

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.36.008

SLC2A9 rs1014290 位点基因多态性与北方汉族地区男性痛风发病的相关性研究*

郭敏¹ 王玉晶¹ 邱文丽¹ 李姗姗² 成志锋^{1△}

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院内分泌科 黑龙江 哈尔滨 150001; 2 哈尔滨医科大学 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要 目的:探讨可溶性载体 2 家族成员 9 基因(SLC2A9)rs1014290 位点的单核苷酸多态性与北方汉族地区男性原发性痛风的发病的相关性。**方法:**选取 404 例原发性痛风男性患者和 412 名健康体检者,分别检测其血清尿酸、血脂、肾功等生化指标,同时提取外周血 DNA,应用连接酶检测反应(LDR)法分析其 SLC2A9 基因 rs1014290 位点基因型和等位基因频率。**结果:**痛风组空腹血糖、尿酸(UA)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、收缩压、BMI、肌酐(Cr)水平均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。痛风组 SLC2A9 基因 rs1014290 位点各基因型频率(CC:12.8%;CT:53.5%;TT:38.7%)与对照组(CC:16.2%;CT:50.9%;TT:32.9%)相比差异有统计学意义 ($X^2=3.978, P=0.041$); 两组的等位基因频率相比差异无统计学意义 ($X^2=0.314, P=0.496$)。**结论:**SLC2A9 基因 rs1014290 位点多态性可能与我国北方汉族男性原发性痛风的易感性相关,携带 TT 基因型的个体更易患痛风。

关键词:痛风;尿酸;单核苷酸多态性;SLC2A9

中图分类号:R589.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)36-7034-03

Research on the Correlation of SLC2A9 rs1014290 Polymorphism with Gout in Northern Chinese Han Male Population*

GUO Min¹, WANG Yu-jing¹, QIU Wen-li¹, LI Shan-shan², CHENG Zhi-feng^{1△}

(1 Department of Endocrine, The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the correlation of single nucleotide polymorphism (SNP) rs1014290 of SLC2A9 gene with gout in Northern Chinese Han male population. **Methods:** 404 cases of male patients with primary gout and 412 cases of age-matched healthy subjects were randomly selected. The serum uric acid (UA), lipid, and renal function were detected. Meanwhile, the DNA in the peripheral blood was extract, and the genotype and allele frequency of rs1014290 site in SLC2A9 gene was analyzed by polymerase chain reaction-ligase detection reaction (LDR) sequencing method. **Results:** The fast blood glucose, serum UA, triacylglycerol, cholesterol, systolic pressure, BMI, and creatinin were all significantly higher than those of control group ($P<0.05$). Significant differences were found in the rs1014290 genotype frequencies between gout group (CC: 12.8%; CT: 53.5%; TT: 38.7%) and control group (CC: 16.2%; CT: 50.9%; TT: 32.9%) ($X^2=3.972, P=0.041$). No significant differences were found in rs1014290 allelic frequencies between gout group and control group ($X^2=0.314, P=0.496$). **Conclusion:** rs1014290 polymorphism of SLC2A9 gene may be associated with the susceptibility to gout and play a role in the development of gout in the northern Chinese Han male population, and TT genotype individuals were more susceptible to gout.

Key words: Gout; Uric acid; Polymorphism; SLC2A9

Chinese Library Classification: R589.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)36-7034-03

前言

痛风是由于体内嘌呤代谢异常导致血尿酸水平升高,尿酸盐结晶沉积于关节引起关节急性炎症反复发作、痛风石形成、慢性关节炎和关节的畸形,常与肥胖、糖脂代谢紊乱、高血压、冠心病等聚集发生^[1,2]。痛风属复杂性疾病,受环境、遗传及其交互作用等多重因素的影响。在基因遗传因素方面,该病有明显

的家族聚集性,遗传易感性在发病中起重要作用^[3,4]。约 90%原发性高尿酸血症和痛风是由于尿酸排泄减少所致^[5]。SLC2A9 基因编码的蛋白 GLUT9 主要表达于近端肾小管基底膜、肝脏,参与体内尿酸盐的转运和(或)重吸收,为高效尿酸转运体^[6]。近年来,多项分子生物学研究证实 SLC2A9 基因的单核苷酸多态性与尿酸水平有很强的相关性,被认为是尿酸代谢和痛风的一个重要的调节因子^[7,8]。本研究旨在探讨 rs1014290 位点多态性

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究课题(12541520)

作者简介:郭敏(1979-),女,博士研究生,主治医师,研究方向:痛风的基础与临床研究,

电话:13936267854, E-mail: 13936267854@139.com

△ 通讯作者:成志锋,主任医师,博士, E-mail: wgcgczf@vip.sina.com

(收稿日期:2014-06-06 接受日期:2014-06-30)

与我国北方地区男性汉族人群痛风发病及血尿酸水平的相关性。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2012 年 1 月至 2014 年 1 月哈尔滨医科大学附属第四医院内分泌科门诊及住院的痛风男性患者共 404 例(痛风组),平均年龄 52.53 ± 13.40 岁;均符合 1977 年美国风湿病学会制定的原发性急性痛风性关节炎的诊断标准^[9],排除肾脏疾病、肿瘤等引起的继发性痛风患者。选择同期 412 例无高尿酸血症及痛风家族史的男性健康体检者作为对照组,平均年龄 54.03 ± 15.95 岁。

1.2 方法

1.2.1 血标本采集 被调查者禁食 12 小时,空腹采静脉血,离心获取血清。生化检查包括尿酸、肝肾功能、血脂、血糖等,均由医院检验中心统一测定。由受过培训的专人测量所有受试者血压、身高、体重、腰围、臀围。

1.2.2 基因组 DNA 提取 抽取研究对象外周静脉血 5 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,应用 AXYGEN 公司的 AxyPrep-96 全血基因组 DNA 试剂盒提取 DNA,置于 -80°C 冰箱保存备用。

1.2.3 基因型检测 采用连接酶检测反应(LDR)方法对 SLC2A9 基因 rs6855911 位点多态性进行基因分型。①引物和探针:引物和探针由上海翼和应用生物技术有限公司设计并合成。上游引物为 5'-TGATAAATATCAAAAGTTCTTCTCT-3',下游引物为 5'-ATATTAATCAAAAGTTCATCTCTCC-3',扩增片段长度为 171 bp。②LDR 反应:PCR 产物(反应体系为 20 μL , 95°C 预变性 2 min,然后 94°C 变性 30 s, 53°C 退火 1 min 30 s, 65°C 延伸 30 s,共 35 次循环,最后 65°C 延伸 10 min),经 3%的琼脂糖凝胶电泳检测,观察 PCR 产物的效果,确定其作为模板在 LDR 反应中加入的量。LDR 反应体系为 10 μL , 95°C 2 min,然后 94°C 变性 15 s, 50°C 反应 25 s,共 40 次循环。应用 ABI

公司 PRISM 3730 测序仪对 LDR 产物进行电泳测序,结果应用 Genemapper4.0 软件进行数据分析和基因分型。

1.3 统计学方法

采用 SPSS18.0 统计软件,基因频率在人群中的分布符合 Hardy-Weinberg 定律,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 的方式表示,采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般临床资料与生化特征比较

两组受检者的年龄、舒张压、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)尿素氮(BUN)相比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。痛风组空腹血糖、尿酸(UA)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、收缩压、BMI、肌酐(Cr)均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示痛风患者存在明显的糖、脂代谢的紊乱。见表 1。

2.2 两组基因型和等位基因频率分布的比较

经 Hardy-Weinberg 平衡检验,痛风组 and 对照组 rs1014290 (C/T)位点符合遗传平衡,具有群体代表性($P > 0.05$)。痛风组 SLC2A9 基因 rs1014290 位点各基因型频率(CC:12.8%;CT:53.5%;TT:38.7%),与对照组(CC:16.2%;CT:50.9%;TT:32.9%)相比差异有统计学意义($\chi^2 = 3.978, P = 0.041$)。两组的等位基因频率相比,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.314, P = 0.496$)。见表 2。

3 讨论

随着经济的发展和人民生活水平的提高,原发性痛风的患病率呈逐年升高。上世纪 90 年代后期,山东流行病学调查显示痛风的患病率为 0.03%^[10],2004 年对山东沿海 5000 余人的流行病学调查结果显示,痛风的患病率为 1.14%^[11],在 10 年内痛风的患病率增加了近 40 倍,已成为严重危害人民健康的常见病、多发病。

SLC2A9 基因位于 4p16.1,全长 214025 bp,包含 1 个非编

表 1 痛风组与对照组一般临床资料和生化特征比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the general clinical data and biochemical characteristics between gout group and control group($\bar{x} \pm s$)

	Control group (n=412)	Gout group (n=404)
Age(years)	54.03 $\pm$ 15.95	52.53 $\pm$ 13.40
FBG (mmol/L)	5.44 $\pm$ 1.42	5.62 $\pm$ 1.08*
UA (mmol/L)	300.18 $\pm$ 64.43	475.78 $\pm$ 109.19**
TC (mmol/L)	4.64 $\pm$ 0.08	5.06 $\pm$ 1.03**
TG (mmol/L)	1.44 $\pm$ 1.05	2.38 $\pm$ 1.96**
HDL-C (mmol/L)	1.27 $\pm$ 0.44	1.31 $\pm$ 0.48
LDL-C (mmol/L)	2.37 $\pm$ 0.48	2.44 $\pm$ 0.56
BMI (kg/m ²)	24.34 $\pm$ 3.43	26.05 $\pm$ 2.98**
BUN (mmol/L)	5.46 $\pm$ 1.24	5.63 $\pm$ 2.01
Cr ($\mu\text{mol/L}$)	80.70 $\pm$ 12.37	92.70 $\pm$ 29.69**
Systolic blood pressure (mmHg)	129.03 $\pm$ 16.73	134.28 $\pm$ 16.58*
Diastolic blood pressure (mmHg)	80.70 $\pm$ 11.29	82.01 $\pm$ 10.47

Note: compared with gout group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

表 2 痛风组与对照组 SLC2A9 基因 rs1014290 位点基因型及等位基因频率的比较

Table 2 Comparison of the genotype frequency and association tests of rs1014290 in SLC2A9 between gout group and control group

Groups	Number of cases	Genotype frequencies			Allele frequencies	
		CC	CT	TT	C	T
Gout group	404	52(12.8%)	216(53.5%)	156(38.7%)	320(39.6%)	488(60.4%)
Control group	412	67(16.2%)	210(50.9%)	135(32.9%)	344(41.7%)	480(58.3%)
X ²			3.978			0.314
P			0.041			0.496

码外显子和 13 个编码外显子^[12]。SLC2A9 基因的变异可降低尿酸排泄分数、导致高尿酸血症及痛风。SLC2A9 基因编码两个亚型的蛋白,亚型 1(长亚型, GLUT9)由 540 个氨基酸组成,主要表达于近端肾小管基底膜、肝脏;而亚型 2(短亚型, GLUT9 Δ N) 具有 511 个氨基酸,主要表达于近端肾小管顶膜和胎盘^[13]。虽然位于肾脏近端小管基底膜的 GLUT9 已被证实具有调节尿酸、葡萄糖及果糖代谢的功能,可能还参与软骨基质中成骨细胞增殖和分化的调控,但位于肾脏顶膜的 GLUT9 Δ N 及位于肝细胞的 GLUT9 的生理功能尚不清楚,还需要进一步的研究。

Kolz^[14]等对 28141 例研究对象的多个基因的多态性进行了 Meta 分析,发现了 6 个膜转运子对尿酸浓度有影响,包括 ABCG2、SLC22A11、SLC22A12、SLC17A1、SLC17A3 及 SLC16A9,其中 SLC2A9 基因的作用最为突出,在影响女性血尿酸浓度中有 5%~6% 的变量贡献,而对于男性只有 1%~2% 的变量贡献。Vitar^[15]等发现该基因内含子处的 SNP 对血尿酸水平影响更加显著,如内含子处 rs734553 和 rs16890979 等,其中 rs16890979 与血尿酸浓度及痛风发病关联最显著。研究发现女性患者 SLC2A9 基因变异率约为男性的 2 倍^[16,17]。也有研究表明中国及日本人群中 SLC2A9 基因 rs3733591 处 SNP 频率在痛风患者与正常对照人群间存在显著差异,但此差异在白种人中未被证实,提示 SLC2A9 对痛风发病的影响具有种属特异性^[18]。rs1014290 位点位于 SLC2A9 基因第三内含子,本研究发现痛风患者的 TT 基因型的分布频率显著高于健康对照人群,而 CC 基因型的分布频率显著低于健康对照人群,提示 rs1014290 位点多态性可能与我国北方汉族男性痛风发病相关,携带 TT 基因型的个体痛风的发病风险更大,而 CC 基因型的个体病风险降低。本研究未发现两组等位基因频率具有差异性(P=0.496),尚有待于进一步扩大样本量进行验证。

近年来,许多研究表明痛风与糖尿病、高血压病、肥胖、高脂血症、冠心病的发生密切相关^[19,20]。本研究结果显示痛风患者的空腹血糖、尿酸、甘油三酯、胆固醇、肌酐、收缩压、BMI 均高于健康对照人群,提示痛风患者除血尿酸代谢异常,还存在明显的血糖、血压、脂质代谢的紊乱。目前研究发现 SLC2A9 基因编码的蛋白可同时转运葡萄糖和尿酸,因此对 SLC2A9 的深入研究对揭示尿酸和糖代谢紊乱的机制以及筛选今后作为治疗的靶点基因可能具有重要的意义^[21]。

综上所述,SLC2A9 基因 rs1014290 位点多态性与我国北方汉族男性痛风发病相关,但 SLC2A9 基因和血尿酸水平升高之间的关系尚未完全明确,其具体机制有待于进一步的研究证实。

参考文献(References)

- [1] Karis E, Crittenden DB, Pillinger MH. Hyperuricemia, Gout, and Related Comorbidities: Cause and Effect on a Two-Way Street [J]. South Med J, 2014, 107(4): 235-241
- [2] Pascal Richette, Thomas Bardin. Gout [J]. Lancet, 2010, 375(9711): 318-328
- [3] George RL, Keenan RT. Genetics of hyperuricemia and gout: implications for the present and future[J]. Curr Rheumatol Rep, 2013, 15(2): 309
- [4] Reginato AM, Mount DB, Yang I, et al. The genetics of hyperuricaemia and gout[J]. Nat Rev Rheumatol, 2012, 8(10): 610-621
- [5] Gerber A, Groneberg DA, Klingelhöfer D, et al. Gout: a critical analysis of scientific development [J]. Rheumatol Int, 2013, 33(11): 2743-2750
- [6] Roddy E, Doherty M. Epidemiology of gout [J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(6): 223
- [7] Le MT, Shafiu M, Mu W, et al. SLC2A9, a fructose transporter identified as a novel uric acid transporter[J]. Nephrol Dial Transplant, 2008, 23(9): 2746-2749
- [8] Anzai N, Ichida K, Jutabha P, et al. Plasma urate level is directly regulated by a voltage-driven urate efflux transporter URAT1 (SLC2A9) in humans[J]. J Biol Chem, 2008, 283(40): 26834-26838
- [9] 苗志敏. 痛风病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006: 97
- [10] Miao Zhi-mi. Gout [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006: 97
- [10] 徐晓菲, 姜宝法, 张源潮, 等. 山东沿海地区人群血尿酸水平及其在痛风筛查中的意义[J]. 中国公共卫生, 1999, 15(3): 205-206
- [11] Xu Xiao-fei, Jiang Bao-fa, Zhang Yuan-chao, et al. Shandong coastal population and its significance in serum uric acid levels in gout screening[J]. China Public Health, 1999, 15(3): 205-206
- [11] Li C, Chen Y, Zhao S, et al. Dietary and lifestyle changes associated With high prevalence of hyperuricemia and gout in the Shandong coastal cities of Eastern China[J]. J Rheumatol, 2008, 35(9): 1689- 691
- [12] Charles BA, Shriner D, Doumatey A, et al. A genome-wide association study of serum uric acid in African Americans [J]. BMC MedGenomics, 2011: 4-17
- [13] Augustin R, Carayannopoulos MO, Dowd LO, et al. Identification and characterization of human glucose transporter-like protein-9 (GLUT9): alternative splicing alters trafficking[J]. J Biol Chem, 2004, 279: 16229-16236

(下转第 7018 页)

- [10] 马小芬,谢席胜,左川,等.人参皂甙 Rg1 对糖尿病肾病大鼠肾脏保护作用的机制研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2010, 27(2): 342-347
Ma Xiao-fen, Xie Xi-sheng, Zuo Chuan, et al. Effects of Ginsenoside Rg1 on Streptozocin-Induced Diabetic Nephropathy in Rats [J]. Journal of Biomedical Engineering, 2010, 27(2): 342-347
- [11] Toshio D, Akira M, Takeshi M, et al. The current clinical problems for early phase of nephropathy and approach for pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 2 (suppl 1): 21-24
- [12] 陈曦, 陈鲁. 人参皂苷 Rg3 的抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国当代医药, 2011, 18(36): 17-18
Chen Xi, Chen Lu. Advances in anti-tumor effects of Ginsenoside Rg3[J]. China Modern Medicine, 2011, 18(36): 17-18
- [13] 储继红, 许美娟, 吴婷, 等. 人参皂苷 Rg3 药理学及药代动力学研究进展[J]. 中国药物与临床, 2011, 11(2): 180-182
Chu Ji-hong, Xu Mei-juan, Wu Ting, et al. Progress of Rg3 in pharmacology and pharmacokinetics[J]. Chinese Remedies & Clinics, 2011, 11(2): 180-182
- [14] 辛颖, 姜新, 崔俊生, 等. 20(S)-人参皂苷 Rg3 对血管内皮细胞增殖和迁移的抑制作用[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(12): 1352-1355
Xin Ying, Jiang Xin, Cui Jun-sheng, et al. Inhibitory Effect of 20(s)-Ginsenoside Rg3 on Proliferation and Migration of Vascular Endothelial Cells [J]. Cancer Research On Prevention and Treatment, 2010, 37(12): 1352-1355
- [15] 刘基巍, 赵翌, 富立, 等. 人参皂甙 Rg3 在小鼠肝癌淋巴转移模型中诱导细胞凋亡的作用[J]. 中国肿瘤临床, 2004, 31(19): 1120-1122
Liu Ji-wei, Zhao Yi, Fu Li, et al. Role of Ginsenoside Rg3 in inducing Apoptosis of Tumor Cells in the Lymphatic Metastasis Mouse [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2004, 31(19): 1120-1122
- [16] 张丽娜, 谢席胜, 左川, 等. 人参皂甙 Rg1 对糖尿病肾病大鼠 TNF- α 、MCP-1 表达的影响 [J]. 四川大学学报 (医学版), 2009, 40(3): 466-471
Zhang Li-na, Xie Xi-sheng, Zuo Chuan, et al. Effect of Ginsenoside Rg1 on the Expression of TNF- α and MCP-1 in Rats with Diabetic Nephropathy [J]. Journal Sichuan University (Medical Science Edition), 2009, 40(3): 466-471
- [17] 姜新, 辛颖, 许天敏, 等. 人参皂苷 Rg3 对小鼠 B16 黑色素瘤细胞侵袭、转移及 MMP-9 表达的影响[J]. 肿瘤, 2011, 31(2): 117-121
Jiang Xin, Xin Ying, Xu Tian-min, et al. Effects of ginsenoside Rg3 on the invasion and metastasis of mouse melanoma cell line B16 as well as the expression of MMP-9[J]. Tumor, 2011, 31(2): 117-121
- [18] 刘基巍, 赵翌, 富力, 等. PCNA、P16、MMP9 在人参皂甙 Rg3 抗肝癌淋巴道转移中的表达及意义 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2004, 9(3): 225-228
Liu Ji-wei, Zhao Yi, Fu Li, et al. Expression and Significance of PCNA, P16 and MMP9 in the Lymphatic Metastasis Models with Ginsenoside Rg3[J]. Chinese Clinical Oncology, 2004, 9(3): 225-228
- [19] 张会来, 王华庆, 姚智, 等. 人参皂甙 Rg3 促进同系小鼠外周血干细胞移植后免疫恢复研究[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2005, 25(5): 431-434
Zhang Hui-lai, Wang Hua-qing, Yao Zhi, et al. Study on effect of ginsenoside Rg3 on immunological recovery after peripheral blood stem cell transplantation in animal experiments[J]. Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection, 2005, 25(5): 431-434
- [20] 李伟, 张红, 殷松楼, 等. 不同剂量链脲佐菌素诱导 SD 大鼠糖尿病肾病模型的研究[J]. 徐州医学院学报, 2006, 26(1): 52-55
Li Wei, Zhang Hong, Yin Song-lou, et al. Optimal dosage of streptozotocin for inducing diabetic nephropathy in model rats [J]. ACTA Academiae Xuzhou, 2006, 26(1): 52-55
- [21] 张丽娜, 尤冠巧, 陶琳. 人参皂甙 Rg1 对糖尿病肾病大鼠 MMP-9 表达的影响[J]. 求医问药, 2012, 10(9): 447-449
Zhang Li-na, You Guan-qiao, Tao Lin. Effect of ginsenoside Rg1 on the expression of MMP-9 in rats with diabetic nephropathy [J]. Seek Medical And Ask The Medicine, 2012, 10(9): 447-449

(上接第 7036 页)

- [14] Kolz M, Johnson T, Sanna S, et al. Meta-analysis of 28 141 individuals identifies common variants within five new loci that influence uric acid concentrations[J]. PLoS Genet, 2009, 5(6): e1000504
- [15] Vitart V, Rudan I, Hayward C, et al. SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout[J]. Nat Genet, 2008, 40(4): 437-442
- [16] Urano W, Taniguchi A, Inoue E, et al. Effect of genetic polymorphisms on development of gout[J]. J Rheumatol, 2013, 40(8): 1374-1378
- [17] Doring A, Gieger C, Mehta D, et al. SLC2A9 influences uric acid concentration with pronounced sex-specific effect[J]. Nat Genet, 2008, 40: 430-436
- [18] Hollis-Moffatt JE, Gow PJ, Harrison AA, et al. The SLC2A9 nonsynonymous Hisvariant and gout; evidence for a population-specific effect on severity[J]. Arthritis Res Ther, 2011, 13(3): R85
- [19] Angelo L Gaffo, N Lawrence Edwards, Kenneth G Saag. Gout. Hyperuricemia and cardiovascular disease: how strong is the evidence for a causal link[J]. Arthritis Res Ther, 2009, 11(4): 240-240
- [20] Becker MA, MacDonald PA, Hunt BJ, et al. Diabetes and gout: efficacy and safety of febuxostat and allopurinol [J]. Diabetes Obes Metab, 2013, 15(11): 1049-1055
- [21] Dalbeth N, Merriman T. Crystal ball gazing: new therapeutic targets for hyperuricaemia and gout[J]. Rheumatology(Oxford), 2009, 48(3): 222-226