

基础研究

DOI: 10.11699/cyxb20130311

诱导型一氧化氮合酶基因多态性与川崎病
并发冠状动脉病变易感性研究

卢亚亨, 张 静, 易岂建, 钟家蓉, 邓 兵

(重庆医科大学附属儿童医院心血管内科, 重庆 400014)

【摘要】目的:探讨诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)基因多态性与川崎病(Kawasaki disease, KD)并发冠状动脉病变(coronary artery lesion, CAL)的相关性。**方法:**将本院收治的 146 例 KD 患儿作为 KD 组, 同期健康体检儿童 119 例作为健康对照组。KD 组中合并 CAL(CAL 组)79 例, 未合并 CAL(none coronary artery lesion, NCAL 组)67 例。利用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法检测 iNOS 基因-1026C/A 和+2087G/A 2 个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)位点基因型。应用酶联免疫吸附实验(ELISA)双抗体夹心法检测血浆 iNOS 水平, 硝酸还原法检测血浆 NO 水平。比较各组间血浆 iNOS、NO 表达水平, 分析 2 个 SNP 位点多态性与 KD 并发 CAL 相关性。**结果:**健康对照组血浆 iNOS 水平(48.02 ± 31.46) U/L 明显低于 NCAL 组(81.46 ± 41.32) U/L 和 CAL 组(90.29 ± 47.68) U/L($P=0.000, 0.000$)。血浆 NO 水平组间比较差异无统计学意义($F=3.003, P=0.052$)。iNOS 基因+2087G/A 位点 A 等位基因及 GA+AA 基因型频率在 CAL 组明显低于 NCAL 组($P=0.010, 0.013$), 与 G 等位基因及 GG 基因型相比, A 等位基因及 GA+AA 基因型均能显著降低 KD 并发 CAL 发生风险[OR(95%CI)= 0.41(0.21–0.82), 0.42(0.19–0.92); $P=0.010, 0.029$]。-1026C/A 与+2087G/A 2 位点构建的-1026C/+2087A 单倍型频率分布在 CAL 组与 NCAL 组间差异有统计学意义($P=0.010$), -1026C/+2087A 单倍型携带者发生 KD 并发 CAL 的风险显著降低[OR(95%CI)=0.45(0.22–0.91), $P=0.030$]。**结论:**血浆 iNOS 水平在 KD 及其 CAL 的发生过程中可能起一定作用。iNOS 基因+2087G/A 多态性和-1026C/+2087A 单倍型与 KD 并发 CAL 密切相关, 其中+2087A 等位基因可能为减少 KD 并发 CAL 发生风险的保护基因, 其作用机制可能通过降低血浆 iNOS 水平, 减少 NO 产量实现。

【关键词】川崎病; 冠状动脉病变; 诱导型一氧化氮合酶; 一氧化氮; 基因多态性

【中国图书分类法分类号】R725.4

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-09-20

Correlation between inducible nitric oxide synthase gene polymorphism and
affectability of Kawasaki disease coincided coronary artery lesion

LU Yaheng, ZHANG Jing, YI Qijian, ZHONG Jiarong, DENG Bing

(Department of Cardiology, the Children's Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the correlation between inducible nitric oxide synthase(iNOS) gene polymorphism and the development of coronary artery lesion(CAL) in Kawasaki disease(KD). **Methods:** Totally 146 patients with KD in the Children's Hospital in Chongqing Medical University were included as KD group and 119 healthy children at the same period as control group. There were

作者介绍: 卢亚亨, Email: andyluyaheng@163.com,

研究方向: 川崎病基础与临床。

通信作者: 张 静, Email: xz8623@yahoo.cn。

Wen D Z, Qu J B, Shi Z, et al. Effect of Sanchi Saponin Rgl against aging of astrocyte in D-galactose induced aging mice model[J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2005, 21(6): 667–670.

[4] Mao X, Ji C, Sun C, et al. Topiramate attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils via activating GABAergic signaling and inhibiting astrogliosis[J]. Neurochem Int, 2012, 60(1): 39–46.

[5] 高旭光, 王 军, 魏 昕. 毛果芸香碱致癫痫大鼠脑内胶质细胞源性神经营养因子及其受体 α 和 Ret 蛋白的表达[J]. 北京大学报(医学版), 2003, 35(3): 296–298.

学版), 2003, 35(3): 296–298.

Gao X G, Wang J, Wei X. Expression of GDNF, GDNFR alpha and Ret proteins in the brain of rats with seizures induced by pilocarpine[J]. Journal of Peking University(Medical Sciences), 2003, 35(3): 296–298.

[6] Lin L H, Doherty D H, Lile J D, et al. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons[J]. Science, 1993, 260(5111): 1130–1132.

(责任编辑: 冉明会)

79 KD patients with CAL as CAL group and 67 patients without CAL as NCAL group. SNPs of iNOS gene loci -1026C/A and +2087G/A were genotyped by using MassARRAY-IPLEX technology and matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry platform (MALDI-TOF-MS). Relation between gene polymorphisms and the development of CAL in KD were analyzed. Plasma iNOS level was determined by ELISA, plasma NO level was measured by nitric acid reductase and expression levels were compared between groups. **Results:** Plasma iNOS level was significantly lower in control group (48.02 ± 31.46) U/L than that in CAL group (90.29 ± 47.68) U/L and NCAL group (81.46 ± 41.32) U/L ($P=0.000, 0.000$). Plasma NO level was not significantly different between groups ($F=3.003, P=0.052$). Frequencies of the A minor allele and GA+AA genotypes of +2087G/A were higher in CAL group than in NCAL group ($P=0.010, 0.013$); both can significantly reduce the risk of CAL compared with G allele and GG genotype [OR (95%CI)=0.41 (0.21-0.82), 0.42 (0.19-0.92), $P=0.010, 0.029$]. Frequencies of haplotype -1026C/+2087A were different between CAL group and NCAL group ($P=0.010$). -1026C/+2087A haplotype was associated with a significantly decreased risk of CAL [OR (95%CI)=0.45 (0.22-0.91), $P=0.030$]. **Conclusions:** Results suggested that plasma iNOS is important in the development of vasculitis and CAL in KD. iNOS gene +2087G/A polymorphism and its -1026C/+2087A haplotype are associated with the development of CAL in KD. +2087A allele may significantly reduce the risk of CAL by lowering plasma iNOS level and reducing NO production. [Key words] Kawasaki disease; coronary artery lesion; inducible nitric oxide synthase; nitric oxide; gene polymorphism

诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)是炎症信号因子如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)等刺激下调节一氧化氮(nitric oxide, NO)生成最重要的限速酶,通过上调NO的生成在调节体内免疫及心血管功能中发挥主要作用^[1]。NO作为一种活性气体小分子,在生理情况下主要发挥保护性作用;而病理条件下,体内过量产生的NO,通过促进组织实质细胞凋亡、细胞外基质降解或介导炎性细胞浸润等作用,致薄壁组织坏死或纤维化,从而导致组织细胞损伤,血管扩张,发挥免疫损伤作用^[2]。川崎病(Kawasaki disease, KD)并发冠状动脉病变(coronary artery lesion, CAL)是我国最常见的儿童后天性心脏病之一,有证据表明在炎症细胞因子刺激下, iNOS在不同细胞表达水平上调,产生过量的NO,促进冠状动脉内皮细胞损伤,血管扩张,可能是KD并发CAL的重要发病机制^[3-5]。近年来还发现iNOS基因多态性与心血管疾病及炎症免疫相关性疾病关系密切^[6]。本研究将探讨血浆iNOS和NO水平与KD并发CAL关系,并首次对iNOS基因-1026C/A和+2087G/A 2个位点单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)与KD并发CAL易感性进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集我院2011年4月至2012年4月住院及门诊随访

的KD患儿146例为试验组,发病年龄2月~12.5岁,平均(3.03 ± 2.42)岁,其中男91例,女55例;KD合并CAL者(CAL组)79例, KD未合并CAL(none coronary artery lesion, NCAL组)67例。KD及并发CAL诊断标准参照《诸福棠实用儿科学》^[10],其中CAL的超声诊断标准为:(1)冠状动脉内膜回声增强;(2)冠状动脉扩张:~3岁冠脉内径 >2.5 mm, ~9岁冠脉内径 >3 mm, ~14岁冠脉内径 >3.5 mm;(3)冠状动脉瘤:不同形状的冠脉扩张,冠脉内径为4~7 mm;(4)巨大冠脉瘤:冠脉内径 ≥ 8 mm。79例CAL组患儿中,冠脉扩张39例,冠脉瘤30例,巨大冠脉瘤10例。同期本院健康体检且继往无KD病史儿童119例为健康对照组,年龄5月~14.7岁,平均(5.42 ± 3.30)岁,男77例,女42例。性别分布在CAL组、NCAL组和健康对照组之间无明显差异($\chi^2=1.840; P=0.398$);年龄组间比较有差异($\chi^2=52.635; P=0.000$),且健康对照组分别与CAL组、NCAL组($Z=6.841, 3.948; P=0.000, 0.000$)以及CAL组与NCAL组($Z=3.571; P=0.000$)之间两两比较差异均有统计学意义。本研究方案获得重庆医科大学附属儿童医院临床医学试验伦理委员会批准,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 样本选择标准:KD患儿均满足《诸福棠实用儿科学》诊断标准;凡诊断败血症、猩红热、幼年性特发性关节炎、其他心血管疾病、风湿性疾病等均排除。健康体检儿童均无发热且既往无KD病史。KD患儿及健康体检儿童均取外周静脉血3 ml, EDTA抗凝, 3 000 r/min离心10 min后分离血浆和细胞,置-70℃冰箱保存。

1.2.2 冠状动脉内径测定 采用胸骨旁主动脉根部短轴切面和胸骨旁左心长轴切面显示左冠状动脉主干及其分支(前降支、回旋支)和右冠状动脉主干及其开口。冠状动脉内径为急性期(3~10 d)静脉丙种球蛋白(intravenous immune globulin, IVIG)治疗前测量。

1.2.3 血浆iNOS水平检测 采用美国BD公司(Becton,

Dickinson and Company)提供的人 iNOS 酶联免疫检测试剂盒检测血浆 iNOS 水平,严格按说明书操作。检测对象为健康对照组和试验组中急性期 IVIG 治疗前的 KD 患儿,试验组中门诊随访及急性期 IVIG 治疗后 KD 患儿未检测。

1.2.4 血浆 NO 水平检测 采用硝酸还原法测定血浆 NO 水平,试剂盒购自南京建成公司,严格按照说明书操作。检测对象为健康对照组和试验组中急性期 IVIG 治疗前 KD 患儿,试验组中门诊随访及急性期 IVIG 治疗后 KD 患儿未检测。

1.2.5 基因组 DNA 提取 全血基因组 DNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司)按说明书操作提取外周血 DNA, -70°C 保存备用。

1.2.6 SNP 位点选择和引物设计 选取 iNOS 基因 5'-启动子区多态性位点-1026C/A 和第 16 个外显子区多态性位点+2087G/A。根据 iNOS 基因的目标序列和所选择的多态性位点,经 Sequenom MassARRAY Assay Design 3.0 软件设计多重 PCR 引物。

1.2.7 基因分型 采用美国西昆诺姆公司(Sequenom, Inc.) MassARRAY 实验平台,基质辅助激光解析电离飞行时间质谱法完成 SNP 基因分型,由深圳华大基因科技有限公司提供技术支持。通过 PCR 扩增、虾碱性磷酸酶处理、延伸引物单碱基延伸、树脂除盐纯化、芯片点样、质谱检测等实验步骤,最终使用 Typer 4.0 软件分析实验数据,获得基因分型结果。检测对象为全部试验组及健康对照组。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。血浆 iNOS 及 NO 水平采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用 Bonferroni 法。 χ^2 检验检测 Hardy-Weinberg 平衡。SNP 基因型及等位基因频率分布采用 χ^2 或 Fisher 精确检验,Logistic 回归分析计算 OR 值及 95%CI 以进行风险分析,OR 值经性别和年龄校正。连锁不平衡检测及单倍型与 KD 并发 CAL 相关性分析应用 SHEsis 软件完成。检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧),以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 健康对照及 KD 组血浆 iNOS 水平

检测 119 例健康对照组、30 例 NCAL 组和 26 例 CAL 组儿童血浆 iNOS 水平分别为 (48.02 ± 31.46) 、 (81.46 ± 41.32) 、 (90.29 ± 47.68) U/L (图 1)。多组间比较行单因素方差分析检验提示血浆 iNOS 水平组间差异有统计学意义 ($F=27.238$, $P=0.000$)。进一步两两比较发现健康对照组血浆 iNOS 水平明显低于 NCAL 组和 CAL 组 ($t=5.404, 5.961$; $P=0.000, 0.000$), 进行 Bonferroni 校正后仍具显著性; CAL 组与 NCAL 组比较差异无统计学意义 ($t=0.965$, $P=0.339$)。

2.2 健康对照及 KD 组血浆 NO 水平

检测 119 例健康对照组、30 例 NCAL 组和 26 例 CAL 组

儿童血浆 NO 水平分别为 (55.09 ± 33.68) 、 (39.69 ± 14.04) 、 (58.10 ± 40.45) $\mu\text{mol/L}$ (图 2)。多组间比较行单因素方差分析检验提示血浆 NO 水平组间差异无统计学意义 ($F=3.003$, $P=0.052$)。

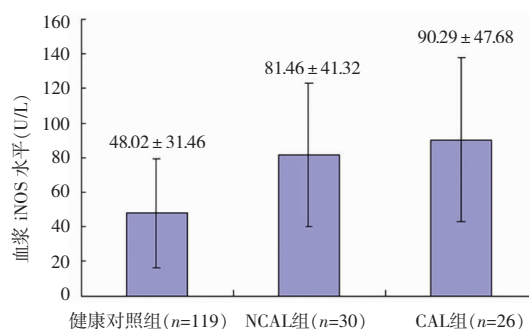


图 1 健康对照及 KD 各组血浆 iNOS 水平

Fig.1 Plasma iNOS levels in healthy control and KD groups

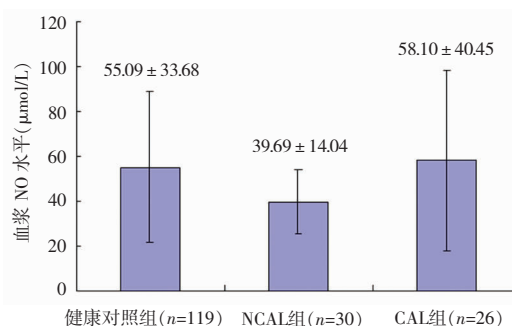


图 2 健康对照及 KD 各组血浆 NO 水平

Fig.2 Plasma NO levels in healthy control and KD groups

2.3 -1026C/A 和+2087G/A 基因型特征质谱图

-1026C/A 位点基因型频率在 KD 组、健康对照组分布经 Hardy-Weinberg 吻合度检测结果 ($\chi^2=0.167, 0.295$; $P=0.683, 0.587$) 及+2087G/A 位点检测结果 ($\chi^2=0.591, 3.306$; $P=0.510, 0.069$) 均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,说明样本具有群体代表性 (图 3)。

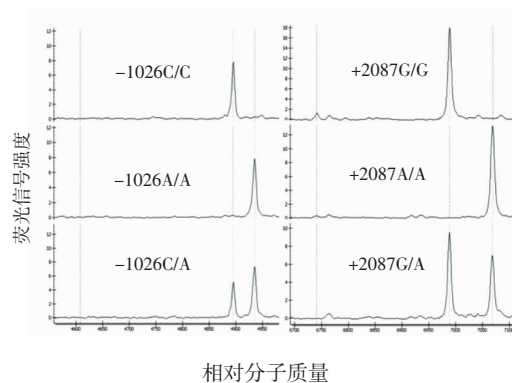


图 3 iNOS 基因 SNP 位点基因型特征质谱图

Fig.3 Genotyping of SNPs -1026C/A and +2087G/A of iNOS gene by MALDI-TOF-MS

2.4 SNP 位点与 KD 并发 CAL 相关性

-1026C/A 位点等位基因及基因型频率在 KD 组与健康对照组($P=0.895, 0.987$)、CAL 组与 NCAL 组($P=0.934, 0.461$)组间分布差异均无统计学意义。+2087G/A 位点等位基因及基因型频率分布在 KD 组与健康对照组间差异无统计学意义($P=0.974, 0.133$);但 CAL 组 A 等位基因频率(9.5% vs. 20.1%, $P=0.010$)及 GA+AA 基因型频率(17.8% vs. 35.8%, $P=0.013$)明显低于 NCAL 组,进行 Bonferroni 校正后仍具显著性。与 G 等位基因及 GG 等位基因型相比,+2087G/A 位点 A 等位基因及 GA+AA 基因型均能显著降低 KD 并发 CAL 发生风险($P=0.010, 0.029$),其 OR 值(95%CI)分别为 0.41(0.21–0.82)和 0.42(0.19–0.92)(表 1)。

2.5 单倍型与 KD 并发 CAL 相关性

利用 SHEsis 软件进行连锁不平衡分析发现,-1026C/A 与+2087G/A 之间存在一般连锁($D'=0.71$),单倍体分析以此 2 位点构建。构建的单倍型-1026C/+2087G、-1026C/+2087A、-1026A/+2087G 频率分布在 KD 组与健康对照组间差异无统计学意义($P=0.425, 0.611, 0.553$)。-1026A/+2087G 频率分

布在 CAL 组与 NCAL 组间差异无统计学意义($P=0.938$),但 -1026C/+2087A 频率在 CAL 组明显低于 NCAL 组(9.5% vs. 20.1%, $P=0.010$),-1026C/+2087G 在 CAL 组频率高于 NCAL 组(83.6% vs. 73.1%, $P=0.029$),经 Bonferroni 校正后单倍型 -1026C/+2087A 频率分布仍具显著性。以-1026C/+2087G 单倍型为参照,调整年龄及性别后计算其余单倍型发生 CAL 的趋势,单倍型-1026C/+2087A 携带者发生 KD 并发 CAL 风险显著降低[OR(95%CI)=0.45(0.22–0.91)($P=0.030$)](表 2)。

3 讨论

KD 以全身中小血管炎为主要病理改变,其最终预后决定于 CAL 程度,如冠状动脉扩张或冠状动脉瘤形成。Adewuya 等^[3]利用免疫组化显示在 KD 小鼠模型中病变冠状动脉硝基酪氨酸浓度增加,iNOS 显著表达。Ikemoto 等^[4]随访 30 例 KD 患儿血清 NO 浓度变化,发现其自起病第 1 周至第 3 周呈逐渐增

表 1 iNOS 基因多态性分布频率组间比较 (n, %)

Tab.1 Distribution of genotypes and allele frequencies of iNOS gene in KD patients with and without CAL and controls (n, %)

SNP位点	基因型	KD组	健康对照组	P 值	OR (95%CI)	CAL组	NCAL组	P 值	OR (95%CI)
-1026C/A	C	272 (93.2)	221 (92.9)	0.895	0.96 (0.49–1.87)	147 (93.0)	125 (93.3)	0.934	1.04 (0.42–2.56)
	A	20 (6.8)	17 (7.1)			11 (7.0)	9 (6.7)		
	CC	127 (87.0)	103 (86.6)			68 (86.1)	59 (88.1)		
	CA	18 (12.3)	15 (12.6)	0.987	0.87 (0.40–1.89)	11 (13.9)	7 (10.4)	0.723	0.98 (0.36–2.66)
	AA	1 (0.7)	1 (0.8)			0 (0.0)	1 (1.5)		
	CC	127 (87.0)	103 (86.6)			68 (86.1)	59 (88.1)		
+2087G/A	CA+AA	19 (13.0)	16 (13.4)	0.918	0.87 (0.40–1.89)	11 (13.9)	8 (11.9)	0.723	0.98 (0.36–2.66)
	G	250 (85.6)	204 (85.7)	0.974	1.01 (0.62–1.64)	143 (90.5)	107 (79.9)	0.009 ^a	0.41 (0.21–0.82)
	A	42 (14.4)	34 (14.3)			15 (9.5)	27 (20.1)		
	GG	108 (74.0)	85 (71.4)			65 (82.2)	43 (64.2)		
	GA	34 (23.3)	34 (28.6)	0.133	0.85 (0.47–1.54)	13 (16.5)	21 (31.3)	0.040 ^a	0.42 (0.19–0.92)
	AA	4 (2.7)	0 (0.0)			1 (1.3)	3 (4.5)		
	GG	108 (74.0)	85 (71.4)			65 (82.2)	43 (64.2)		
GA+AA		38 (26.0)	34 (28.6)	0.643	0.85 (0.47–1.54)	14 (17.8)	24 (35.8)	0.013 ^a	0.42 (0.19–0.92)

注:KD 组,川崎病组;CAL 组,KD 并发 CAL 组;NCAL 组,KD 无合并 CAL 组;a, $P<0.05$

表 2 iNOS 基因单倍型分布频率组间比较 (n, %)

Tab.2 Distribution of haplotypes frequencies of iNOS gene in KD patients with and without CAL and controls (n, %)

单倍型	KD组	健康对照组	P 值	OR (95%CI)	P ^a	CAL组	NCAL组	P 值	OR (95%CI)	P ^a
-1026 +2087	n=292	n=238				n=158	n=134			
C/A	G/A	(%)	(%)			(%)	(%)			
C	G	230.01	190.94	0.425	1.00 (Ref.)	132.03	98.00	0.029 ^a	1.00 (Ref.)	
		(78.8)	(80.2)			(83.6)	(73.1)			
C	A	41.99	30.06	0.611	1.04	14.97	27.00	0.010 ^a	0.45	0.030 ^a
		(14.4)	(12.6)		(0.56–1.70)	(9.5)	(20.1)		(0.22–0.91)	
A	G	19.99	13.06	0.553	0.94	10.97	9	0.938	0.75	0.550
		(6.8)	(5.5)		(0.44–2.04)	(6.9)	(6.7)		(0.29–1.92)	

注:P 值为频率分布检验结果;P^a 为 OR 值的检验结果;a, $P<0.05$,单倍型 AA 频率小于 1%未纳入统计;Ref,参照

高趋势,第 3 周达高峰,第 3 周至病程第 2 月呈下降趋势,但仍较对照组偏高。Yu 等^[5]对 KD 患儿冠状动脉瘤病理检查发现血管内皮细胞 iNOS 表达强阳性,大量表达 iNOS 的单核/巨噬细胞浸润血管壁;CAL 组患儿外周血白细胞及循环内皮细胞 iNOS 表达水平较 NCAL 组明显增高。Cheung 等^[6]发现 KD 患儿血清培养的人急性单核细胞白血病细胞系源巨噬细胞 iNOSmRNA 表达较对照组显著增加,CAL 患儿血清培养组的表达较 NCAL 血清培养组高。胡静等^[7]比较 69 例急性期 KD 患儿和 90 例健康儿童血浆 NO 水平,发现血浆 NO 水平 KD 组较健康对照、CAL 组较 NCAL 组均显著增高。何跃娥等^[8]发现脐静脉内皮细胞经 KD 患儿血清刺激后,细胞上清液 NO、iNOS 及细胞内 iNOSmRNA 表达水平较对照组明显增加,CAL 患儿血清刺激组增加最为明显。以上研究均提示 iNOS 在多种细胞中表达水平上调,过量产生的 NO 参与 KD 局部血管炎及 CAL 的致病过程。本研究中比较各组血浆 iNOS 水平可发现随着 KD 的发生到 CAL 的形成,血浆 iNOS 水平呈增高趋势,提示血浆 iNOS 水平与 KD 的血管炎及 CAL 关系密切,同以往研究结果吻合。而各组间血浆 NO 水平比较差异无统计学意义。本次收取的试验组标本部分来源于门诊随访和急性期 IVIG 治疗后 KD 患儿,已有研究表明 IVIG 治疗后 KD 患儿血浆 iNOS、NO 水平将受影响^[1],故未检测,由此导致样本量较少可能是出现上述结果的原因。后续有必要加大样本量探明血浆 iNOS、NO 水平与 KD 并发 CAL 关系。

近年来发现易患基因多态性通过影响免疫活性分子表达水平或反应活性参与 KD 并发 CAL 的病理过程^[12]。鉴于 iNOS 在 KD 发生、发展中的重要性,推测 iNOS 基因多态性与 KD 并发 CAL 存在关联。

iNOS 基因又称为一氧化氮合酶 2A (nitric oxide synthase 2A, NOS2A) 基因,位于 17q11.2-12,全长约 37 kb,启动子区长约 16 kb,编码区含有 26 个外显子。近年来研究提示 iNOS 基因多态性与多种心血管疾病及免疫炎症相关性疾病关系密切,如启动子区 (CCTTT)_n 微卫星多态性影响 iNOS 基因表达,与西班牙人群炎症性肠病、中国汉族儿童支气管哮喘易感性相关^[13-14]; -1026C/A 位点与转录因子不同模式结合影响 iNOS 基因转录活性,A 等位基因较 C 等位基因明显增加 iNOS 转录活性,其多态性与捷

克人群哮喘、中国汉族人群高血压易感性相关^[15-16]; +2087G/A 多态性影响 iNOSmRNA (AGC→AAC, G2087A) 表达水平或翻译后蛋白产物 (丝氨酸→亮氨酸, Ser608Leu) 活性,与巴西人群偏头痛、中国汉族人群冠心病易感性相关^[17-18]。然而,iNOS 基因多态性与 KD 并发 CAL 易感性研究却罕见报道。Khajooee 等^[19]率先在日本人群中研究 iNOS 基因增强子区 (CCTTT)_n 微卫星多态性与 KD 并发 CAL 相关性,但未发现关联性。

本次最新对 -1026C/A 和 +2087G/A 2 位点多态性与 KD 并发 CAL 易感性的研究,发现 +2087G/A 多态性与 KD 并发 CAL 相关,等位基因 A 及 GA+AA 基因型携带者发生 KD 并发 CAL 的风险显著减低,推测 +2087A 等位基因可能为降低 CAL 发生风险的保护基因。结合本研究中发现 KD 并发 CAL 过程中血浆 iNOS 水平上调,而 +2087G/A 位点 A 等位基因及 GA+AA 基因型频率 NCAL 组显著高于 CAL 组,推测 +2087A 保护性作用机制可能为通过降低血浆 iNOS 表达水平,进而减少 NO 产量,从而减少冠状动脉损伤。进一步探讨单倍型与 KD 并发 CAL 相关性发现, -1026C/+2087A 单倍型个体发生 KD 并发 CAL 的风险显著低于 -1026C/+2087G 单倍型个体,而单纯 -1026C/A 位点多态性未发现与 KD 并发 CAL 相关,推测 -1026C/+2087A 单倍型降低 CAL 发生风险的作用机制可能主要由 +2087A 等位基因的保护性作用实现。由于本次研究样本量偏少,后续有必要加大样本量重复验证 2 个 SNP 位点多态性与 KD 并发 CAL 的相关性;并进一步探讨各位点多态性与 iNOS 表达水平或反应活性相关性,以明确其作用机制。

综上所述,血浆 iNOS 水平在 KD 及其 CAL 的发生过程中可能起一定作用。iNOS 基因 +2087G/A 多态性和 -1026C/+2087A 单倍型与 KD 并发 CAL 密切相关,其中 +2087A 等位基因可能为减少 KD 并发 CAL 发生风险的保护基因,其作用机制可能通过降低血浆 iNOS 水平,减少 NO 产量实现。

参 考 文 献

- [1] Umar S, van der Laarse A. Nitric oxide and nitric oxide synthase isoforms in the normal, hypertrophic, and failing heart[J]. Mol Cell Biochem, 2010, 333(1-2): 191-201.
- [2] Guzik TJ, Korb R, Adamek-Guzik T. Nitric oxide and superoxide

in inflammation and immune regulation[J].J Physiol Pharmacol, 2003, 54(4):469-487.

[3] Adewuya O, Irie Y, Bian K, et al. Mechanism of vasculitis and aneurysms in Kawasaki disease role of nitric oxide[J]. Nitric Oxide, 2003, 8(1):15-25.

[4] Ikemoto Y, Teraguchi M, Ono A, et al. Serial changes of plasma nitrate in the acute phase of Kawasaki disease[J]. Pediatr Int, 2003, 45(4):421-425.

[5] Yu X, Hirono K I, Ichida F, et al. Enhanced iNOS expression in leukocytes and circulating endothelial cells is associated with the progression of coronary artery lesions in acute Kawasaki disease[J]. Pediatr Res, 2004, 55(4):688-694.

[6] Cheung Y F, Karmin O, Tam S C, et al. Induction of MCP1, CCR2, and iNOS expression in THP-1 macrophages by serum of children late after Kawasaki disease[J]. Pediatr Res, 2005, 58(6):1306-1310.

[7] 胡 静, 王大为, 王凤鸣, 等. 内皮细胞型一氧化氮合成酶基因多态性与川崎病并冠状动脉损伤易感性的相关性[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(9):663-664.

Hu J, Wang D W, Wang F M, et al. Correlation between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and affectability of Kawasaki disease coincided coronary artery lesion[J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2008, 23(9):663-664.

[8] 何跃娥, 张园海, 项如莲, 等. 川崎病急性期冠状动脉损害诱导型一氧化氮合酶变化及其意义研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2009, 24(8):631-633.

He Y E, Zhang Y H, Xiang R L, et al. Expression and role of inducible nitric oxide synthase in acute phase of Kawasaki disease with coronary artery lesions[J]. Chinese Journal of Practical Pediatrics, 2009, 24(8):631-633.

[9] Qidwai T, Jamal F. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene polymorphism and disease prevalence[J]. Scand J Immunol, 2010, 72(5):375-387.

[10] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002:698-705.

Hu Y M, Jiang Z F. Zhu Futang practice of pediatrics[M]. 7th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002:698-705.

[11] Wang C L, Wu Y T, Lee C J, et al. Decreased nitric oxide production after intravenous immunoglobulin treatment in patients with Kawasaki disease[J]. J Pediatr, 2002, 141(4):560-565.

[12] Kuo H C, Chang W C. Genetic polymorphisms in Kawasaki disease[J]. Acta Pharmacol Sin, 2011, 32(10):1193-1198.

[13] Martín M C, Martínez A, Mendoza J L, et al. Influence of the inducible nitric oxide synthase gene (NOS2A) on inflammatory bowel disease susceptibility[J]. Immunogenetics, 2007, 59(11):833-837.

[14] 靳秀红, 王群思, 沈照波, 等. 儿童哮喘与诱导型一氧化氮合酶基因 5' 调控区 (CCTTT)_n 缺失关系研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2008, 23(4):260-263.

Jin X H, Wang Q S, Shen Z B, et al. Study on the 5' regulation region deletion in iNOS gene of children with asthma[J]. Chinese Journal of Practical Pediatrics, 2008, 23(4):260-263.

[15] Holla L I, Stejskalova A, Znojil V, et al. Analysis of the inducible nitric oxide synthase gene polymorphisms in Czech patients with atopic diseases[J]. Clin Exp Allergy, 2006, 36(12):1592-1601.

[16] Li W, Liu H, Fu L, et al. Identification of Yin Yang 1-interacting partners at -1026C/A in the human iNOS promoter[J]. Arch Biochem Biophys, 2010, 498(2):119-126.

[17] Tu Y C, Ding H, Wang X J, et al. Exploring epistatic relationships of NO biosynthesis pathway genes in susceptibility to CHD[J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31(7):874-880.

[18] de O S Mansur T, Gonçalves F M, Martins-Oliveira A, et al. Inducible nitric oxide synthase haplotype associated with migraine and aura[J]. Mol Cell Biochem, 2012, 364(1-2):303-308.

[19] Khajoe V, Kariyazono H, Ohno T, et al. Inducible and endothelial constitutive nitric oxide synthase gene polymorphisms in Kawasaki disease[J]. Pediatr Int, 2003, 45(2):130-134.

(责任编辑: 冉明会)

《重庆医科大学学报》

欢迎赐稿、订阅

网址: cyxb.alljournals.ac.cn

邮发代号: 78-132