

海南地区 eNOS 基因单核苷酸多态性与系统性红斑狼疮的相关性分析

张绚¹, 武慧韬², 张琦², 林桂玲¹, 尹溪语², 许文露¹, 王喆¹, 贺梓蔓², 刘颖³, 弥龙⁴, 庄燕苹^{5*}, 宫爱民^{1*}

¹海南医学院中医学院, 海南海口 570216; ²黑龙江省中医药科学院, 黑龙江哈尔滨 150036; ³海南省人民医院风湿病免疫科, 海南海口 570311; ⁴海南医学院第一附属医院放射科, 海南海口 570102; ⁵海南医学院衰老与肿瘤国际研究中心, 海南海口 570216

[中图分类号] R593 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.0985.2024.0506

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 张绚, 武慧韬, 张琦, 等. 海南地区 eNOS 基因单核苷酸多态性与系统性红斑狼疮的相关性分析[J]. 解放军医学杂志, 2024, 49(9): 986-991.

[收稿日期] 2023-07-25 [录用日期] 2023-11-01 [上线日期] 2024-05-06

[摘要] **目的** 探讨海南地区内皮型一氧化氮合酶(eNOS)基因单核苷酸多态性(SNP)与系统性红斑狼疮(SLE)遗传易感性的关系。**方法** 收集2020年1月—2022年12月在海南医学院第一附属医院及海南省人民医院的海南籍SLE患者(SLE组, $n=214$)及健康对照者(对照组, $n=214$)的血液样本, 通过SNaPshot测序技术检测两组eNOS基因rs3918188、rs1799983及rs1007311位点的碱基情况, 并采用logistic回归分析eNOS基因上述3个目的位点的基因型、等位基因及基因模型(显性模型、隐性模型、超显性模型)与SLE遗传易感性之间的相关性。采用HaploView 4.2软件分析各位点的单倍体与SLE遗传易感性的关系。**结果** Logistic回归分析结果显示, rs3918188位点中, CC基因型及C等位基因是SLE遗传易感性的危险因素(CC vs. AA: OR=2.449, $P<0.05$; C vs. A: OR=2.133, $P<0.001$)。在rs3918188位点的隐性模型中, 与AA+AC基因型携带者比较, CC基因型携带者的SLE发生风险增高(OR=2.774, $P<0.001$); 而在该位点的超显性模型中, 与AA+CC基因型携带者比较, AC基因型携带者的SLE发生风险降低(OR=0.385, $P<0.001$)。此外, 在基因型、等位基因型以及3种基因模型中, rs1799983和rs1007311的多态性均与SLE的易感性无明显相关($P>0.05$)。单倍型分析显示, eNOS基因的rs1007311和rs1799983位点之间存在强连锁不平衡, 但单倍型与SLE的遗传易感性无明显相关($P>0.05$)。**结论** 海南地区eNOS基因rs3918188位点的CC基因型和C等位基因可能是SLE的危险因素, 而在超显性模型下该位点AC基因型携带者的SLE发生风险降低。

[关键词] 系统性红斑狼疮; 内皮型一氧化氮合酶; 单核苷酸多态性

Correlation analysis between eNOS gene single nucleotide polymorphism and systemic lupus erythematosus in Hainan

Zhang Xuan¹, Wu Hui-Tao², Zhang Qi², Lin Gui-Ling¹, Yin Xi-Yu², Xu Wen-Lu¹, Wang Zhe¹, He Zi-Man², Liu Ying³, Mi Long⁴, Zhuang Yan-Ping^{5*}, Gong Ai-Min^{1*}

¹College of Traditional Chinese Medicine, ⁵International Research Center for Aging and Cancer, Hainan Medical College, Haikou, Hainan 570216, China

²Heilongjiang Academy of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150036, China

³Department of Rheumatology and Immunology, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou, Hainan 570311, China

⁴Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou, Hainan 570102, China

*Corresponding author. Zhuang Yan-Ping, E-mail: yanpingzhuang_z@163.com; Gong Ai-Min, E-mail: hy0204013@hainmc.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81760840, 82160874), the Key Research and

[基金项目] 国家自然科学基金(81760840, 82160874); 海南省科技厅重点研发项目(ZDYF2022SHFZ078); 海南省研究生创新科研课题(Qhys2022-301)

[作者简介] 张绚, 硕士研究生, 主要从事中医内科方面的研究

[通信作者] 庄燕苹, E-mail: yanpingzhuang_z@163.com; 宫爱民, E-mail: hy0204013@hainmc.edu.cn

Development Project of Science and Technology Department of Hainan Province (ZDYF2022SHFZ078), and the Innovative Research Project of Hainan Graduate Students (Qhys2022-301)

[Abstract] Objective To investigate the relationship between single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *eNOS* gene and genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus (SLE) in Hainan. **Methods** Blood samples were collected from SLE patients (SLE group, $n=214$) and healthy controls (control group, $n=214$) from January 2020 to December 2022 at the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College and Hainan Provincial People's Hospital. The bases of *eNOS* gene rs3918188, rs1799983 and rs1007311 loci in each group were detected by SNaPshot sequencing technology. Logistic regression was used to analyze the correlation between genotypes, alleles and gene models (dominant model, recessive model, and overdominant model) of the above 3 target loci of the *eNOS* gene and genetic susceptibility to SLE. Haplotype analysis was conducted using HaploView 4.2 software to investigate the relationship between haploid and genetic susceptibility to SLE at each site. **Results** The results of logistic regression analysis revealed that the CC genotype and the C allele at rs3918188 locus were risk factors for genetic susceptibility to SLE (CC vs. AA: $OR=2.449$, $P<0.05$; C vs. A: $OR=2.133$, $P<0.001$). In recessive model at rs3918188 locus, CC genotype carriers had an increased risk of SLE development compared with AA+AC genotype carriers ($OR=2.774$, $P<0.001$). In contrast, in overdominant model at this locus, AC genotype carriers had a decreased risk of SLE occurrence compared with AA+CC genotype carriers ($OR=0.385$, $P<0.001$). In addition, polymorphisms of rs1799983 and rs1007311 were not associated with susceptibility to SLE in genotype, allele type and the 3 genetic models ($P>0.05$). Haplotype analysis revealed a strong linkage disequilibrium between the rs1007311 and rs1799983 loci of the *eNOS* gene, but no significant correlation was found between haplotype and genetic susceptibility to SLE ($P>0.05$). **Conclusion** The CC genotype and C allele at rs3918188 locus of *eNOS* gene may be risk factors for SLE in Hainan, while the risk of SLE occurrence is reduced in carriers of AC genotype under the overdominant model.

[Key words] systemic lupus erythematosus; endothelial nitric oxide synthase; single nucleotide polymorphism

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是一种自身免疫性疾病^[1], 其特征是破坏性的全身器官受累, 可导致患者脏腑功能下降、发病率和病死率增高^[2]。目前, SLE 在全球的发病率为 0.003%~0.233%^[3], 而在中国的发病率为 0.3%~0.7%, 位居全世界第二^[4], 给社会和家庭带来了沉重的负担^[5]。与健康人群比较, SLE 患者的死亡风险高 18~19 倍^[3], 最常见的病死原因是肾脏疾病、心血管等系统疾病及感染^[6]。尽管 SLE 的治疗已取得了较大进展, 但 SLE 患者的死亡率仍然很高, 标化死亡率为 2.4%~5.9%^[7]。SLE 的发病机制尚未阐明, 目前研究认为主要由遗传和环境因素影响而发病^[8]。随着分子生物学的发展, 很多研究证实, 遗传易感性对 SLE 的发展有重要影响^[9-10]。研究表明, 内皮型一氧化氮合酶 (*eNOS*) 基因被认为是 SLE 易感基因之一, 能催化一氧化氮 (NO) 的产生, 该过程与 SLE 的发病机制密切相关^[11-13]。但关于 *eNOS* 基因 rs3918188、rs1799983、rs1007311 位点的多态性与 SLE 患者的易感性尚不明确。*eNOS* 基因位点与海南地区 SLE 易感性的关联研究也少见报道。本研究探讨海南地区 *eNOS* 基因 rs3918188、rs1799983、rs1007311 位点的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与 SLE 患者遗传易感性的关系, 以期为 SLE 的机制研究提供参考。

1 资料与方法

1.1 研究对象 收集 2020 年 1 月—2022 年 12 月在海

南医学院第一附属医院及海南省人民医院就诊的海南籍 SLE 患者 (SLE 组, $n=214$) 和健康对照者 (对照组, $n=214$) 的临床资料进行回顾性分析。SLE 组纳入标准: 年龄 18~70 岁; 符合 2019 年欧洲抗风湿病联盟 (EULAR/ACR) 的 SLE 诊断标准。对照组纳入标准: 年龄 18~70 岁; 健康检查正常; 无心、脑、肝、肾、肺等主要器官的实质性病变。排除标准: (1) 合并其他风湿病, 如类风湿关节炎、硬皮病、多发性肌炎; (2) 合并循环系统、泌尿系统和造血系统等严重原发性疾病, 严重代谢失调; (3) 肿瘤; (4) 职业运动员、妊娠、哺乳及月经期; (5) 不愿意参加本研究。本研究已获得海南医学院伦理委员会审批 (HYLL-2017-001)。

1.2 主要试剂与仪器 PCR 引物购自美国 Life Technologies Corporation 公司; *Taq* 酶、dNTP、*ExoI* 酶购自美国 Fermentas 公司; *Taq* DNA ligase 购自美国 New England Biolabs 公司; qPCR PreMix (Probe) 购自北京天根生化科技有限公司; 各型号 tips 购自美国 KIRGEN 公司; DEPC 水购自上海吉真生物科技有限公司; FastAP 酶购自美国 Thermo Scientific 公司; SNaPshot 试剂盒购自美国 Applied Biosystems 公司。微量核酸检测仪购自美国 Thermo Scientific 公司; SNaPshot 测序 PCR 仪、基因测序仪购自美国 Applied Biosystems 公司; 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司; 电泳仪购自美国 Major Science 公司; 电泳槽购自美国 Labnet 公司; 普通 PCR 仪购自北京东胜创新生物科技有限公司; 台式高速冷冻离心机、精

密移液器购自德国Eppendorf公司；荧光定量PCR96孔板、Platemax Ultraclear Sealing 购自美国Axygen公司。

1.3 PCR反应 取SLE组及对照组血液样本解冻，进行DNA抽提与纯度分析后配制反应体系：DNA模板1 μl ，10 \times buffer 1.5 μl ， MgCl_2 (25 mmol/L)1.5 μl ，dNTP(10 mmol/L)0.3 μl ，引物(10 $\mu\text{mol/L}$)0.15 μl /条，*Taq*酶(5 U/ μl)0.3 μl ，DEPC水补至15 μl 。反应条件：94 $^\circ\text{C}$ 预变性3 min；94 $^\circ\text{C}$ 变性15 s、55 $^\circ\text{C}$ 退火15 s、72 $^\circ\text{C}$ 延伸30 s，循环35个周期；72 $^\circ\text{C}$ 延伸3 min。待反应结束后，各位点取3 μl PCR产物混匀，置于冰上，加入0.2 μl 核酸外切酶I和0.5 μl 碱性磷酸酶纯化，在37 $^\circ\text{C}$ 反应15 min，随后在80 $^\circ\text{C}$ 反应15 min，主要用核酸外切酶I去除反应产物中的剩余引物，用碱性磷酸酶去除反应中剩余的dNTP。目的基因相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算，实验重复至少3次。以上产物在-20 $^\circ\text{C}$ 冰箱保存。引物序列见表1。

1.4 SNaPshot检测目标位点SNP 根据目标位点的序列，设计SNaPshot测序反应引物(表2)。SNaPshot测序反应体系：PCR扩增纯化产物2 μl ，SNaPshot

表1 PCR反应引物
Tab.1 Primers for PCR reactions

| 基因 | 引物序列(5'→3') |
|-----------|----------------------------|
| rs3918188 | 上游: ATCGTTCCTTGCTAACTCTGGC |
| | 下游: TACTTCACTGAGACTGAAGGG |
| rs1007311 | 上游: TGGAGATGAAGGCAGGAGACAG |
| | 下游: TCAATCCCTTTGGTGCTCAGC |
| rs1799983 | 上游: TGGAGATGAAGGCAGGAGACAG |
| | 下游: CAGTCAATCCCTTTGGTGCT |
| GADPH | 上游: GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG |
| | 下游: ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA |

Mix试剂1 μl ，延伸引物(10 $\mu\text{mol/L}$)0.2 μl /条， ddH_2O 补至6 μl 。反应条件：96 $^\circ\text{C}$ 预变性1 min；96 $^\circ\text{C}$ 变性10 s、52 $^\circ\text{C}$ 退火5 s、60 $^\circ\text{C}$ 延伸30 s，循环30个周期。反应结束后，将反应产物置于冰上，加入0.2 μl 碱性磷酸酶混匀纯化，在37 $^\circ\text{C}$ 反应60 min，随后在75 $^\circ\text{C}$ 反应15 min，主要是用碱性磷酸酶去除反应中剩余的dNTP。纯化后的SNP位点各取1 μl ，加入9 μl 甲酰胺(HIDI)混匀，在95 $^\circ\text{C}$ 条件下静置反应3 min，随后冰水浴，上机电泳进行测序。其余产物在4 $^\circ\text{C}$ 冰箱中保存。

表2 SNaPshot测序反应引物
Tab.2 Primers for SNaPshot sequencing reactions

| 目的位点 | 染色体位置 | 多态性 | 延伸产物 | 引物方向 | 引物长度(bp) | 引物序列 |
|-----------|-----------|-----|------|------|----------|--|
| rs3918188 | 151005693 | A/C | AC | 上游 | 42 | TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGCAAGGCACACGTACAAGGG |
| rs1007311 | 150998920 | A/G | AG | 上游 | 22 | AGGGCATGAGGCTCAGCCCCAG |
| rs1799983 | 150999023 | G/T | GT | 上游 | 42 | TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGTGCTGCTGCAGGCCCCAGATGA |

1.5 统计学处理 使用GeneMarker软件对测序结果进行判读，并与NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)进行比对，以获得多态性的位点碱基。利用Hardy-Weinberg遗传平衡定律检验本研究所选血液样本的遗传稳定性是否良好。本研究所收集的数据均采用双录入方式，并对数据进行核查、整理。采用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，两组间比较采用 t 检验；计数资料以率(%)表示，两组间比较采用 χ^2 检验；各位点基因型、等位基因、基因模型采用logistic回归分析，并进行比值比(OR)和95%置信区间(95%CI)的计算。采用HaploView 4.2软件对*eNOS*基因的3个SNP位点进行单倍体构建和连锁不平衡分析，并将 $R^2>80\%$ 视为强连锁不平衡^[14]，分析SLE组与对照组间单倍型频率差别。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床资料 对照组年龄为(33.3 \pm 11.2)岁，

男25例，女189例；SLE组年龄为(33.8 \pm 12.5)岁，男23例，女191例。两组年龄、性别比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 Hardy-Weinberg遗传平衡检验 海南地区*eNOS*基因的rs3918188、rs1799983和rs1007311位点在健康对照组的分布符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律($P>0.05$ ，表3)。

2.3 海南地区基因型和等位基因频率分布 在海南地区的SLE组中，rs3918188位点的CC基因型和C等位基因频率明显高于对照组($P<0.05$)，而rs1007311与rs1799983位点的基因型和等位基因频率差异无统计学意义($P>0.05$)(表4)。

2.4 海南地区基因模型对比 rs3918188位点在隐性模型中，CC基因型携带者相较AA+AC基因型携带者的SLE发生风险升高($P<0.001$)；而在显性模型中，AC基因型携带者相较AA+CC基因型携带者的SLE发生风险降低($P<0.001$)。此外，rs1799983和rs1007311的多态性在基因型、等位基因以及3种基

表3 海南地区对照组内皮型一氧化氮合酶(eNOS)基因 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验

Tab.3 Hardy-Weinberg genetic equilibrium test for the eNOS gene in control group in Hainan

| 位点 | 基因型 | 实际频数 | 理论频数 | χ^2 | P |
|-----------|-----|------|---------|----------|-------|
| rs3918188 | AA | 16 | 20.355 | 1.948 | 0.163 |
| | AC | 100 | 91.290 | | |
| | CC | 98 | 102.355 | | |
| rs1007311 | AA | 56 | 54.505 | 0.167 | 0.683 |
| | AG | 104 | 106.991 | | |
| | GG | 54 | 52.505 | | |
| rs1799983 | GG | 168 | 170.472 | 3.103 | 0.078 |
| | GT | 46 | 41.056 | | |
| | TT | 428 | 2.472 | | |

因模型中差异均无统计学意义($P>0.05$)(表5)。

2.5 单倍型分析 采用HaploView 4.2软件对eNOS基

因上3个SNP位点进行单倍体构建和连锁不平衡分析,构建一个由rs1007311和rs1799983组成的连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)图(图1)。结果显示,rs1007311与rs1799983位点之间存在强连锁不平衡关系,2个SNPs形成GG、AG、AT这3种单倍型,SLE组与对照组间差异无统计学意义($P>0.05$,表6)。

3 讨论

SLE是一种系统性自身免疫性疾病^[15],其特点为免疫失调,常导致多系统、多器官受累^[16]。SLE的病因既有遗传因素,也有环境因素,是一种多因素导致的疾病^[17]。目前,遗传易感性对SLE发展的影响已被证实^[18-21]。有学者基于全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWASs)发现了东亚和欧洲人群中的100多个SLE易感位点^[22]。有研究发现,eNOS基因是SLE遗传易感性的候选基因之一,

表4 eNOS不同基因型和等位基因频率在对照组与SLE组的分布及logistic回归结果

Tab.4 Distribution of different genotypes and allele frequencies in control group and SLE group and logistic regression results

| 位点 | 基因型 | 对照组[例(%)] | SLE组[例(%)] | β | Wald χ^2 | P | OR(95% CI) |
|-----------|-----|-----------|------------|---------|---------------|--------|--------------------|
| rs3918188 | AA | 16(7.5) | 10(4.7) | - | - | 1.000 | - |
| | AC | 100(46.7) | 54(25.2) | -0.146 | 0.112 | 0.738 | 0.864(0.367~2.035) |
| | CC | 98(45.8) | 150(70.1) | 0.896 | 4.472 | 0.034 | 2.449(1.068~5.617) |
| | A | 132(30.8) | 74(17.3) | - | - | 1.000 | - |
| | C | 296(69.2) | 354(82.7) | 0.785 | 21.034 | <0.001 | 2.133(1.543~2.949) |
| rs1007311 | AA | 56(26.2) | 60(28.0) | - | - | 1.000 | - |
| | AG | 104(48.6) | 114(53.3) | 0.023 | 0.010 | 0.921 | 1.023(0.652~1.606) |
| | GG | 54(25.2) | 40(18.7) | -0.369 | 1.746 | 0.186 | 0.691(0.400~1.195) |
| | A | 216(50.5) | 234(54.7) | - | - | 1.000 | - |
| | G | 212(49.5) | 194(45.3) | -0.169 | 1.517 | 0.218 | 0.845(0.646~1.105) |
| rs1799983 | GG | 168(78.5) | 170(79.4) | - | - | 1.000 | - |
| | GT | 46(21.5) | 42(19.6) | -0.103 | 0.184 | 0.668 | 0.902(0.564~1.443) |
| | TT | 0 | 2(0.9) | - | - | 0.999 | - |
| | G | 382(89.3) | 382(89.3) | - | - | 1.000 | - |
| | T | 46(10.7) | 46(10.7) | - | - | 1.000 | - |

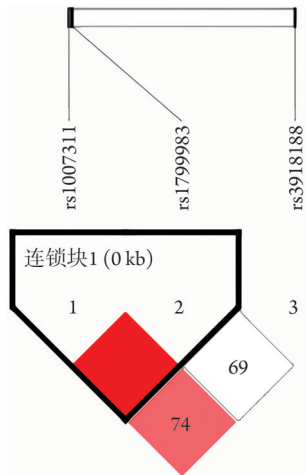
eNOS. 内皮型一氧化氮合酶; SLE. 系统性红斑狼疮; “-”为不适用

表5 eNOS不同基因模型在SLE组的分布及logistic回归结果

Tab.5 Distribution and logistic regression results of different gene models in SLE group

| 位点 | 基因模型 | β | Wald χ^2 | OR(95% CI) | P | |
|-----------|-------|--------------|---------------|------------|--------------------|--------|
| rs3918188 | 显性模型 | AC+CC vs. AA | 0.500 | 1.449 | 1.648(0.730~3.720) | 0.229 |
| | 隐性模型 | CC vs. AA+AC | 1.020 | 25.322 | 2.774(1.864~4.128) | <0.001 |
| | 超显性模型 | AC vs. AA+CC | -0.955 | 20.954 | 0.385(0.256~0.579) | <0.001 |
| rs1799983 | 显性模型 | GT+TT vs. GG | -0.056 | 0.056 | 0.94(0.594~1.505) | 0.812 |
| | 隐性模型 | TT vs. GG+GT | - | - | - | 0.999 |
| | 超显性模型 | GT vs. GG+TT | -0.115 | 0.229 | 0.892(0.558~1.426) | 0.632 |
| rs1007311 | 显性模型 | AG+GG vs. AA | -0.095 | 0.189 | 0.910(0.594~1.394) | 0.664 |
| | 隐性模型 | GG vs. AG+AA | -0.384 | 2.656 | 0.681(0.429~1.081) | 0.103 |
| | 超显性模型 | AG vs. AA+GG | -0.187 | 0.934 | 1.206(0.825~1.762) | 0.334 |

eNOS. 内皮型一氧化氮合酶; SLE. 系统性红斑狼疮



eNOS. 内皮型一氧化氮合酶; SNP. 单核苷酸多态性; LD. 连锁不平衡; eNOS 基因 SNP 位点的 LD 分析图每个框中都有 R^2 值, 值越接近 1, 两个 SNP 之间的相关性越强, 没有值的框表示完美的 LD 值, $R^2=1$

图 1 eNOS 基因 SNP 连锁不平衡分析

Fig.1 Analysis of linkage disequilibrium of SNP in eNOS gene

表 6 海南地区人群 eNOS 基因 SNP 单倍型分析 [例(%)]

Tab.6 Haplotype analysis of the Hainan region population [n(%)]

| 单倍型 | SLE 组 | 对照组 | P | OR(95% CI) |
|------|-----------|-----------|-------|--------------------|
| GG 型 | 194(45.3) | 212(49.5) | 0.218 | 0.845(0.646~1.105) |
| 其他型 | 234(54.7) | 216(50.5) | | |
| AG 型 | 188(43.9) | 170(39.7) | 0.212 | 1.189(0.906~1.560) |
| 其他型 | 240(56.1) | 258(60.3) | | |
| AT 型 | 46(10.7) | 46(10.7) | 1.000 | - |
| 其他型 | 382(89.3) | 382(89.3) | | |

eNOS. 内皮型一氧化氮合酶; SLE. 系统性红斑狼疮

能催化一氧化氮(NO)的产生, 其过程与 SLE 的发病机制密切相关^[11-13]。为了进一步探索 eNOS 基因的 SNP 位点 rs3918188、rs1799983 和 rs1007311 与 SLE 遗传易感性之间的关系, 笔者收集了 428 例海南地区人群血液样本进行 SNP 分析。

本研究首先进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验, 在确认 3 个位点均符合平衡之后, 再进行基因型、等位基因和基因模型频率的 logistic 回归分析。结果发现, 在海南地区的人群中, rs1799983 位点的基因型和等位基因均与 SLE 的遗传易感性无关, 且在隐性、显性或超显性模型中也未发现 SLE 与该位点多态性之间的关联性。rs1799983 位点与巴西^[23]、伊朗东南部^[24]和阿拉伯等地区^[25]的 SLE 遗传易感性无关, 与本研究结果一致。Lee 等^[25]的 Meta 分析纳入亚洲人群, 使用固定效应模型发现 rs1799983 位点与 SLE 的遗传易感性有关, 但在随机效应模型下, 未发现该位点与 SLE 的遗传易感性相关。在我国东北地区, rs1799983 位点的变异与 SLE 肾病的发生存在明显的

相关性, 该位点 T 等位基因在 SLE 肾损伤病理中发挥明显的保护作用, 但在其显性模型下可增加 SLE 肾病的患病风险^[26], 与本研究结果存在一定的差异。Tang 等^[27]对我国湖南省汉族人群进行研究发现, rs1799983 位点的多态性在 SLE 患者与对照组之间无明显差异, 与本研究结果一致。造成这些研究结果差异的原因可能与样本量、环境因素和民族差异有关^[28]。有学者发现, rs1799983 位点多态性与 SLE 合并股骨头坏死的遗传易感性明显相关, 但与 SLE 无关, 提示该位点可能与 SLE 患者遗传易感性无明显相关性, 但与 SLE 进展导致的某些临床亚型的遗传易感性有关^[29]。但目前仍无相关证据可以证明该推测。因此, 未来可以 SLE 临床亚型作为切入点, 更深入地研究 rs1799983 位点与 SLE 遗传易感性的关系及机制。

目前, eNOS 基因的 rs1007311 位点与疾病的遗传易感性研究较少, 本研究未发现该位点与 SLE 的遗传易感性有关。然而, rs3918188 在其他疾病领域的研究范围较广, 有学者评估该位点对中国汉族人群 2 型糖尿病和糖尿病肾病易感性的潜在作用时, 发现该位点多态性可影响 2 型糖尿病的遗传易感性^[30]。刘玲等^[31]发现, rs3918188 位点多态性可能与汉族原发性高血压无明显相关性。Al-Forkan 等^[32]认为, rs3918188 位点的 AC 基因型明显增高了来自砷污染地区的脑血管病患者心脏组织损伤的概率。然而, 目前 rs3918188 与 SLE 的相关研究尚未见报道。本研究发现, 在海南地区的 SLE 患者中, rs3918188 位点的 CC 基因型和 C 等位基因是 SLE 的危险因素; 在隐性模型分布下, rs3918188 位点 CC 基因型携带者相较于 AA+AC 基因型携带者的 SLE 发生风险增高, 而在超显性模型中, AC 基因型携带者相较于 AA+CC 基因型携带者的 SLE 发生风险降低。

为了进一步探索这些位点之间的关系, 本研究进行了单倍型分析。结果显示 rs1007311 与 rs1799983 位点之间存在强连锁不平衡关系。然而, rs1007311 和 rs1799983 位点之间形成的单倍型与 SLE 的遗传易感性无相关性, 这可能与样本量、地区和种族的差异有关^[28]。

综上所述, 本研究基于海南地区的 SLE 患者及健康人 eNOS 基因的 SNP 分析, 发现 rs3918188 位点与该地区 SLE 患者的遗传易感性有关, 而 rs1007311、rs1799983 位点与该地区 SLE 患者的遗传易感性无关。该结果有助于深入探究 eNOS 基因与 SLE 遗传易感性的机制, 并为 SLE 的早期诊断及治疗提供一定的遗传学证据。但本研究仍存在不足: (1) 未进行民族分层研究。由于海南地区除汉族外, 还分布有黎族等少数民族, 在同一地区不同民族人群中可能会有不

同的结果。(2)侧重于遗传标记与疾病易感性的关系,未探讨这些遗传变异的功能影响。未来可扩大样本量,针对民族进行分层比较,并补充相关遗传学实验,进一步分析eNOS基因位点的多态性与海南地区不同民族SLE遗传易感性之间的关系,并探索这些遗传变异的功能影响,这对早期筛查SLE、阐明SLE的发病机制有重大意义。

【参考文献】

- [1] Pan L, Lu MP, Wang JH, *et al.* Immunological pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus[J]. *World J Pediatr*, 2020, 16(1): 19-30.
- [2] Zhao X, Zhang L, Wang J, *et al.* Identification of key biomarkers and immune infiltration in systemic lupus erythematosus by integrated bioinformatics analysis[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 35.
- [3] Kedves M, Kósa F, Kunovszki P, *et al.* Large-scale mortality gap between SLE and control population is associated with increased infection-related mortality in lupus[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2020, 59(11): 3443-3451.
- [4] Zhong Y, Zhang W, Hong X, *et al.* Screening biomarkers for systemic lupus erythematosus based on machine learning and exploring their expression correlations with the ratios of various immune cells[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 873787.
- [5] Owen KA, Grammer AC, Lipsky PE. Deconvoluting the heterogeneity of SLE: the contribution of ancestry[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2022, 149(1): 12-23.
- [6] Kiriakidou M, Ching CL. Systemic lupus erythematosus[J]. *Ann Intern Med*, 2020, 172 (11): ITC81-ITC96.
- [7] Durcan L, O'Dwyer T, Petri M. Management strategies and future directions for systemic lupus erythematosus in adults[J]. *Lancet*, 2019, 393(10188): 2332-2343.
- [8] Nakano M, Ota M, Takeshima Y, *et al.* Distinct transcriptome architectures underlying lupus establishment and exacerbation[J]. *Cell*, 2022, 185(18): 3375-3389.e21.
- [9] Law SM, Akizuki S, Morinobu A, *et al.* A case of refractory systemic lupus erythematosus with monocytosis exhibiting somatic KRAS mutation[J]. *Inflamm Regen*, 2022, 42(1): 10.
- [10] 李永珍, 吴小川. 2021—2022年度系统性红斑狼疮研究进展盘点[J]. *中国当代儿科杂志*, 2023, 25(8): 785-790.
- [11] Jones Buie JN, Pleasant Jenkins D, Muise-Helmericks R, *et al.* L-sepiapterin restores SLE serum-induced markers of endothelial function in endothelial cells[J]. *Lupus Sci Med*, 2019, 6(1): e000294.
- [12] Lee J, Thomas Broome S, Jansen MI, *et al.* Altered hippocampal and striatal expression of endothelial markers and VIP/PACAP neuropeptides in a mouse model of systemic lupus erythematosus[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(13): 11118.
- [13] Montoya T, Sánchez-Hidalgo M, Castejón ML, *et al.* Oleocanthal supplemented diet improves renal damage and endothelial dysfunction in pristane-induced systemic lupus erythematosus in mice[J]. *Food Res Int*, 2023, 163: 112140.
- [14] 姜闵慧, 周娟, 赵珍珍, 等. ATG5基因单核苷酸多态性与中国西南地区汉族人群肺结核易感性的相关性研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44(9): 1080-1084.
- [15] Nusbaum JS, Mirza I, Shum J, *et al.* Sex differences in systemic lupus erythematosus: epidemiology, clinical considerations, and disease pathogenesis[J]. *Mayo Clin Proc*, 2020, 95(2): 384-394.
- [16] Woo JMP, Parks CG, Jacobsen S, *et al.* The role of environmental exposures and gene-environment interactions in the etiology of systemic lupus erythematosus[J]. *J Intern Med*, 2022, 291(6): 755-778.
- [17] 史曼曼, 王语欣, 马毓华, 等. 系统性红斑狼疮的遗传学研究进展[J]. *内科理论与实践*, 2022, 17(3): 267-272.
- [18] Kwon YC, Chun S, Kim K, *et al.* Update on the genetics of systemic lupus erythematosus: genome-wide association studies and beyond[J]. *Cells*, 2019, 8(10): 1180.
- [19] Fava A, Petri M. Systemic lupus erythematosus: diagnosis and clinical management[J]. *J Autoimmun*, 2019, 96: 1-13.
- [20] Catalina MD, Owen KA, Labonte AC, *et al.* The pathogenesis of systemic lupus erythematosus: harnessing big data to understand the molecular basis of lupus[J]. *J Autoimmun*, 2020, 110: 102359.
- [21] 张天誉, 马明圣. 儿童单基因狼疮诊治进展[J]. *中国实用儿科杂志*, 2023, 38(6): 459-463.
- [22] Yin X, Kim K, Suetsugu H, *et al.* Meta-analysis of 208370 East Asians identifies 113 susceptibility loci for systemic lupus erythematosus[J]. *Ann Rheum Dis*, 2021, 80(5): 632-640.
- [23] Mucenic T, Brenol JC, Bredemeier M, *et al.* Glu298Asp eNOS polymorphism is not associated with SLE[J]. *Lupus*, 2009, 18(5): 448-451.
- [24] Sandoughi M, Salimi S, Zakeri Z, *et al.* Association of eNOS gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus in southeast Iran[J]. *Int J Rheum Dis*, 2016, 19(6): 606-612.
- [25] Lee YH, Bae SC. Associations between eNOS polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: a meta-analysis[J]. *Z Rheumatol*, 2017, 76(8): 708-715.
- [26] Li X, An J, Guo R, *et al.* Association of the genetic polymorphisms of the ACE gene and the eNOS gene with lupus nephropathy in northern Chinese population[J]. *BMC Med Genet*, 2010, 11: 94.
- [27] Tang FY, Xie XW, Ling GH, *et al.* Endothelial nitric oxide synthase and nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate oxidase p22phox gene (C242T) polymorphisms and systemic lupus erythematosus in a Chinese Population[J]. *Lupus*, 2010, 19(2): 192-196.
- [28] Ha E, Bae SC, Kim K. Recent advances in understanding the genetic basis of systemic lupus erythematosus[J]. *Semin Immunopathol*, 2022, 44(1): 29-46.
- [29] Kim HS, Bae SC, Kim TH, *et al.* Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of osteonecrosis of the femoral head in systemic lupus erythematosus[J]. *Int Orthop*, 2013, 37(11): 2289-2296.
- [30] Chen F, Li YM, Yang LQ, *et al.* Association of NOS2 and NOS3 gene polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy in the Chinese Han population[J]. *IUBMB Life*, 2016, 68(7): 516-525.
- [31] 刘玲, 林杰, 李建民, 等. 内皮型一氧化氮合成酶基因rs3918188位点多态性与汉族原发性高血压的相关性[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(17): 4135-4137.
- [32] Al-Forkan M, Wali FB, Khaleda L, *et al.* Association of arsenic-induced cardiovascular disease susceptibility with genetic polymorphisms[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6263.

(责任编辑: 张小利)