

凉山地区 HUA 患病与尿酸转运蛋白相关基因单核苷酸多态性的关联性研究*

马晓菊¹, 贾红², 周艾婧², 汪春梅², 汤艳², 黄小明^{2△}

1. 成都中医药大学公共卫生学院 营养学教研室(成都 611137); 2. 西南医科大学公共卫生学院(泸州 646000)

【摘要】 目的 调查凉山地区彝族和汉族居民高尿酸血症(HUA)患病情况,研究尿酸转运蛋白相关基因单核苷酸多态性(SNP)在彝族和汉族人群中的分布,探索 HUA 发病的分子机制。**方法** 于 2016 年 1~12 月采用多阶段整群抽样随机抽取四川省凉山地区汉族和彝族居民 992 人,测定其血尿酸水平,计算 HUA 患病率,同时抽取 80 份血样(HUA 组和非 HUA 组各 40 份,男女各半),通过 PCR 扩增尿酸转运蛋白相关基因的 4 个位点,测序法判定 SNP 位点的基因型,分析其与 HUA 患病的关联。**结果** 凉山地区居民 HUA 粗患病率 18.65%(185/992),男性(24.33%)高于女性(12.34%),HUA 患病率随年龄增加而增加($P<0.01$),按年龄分层,各年龄段男性患病率均高于女性($P<0.05$),总患病率彝族(21.34%)高于汉族(14.84%)($P<0.05$)。rs6832439 位点 TC/CC 型检出比例为 6/67,rs6855911 位点 TC/TT 型检出比例为 5/70,rs2231142 位点 CA/AA/CC 型检出比例为 28/43/7,rs1471633 位点 AC/CC/AA 型检出比例为 19/4/55。rs6832439 基因型分布有性别差异,rs2231142 和 rs1471633 基因型在 HUA 和非 HUA 者中分布有差异($P<0.05$)。但 4 个 SNP 位点基因型分布均与民族无关。**结论** 凉山地区居民 HUA 患病率有性别、年龄和民族差异。rs2231142 和 rs1471633 位点 SNP 可能与 HUA 患病有关。

【关键词】 高尿酸血症 患病率 单核苷酸多态性 彝族 尿酸

高尿酸血症(HUA)是嘌呤代谢紊乱引发的一系列异质性疾病,可直接导致痛风和肾功能损害,并与高血压、血脂异常、肥胖、糖尿病等密切相关^[1],老年人群患病率更高,但随着我国居民生活水平的提高,HUA 呈逐年上升且有年轻化趋势,已成为人群重要的代谢性疾病之一^[2]。尿酸在血液中水平主要取决于尿酸在肝脏的合成速度和尿酸在肾脏的排出情况^[3]。研究证明,相关基因的单核苷酸多态性(SNP)可能影响尿酸的生成和排出,从而导致 HUA 和(或)痛风的发生^[4],不同民族、性别、人种 HUA 患病率的差异可能与相关基因 SNP 有关^[5]。本研究通过对四川省凉山州彝族和汉族人群 HUA 患病情况进行调查,并对 HUA 相关基因 SNP 进行筛选,分析其不同民族、性别人群中的分布,并探讨相关基因 SNP 与 HUA 患病之间的关联性,对少数民族地区人群 HUA 预防提供指导依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2016 年 1~12 月,采用多阶段整群随机抽样法(彝族相对集中的乡镇中抽取 4 个乡镇,再从每个乡镇中抽取 3~4 个行政村),抽取四川省凉山彝族自治州少数民族相对集中的乡镇常住居民 1 008 人为调查对象。参考文献^[6]估计西南地区成年人群 HUA 患病率 15%左右,按公式 $N=Z^2 \times \frac{1-P}{P} \div E^2$ 估计样本含量,式中 $\alpha=0.05$ 时, $Z=1.96$, $P=0.15$,容许误差 $E=0.15$, $N=967$,为减少实际抽样误差,实

际抽取 1 008 人进行调查研究。回收完整资料 992 份,回收率 98.4%。纳入标准:①年龄 18~79 岁;②在本地区居住 ≥ 5 年;③彝族调查对象则父母均为彝族,汉族调查对象则父母均为汉族。④参照《高尿酸血症和痛风治疗中国专家共识(2013 版)》^[7]标准确诊 HUA,即在正常嘌呤饮食状态下,非同日两次空腹血尿酸水平男性 $\geq 420 \mu\text{mol/L}$,女性 $\geq 360 \mu\text{mol/L}$ 。排除标准:①不配合或不能完成调查者;②严重精神疾病者。本研究经西南医科大学医学伦理委员会同意(批准号:2015036),调查对象均签署知情同意书。

1.2 实验方法

1.2.1 标本采集 采集调查对象空腹 10 h 后的血样,现场进行血清分离,随即送至凉山州疾病预防控制中心进行尿酸等生化指标的测定,分离后的血清和血凝块置 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱低温保存备用。从样本中随机抽取血样 80 份(HUA 组和非 HUA 组各 40 份,男女各半)送检,测定相关基因 SNP。

1.2.2 SNP 检测 采用 TIANamp Blood Clot DNA Kit(北京天根生物公司)提取血凝块 DNA,提纯和浓缩备用。PCR 引物交由 Invitrogen 公司合成,具体引物见表 1。采用 Premix TaqTM 试剂(大连宝生物工程有 限 公 司)建 立 $50 \mu\text{L}$

表 1 各位点 PCR 扩增引物

基因	位点	引物(5'-3')	扩增片段长度
SLC2A9	rs6832439	F:GAAGCAGGTCTGAGAACGAG R:CCAGCCTATGAATGAGCAAG	247 bp
		F:ATCTGCTCCAGTGGTCCCG R:TGGACATCTTTTCAGGGTGGG	227 bp
ABCG2	rs2231142	F:GAACTGCAAGTTTCATCATTAGC R:GCAACCATTTTGTACCATACAC	405 bp
		F:TAGAAAGTTCCAGTCAGCAGTC R:GTGGGTATCCTCACATTTTTC	377 bp

* 达能膳食营养研究与宣教基金(No. DIC2013-03)资助
△ 通信作者, E-mail: huaxi1979@126.com

PCR 扩增体系,扩增程序:94 ℃ 20 s,50 ℃ 20 s,72 ℃ 40 s,共 30 循环。扩增产物送 Invitrogen 公司进行测序鉴定。

1.3 统计学方法

HUA 患病情况和基因型分布用频数、率或构成比表示,统计比较采用 χ^2 检验, $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 调查对象一般情况

992 例调查对象中,男性 522 人(占 52.6%),女性 470 人(占 47.4%);汉族 411 人(占 41.4%),彝族 581 人(占

58.6%);18~40 岁 378 人(占 38.1%),41~60 岁 397 人(占 40.0%),>60 岁 217 人(占 21.9%)。

2.2 HUA 患病情况

HUA 平均患病率 18.65%(185/992),患病率男性(24.33%)高于女性(12.34%),18~40 岁段、41~60 岁段和>60 岁段患病率分别为 6.35%、22.67%和 32.72%,各年龄段 HUA 患病率差异有统计学意义($P<0.05$)。按年龄分层,各年龄段男性患病率均高于女性($P<0.05$)。总患病率彝族(21.34%)高于汉族(14.84%)($P<0.05$),但按年龄分层,汉族和彝族患病率差异无统计学意义。见表 2。

表 2 不同年龄、性别、民族 HUA 患病情况

年龄段/ 岁	合计		性别					民族				
	n	患病人数 (%)	男		女		P	汉族		彝族		P
			n	患病人数 (%)	n	患病人数 (%)		n	患病人数 (%)	n	患病人数 (%)	
18~40	378	24 (6.35)	198	19 (9.60)	180	5 (2.78)	0.01	156	7 (4.49)	222	17 (7.66)	0.29
41~60	397	90 (22.67)	210	61 (29.05)	187	29 (15.51)	<0.01	167	30 (17.96)	230	60 (26.09)	0.07
>60	217	71 (32.72)	114	47 (41.23)	103	24 (23.30)	0.01	88	24 (27.27)	129	47 (36.43)	0.19
合计	992	185 (18.65)	522	127 (24.33)	470	58 (12.34)	<0.01	411	61 (14.84)	581	124 (21.34)	0.01

2.3 HUA 相关基因 SNP 检出情况

见表 3。rs6832439 位点共获得有效样本 73 例,该 SNP 位点检出 TC/CC 为 6/67;rs6855911 位点共获得有效样本 75 例,该 SNP 位点检出 TC/TT 为 5/70;rs2231142 位点共获得有效样本 79 例,该 SNP 位点检出 CA/AA/CC 为 28/4/

47;rs1471633 位点共获得有效样本 78 例,该 SNP 位点检出 AC/CC/AA 为 19/4/55。rs6832439 和 rs6855911 基因型分布性别差异有统计学意义($P<0.05$),在 HUA 和非 HUA 者中,rs2231142 和 rs147163 位点基因型分布差异有统计学意义($P<0.05$),4 个 SNP 位点基因型分布均与民族无关。

表 3 各位点基因型分布频率比较/例数

SNP 位点	n	基因型	民族		P	性别		P	HUA		P
			彝族	汉族		男	女		是	否	
rs6832439	73	TC/CC	3/33	3/34	1.00	0/38	6/29	0.03	1/34	5/33	0.24
rs6855911	75	TC/TT	2/37	3/33	0.93	0/39	6/30	0.04	0/35	5/35	0.09
rs2231142	79	CA/AA/CC	10/2/27	18/2/20	0.19	14/2/24	14/2/23	1.00	17/4/19	11/0/28	0.01
rs1471633	78	AC/CC/AA	9/1/29	10/3/26	0.53	9/3/27	10/1/28	0.57	9/0/30	10/4/25	0.04

3 讨论

随着人们生活水平的提高和膳食结构的改变,HUA 患病率逐年上升,不仅直接导致痛风患病率增加,还会增加高血压、心血管疾病和肾脏疾病的风险^[8]。我国 HUA 患病率存在明显地区、性别、年龄差异^[9-10],不同民族 HUA 患病率报道差异较大^[11-12]。本研究发现凉山地区 HUA 平均患病率 18.65%,略高于全国平均患病率 13.3%^[8],男性高于女性,随年龄增加患病率增加,这与相关研究结论一致^[9-11]。彝族平均患病率(21.34%)高于汉族(14.84%),这可能与凉山地区彝族居民膳食结构有一定关系:彝族居民好酒好肉,粗犷的性格决定了其膳食习惯。为研究遗传因素与凉山地区彝族居民 HUA 的相关性,本研究还进一步分析了尿酸代谢、排泄相关基因 SNP 与 HUA 患病情况的关系。

临床上将 HUA 分为尿酸生成增加型和尿酸排出障碍型,其中 90%以上 HUA 是由于尿酸排出障碍引起的,表达尿酸盐转运蛋白的某些基因若发生 SNP 改变,可能导致不同 HUA 患病风险^[13]。有研究认为:不同民族或种族人群某些基因位点可能存在 SNP^[5]。原发性 HUA 属于多基因

遗传疾病,其遗传机制并不十分清楚,现有研究认为,尿酸生成关键酶的编码基因(如 *HGPRT* 基因、*PRPS1* 基因、*MTHFR* 基因)的相关 SNP 改变,会增加痛风的发病风险^[14],但大多数 HUA 患者是由尿酸排出障碍所致,因此更多研究集中于尿酸盐转运体基因多态性与 HUA 患病风险的相关性上,这些相关基因包括:①尿酸盐阴离子交换器基因 *SLC22A12*,迄今为止至少证实 7 个 SNP 位点与 HUA 密切相关^[15];②NPT1 蛋白基因 *SLC17A1* 也证实与 HUA 易感性有关^[16],但对该基因的研究在国内目前尚无相关报道,其分子机制和生物学功能并未明晰;③葡萄糖转运蛋白 9 的编码基因 *SLC2A9* 的 4 种 SNP 改变与 HUA 患病有关^[17];④三磷酸腺苷结合转运蛋白 G 超家族的 *ABCG2* 基因的变异也对血尿酸水平有较大的影响,其中最常见的是第四外显子 C376T、第五外显子 C421A 的 SNP 改变^[18]。

本研究综合选取了影响尿酸排出的 3 个基因(*SLC2A9*、*ABCG2* 和 *PDZK1*)共 4 个 SNP 位点进行分析发现:① *SLC2A9* 基因的 rs6832439 位点基因型分布有性别差异,但与 HUA 患病无关,同时 rs6855911 位点基因型分布与民族、HUA 患病均无关,但存在性别差异($P=0.04$)。 *SLC2A9*

编码葡萄糖转运蛋白 9, 在肾脏近端小管上皮细胞向外转运尿酸, *SLC2A9* 基因多态性对高尿酸的易感性达 5%, 已有研究证实 rs6832439 位点的 SNP 与 HUA 有相关性^[19], 本结果并未发现这种关系, 这可能与样本含量有关, 有必要进一步扩大样本进行研究。② 本研究发现 *ABCG2* 基因的 rs2231142 位点基因型分布在 HUA 与非 HUA 者间存在差异。*ABCG2* 是一种转运蛋白, 大量表达于肾近曲小管刷状缘膜上, 负责尿酸的排泄, 与 HUA 发病密切相关^[20]。*ABCG2* 的基因变异种类较多, 对血尿酸水平的影响最大^[21]。我国学者在汉族男性人群中研究证实该位点 SNP 增加痛风患病风险^[22], 但这类研究主要集中在汉族人群, 少数民族未见相关报道。③ 本研究也发现 *PDZK1* 基因的 rs1471633 位点基因型分布在 HUA 与非 HUA 者间存在差异, 可能是由于 HUA 与代谢综合征在发病机制上有潜在的关联性。*PDZK1* 基因编码的蛋白质在脂蛋白转运中发挥重要作用, 已有研究表明 *PDZK1* 基因与高密度脂蛋白有关, 其位点 SNP 与血脂异常患病存在关联性^[23]。

综上, HUA 起病隐匿, 患病率较高, 彝族人群是 HUA 的高发人群, 其原因可能与遗传(尿酸排泄相关基因 SNP)、特殊膳食习惯等有关。因此有必要在彝族人群中开展积极的健康教育, 使其意识到 HUA 对健康的危害, 进一步改变饮食相关行为, 积极预防 HUA 及其并发症。

参 考 文 献

- [1] FU SH, LUO LM, YE P, *et al.* Epidemiological associations between hyperuricemia and cardiometabolic risk factors: a comprehensive study from Chinese community. *BMC Cardiovasc Disord*, 2015, 15(1): 129 [2018-04-13]. <https://doi.org/10.1186/s12872-015-0116-z>.
- [2] WEI CY, SUN CC, WEI CC, *et al.* Association between hyperuricemia and metabolic syndrome: an epidemiological study of a labor force population in Taiwan. *Bio Med Res Int*, 2015, 2015(7): 369179 [2018-04-13]. <http://doi.org/10.1155/2015/369179>.
- [3] WINDPESSL M, RITELLI M, WALLNER M, *et al.* A novel homozygous *SLC2A9* mutation associated with renal-induced hypouricemia. *Am J Nephrol*, 2016, 43(4): 245-250.
- [4] MANCIKOVA A, KRYLOV V, HURBA O, *et al.* Functional analysis of novel allelic variants in *URAT1* and *GLUT9* causing renal hypouricemia type 1 and 2. *Clin Exp Nephrol*, 2016, 20(4): 578-584.
- [5] 王志强, 王婷婷, 马 琦, 等. *TCF7L2* 基因多态性与新疆维吾尔族人群 2 型糖尿病的相关性研究. *中国全科医学*, 2015, 18(2): 157-165.
- [6] 向 姝, 乔旭霞, 罗海霞, 等. 重庆市巴南区体检人群高尿酸血症患病率现状调查及与血脂相关性的研究. *现代医学*, 2016, 44(5): 649-652.
- [7] 中华医学会内分泌学分会. 高尿酸血症和痛风治疗的中国专家共识(2013). *中华内分泌代谢杂志*, 2013, 29(11): 913-920.
- [8] LIU R, HAN C, WU D, *et al.* Prevalence of hyperuricemia and gout in mainland China from 2000 to 2014: a systematic review and meta-analysis. *Bio Med Res Int*, 2015, 15(Suppl): 1-12.
- [9] 邓 梅, 曾维贵, 肖忠英. 四川省内江市 2298 例体检人群高尿酸血症患病率的流行病学调查. *检验医学与临床*, 2017, 14(2): 287-289.
- [10] 郭伟民, 肖传实, 申秀敏, 等. 太原市社区居民高尿酸血症患病率及其与高血压和高血糖及高血脂的关系. *中国全科医学*, 2012, 15(9B): 3045-3047.
- [11] 蔡 雯, 翁迪华, 林玉婷, 等. 新疆维吾尔族、汉族成人高尿酸血症患病情况及相关危险因素分析. *职业与健康*, 2016, 32(8): 1086-1089.
- [12] 吕庆国, 王诗钰, 张雨薇, 等. 四川省藏族僧人高尿酸血症流行病学调查及危险因素分析. *四川大学学报(医学版)*, 2015, 46(5): 759-763.
- [13] LU Y, NAKANISHI T, TAMAI I. Functional cooperation of *SMCTs* and *URAT1* for renal reabsorption transport of urate. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2013, 28(2): 153-158.
- [14] LIU HL, PENG XH, ZHAO F, *et al.* N114S mutation causes loss of ATP-induced aggregation of human phosphoribosylpyrophosphate synthetase 1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(4): 1120-1125.
- [15] SAKIYAMA M, MATSUO H, SHIMIZU S, *et al.* The effects of *URAT1/SLC22A12* nonfunctional variants, R90H and W258X, on serum uric acid levels and gout/hyperuricemia progression. *Sci Rep*, 2016, 6: 20148 [2018-04-13]. <https://dx.doi.org/10.1038/srep20148>.
- [16] KANEKO I, YAMAMOTO H, IKUTA K, *et al.* Transcriptional regulation of sodium-phosphate cotransporter gene expression//COLLINS JF. Molecular, genetic, and nutritional aspects of major and trace minerals. Elsevier: 437-445. doi:10.1016/B978-0-12-802168-2.00036-1.
- [17] V SAROJA V, SANDRA L, KARIN H, *et al.* Serum uric acid concentrations and *SLC2A9* genetic variation in Hispanic children: the Viva La familia study. *Am J Clin Nutr*, 2015, 101(4): 725-732.
- [18] JIRI M, ZHANG L, LAN B, *et al.* Genetic variation in the *ABCG2* gene is associated with gout risk in the Chinese Han population. *Clin Rheumatol*, 2016, 35(1): 159-163.
- [19] VORUGANTI VS, FRANCECHINI N, HAACK K, *et al.* Replication of the effect of *SLC2A9* genetic variation on serum uric acid levels in American Indians. *Eur J Hum Gene*, 2014, 22(7): 938-943.
- [20] ZHANG L, SPENCER KL, VORUGANTI VS, *et al.* Association of functional polymorphism rs2231142 (Q141K) in the *ABCG2* gene with serum uric acid and gout in 4 US populations: the PAGE study. *Am J Epidemiol*, 2013, 177(9): 923-932.
- [21] SON CN, BANG SY, KIM SH, *et al.* *ABCG2* polymorphism is associated with hyperuricemia in a study of a community-based Korean cohort. *J Korean Med Sci*, 2017, 32(9): 1451-1459.
- [22] WANG BB, MIAO ZM, LIU SG, *et al.* Genetic analysis of *ABCG2* gene C421A polymorphism with gout disease in Chinese Han male population. *Hum Gene*, 2010, 127(2): 245-246.
- [23] YU P, ZHANG Y, TRIGATTI B, *et al.* HDL protects macrophages against apoptosis in a *PDZK1*-dependent manner. *Can J Cardiol*, 2013, 29(10): S166 [2018-04-13]. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2013.07.251>.