

大动脉粥样硬化型缺血性脑卒中患者SLCO1B1基因多态性分布--185例分析

韩瑞玲, 孙思, 汪明, 李艳

摘要 **目的:**分析大动脉粥样硬化型缺血性脑卒中(LAA-IS)患者185例中SLCO1B1基因388A>G和521T>C多态性位点的分布。**方法:**LAA-IS患者185例纳入研究,通过聚合酶链反应-荧光探针方法对其外周血样本中SLCO1B1基因的388G>A和521T>C位点进行检测并统计分析其基因分型分布。**结果:**根据SLCO1B1基因多态性分型,185例LAA-IS患者中SLCO1B1基因388A>G位点纯合野生型占8.6%,杂合突变型占40.5%,纯合突变型占50.8%;521T>C位点纯合野生型占77.8%,杂合突变型占21.0%,纯合突变型占1.1%。**结论:**本组185例LAA-IS患者中分布有较多的突变型SLCO1B1基因。

关键词 大动脉粥样硬化型缺血性脑卒中;SLCO1B1基因;基因多态性

中图分类号 R741;R741.02;R743 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2018.12.003

Distribution of SLCO1B1 Gene Polymorphism in 185 Patients with Large Artery Atherosclerosis-Subtype Ischemic Stroke HAN Rui-ling, SUN Si, WANG Ming, LI Yan. Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Abstract Objective: To analyze the distribution of the SLCO1B1 gene 388A>G and 521T>C polymorphic loci in 185 patients with large artery atherosclerosis-subtype ischemic stroke (LAA-IS). **Methods:** This study recruited 185 LAA-IS patients as research subjects. The 388G>A and 521T>C loci of the SLCO1B1 gene in the peripheral blood samples were detected by the polymerase chain reaction fluorescence probe method, and the distribution of their genotyping was statistically analyzed. **Results:** According to the polymorphism of the SLCO1B1 gene in the 185 LAA-IS patients, at the 388A>G site, homozygous wild type accounted for 8.6%, heterozygous mutant type accounted for 40.5%, and homozygous mutant type accounted for 50.8%; at the 521T>C site, homozygous wild type accounted for 77.8%, heterozygous mutant type accounted for 21.0%, and homozygous mutant type accounted for 1.1%. **Conclusion:** Within the 185 cases in this study, there exists a large distribution of mutant genotypes of the SLCO1B1 gene.

Key words large artery atherosclerosis-subtype ischemic stroke; SLCO1B1 gene; gene polymorphism

作者单位

武汉大学人民医院
检验科

武汉 430060

基金项目

国家自然科学基金
资助项目(No.81501427);

武汉市科学技术局
(应用基础研究计划)(No.2015060101010048)

收稿日期

2018-09-21

通讯作者

汪明

morgan@whu.edu.cn

cn

血脂代谢异常是导致大动脉粥样硬化型缺血性脑卒中(large artery atherosclerosis-subtype ischemic stroke, LAA-IS)发病和复发的高危因素,采用他汀类药物有效控制血脂水平是LAA-IS二级预防的基础方案之一^[1]。人体内的有机阴离子转运多肽1B1(organic anion transporting polypeptides 1B1, OATP1B1)与他汀类药物代谢密切相关,主要分布于肝脏,可介导肝细胞膜转运吸收他汀类药物^[2]。OATP1B1由定位在12号染色体上的SLCO1B1基因编码,SLCO1B1基因具有高度遗传多态性,直接导致OATP1B1的药物转运功能差异,从而导致他汀类药物药代动力学和药效学的个体差异,其中388A>G和521T>C是2种最常见的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)^[3-5]。突变型SLCO1B1

基因亦可导致服用他汀类药物的患者产生肌毒性和横纹肌溶解症等肌病的风险^[6,7]。因此,检测患者SLCO1B1基因多态性是制定他汀类药物个体化用药方案、提高疗效、减少毒副作用的有效途径之一。本研究旨在分析LAA-IS患者SLCO1B1基因多态性的分布,为此类患者进行他汀类药物的个体化用药提供理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年1月至2018年6月武汉大学人民医院神经内科住院收治的急性缺血性脑卒中患者185例,男87例,女98例;年龄46~81岁,中位年龄为60岁。均经颅脑CT或/和MRI确诊;TOAST(Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment)分型为LAA-IS;

均为湖北籍汉族人,无血缘关系和异族通婚史;均排除其他亚型的缺血性脑卒中(心源性栓塞型、小动脉闭塞型、其他明确病因型和不明原因型)、糖尿病、恶性肿瘤、冠心病、血液病、急性感染、肝肾及内分泌等疾病。

1.2 方法

1.2.1 仪器和试剂 本研究使用的主要仪器和试剂如下:7500实时荧光定量PCR仪(美国AB公司),台式高速离心机(美国Thermo公司),涡旋振荡器(江苏海门其林贝尔仪器厂),Naodrop 2 000超微量紫外/可见分光光度计(美国Thermo公司);血液基因组DNA提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司),人类SLCO1B1基因检测试剂盒(武汉友芝友医疗科技股份有限公司)。

1.2.2 血液基因组DNA提取 入院后第2天清晨抽取患者空腹静脉血1~2 mL(EDTA抗凝管抽取,4℃保存),按照血液基因组DNA提取试剂盒说明书进行提取和纯化DNA。纯化后血液基因组DNA浓度为8~15 ng/μL,-20℃保存,避免反复冻融。

1.2.3 反应体系、扩增条件及荧光信号采集 反应体系:SLCO1B1*1b反应液或SLCO1B1*5反应液(含PCR缓冲液、dTNP_s、特异性引物和探针、内标引物和探针、Taq酶、UNG酶)23 μL,待测样本DNA 2 μL,总体积25 μL。扩增条件:UNG处理37℃ 10 min;预变性95℃ 5 min;变性95℃ 15 s,60℃ 60 s,40个循环。反应结束后,根据扩增曲线,划定合适基线(一般起始设定为3,终止设定为15)和荧光阈值,将得到的不同通道的Ct值按照试剂盒说明书进行判断。荧光信号的采集:FAM通道(SLCO1B1*1b 388A、SLCO1B1*5 521T)、VIC通道(SLCO1B1*1b 388G、SLCO1B1*5 521C)、ROX通道(内标基因)。

1.2.4 基因分型结果分析 根据友芝友公司的SLCO1B1分型检测说明书的定义说明,检测基点为SLCO1B1*1b和SLCO1B1*5,结合FAM通道及VIC通道所采集的荧光信号进行结果判定。所有样本检测中ROX通道(内标基因)Ct<38,且扩增曲线有明显指数增长期则认为样本有效。纯合野生型包括SLCO1B1*1b 388A/A、SLCO1B1*5 521T/T;杂合突变型包括SLCO1B1*1b 388A/G、SLCO1B1*5 521T/C;纯合突变

型包括SLCO1B1*1b 388G/G、SLCO1B1*5 521C/C。分别研究受试者基因型和等位基因的分布。

1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件进行统计分析,采用频数计数法分析基因型频率及等位基因频率,组间比较采用 χ^2 检验进行统计分析基因型是否符合Hardy-Weinberg平衡, $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

以SLCO1B1*1b和SLCO1B1*5为基点,计算388A>G和521T>C位点的基因型频率及等位基因频率,确认符合Hardy-Weinberg平衡(388A>G, $\chi^2=0.036$, $P=0.850$;521T>C, $\chi^2=0.127$, $P=0.721$),说明达到遗传平衡,数据来自同一孟德尔群体,具有群体代表性,见表1。

本研究中185例LAA-IS患者里有388A>G杂合突变型75例(40.5%),388A>G纯合突变型94例(50.8%),纯合野生型16例(8.6%);有521T>C杂合突变型39例(21.0%),521T>C纯合突变型2例(1.1%),纯合野生型144例(77.8%)。

3 讨论

他汀类药物是目前国内外临床使用最广泛的降脂药,其药理学机制主要是通过竞争性抑制3-羟-3-甲基戊二酰辅酶A(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A,HMG-CoA)还原酶,从而减少胆固醇的生物合成。临床研究表明,缺血性脑卒中发生后24 h内启用他汀类药物有利于改善患者预后^[8]。他汀类药物的肌毒性不良反应是导致其依从性差和疗效降低的重要因素。他汀药物相关代谢酶基因的遗传变异所导致的高血药浓度被认为是此类药物肌毒性的首要原因,严重不良反应横纹肌溶解症发生率0.04%~0.20%,病死率高达7.8%,较轻症的肌肉毒性发生率约0.1%~1.0%^[9],因此他汀类药物不良反应的生物标志物成为研究热点之一^[10,11]。SLCO1B1基因最常见的388A>G和521T>C多态性将导致其编码的OATP1B1酶转运活力减弱,肝脏结合、摄取、转运他汀类药物及其他底物能力降低,从而导致血药浓度增高。因此通过多态性检测可预测

表1 SLCO1B1 388A>G和521T>C位点基因型及等位基因的分布[例(%)]

位点	基因型频率			等位基因频率	
	WW	WM	MM	W	M
388A>G	16(8.6)	75(40.5)	94(50.8)	107(28.9)	263(71.1)
521T>C	144(77.8)	39(21.1)	2(1.1)	327(88.4)	43(11.6)

他汀类药物横纹肌溶解症发生风险,并可预估肝脏摄取他汀类药物能力及使用剂量^[12,13]。

本研究中 185 例 LAA-IS 患者中 388A>G 和 521T>C 等位基因多态性分布与本地区健康人群分布无显著性差异。LAA-IS 患者 388A>G 突变率为 71.1%,略高于南昌地区汉族原发性高脂血症人群报道(70%)^[14],低于北京地区高脂血症人群(76.28%)^[15]及云南白族冠心病人群(77.2%)^[16]; 521T>C 突变率为 11.6%,略低于南昌汉族原发性高脂血症人群(12.9%)^[14]及北京地区高脂血症人群(12.82%)^[15],与云南白族冠心病人群(11.4%)相似^[16]。目前尚存在对 521T>C 位点突变与他汀类药物疗效相关性的争议性报道,部分研究认为两者无明显关系^[17],这可能因为 521T>C 纯合突变率低,无法获取可信的统计学数据有关。这些不一致的报道提示我们尚需进行更大样本的调查分析,才能获得更有代表性的数据。

综上所述,本研究提示 SLCO1B1 基因 388A>G 和 521T>C 多态性在 LAA-IS 人群中分布比较常见,对他汀类药物的患者可通过检测 SLCO1B1 基因多态性,明确其遗传背景,调整用药剂量、种类或给药时间,优化个体化用药,达到降肌毒性等不良事件发生率的的目的,提高患者的生活质量。

参考文献

[1] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南2014[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48: 258-273.
[2] Maeda K. Organic anion transporting polypeptide (OATP)1B1 and OATP1B3 as important regulators of the pharmacokinetics of substrate

drugs[J]. Biol Pharm Bull, 2015, 38: 155-168.
[3] Lee HH, Ho RH. Interindividual and interethnic variability in drug disposition: polymorphisms in organic anion transporting polypeptide 1B1 (OATP1B1; SLCO1B1) [J]. Br J Clin Pharmacol, 2017, 83: 1176-1184.
[4] Alghalyini B, El Shamieh S, Salami A, et al. Effect of SLCO1B1 gene polymorphisms and vitamin D on statin-induced myopathy[J]. Drug Metab Pers Ther, 2018, 33: 41-47.
[5] Rajput TA, Naveed AK, Farooqi ZR, et al. Effects of two functionally important SLCO1B1 gene polymorphisms on pharmacokinetics of atorvastatin[J]. Pak J Pharm Sci, 2017, 30: 1363-1370.
[6] Du Souich P, Roederer G, Dufour R. Myotoxicity of statins: Mechanism of action[J]. Pharmacol Ther, 2017, 175: 1-16.
[7] Vrablik M, Zlatohlavek L, Stulc T, et al. Statin-associated myopathy: from genetic predisposition to clinical management[J]. Physiol Res, 2014, 63:S327-334.
[8] 韩雪娟, 靳丽丽, 马超, 等. 不同时间点启动他汀类药物治疗对缺血性卒中患者预后的影响[J]. 神经损伤与功能重建, 2017, 12: 197-199.
[9] 杜贺, 陈少萍. 他汀类药物不良反应及相关因素的研究进展[J]. 中国心血管杂志, 2014, 19: 463-466.
[10] Muntean DM, Thompson PD, Catapano AL, et al. Statin-associated myopathy and the quest for biomarkers: can we effectively predict statin-associated muscle symptoms[J]. Drug Discov Today, 2017, 22: 85-96.
[11] Zhang X, Scialis RJ, Feng B, et al. Detection of statin cytotoxicity is increased in cells expressing the OATP1B1 transporter[J]. Toxicol Sci, 2013, 134: 73-82.
[12] Saber-Ayad M, Manzoor S, El-Serafi A, et al. Statin-induced myopathy SLCO1B1 521T>C is associated with prediabetes, high body mass index and normal lipid profile in Emirati population[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 139: 272-277.
[13] Wang Y, Tian Y, Lv P, et al. The effect of SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics of atorvastatin and 2-hydroxyatorvastatin in healthy Chinese people[J]. Pharmazie, 2017, 72: 365-368.
[14] 唐斌, 黄丹, 傅强. 南昌地区汉族原发性高脂血症人群中 SLCO1B1 基因的分布[J]. 中国现代医生, 2014, 52: 1-3,7.
[15] 张亚同, 朱孔彩, 赵明, 等. SLCO1B1 基因多态性对阿托伐他汀降脂作用的影响[J]. 中国药物警戒, 14: 274-277.
[16] 郝芳芳, 赖泳, 董榆, 等. 云南白族人群 MDR1 和 SLCO1B1 基因多态性与冠心病的相关性[J]. 广东医学, 2016, 37: 1317-1321.
[17] Mladenovska K, Grapci AD, Vavlukis M, et al. Influence of SLCO1B1 polymorphisms on atorvastatin efficacy and safety in Macedonian subjects[J]. Pharmazie, 2017, 72: 288-295.

(本文编辑:唐颖馨)