

DOI:10.16781/j.0258-879x.2018.03.0291

· 论 著 ·

冠心病患者 *PCSK9* 基因 D320N 位点多态性及其临床意义

张明明^{1*}, 赵培¹, 于悦卿¹, 张翠改², 高伟¹, 李芳³

1. 河北省人民医院检验科, 石家庄 050051

2. 河北省人民医院体检中心, 石家庄 050051

3. 河北省人民医院风湿免疫科, 石家庄 050051

[摘要] **目的** 探讨外周血人枯草溶菌素转化酶 9 (*PCSK9*) 基因 D320N 多态性与冠心病的关系。**方法** 选取 2014 年 1 月至 2016 年 1 月在河北省人民医院就诊的不同类型(心绞痛、心肌梗死、无症状性心肌缺血、缺血性心肌病、猝死)冠心病患者 3 450 例为病例组, 以同期 1 100 名健康体检人群为对照组。检测各组研究对象的血清血脂水平及 *PCSK9* 浓度。应用 PCR 结合 DNA 直接测序技术对各组 *PCSK9* 基因 D320N (A/G) 多态位点进行分型。采用多因素 logistic 回归分析 *PCSK9* 基因 D320N 多态位点与不同类型冠心病的关系。**结果** 病例组患者血清 *PCSK9* 浓度、总胆固醇水平、三酰甘油水平、低密度脂蛋白胆固醇水平、冠心病家族史所占比例和吸烟率均高于对照组 ($P<0.001$), 高密度脂蛋白胆固醇水平低于对照组 ($P<0.001$)。病例组中 AA、GA 的基因型频率分别为 3.6%、13.9%, 分别高于对照组的 1.1%、7.0% ($\chi^2=20.502, 39.646, P<0.001$); 病例组中 A 等位基因的频率为 10.5%, 高于对照组的 4.6% ($\chi^2=70.481, P<0.001$)。病例组中猝死组 AA、GA 的基因型频率和 A 等位基因频率最高, 无症状性心肌缺血组最低。Logistic 回归分析发现 *PCSK9* 基因 D320N (A/G) 多态位点 GA、AA 基因型为冠心病的独立危险因素 (P 均 <0.001)。**结论** *PCSK9* 基因 D320N (A/G) 位点基因突变与冠心病有关, 其中 AA 基因型可能是冠心病发生的独立危险因素。

[关键词] 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶 kexin 9 型; 基因多态性; 冠状动脉粥样硬化性心脏病; 脂质

[中图分类号] R 446; R 541.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)03-0291-06

Polymorphism of D320N locus in *PCSK9* gene of patients with coronary heart disease and its clinical significance

ZHANG Ming-ming^{1*}, ZHAO Pei¹, YU Yue-qing¹, ZHANG Cui-gai², GAO Wei¹, LI Fang³

1. Department of Clinical Laboratory, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, Hebei, China

2. Physical Examination Center, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, Hebei, China

3. Department of Rheumatic Immunology, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, Hebei, China

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between D320N locus polymorphism in proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (*PCSK9*) gene and coronary heart disease. **Methods** A total of 3 450 patients with coronary heart diseases (angina pectoris, myocardial infarction, asymptomatic myocardial ischemia, ischemic cardiomyopathy, and sudden death), who were treated in Hebei General Hospital from Jan. 2014 to Jan. 2016, were enrolled as the case group, with 1 100 healthy people in the same period served as controls. Serum lipid levels and *PCSK9* concentrations of subjects in the two groups were detected. PCR assay combined with DNA direct sequencing method was applied in genotyping of D320N (A/G) polymorphic locus in *PCSK9* gene. Logistic regression analysis was used to analyze the relationship between D320N locus polymorphism in *PCSK9* gene and different types of coronary heart diseases. **Results** Serum concentrations of *PCSK9*, levels of total cholesterol, triacylglycerol and low density lipoprotein cholesterol, ratio of coronary heart disease family, and ratio of smoking of subjects in the case group were significantly higher than those in the control group ($P<0.001$), while the level of high density lipoprotein cholesterol was significantly lower than that in the control group ($P<0.001$). The frequencies of genotype AA and GA in the case group were 3.6% and 13.9%, respectively, which were significantly higher than those in the control group, respectively (1.1%, 7.0%; $\chi^2=20.502, 39.646; P<0.001$); the frequency of allele A in the case group was

[收稿日期] 2017-08-12 **[接受日期]** 2017-12-19

[基金项目] 河北省科技支撑项目(1627771D). Supported by Science and Technology Supporting Program of Hebei Province (1627771D).

[作者简介] 张明明, 博士, 副主任技师。

*通信作者(Corresponding author). Tel: 0311-85988261, E-mail: zhangmm197612@126.com

significantly higher than that in the control group (10.5% vs 4.6%, $\chi^2=70.481$, $P<0.001$). The frequencies of genotype AA, genotype GA and allele A were the highest in the sudden death group, and were the lowest in the asymptomatic myocardial ischemia group. Logistic regression analysis showed that genotypes AA and GA of D320N (A/G) polymorphic in *PCSK9* gene were risk factors of coronary heart disease (both $P<0.001$). **Conclusion** The D320N (A/G) locus polymorphism in *PCSK9* gene was associated with coronary heart disease, and genotype AA may be an independent risk factor of coronary heart disease.

[Key words] proprotein convertase subtilisin/kexin type 9; gene polymorphism; coronary atherosclerotic heart disease; lipid
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(3): 291-296]

随着我国社会进步和物质生活的改善,冠心病(coronary heart disease, CHD)的发生率不断升高,已成为社会问题。冠心病的发生与遗传因素、肥胖、高血压等多种因素有关^[1-4]。本课题组前期研究发现,人枯草溶菌素转化酶9(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)基因突变可影响胆固醇代谢^[5],促进动脉粥样硬化形成。另有研究显示 *PCSK9* 第12外显子 E670G 位点突变与冠心病有关^[6-8]。但目前有关 *PCSK9* 基因 D320N 与冠心病病情的报道少见。本研究检测了 *PCSK9* 基因 D320N 突变在冠心病患者及正常对照组中的分布差异,同时检测了血清 PCSK9 浓度的变化,旨在探讨该位点突变与冠心病的关系。

1 资料和方法

1.1 研究对象 选取2014年1月至2016年1月在河北省人民医院门诊就诊及住院的冠心病患者3450例为病例组,所有患者均经冠状动脉CT或冠状动脉造影等确诊,由我院心内科医师确定冠心病类型。病例组男性2047例,年龄29~74岁,平均(48.9±10.2)岁;女性1403例,年龄31~74岁,平均(50.2±10.3)岁。同时选取1100名同期健康体检者为对照组,性别、年龄与病例组匹配,排除肝炎、肝硬化、肾炎、肾病综合征、肾功能不全、先心病等疾病。所有入选者均签署知情同意书,本研究获得河北省人民医院伦理委员会审核批准。

1.2 血清采集 入选者取空腹静脉血7 mL,其中2 mL置入EDTA-K₂抗凝管中,混匀后-80℃保存,用于提取基因组DNA。另外5 mL放入促凝管中静置30 min,1760×g离心15 min分离血清,置于-20℃以下保存,用于检测血清中血脂水平和PCSK9浓度。

1.3 外周血血清中血脂水平的测定 取分离血

清,使用Beckman AU5821全自动生化分析仪测定血清中总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)的水平。

1.4 外周血血清中PCSK9浓度的检测 选用人PCSK9 ELISA试剂盒(96T; KA1072, Abnova公司,美国),严格按照说明书要求操作,试剂标本平衡至室温,血清标本1:100预稀释备用。板内变异系数<1.96%,板间变异系数<4.32%,加标回收率为94.23%,检测范围为0.16~10.00 ng/mL,最低检出限为0.154 ng/mL,用稀释液稀释标准品绘制标准曲线,使用酶免之星全自动酶标仪(瑞士Hamilton公司)检测各血清样本在450 nm处的光密度值,计算PCSK9浓度。

1.5 *PCSK9* 基因 D320N 位点多态性分析 采用PCR+直接测序法检测 *PCSK9* 基因第6外显子的基因序列,对D320N位点多态性进行分析。

1.5.1 提取冠心病患者及健康对照人群的基因组DNA 取EDTA-K₂抗凝血400 μL,按照TIANamp Genomic DNA kit 血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒[离心柱型, DP304; 天根生化科技(北京)有限公司]说明书要求提取基因组DNA。

1.5.2 PCR扩增目的基因片段 应用生物学软件Primer 6.0设计引物序列,上游5'-AAA GGG GAG CAG GTC TCC C-3',下游5'-GCC CGC CCT CCC TCC GCC CTC CG-3'。反应体系:1×PCR缓冲液5 μL,2.5 mmol/L MgCl₂ 2 μL,200 μmol/L dNTP(dUTP:dTTP=1:9)2.5 μL,200 μmol/L上、下游引物各5 μL,5 U KOD plus(Pfu DNA聚合酶,日本Toyobo公司)2 μL,目标DNA 5 μL,加无菌水制成50 μL反应体系。使用Mastercycler[®] gradient PCR分析仪(德国Eppendorf

公司)进行扩增。反应条件: 20 °C 10 min 裂解 u-DNA; 95 °C 10 min 初始变形; 95 °C 变性 30 s, 59 °C 退火 30 s, 72 °C 扩增 30 s, 共 35 次循环; 72 °C 10 min。扩增产物通过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳进行验证。

1.5.3 核苷酸序列分析 应用 3730XL 全自动 DNA 测序仪(美国 ABI 公司)测定目标基因的序列, 正反两方向测序。测序结果使用 DNAMAN 软件(V6.0.3.99 汉化版)与 GenBank、EMBL、DDBJ 数据库中保存的 PCSK9 基因序列进行比对, 根据比对获得的序列差异确定突变位点。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不同组间临床指标比较采用 t 检验或 F 检验; 计数资料以百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。使用单因素和多因素 logistic 回归分析 PCSK9 基因 D320N 突变与不同类型冠心病之间的关系。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 各种类型冠心病患者的性别和年龄分布 将病例组患者分为心绞痛、心肌梗死、无症状性心肌缺血、缺血性心肌病、猝死 5 个亚组, 心绞痛组男性 1 182 例(58.0%)、女性 857 例(42.0%); 心肌梗死组男性 207 例(59.8%)、女性 139 例

(40.2%); 无症状性心肌缺血组男性 362 例(60.8%)、女性 233 例(39.2%); 缺血性心肌病组男性 274 例(62.1%)、女性 167 例(37.9%); 猝死组男性 22 例(75.9%)、女性 7 例(24.1%)。健康对照组男性 657 例(59.7%)、女性 443 例(40.3%)。各组间性别差异无统计学意义($\chi^2=6.88, P>0.05$)。心绞痛组患者平均年龄为(49.3±8.3)岁、心肌梗死组(48.6±9.1)岁、无症状性心肌缺血组(50.3±9.7)岁、缺血性心肌病组(50.2±9.3)岁、猝死组(49.4±9.6)岁、健康对照组(49.7±10.2)岁, 各组间年龄差异无统计学意义($F=2.525, P=0.058$)。

2.2 各组血清血脂水平、PCSK9 浓度 与对照组相比, 病例组患者血清 PCSK9 浓度及 TC、TG、LDL-C 水平均升高, 冠心病家族史的患者比例和吸烟率也升高, HDL-C 水平降低($P<0.001$); 而饮酒率两组差异无统计学意义($P>0.05$)。按无症状性心肌缺血组、心绞痛组、缺血性心肌病组、心肌梗死组及猝死组的顺序, 各组患者血清 PCSK9 浓度及 TC、TG、LDL-C 水平, 冠心病家族史患者比例及吸烟率逐渐升高, 而 HDL-C 水平逐渐降低($P<0.001$); 饮酒率在各组间差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 病例组和健康对照组血清血脂水平及 PCSK9 浓度的比较

Tab 1 Comparison of serum lipid levels and PCSK9 concentrations of subjects between case and control groups

Group	N	PCSK9 ^a $\bar{x} \pm s$	TC ^b $\bar{x} \pm s$	TG ^b $\bar{x} \pm s$	HDL-C ^b $\bar{x} \pm s$	LDL-C ^b $\bar{x} \pm s$	Family history of CHD n (%)	Smoking n (%)	Drinking n (%)
Case group (total)	3 450	377.4±71.5	4.90±0.89	1.82±0.62	1.03±0.27	3.04±0.47	1 055 (30.5)	1 049 (30.4)	1 467 (42.5)
SMI	595	327.8±58.4	4.48±0.64	1.51±0.27	1.21±0.29	2.58±0.41	135 (22.7)	157 (26.4)	251 (42.2)
Angina	2 039	370.3±63.5	4.91±0.53	1.68±0.26	1.08±0.27	3.06±0.49	612 (30.0)	591 (29.0)	869 (42.6)
IC	441	413.6±71.9	5.09±0.46	2.25±0.41	0.89±0.21	3.17±0.59	151 (34.2)	150 (34.0)	185 (42.0)
MI	346	446.1±68.7	5.25±0.41	2.57±0.38	0.69±0.22	3.39±0.55	142 (41.0)	138 (39.9)	149 (43.1)
SD	29	524.1±63.9	5.75±0.73	2.87±0.46	0.41±0.16	4.03±0.62	15 (51.7)	13 (44.8)	13 (44.8)
F/χ^2 value		285.212	147.468	1 230.472	327.608	188.980	44.484	26.742	0.199
P value		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.995
Control group	1 100	128.3±47.2	3.41±0.51	1.17±0.25	1.42±0.25	1.51±0.29	108 (9.8)	309 (28.1)	468 (42.5)
t/χ^2 value		108.267	52.826	5.482	-42.454	101.952	188.950	70.742	0.000 2
P value		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.988 9

^a: $\rho_B/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$; ^b: $c_B/(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$. PCSK9: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9; SMI: Silent myocardial ischemia; IC: Ischemic cardiomyopathy; MI: Myocardial infarction; SD: Sudden death; TC: Total cholesterol; TG: Triacylglycerol; HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol; CHD: Coronary heart disease

2.3 *PCSK9* 基因第 6 外显子 D320N 位点多态性直接测序结果 PCR 产物纯化后的双向测序结果显示, *PCSK9* 基因 D320N 位点存在 G 和 A 两种等

位基因, 共有 3 种基因型: AA (突变纯合子)、GA (突变杂合子)、GG (野生型)。见图 1。

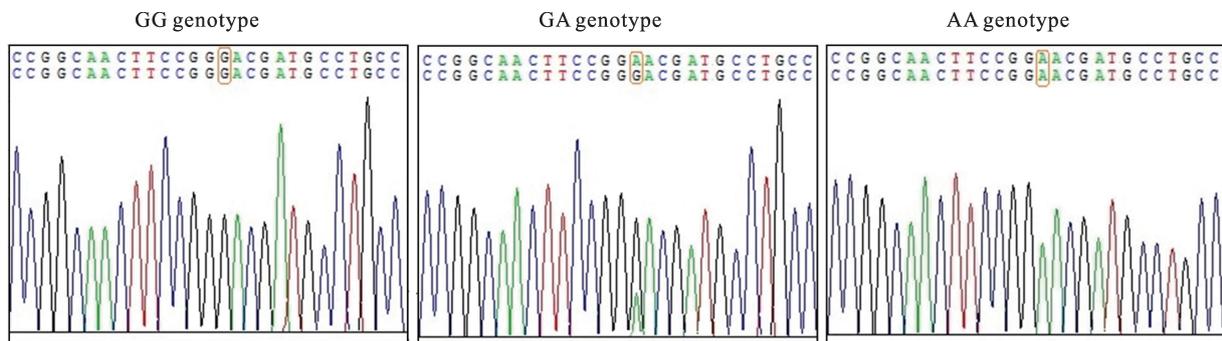


图 1 *PCSK9* 基因 D320N 位点多态性表达情况

Fig 1 D320N locus polymorphism in *PCSK9* gene

PCSK9: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

2.4 不同类型冠心病亚组和健康对照组 *PCSK9* 基因 D320N 位点多态性的基因型和等位基因频率分布 病例组中 AA、GA 的基因型频率分别为 3.6%、13.9%, 分别高于对照组的 1.1%、7.0% ($\chi^2=20.502, 39.646; P<0.001$); 病例组中 A 等位基因的频率为 10.5%, 高于对照组的 4.6% ($\chi^2=70.481, P<0.001$)。猝死组中 AA、GA 的基因型频率分别为 17.2%、34.5%, A 等位基因的频率为 34.5%; 心肌梗死组中 AA、GA 的基因型

频率分别为 9.0%、20.8%, A 等位基因的频率为 19.4%; 缺血性心肌病组中分别为 5.9%、16.8% 和 14.3%; 心绞痛组中分别为 2.9%、13.0% 和 9.4%; 无症状性心肌缺血组中分别为 2.4%、9.6% 和 7.1%。按无症状性心肌缺血组、心绞痛组、缺血性心肌病组、心肌梗死组及猝死组的顺序, AA、GA 的基因型频率以及 A 等位基因的频率均逐渐升高, 猝死组中最高, 而无症状性心肌病组最低 ($P<0.001$)。见表 2。

表 2 病例组与健康对照组 *PCSK9* 基因 D320N 位点多态性的基因型和等位基因频率

Tab 2 Frequencies of genotypes and alleles of D320N locus polymorphism in *PCSK9* gene in case and control groups

Group	N	Genotype			Allele	
		GG	GA	AA	G	A
Case group	3 450	2 849 (82.6)	478 (13.9)	123 (3.6)	6 176 (89.5)	724 (10.5)
Silent myocardial ischemia	595	524 (88.1)	57 (9.6)	14 (2.4)	1 105 (92.9)	85 (7.1)
Angina	2 039	1 715 (84.1)	265 (13.0)	59 (2.9)	3 695 (90.6)	383 (9.4)
Ischemic cardiomyopathy	441	341 (77.3)	74 (16.8)	26 (5.9)	756 (85.7)	126 (14.3)
Myocardial infarction	346	243 (70.2)	72 (20.8)	31 (9.0)	558 (80.6)	134 (19.4)
Sudden death	29	14 (48.3)	10 (34.5)	5 (17.2)	38 (65.5)	20 (34.5)
χ^2 value			48.249	65.944		122.077
P value			<0.001	<0.001		<0.001
Control group	1 100	1 011 (91.9)	77 (7.0)	12 (1.1)	2 099 (95.4)	101 (4.6)
χ^2 value			39.646	20.502		70.481
P value			<0.001	<0.001		<0.001

2.5 多因素 logistic 回归分析结果 以冠心病 (无=0, 有=1) 为因变量, 以性别 (男=1, 女=2)、年龄 (<40 岁=0, 40~49 岁=1, 50~59

岁=2, 60~69 岁=3, ≥ 70 岁=4)、TC 水平、TG 水平、LDL-C 水平、HDL-C 水平、*PCSK9* 浓度、*PCSK9* 基因 D320N 位点基因型 (GG=0, GA=1,

AA=2) 为自变量行 logistic 回归分析, 结果显示 PCSK9 基因 D320N 位点 GA、AA 基因型均为冠心病严重程度的独立危险因素 (P 均 <0.001), 表明

AA 基因型和 A 等位基因与冠心病严重程度密切相关。见表 3。

表 3 冠心病危险因素的 logistic 回归分析结果

Tab 3 Logistic regression analysis of risk factors for coronary heart disease

Variable	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>Wald</i>	<i>df</i>	<i>P</i> value	<i>OR</i> (95% <i>CI</i>)
Age	0.264	0.136	3.768	4	0.059	1.302 (0.869, 1.731)
Gender	0.223	0.201	1.238	1	0.237	1.249 (0.383, 1.747)
TC	0.227	0.142	2.555	1	0.103	1.254 (0.795, 1.638)
TG	0.047	0.052	0.817	1	0.715	1.048 (0.731, 1.297)
HDL-C	-0.380	0.221	2.954	1	0.084	1.462 (0.839, 1.945)
LDL-C	0.458	0.217	4.453	1	0.076	1.581 (0.919, 2.118)
PCSK9	0.483	0.382	1.599	1	0.081	1.621 (0.827, 2.321)
Genotype				2		
GA	1.721	0.484	12.643	1	<0.001	5.590 (2.521, 12.436)
AA	2.569	0.577	19.823	1	<0.001	13.053 (5.874, 23.697)

TC: Total cholesterol; TG: Triacylglycerol; HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol; PCSK9: Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9; SE: Standard error; OR: Odds ratio; CI: Confidence interval

3 讨论

冠心病的发生和进展中遗传因素发挥了重要作用, 了解基因突变与冠心病的关系对冠心病的综合评价及预防治疗有重要意义。本研究发现, 病例组患者的冠心病家族史比例高于对照组, 证实遗传因素与冠心病的发生有关。研究表明, 冠心病患者的血脂存在异常, 其在冠心病的进展中发挥了重要作用^[9-10]。本研究也发现病例组中患者的血清 TC、TG、LDL-C 水平均高于对照组, HDL-C 水平低于对照组, 表明血脂水平的异常对冠心病的发生、发展有促进作用。将病例组按不同类型分组后发现, 按无症状性心肌缺血组、心绞痛组、缺血性心肌病组、心肌梗死组及猝死组的顺序, 患者的血清 TC、TG、LDL-C 水平, 冠心病家族史比例和吸烟率均逐渐升高, 而 HDL-C 水平逐渐降低, 其中猝死组最高, 无症状心肌病组最低。表明随着病情加重血脂水平更容易出现异常, 冠心病家族史的比例也逐渐增加, 证实遗传因素与冠心病有关。

PCSK9 与胆固醇代谢密切相关, 能够通过调节低密度脂蛋白受体 (LDLR) 等的作用促进冠心病的进展^[11-12]。本研究发现病例组患者血清 PCSK9 浓度高于对照组, 与其他报道^[13-14]相符。将病例组按不同类型分组后, PCSK9 浓度在猝死组、心肌

梗死组、缺血性心肌病组、心绞痛组、无症状性心肌缺血组中逐渐降低, 表明 PCSK9 浓度可能对评估冠心病病情有一定帮助。

有研究发现 PCSK9 基因多态性与冠心病的发生有关^[6-7,15], 本课题组前期研究发现 PCSK9 基因的 D320N 突变是引起高胆固醇血症的原因之一^[5]。高胆固醇血症是冠心病的重要危险因素, 而该位点与冠心病发病是否有关尚未见报道。PCSK9 基因位于染色体 1p33~p34.4, 全长 3 617 个碱基, 编码 12 个外显子, D320N 位点位于 PCSK9 基因编码蛋白的催化域, 该位点发生突变会直接影响 PCSK9 的催化功能。本研究显示, 病例组中 AA、GA 的基因型频率均高于对照组, A 等位基因的频率也高于对照组。将病例组按不同类型分组后, 猝死组中 AA、GA 的基因型频率和 A 等位基因频率最高, 其次为心肌梗死组和缺血性心肌病组、心绞痛组, 无症状性心肌缺血组最低, 表明 PCSK9 基因突变可能与冠心病病情的严重程度有关。多因素 logistic 回归分析显示, GA、AA 基因型与冠心病的发生和发展密切相关, 是冠心病的独立危险因素。

综上所述, PCSK9 基因 D320N 位点突变与冠心病的发生、发展密切相关, 是冠心病发生的重要危险因素, 但具体机制还有待大规模、多中心研究予以证实。

[参考文献]

- [1] ZHANG J, ZHAO L, LÜ P, LIU G, DU W, YANG F, et al. Association between polymorphisms of platelet membrane glycoprotein Iba and risk of coronary heart disease in Han Chinese, Henan, China[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 6005-6011.
- [2] FU Z, YANG H, MA Y, HUANG D, XIE X, ZHENG Y, et al. Haplotype study of the *CYP4A11* gene and coronary artery disease in Han and Uygur populations in China[J]. *Gene*, 2013, 512: 510-516.
- [3] CHAI H, LIU W, ZHANG C, PENG Y, XU Y N, CHEN M, et al. Obesity paradox not observed among patients with angiographically proved coronary artery disease in southern China[J]. *J Cardiol*, 2014, 64: 508-509.
- [4] ZHONG C, ZHONG X, XU T, PENG H, LI H, ZHANG M, et al. Combined effects of hypertension and heart rate on the risk of stroke and coronary heart disease: a population-based prospective cohort study among Inner Mongolians in China[J]. *Hypertens Res*, 2015, 38: 883-888.
- [5] 宋光耀,张明明,孙海娟,王俊明,帖彦清,郝志华,等. 高胆固醇血症患者枯草溶菌素转化酶 9 基因突变研究[J]. *中国动脉硬化杂志*,2012,20:731-735.
- [6] HE X M, CHEN L, WANG T S, ZHANG Y B, LUO J B, FENG X X. E670G polymorphism of *PCSK9* gene of patients with coronary heart disease among Han population in Hainan and three provinces in the northeast of China[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9: 172-176.
- [7] ADI D, XIE X, LIU F, MA Y T, ABUDOUKELIMU M, WU Y, et al. Relationships between genetic polymorphisms of E670G in *PCSK9* gene and coronary artery disease: a meta-analysis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8: 13251-13258.
- [8] SLIMANI A, HARIRA Y, TRABELSI I, JOMAA W, MAATOUK F, HAMDA K B, et al. Effect of E670G polymorphism in *PCSK9* gene on the risk and severity of coronary heart disease and ischemic stroke in a Tunisian cohort[J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 53: 150-157.
- [9] 梁玉莲,李传松,蒋跃绒. 冠心病患者血清转化生长因子 $\beta 1$ 与肝细胞生长因子水平变化及其临床意义[J]. *中国临床保健杂志*,2017,20:149-152.
- [10] 王白石,李东阳,陈兴国,李英,王勇,李庆欣. 游离脂肪酸与冠心病患者冠脉病变严重程度相关性[J]. *中国老年学杂志*,2017,37:1352-1354.
- [11] 李红艳. 冠心病患者 *PCSK9* 和脂蛋白 (a) 水平与冠状动脉病变程度的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*,2016,24:607-610.
- [12] 刘悟,谭小青,刘翠中,阳军. 前蛋白转化酶枯草溶菌素 9 与冠心病影响因素及冠状动脉病变程度的相关性[J]. *广东医学*,2015,36:2797-2799.
- [13] WANG S, CHENG Z Y, ZHAO Z N, QUAN X Q, WEI Y, XIA D S, et al. Correlation of serum *PCSK9* in CHD patients with the severity of coronary arterial lesions[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20: 1135-1139.
- [14] NOZUE T, HATTORI H, ISHIHARA M, IWASAKI T, HIRANO T, KAWASHIRI M A, et al. Comparison of effects of pitavastatin versus pravastatin on serum proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 levels in statin-naïve patients with coronary artery disease[J]. *Am J Cardiol*, 2013, 111: 1415-1419.
- [15] 杨家大,漆小凤,司小刚,吴声榕,桂晓敏. 江西地区畲族人群 *pcsk9* 基因变异的 SnaPshot 分析[J]. *医学分子生物学杂志*,2011,8:235-239.

[本文编辑] 曾奇峰