

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.020
View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.020>

湖北恩施地区土家族人群 CYP4F2 基因多态性及血清硒含量与冠状动脉疾病的相关性

王勇，王贤恩，黄浩

(恩施土家族苗族自治州中心医院心血管内科中心，湖北恩施 445000)

[摘要] 目的：探讨湖北恩施地区土家族人群CYP4F2基因多态性与冠状动脉疾病(*coronary artery disease, CAD*)易感性的关系，以及血清硒水平与CYP4F2基因多态性在CAD发生中的交互作用。方法：采用成组病例-对照研究方法，选择湖北恩施地区土家族人群CAD患者100例，对照组人群100例，采用PCR检测CYP4F2基因多态性，氢化物发生原子荧光光谱法测定血清硒水平。结果：CAD组血清硒水平显著低于对照组；CYP4F2基因rs1558139与CAD风险无明显关系；rs2108622多态性与CAD风险有明显关系，携带CC基因型的患者发生CAD的风险增加，此外CYP4F2基因rs1558135多态性与CAD风险有明显关系，rs3093135位点携带A等位基因者患CAD风险降低。血清硒水平低与CYP4F2 rs2108622 CC基因型者在CAD发生中有正交互作用。结论：湖北恩施土家族人群血清硒水平与CAD发生负相关；血清硒水平低与CYP4F2 rs2108622 CC基因型者之间存在协同作用，使CAD发生的危险性显著增加。

[关键词] CYP4F2；硒；冠状动脉疾病

Association of CYP4F2 gene polymorphisms and serum selenium levels with coronary artery disease in Tujia ethnic group in Enshi, Hubei

WANG Yong, WANG Xian'en, HUANG Hao

(Center of Cardiovascular Medicine, Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi Hubei 445000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the relationship between the polymorphism of CYP4F2 gene and the susceptibility of coronary artery disease (CAD) in the Tujia population in Enshi, Hubei, and the interaction of serum selenium level and CYP4F2 gene polymorphism in the occurrence of CAD. **Methods:** A total of 100 cases of CHD were selected from the Tujia population in Enshi, Hubei, and 100 healthy subjects cases were served as controls. The polymorphism of CYP4F2 gene was detected by PCR, and the serum selenium level was measured by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Results:** The serum selenium level in the CAD group was significantly lower than that in the control group; the CYP4F2 gene rs1558139 was not significantly related to

the risk of CAD, and the rs2108622 polymorphism was significantly related to the risk of CAD. The risk of CAD was increased in the patients carrying the CC genotype, and the rs1558135 polymorphism of CYP4F2 gene was closely related to the risk of CAD. Patients with the rs3093135 gene carrying allele A had a lower risk of CAD. Low serum selenium level and CYP4F2 rs2108622 CC genotype play a positive role in the occurrence of CAD.

Conclusion: The serum selenium level is negatively correlated with CAD in Tujia ethnic group in Enshi, Hubei, and there is a synergistic effect between the serum selenium level and the CYP4F2 rs2108622 CC genotype, which significantly increases the risk of CAD.

Keywords CYP4F2; selenium; coronary artery disease

冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)是一种常见的心血管疾病(cardiovascular disorder, CVD), 在世界范围内的病死率较高^[1]。目前普遍认为CAD是一种涉及多因素多基因的疾病, 其中包括多种遗传和环境因素之间的复杂相互作用^[2-4]。近年来, 全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)为寻找可能增加CAD风险新的潜在基因提供了强有力的新工具。对CAD进行的最大GWAS的荟萃分析已经鉴定出与不同人群中的疾病易感性相关的多个基因, 并提供了该疾病的分子基础的见解^[5-6]。例如, GWAS数据显示某些单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP), 如CYP17A1 rs1004467或AT2B1 rs2681492与原发性高血压易感性有关。

CYP4F2基因位于人19号染色体上, 含有12个内含子和13个外显子^[7]。有几种常见的SNP, 如rs3093100, rs3093105, rs3093166, rs1558139和rs2108622^[7-8]。其中前4种的SNPs位于CYP4F2基因内含子区, 而rs2108622位于该基因的外显子区。CYP4F2蛋白属于人细胞色素P450超家族, 是生产20羟基二十碳烷花生四烯酸(20-hydroxy eicosane arachidonic acid, 20-HETE)的必需酶^[9-10], 并增加20-HETE水平与血管氧化应激、内皮功能障碍和高外周血管阻力^[11]。作为一种具有生物活性的二十碳五烯酸和治疗干预靶点, 20-HETE参与了多种血管事件, 如血压、肾功能、脑血流和肺循环的调节。

硒是许多酶的重要组成部分, 由于近些年研究^[12]发现硒在预防多种慢性疾病中的潜在作用而被广泛研究。硒缺乏可能会对免疫系统产生负面影响, 导致细菌和病毒感染的易感性^[13], 并增加致命性心肌病的风险。自从Salonen等^[14]发现硒与CAD风险之间存在负相关, 此后许多研究开始探索硒对CAD的影响。既往的动物研究^[15-16]已经证实硒有利于心肌和克山病的预防。一项横断面研究^[17]表明: 硒的补充可用于预防心血管疾病, 血

清硒水平的增高可能与代谢综合征和空腹血糖升高有关。

但是, 对于血清硒水平与CYP4F2基因多态性在CAD发生中的交互作用研究较少。故本研究开展一项病例-对照研究, 探讨血清硒水平与CYP4F2基因多态性在CAD发生中的交互作用。

1 对象与方法

1.1 对象

研究得到恩施州中心医院(以下简称“我院”)医学伦理委员会的批准, 被招募的参与者均签署知情同意书。本研究CAD患者均来自于我院心血管内科中心确诊的患者; 对照组来源于我院健康体检的人群。共计100例CAD患者和100例健康对照者, 研究时间为2015年10月至2018年1月。所有CAD患者均有临床症状或冠心病(心绞痛或心肌梗死)的病史, 血管造影证实的冠状动脉狭窄>50%。但是需要排除以下情况: 先天性心脏病、心肌病、恶性肿瘤、结缔组织病症、慢性炎症性疾病和肝肾疾病的临床体征或者病史。

1.2 血液标本采集

研究对象在进行静脉取血前均空腹8 h以上, 每人采集5 mL静脉血4管, 其中1管用于检测血清硒的水平, 另外3管用于检测CYP4F2基因多态性。

1.3 检测方法

将采集好的静脉血于室温凝固30 min, 离心3 000 r/min、持续15 min, 留取上清, 用氢化物发生原子荧光光谱法(GHAFS)测定血清硒的水平。另外1管静脉血于EDTA抗凝管中, 采用酚-氯仿抽提法提取外周血基因组。随后采用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)基因分型。

1.4 统计学处理

采用SPSS 16.0软件进行数据分析,计量资料指标进行正态性检验,两组间比较采用t检验或者方差分析进行组间分析。CTRP9基因多态性基因型和等位基因频率采用频率计数法计算,分析CAD组和对照组基因型频率分布是否符合Hardy-Weinberg平衡定律。基因型和等位基因分布频率差异采用logistic回归模型,校正混杂因素后计算风险比(OR值)及其95%可信区间(CI)。将血清硒按正常含量参考值[(0.079±0.03) mg/L]的上限0.109 mg/L为界值,将血清硒含量转化为计数资料,分析血清硒水平与CHD的关系。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

所有纳入的研究对象的临床资料见表1。CAD组与对照组相比,年龄、性别等方面差异无统计学意义($P>0.05$)。但是冠心病、高血压以及糖尿病的发病率CAD组显著高于对照组,差异有统计学

意义($P<0.05$)；此外,部分重要的临床生化指标(如血脂和空腹血糖),两组差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 CYP4F2 SNP与CAD风险的关联研究

本研究纳入对象的基因型频率分布符合人群分布($P<0.05$)。CYP4F2基因rs1558139与CAD风险无明显相关性；然而rs2108622多态性与CAD风险有明显相关性,携带CC基因型的患者发生CAD的风险增加；此外CYP4F2基因rs1558135多态性与CAD风险有明显相关性,rs3093135位点携带A等位基因者患CAD风险降低(表2)。

2.3 血清硒水平比较及其与CAD关系的分析

CAD组血清硒水平(0.071 ± 0.013)明显低于对照组(0.124 ± 0.018),差异有统计学意义($t=2.05$, $P=0.01$)。

血清硒降低组(<0.109 mg/L)患CAD的危险性显著高于血清硒升高组(≥0.109 mg/L),差异有统计学意义($OR=4.33$, 95%CI 1.72~8.41, $P=0.02$ ；表3)。

表1 CAD组与对照组基线资料比较(n=100)

Table 1 Comparison of baseline data between the CAD group and the control group (n=100)

组别	性别 (男/女)	年龄/岁	BMI/(kg·m ⁻²)	收缩压/mmHg	舒张压/mmHg	总胆固醇/ (mmol·L ⁻¹)	三酰甘油/ (mmol·L ⁻¹)	空腹血糖/ (mmol·L ⁻¹)	糖尿病 发生率/%
对照组	61/39	61.63 ± 10.12	22.19 ± 5.12	129.45 ± 18.47	84.53 ± 12.73	4.02 ± 0.86	1.44 ± 0.43	5.17 ± 2.01	10
CAD组	67/33	63.41 ± 11.50	23.75 ± 8.52	158.11 ± 16.22	98.22 ± 15.31	4.04 ± 1.10	1.84 ± 0.77	7.02 ± 2.27	52
χ^2/t	1.74	-1.53	-1.02	-5.55	-3.74	-1.14	-1.92	-4.96	3.27
P	0.89	0.27	0.19	<0.01	0.01	0.83	0.02	0.02	<0.01

1 mmHg=0.133 kPa

表2 CYP4F2基因多态性与CAD易感性的联系(n=100)

Table 2 Association of CYP4F2 gene polymorphism with CAD susceptibility (n=100)

组别	rs1558139			rs2108622			rs3093135		
	AA	AG	GG	CC	CT	TT	AA	AT	TT
对照组	33	40	27	45	40	15	47	43	10
CAD组	36	42	22	53	30	17	29	48	23
OR(95%CI)	1.04 (0.58~1.73)	1.12 (0.71~2.18)	1.43 (0.49~1.82)	3.86 (1.58~7.34)	2.23 (0.79~5.83)	1.32 (0.58~3.22)	5.42 (2.11~12.04)	1.54 (0.49~4.45)	2.63 (0.88~6.16)
P	0.85	0.67	0.72	0.02	0.08	0.12	0.01	0.54	0.07

表3血清硒水平与CAD的关系

Table 3 Relationship between serum selenium levels and CAD

组别	血清硒水平		χ^2	OR	P
	<0.109 mg/L	≥0.109 mg/L			
对照组	43	57	11.05	4.33 (1.72~8.41)	0.02
CAD组	78	22			

2.4 血清硒水平与CYP4F2基因rs2108622多态在CAD发生中交互作用

本研究发现CYP4F2 rs2108622多态性与CAD风险有明显相关性，携带CC基因型的患者发生CAD的风险增加。故本研究选择rs2108622位点进一步研究血清硒在CAD发生中的交互作用。

以血清硒<0.109 mg/L和携带CYP4F2 rs2108622基因型CC视为暴露，与血清硒≥0.109 mg/L且拥有CYP4F2基因rs2108622 CT基因型相比，仅暴露于携带CYP4F2 rs2108622 CC基因型者CAD发生的危险性增加1.38倍，仅暴露于血清硒<0.109 mg/L者CAD发生的危险性增加5.56倍，同时暴露于血清硒<0.109 mg/L和携带CYP4F2基因rs2108622 CC基因型者CAD发生的危险性增加7.36倍，差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

CAD的发病涉及遗传和环境等多种因素，年龄、性别、吸烟、肥胖、高血压、糖尿病以及家族遗传史等被认为是常见的危险因素。但是随着研究的进一步深入，越来越多的新的遗传因素逐渐被发现，如炎症、载脂蛋白等^[18]。

CYP4F2基因是高度多态，并已经成为心血管疾病遗传关联研究的有吸引力的候选基因。在亚洲人群中进行的研究都具有显著的地方分布特性，如针对云南^[19]和重庆^[20]地区等，或者针对某一少数民族^[21]的研究。但是这些研究(包括国内和国外研究)的结果并没有达成一致。其原因可能正是由于CAD的发病由遗传和环境等综合影响。甚至有部分研究^[8,20]的结果结论存在较大分歧，人群的种族、性别、年龄等多种因素均可以导致结论的不一致。因此需要进一步调查CYP4F2基因多态性与独立的种族和民族群体CAD风险之间的关系。

CYP4F2的一级结构的这种变化影响酶活性，

导致药物代谢、生理学和病理生理学的改变。既往研究^[22]通过全基因组关联分析确定rs2108622是日本人对华法林反应性的遗传决定因素。CAD是由环境和遗传因素之间的相互作用引起的。本研究选择了一个重要的人类代谢酶P450基因家族成员CYP4F2基因作为病例-对照研究的候选基因，发现CYP4F2基因中的RS2108622和rs3093135与CAD的危险性显著相关。

Singh等^[23]发现雄激素诱导的CYP4A8表达降低了CYP2C23的表达，并增加了20-HETE的产量，然后环氧苯三甲酸减少，从而影响血管收缩，这一结果在另一项研究^[24]中也得到了证实。然而，CAD易感性的确切机制尚不清楚。不仅如此，CYP4F2的多态性还与其他心脑疾病相关，例如缺血性卒中^[25]、支架血栓形成^[26]等。

一项纳入了16个研究的荟萃分析^[27]结果发现补充硒降低了血清CRP和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)水平。CRP是一种主要的炎症生物标志物，一直被认为是CAD的重要危险因素^[28]，因为CRP水平直接与冠状动脉、大脑和外周动脉硬化的存在和严重程度相关^[29]。既往流行病学研究^[30]描述了CRP水平升高与CAD风险增加的关联。

硒对CAD发病的影响主要包括：1)改善炎症反应和血管内皮损伤；2)抗氧化应激和抗脂质过氧化；3)缓解血管钙化和血小板聚集。目前尚未由足够证据阐明血清硒的水平与CYP4F2基因多态性存在交互作用的机制，其机制可能主要是由于硒与CYP4F2基因均涉及了炎症、血管收缩等过程。

总之，本研究将血清硒的水平联系CYP4F2基因多态性进行分析后发现血清硒与CYP4F2 rs2108622基因多态间存在正交互作用。提示血清硒水平低与携带基因型CYP4F2 rs2108622 CC在CAD的发生中可能存在协同作用，但具体机制有待进一步研究。

参考文献

1. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Heart disease and stroke statistics—2012 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2012, 125(1): e2-e220.
2. Poulter N. Coronary heart disease is a multifactorial disease[J]. Am J Hypertens, 1999, 12(10 Pt 2): 92S-95S.
3. Yang C, Wang X, Ding H. Is coronary artery disease a multifactorial inherited disorder with a sex-influenced trait?[J]. Med Hypotheses, 2008, 71(3): 449-452.
4. Arnett DK, Baird AE, Barkley RA, et al. Relevance of genetics and genomics for prevention and treatment of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention, the Stroke Council, and the Functional Genomics and Translational[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 115(22): 2878-2901.
5. CARDIoGRAMplusC4D Consortium, Deloukas P, Kanoni S, et al. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease[J]. Nat Genet, 2013, 45(1): 25-33.
6. Nikpay M, Goel A, Won HH, et al. A comprehensive 1,000 Genomes-based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease[J]. Nat Genet, 2015, 47(10): 1121-1130.
7. Fu Z, Nakayama T, Sato N, et al. Haplotype-based case-control study of the human CYP4F2 gene and essential hypertension in Japanese subjects[J]. Hypertens Res, 2008, 31(9): 1719-1726.
8. Yu C, Yan Q, Fu C, et al. CYP4F2 genetic polymorphisms are associated with coronary heart disease in a Chinese population[J]. Lipids Health Dis, 2014, 13:83.
9. Waldman M, Peterson SJ, Arad M, et al. The role of 20-HETE in cardiovascular diseases and its risk factors[J]. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2016, 125: 108-117.
10. Wu CC, Gupta T, Garcia V, et al. 20-HETE and blood pressure regulation: clinical implications[J]. Cardiol Rev, 2014, 22(1): 1-12.
11. Hoopes SL, Garcia V, Edin ML, et al. Vascular actions of 20-HETE[J]. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2015, 120: 9-16.
12. Benstoem C, Goetzenich A, Kraemer S, et al. Selenium and its supplementation in cardiovascular disease—what do we know?[J]. Nutrients, 2015, 7(5): 3094-3118.
13. Lei C, Niu X, Ma X, et al. Is selenium deficiency really the cause of Keshan disease?[J]. Environ Geochem Health, 2011, 33(2): 183-188.
14. Salonen JT, Alftan G, Huttunen JK, et al. Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in a matched-pair longitudinal study[J]. Lancet, 1982, 2(8291): 175-179.
15. Beck MA, Levander OA, Handy J. Selenium deficiency and viral infection[J]. J Nutr, 2003, 133(5 Suppl 1): 1463S-1467S.
16. Jun EJ, Ye JS, Hwang IS, et al. Selenium deficiency contributes to the chronic myocarditis in coxsackievirus-infected mice[J]. Acta Virol, 2011, 55(1): 23-29.
17. Yuan Z, Xu X, Ye H, et al. High levels of plasma selenium are associated with metabolic syndrome and elevated fasting plasma glucose in a Chinese population: A case-control study[J]. J Trace Elem Med Biol, 2015, 32: 189-194.
18. 李刚, 周兴文. 新的冠心病危险因素[J]. 心血管病学进展, 2005, 26(3): 266-271.
19. 王晓焕, 张云坤, 傅薇, 等. CYP4F2基因多态性与云南汉族人群冠心病的相关性研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2017, 42(5): 565-567. WANG Xiaohuan, ZHANG Yunkun, FU Wei, et al. Study of the correlation between the gene polymorphism of CYP24F2 and coronary heart disease in Yunnan Han population[J]. Journal of Bengbu Medical College, 2017, 42(5): 565-567.
20. 但三利, 林润英, 邹晓霞. CYP4F2基因多态性及其单体型与重庆汉族人群冠心病的相关性[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2009, 11(7): 505-508. DAN Sanli, LIN Runying, ZOU Xiaoxia. Association of CYP4F2 gene polymorphism and haplotypes with coronary heart disease in Chongqing Han[J]. Chinese Journal of Geriatric Heart Brain & Vessel Diseases, 2009, 11(7): 505-508.
21. 赵平, 常培叶, 南景龙, 等. CYP4F2基因多态性与蒙古族冠心病的相关性研究[J]. 心血管康复医学杂志, 2016, 25(1): 18-21. ZHAO Ping, CHANG Peiy, NAN Jinglong, et al. Research for correlation between CYP4F2 gene polymorphism and coronary heart disease in Mongolian patients[J]. Chinese Journal of Cardiovascular Rehabilitation Medicine, 2016, 25(1): 18-21.
22. Cha PC, Mushiroda T, Takahashi A, et al. Genome-wide association study identifies genetic determinants of warfarin responsiveness for Japanese[J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(23): 4735-4744.
23. Singh H, Schwartzman ML. Renal vascular cytochrome P450-derived eicosanoids in androgen-induced hypertension[J]. Pharmacol Rep, 2008, 60(1): 29-37.
24. Fava C, Montagnana M, Almgren P, et al. The V433M variant of the CYP4F2 is associated with ischemic stroke in male Swedes beyond its effect on blood pressure[J]. Hypertension, 2008, 52(2): 373-380.
25. Deng SM, Gang Z, Fang L, et al. CYP4F2 gene V433M polymorphism is associated with ischemic stroke in the male Northern Chinese Han population[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2010, 34(4): 664-668.
26. Kupstyte N, Zaliunas R, Tatarunas V, et al. Effect of clinical factors and gene polymorphism of CYP2C19*2, *17 and CYP4F2*3 on early stent thrombosis[J]. Pharmacogenomics, 2015, 16(3): 181-189.

27. Ju W, Li X, Li Z, et al. The effect of selenium supplementation on coronary heart disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. J Trace Elem Med Biol, 2017, 44: 8-16.
28. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, et al. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group[J]. Lancet, 1997, 349(9050): 462-466.
29. Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis[J]. Circulation, 2001, 103(9): 1194-1197.
30. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease[J]. N Engl J Med, 2004, 350(14): 1387-1397.

本文引用: 王勇, 王贤恩, 黄浩. 湖北恩施地区土家族人群CYP4F2基因多态性及血清硒含量与冠状动脉疾病的的相关性[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(10): 2177-2182. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.020

Cite this article as: WANG Yong, WANG Xian'en, HUANG Hao. Association of CYP4F2 gene polymorphisms and serum selenium levels with coronary artery disease in Tujia ethnic group in Enshi, Hubei[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2018, 38(10): 2177-2182. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.10.020