

# 基因组拷贝数变异与原发性高血压

曲 尧 刘 越 尹新华

**【摘要】** 基因组拷贝数变异(CNVs)是基因组结构变异的重要组成部分,根据其发生的频率可分为常见型 CNVs 和罕见型 CNVs。研究发现 CNVs 参与许多疾病的发生发展,如先天性心脏病、肿瘤、神经精神疾病等。近年来的研究数据表明 CNVs 亦参与原发性高血压发病过程。该文阐述 CNVs 的由来、与原发性高血压发病的关系及目前研究的局限性,有助于深入认识原发性高血压发病的遗传本质和机制。

**【关键词】** 基因组拷贝数变异;原发性高血压;自发性高血压大鼠;线粒体 DNA

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2014.01.012

基因组拷贝数变异(copy number variations, CNVs)是指长度在 1kb~3Mb 的 DNA 片段发生结构性变异,包括缺失、插入和重复等<sup>[1]</sup>。研究发现 CNVs 参与许多疾病的发生发展,如先天性心脏病、肿瘤、神经精神疾病等。原发性高血压是一种受多基因调控的疾病。以往的研究主要集中在单核苷酸多态性在原发性高血压发病过程中的作用<sup>[2-3]</sup>。近年来,研究发现 CNVs 是基因组结构变异中主导成分,尤其 2009 年以来发现 CNVs 参与原发性高血压的遗传易感性,进而参与其发病。

## 1 CNVs

### 1.1 CNVs 的发现

早在 1936 年,对果蝇 Bar 基因的研究就发现基因拷贝数的变化会对性状产生一定的影响。2004 年,首次报道在人类基因组中存在 CNVs。研究证实 CNVs 是一种亚显微水平的基因组结构变异,为遗传变异的重要来源之一,与种群多样性及多种疾病的发病有关。2006 年,Redon R 他们应用单核苷酸多态性分型芯片,对 HapMap 计划的 270 例个体进行分析,鉴定并确认了 1 447 个 CNVs,构建成第一代人类基因组 CNVs 图谱。而且,CNVs 在整个基因组覆盖的核苷酸总数大大超过单核苷酸多态性的总数。随着各种检测技术(尤其是单核苷酸多态性芯片)的广泛应用<sup>[4]</sup>,人类 CNVs 图谱也在不断的完善,从而有助于从基因水平认识疾病的发病过程。

### 1.2 CNVs 的分类

根据 CNVs 在人类基因组中的发生频率可分为常见型 CNVs 和罕见型 CNVs。前者指人群发生频率

>1% 的 CNVs,此类型 CNVs 大多是多拷贝变化, DNA 片段拷贝数在 0~30 不等,且片段长度较小<sup>[5]</sup>。目前研究发现,常见型 CNVs 多位于免疫相关基因区域,与多种疾病如克罗恩病、1 型糖尿病<sup>[6]</sup>、心肌梗死<sup>[7]</sup>等复杂疾病有关。罕见型 CNVs 指人群发生频率较低(<1%)的 CNVs,多为较大片段的 DNA 拷贝数变化,且在基因组中拷贝数较少,如 DNA 片段单体型、半合子或三倍体<sup>[8]</sup>。此类型 CNVs 多由突变产生,且遗传选择压力大,往往仅存在几代后即消失,此类 CNVs 与神经精神疾病如精神分裂症、孤独症及先天畸形等有关<sup>[9-11]</sup>。

## 2 CNVs 与原发性高血压

原发性高血压是受遗传和环境等多种因素影响的复杂性疾病。以往的研究发现,原发性高血压的遗传因素与单核苷酸多态性有关,而近年来研究发现其更可能多与 CNVs 有关。

### 2.1 CNVs 在高血压动物中的研究

#### 2.1.1 自发性高血压大鼠全基因组 CNVs 的研究

自 CNVs 发现以来,多个研究中心就其与高血压动物的关系进行了探索。Atanur 等<sup>[12]</sup>应用双末端测序的方法研究自发性高血压大鼠的基因组排列情况及功能分析,结果发现,与血压正常的棕色挪威大鼠相比,前者有 588 个不同的 CNVs 区域,覆盖了 688 个已知功能的基因。Charchar 等<sup>[13]</sup>应用比较基因组杂交(array comparative genomic hybridization)方法分别研究了自发性高血压大鼠、正常血压大鼠(Wistar-Kyoto rat)及其杂交子代的全基因组的 CNVs,结果发现与正常血压大鼠组相比,自发性高血压大鼠组存在 16 个长度在 10 kb~1.6 Mb 不等的 CNVs 差异性表达,究其原因在于其拷贝数的缺失(6 例,37.5%)和扩增(10 例,62.5%)。进一步研究揭示,有 8 个位于与高血压相关的染色体位点上,并且 1 号、6 号和 14

号染色体上的 CNVs 区域与人类基因组有高度同源性。采用转录组学对两组的基因表达进行比较发现,与正常血压大鼠相比较,自发性高血压大鼠有多个位于上述 CNVs 区域的基因(Ms4a6a、Ndr3、Egln1、Cd36、Sema3a、Ugt2b、Idi21)在肾脏的表达存在显著差异,CNV1a 区域的 Ms4a6a 基因在心、肾、脾脏表达均存在显著异常。此两种大鼠杂交的第二代依然有 Egln1 基因的拷贝数变化,而且也存在血压明显升高。这些数据表明 CNVs 使杂交的第二代大鼠在遗传学上具有高血压易感性和表型,从而引发血压升高。

**2.1.2 嗜铬蛋白 A 基因的 CNVs 研究** 高血压发病机制涉及交感神经系统活性亢进,导致儿茶酚胺释放,而嗜铬蛋白 A 是存在于嗜铬细胞及交感节前神经元内嗜铬颗粒的一类激素原,与儿茶酚胺类一起储存并释放。人体嗜铬蛋白 A 的表达受遗传影响,且在原发性高血压患者表达升高;基因位于 13 号染色体,长约 12 kb。Vaingankar 等<sup>[14]</sup>应用转基因技术将不同拷贝数的人源性嗜铬蛋白 A 基因转到鼠体内,然后分别测定鼠血压及嗜铬蛋白 A 蛋白的表达情况,发现蛋白的表达与基因拷贝数呈线性关系,而血压与其蛋白表达数量关系呈“U”型,当嗜铬蛋白 A 基因拷贝数为 2 时,鼠血压水平最低。该研究证明嗜铬蛋白 A 基因拷贝数的缺失及拷贝数递增均会显著影响血压。

## 2.2 CNVs 在原发性高血压人群中的研究

**2.2.1 内皮素基因的 CNVs** 高血压的产生与外周血管阻力增高有关,内皮素可致外周血管阻力增高。其中,内皮素 1 是由位于 6 号染色体上的内皮素 1 基因编码的含有 21 个氨基酸的多肽,具有强烈的血管收缩活性。Sun 等<sup>[15]</sup>应用 Affymetrix 6.0 芯片分析 210 名不同种族的受试者(其中 90 名黄种人,60 名白种人和 60 名黑种人)的内皮素相关基因 CNVs,结果发现在 3 个种族中均有 4 个 CNVs 区域,与内皮素系统基因表达相关,并且位于 6 号染色体中的一个长为 66 kb 的 CNV 区域与内皮素 1 基因表达密切相关。尽管 CNVs 致内皮素 1 表达的具体机制尚不清楚,但该研究为通过遗传变异水平阐明高血压发病的分子机制提供了思路。

**2.2.2 胰岛素抵抗、肥胖表型基因的 CNVs** 胰岛素抵抗和肥胖是高血压发病的重要机制之一。据流行病学研究发现,原发性高血压患者约有 50% 存在胰岛素抵抗,33% 存在肥胖。HyperGen (Hypertension Genetic Epidemiology Network) 是始于 2000 年的高血压家系为基础的大型遗传流行

病学研究项目之一,旨在发现血压及高血压相关遗传改变,其中包括一系列 CNVs 相关研究<sup>[16-17]</sup>。Irvin 等<sup>[18]</sup>对入选 HyperGen 的 1 040 名非裔美国人进行全基因组 CNVs 研究,位于常染色体 7q34 的 T 细胞受体基因的  $\beta$  可变区的 CNV 与空腹胰岛素水平和胰岛素抵抗指数均相关。Zhao 等<sup>[19]</sup>对入选 GENOA (Genetic Epidemiology Network of Arteriopathy) 的 1 335 名和 HyperGen 的 1 224 名非裔美国人进行荟萃分析发现:两组人群共同存在的 CNVs 区域有 1 037 个,其中有 3 个 CNVs 区域与肥胖、体重指数增高密切相关,进一步研究证实其与 PARK2、GYPA 及 SGCZ 基因部分重叠。这些数据表明 CNVs 在胰岛素抵抗、肥胖等疾病的病因、发病机制中有重要作用,可能促进原发性高血压发生发展。

**2.2.3 线粒体 DNA 的 CNVs** 在原发性高血压患者中,代谢综合征的发病率高于普通人群。代谢综合征是一种机体能量代谢异常性症候群,包括:高血压、腹型肥胖、胰岛素抵抗及或糖耐量异常和血脂异常等。研究发现线粒体是机体中能量代谢的关键细胞器,其功能异常将对能量代谢产生巨大影响。Huang 等<sup>[20]</sup>将就诊的 200 例受试者(100 例代谢综合征患者,100 例非代谢综合征患者)纳入研究,应用线粒体/细胞核基因比值的方法,计算白细胞线粒体 DNA 拷贝数,并对受试者进行血压及生化指标测试。结果发现,代谢综合征患者白细胞线粒体 DNA 拷贝数比非代谢综合征患者低,进一步研究显示线粒体的 DNA 拷贝数与血压、高密度脂蛋白呈线性负相关。由此推测线粒体 DNA 拷贝数变异会影响血压值,成为高血压形成的因素之一。

## 3 目前研究的局限性

尽管在研究 CNVs 与原发性高血压关系的方面取得了部分成果,但目前的研究依然存在一些局限性:(1)研究方法的限制。目前对 CNVs 常用的研究方法包括荧光原位杂交技术、多重扩增探针杂交技术、依赖于连接的多重探针扩增技术、比较基因组杂交、单核苷酸多态性基因芯片测序技术等,每种研究方法都存在不足。(2)研究人群的限制。应用新一代高通量全基因组分析的方法可以发现常见型 CNVs 及罕见型 CNVs,但受研究人群总数的限制及影响,可能会造成遗漏,尤其是在人群中少见但对表型可能有重要作用的罕见型变异。此外,目前的研究多集中在欧洲血缘的白种人及非裔美国人,对亚洲人的研究结果较少见,而人种的不同

可能在 CNVs 上有一定程度的差异。(3) 线粒体 DNA 结构变异研究较少。基因组结构变异的研究集中在常染色体, 对线粒体 DNA 结构变异的研究较少, 线粒体作为参与能量代谢等重要生命活动过程的细胞组成部分, 其独特的基因组及 DNA 结构变异可能对多种疾病包括原发性高血压等有影响。(4) 其他因素的影响。原发性高血压是复杂的多种因素共同参与的疾病, 尽管多项研究中均已校正或排除环境、生活习惯等对血压的影响, 但其结果仍值得商榷。而且 CNVs 与环境、社会和自身心理等因素之间可能存在相互作用。此外, CNVs 的差异也与个体在不同的生命阶段、不同的组织或器官相关。

#### 4 展望

CNVs 是基因结构性变异中的重要组成部分, 在疾病的发病过程中发挥一定作用。来自动物和临床的研究发现, CNVs 包括嗜铬蛋白 A 基因、内皮素 1 基因等参与高血压病发病过程, 可能是其发病的遗传学本质之一。因此, 深入研究 CNVs 有望为原发性高血压发病机制研究提供新的切入点和途径。

#### 参 考 文 献

- [1] 何永蜀, 张 闻, 杨照青. 人类基因组结构变异[J]. 遗传, 2009, 31(8): 771-778.
- [2] Levy D, Ehret GB, Rice K, et al. Genome-wide association study of blood pressure and hypertension [J]. Nat Genet, 2009, 41(6): 677-687.
- [3] Cho YS, Go MJ, Kim YJ, et al. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits [J]. Nat Genet, 2009, 41(5): 527-534.
- [4] Itsara A, Cooper GM, Baker C, et al. Population analysis of large copy number variants and hotspots of human genetic disease [J]. Am J Hum Genet, 2009, 84(2): 148-161.
- [5] Sudmant PH, Kitzman JO, Antonacci F, et al. Diversity of human copy number variation and multicopy genes [J]. Science, 2010, 33(6004): 641-646.
- [6] Craddock N, Hurles ME, Cardin N, et al. Genome-wide association study of CNVs in 16 000 cases of eight common diseases and 3 000 shared controls [J]. Nature, 2010, 464(7289): 713-720.
- [7] Kathiresan S, Voight BF, Purcell S, et al. Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants [J]. Nat Genet, 2009, 41(3): 334-341.
- [8] Girirajan S, Campbell CD, Eichler EE. Human copy number variation and complex genetic disease [J]. Annu Rev Genet.

- 2011, 45: 203-226.
- [9] Van Den Bossche MJ, Strazisar M, Cammaerts S, et al. Identification of rare copy number variants in high burden schizophrenia families [J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2013, 162B(3): 273-282.
- [10] Itsara A, Wu H, Smith JD, et al. De novo rates and selection of large copy number variation [J]. Genome Res, 2010, 20(11): 1469-1481.
- [11] Zahnleiter D, Uebe S, Ekici AB, et al. Rare copy number variants are a common cause of short stature [J]. PLOS Genetics, 2013, 9(3): e1003365.
- [12] Atanur SS, Birol I, Guryev V, et al. The genome sequence of the spontaneously hypertensive rat: Analysis and functional significance [J]. Genome Res, 2010, 20(6): 791-803.
- [13] Charchar FJ, Kaiser M, Bingham AJ, et al. Whole genome survey of copy number variation in the spontaneously hypertensive rat: relationship to quantitative trait loci, gene expression, and blood pressure [J]. Hypertension, 2010, 55(6): 1231-1238.
- [14] Vaingankar SM, Li Y, Biswas N, et al. Effects of chromogranin A deficiency and excess in vivo: biphasic blood pressure and catecholamine responses [J]. J Hypertens, 2010, 28(4): 817-825.
- [15] Sun YV, Peyser PA, Kardia SL. A common copy number variation on chromosome 6 association with the gene expression level of endothelin 1 in transformed B lymphocytes from three racial groups [J]. Circ Cardiovasc Genet, 2009, 2(5): 483-488.
- [16] Wineinger NE, Patki A, Meyers KJ, et al. Genome-wide joint SNP and CNV analysis of aortic root diameter in African Americans: the HyperGEN study [J]. BMC Med Genomics, 2011, 4: 4.
- [17] Simino J, Shi G, Arnett D, et al. Variants on chromosome 6p22. 3 associated with blood pressure in the HyperGEN study: follow-Up of FBPP quantitative trait loci [J]. Am J Hypertens, 2011, 24(11): 1227-1233.
- [18] Irvin MR, Wineinger NE, Rice TK, et al. Genome-wide detection of allele specific copy number variation associated with insulin resistance in African Americans from the HyperGEN study [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e24052.
- [19] Zhao W, Wineinger NE, Tiwari HK, et al. Copy number variations associated with obesity-related traits in African Americans: a joint analysis between GENOA and HyperGEN [J]. Obesity, 2012, 20(12): 2431-2437.
- [20] Huang CH, Su SL, Hsieh MC, et al. Depleted Leukocyte Mitochondrial DNA Copy Number in Metabolic Syndrome [J]. J Atheroscler Thromb, 2011, 18(10): 867-873.

(收稿: 2013-09-03 修回: 2013-09-25)

(本文编辑: 金谷英)