

文章编号: 1005-8982(2014)M20141285-CZ

## P47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子多态性与 湖南省汉族人群脑梗死的相关研究\*

黄晓松<sup>1</sup>, 罗银利<sup>1</sup>, 谭李红<sup>1</sup>, 陈媛<sup>2</sup>

(1.湖南省第二人民医院,湖南 长沙 410007;2.湖南省中医药大学研究生教育学院,湖南 长沙 410007)

**摘要:**目的 探讨 P47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子 G338A(Arg90His)和 G457A(Thr129Thr)多态性与湖南省汉族人群脑梗死的相关性。方法 采用 PCR-单链构象多态技术和 DNA 直接测序法检测湖南省汉族人群散发性脑梗死患者 110 例、10 个脑梗死家系成员 110 例及 100 例健康对照组的 P47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子 G338A 和 G457A 多态性。酶法测定总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),免疫比浊法测定 apoA-I 及 apoB100,ELISA 法测定 Lp(a)血清水平。结果 p47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子 G338A 多态存在 GG、GA 和 AA 3 种基因型,脑梗死组及其各亚型组 G338A 多态 A 等位基因频率分布与对照组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );G457A 多态存在 GG 和 GA 两种基因型,脑梗死组及其各亚型组 G457A 多态基因频率分布与对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );脑梗死组及其各亚型组血清 TC、TG、LDL-c 及 Lp(a)水平明显高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );组内不同基因型间血脂、脂蛋白水平与对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 p47<sup>phox</sup> 基因 G338A 多态 A 等位基因可能是脑梗死,特别是有高血压病性和糖尿病性脑梗死患者的一个危险因素;G457A 多态可能与脑梗死的发病无关。p47<sup>phox</sup> 基因 G338A 和 G457A 多态性与血脂代谢可能有关。

**关键词:** 脑梗死;P47<sup>phox</sup>;第 4 外显子;基因多态性;血脂

中图分类号:

文献标识码:

## Study of the Relationship between the Polymorphisms of P47<sup>phox</sup> Gene Exon 4 and Cerebral Infarction in Hunan Han Population\*

Xiao-song HUANG<sup>1</sup>, Yin-li LUO<sup>1</sup>, Li-hong TAN<sup>1</sup>, Yuan CHEN<sup>2</sup>

(1. The Second People's Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410007, P.R. China;

2. Graduate School of Education, Huan University of Chinese Medicine,  
Changsha, Hunan 410007, P.R. China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the relationship between polymorphisms of G338A (Arg90His) and G457A (Thr129Thr) of p47<sup>phox</sup> gene exon 4 and cerebral infarction in Hunan Han population. [Methods] The G338A and G457A polymorphisms of p47<sup>phox</sup> gene exon 4 in 110 patients with cerebral infarction(CI), 100 sex and age-matched healthy controls, and 10 CI pedigrees from Hunan Han population were determined by PCR-single strand conformation polymorphism analysis and DNA sequencing. The TC, TG, HDL-C and LDL-C were tested using enzymatic method, apoA-I and apoB100 were measured with immunoturbidimetry, and Plasma lipid levels were measured by ELISA method. [Results] Three gene types, GG, GA and AA were found in the G338A polymorphism site of p47<sup>phox</sup> gene exon 4. Statistically significant differences were found in the frequencies of A allele of G338A polymorphism between the CI groups and the control group ( $P < 0.01$ ).

收稿日期:2014-06-26

\* 基金项目:湖南省卫生厅资助课题(No:B2010-086)

[通信作者] 谭李红, E-mail: tanlihong118@163.com; Tel: 15907313363

Two gene types, GG and GA were found in the G457A polymorphism site of p47<sup>phox</sup> gene exon 4. No statistically significant differences were found in the frequencies of genotypes and alleles of G457A polymorphism between the CI groups and the control group ( $P>0.05$ ). The serum levels of TC, TG, LDL-c and Lp (a) of the CI groups were markedly higher than the control group ( $P<0.01$ ). [Conclusions] A allele in G338A polymorphism of p47<sup>phox</sup> gene exon 4 of may be one of the risk factors of CI patients, especially the CI patients accompanied with hypertension or diabetes. The gene G457A is probably not related with the onset of CI. The G338A and G457A polymorphisms of p47<sup>phox</sup> gene are probably associated with plasma lipid metabolism.

Key words: cerebral infarction; p47<sup>phox</sup>; exon 4; gene polymorphism; plasma lipid

缺血性脑卒中已成为严重威胁人类健康的常见病和多发病,遗传因素在其发病过程中发挥着重要的作用<sup>[1]</sup>。P47<sup>phox</sup> 是 NAD(P)H 氧化酶一个重要的亚基,在诱导 NAD(P)H 氧化酶活化,产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)的过程中发挥重要作用<sup>[2]</sup>,而活性氧是缺血性脑卒中、高血压等血管性疾病发病的危险因素<sup>[3-8]</sup>。P47<sup>phox</sup> 基因的编码区存在多种遗传多态位点,其中位于第 4 外显子的 G338A(Arg 90His)和 G457A(Thr129Thr)多态性与 ROS 的产生密切相关。本研究采用 PCR-单链构象多态技术和 DNA 直接测序法检测湖南省汉族散发性脑梗死患者、脑梗死家系成员及正常人群的 P47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子 G338A 和 G457A 多态性,从而探讨其与脑梗死的相关性及对血脂代谢的影响。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

1.1.1 正常对照组 无血缘关系的正常健康人共 100 例,其中男 54 例,女 46 例。最大年龄 75 岁,最小年龄 21 岁,平均(56.3±13.2)岁。均为湖南省第二人民医院健康体检人员,病史询问无脑卒中家族史,无肝、肾、血液病、自身免疫性疾病和甲状腺病史。

1.1.2 散发性脑梗死组 无家族聚集现象的散发性脑梗死患者共 110 例,男 63 例,女 47 例。最大年龄 86 岁,最小年龄 32 岁,平均(57.2±13.5)岁。其中脑血管形成组(cerebral thrombosis, CT)及腔隙性脑梗死组(lacunar infarction, LI)分别为 77 例和 33 例;有高血压的脑梗死组(HBP+CI)及无高血压的脑梗死组(非 HBP+CI)分别为 78 和 32 例;有糖尿病的脑梗死组(DM+CI)及无糖尿病的脑梗死组(非 DM+CI)分别为 10 和 100 例。均为湖南省第二人民医院神经内科 2012 年 6 月~2014 年 1 月住院和门诊患者。所有病例均符合 1995 年全国第四次脑血管疾病学术会议修订的诊断标准<sup>[9]</sup>,经头颅 CT 或 MRI 确诊。不包括心源性、动脉炎、外伤、血液病、药物、肿瘤、脑

血管畸形或动脉瘤等引起的脑卒中;排除患有严重肝肾疾病、甲状腺疾病、血液病和最近 3 个月服用雌激素患者,近 2 周均未服用降血脂药和抗凝药。

1.1.3 脑梗死家系组 收集 10 个脑梗死家系共包括成员 110 例,先证者为湖南省第二人民医院神经内科 2012 年 6 月~2014 年 1 月住院和门诊,男 61 例,女 49 例,最大年龄 78 岁,最小年龄 15 岁,平均(55.4±12.6)岁。其中患病者 42 例,未患病者 68 例。

### 1.2 方法

①人基因组 DNA 样品的制备:抽取研究对象外周静脉血 4 ml,肝素抗凝,用常规酚/氯仿抽提法提取 DNA。②P47<sup>phox</sup> 基因型检测:扩增 P47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子的引物经 Primer Premier 5.0 软件设计,所得引物序列为:正向引物:5'-TCCCAAGTGGTTTGACGG-3';反向引物:5'-CCTCCTCTTTCTGGCTGTG-3'。反应在 PE4800 型 PCR 仪上进行,反应条件为:94℃预变性 5 min,93℃变性 40 s,56℃复性 30 s,72℃延伸 1 min,30 个循环后,72℃充分延伸 10 min,反应管冷却至 4℃。③单链构象多态(SSCP)分析:取 4 μl PCR 产物经 8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测产物,如特异性好,则将 PCR 产物加等量 2×变性载样缓冲液,混合后 95℃变性 10 min,然后立即置冰上 5 min,取 8 μl 上样于含 5%甘油的 8%49:1 的中性聚丙烯酰胺凝胶中,160 V 电压 4℃电泳 10 h,电泳结束后采用银染法染色并拍照。选取中性聚丙烯酰胺凝胶电泳中有异常泳带的阳性样本进行正反向测序。测序结果在 GenBank 和 SNP 数据库中进行比较分析。④血脂和脂蛋白的测定:采用氧化酶法测定甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL);免疫比浊法测定载脂蛋白 A-I(apoA-I)及载脂蛋白 B100(apoB100);ELISA 法测定血清脂蛋白 a[Lp(a)]水平。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析,所有资料在 Dbase 软件中建立数据库,等位基因频率=(2×

纯合子 + 杂合子)/(2 × 受检人数), 基因型频率和等位基因频率的差异用  $\chi^2$  检验或有关校正方法。按 Hardy-Weinberg 平衡法检验样本的群体代表性。组间血脂比较用 *t* 检验, 不同基因型亚组间血脂比较用 ANOVA 方差分析及 LSD-*t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 脑梗死组和对照组的临床特点

脑梗死组、脑梗死家系组中有高血压病史、糖尿病病史者高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 脑梗死组和脑梗死家系组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 3 组在年龄、

性别构成、体重指数、吸烟及饮酒史差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (见表 1)。

### 2.2 P47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子 G338A 多态性分析

P47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子 G338A 有 3 种不同的电泳图谱, 经测序后证实分别为 GG, GA 和 AA 3 种基因型 (见图 1~3)。

### 2.3 P47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子 G457A 多态性分析

P47<sup>phox</sup> 基因第 4 外显子 G457A 有两种不同的电泳图谱, 经测序后证实分别为 GG 和 GA 两种基因型 (见图 4~5)。

### 2.4 P47<sup>phox</sup> 基因 G338A 多态分布

脑梗死组与对照组基因型及等位基因频率分布

表 1 脑梗死组和对照组临床资料比较

组别	例数	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$ )	男 / 女 / 例	体重指数 / ( $\bar{x} \pm s$ )	吸烟人数 [例(%)]	饮酒人数 [例(%)]	高血压病史 [例(%)]	糖尿病病史 [例(%)]
脑梗死组	110	57.2 ± 13.5	63/47	25.1 ± 3.3	8.1(9)	9.1(10)	70.9(78) <sup>†</sup>	9.1(10) <sup>†</sup>
脑梗死家系组	110	55.4 ± 12.6	61/49	24.1 ± 3.5	8.1(9)	7.3(8)	69.1(76) <sup>†</sup>	9.1(10) <sup>†</sup>
对照组	100	56.3 ± 13.2	54/46	23.8 ± 2.3	7.0(7)	7.0(7)	4.0(4)	2.0(2)

注: † 与对照组比较,  $P < 0.01$

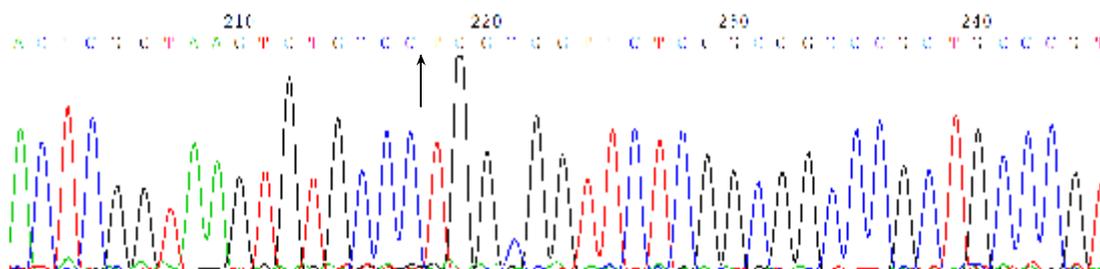


图 1 G338A(Arg90His)GG 基因型反向测序图 (箭头所指)

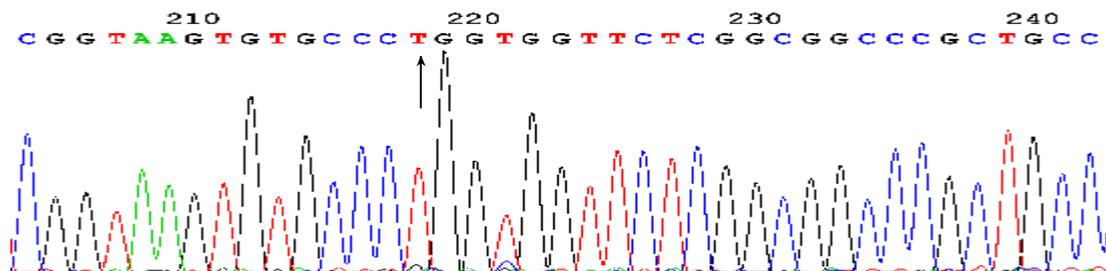


图 2 G338A(Arg90His)GA 基因型反向测序图 (箭头所指)

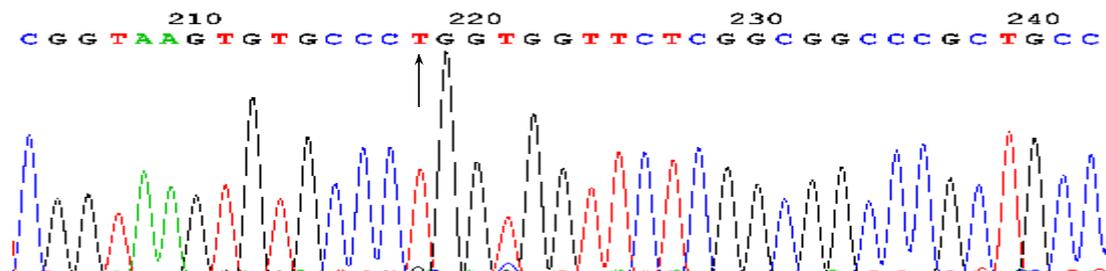


图 3 G338A(Arg90His)AA 基因型反向测序图 (箭头所指)

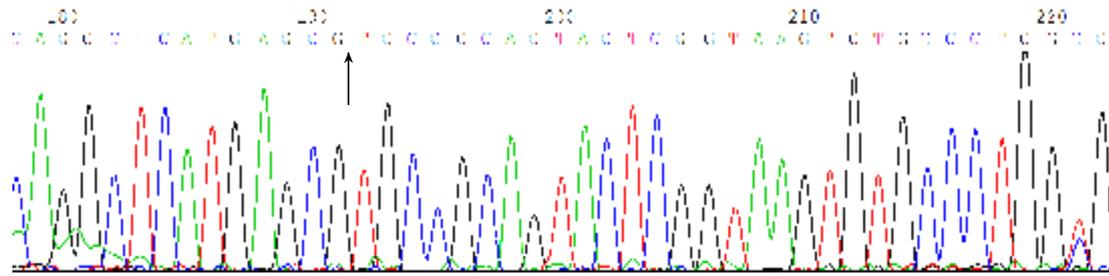


图 4 G457A( Thr129Thr)GG 基因型反向测序图(箭头所指)

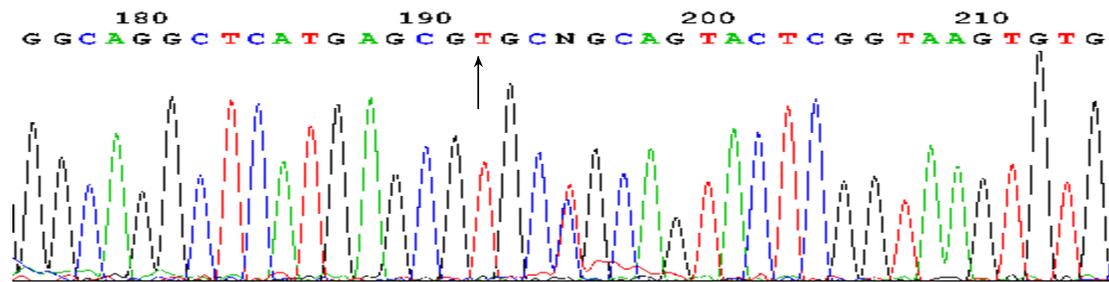


图 5 G457A( Thr129Thr)GA 基因型反向测序图(箭头所指)

均符合 Hardy-Weinberg 平衡检验 ( $P>0.05$ )。脑梗死组及其各亚型组、脑梗死家系组中患病与未患病与对照组 G338A 多态 A 等位基因频率分布比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.01$ ) (见表 2)。

2.5 P47<sup>phox</sup> 基因 G457A 多态分布

脑梗死组与对照组基因型及等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡检验 ( $P>0.05$ )。脑梗死组及其两组各自亚型组与对照组 G457A 多态基因

频率分布比较,差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ) (见表 3)。

2.6 P47<sup>phox</sup> 基因 G338A 和 G457A 多态对血脂、脂蛋白水平的影响

脑梗死组血清 TC、TG、LDL-c 及 Lp(a)水平明显高于对照组,其差异有统计学意义 ( $P<0.01$ );组内不同基因型间血脂、脂蛋白水平与对照组比较,其差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表 4~5。

表 2 脑梗死组亚型间 p47<sup>phox</sup> 基因 4 号外显子 G338A( Arg90His )多态分布

组别	例数	基因型 / 例 (%)		等位基因 / 例 (%)	
		GG	GA+AA	G	A
脑梗死组	110				
CT 组	77	55(71.4)	22(28.6)	0.838	0.162 <sup>†</sup>
LI 组	33	24(72.7)	9(27.3)	0.864	0.136
HBP+CI 组	78	51(65.4)	27(34.6)	0.628	0.372 <sup>†</sup>
非 HBP+CI 组	32	28(87.5)	4(12.5)	0.844	0.156
DM+CI 组	10	7(70.0)	3(30.0)	0.750	0.250 <sup>†</sup>
非 DM+CI 组	100	71(72.0)	28(28.0)	0.855	0.145
脑梗死家系组	110				
患病组	39	29(74.4)	10(25.6)	0.847	0.153 <sup>†</sup>
未患病组	71	60(84.5)	9(15.5)	0.897	0.103 <sup>†</sup>
对照组	100	89(89.0)	11(11.0)	0.935	0.065

注:CT 组:脑血栓形成组;LI 组:腔隙性脑梗死组;HBP+CI 组:有高血压的脑梗死组;非 HBP+CI 组:无高血压的脑梗死组;DM+CI 组:有糖尿病的脑梗死组;非 DM+CI 组:无糖尿病的脑梗死组;† 与对照组比较,  $P<0.01$

表 3 脑梗死组亚型间 p47<sup>phox</sup> 基因 4 号外显子 G457A( Thr129Thr)多态分布

组别	例数	基因型 / 例(%)		等位基因 / 例(%)	
		GG	GA	G	A
脑梗死组	110				
CT 组	77	70(90.9)	7(9.1)	0.954	0.046
LI 组	33	30(90.9)	3(9.1)	0.954	0.046
HBP+CI 组	78	70(89.7)	8(10.3)	0.949	0.051
非 HBP+CI 组	32	30(93.7)	2(6.3)	0.969	0.031
DM+CI 组	10	9(90.0)	1(10.0)	0.950	0.050
非 DM+CI 组	100	91(91.0)	9(9.0)	0.055	0.045
脑梗死家系组	110				
患病组	39	36(92.3)	3(7.7)	0.959	0.041
未患病组	71	65(91.5)	6(8.5)	0.946	0.054
对照组	100	92(92.0)	8(8.0)	0.960	0.040

注:CT 组:脑血栓形成组;LI 组:腔隙性脑梗死组;HBP+CI 组:有高血压的脑梗死组;非 HBP+CI 组:无高血压的脑梗死组;DM+CI 组:有糖尿病的脑梗死组;非 DM+CI 组:无糖尿病的脑梗死组;† 与对照组比较, P>0.05

表 4 脑梗死组 p47<sup>phox</sup> 基因 G338A( Arg90His)不同等位基因对血脂和脂蛋白水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	基因型 / 例	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	ApoAI/(g/L)	apoB100/(g/L)	LP(a)/(g/L)
脑梗死组	GG(79)	4.83 ± 1.06 <sup>†</sup>	1.67 ± 0.73 <sup>†</sup>	1.17 ± 0.35	2.73 ± 0.91 <sup>†</sup>	1.02 ± 0.35	1.06 ± 0.34	0.23 ± 0.16 <sup>†</sup>
	GA 或 AA(31)	4.95 ± 0.96 <sup>†</sup>	1.74 ± 0.87 <sup>†</sup>	1.06 ± 0.41	2.87 ± 0.81 <sup>†</sup>	1.12 ± 0.34	1.15 ± 0.27	0.31 ± 0.18 <sup>†</sup>
合计	110	4.90 ± 1.01 <sup>†</sup>	1.70 ± 0.83 <sup>†</sup>	1.13 ± 0.31	2.79 ± 0.75 <sup>†</sup>	1.05 ± 0.25	1.13 ± 0.21	0.27 ± 0.21 <sup>†</sup>
对照组	GG(89)	4.28 ± 0.91	1.33 ± 0.63	1.25 ± 0.39	2.31 ± 0.67	1.01 ± 0.33	0.92 ± 0.31	0.19 ± 0.13
	GA 或 AA(11)	4.32 ± 1.01	1.27 ± 0.58	1.21 ± 0.41	2.19 ± 0.81	0.97 ± 0.25	1.04 ± 0.45	0.24 ± 0.22
合计	100	4.30 ± 0.85	1.30 ± 0.63	1.23 ± 0.32	2.26 ± 0.73	0.99 ± 0.28	0.97 ± 0.21	0.21 ± 0.13

注:† 与同一基因型不同组间比较, P<0.01

表 5 脑梗死组 p47<sup>phox</sup> 基因 G457A( Thr129Thr)多态不同等位基因对血脂和脂蛋白水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	基因型 / 例	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	ApoAI/(g/L)	apoB100/(g/L)	LP(a)/(g/L)
脑梗死组	GG(100)	4.85 ± 1.15 <sup>†</sup>	1.66 ± 0.82 <sup>†</sup>	1.19 ± 0.51	2.76 ± 0.95 <sup>†</sup>	1.03 ± 0.32	1.09 ± 0.38	0.24 ± 0.12 <sup>†</sup>
	GA 或 AA(10)	4.94 ± 0.93 <sup>†</sup>	1.72 ± 0.92 <sup>†</sup>	1.07 ± 0.64	2.83 ± 0.73 <sup>†</sup>	1.08 ± 0.51	1.14 ± 0.23	0.29 ± 0.17 <sup>†</sup>
合计	110	4.90 ± 1.01 <sup>†</sup>	1.70 ± 0.83 <sup>†</sup>	1.13 ± 0.31	2.79 ± 0.75 <sup>†</sup>	1.05 ± 0.25	1.13 ± 0.21	0.27 ± 0.21 <sup>†</sup>
对照组	GG(92)	4.27 ± 0.81	1.26 ± 0.75	1.27 ± 0.34	2.24 ± 0.62	0.93 ± 0.43	0.93 ± 0.34	0.19 ± 0.15
	GA(8)	4.33 ± 0.96	1.35 ± 0.67	1.21 ± 0.46	2.29 ± 0.71	1.05 ± 0.29	1.03 ± 0.42	0.23 ± 0.12
合计	100	4.30 ± 0.85	1.30 ± 0.63	1.23 ± 0.32	2.26 ± 0.73	0.99 ± 0.28	0.97 ± 0.21	0.21 ± 0.13

注:† 与同一基因型不同组间比较, P<0.01

### 3 讨论

NADPH 氧化酶即尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(磷酸)氧化酶,又称还原型辅酶 II 氧化酶,其由催化亚基 gp91<sup>phox</sup>, 跨膜亚基 p22<sup>phox</sup>, 胞浆亚基 p47<sup>phox</sup>、p67<sup>phox</sup>、p40<sup>phox</sup>、小 G 蛋白 Rac 和 Rap1A 等组成的酶复合体。研究发现<sup>[10]</sup>,NADPH 氧化酶可能是体内生成

ROS 的主要酶体。当细胞受到刺激后,细胞质亚基 p47<sup>phox</sup> 转位至胞膜,与膜上亚基结合激活 NADPH 氧化酶<sup>[11]</sup>,激活后的 NADPH 氧化酶经过系列反应产生 ROS。可见,ROS 的产生过程 p47<sup>phox</sup> 发挥了始动功能<sup>[12]</sup>。p47<sup>phox</sup> 即吞噬细胞氧化酶 47 千道尔顿蛋白质,又名嗜中性粒细胞胞质因子 1[Neutrophil Cytosol

Factor 1(NCF-1)],其功能区由 5 个功能域组成,翻译产物是一个长度为 399 个氨基酸的片段<sup>[13]</sup>。目前研究发现,ROS 可刺激内皮细胞释放血管细胞黏附分子(vascular cell adhesion molecule-1,VCAM-1)、单核细胞趋化因子(monocyte chemoattractant protein,MCP-1)等细胞因子,使单核细胞向血管壁聚集,形成泡沫细胞,反过来泡沫细胞又可以释放 O<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。另外,中等量的 ROS 产物可作为细胞内的第二信使,通过激活血管平滑肌细胞与生长相关的信号传导系统引起血管平滑肌细胞的增生;并通过调节平滑肌基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的活性,参与血管重塑及引起斑块破裂<sup>[14-16]</sup>,因此它与血管性疾病的发生有密切关系。也有研究发现活性氧与缺血性卒中、动脉粥样硬化的形成、高血压、高脂血症、糖尿病等疾病密切相关,是血管性疾病的危险因素<sup>[3-8]</sup>。可见,p47<sup>phox</sup> 与高血压病、动脉粥样硬化形成和缺血性卒中等血管性疾病和糖尿病、高脂血症密切相关。若编码 NAD(P)H 氧化酶亚单位的基因多态性或基因突变使 ROS 生成增加,就可能通过直接氧化作用和间接作为第二信使参与信号转导加速动脉粥样硬化形成、高血压病、糖尿病和高脂血症的发生与发展,从而使其对脑卒中的易感性增加。

P47<sup>phox</sup> 在 ROS 产生过程中的功能 PX 区和两个 SH-3 区密切相关,而第 4 号外显子上 G338A(Arg90His)、G457A(Thr129Thr)多态是其中的多态位点。本研究结果显示,在中国湖南省汉族人群中 G338A(Arg90His)多态位点有 GG、GA 和 AA 3 种基因型;G457A(Thr129Thr)多态位点有 GG、GA 两种基因型,未发现 AA 基因型。目前此两个多态位点在不同人种的分布情况国内外尚未见报道,并且 G457A(Thr129Thr)为首次发现的新多态位点。在研究 P47<sup>phox</sup> 第 4 外显子多态位点与湖南汉族人群脑梗死相关性中发现,脑梗死组及其各亚型组、脑梗死家系中患病组与未患病组 G338A 多态 A 等位基因频率分布与对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。脑梗死组及其各亚型组、脑梗死家系中患病组与未患病组 G457A 多态基因频率分布与对照组比较,其差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。以上结果提示 p47<sup>phox</sup> 基因 G338A 多态 A 等位基因可能是脑梗死,尤其是有高血压病的、有糖尿病的脑梗死患者的一个危险因素;P47<sup>phox</sup> 基因 G457A 多态性可能与脑梗死无关。另外发现,脑梗死组及其各亚型组血清 TC、TG、

LDL-c 及 Lp(a)水平明显高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );组内不同基因型间血脂、脂蛋白水平与对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。可见,湖南省汉族人群 P47<sup>phox</sup> 基因第 4 号外显子多态性可能与血脂代谢有关。

笔者推测可能是 P47<sup>phox</sup> 基因第 4 号外显子 G338A 多态 A 等位基因的表达,导致 338 位点密码子突变(G→A),发生非同义突变,将精氨酸置换为组氨酸,从而引起脑梗死患者 P47<sup>phox</sup> 分子结构改变,导致活性氧的产生功能增强,产生过多的活性氧。过多的 ROS 通过直接氧化作用和间接作为第二信使参与信号传递加速动脉粥样硬化形成、高血压病和糖尿病的发生与发展,从而使其对脑梗死的易感性增加。P47<sup>phox</sup> 基因第 4 号外显子 G457A 多态表达,457 位点密码子突变(G→A),发生同义突变,导致相应的 457 位氨基酸由苏氨酸置换为苏氨酸,可能引起脑梗死患者 P47<sup>phox</sup> 分子结构改变,但对 NAD(P)H 氧化酶产生 ROS 的功能可能无影响,也许与本研究的种群和方法有关,其确切机制尚需进一步研究。

#### 参 考 文 献:

- [1] CATTO AJ. Genetic aspects of the hemostatic system in cerebrovascular disease[J]. Neurology, 2001, 57(2): 24-30.
- [2] SUGIYAMA H, KOBAYASHI M, WANG DH, et al. Telmisartan inhibits both oxidative stress and renal fibrosis after unilateral ureteral obstruction in acatalasemic mice[J]. Nephrology Dialysis Transplantation, 2005, 20(12): 2670-2680.
- [3] RAY PD, HUANG BW, TSUJI Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling[J]. Cell Signal, 2012, 24(5): 981-990.
- [4] VIRDIS A, DURANTI E, TSDDEI S. Oxidative Stress and Vascular Damage in Hypertension: Role of Angiotension II [J]. Int J Hypertens, 2011, 2011: 916310.
- [5] 王志平,孙红斌. 氧自由基与缺血性卒中[J]. 西南军医, 2010, 12(5): 534-537.
- [6] CIFUENTES ME, PAGANO PJ. Targeting reactive oxygen species in hypertension[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2006, 15(2): 179-186.
- [7] CALKIN AC, COOPER ME, JANDELEIT-DAHM KA, et al. Gemfibrozil decreases atherosclerosis in experimental diabetes in association with a reduction in oxidative stress and inflammation[J]. Diabetologia, 2006, 49(4): 766-74.
- [8] RAY PD, HUANG BW, TSUJI Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling[J]. Cell Signal, 2012, 24(5): 981-990.
- [9] 王新德. 各类脑血管病诊断要点 [J]. 中华神经科杂志, 1996, 29: 379-380.

- [10] BENNA JE, DANG PM, GOUGEROT-POCIDALO M A, et al. P47phox, the phagocyte NADPH oxidase / NOX2 organizer: structure, phos-phorylation and implication in diseases [J]. *Exp Mol Med*, 2009, 41(4): 217-225.
- [11] RATHORE R, ZHENG YM, NIU CF, et al. Hypoxia activates NADPH oxidase to increase [ROS] i and [Ca<sup>2+</sup>]i through the mitochondrial ROS-PKC  $\epsilon$  signaling axis in pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 45(9): 1223-1231.
- [12] RALF P, FRANCIS J, STEFANI B, et al. The vascular NADPH oxidase subunit NCF1 is involved in redox-mediated gene expression[J]. *Free Radical Bio Med*, 2002, 32(11): 1116-1122.
- [13] BRUNSON T, WANG Q, CHAMBERS I, et al. A copy number variation in human NCF1 and its pseudogenes[J]. *BMC Genet*, 2010, 23(2): 11-13.
- [14] 高菊华, 高小平. 细胞外基质、基质金属蛋白酶和颈动脉易损斑块[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2010, 37( 4): 323-325.
- [15] 王静云. 基质金属蛋白酶 -9 在缺血性脑损伤和脑缺血耐受中的表达[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2010, 37(5): 457-461.
- [16] AGO T, KURODA J, KAMOUCI M, et al. Pathophysiological Roles of NADPH Oxidase / Nox family proteins in the vascular system-review and perspective[J]. *Circ J*, 2011, 75(8): 1791-1800.