

PCSK9 基因多态性与急性心肌梗死的相关性分析

曲妍 刘园园 杨秀静 才奇博 关荣春 刘灿君

作者单位: 161000 黑龙江齐齐哈尔, 齐齐哈尔医学院附属第三医院检验科

通信作者: 曲妍, Email: miaojing139139@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.02.013

【摘要】 目的 研究前蛋白转移酶枯草溶菌素 9(PCSK9) 基因多态性与急性心肌梗死(AMI) 的相关性, 为 AMI 的诊治提供指导依据。方法 选择 2021 年 1 月—2022 年 12 月齐齐哈尔医学院附属第三医院收治的 200 例 AMI 患者作为研究对象, 纳入研究组; 另外选择同期 200 名健康志愿者纳入对照组。通过单碱基因延伸法完成 PCSK9 基因的检测, 比较两组 PCSK9 基因多态性差异。将研究组患者分为 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI) 组(73 例) 和非 ST 段抬高型心肌梗死(NSTEMI) 组(127 例), 比较两组 PCSK9 基因多态性差异。分析研究组不同基因型患者的血脂指标[包括三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)] 水平差异。结果 研究组中 PCSK9 基因 TT 型人数占比明显低于对照组, CT、CC 基因型人数占比明显高于对照组(TT: 82.50% 比 93.50%, CT: 13.50% 比 6.50%, CC: 4.00% 比 0.00%, 均 $P < 0.05$)。STEMI 组患者 PCSK9 基因 TT 型人数占比明显低于 NSTEMI 组, CT、CC 基因型人数占比明显高于 NSTEMI 组(TT: 64.38% 比 92.91%, CT: 26.03% 比 6.30%, CC: 9.59% 比 0.79%, 均 $P < 0.05$)。PCSK9 基因型为 CT+CC 患者的 TG、TC、LDL-C 水平均明显高于 TT 基因型患者, HDL-C 水平明显低于 TT 基因型患者[TG(mmol/L): 1.25 ± 0.34 比 1.03 ± 0.17 , TC(mmol/L): 4.92 ± 0.87 比 4.39 ± 0.75 , LDL-C(mmol/L): 3.32 ± 0.54 比 2.76 ± 0.47 , HDL-C(mmol/L): 1.31 ± 0.24 比 1.54 ± 0.32 , 均 $P < 0.05$]。结论 PCSK9 基因多态性与 AMI 的发生有关, 携带 CT+CC 基因型患者发生 AMI 的风险较高, 且血脂代谢异常程度更高, 值得临床重点关注。

【关键词】 急性心肌梗死; 前蛋白转移酶枯草溶菌素 9; 相关性

基金项目: 黑龙江省卫生健康委科研课题(20210303010303)

Correlation analysis between PCSK9 gene polymorphism and acute myocardial infarction

Qu Yan, Liu Yuanyuan, Yang Xiujing, Cai Qibo, Guan Rongchun, Liu Canjun. Department of Clinical Laboratory, the Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical University, Qiqihar 161000, Heilongjiang, China

Corresponding author: Qu Yan, Email: miaojing139139@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the correlation between the polymorphism of proprotein transferase subtilin lysin 9 (PCSK9) gene and acute myocardial infarction (AMI), so as to provide guidance for the diagnosis and treatment of AMI. **Methods** The 200 patients with AMI admitted to the Third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College from February 2021 to February 2022 were selected as research objects and included as study group. Other 200 healthy volunteers were selected during the same period as control group. PCSK9 gene was detected by single base gene extension method, and the difference in polymorphism of PCSK9 gene was compared between the two groups. In addition, the study group was divided into ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) group (73 cases) and non-ST-segment elevation myocardial infarction (NSTEMI) group (127 cases), and the differences of PCSK9 gene polymorphism between the two groups were compared. In addition, the differences of blood lipid indexes [including triacylglycerol (TG), total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)] among different genotypes in study group were analyzed. **Results** The proportion of PCSK9 gene TT genotype in study group was significantly lower than that in control group, and the proportion of CT and CC genotypes was significantly higher than that in control group (TT: 82.50% vs. 93.50%, CT: 13.50% vs. 6.50%, CC: 4.00% vs. 0.00%, all $P < 0.05$). The proportion of PCSK9 gene TT genotype in STEMI group was significantly lower than that in NSTEMI group, and the proportion of CT and CC genotype was significantly higher than that in NSTEMI group (TT: 64.38% vs. 92.91%, CT: 26.03% vs. 6.30%, CC: 9.59% vs. 0.79%, all $P < 0.05$). The levels of TG, TC and LDL-C in patients with PCSK9 CT + CC genotype were significantly higher than those with

TT genotype, and the level of HDL-C was significantly lower [TG (mmol/L): 1.25 ± 0.34 vs. 1.03 ± 0.17 , TC (mmol/L): 4.92 ± 0.87 vs. 4.39 ± 0.75 , LDL-C (mmol/L): 3.32 ± 0.54 vs. 2.76 ± 0.47 , HDL-C (mmol/L): 1.31 ± 0.24 vs. 1.54 ± 0.32 , all $P < 0.05$]. **Conclusion** PCSK9 gene polymorphism is associated with AMI, that is, the patients with CT+CC genotype have a higher risk of AMI and a higher degree of dyslipidemia, which is worthy of clinical attention.

【Key words】 Acute myocardial infarction; Preprotein transferase enzyme subtilin lysin 9; Correlation

Fund Program: Heilongjiang Provincial Health Commission Research Project (20210303010303)

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是造成冠心病患者死亡的关键原因之一,因 AMI 死亡的冠心病患者在所有死亡人数中占比超过 1/2,且有逐年上升趋势^[1]。《急性心肌梗死诊断和治疗指南》^[2]建议,按照临床实用原则,将 AMI 分为 ST 段抬高心肌梗死(ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI)和非 ST 段抬高心肌梗死(non acute ST-segment elevation myocardial infarction, NSTEMI)两类,因二者堵塞血栓存在差异,因此治疗手段各不相同。上述指南同时强调,AMI 患者出现相关症状后,能否在短时间内恢复梗死相关动脉血流直接影响其近期和远期预后,因此,对 AMI 患者进行早期有效预测具有极其重要的意义^[3]。血脂代谢异常作为冠心病的风险因素之一,已得到不少研究报道证实^[4],这也导致近年来关于调控血脂基因的研究成为临床关注的热点。前蛋白转移酶枯草溶菌素 9(preprotein transferase enzyme subtilin lysin 9, PCSK9)在血脂代谢调控中具有重要作用,且有研究表明,PCSK9 基因多态性与冠心病的发生有关,但其与 AMI 的相关性尚未被彻底阐明^[5]。本研究通过探讨 PCSK9 基因多态性与 AMI 的相关性,以期为 AMI 的诊治提供指导依据,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象与分组 选择本院 2021 年 1 月—2022 年 12 月收治的 200 例 AMI 患者作为研究对象,纳入研究组,其中合并基础疾病:高血压 105 例,糖尿病 87 例;疾病类型:STEMI 73 例,NSTEMI 127 例。另外选择同期 200 名健康志愿者纳入对照组。

1.1.1 纳入标准 ① 所有受检对象均与美国心脏病学会(American College of Cardiology, ACC)/美国心脏协会(American Heart Association, AHA)制定的 AMI 相关诊断标准相符;② 年龄 ≥ 18 岁;③ 经冠状动脉(冠脉)造影确诊为 AMI;④ 入组前无任何相关治疗史;⑤ 既往无冠脉支架置入术史。

1.1.2 排除标准 ① 陈旧性心肌梗死;② 合并先天性心脏病或(和)心脏瓣膜病;③ 伴有重大感染、自身免疫性疾病或器质性病变;④ 精神异常;⑤ 无

法完成本研究或检查。

1.1.3 伦理学 本研究符合医学伦理学标准,并经本院伦理审批(审批号:2021-100),所有检测均获得过患者或家属知情同意。

1.2 仪器与试剂 UniCel DxI 800 Access 全自动化学发光免疫分析仪购自美国贝克曼库尔特公司;DNA 提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司;Veriti 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪、Thermo Biofuge Primo R 离心机均购自赛默飞世尔科技中国公司。

1.3 研究方法

1.3.1 PCSK9 基因 rs11206510 位点基因型检测 由大连宝生物公司完成 PCSK9 基因 rs11206510 位点引物的合成,其中上游引物为 ACGTTGGATGTGCTT CCCAAGGATATAGG,下游引物为 ACGTTGGATGCTGTGTAGAGACAATGCAGG。分别采集所有受检对象晨起进食前静脉血 3 mL,置于 -80 °C 冰箱中保存备用。严格遵循试剂盒说明书完成外周血 DNA 的提取,有关试剂盒选用北京天根生化科技有限公司产品。取 3 μ L DNA 模板配制 30 μ L 反应体系,并进行 PCR 扩增。PCR 反应参数设置如下:95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 30 s,52 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 45 s,40 个循环。然后再实施时长 10 min 的 72 °C 延伸。扩增产物以限制性内切酶进行消化,分为 TT、CT 以及 CC 基因型。

1.3.2 血脂指标水平检测 分别采集所有受试者晨起进食前静脉血 3 mL,离心获取血清(离心半径为 8 cm,以 3 500 r/min 离心 10 min)。使用全自动化学发光免疫分析仪检测三酰甘油(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)以及高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C),操作根据仪器说明书完成。

1.4 观察指标 ① 比较研究组与对照组 PCSK9 基因多态性;② 比较不同类型 AMI 患者 PCSK9 基因多态性;③ 分析携带 PCSK9 不同基因型的 AMI 患者血脂指标水平的差异。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件分析数据。计量资料符合正态分布,表示方法为均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$),检验方法采用 t 检验;计数资料表示方法为例(%),检验方法采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 研究组和对照组的性别、年龄、体质指数 (body mass index, BMI) 比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$),有可比性。见表 1。

表 1 对照组和研究组的一般资料比较

组别	例数 (例)	性别(例)		BMI (kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	年龄(岁)	
		男性	女性		范围	均数($\bar{x} \pm s$)
对照组	35	130	70	23.24 \pm 2.15	32 ~ 81	56.36 \pm 4.25
研究组	35	134	66	23.15 \pm 2.10	31 ~ 78	56.21 \pm 4.21

注: BMI 为体质质量指数

2.2 两组 PCSK9 基因多态性比较 研究组 PCSK9 基因 TT 型的人数占比为 82.50%,明显低于对照组 (93.50%),而 CT、CC 型的人数占比分别为 13.50%、4.00%,均明显高于对照组 (6.50%、0.00%),差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 研究组和对照组 PCSK9 基因多态性比较

组别	例数 (例)	基因型[例(%)]		
		TT	CT	CC
研究组	200	165 (82.50)	27 (13.50)	8 (4.00)
对照组	200	187 (93.50)	13 (6.50)	0 (0.00)
χ^2 值		9.039	5.444	8.163
P 值		0.003	0.020	0.004

注: PCSK9 为前蛋白转移酶枯草溶菌素 9

2.3 不同疾病类型 AMI 患者 PCSK9 基因多态性比较 STEMI 组 PCSK9 基因 TT 型人数占比为 64.38%,明显低于 NSTEMI 组 (92.91%),而 CT、CC 型人数占比分别为 26.03%、9.59%,明显高于 NSTEMI 组 (6.30%、0.79%),差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同疾病类型 AMI 患者 PCSK9 基因多态性比较

组别	例数 (例)	基因型[例(%)]		
		TT	CT	CC
STEMI 组	73	47 (64.38)	19 (26.03)	7 (9.59)
NSTEMI 组	127	118 (92.91)	8 (6.30)	1 (0.79)
χ^2 值		26.134	15.450	9.352
P 值		0.000	0.000	0.002

注: AMI 为急性心肌梗死, PCSK9 为前蛋白转移酶枯草溶菌素 9, STEMI 为 ST 段抬高心肌梗死, NSTEMI 为非 ST 段抬高心肌梗死

2.4 PCSK9 不同基因型 AMI 患者血脂指标水平比较 PCSK9 基因型为 CT+CC 患者的 TG、TC 以及 LDL-C 水平均明显高于 TT 基因型患者,而 HDL-C 水

平明显低于 TT 基因型患者,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。见表 4。

表 4 PCSK9 不同基因型 AMI 患者血脂指标水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

基因型	例数 (例)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
CT+CC	35	1.25 \pm 0.34	4.92 \pm 0.87	3.32 \pm 0.54	1.31 \pm 0.24
TT	165	1.03 \pm 0.17	4.39 \pm 0.75	2.76 \pm 0.47	1.54 \pm 0.32
t 值		5.649	3.689	6.234	4.016
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注: PCSK9 为前蛋白转移酶枯草溶菌素 9, AMI 为急性心肌梗死, TG 为三酰甘油, TC 为总胆固醇, LDL-C 为低密度脂蛋白胆固醇, HDL-C 为高密度脂蛋白胆固醇

3 讨论

AMI 主要是指由于冠脉急性或持续性缺血性缺氧引起的一类心肌坏死,患者临床症状以持续性胸痛为主,且在休息或(和)服用硝酸酯类药物治疗后均无法彻底缓解^[6-8]。AMI 患者若未接受及时有效的干预,随着病情的恶化可能引发心律失常等严重并发症,进而危及患者生命安全^[9-10]。因此,如何有效防治 AMI 具有极其重要的意义,更是目前广大医务工作者研究的热点。不少研究报道均证实,在导致 AMI 的诸多危险因素之中,血脂代谢异常是引起 AMI 发病率以及病死率增加的关键因素^[11-12]。PCSK9 属于独特的前蛋白转化酶之一,是枯草蛋白酶亚家族的重要成员之一,可介导低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDL-R) 的降解,继而促进 LDL-C 含量的增加,该基因一旦出现序列变异,可能对血浆胆固醇水平造成极大影响^[13-14],因此具有较高的临床研究价值。

本研究结果显示,研究组 PCSK9 基因 TT 型人数占比为 82.50%,相较于对照组的 93.50% 更低,而 CT、CC 型人数占比分别为 13.50%、4.00%,相较于对照组的 6.50%、0.00% 更高,与徐金等^[15]研究结果一致,提示 PCSK9 基因多态性与 AMI 有关。分析原因,LDL-C 属于动脉粥样硬化及 AMI 的关键致病风险因素,其中 PCSK9 基因的功能获得性突变以及功能丧失性突变均与 LDL-C 水平密切相关,因此该基因间接参与 AMI 的发生发展。然而,杨春等^[16]的一项研究报道表明,PCSK9 基因多态性与 AMI 无明显相关性,这与本研究结果存在明显差异,而导致上述差异发生的原因可能与纳入研究对象的地域不同、年龄跨度不一以及样本量大小差异有关,应予以重点关注。此外,STEMI 组患者 PCSK9 基因 TT 型人数占比为 64.38%,相较于 NSTEMI 组的 92.91%

更低,而 CT、CC 型人数占比分别为 26.03%、9.59%,相较于 NSTEMI 组的 6.30%、0.79% 更高。这反映了不同类型 AMI 患者存在明显的 PCSK9 基因多态性差异,其中 STEMI 患者多见 CT、CC 基因型。分析原因,CT、CC 基因型可有效结合 CD36,进而调控多种通路,刺激血栓素 A2 的异常激活,进而促进血小板活化,增加了心肌梗死后的梗死灶面积,冠脉狭窄程度更严重,患者心肌缺血程度较重^[17-18]。另外,PCSK9 基因型为 CT+CC 患者的 TG、TC 及 LDL-C 水平较 TT 基因型患者更高,而 HDL-C 水平较 TT 基因型患者更低。这证实了 PCSK9 基因与 AMI 患者的血脂代谢功能密切相关,且 CT+CC 基因型患者的血脂代谢异常程度更高。究其原因,PCSK9 基因的错义突变可能引发常染色体显性高胆固醇血症,其表达的神经细胞凋亡调节转化酶(neural apoptosis-regulated convertase-1, NARC-1)可引起细胞表面 LDL-R 降解,PCSK9 基因突变会导致其正常表达功能受损,进而使得细胞 LDL-R 增多,最终引起血脂水平异常。另有研究报道表明,PCSK9 基因的 rs11206510 位点是影响 LDL-C 水平的独立因素之一,这为本研究结果提供了一定佐证^[19-21]。

综上所述,PCSK9 基因多态性与 AMI 发生密切相关,其中 AMI 患者 PCSK9 基因多见 CT+CC 型,且该类基因型患者的血脂代谢异常程度尤为严重,值得临床重点关注。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- KAPUR N K, THAYER K L, ZWECK E. Cardiogenic shock in the setting of acute myocardial infarction [J]. *Methodist Debakey Cardiovasc J*, 2020, 16 (1): 16–21. DOI: 10.14797/mdcj-16-1-16.
- ZEYMER U, BUENO H, GRANGER CB, et al. Acute Cardiovascular Care Association position statement for the diagnosis and treatment of patients with acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: a document of the Acute Cardiovascular Care Association of the European Society of Cardiology [J]. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*, 2020, 9 (2): 183–197. DOI: 10.1177/2048872619894254.
- 夏雪,张英武,瞿德涛,等.老年急性心肌梗死合并 2 型糖尿病患者 PCSK9 水平与冠脉病变的相关性分析 [J]. *天津医药*, 2017, 45 (3): 271–274. DOI: 10.11958/20161470.
- 杨华,陈妍妍,魏高利,等. PCSK9 抑制剂在急性心肌梗死行经皮冠状动脉介入治疗患者中的应用效果 [J]. *心脏杂志*, 2020, 32 (5): 480–484. DOI: 10.12125/j.chj.202006071.
- 魏建刚,张倩,孙薇,等.载脂蛋白 B100 基因、低密度脂蛋白受体基因和枯草溶菌素转化酶 9 基因多态性与急性缺血性卒中伴脂代谢异常人群的相关性研究 [J]. *临床神经病学杂志*, 2022, 35 (2): 106–112. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1648.2022.02.006.
- 刘玠廷,杨茹歆,徐丽华.急性冠脉综合征患者 PCSK9 与冠脉病变程度的相关性 [J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2020, 21 (4): 488–492. DOI: 10.11713/j.issn.1009-4822.2020.04.014.
- 庞伟.急性心肌梗死患者甲状腺激素水平与心肌损害、他汀药物负荷后血脂水平的相关性 [J]. *中国医学创新*, 2019, 16 (22): 67–70. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4985.2019.22.018.
- 汪蛟龙,李枫,宁伟.急性心肌梗死患者血脂水平变化与 PCI 术后并发症及预后的相关性分析 [J]. *医学临床研究*, 2019, 36 (4): 710–712. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7171.2019.04.030.
- 王翠玲,骆婷婷,方承隆.狼疮早发急性心肌梗死患者 PCSK9 水平与临床指标的关联性分析 [J]. *重庆医科大学学报*, 2021, 46 (12): 1520–1525. DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002685.
- 张闻多,张永勇,于雪,等.急性心肌梗死患者血浆前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 水平的动态变化及临床意义 [J]. *中国临床医生杂志*, 2018, 46 (8): 895–898. DOI: 10.3969/j.issn.2095-8552.2018.08.005.
- 高岩,张海波,侯丽波,等.未行再灌注治疗的急性心肌梗死患者血浆 PCSK9 水平对 1 年内心血管事件再发的预测价值 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 99 (35): 2750–2755. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2019.35.007.
- 宋倩,张雯.急性心肌梗死患者血浆 PCSK9 水平对临床不良事件发生的预测价值分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35 (3): 72–77. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7414.2020.03.018.
- 赵晓辉,许嘉彬,王秀艳,等.黑龙江省东部地区汉族人群 PCSK9 基因第 1 外显子多态性与脂代谢的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40 (9): 1823–1827. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2020.09.011.
- 赵晓辉,黄咏,王秀艳,等.黑龙江省东部地区汉族人群 PCSK9 基因第 8、9 外显子多态性与冠心病的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40 (6): 1125–1127. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2020.06.002.
- 徐金,彭瑜,张钰.前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 与心肌梗死之间关系的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29 (11): 1000–1006. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3949.2021.11.015.
- 杨春,徐军,肖继明,等.苏皖地区 PCSK9 基因 E670G 位点多态性与急性心梗相关性研究 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2015, 23 (8): 13–14. DOI: CNKI:SUN:ZYAA.0.2015-08-005.
- 陈琳琳,郑秋月,仲启帆,等.编码前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 基因 E670G 多态性与中国汉族人群大动脉粥样硬化性卒中的相关性 [J]. *实用临床医药杂志*, 2019, 23 (1): 36–39, 43. DOI: 10.7619/jcmp.201901010.
- 王可,闫鹏,赵希坤,等.前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 基因 rs505151 多态性与冠心病关系的 Meta 分析 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19 (13): 2213–2219. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2021.13.022.
- 张楠,高静,刘寅,等. PCSK9 基因 E670G 位点多态性与冠状动脉粥样硬化性心脏病罹病风险及脂代谢的相关性研究 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2017, 34 (5): 749–754. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2017.05.028.
- 杨文艳,张素文,薛凌.辽西地区老年冠心病患者 PCSK9 基因 E670G 位点多态性与冠状动脉狭窄、脂代谢的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41 (23): 5181–5183. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2021.23.001.
- 王晶,邓松柏,刘亚杰,等. PCSK9 抑制剂对极高危动脉粥样硬化性心血管疾病患者血脂谱的影响 [J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32 (3): 341–344. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200129-00053.

(收稿日期:2023-04-26)

(本文编辑:邵文)