

乙醇脱氢酶 1B - rs1229984 和乙醛脱氢酶 2 基因 - rs671 多态性实时荧光定量 PCR 检测方法的建立

梁国威 邵冬华 何美琳 刘 洁

摘 要 **目的** 建立乙醇脱氢酶 1B (ADH1B) 基因 rs1229984 (G/A) 和乙醛脱氢酶 2 基因 rs671 (G/A) 多态性的实时荧光定量 PCR 分型方法。**方法** 分别采用双 TaqMan - MGB 探针法建立 ADH1B - rs1229984 多态性, 和 ARMS - TaqMan 探针法建立 ALDH2 - rs671 多态性的实时荧光定量 PCR 分型方法。根据荧光定量 PCR 的循环阈值 (Ct 值) 的差值 ΔCt 值判定等位基因型, 并采用所建方法对 345 例中国汉族人进行了分型检测。**结果** 所建方法对 345 例研究对象分型检测显示, ADH1B - rs1229984 多态性的 GG (ADH1B * 1/ * 1)、GA (ADH1B * 1/ * 2) 和 AA (ADH1B * 2/ * 2) 型的 ΔCt 值 ($\Delta Ct = G$ 型 TaqMan - MGB 探针 Ct 值 - A 型 TaqMan - MGB 探针 Ct 值) 分别为 -13.72 ± 1.33 (40 例)、 0.50 ± 0.17 (150 例) 和 6.62 ± 0.54 (155 例); ALDH2 - rs671 的 GG (ALDH2 * 1/ * 1)、GA (ALDH2 * 1/ * 2) 和 AA (ALDH2 * 2/ * 2) 型的 ΔCt 值 ($\Delta Ct = G$ 引物反应体系 Ct 值 - A 引物反应体系 Ct 值) 分别为 -15.30 ± 0.84 (239 例)、 0.17 ± 0.45 (96 例) 和 15.86 ± 0.74 (10 例)。345 例研究对象中, ADH1B * 1/ * 2 和 ALDH2 * 1/ * 1 (31.3%)、ADH1B * 2/ * 2 和 ALDH2 * 1/ * 1 (28.7%) 是 2 个等位基因的主要组合型 (60%), 未见 ADH1B * 1/ * 1 和 ALDH2 * 2/ * 2 组合型。**结论** 所建分型检测方法皆具有闭管、一步检测、准确和高通量等特点。

关键词 乙醇脱氢酶 1B 乙醛脱氢酶 2 基因多态性 荧光定量 PCR

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.11.034

Genotyping Methods for ADH1B - rs1229984 and ALDH2 - rs671 Polymorphisms in a Real-time PCR. Liang Guowei, Shao Donghua, He Meilin, et al. Department of Clinical Laboratory, Aerospace Center Hospital, Beijing 100049, China

Abstract Objective To develop novel methods for genotyping alcohol dehydrogenase 1B gene (ADH1B) - rs1229984 (G/A) and aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) - rs671 (G/A) polymorphisms. **Methods** The dual TaqMan - MGB probes for ADH1B - rs1229984 and amplification refractory mutation system combined a TaqMan probe (ARMS - TaqMan) for ALDH2 - rs671 polymorphisms were used in developing the methods in a real-time PCR, respectively. The genotyping results were obtained by monitoring the difference of cycle threshold values (ΔCt) in the assays. Moreover, 345 Han subjects were genotyped for evaluating the established assays, respectively. **Results** In 345 subjects, The ΔCt ($\Delta Ct = G$ allele TaqMan - MGB probe Ct values minus A allele TaqMan - MGB probe Ct values) for GG (ADH1B * 1/ * 1), GA (ADH1B * 1/ * 2) and AA (ADH1B * 2/ * 2) of ADH1B - rs1229984 polymorphisms were -13.72 ± 1.33 (40 cases), 0.50 ± 0.17 (150 cases) and 6.62 ± 0.54 (155 cases), and the ΔCt ($\Delta Ct = G$ allele - special primer Ct values minus A allele - special primer Ct values) for GG (ALDH2 * 1/ * 1), GA (ALDH2 * 1/ * 2) and AA (ALDH2 * 2/ * 2) of ALDH2 - rs671 polymorphisms were -15.30 ± 0.84 (239 cases), 0.17 ± 0.45 (96 cases) and 15.86 ± 0.74 (10 cases), respectively. The main allelic combination types were ADH1B * 1/ * 2 vs ALDH2 * 1/ * 1 (31.3%) and ADH1B * 2/ * 2 vs ALDH2 * 1/ * 1 (28.7%), and no ADH1B * 1/ * 1 vs ALDH2 * 2/ * 2 types were observed in 345 Han subjects. **Conclusion** Both of the novel assays had the features of accuracy, one step and high-throughput for the genotyping.

Key words Alcohol dehydrogenase 1B; Aldehyde dehydrogenase 2; Polymorphisms; Real-time PCR

乙醇在体内主要通过乙醇脱氢酶系进行代谢, 其中将乙醇转化为乙醛的乙醇脱氢酶 1B (ADH1B) 和将乙醛转化为乙酸的乙醛脱氢酶 2 (ALDH2) 是体内乙醇代谢的关键酶。ADH1B 基因在第 3 外显子处变异 (rs1229984、G143A、Arg47His), 由野生等位基因

GG 型 (ADH1B * 1/ * 1) 变异为 GA 杂合型 (ADH1B * 1/ * 2) 和 AA 纯合突变型 (ADH1B * 2/ * 2) 可显著增加酶活性; 而 ALDH2 基因第 12 外显子处变异 (rs671、G1510A、Glu504Lys), 由野生等位基因 GG 型 (ALDH2 * 1/ * 1) 变异为 GA 杂合型 (ALDH2 * 1/ * 2) 和 AA 纯合突变型 (ALDH2 * 2/ * 2) 可显著降低酶活性, 是个体间乙醇代谢差异主要遗传影响因

子^[1]。rs1229984 和 rs671 多态性在不同种族和个体中存在显著差异,并与饮酒行为、酒精性肝病以及饮酒相关的上消化道癌、肝癌、乳腺癌和结直肠癌等多种疾病相关^[1~7]。rs671 还与心血管疾病以及硝酸甘油代谢和耐受具有显著相关性,因此,对 ADH1B 和 ALDH2 基因多态性携带者的筛选并采取有效的保护和干预措施具有重要意义^[8~10]。

目前,文献报道了多种 ADH1B 和 ALDH2 多态性检测方法,其中限制性片段长度多态性聚合酶链反应法(PCR-RFLP)和变性高效液相色谱法(DHPLC)是主要的检测方法,但存在 PCR 产物需后续处理,操作繁琐,仪器昂贵等问题^[3,6,7]。有必要建立一种闭管、一步法、高通量的检测方法,为相关研究提供技术平台。因此,本研究的目的是建立 ADH1B-rs1229984 和 ALDH2-rs671 多态性的荧光定量 PCR 分型检测方法,在 345 例中国北方汉族成年人中进行方法验证,并统计报告了 rs1229984 和 rs671 等位基因组合型分布情况。

材料与方法

1. ADH1B-rs1229984 和 ALDH2-rs671 多态性分型检测:由于 ADH1B 与 ADH1A 和 ADH1C 基因具有较高的同源性碱基序列,因此,rs1229984 采用 TaqMan-MGB 双探针建立等位基因分型方法,根据等位基因 G 和 A 型 TaqMan-MGB 探针荧光信号的循环阈值(Ct 值)的差值 ΔCt(ΔCt = G 型 TaqMan-MGB

探针 Ct 值-A 型 TaqMan-MGB 探针 Ct 值)判定基因型。引物和探针序列见表 1。荧光定量 PCR 分型方法扩增片段长度 121bp,测序 PCR 扩增片段长度 831bp。rs671 采用等位基因特异性引物(ARMS 原理),以 TaqMan 探针作为检测信号代替传统的琼脂糖凝胶电泳,通过测定 G 和 A 等位基因特异引物分别与下游公用引物和 TaqMan 探针建立的 2 个反应体系的 Ct 值,根据 ΔCt(ΔCt = G 引物反应体系 Ct 值-A 引物反应体系 Ct 值)判定基因型,建立实时荧光定量 PCR 分型检测方法(ARMS-TaqMan 方法)。引物和探针序列见表 1。荧光定量 PCR 分型方法扩增片段长度 82bp,测序 PCR 扩增片段长度 214bp。引物和探针采用美国 ABI 公司的 TaqExpress 软件进行设计,引物和 TaqMan 探针由北京赛百盛基因技术有限公司合成;TaqMan-MGB 探针由美国 ABI 公司合成。rs1229984 和 rs671 的荧光定量 PCR 分型方法的反应体系皆为 20μl,其中基因组 DNA 2μl,2×Master mix 8μl 和 Ehance inhibit 1μl[(北京)天根生化科技有限公司提供],上、下游引物各 1μl(终浓度 0.25μmol/L),探针各 1μl 或 1μl(0.25μmol/L),ddH₂O 5μl 或 6μl。反应条件为 95℃ 2min,95℃ 15s、60℃ 1min(40 个循环)。测定仪器为 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。按常规 PCR 条件扩增,由北京诺赛基因组研究中心有限公司完成测序。引物和探针序列见表 1。

表 1 ADH1B-rs1229984 和 ALDH2-rs671 多态性检测的引物和探针序列

名称	序列(5'→3')
ADH1B-rs1229984	
上游引物	TTT GGG TAT GTT AAA TTC ATC TAG T
下游引物	AGG TTG CCA CTA ACC ACG T
G 等位基因 TaqMan-MGB 探针	VIC-AGG AAT CTG TCG CAC A-MGBNFQ
A 等位基因 TaqMan-MGB 探针	FAM-TAG GAA TCT GTC ACA CA-MGBNFQ
测序上游引物	TAT TTT TTA AAG CGT GCA TTC TTA C
测序下游引物	CAC AGA ACA GTT TCC ACA TTT AC
ALDH2-rs671	
上游等位基因特异性引物 G	GGG CTG CAG GCA TAC ACA G
上游等位基因特异性引物 A	GGG CTG CAG GCA TAC ACA A
公共下游引物	CAG ACC CTC AAG CCC CAA C
TaqMan 探针	FAM-TGA AAA CTG TGA GTG TGG GAC CTG CTG G-HBQ1
测序上游引物	CCC ATA ACC CCC AAG AGT GAT
测序下游引物	CAG ACC CTC AAG CCC CAA C

ADH1B-rs1229984 中的 A 和 G 等位基因 TaqMan-MGB 探针序列中的下划线 G 和 A 为变异位点;ALDH2-rs671 的 C 和 G 等位基因引物 3'端-2 位引入错配碱基 A(原碱基为 T),以增加基因分型特异性

2. 研究对象及外周血 DNA 提取:收集笔者医院 2016 年 1~4 月健康体检人员基本资料及 EDTA 抗凝外周全血。共计获得完整资料的调查对象 345 例,全部汉族,其中,男性 168 例,平均年龄 47.6 ± 8.1 岁,年龄范围 25~64 岁;女性 177 例,平均年龄 46.8 ± 9.0 岁,年龄范围 25~64 岁。EDTA 抗凝外周全血 200 μ l 用于基因组 DNA 提取,采用天根生化科技(北京)有限公司的血液、细胞、组织基因组 DNA 提取试剂盒,按试剂盒说明操作。提取后的基因组 DNA -80 $^{\circ}$ C 冻存备用。

3. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计分析。计数资料组间比较采用 χ^2 检验。采用 χ^2 拟合优度检验明确受试者中各基因型是否符合 *Hardy-Weinberg* 遗传平衡定律,以 $P < 0.05$ 为差异有统

计学意义。

结 果

1. *ADH1B* - rs1229984 和 *ALDH2* - rs671 荧光定量 PCR 分型方法扩增曲线及测序结果:*ADH1B* - rs1229984 分型的 TaqMan - MGB 双探针荧光定量 PCR 扩增曲线及测序结果见图 1,扩增曲线共有 3 种组合形态,其中 G 等位基因 TaqMan - MGB 探针荧光定量 PCR 的 Ct 值小,A 等位基因 TaqMan - MGB 探针 Ct 值大者是 GG 型(图 1 中 A、B);G、A 的 Ct 值一致是 GA 型(图 1 中 C、D);A 的 Ct 值小,G 的 Ct 值大是 AA 型(图 1 中 E、F)。随机选取 TaqMan - MGB 双探针方法分型后的 GG、GA、AA 型各 10 例,经测序证实 100% 符合。

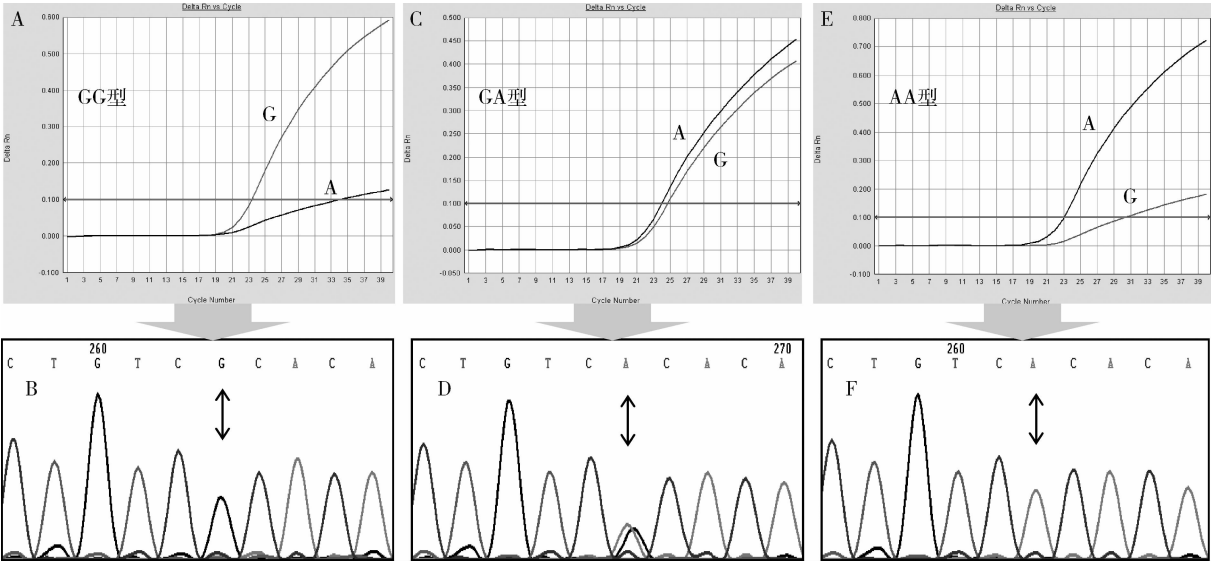


图 1 *ADH1B* - rs1229984 TaqMan - MGB 双探针法扩增曲线及测序结果

A. 和 B 分别显示 GG 型扩增曲线和对应的测序结果;C 和 D 分别显示 GA 型和对应的测序结果;E 和 F 分别显示 AA 型和对应的测序结果;G 曲线.G 等位基因 TaqMan - MGB 探针扩增曲线;A 曲线.A 等位基因 TaqMan - MGB 探针扩增曲线

ALDH2 - rs671 分型的 ARMS - TaqMan 荧光定量 PCR 扩增曲线及测序结果见图 2,扩增曲线共有 3 种组合形态,其中 G 引物有扩增曲线,A 引物无扩增曲线是 GG 型(图 2 中 A、B);G、A 皆有扩增曲线是 GA 型(图 2 中 C、D);A 有扩增曲线,G 无扩增曲线是 AA 型(图 2 中 E、F)。随机选取 ARMS - TaqMan 方法分型后的 GG、GA、AA 型各 10 例,经测序证实 100% 符合。

2. *ADH1B* - rs1229984 和 *ALDH2* - rs671 等位基因荧光定量 PCR 分型检测结果:*ADH1B* - rs1229984

分型,对 345 例研究对象检出成功率为 100%,其中 GG 型的 $\Delta Ct = -13.72 \pm 1.33$ (40 例)、GA 型的 $\Delta Ct = 0.50 \pm 0.17$ (150 例)、AA 型的 $\Delta Ct = 6.62 \pm 0.54$ (155 例)。G 和 A 等位基因型 TaqMan - MGB 探针 Ct 值的相关散点图见图 3。*ALDH2* - rs671 分型,对 345 例研究对象的检出成功率 100%,其中 GG 型 $\Delta Ct = -15.30 \pm 0.84$ (239 例)、GA 型 $\Delta Ct = 0.17 \pm 0.45$ (96 例)、AA 型 $\Delta Ct = 15.86 \pm 0.74$ (10 例)。G 和 A 等位基因特异引物反应体系 Ct 值的相关散点图见图 4。

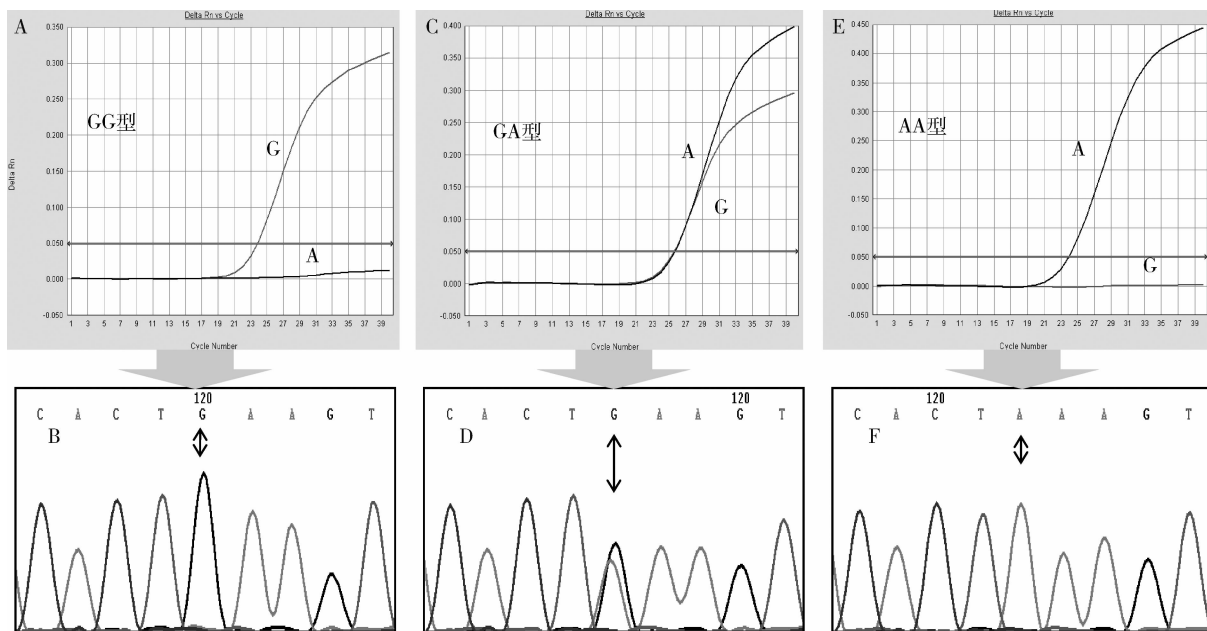


图 2 ALDH2-rs671 ARMS 方法扩增曲线及测序结果

A 和 B 分别显示 GG 型扩增曲线和对应的测序结果;C 和 D 分别显示 GA 型和对应测序结果;E 和 F 分别显示 AA 型和对应测序结果;G 曲线. G 等位基因反应体系扩增曲线;A 曲线. A 等位基因反应体系扩增曲线

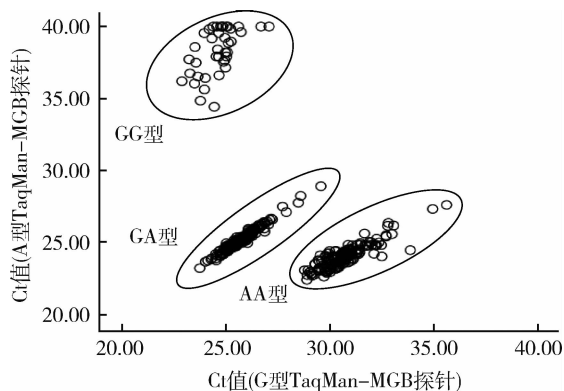


图 3 345 例 ADH1B-rs1229984 分型 TaqMan-MGB 双探针法 G 和 A 型等位基因 Ct 值散点图

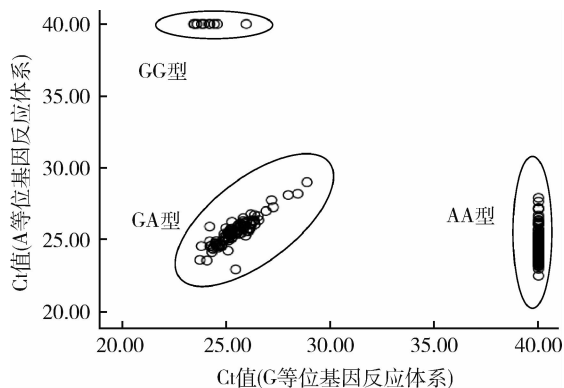


图 4 345 例 ALDH2-rs671 分型 ARMS-TaqMan 方法 G 和 A 等位基因反应体系的 Ct 值散点图

3. rs1229984 和 rs671 等位基因分布频率:345 例健康体检人群中,ADH1B 野生型 (ADH1B * 1/ * 1)、杂合型 (ADH1B * 1/ * 2) 和纯合突变型 (ADH1B * 2/ * 2) 分布频率依次为 44.9%、43.4% 和 11.6%;ALDH2 野生型 (ALDH2 * 1/ * 1)、杂合型 (ALDH2 * 1/ * 2) 和纯合突变型 (ALDH2 * 2/ * 2) 分布频率依次为 69.3%、27.8% 和 2.9% (表 2)。ADH1B-rs1229984 的分布频率在总体、男性和女性中皆符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($\chi^2 = 0.163$, $P = 0.686$; $\chi^2 = 1.984$, $P = 0.159$; $\chi^2 = 0.617$, $P = 0.432$); ALDH2-rs671 的分布频率在总体、男性和女性中也皆符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($\chi^2 = 0.009$, $P = 0.924$; $\chi^2 = 0.510$, $P = 0.475$; $\chi^2 = 0.786$, $P = 0.375$)。

表 2 345 例 rs1229984 和 rs671 等位基因分布频率 [n(%)]

基因型	总体 (n = 345)	男性 (n = 168)	女性 (n = 177)
ADH1B * 1/ * 1	40 (11.6)	21 (12.5)	19 (10.7)
ADH1B * 1/ * 2	150 (43.4)	65 (38.7)	85 (48.0)
ADH1B * 2/ * 2	155 (44.9)	82 (48.8)	73 (41.2)
ALDH2 * 1/ * 1	239 (69.3)	112 (66.7)	127 (71.8)
ALDH2 * 1/ * 2	96 (27.8)	52 (31.0)	44 (24.9)
ALDH2 * 2/ * 2	10 (2.9)	4 (2.4)	6 (3.4)

4. rs1229984 和 rs671 等位基因组合型分布情况:345 例健康体检人群中,ADH1B * 1/ * 2 和 AL-

DH2 * 1 / * 1 组合型分布频率最高 (31.3%) , 其次为 ADH1B * 2 / * 2 和 ALDH2 * 1 / * 1 (28.7%) , 居中频率组合为 ADH1B * 2 / * 2 和 ALDH2 * 1 / * 2 (14.8%) , ADH1B * 1 / * 2 和 ALDH2 * 1 / * 2 (10.7%) 、 以及 ADH1B * 1 / * 1 和 ALDH2 * 1 / * 1 (9.3%) ; 而 ADH1B * 2 / * 2 和 ALDH2 * 2 / * 2 、 ADH1B * 1 / * 2 和 ALDH2 * 2 / * 2 、 以及 ADH1B *

1 / * 1 和 ALDH2 * 1 / * 2 组合型则为少见型 , 分布频率范围为 1.4% ~ 2.3% ; 未见 ADH1B * 1 / * 1 和 ALDH2 * 2 / * 2 组合型。男、女性的 rs1229984 和 rs671 等位基因组合型分布情况与总体分布频率一致 , 统计分析显示 , 各组合型分布频率在男、女性之间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$) , 详见表 3。

表 3 345 例 rs1229984 和 rs671 等位基因组合型分布情况

基因型		总体 (n = 345)	男性 (n = 168)	女性 (n = 177)
ADH1B * 1 / * 1	ALDH2 * 1 / * 1	32 (9.3)	19 (11.3)	13 (7.3)
ADH1B * 1 / * 1	ALDH2 * 1 / * 2	8 (2.3)	2 (1.2)	6 (3.4)
ADH1B * 1 / * 1	ALDH2 * 2 / * 2	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ADH1B * 1 / * 2	ALDH2 * 1 / * 1	108 (31.3)	46 (27.4)	62 (35.0)
ADH1B * 1 / * 2	ALDH2 * 1 / * 2	37 (10.7)	17 (10.1)	20 (11.3)
ADH1B * 1 / * 2	ALDH2 * 2 / * 2	5 (1.4)	2 (1.2)	3 (1.7)
ADH1B * 2 / * 2	ALDH2 * 1 / * 1	99 (28.7)	47 (28.0)	52 (29.4)
ADH1B * 2 / * 2	ALDH2 * 1 / * 2	51 (14.8)	33 (19.6)	18 (10.2)
ADH1B * 2 / * 2	ALDH2 * 2 / * 2	5 (1.4)	2 (1.2)	3 (1.7)

讨 论

本研究以荧光定量 PCR 技术平台为依托 , 成功建立了 ADH1B - rs1229984 多态性的双 TaqMan - MGB 探针分型方法 , 和 ALDH2 - rs671ADH1B 多态性的 ARMS - TaqMan 方法 , 采用所建方法分别对 345 例研究对象的检出率皆为 100% , 直接测序结果显示检出的正确率为 100%。345 例研究对象中 , rs1229984 和 rs671 等位基因以 ADH1B * 1 / * 2 和 ALDH2 * 1 / * 1 以及 ADH1B * 2 / * 2 和 ALDH2 * 1 / * 1 组合型为主 , 未见 ADH1B * 1 / * 1 和 ALDH2 * 2 / * 2 组合型。

由于 ADH1B 与 ADH1A、ADH1C 基因碱基序列具有高度同源性 , 为 PCR 基础的分型检测增加了难度。根据荧光定量 PCR 的试验要求 , 本方法在设计上 , 除了尽量保证 PCR 扩增 ADH1B 基因的上、下游引物序列保守外 (ADH1B 上游引物 3' 端与 ADH1A、ADH1C 的多个碱基不匹配 , 但下游引物匹配度高) , 考虑到 ADH1B - rs1229984 多态性位点上下游碱基与 ADH1A (上游 C/G 不匹配) 、ADH1C (下游 CA/TT 不匹配) 存在碱基差异 , 笔者采用 TaqMan - MGB 探针来增加分型特异性。因为 TaqMan - MGB 探针 3' 端 - 1 ~ - 7 位碱基不匹配将显著降低探针 Tm 值 , 可显著增加等位基因分型能力^[11]。即 G 等位基因 TaqMan - MGB 探针除与 ADH1B - rs1229984 的 A 等位基因序列不能有效结合外 , 与 ADH1A、ADH1C 基因

碱基序列也不能有效杂交 (TaqMan - MGB 探针 3' 端 - 1 ~ - 7 位碱基皆存在不匹配) , A 等位基因 TaqMan - MGB 探针反之亦然。实验结果显示 , ADH1B - rs1229984 多态性的 GG 型的 $\Delta Ct = -13.72 \pm 1.33$ 、GA 型的 $\Delta Ct = 0.50 \pm 0.17$ 、AA 型的 $\Delta Ct = 6.62 \pm 0.54$, 各等位基因型之间的 ΔCt 值差别显著 , 另外 , 也可以通过荧光定量 PCR 扩增曲线图直接判断基因型 (图 1)。

ARMS 方法是等位基因分型常用技术 , 其测定原理基于错配出现在引物 3' 端时 , 引物扩增效率将显著降低 , 通过在引物 3' 端 - 2 ~ - 4 位引入人为错配碱基可显著增加引物特异性^[12,13]。最初是将 ARMS 方法扩增产物通过琼脂糖凝胶电泳 , 根据有无特异性扩增条带进行分型检测 , 操作繁琐 , 不适合高通量检测 , 并存在 3' 端等位基因错配产物条带的干扰。本研究以 TaqMan 探针作为检测信号 , 由 PCR 扩增曲线的 ΔCt 值代替电泳条带分型 , 一步完成检测。本研究中 , 在等位基因特异性引物 3' 端 - 2 为引入错配碱基 A (原碱基为 T) , 显著增加了本方法的基因分型能力。实验显示 , GG 型 (239 例) 中 A 引物反应体系皆无扩增曲线 (Ct 值 = 40) , AA 型 (10 例) 中 G 引物反应体系皆无扩增曲线 , 而 GA 型 $\Delta Ct = 0.17 \pm 0.45$ (96 例) , 各型间的 ΔCt 值差别显著 , 并可根据扩增曲线直观地判断基因型 (图 2)。由于上、下游引物和 TaqMna 探针与 DNA 模板的特异性互补配对结合特

点,3 个特异性序列组合在一起充分保证了测定结果的准确性,本研究中 30 例抽样测序结果的符合率为 100%。

对 345 例研究对象 rs1229984 和 rs671 等位基因分型检测结果显示,其 ADH1B * 1/* 2 和 ALDH2 * 1/* 1 (31.3%)、ADH1B * 2/* 2 和 ALDH2 * 1/* 1 (28.7%) 是 2 个等位基因的主要组合型(占比 60%),提示多数汉族人群对乙醇转化为乙醛、乙醛转化为乙酸的代谢能力都很强;而 ADH1B * 1/* 1 和 ALDH2 * 2/* 2 组合型,即对乙醇代谢过程中各阶段的能力皆极弱者,在 345 例研究对象中未见(占比 0%),与 Yuan 等^[14]在汉族人群的研究结果一致。

综上所述,本研究成功建立了 ADH1B - rs1229984 多态性的双 TaqMan - MGB 探针和 ALDH2 - rs671ADH1B 多态性的 ARMS - TaqMan 实时荧光定量 PCR 分型方法,2 种检测方法皆具有闭管、一步检测、高通量和准确等特点。由于 ADH1B * 1/* 2 和 ALDH2 * 1/* 1、ADH1B * 2/* 2 和 ALDH2 * 1/* 1 组合型占比高,而该组合型对乙醇及中间产物乙醛代谢能力强,饮酒过程中缺乏能诱发脸红、头痛等不良反应的“天然抑制作用”因子,是乙醇相关性疾病的高危人群,应是筛选和预防工作的重点。

参考文献

- 1 Wall TL. Genetic associations of alcohol and aldehyde dehydrogenase with alcohol dependence and their mechanisms of action [J]. *Ther Drug Monit*, 2005, 27(6): 700 - 703
- 2 张卫强, 苏乐群, 王文奇. 酒精代谢酶基因多态性与酒精性肝病关系 [J]. *药物与临床*, 2010, 7(8): 42 - 46
- 3 He L, Deng T, Luo H. Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) polymorphism and the risk of alcoholic liver cirrhosis among east asians: a
- (上接第 138 页)
- 2 Yamaji K, Kubo S, Inoue K, *et al.* Association of localized hypersensitivity and in - stent neoatherosclerosis with the very late drug - eluting stent thrombosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e113870
- 3 Park SJ, Kang SJ, Virmani R, *et al.* In - stent neoatherosclerosis: a final common pathway of late stent failure [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59(23): 2051 - 2057
- 4 程俊丽. 肥胖与心血管疾病的关系探究及治疗措施 [J]. *求医问药: 学术版*, 2013, 11(1): 469 - 470
- 5 刘征, 于卫国, 张蕾, 等. 经皮冠状动脉介入治疗术后支架内再狭窄的多因素 Logistic 回归分析 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2016, 8(3): 317 - 319
- 6 黄宗燕, 林英忠, 刘伶, 等. 冠心病患者 PCI 术后支架内再狭窄的因素分析 [J]. *中国现代医学杂志*, 2010, 21: 3331 - 3333
- 7 杜博, 赵学忠. 冠心病患者支架内再狭窄的危险因素 [J]. *中国老年学杂志*, 2015, 10: 2708 - 2710

- meta - analysis [J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(4): 879 - 884
- 4 Druesne - Pecollo N, Tehard B, Mallet Y, *et al.* Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol - related cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(2): 173 - 180
- 5 Yokoyama A, Omori T, Yokoyama T. Alcohol and aldehyde dehydrogenase polymorphisms and a new strategy for prevention and screening for cancer in the upper aerodigestive tract in East Asians [J]. *Keio J Med*, 2010, 59(4): 115 - 130
- 6 Wang HL, Zhou PY, Liu P, *et al.* ALDH2 and ADH1 genetic polymorphisms may contribute to the risk of gastric cancer: a meta - analysis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e88779
- 7 Guo XF, Wang J, Yu SJ, *et al.* Meta - analysis of the ADH1B and ALDH2 polymorphisms and the risk of colorectal cancer in East Asians [J]. *Intern Med*, 2013, 52(24): 2693 - 2699
- 8 Han H, Wang H, Yin Z, *et al.* Association of genetic polymorphisms in ADH and ALDH2 with risk of coronary artery disease and myocardial infarction: a meta - analysis [J]. *Gene*, 2013, 526(2): 134 - 141
- 9 Zhang LL, Wang YQ, Fu B, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) polymorphism gene and coronary artery disease risk: a meta - analysis [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 18503 - 18514
- 10 Ferreira JC, Mochly - Rosen D. Nitroglycerin use in myocardial infarction patients [J]. *Circ J*, 2012, 76(1): 15 - 21
- 11 Kutayin IV, Afonina IA, Mills A, *et al.* 3' - minor groove binder - DNA probes increase sequence specificity at PCR extension temperatures [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(2): 655 - 661
- 12 Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, *et al.* Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS) [J]. *Nucleic Acids Res*, 1989, 17(7): 2503 - 2516
- 13 Kwok S, Kellogg DE, McKinney N, *et al.* Effects of primer - template mismatches on the polymerase chain reaction: human immunodeficiency virus type 1 model studies [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18(4): 999 - 1005
- 14 Yuan XW, Zhou WJ, Shang X, *et al.* Rapid simultaneous genotyping of polymorphisms in ADH1B and ALDH2 using high resolution melting assay [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2013, 51(5): e75 - 77

(收稿日期: 2017 - 01 - 18)

(修回日期: 2017 - 02 - 20)

- 8 Wan YL, Tsay PK, Chen CC, *et al.* Coronary in - stent restenosis: predisposing clinical and stent - related factors, diagnostic performance and analyses of inaccuracies in 320 - row computed tomography angiography [J]. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2016, 32 (Suppl 1): 105 - 115
- 9 Hecht HS, Polena S, Jelnin V, *et al.* Stent gap by 64 - detector computed tomographic angiography relationship to in - stent restenosis, fracture, and overlap failure [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(21): 1949 - 1959
- 10 潘春仰, 邱建平, 陆林, 等. 冠状动脉介入治疗后支架内再狭窄相关因素 [J]. *介入放射学杂志*, 2015, 6: 467 - 471
- 11 孙宇姣, 俞鑫, 耿松, 等. 应用多排螺旋 CT 评估冠心病危险因素与冠状动脉病变程度的关系 [J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(39): 3133 - 3136
- (收稿日期: 2017 - 02 - 19)
- (修回日期: 2017 - 03 - 06)