective** To assess the correlation between the clusterin(CLU) level and its gene polymorphism and Alzheimer's disease (AD) among ethnic Han Chinese in southwest of China. **Methods** A total of 108 patients with AD (AD group) and 115 healthy controls (control group) were enrolled in this study. SNaP-shot SNP typing was used to genotype 11 SNP. Serum levels of CLU were detected by ELISA. **Results** The clustrin level of peripheral blood in AD group was significantly higher than that in the control group ($P=0.001$). There were statistically significant differences of the rs3087554 locus of CLU gene in the dominant model ($P=0.037, OR=0.523, 95\%CI=0.284-0.962$). There was no significant difference in the distribution of other eight loci genotypes and alleles between AD group and control group. No significant association were found between genotypes and serum CLU levels. **Conclusion** The plasma levels of CLU in AD patients are significantly higher than those in control group. CLU may play a role in the occurrence and development of AD. CC or CT genotype of rs3087554 in CLU gene may be a protective factor of AD. No association was found between the other eight SNPs and AD disease.

Key words: Alzheimer's disease; clusterin; single nucleotide polymorphism

目前,阿尔茨海默病(AD)是全球的第六大死因,发病人数超过 4 400 万人^[1]。按照目前全球人口发展速度,到 2050 年,AD 患者数量预计达 1.16 亿^[2]。AD 作为老年人常见的精神疾病,给政府、社会 and 患者家庭带来极大的负担。

迄今为止,AD 的发病机制仍在探索中,其中主要

的学说是 β 淀粉样蛋白学说^[3] 和 Tau 学说^[4-5]。AD 的组织病理学特征包括 β 淀粉样蛋白和神经原纤维缠结(NFTs)的形成,突触损失,大脑炎症,神经元损失,最终导致脑实质收缩^[6]。单核苷酸多态性(SNP)是人类 DNA 的第三代遗传标记,是在基因组水平上由于单个核酸的变异所引起的 DNA 序列的多态性,

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81301486,81672096)。
作者简介:宋兴勃,男,主管技师,主要从事肿瘤及感染性疾病研究。△ 通信作者, E-mail:heyong1011@163.com。
本文引用格式:宋兴勃,吴茜,王旻晋,等. 聚集素基因多态性及外周血聚集素水平与阿尔茨海默病相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(20): 2475-2480.

也是决定人类疾病(尤其是多基因疾病)易感性,以及个体对药物反应差异性的主要因素。AD 归因于多因素导致的神经退行性改变,遗传因素和环境因素共同影响发病,基因多态性在 AD 的发生发展中有着重要的影响。研究先后发现了早老素 1(PS1)^[7]、早老素 2(PS2)^[8]、淀粉样前体蛋白(APP)等^[9]单一致病基因与 AD 相关。但目前仅载脂蛋白 E(APOE)ε4 等位基因被多个不同群体广泛证实为迟发型 AD(Load)与散发型 AD(SAD)的易感基因^[10]。2009 年以后,2 项 GWAS 研究证实 CLU 基因 rs11136000 位点和 LOAD 相关^[11-12]。同时研究发现聚集素(CLU)基因 rs9331888 位点多态性与 LOAD 易感性显著相关。基于此研究基础,本实验拟通过测定中国汉族人群中 AD 组与健康老年人组的血浆 CLU 水平及 CLU 基因多个位点多态性,探讨中国汉族人中 CLU 基因多态性及血浆 CLU 水平与 AD 的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集四川大学华西医院 2016 年 8 月至 2017 年 3 月门诊及住院 AD 患者 109 例作为 AD 组,年龄>65 岁,为 LOAD,其中男 52 例,女 57 例,平均年龄(78.69±10.55)岁。采用简易智能状态量表(MMSE)评定患者痴呆情况,MMSE 在相应教育程度分值以下为痴呆(文盲≤17 分,小学文化≤20 分,初中及以上文化≤24 分)。符合美国国立神经病学、语言障碍和卒中研究所 AD 和相关疾病学会(NINCS-ADRD)制定的 AD 诊断标准,世界卫生组织生活质量测定简表(WHOQOL-BREF)临床痴呆评定量表(CDR)评分>1 分,Hachinski 缺血指数量表评分<4 分。排除标准:(1)患有其他中枢神经系统;(2)其他系统病变所致痴呆患者;(3)前列腺癌、非小细胞肺癌、乳腺癌、肝癌等肿瘤病史;(4)甲状腺功能低下、抑郁症患者。另选取四川大学华西医院体检中心体检健康老年人 115 例作为健康对照组,其中男 58 例,女 57 例,平均年龄(73.09±6.10)岁。患者采用神经心理学检查未发现认知功能损害,MMSE 评分>24 分。

1.2 方法 CLU 水平测定:收集 3 mL 外周静脉血,离心取血清,置于 PC 管中,采用 CLU 检测试剂盒(美国 RayBio)ELISA 方法测定。基因多态性检测:采用基因组 DNA 提取试剂盒(Qiagen)提取全血 DNA。应用 Hapmap 数据库(<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>)dbSNP 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>)和天昊生物 SNP Annotation 软件(<http://www.geneskybiotech.com/sup/software/>),优先纳入基因外显子区、启动子区、非翻译区(UTR)及侧翼区的功能调控性的 tagSNPs,再纳入其他能代表 3 个 SNPs 位点以上的 tagSNPs,结合国内外文献,纳入 CLU 基因上的 11 个 SNPs 位点(rs9331949、rs9331942、rs3087554、rs2279590、rs9331938、rs9331936、rs11136000、rs1532278、rs9331896、rs9331888、rs9314349),位点信息见表 1。基因多态性检测采用 SNaPshot

SNP 分型方法(引物序列及 SNaPshot 引物见表 2),随机抽取 5% 的样本进行双盲实验,验证 SNPs 分型的重复性及稳定性。

表 1 入选位点信息

rs_num	Chr	SNPs	Region
rs9331949	8	A/G	3'UTR
rs9331942	8	C/T	3'UTR
rs3087554	8	A/G	3'UTR
rs2279590	8	A/G	intron
rs9331938	8	A/G	exon
rs9331936	8	A/C	exon
rs11136000	8	C/T	intron
rs1532278	8	C/T	intron
rs9331896	8	A/G	intron
rs9331888	8	C/G	intron
rs9314349	8	A/G	5'FLANKING

表 2 11 个 SNPs 位点的 PCR 扩增引物及 SNaPshot 检测引物序列

SNP 位点	引物序列(5'→3')
rs9331949	正向引物:TGAATTTCCTTGACAGCCATGCTA
	反向引物:CCCAGGTGTGTAGCAAAGTCCA
	SNaPshot:TGTGTAGCAAAGTCCACATGTAAATTT
rs9331942	正向引物:TTCTGGGCACCAAATGTTTCA
	反向引物:TGCTTGCTTTTCAGGAAGAGAGATG
	SNaPshot:TGTAAGTGTAAGGTGTACTTGGTATTAT AATGCATAA
rs3087554	正向引物:AGGAGATTGTGCGACCTTGGTC
	反向引物:GATCGCTTGGAGGGTCTCTTT
	SNaPshot:TCATTTTGCTATGGGGGGC
rs2279590	正向引物:GGAAGGAACGTCCGAGTCAGAA
	反向引物:TTGCCCAACACATGAGTGTCT
	SNaPshot:TGGTCAGCTCTCTAGGTTTCCTTGGAG
rs9331938	正向引物:CTGGTCAACCTCTCAGCGACCT
	反向引物:GCTTTTGTTCCTCGCTGCATGT
	SNaPshot:TAGCGACCTGGAGGGATTCTGT
rs9331936	正向引物:CTGGTCAACCTCTCAGCGACCT
	反向引物:GCTTTTGTTCCTCGCTGCATGT
	SNaPshot:TGGGCAGACTGTTCCACCAAC
rs11136000	正向引物:GGCTGCAGACTCCCTGAATCTT
	反向引物:CACCTGGCCTGAGACAGATTCTT
	SNaPshot:TGGCAAGGGCCCGTTAGAGA
rs1532278	正向引物:CTGGGCCAGGCTCATAACAAAA
	反向引物:AAAACAAACGAAGAGCGCAAGA
	SNaPshot:TCAGCTGATGCTGAGGCTGCA
rs9331896	正向引物:CCGTCAGCTCACAGGAGGGATA
	反向引物:GAGGTCAGAGGGCAGGGTAGC
	SNaPshot:TTCCGGTGGTCCAGACACAGCTT
rs9331888	正向引物:GGAGTCTCAGCACCACTGAAC
	反向引物:CTTAGAGGGGATGGGCAGTGTG
	SNaPshot:TGAGCAAGAGGACTCATCCTTCCAAA
rs9314349	正向引物:TGAAAGCGCCATAAATGCATCA
	反向引物:TGGGGATGGGGTAGGAATCAAG
	SNaPshot:TGATGTTTCATATCTAAGCAGATCATAGAC

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计学处理,对于连续性数据,根据数据分布是否服从正态分布分别使用 *t* 检验和非参数的 Wilcoxon 检验。对于二分类数据,采用 Pearson 卡方进行统计检验,必要时采用 Fisher 精确概率法。应用 Person 相关分析探讨基因型与血清 CLU 水平的关系。等位基因及基因型、遗传模型的分析采用 Plink 软件。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 AD 组和对照组的一般情况与 CLU 水平比较 比较 AD 组和对照组的一般情况(性别、年龄)与 CLU 水平,结果见表 3。两组性别比例比较,差异无

统计学意义($P>0.05$),两组年龄比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。AD 组外周血 CLU 水平较对照组明显增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。采用 logistic 回归校正后,两组年龄和 CLU 水平差异仍具有统计学意义($P=0.000、0.001$)。可初步认为,CLU 和年龄均是 AD 发病的独立危险因素。

2.2 最小等位基因频率(MAF)及哈勃-温格平衡检验(HWE 检验) 为说明 AD 组和对照组等位基因的代表性,对该两组的基因型进行 HWE 检验,rs9331936、rs9331938 的 MAF 为 0,且不符合 HWE 平衡,其余 9 个位点均符合,见表 4。

表 3 AD 组和对照组一般情况及外周血 CLU 水平比较

项目		AD 组	对照组	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
性别[<i>n</i> (%)]	男	52(48.6)	58(50.4)	0.790		
	女	55(51.4)	57(49.6)			
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)		78.69 $\pm$ 10.55	73.09 $\pm$ 6.10	0.000	1.077	1.040~1.116
CLU 水平[<i>M</i> (<i>Q</i> ₁ , <i>Q</i> ₃)]		47.97(37.02,70.25)	37.54(30.94,52.41)	0.001	1.002	1.001~1.004

表 4 所选 9 个 SNP 位点的 MAF 和 HWE 平衡检验

SNP	<i>P</i> (HWE 检验)	MAF	碱基
rs11136000	0.475	0.227	T
rs1532278	0.475	0.227	T
rs2279590	0.415	0.224	T
rs3087554	0.940	0.257	C
rs9314349	0.794	0.132	G
rs9331888	0.143	0.428	G
rs9331896	0.304	0.230	C
rs9331942	0.742	0.328	G
rs9331949	0.853	0.204	C

2.3 等位基因频率及基因型分布 AD 组和对照组等位基因频率见表 5,所选 9 个位点差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 遗传模型分析 进一步对 AD 组对照组的遗传模型加以分析,rs3087554 在显性模型下差异具有统计学意义($P=0.037,OR=0.523,95\%CI=0.284\sim 0.962$),表明基因型为 CC 或 CT 的 AD 发病风险是基因型为 TT 的 0.523 倍,可降低 AD 的发病风险。其余位点差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 6。

2.5 基因型与病例组 MMSE 评分的相关性 为进一步明确基因型与病情严重程度之间的相关性,将所选 9 个位点与病例组 MMSE 评分进行统计学分析,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 7。

表 5 AD 组和对照组基因型分布及等位基因频率比较

SNP	等位基因					基因型			
		AD 组[<i>n</i> (%)]	对照组[<i>n</i> (%)]	<i>OR</i> (95% <i>CI</i>)	<i>P</i>		AD 组[<i>n</i> (%)]	对照组[<i>n</i> (%)]	<i>P</i>
rs9331896	C	40(24.69)	40(21.51)	1.197(0.726~1.973)	0.481	CC	5(6.17)	7(7.53)	0.439
						CT	30(37.04)	26(27.96)	
	T	122(75.31)	146(78.49)				TT	46(56.79)	
rs1532278	T	40(24.69)	39(20.97)	1.236(0.748~2.042)	0.408	TT	46(56.79)	6(6.45)	0.528
						CT	5(6.17)	27(27.03)	
	C	122(75.31)	147(79.03)				CC	30(37.04)	
rs9331888	G	69(42.59)	80(43.01)	0.983(0.642~1.505)	0.937	GG	20(24.69)	17(18.28)	0.184
						CG	29(35.80)	46(49.46)	
	C	93(57.41)	106(56.99)				CC	32(39.51)	
rs3087554	C	35(21.60)	54(29.03)	0.674(0.413~1.100)	0.113	CC	6(7.41)	6(6.45)	0.072

续表 5 AD 组 and 对照组基因型分布及等位基因频率比较									
SNP	等位基因					基因型			
	AD 组[n(%)]		对照组[n(%)]	OR(95%CI)	P	AD 组[n(%)]		对照组[n(%)]	P
rs9331942	T	127(78.40)	132(70.97)	0.897(0.572~1.406)	0.636	CT	23(28.40)	42(45.16)	0.489
						TT	52(64.20)	45(48.39)	
	G	51(31.48)	63(33.87)			GG	7(8.64)	13(13.98)	
						GA	37(45.68)	37(39.78)	
rs9314349	A	111(68.52)	123(66.13)	0.959(0.515~1.788)	0.896	AA	37(45.68)	37(45.68)	0.977
						GG	1(1.23)	1(1.08)	
	G	21(12.96)	25(13.44)			GA	19(23.46)	23(24.73)	
						A	141(87.04)	161(86.56)	
rs2279590	T	39(24.07)	39(20.97)	1.195(0.722~1.979)	0.488	AA	61(75.31)	69(74.19)	0.632
						TT	5(6.17)	6(6.45)	
	C	123(75.93)	147(79.03)			CT	29(35.80)	27(29.03)	
						CC	47(58.02)	60(64.52)	
rs11136000	T	40(24.69)	39(20.97)	1.236(0.748~2.042)	0.408	TT	5(6.17)	6(6.45)	0.528
						CT	30(37.04)	27(29.03)	
	C	122(75.31)	147(79.03)			CC	46(56.79)	60(64.52)	
						CC	4(4.94)	4(4.94)	
rs9331949	C	32(19.75)	39(20.97)	0.928(0.550~1.566)	0.799	CT	24(29.63)	31(33.33)	0.865
						T	130(80.25)	147(79.03)	
	T	130(80.25)	147(79.03)			TT	53(65.43)	58(62.37)	

表 6 AD 组 and 对照组遗传模型比较					
SNP	Model	AD 组	对照组	OR(95%CI)	P
rs9331896	ADD	5/30/46	7/26/60	0.245(0.730~1.904)	0.501
	DOM	35/46	33/60	1.383(0.751~2.549)	0.298
	REC	5/76	7/86	0.808(0.246~2.653)	0.726
rs1532278	ADD	5/30/46	6/27/60	1.220(0.749~1.986)	0.424
	DOM	35/46	33/60	1.383(0.751~2.549)	0.298
	REC	5/76	6/87	0.954(0.280~3.251)	0.940
rs9331888	ADD	20/29/32	17/46/30	0.985(0.659~1.473)	0.941
	DOM	49/32	63/30	0.729(0.391~1.359)	0.320
	REC	20/61	17/76	1.466(0.707~3.039)	0.304
rs3087554	ADD	6/23/52	6/42/45	0.677(0.414~1.105)	0.119
	DOM	29/52	48/45	0.523(0.284~0.962)	0.037
	REC	6/75	6/87	1.160(0.359~3.749)	0.804
rs9331942	ADD	7/37/37	13/37/43	0.900(0.578~1.401)	0.642
	DOM	44/37	50/43	1.023(0.563~1.859)	0.941
	REC	7/74	13/80	0.582(0.220~1.538)	0.275
rs9314349	ADD	1/19/61	1/23/69	0.957(0.505~1.814)	0.893
	DOM	20/61	24/69	0.943(0.475~1.872)	0.866
	REC	1/80	1/92	1.150(0.071~18.68)	0.922
rs2279590	ADD	5/29/47	6/27/60	1.181(0.725~1.922)	0.504
	DOM	34/47	33/60	1.315(0.713~2.427)	0.381
	REC	5/76	6/87	0.954(0.280~3.251)	0.940
rs11136000	ADD	5/30/46	6/27/60	1.220(0.749~1.986)	0.424

续表 6 AD 组和对照组遗传模型比较

SNP	Model	AD 组	对照组	OR(95%CI)	P
rs9331949	DOM	35/46	33/60	1.383(0.751~2.549)	0.298
	REC	5/76	6/87	0.954(0.280~3.251)	0.940
	ADD	4/24/53	4/31/58	0.930(0.554~1.559)	0.782
	DOM	28/53	35/58	0.876(0.471~1.629)	0.675
	REC	4/77	4/89	1.156(0.280~4.777)	0.842

注:ADD 表示加性模型,DOM 表示显性模型,REC 表示隐性模型

2.6 基因型与 CLU 水平的相关性 将基因型列为二分类,分析 SNP 基因型与血清 CLU 水平之间的关系,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 8。

表 7 CLU 基因多态性与 AD 组 MMSE 评分的关系

SNP	基因型	例数(<i>n</i>)	百分比(%)	P
rs11136000	CC	46	56.79	0.176
	TT+CT	35	43.21	
rs1532278	CC	46	56.79	0.176
	TT+CT	35	43.21	
rs2279590	CC	47	58.02	0.28
	TT+CT	34	41.98	
rs3087554	TT	52	64.20	0.777
	CC+CT	29	35.80	
rs9314349	AA	61	75.31	0.426
	GG+AG	20	24.69	
rs9331888	CC	32	39.51	0.342
	GG+CG	49	60.49	
rs9331896	TT	46	56.79	0.176
	CC+CT	35	43.21	
rs9331942	AA	37	45.68	0.322
	GG+AG	44	54.32	
rs9331949	TT	55	67.90	0.425
	CC+CT	26	32.10	

表 8 血清 CLU 水平和 CLU 基因多态性的相关性

SNP	基因型	例数(<i>n</i>)	百分比(%)	P
rs11136000	TT	8	5.06	0.249
	CT+CC	150	94.94	
rs1532278	TT	8	5.06	0.249
	CT+CC	150	94.94	
rs2279590	TT	8	5.06	0.249
	CT+CC	150	94.94	
rs3087554	TT	73	46.20	0.063
	CT+CC	85	53.80	
rs9314349	AA	41	25.95	0.599
	AG+GG	117	74.05	
rs9331888	CC	102	64.56	0.532

续表 8 血清 CLU 水平和 CLU 基因多态性的相关性

SNP	基因型	例数(<i>n</i>)	百分比(%)	P
rs9331896	CG+CC	56	35.44	0.297
	CC	9	5.70	
	CT+TT	149	94.30	
rs9331942	AA	85	53.80	0.145
	AG+GG	73	46.20	
rs9331949	TT	57	36.08	0.298
	CT+CC	101	63.92	

3 讨 论

CLU 又称载脂蛋白 J,是由 BLASCHUK 等^[13]在 1983 年从山羊睾丸网液中首次分离出的一种特殊的糖蛋白,存在于大脑、血浆、肝脏和脑脊液中^[14],它与载脂蛋白 E 有着类似的生物学功能,能促进 Aβ 聚集,介导 Aβ 的清除^[15],同时也参与炎症反应^[16],细胞凋亡^[17]等一系列病理反应过程。研究表明,CLU 参与多个疾病的进展,如肝癌^[18]、膀胱癌^[19]、鼻咽癌^[20]、帕金森病^[21]等。

本研究采用病例-对照的研究方式,关注健康人和 AD 患者的血清 CLU 水平的关系。研究发现,在 AD 组中,血清 CLU 的水平明显高于对照组,提示检测外周血 CLU 水平可作为诊断 AD 的一种方法,并有研究表明,CLU 水平在疾病早期升高可加速疾病的进展,表示 CLU 可作为监控疾病进展的分子标志物^[22]。同时,在校正其他因素后,可发现年龄对 AD 的发病具有统计学差异。故可初步认为,CLU 和年龄均是 AD 发病的独立危险因素。对于年龄与 CLU 是否具有相关性分析发现,二者不具有相关性,与 CAI 等^[23]报道一致。

CLU 基因位于 8 号染色体 p21.1。本次对于 CLU 基因多态性的研究,9 个位点中,除 rs3087554 外,其余位点在等位基因频率、基因型分布、遗传模型方面差异无统计学意义($P>0.05$)。2009 年两项欧洲大样本病例对照研究已证实在高加索人群中,rs11136000 与 AD 发病相关联。2010 年我国北方的一项研究证实,在中国北方汉族人群,未发现 rs11136000 与 AD 的关系,但发现 rs9331888 等位基

因 G 可增加 AD 的风险,但本实验均未发现统计学差异^[24]。另外,本研究结果发现,CLU 基因 SNP 位点 rs3087554 在显性模型下差异有统计学意义 ($P=0.037$, $OR=0.523$, $95\%CI=0.284\sim0.962$),表明基因型为 CC 或 CT 的 AD 发病风险是基因型为 TT 的 0.523 倍,可降低 AD 的发病风险,表现了基因多态性对遗传调控的神经退行性疾病的影响,并提示该作用可能是确定复杂疾病遗传性的关键。DU 等^[25] 关于 rs11136000 和 LOAD 易感性的 meta 分析发现, T 等位基因的存在可能降低白种人和亚洲人群的 LOAD 风险,但在非洲或西班牙裔人群中并没有发现明确的关联,说明对于种族差异对于基因多态性的影响。本次研究结果与部分报道结果不一致考虑可能是样本的选取具有种族差异性 or 地区差异性,选取人群主要为西南地区人群。

4 结 论

AD 起病隐匿、复杂,且目前发病机制仍不清楚,没有有效的治疗方案,所以早期诊断对于控制 AD 的疾病发展过程具有极大的临床意义。目前的研究都在力求寻找一个新的生物标志物以便能尽早的对于 AD 做出早期诊断,本研究发现的 rs3087554 可作为一个新的分子标志物,并且多个位点的研究补充了人们对 AD 易感性相关 SNP 的认识。

参考文献

- [1] MARTINO RMCD, SIMONE A D, ANDRISANO V, et al. The versatility of the curcumin scaffold: discovery of potent and balanced dual BACE-1 and GSK-3 β inhibitors[J]. J Med Chem, 2016, 59(2): 531.
- [2] DULSAT, C. A report from the 65th annual meeting of the American Academy of Neurology (March 16 – 23, 2013, San Diego, California, USA) [J]. Drugs Today (Barc), 2013, 49 (5): 341-345.
- [3] WANNER M, KESSLER J, MARTIG J, et al. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease[J]. Trends Pharmacol Sci, 1991, 12(10): 383.
- [4] BLENNOW K, HAMPEL H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease[J]. Lancet Neurol, 2003, 2(10): 605-613.
- [5] 陈逸, 张宝荣. 阿尔茨海默病相关核心生物标志物研究进展[J]. 生命科学, 2014, 26(1): 2-8.
- [6] LARS M. ITTNER, JÜRGEN G. Amyloid- β and tau: a toxic pas de deux in Alzheimer's disease[J]. Nat Rev Neurosci, 2011, 12(2): 65.
- [7] GOATE A, CHARTIER-HARLIN M C, MULLAN M, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease [J]. Nature, 1991, 349(6311): 704-706.
- [8] BRUNI A C. Cloning of a gene bearing missense mutations in early onset familial Alzheimer's disease: a Calabrian study[J]. Funct Neurol, 1998, 13(3): 257-261.
- [9] ROGAEV E I, SHERRINGTON R, ROGAEVA E A, et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene[J]. Nature, 1995, 376 (6543): 775-778.
- [10] OSSENKOPPELE R, FLIER W M V D, ZWAN M D, et al. Differential effect of APOE genotype on amyloid load and glucose metabolism in AD dementia[J]. Neurology, 2013, 80(4): 359-365.
- [11] LAMBERT J C, HEATH S, EVEN G, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease[J]. Nature Genetics, 2009, 41(10): 1094-1099.
- [12] HAROLD D, ABRAHAM R, HOLLINGWORTH P, et al. Erratum: genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease[J]. Nat Genet, 2009, 41(10): 1094.
- [13] BLASCHUKO, BURDZYAK, FRITZIB. Purification and characterization of a cell aggregating factor (clusterin), the major glycoprotein in ramretetestis fluid [J]. Biol Chem, 1983, 258(12): 7714.
- [14] MULLAN G M, MCENENY J, FUCHS M, et al. Plasma clusterin levels and the rs11136000 genotype in individuals with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease[J]. Curr Alzheimer Res, 2013, 10(9): 973.
- [15] MINERS J S, CLARKE P, LOVE S. Clusterin levels are increased in Alzheimer's disease and influence the regional distribution of A β [J]. Brain Pathol, 2016, 27(3): 305-313.
- [16] PLUTA R. Role of ischemic blood-brain barrier on amyloid plaques development in Alzheimer's disease brain. [J]. Curr Neurovas Res, 2007, 4(2): 121.
- [17] WONG P, PINEAULT J, LAKINS J, et al. Genomic organization and expression of the rat TRPM-2 (clusterin) gene, a gene implicated in apoptosis [J]. J Biol Chem, 1993, 268(7): 5021.
- [18] ZHENG W, YAO M, SAI W, et al. Diagnostic and prognostic significance of secretory clusterin expression in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Tumor Biol, 2016, 37(1): 999-1008.
- [19] MIYAKE H, HARA I, KAMIDONO S, et al. Synergistic chemsensitization and inhibition of tumor growth and metastasis by the antisense oligodeoxynucleotide targeting clusterin gene in a human bladder cancer model[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(12): 4245-4252.
- [20] LI Y, LU J, SHAN Z, et al. Clusterin induced by N, N'-Dinitrosopiperazine is involved in nasopharyngeal carcinoma metastasis[J]. Oncotarget, 2016, 7(5): 5548-5563.
- [21] PRIKRYLOVÁ V H, HÉNYKOVÉE, (下转第 2483 页)

可以通过 HIV ELISA 第四代试剂检测出来^[11]。

核酸检测与 WB 的阳性符合率为 93.04%。虽然试验结果显示血液筛查 HIV 项目核酸检测的 HIV 阳性符合率远比 ELISA 检测结果高,但血液筛查中核酸检测并不能完全代替 ELISA 检测,不能因为增加了核酸检测而忽略了对 ELISA 检测的质量管理和控制,因为核酸检测也存在自身的缺陷。例如,对于 HIV 精英控制者^[12](抗-HIV ELISA 反应性、核酸检测非反应性,但 WB 抗-HIV 确证阳性)和 HIV 基因变异的携带者^[13]就可能造成核酸检测漏检,而 ELISA 检测可以与核酸检测形成很好的互补。

3 种方法同步检测与 WB 的阳性符合率为 100.00%。表明使用酶免第三代与第四代 HIV 筛查试剂和核酸同步检测可以有效地避免 HIV 窗口期及精英控制者的漏检,提高筛查无偿献血者 HIV 的能力,降低经血传播 HIV 的风险^[14]。

4 结 论

本文的局限在于仅采用了 WB 一种方法对初筛反应性标本进行确证,确认结果存在较多的不确定结果,这些血液是否具有传染性还需多次跟踪来证明检测结果是否为真阳性^[15],但至少说明这些血液可能存在感染用血者的潜在风险。因此,采用第三代试剂、第四代试剂和核酸同步检测的策略能够提高筛查无偿献血者 HIV 的能力,降低经血传播 HIV 的风险。建议选择“1 遍酶免+1 遍核酸”的检测模式时,应对选用的试剂做严格评估。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 国家卫生计生委关于印发血站技术操作规程(2015 版)的通知 [EB/OL]. 2015-12-17 [2018-04-11]. <http://www.nhfp.gov.cn/zygi/s7658/201512/d9c61cbe48c14b88ab82ebae72036223.shtml>.

[2] 周国平,王迅,任亚娜,等. 血液筛查策略的选择要因地制宜[J]. 中国输血杂志,2015,28(1):108-110.

[3] 王迅. 采供血机构开展血液病毒核酸检测的条件及意义

[J]. 中国输血杂志,2008,21(11):825-826.

[4] 曾劲峰,郑欣,许晓绚. ELISA 检测与 NAT 在血液筛查应用中的互补性研究[J]. 中国输血杂志,2012,25(10):1012-1014.

[5] 王胜蓝,吉克春农,魏禄川,等. 开展核酸检测后凉山地区献血者 HIV/HBV/HCV 筛查策略探讨[J]. 中国输血杂志,2016,29(7):679-681.

[6] 梁启忠,掌友湖,程玉根. 第 4 代与第 3 代 HIV 检测试剂质量比较[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2010,23(3):356-358.

[7] 于茂河,柳忠泉,夏建晖,等. 两代酶联免疫试剂在男男性行为人群 HIV 检测中的应用[J]. 中国艾滋病性病,2012,18(4):242-244.

[8] 冯健亮,翁远桥,陈日明,等. 2 种酶联免疫试剂筛查血液抗-HIV 应用比较[J]. 中国输血杂志,2012,25(6):568-569.

[9] 许四宏,李秀华,宋爱京,等. 第 4 代 HIV 抗原抗体联合检测试剂的评价[J]. 中国输血杂志,2006,19(3):188-191.

[10] 程绍辉,赵璇,周宁,等. 采用四代试剂结合核酸检测方法早期发现 HIV 感染者的检测策略[J]. 中国艾滋病性病,2015,21(5):358-360.

[11] 薛文颖,王瑞丽,许丹,等. 沧州血站筛查抗-HIV 的两种 ELISA 试剂质量的评估[J]. 河北医药,2014,36(13):2046-2047.

[12] 王丽梅,池泉,林授,等. 无偿献血者 HIV 检测和归队情况分析[J]. 中国输血杂志,2017,30(8):901-903.

[13] 黄力勤,查祎,姚凤兰,等. 无偿献血人群 HIV 检测结果多样性分析[J]. 中国输血杂志,2016,29(5):505-508.

[14] 余瑾,毕昊,陆华新,等. 核酸检测技术在酶联免疫吸附法漏检 HIV 和 HBV 血样筛查中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(8):964-965.

[15] 李玲,牛丽彬,朱邵汶,等. 中国采供血机构抗-HIV/HIV 核酸筛查阳性献血者确证策略研究[J]. 中国输血杂志,2015,28(9):1118-1121.

(收稿日期:2018-02-20 修回日期:2018-05-12)

(上接第 2480 页)

MAREŠ J, et al. Clusterin CSF levels in differential diagnosis of neurodegenerative disorders[J]. J Neurol Sci, 2016,361:117-121.

[22] THAMBISETTY M, BEASON-HELD L L, AN Y, et al. Alzheimer risk variant CLU and brain function during aging[J]. Alzheimers Dement, 2013,73(5):399.

[23] CAI R, JING H, JIE S, et al. Plasma clusterin and the CLU gene rs11136000 variant are associated with mild cognitive impairment in type 2 diabetic patients[J]. Front Aging Neurosci, 2016,8:179.

[24] YU J T, LI L, ZHU Q X, et al. Implication of CLU gene polymorphisms in Chinese patients with Alzheimers disease[J]. Clin Chim Acta, 2010,411:1516-1519.

[25] DU W, TAN J, XU W, et al. Association between clusterin gene polymorphism rs11136000 and late-onset Alzheimer's disease susceptibility: a review and meta-analysis of case-control studies[J]. Exp Ther Med, 2016,12(5):2915-2927.

(收稿日期:2018-02-27 修回日期:2018-05-18)