

# 维生素 D 受体遗传变异与急性脑卒中的关联

邹王军<sup>1</sup>, 陆敏艳<sup>2</sup>, 孙 凯<sup>1</sup>

(南京医科大学附属江苏盛泽医院, 1. 急诊科; 2. 神经内科, 江苏 苏州, 215228)

**摘要:**目的 探讨维生素 D 受体(VDR)基因遗传多态与急性缺血型脑卒中发病风险的相关性。方法 采用 TaqMan-PCR 方法检测 VDR 基因 FokI 和 ApaI 位点基因型分布情况,比较不同基因型与急性缺血型脑卒中发病的相关性。结果 FokI 位点的 Ff 可以显著增加个体急性脑卒中的发病风险(调整 OR = 1.65, 95% CI = 1.18 ~ 2.32); 与 fa 单倍型相比, Fa 单倍型在急性脑卒中组的分布显著低于健康对照组(调整 OR = 0.66, 95% CI = 0.51 ~ 0.85)。结论 VDR 基因遗传变异与急性缺血型脑卒中的发病风险存在关联。

**关键词:** 缺血型脑卒中; 基因多态性; 维生素 D; 维生素 D 受体

中图分类号: R 743.3 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2018)07-123-03 DOI: 10.7619/jcmp.201807035

## Association between genetic variation of vitamin D receptor and acute ischemic stroke

ZOU Wangjun<sup>1</sup>, LU Minyan<sup>2</sup>, SUN Kai<sup>1</sup>

(1. Department of Emergency; 2. Department of Neurology, Jiangsu Shengze Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou, Jiangsu, 215228)

**ABSTRACT: Objective** To explore the relationship between polymorphisms of vitamin D receptor (VDR) and susceptibility of acute ischemic stroke. **Methods** Genotype distribution in FokI and ApaI of VDR were detected by TaqManPCR, and the correlation between different genotypes and the attack of acute ischemic stroke was compared. **Results** The Ff genotype of FokI could significantly improve the onset risk of acute ischemic stroke (adjusted OR = 1.65, 95% CI = 1.18 ~ 2.32). Compared with fa haplotype, distribution of Fa haplotype in acute ischemic stroke was significantly lower than healthy controls (adjusted OR = 0.66, 95% CI = 0.51 ~ 0.85). **Conclusion** Genetic variation of VDR is associated with the onset risk of acute ischemic stroke.

**KEY WORDS:** ischemic stroke; polymorphisms; vitamin D; vitamin D receptor

急性脑卒中是急诊常见病症之一,其具有高发病率、高死亡率、高致残率、高复发率以及高医疗负担的特点<sup>[1]</sup>。脑卒中作为一个全球性的健康问题,是影响伤残调整寿命年第3位的原因。脑卒中造成的死亡和残疾为发展中国家带来了沉重的经济负担。脑卒中主要分为出血型和缺血型两大类,临床以缺血型脑卒中最为多见,其发病机制是极其复杂的,从遗传学角度分析,脑卒中为一组多基因遗传性疾病,仅少数脑卒中是由单基因遗传缺陷所引起<sup>[2]</sup>。心脏和衰老基因组流行病学队列研究协作组(CHARGE)开展了一项目前最大规模的脑卒中全基因组关联研究(GWAS),此项研究结果揭示除一些不明危险因素外,遗传因素可能是脑卒中发病的重要危险因素<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4]</sup>已证实,缺乏维生素 D 可增加脑卒中的发病

风险。维生素 D 与维生素 D 受体(VDR)相结合后才能发挥生物学功能。VDR 遗传变异与多种心脑血管疾病均有不同程度的关联,Prabhakar P 等<sup>[5]</sup>在印度人群中发现,VDR 基因 FokI 位点多态性与缺血型脑卒中的发病存在关联。目前,在我国汉族人群中尚未开展 VDR 基因遗传多态与缺血型脑卒中关联的研究。本研究结合国外已有的研究进展,采用基于医院的病例对照研究,探讨 VDR 基因遗传多态与缺血型脑卒中发病的关联,现报告如下。

### 1 资料与方法

#### 1.1 一般资料

随机选取 2014 年 5 月—2017 年 5 月在江苏盛泽医院急诊收治且诊断为急性缺血型脑卒中患

收稿日期: 2017-10-19 录用日期: 2017-12-21

通信作者: 孙凯, E-mail: 40781509@qq.com

者263例为急性缺血性脑卒中组。纳入标准:①所有病例均经过CT/MRI以及相关实验室检查明确诊断;②年龄18~70岁;③自愿作为研究对象,保证完成研究过程。排除标准:①其他心血管疾病患者;②年龄在18岁以下或70岁以上;③合并感染性疾病、肿瘤患者。所有研究均为无血缘关系的人群,且排除孕妇、哺乳妇女者。健康对照组为本单位同时期参加体检的健康人群591例,按照年龄、性别等因素与口腔癌组相匹配。本研究获得了本单位伦理委员会的批准,且严格遵守伦理学的各项规定。

### 1.2 调查方法

参照相关文献自行设计《脑卒中患者调查表》进行现场询问调查,在研究对象知情同意的前体下由经过培训的调查人员对研究对象进行询问调查,调查内容包括基本情况(年龄、性别、吸烟、饮酒等),既往疾病史(慢性病史、传染病史、其他肿瘤史等)。

### 1.3 实验方法

经知情同意后,抽取研究对象EDTA抗凝静脉血5 mL,并在24 h内以4 000转离心10 min,将静脉血分离成血清层、白细胞层和红细胞层,分装于1.5 mL冻存管,置-20℃贮存。血清25(OH)D<sub>3</sub>水平的检测采用ELISA法,试剂盒购自南京百斯凯科技有限公司。所有实验的具体操作均严格按照说明书进行。从NCBI、HapMap等数据库中寻找和确认VDR基因的SNPs位点,选择在人群具有较高频率(MAF≥5%),再结合国内外文献报道,最终确定了FokI和ApaI两个位点。运用ABI公司设计的TaqMan-MGB荧光探针实时定量PCR法检测FokI和ApaI位点基因型。探针和引物均委托南京骥骜生物技术公司设计。反应在ABI 7900 PCR仪中进行,采用SDS2.3软件读取检测数据。

### 1.4 统计学分析

应用EpiData 3.10、SAS 9.1.3、SPSS17.0和PHASE 2.0软件对调查和实验数据进行分析,健康对照在和病例组中性别、吸烟、饮酒分布情况采用卡方检验,年龄、体质量指数(BMI)分布差异采用 $t$ 检验,血清25(OH)D<sub>3</sub>水平分布不符合正态分布,故采用秩和检验方法。VDR基因位点在人群中分采用多因素Logistic回归分析。本研究的检验均为双侧概率检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

万方数据

## 2 结果

### 2.1 研究对象的一般情况

本研究共纳入263例急性脑卒中患者和591例健康对照者。2组人群在性别和年龄分布上无显著差异( $P = 0.07, 0.28$ ),2组人群中吸烟和饮酒人数的分布亦无显著差异( $P = 0.09, 0.84$ )。血清25(OH)D<sub>3</sub>水平在健康对照组中的分布显著高于急性脑卒中组( $P < 0.01$ )。见表1。

表1 急性脑卒中组与健康对照组一般情况的比较( $\bar{x} \pm s$ )[ $n(\%)$ ]

变量	急性脑卒中组( $n = 263$ )	健康对照组( $n = 591$ )
年龄/岁	55.34 ± 7.02	54.31 ± 8.12
BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	23.88 ± 3.14	23.54 ± 3.18
性别		
男	143(54.3)	304(51.1)
女	120(45.7)	287(48.9)
吸烟		
是	195(74.1)	396(68.9)
否	68(25.9)	195(31.1)
饮酒		
是	69(26.3)	161(27.1)
否	194(73.7)	430(72.9)
25(OH)D <sub>3</sub> 浓度/(ng/mL)	26.36(24.37, 39.42)*	16.82(14.89, 19.32)

与健康对照组比较, \*\* $P < 0.01$ 。

### 2.2 VDR基因多态性与急性脑卒中遗传易感性的关系

多因素Logistic回归分析显示,在调整年龄、BMI等因素后,与FF基因型相比,FokI位点的Ff可以显著增加个体急性脑卒中的发病风险(调整OR = 1.65, 95% CI = 1.18 ~ 2.32);作者并没有发现ApaI位点多态性与急性脑卒中发病风险存在显著关联。显性模型显示,与FF基因型相比,FokI位点的变异基因型Ff/ff可以显著增加急性脑卒中的发病风险(调整OR = 1.61, 95% CI = 1.16 ~ 2.21),而ApaI位点Aa/aa基因型与AA相比,并未发现该基因型与急性脑卒中发病风险存在关联(调整OR = 1.17, 95% CI = 0.87 ~ 1.57)。见表2。

表2 VDR基因多态性与急性脑卒中遗传易感性的关系[ $n(\%)$ ]

SNP位点	急性脑卒中组	健康对照组	OR	P
FokI				
FF	71(27.0)	220(37.2)	1	-
Ff	146(55.5)	273(46.2)	1.65(1.18 ~ 2.32)	0.01
ff	46(17.5)	98(16.6)	1.45(0.94 ~ 2.25)	0.09
Ff + ff	192(73.0)	371(62.8)	1.61(1.16 ~ 2.21)	0.01
ApaI				
AA	110(41.8)	270(45.7)	1	-
Aa	126(47.9)	250(42.3)	1.23(0.91 ~ 1.68)	0.17
aa	27(10.3)	71(12.0)	0.93(0.57 ~ 1.53)	0.78
Aa + aa	153(58.2)	321(54.3)	1.17(0.87 ~ 1.57)	0.29

调整因素分别为年龄、BMI、性别、吸烟和饮酒

### 2.3 单倍型研究

与fa单倍型相比,Fa单倍型在急性脑卒中

组的分布显著低于健康对照组(调整  $OR = 0.66$ ,  $95\% CI = 0.51 \sim 0.85$ ), 见表3。

表3 VDR 基因 SNP 位点单倍型分析与急性卒中发病的关联[n(%)]

单倍型	急性卒中组	对照组	OR	P
fa	201(38.2)	379(32.1)	1	--
Fa	145(27.6)	411(34.8)	0.66(0.51-0.85)	0.01
FA	143(27.2)	302(25.5)	0.89(0.68-1.16)	0.39
fA	37(7.0)	90(7.6)	0.77(0.51-1.18)	0.23

调整因素分别为年龄、BMI、性别、吸烟和饮酒

### 3 讨论

维生素 D 是参与机体多种生理反应、免疫功能的类固醇类衍生物。25(OH) $D_3$  是机体维生素 D 最重要的活性代谢产物,可参与抑制肾素-血管紧张素系统(RAS),起到降低血压,保护血管的作用<sup>[6]</sup>。本研究中,健康对照组的血清 25(OH) $D_3$  水平显著高于急性卒中组,这与苗伟等<sup>[7]</sup>的研究结果相同,表明机体血清 25(OH) $D_3$  水平确与急性脑卒中的发病风险存在关联,且急性卒中患者普遍存在缺乏维生素 D 的现象,这对急性脑卒中的临床诊断具有一定的指导意义。

维生素 D 发挥生物学功能依赖与 VDR 的结合,而 VDR 的表达受控于 VDR 基因多态性。因此,VDR 基因多态性可通过影响 VDR 的表达而调控维生素 D 的生物学功能。人类 VDR 基因位于染色体 12q13~14,其 cDNA 全长约 100 kb,由多个内含子和 9 个外显子组成。VDR 基因多态性与多种疾病发生均有关联,包括免疫学疾病、慢性疾病、感染性疾病以及肿瘤等<sup>[8]</sup>。Saadi A 等<sup>[9]</sup>在一项基于汉族人群的病例对照研究中发现, FokI 和 BsmI 位点多态性与哮喘的发病存在关联。同样在汉族人群总,盛正妍等<sup>[10]</sup>研究发现 FokI 位点多态性与 I 型糖尿病的发病风险存在关联。在一项 Meta 分析研究中, Gao 等<sup>[11]</sup>发现 FokI 位点 ff 基因型可增加亚洲人群结核的发病风险。由此可见, VDR 基因 FokI 位点确实与多种疾病的发病风险存在关联。本研究中,作者发现 FokI 位点的 Ff 可以显著增加个体急性脑卒中的发病风险,其变异基因型 Ff/ff 亦可显著增加急性脑卒中的发病风险。然而,未发现 ApaI 位点多态性与急性脑卒中发病风险存在关联。在单倍型研究中,作者发现与 fa 单倍型相比, Fa 单倍型在急性卒中组的分布显著低于健康对照组,由此可见, FokI 位点多态性在 VDR 基因变异中发挥着重要作用,且这种作用在一定条件下起到主导

作用。印度学者 Puttachandra 等<sup>[5]</sup>首次研究了 VDR 基因 FokI、ApaI、TaqI 以及 BsmI 四个位点多态性与急性缺血型脑卒中患者发病风险的研究,结果只发现 FokI 位点多态性与急性缺血型脑卒中患者的发病风险存在关联,这一结果与本研究一致。有研究发现, FokI 位点多态性与缺血性卒中患者胆固醇水平有关。众所周知,血脂异常是脑卒中的重要危险因素。因此, VDR 基因多态性可能通过影响机体血脂水平,来间接影响脑卒中的发病。

综上所述,维生素 D 水平以及 VDR 基因多态性对急性脑卒中发病风险的作用不可忽视,其可预测急性脑卒中的发病以及影响急性脑卒中发生、发展的临床结局。

### 参考文献

- [1] 杨莉敏, 刘月星, 严非, 等. 国外脑卒中防治信息化策略研究进展及启示[J]. 中国全科医学, 2016, 19(29): 3513-3516.
- [2] 张薇, 范宇威, 高静, 等. 卒中流行病学调查相关文献复习[J]. 中国临床神经科学, 2014, 22(6): 699-703.
- [3] Debette S, Verbaas C A I, Bressler J, et al. Genome-wide studies of verbal declarative memory in nondemented older people: the Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology consortium[J]. Biological psychiatry, 2015, 77(8): 749-763.
- [4] 范宇威, 代大伟, 吴珊珊, 等. 缺血性脑卒中二级预防研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(12): 2382-2385.
- [5] Prabhakar P, Christopher R, Nagaraja D. Vitamin D Receptor (VDR) gene polymorphism and risk of ischemic stroke[J]. Molecular Cytogenetics, 2014, 7(1): P33-P39.
- [6] 李敏, 雷永富. 维生素 D、肾素-血管紧张素在糖尿病病理生理中的作用[J]. 实用糖尿病杂志, 2012, 8(6): 57-60.
- [7] 苗伟. 急性脑卒中与血清 25-羟维生素 D 水平的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(12): 1715-1717.
- [8] 李朝虹, 王永, 殷寒秋, 等. 维生素 D 及其受体基因多态性与类风湿关节炎关系的研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2013, 17(3): 164-168.
- [9] Saadi A, Gao G, Li H, et al. Association study between vitamin D receptor gene polymorphisms and asthma in the Chinese Han population: a case-control study[J]. BMC medical genetics, 2009, 10(1): 71-79.
- [10] 盛正妍, 张薇薇, 游利, 等. 上海地区汉族人群维生素 D 受体基因多态性与 1 型糖尿病的相关性研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2009(9): 666-668.
- [11] Gao L, Tao Y, Zhang L, et al. Vitamin D receptor genetic polymorphisms and tuberculosis: updated systematic review and meta-analysis[J]. The international journal of tuberculosis and lung disease, 2010, 14(1): 15-23.
- [12] 张园园, 朱筠. 活性维生素 D3 及其受体对糖尿病肾病的影响[J]. Dial Transplant, 2012, 27(1): 259-266.