

• 论 著 •

KCNQ1 和 RFX3 基因表达量作为原发性痛风诊断指标的探讨*

陈国强¹, 赵清², 张雪芳¹, 庾凤娟³, 巫剑雄¹, 何凤珍¹, 曾媛芷¹, 陈智湘², 许静燕⁴, 赵可伟², 苏镜^{2△}
(1. 广州市海珠区江海街社区卫生服务中心, 广东广州 510220; 2. 广州中医药大学第三附属医院检验科, 广东广州 510145; 3. 广州市海珠区中医医院检验科, 广东广州 510220; 4. 广州中医药大学, 广东广州 511400)

摘要:目的 探讨 KCNQ1 和 RFX3 基因表达量作为原发性痛风诊断指标的临床应用。方法 收集 2018 年 1—12 月广州市海珠区江海街社区卫生服务中心和广州中医药大学第三附属医院原发性痛风患者 86 例(原发性痛风组), 包括急性期 31 例、间歇期 44 例、慢性期 11 例和无症状高尿酸血症患者 50 例(无症状高尿酸血症组), 另选同期来这两家医疗机构体检且无原发性痛风症状, 也无高尿酸血症的患者 81 例作为对照组。采用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(PBMC), 实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测 PBMC 中 KCNQ1 和 RFX3 mRNA 的表达量, 统计分析各组间 KCNQ1 和 RFX3 基因水平差异, 绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价所观察指标的诊断效能。结果 原发性痛风组的 KCNQ1 和 RFX3 mRNA 表达量显著低于对照组; 原发性痛风组急性期 KCNQ1 和 RFX3 mRNA 表达量显著低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 无症状高尿酸血症组的 KCNQ1 mRNA 表达量显著低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 原发性痛风组急性期 KCNQ1 mRNA 表达量显著低于无症状高尿酸血症组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。ROC 曲线分析表明, KCNQ1 对原发性痛风诊断性能低于 RFX3。结论 原发性痛风患者低表达 KCNQ1 和 RFX3 基因水平, RFX3 对诊断原发性痛风比 KCNQ1 更灵敏, 可以作为临床预测发生原发性痛风患病的阳性率的较好指标。

关键词: KCNQ1; RFX3; 原发性痛风; 诊断效能
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.08.021 **中图法分类号:** R589.7
文章编号: 1673-4130(2020)08-0978-07 **文献标识码:** A

Exploration on predicative value of the expression of KCNQ1 and RFX3 in diagnosis of primary gout*
CHEN Guoqiang¹, ZHAO Qing², ZHANG Xuefang¹, YU Fengjuan³, WU Jianxiong¹, HE Fengzhen¹,
ZENG Yuanzhi¹, CHEN Zhixiang², XU Jingyan⁴, ZHAO Kewei², SU Jing^{2△}
(1. Haizhu District Jianghai Street Community Health Service Center, Guangzhou, Guangdong 510220, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510145, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Haizhu District of Guangzhou Chinese Medicine Hospital, Guangzhou, Guangdong 510220, China; 4. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 511400, China)

Abstract: **Objective** To analyze the expression of KCNQ1 and RFX3 in serum and explored its predicative value in diagnosis of primary gout. **Methods** From January to December 2018, a total of 86 patients with primary gout(primary gout group) were collected from the Haizhu district Jianghai street community health service center, the third affiliated hospital of Guangzhou university of Chinese Medicine, including 31 patients with acute stage, 44 patients with intermittent stage, 11 patients with chronic stage, and 50 patients with asymptomatic hyperuricemia (asymptomatic hyperuricemia group). Another 81 patients with no primary gout symptoms and no hyperuricemia who underwent physical examination at these two medical institutions during the same period were selected as the control group. Peripheral blood mononuclear cells(PBMC) were extracted by Ficoll methods. The expressions of KCNQ1 and RFX3 mRNA in PBMC were detected by real-time fluores-

* 基金项目: 广州中医药大学第三附属医院科研创新基金课题(sy201605); 广东省中医药局科研项目(20182059); 广州市海珠区科技计划项目(海科工商信计 2017-40); 广州市科技计划项目(201802010030)。
作者简介: 陈国强, 男, 主管技师, 主要从事高尿酸血症及痛风相关研究。△ 通信作者, E-mail: 1065804572@qq.com。
本文引用格式: 陈国强, 赵清, 张雪芳, 等. KCNQ1 和 RFX3 基因表达量作为原发性痛风诊断指标的探讨[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(8): 978-983.

cence quantitative polymerase chain reaction(qPCR). The differences in levels of KCNQ1 and RFX3 genes among each group were statistically analyzed, and the receiver operating characteristic curve(ROC curve) was drawn to evaluate the diagnostic efficacy of the observed indicators. **Results** The mRNA expression levels of KCNQ1 and RFX3 in the primary gout group were significantly lower than those in the control group. The expression levels of KCNQ1 and RFX3 mRNA in the primary gout group were significantly lower than those in the control group, the difference was statistically significant($P < 0.05$). The expression level of KCNQ1 mRNA in the asymptomatic hyperuricemia group was significantly lower than that in the control group, the difference was statistically significant($P < 0.05$). The expression level of KCNQ1 mRNA in the acute stage of primary gout group was significantly lower than that in the asymptomatic hyperuricemia group, the difference was statistically significant($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that KCNQ1 was lower than RFX3 in the diagnosis of primary gout. **Conclusion** Patients with primary gout and hyperuricemia have low expression of KCNQ1 and RFX3. RFX3 is more sensitive to the diagnosis of primary gout than KCNQ1, it can be used as a good marker to predict the positive rate of primary gout.

Key words: KCNQ1; RFX3; primary gout; diagnostic efficiency

原发性痛风是由于长期嘌呤代谢障碍(尿酸合成增多和或尿酸排泄减少)引起血尿酸增高从而导致组织损伤的一组疾病。流行病学调查显示,我国沿海地区无症状高尿酸血症和原发性痛风的发病率逐年上升,此外,无症状高尿酸血症及原发性痛风发病还与肥胖、糖尿病、高血压、血脂异常、心脑血管等疾病密切相关^[1],严重危害了人类健康,成为亟待解决的公共健康问题。

原发性痛风是一种多基因遗传病,遗传因素是原发性痛风发病的主要因素。近年来,多个全基因组关联分析(GWAS)研究,确认了近 50 多个影响尿酸水平和原发性痛风发生的易感基因位点,解释 10% 的尿酸水平变化。在中国汉族人群的首个大样本 GWAS 研究中,发现 KCNQ1 和 RFX3 为中国人特有的原发性痛风易感基因^[2],但是不同国家、地区和种族,基因表达差异不尽相同,而且 KCNQ1 和 RFX3 引发原发性痛风的确切机制目前尚不完全明确。目前在临床上常检测尿酸生成功能基因 MTHFR,尿酸排泄功能基因 ABCG2,尿酸重吸收功能基因 SLC2A9 来了解患者的遗传情况,KCNQ1 和 RFX3 基因在临床上使用价值需要进一步的观察验证。因此,本文以广州市海珠区江海街社区卫生服务中心和广州中医药大学第三附属医院的原发性痛风和无症状高尿酸血症患者为研究对象,探索 KCNQ1 和 RFX3 基因水平的表达,旨在进一步揭示 KCNQ1 和 RFX3 基因与原发性痛风之间的联系,并对其临床应用价值进行初步探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 1—12 月广州市海珠区江海街社区卫生服务中心和广州中医药大学第三附属医院的门诊及住院的无症状高尿酸血症和原发性痛风患者中符合要求的病例共 136 例。依据疾病进展情况分为原发性痛风组 86 例,其中急性期 31 例、间歇期 44 例、慢性期 11 例和无症状高尿酸血症组 50 例,另选同期来这两家医疗机构体检且无原发

性痛风症状,也无高尿酸血症的患者 81 例作为对照组。

1.2 纳入标准 无症状高尿酸血症组入选标准依据 2013 年中华医学会内分泌学会《高尿酸血症和痛风治疗的专家共识》标准^[3],收集男性空腹血尿酸水平大于 $420 \mu\text{mol/L}$ (7.0 mg/mL),女性空腹血尿酸水平大于 $360 \mu\text{mol/L}$ (6.0 mg/mL)且不符合原发性痛风诊断标准的患者。原发性痛风组入选标准依据 2015 年美国风湿病学会/欧洲抗风湿联盟痛风分类标准^[4],按照患者受累关节类型、发作特征、发作进程、痛风石的临证、血尿酸和相关影像学检查等指标进行评分,总分大于或等于 8 分即可诊断原发性痛风的患者。

1.3 排除标准 无症状高尿酸血症组排除存在其他引起血尿酸升高疾病和近期服用可引起血尿酸值升高的药物的患者,以及明确诊断痛风、恶性肿瘤、严重肾功能不全期、严重全身系统性疾病的患者^[5]。原发性痛风组排除假性痛风症状的患者,包括急性化脓性关节炎、类风湿性关节炎、双水焦磷酸钙沉积症、强直性脊柱炎、银屑病关节炎、骨关节炎、骨肿瘤等疾病。对照组排除痛风、高尿酸血症、高血压、冠心病、糖尿病、血液系统疾病、恶性肿瘤等疾病患者。

1.4 仪器与试剂 贝克曼 AU5800 全自动生化仪,上海复星长征生化试剂盒,GE Healthcare 公司提供单个核细胞提取试剂,QIAGEN GmbH 公司提供 RNA 提取试剂盒(离心柱型),SimpliNano 超微量紫外/可见分光光度仪,Hema9600 基因扩增仪,宝日生物技术(北京)有限公司(takara 中国)提供的逆转录 cDNA 试剂盒,Rotor-Gene Q 实时荧光定量 PCR 分析仪,江苏康为世纪生物科技有限公司提供的 PCR 试剂盒。

1.5 方法

1.5.1 标本收集 所有入选的研究对象均为禁食、禁水,于次日清晨空腹采集外周静脉血,乙二胺四乙

酸(EDTA)抗凝管 1 支,干燥管 1 支,血清用于生化检测 3 组人群的尿酸,全血用于分离单个核细胞(PBMC)。

1.5.2 单个核细胞提取 采用 Ficoll 密度梯度离心法,按照说明书步骤提取分离人外周血单个核细胞,加入 Trizol 试剂置于-80℃保存备用。

1.5.3 总 RNA 提取、浓度和纯度检测 按照 RNA 提取试剂盒(离心柱型)说明书进行 RNA 提取。超微量紫外/可见分光光度仪测定总 RNA 的浓度和纯度,吸光度值(A)检测, A_{260}/A_{280} 可以作为 RNA 纯度的评定标准,研究标本 RNA 纯度保持在 1.8~2.0, RNA 浓度保持在 80 ng/ μ L 以上, RNA 质量(ng)=浓度(ng/ μ L) $\times$ 体积(μ L)。

1.5.4 逆转录 cDNA、实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测 RFX3 和 KCNQ1 mRNA 按照试剂盒

进行 RNA 逆转录成 cDNA, cDNA 加入 60 μ L dH₂O 稀释备用。反应体系如下: 2 μ L RNA, RNA 质量确保在 5~10 ng, 加 ddH₂O 补足 10 μ L。反应条件为 37℃, 30 min; 85℃, 5 min; 4℃, 30 min。

qPCR 检测 PBMC 中 RFX3 和 KCNQ1 mRNA 表达水平。每个样本重复进行 qPCR 检测 3 次, 取平均值作为该样本 RFX3 和 KCNQ1 基因的相对表达量。数据处理用 $\Delta\Delta$ 循环阈值(Ct)法, $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t$ 检测- ΔC_t 标准, 平均相对含量 = $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 作为统计数据, qPCR 反应体系为 qPCR 引物中各引物的浓度为 1 μ mol/L, 配液: ultra SYBR mixture 10 μ L, 正向和反向引物各 0.5 μ L, ddH₂O 7 μ L; 反应体系 20 μ L, 2 μ L cDNA, 配液 18 μ L。qPCR 反应条件按照 95℃, 10 s; 60℃, 15 s; 72℃, 20 s 循环, 40 个循环。引物设计序列见表 1。

表 1 引物设计序列

引物名称		引物序列(5'~3')	大小(bp)
KCNQ1	正向	GAC AAA GAC AAT GGG GTG ACT CCT	154
	反向	GTC ATA GCC GTC GAC AGA GAA	154
RFX3	正向	AGT GCA GCG CTA CAG GAA AT	145
	反向	CAA CAG TCG ACC TTC AGG CT	145
人类 β -actin 内参照引物	正向	TGA CGT GGA CAT CCG CAA AG	161
	反向	CTG GAA GGT GGA CAG CGA GG	161

1.6 统计学处理 应用 Stata13.0 和 GraphPad Prism 软件进行统计分析。采用 Stata13.0 独立样本 *t* 检验分析临床资料与原发性痛风及无症状高尿酸血症发生的相关性, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 来表示。采用 GraphPad Prism *t* 检验和 Ordinary one-way ANOVA 方差分析 KCNQ1 和 RFX3 mRNA 表达量差异, 分别以散点图和柱状图形式表示。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价所观察指标的诊断效能。

2 结 果

2.1 各组临床资料比较 原发性痛风组、无症状高尿酸血症组和对照组的平均年龄分别为(53.04 $\pm$ 17.67)岁、(58.73 $\pm$ 20.26)岁、(42.95 $\pm$ 18.23)岁; 原发性痛风组、无症状高尿酸血症组和对照组的男女比例分别为 1.1:1.0、1.0:1.0、1.0:1.0, 3 组间年龄、男女比例比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 KCNQ1 与原发性痛风、无症状高尿酸血症相关性研究 无症状高尿酸血症组 KCNQ1 mRNA 表达量显著低于对照组, 差异有统计学意义($P = 0.0358$); 原发性痛风组 KCNQ1 mRNA 表达量显著低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.0001$); 原发性痛风组急性期 KCNQ1 mRNA 表达量显著低于对照组, 差异有统计学意义($P = 0.0001$); 原发性痛风

组与无症状高尿酸血症组 KCNQ1 mRNA 表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 原发性痛风组急性期 KCNQ1 mRNA 表达量显著低于无症状高尿酸血症组, 差异有统计学意义($P = 0.0297$)。对照组、无症状高尿酸血症组、原发性痛风组、原发性痛风组急性期 KCNQ1 mRNA 表达量呈逐步降低趋势, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见图 1、2。

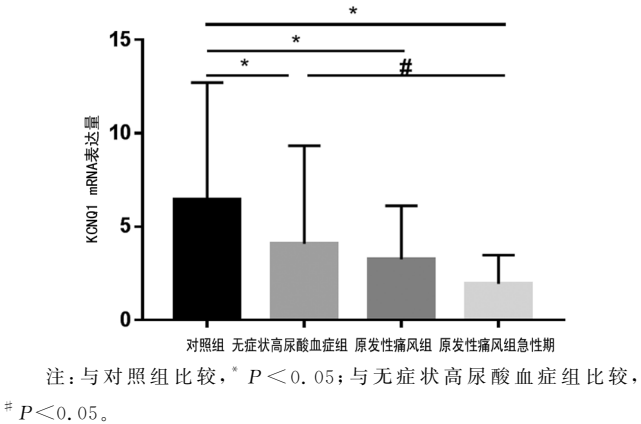
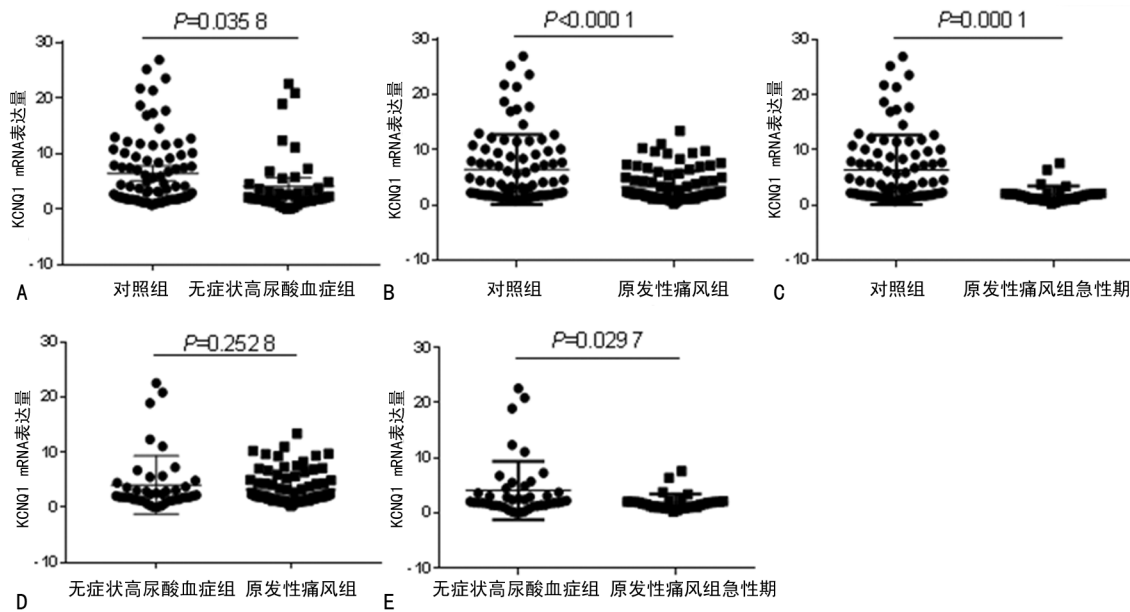


图 1 各组 KCNQ1 mRNA 表达量变化趋势

2.3 RFX3 与原发性痛风、无症状高尿酸血症相关性研究 对照组与无症状高尿酸血症组 RFX3 mRNA 表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 原发性痛风组 RFX3 mRNA 表达量显著低于对照组, 差异有

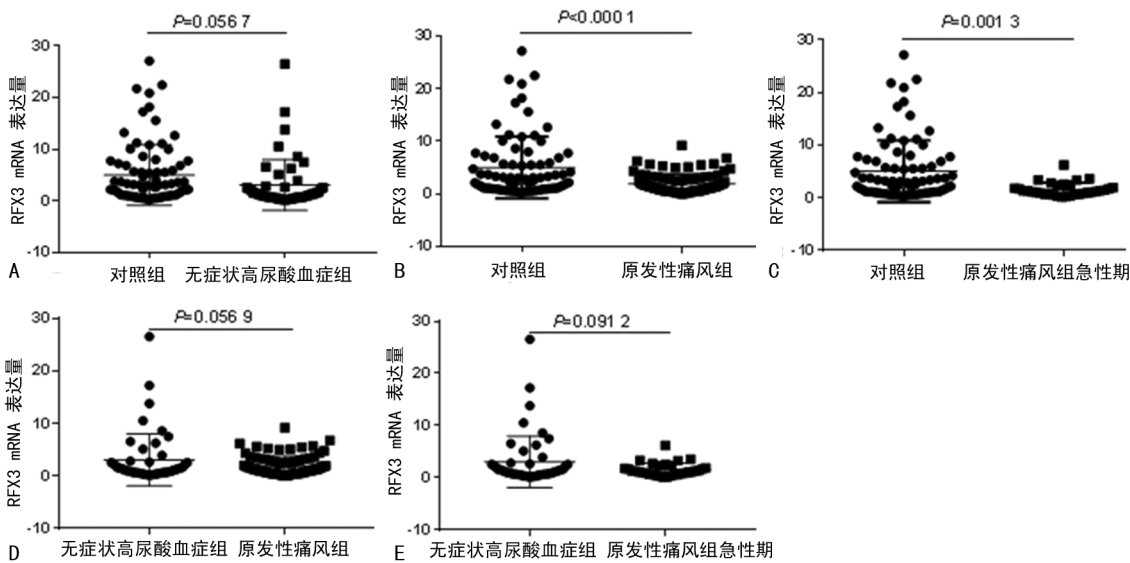
统计学意义($P < 0.0001$);原发性痛风组急性期 RFX3 mRNA 表达量显著低于对照组,差异有统计学意义($P = 0.0013$);原发性痛风组与无症状高尿酸血症组 RFX3 mRNA 表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$);原发性痛风组急性期与无症状高尿酸血

症组 RFX3 mRNA 表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$);对照组、原发性痛风组、原发性痛风组急性期 RFX3 mRNA 表达量呈逐步下降趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3、4。



注:A为对照组与无症状高尿酸血症组 KCNQ1 基因表达量的比较;B为对照组与原发性痛风组 KCNQ1 基因表达量的比较;C为对照组与原发性痛风组急性期 KCNQ1 基因表达量的比较;D为无症状高尿酸血症组与原发性痛风组 KCNQ1 基因表达量的比较;E为无症状高尿酸血症组与原发性痛风组急性期 KCNQ1 基因表达量的比较。

图 2 3 组间 KCNQ1 mRNA 表达量比较



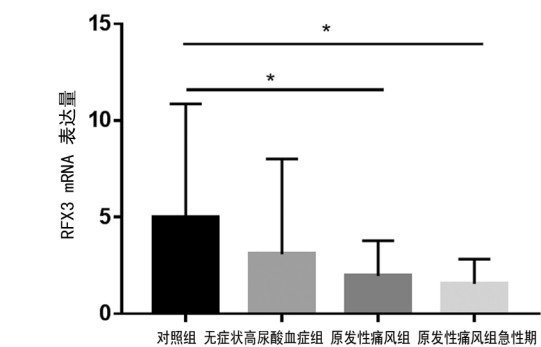
注:A为对照组与无症状高尿酸血症组 RFX3 基因表达量的比较;B为对照组与原发性痛风组 RFX3 基因表达量的比较;C为对照组与原发性痛风组急性期 RFX3 基因表达量的比较;D为无症状高尿酸血症组与原发性痛风组 RFX3 基因表达量的比较;E为无症状高尿酸血症组与原发性痛风组急性期 RFX3 基因表达量的比较。

图 3 各组间 RFX3 mRNA 表达量比较

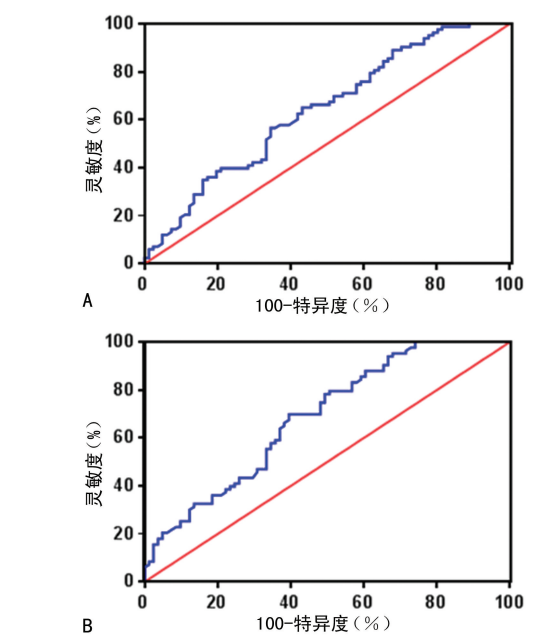
2.4 KCNQ1 和 RFX3 ROC 曲线和诊断性能 根据约登指数=特异度+灵敏度-1,根据 KCNQ1 基因的 ROC 曲线界值,得出诊断性能 ROC 曲线下面积(AUC)=0.6395,灵敏度为 56.63%,特异度为 65.43%,KCNQ1 基因在原发性痛风患病的阳性率为

56.63%。根据 RFX3 基因的 ROC 曲线界值得出诊断性能 AUC=0.6859,灵敏度 69.88%,特异度 60.49%,RFX3 基因在原发性痛风患病的阳性率为 69.88%,见表 2、图 5。

表 2 KCNQ1 和 RFX3 基因对原发性痛风诊断性能						
基因	AUC	95%CI	P	灵敏度(%)	特异度(%)	阳性率(%)
RFX3	0.685 9	0.605 3~0.766 5	<0.000 1	69.88	60.49	69.88
KCNQ1	0.639 5	0.555 3~0.723 7	0.002	56.63	65.43	56.63



注:与对照组比较,**P*<0.05。
图 4 各组 RFX3 mRNA 表达量变化趋势



注:A 为 KCNQ1 基因 ROC 曲线;B 为 RX3 基因 ROC 曲线。
图 5 KCNQ1 和 RFX3 基因 ROC 曲线

3 讨 论

原发性痛风是由高尿酸血症引发的一种常见疾病,受遗传因素和环境因素共同作用。近年来,原发性痛风患病率逐年增加,已成为一种常见且多发的全球性疾病^[6-7]。流行病学调查显示,原发性痛风在发达国家的患病率已达 2.49%^[8]。在我国沿海地区无症状高尿酸血症和原发性痛风的发病率逐年上升,原发性痛风的患病率为 1.36%,无症状高尿酸血症的患病率为 16.99%^[9],但仅有 10%~20%的无症状高尿酸血症患者会出现原发性痛风等症状^[10]。因此,本文通过探索 KCNQ1 和 RFX3 基因水平的表达,为原发性痛风的发病机制奠基临床研究基础。在原发性痛风的临床特点和流行病学研究中,显示男性发生痛风的比例高达 97.6%,女性仅为 2.4%^[11]。本研究结果

显示,原发性痛风组、无症状高尿酸血症组和对照组年龄及男女比例比较差异无统计学意义(*P*>0.05),说明 3 组对象不受年龄及性别因素的影响。众所周知,进食富含三酰甘油和胆固醇食物,嘌呤合成亢进,使尿酸生成增加。脂肪代谢产物能够抑制尿酸排泄,导致尿酸排泄减少,血尿酸增高。本研究发现尿酸结果符合了无症状高尿酸血症及原发性痛风与肥胖、糖尿病、高血压、血脂异常、心脑血管疾病密切相关的观点^[12]。

原发性痛风是一种多基因遗传病,遗传因素是原发性痛风发病的主要因素^[13],目前亚洲人种中,已发现与原发性痛风或无症状高尿酸血症有关的易感基因 16 个,亚洲特有易感基因 7 个,中国特有易感基因 2 个。以往研究表明 SLC2A9、SLC22A11 和 SLC22A12 基因功能缺失性突变可引起遗传性低尿酸血症,而过表达则会加强尿酸的重吸收。ABCG2、SLC17A1 和 SLC17A3 基因功能缺陷型变异会降低肾脏和肠道对尿酸的排泄量。诱发尿酸排泄障碍(高重吸收和低排泄)的基因变异是影响无症状高尿酸血症和原发性痛风的主要遗传因素。另外,单基因稀有突变也会导致尿酸生成量的增加,PRPS1 超活性和 HPRT 功能缺陷是影响尿酸合成量增加的重要遗传因素^[14]。中国学者通过 GWAS 研究发现了新的与原发性痛风相关的易感基因 RFX3 和 KCNQ1 只在中国人群中发现^[15]。但是不同国家、地区和种族,基因 KCNQ1 和 RFX3 表达差异不尽相同。日本 GWAS 研究发现,KCNQ1 与原发性痛风有较强的相关性,而 RFX3 则无明显相关性^[16]。其他研究发现中国汉族人群 KCNQ1 基因在原发性痛风患者中低表达,RFX3 与原发性痛风有关联性^[17]。YAMAGATA 等^[18]研究发现,KCNQ1 与原发性痛风、糖尿病有密切关联,可引起血糖升高。由于不同国家、地区和种族,基因 KCNQ1 和 RFX3 表达存在差异,而且其在引发原发性痛风的确切机制目前尚不完全明确,在临床上使用价值需要进一步的观察验证。周慧等^[19]研究报道证实了原发性痛风的发病与单核巨噬细胞有密切相关。本文通过研究原发性痛风患者外周血单个核细胞中 KCNQ1 和 RFX3 基因水平表达的分析,结果发现原发性痛风患者 KCNQ1 和 RFX3 mRNA 表达水平显著低于无症状高尿酸血症患者和对照组。结合本文研究结果,推测原发性痛风发病可能是通过尿酸盐晶体激活单核巨噬细胞分泌使 KCNQ1 和 RFX3 基因下调引起的。众所周知,尿酸盐结晶沉积

于胰岛细胞,胰岛 β 细胞受损引起胰岛素分泌减少,尿酸盐沉积于外周组织及肌肉组织,导致靶细胞对胰岛素的敏感性降低,产生胰岛素抵抗,以上两个原因都可引起血糖升高。KCNQ1 在多个群体中鉴定为糖尿病和原发性痛风的易感基因,其能够影响胰岛 β 细胞对胰岛素的分泌或应答;而 RFX3 是胰岛 β 细胞分泌的,RFX3 蛋白可以结合到葡萄糖激酶基因的启动子区域,并调控其表达,从而影响胰岛 β 细胞的功能。前期研究发现血糖在无症状高尿酸血症患者和原发性痛风患者体内呈升高趋势,而本研究发现 KCNQ1 和 RFX3 基因在原发性痛风患者中表达下调。因此,发病机制可能是尿酸盐结晶沉积于胰岛 β 细胞,影响胰岛 β 细胞的功能,使 KCNQ1 和 RFX3 基因表达下调,进一步出现血糖和血脂代谢混乱,导致原发性痛风患者血糖、尿酸升高,形成恶性循环。

值得注意的是,有研究报道原发性痛风易感基因 KCNQ1 和 RFX3 与以往发现的相关基因不同。临床上常检测尿酸生成功能基因 MTHFR,尿酸排泄功能基因 ABCG2,尿酸重吸收功能基因 SLC2A9 来了解原发性痛风患者的遗传情况,而 KCNQ1 和 RFX3 基因是与无症状高尿酸血症进展为原发性痛风有关^[20]。本研究把原发性痛风组患者分为急性期、间歇期和慢性期,原发性痛风组急性期 KCNQ1 和 RFX3 mRNA 表达量显著低于原发性痛风组,而且对照组、无症状高尿酸血症组、原发性痛风组、原发性痛风组急性期患者依次呈明显下降趋势。与 2015 年 LI 等^[15]研究团队在中国人群中成功鉴定出的 KCNQ1 和 RFX3 与高尿酸血症进展为原发性痛风有关的结论一致,KCNQ1 和 RFX3 基因在原发性痛风发作时下调更加明显。通过 ROC 曲线分析,发现 KCNQ1 基因的表达量预测原发性痛风患病的阳性率为 56.63%,诊断性能灵敏度为 56.63%,特异度为 65.43%;RFX3 基因的表达量预测原发性痛风患病的阳性率为 69.88%,诊断性能灵敏度为 69.88%,特异度为 60.49%。但是本研究选取的样本数量有限,不排除存在由此产生的结果偏差,此外,本研究只是研究广州地区的汉族原发性痛风患者,仅能代表广州地区汉族人群。因此,KCNQ1 和 RFX3 基因表达在原发性痛风患者中的研究需要多中心,多地区进一步研究验证,并需要开展深入的功能研究以进一步揭示 KCNQ1 和 RFX3 基因参与原发性痛风发病的具体机制,从而提高人们对原发性痛风的认识并为原发性痛风的早期筛查及新药开发提供新的靶点及理论依据。近几十年来,中国人群整体水平的饮食结构发生了极大改变,脂类、糖类和蛋白类食物的摄取量明显提高,代谢综合征的发病率也逐步上升,这可能是营养和基因交互作用的结果,从而使中国人群的原发性痛风遗

传呈现独有的特点。最重要的是部分影响血液尿酸水平的基因多态性位点具有群体特异性,因此可根据不同人群的遗传特点,开发有针对性的遗传标记和药物运用于临床诊断和治疗。

4 结 论

综上所述,中国特有 KCNQ1 和 RFX3 基因与广州地区原发性痛风患者易感性有密切相关。可能是通过影响单个核细胞中 KCNQ1 和 RFX3 基因的表达下调,使原发性痛风患者血脂和血糖升高,导致尿酸代谢异常引起无症状高尿酸血症,进一步发展成为原发性痛风,特别是 KCNQ1 和 RFX3 与原发性痛风发病相关,原发性痛风患者低表达 KCNQ1 和 RFX3 基因水平,RFX3 对诊断原发性痛风比 KCNQ1 更灵敏,两基因可以作为临床预测发生原发性痛风患病的阳性率的较好指标。

参考文献

- [1] 王荟,吴秀英,李长贵. 痛风与脂代谢紊乱及肥胖的关系[J]. 山东医药,2012,52(5):10-12.
- [2] 郑敏,麻骏武. 高尿酸血症和痛风的遗传学研究进展[J]. 遗传,2016,38(4):300-313.
- [3] 陈璐璐,高政南. 郭晓蕙等中华医学会内分泌学会专家. 高尿酸血症和痛风治疗的中国专家共识[J]. 中华内分泌代谢杂志,2013,29(11):913-920.
- [4] 邵苗,张学武. 2015 年美国风湿病学会/欧洲抗风湿联盟痛风分类新标准[J]. 中华风湿病学杂志,2015,19(12):854-855.
- [5] 王先敏,王晶,赵长海,等. 新疆汉族,维吾尔族高尿酸血症与 ABCG2 基因多态性的关系[J]. 中华中医药杂志,2018,31(6):2340-2344.
- [6] ANKLI B. Current epidemiology of gout[J]. Ther Umsch,2016,73(3):125-129.
- [7] 路杰,崔凌凌,李长贵. 原发性痛风流行病学研究进展[J]. 中华内科杂志,2015,54(3):244-247.
- [8] KUO C F, GRAINGE M J, MALLIN C, et al. Rising burden of gout in the UK but continuing suboptimal management: a nationwide population study [J]. Ann Rheum Dis,2015,74(4):661-667.
- [9] 阎胜利,赵世华,李长贵,等. 山东沿海居民高尿酸血症及痛风五年随访研究[J]. 中华内分泌代谢杂志,2011,27(7):548-552.
- [10] RICHETTE P, BARDIN T. Gout[J]. Lancet,2010,375(9711):318-328.
- [11] 高小姐,陈仁利,宋一凡. 原发性痛风的临床特点和流行病学研究[J]. 中国卫生标准管理,2018,20(1):15-17.
- [12] ITO H, ABE M, MIFUNE M, et al. Hyperuricemia is independently associated with coronary heart disease and renal dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. PLoS One,2011,6(11):27817-27823.
- [13] ZHU W F, DENG Y, ZHOU X D. Multiple membrane transporters and some immune regulatory genes(下转第 1010 页)

可能因年龄原因造成的物质类型不同的干扰,每一支标本均来自同一岁年龄。结果表明通过该方法制备的混匀血清标本在生化项目上具有较好的稳定性,该方法为组织实验室内和实验室间比对提供了标本制备思路。

本研究证实分离胶储存管离心后除 UREA、LDH 和 NEFA 外,其他常规生化项目在室温 25℃和 2~8℃下保存 8 h 的检测结果的变异均控制在可接受范围,LDH 和 NEFA 水平呈升高趋势,UREA 水平降低。分离后儿童血清-80℃保存 7 周,常规生化结果基本保持稳定,ALT 测定结果低于 20 U/L,CR 低于 20 μmol/L 时会出现超过质量指标要求的变异。如果标本需要长期保存,血清分离后-80℃冰箱冷冻保存是最好的保存方法。在儿童血清标本少的情况下,各年龄段儿童混匀血清为开展儿童相关项目研究提供了标本制备方法。

参考文献

[1] 王慧民,王清涛. 临床实验室管理学[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2016.

[2] 卫生部临床检验标准专业委员会. 临床生物化学检验常规项目分析质量指标 WS/T 403-2012[S]. 北京:中国标准出版社,2012.

[3] 晏文强,邓涛,刘杨,等. 血液标本不同保存时间及条件对生化检测结果的影响[J]. 湖北医药学院学报,2017,4(36):334-337.

[4] 张艳芬. 血液标本保存时间对各生化检测指标的影响分析[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(1):17-18.

[5] 邵大祥. 标本保存时间及温度对血液生化检测结果的影响分析[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(21):2896-2897.

[6] 胥颖,刘志雄,郭硕,等. 不同存储时间对部分生化结果的影响分析[J/CD]. 中西医结合心血管病电子杂志,2017,19(5):126.

[7] 陈益川,张德亨,李莉莉,等. 3 种采血管制备的标本对 6 种生化指标检测结果的影响[J]. 检验医学,2014,29(4):402-404.

[8] 李义龙,王萌,唐志毅,等. 酶法测定血清游离脂肪酸的方法学评价及临床应用[J]. 中国实验诊断学,2011,15(6):1099-1101.

[9] 徐云虎. 分离胶采血管保存标本对血糖测定结果的影响[J]. 临床和实验医学杂志,2010,9(7):530-531.

[10] 王丹凤,冯磊光,马学华,等. 生化血清标本储存条件的临床实用分析[J]. 医学综述,2018,24(21):4324-4328.

[11] DAVOR B, MAN K C, ALLISON A, et al. Long-term stability of biochemical markers in pediatric serum stored at - 80℃: a CALIPER substudy[J]. Clin Biochem, 2012,45(1):816-826.

[12] 田淑彩,李思晨,于冰,等. 双液氮超低温保存血清标本对生化检测结果的影响[J]. 国外医学医学地理分册,2014,20(4):334-336.

[13] 焦国立. 血清标本保存时间的不同对生化检测结果的影响[J]. 中国实用医药,2019,14(10):197-198.

[14] 罗助建. 血液标本存放的时间对生化检验结果的影响[J]. 医疗装备,2017,30(22):48-49.

[15] 李荣海,姚兴伟,邱聪颖. 血清标本冷藏时间对生化项目稳定性的影响[J]. 中国医药导报,2018,15(19):143-146.

(收稿日期:2019-10-22 修回日期:2020-01-19)

(上接第 983 页)

are major genetic factors to gout[J]. Open Rheumatol J, 2018,12(1):94-113.

[14] YAMADA Y, YAMADA K, NOMURA N, et al. Molecular analysis of X-linked inborn errors of purine metabolism: HPRT1 and PRPS1 mutations[J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2011,30(12):1272-1275.

[15] LI C G, LI Z Q, LIU S G, et al. Genome-wide association analysis identifies three new risk loci for gout arthritis in Han Chinese[J]. Nat Commun, 2015,6(13):1-6.

[16] SAKIYAMA M, MATSUO H, NAKAOKA H A, et al. Common variant of BCAS3 is associated with gout risk in Japanese population; the first replication study after gout GWAS in Han Chinese[J]. BMC Med Genet, 2018,19(96):1-6.

[17] 王静,李长贵. 原发性痛风易感基因 KCNQ1 基因的单核苷酸多态性对基因表达及单核细胞功能影响的研究[D]. 青岛:青岛大学,2017.

[18] YAMAGATA K, SENOKUCHI T, LU M, et al. Voltage-gated K⁺ channel KCNQ1 regulates insulin secretion in MIN6 β-cell line[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011,407(3):620-625.

[19] 周慧,李长贵. KCNQ1 在尿酸盐晶体引起单核巨噬细胞分泌 IL-1β 中的作用研究[D]. 青岛:青岛大学,2017.

[20] HAN L, CAO C W, JIA Z T, et al. Epidermal growth factor gene is a newly identified candidate gene for gout[J]. Sci Rep, 2016,8(10):10-17.

(收稿日期:2019-10-18 修回日期:2020-01-12)