

• 证候诊断 •

冠心病血瘀证的遗传流行病学研究

黄献平 袁肇凯* 王丽萍 李杰 王萍 喻松仁 简维雄 孙贵香 刘群良 郑景辉

(湖南中医药大学中医诊断研究所, 湖南省长沙市韶山中路 113 号, 410007)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30973717); 国家自然科学基金青年基金资助项目(81001518);

2010 年湖南省研究生创新基金资助项目(cx2010B339)

* 通讯作者: yuanzk1520@yahoo.com.cn, (0731)85381147

[摘要] 目的 探讨冠心病血瘀证的遗传特征。方法 运用病例对照的遗传流行病学家系调查方法, 对冠心病血瘀证家系(观察组)1565 例和冠心病非血瘀证家系(对照组)1553 例进行分离比、遗传度、遗传模式及多基因遗传方式等遗传参数的计算分析。结果 观察组亲属冠心病血瘀证的患病率(5.24%)显著高于对照组(1.29%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。观察组一级亲属分离比为 0.1296, 符合多基因遗传病的特点。观察组一级亲属遗传度为 58.04%, 二级亲属遗传度为 54.80%, 属中度遗传。观察组一级亲属遗传度为 0.5804 时, 其理论发病率为 8.00%, 与实际发病率 5.89% 呈接近趋势; 二级亲属的遗传度为 0.5480 时, 其理论发病率为 6.20%, 与实际发病率 4.13% 呈接近趋势。结论 冠心病血瘀证具有一定的家族聚集的倾向, 其在家系中的分布符合多基因遗传特征。

[关键词] 冠心病; 血瘀证; 遗传; 家系; 流行病学

Genetic Epidemiological Study on Blood Stasis Pattern of Coronary Heart Disease

HUANG Xianping, YUAN Zhaokai, WANG Liping, LI Jie, WANG Ping, YU Songren, JIAN Weixiong, SUN Guixiang, LIU Qunliang, ZHENG Jinghui

(Hunan University of Chinese Medicine, Hunan Province 410007)

ABSTRACT **Objective** To explore the genetic characteristics of blood stasis pattern of coronary heart disease (CHD). **Methods** A case-controlled genealogical investigation of genetic epidemiology was used to calculate and analyze the genetic parameters such as separation ratio, heritability, genetic patterns and polygenic inheritance way of 1565 CHD patients with blood stasis pattern in the observation group and 1553 CHD patients without blood stasis pattern in the control group. **Results** The prevalence of CHD with blood stasis pattern of the relatives in the observation group was 5.24%, which was significantly higher than 1.29% in the control group ($P < 0.05$). The segregation ratio of the first-degree relatives in the observation group was 0.1296, which was in line with the characteristics of polygenic disease. The heritability of the first-degree and second-degree relatives in the observation group was 58.04% and 54.80% respectively, with a moderate hereditary. The theoretical incidence of the first-degree and second-degree relatives in the observation group was 8.00% and 6.20% respectively, which was close to 5.89% and 4.13% of the actual incidence. **Conclusion** The blood stasis pattern of CHD has a certain tendency to familial aggregation and its distribution in pedigree meets the polygenic genetic characteristics.

Keywords coronary heart disease; blood stasis pattern; genetic; genealogy; epidemiology

有研究认为, 冠心病血瘀证具有明显的家族聚集倾向^[1-2], 但是否为具有遗传特征的“多基因证”, 尚需结合遗传流行病学进行遗传特征的研究。本研究在前期工作的基础上, 以冠心病血瘀证患者为研究对象, 运用病例对照的遗传流行病学家系调查方法, 分析遗传因素在证候发生中的作用及其遗传特征, 从医学遗传学角度探讨冠心病血瘀证的证候本质。

1 临床资料

1.1 诊断及辨证标准

冠心病诊断参照《内科疾病诊断标准》^{[3]50, 78, 213, 347} 中相关疾病诊断标准制定。冠心病

血瘀证的诊断参照《内科疾病诊断标准》^{[3]893} 及《中医心病诊断疗效标准与用药规范》^[4]。

1.2 纳入标准

家系定义: 本项研究中冠心病血瘀证家系(观察组)定义为先证者的一级亲属[包括父母、同胞(兄弟姐妹)及子女]中至少有 1 人为冠心病血瘀证患者; 冠心病非血瘀证家系(对照组)定义为先证者的一级亲属中至少有 1 人为冠心病非血瘀证患者。

先证者纳入标准: 籍贯为湖南省, 汉族, 年龄 18~75 岁; 由本项研究定点的长沙市内三级甲等医院经选择性冠状动脉造影术判断证实 3 支主要冠状

动脉或其重要分支中至少有 1 处狭窄 50% 以上, 而且符合上述诊断标准者。

家系成员纳入标准: 根据先证者情况, 纳入其符合上述家系标准的一、二级亲属(叔、伯、姑、舅、姨、祖父母、外祖父母)的全体成员。

1.3 一般资料

所有先证者均来源于 2010 年 1 月至 2011 年 1 月湖南中医药大学附属第一医院、湖南省中药研究院内科住院患者以及在湖南省长沙市砂子塘社区、梨子山社区、长沙冶金研究设计院、长沙市离退休所、湖南中医药大学及第一附属医院、湖南省中药研究院等单位进行冠心病血瘀证遗传流行病学调查中符合诊断标准和纳入标准的冠心病患者。

2 方法

2.1 家系采集方法

参照系谱分析法^[5], 在对冠心病血瘀证先证者和冠心病非血瘀证先证者进行调查的基础上, 再根据每位先证者确定其一、二级亲属等家系成员。

对于对照组先证者的筛选, 除严格按照诊断标准和纳入标准之外, 还要依据: ①与观察组先证者同时采集; ②采用 1:1 配对设计; ③与观察组先证者同性别、同民族、同一年龄段(年龄相差不超过 5 岁)、婚姻状况相同; ④采用相同的调查方法。

2.2 流调方法

调查内容: 采用本研究统一编码(coding)调查表格冠心病血瘀证家系调查表, 由经过专门培训的调查员采集并记录, 内容包括: ①先证者情况: 人口学资料、现病史、既往史、家族史、用药史、个人习惯、冠心病诊断年龄及诊断和中医辨证依据、并发症、治疗等。②家系情况: 先证者配偶、一级亲属、二级亲属等相关情况, 并收集三级亲属(表兄妹或堂兄妹)的相关资料。③相关因素: 血压、身高、体重、体重指数(BMI)、腰臀比(WHR)等。④血样采集: 对受试者进行空腹肘静脉采血 8ml, 用于基因芯片研究及其他相关指标检测。

注意事项: 对家系内疑似冠心病患者, 根据患者实际情况进行活动平板、静息或运动状态下放射性核素心肌显象检查, 并由两名以上经验丰富的心血管专科医生独立进行判断以明确或排除冠心病。

2.3 遗传计算^[6]

2.3.1 分离比 采用 Li-Mantel-Cart 法检验实际观察的子代同胞分离比与某特定遗传方式的理论分离比之间的差异是否有统计学意义, 判断冠心病血

瘀证是否符合这种遗传方式。公式如下:

$$\text{分离比 } P = (R - J) / (T - J)$$

$$\text{分离比方差 } S_p^2 = (R - J)(T - R) / (T - J)^3$$

$$\text{标准差 } SE_{(P)} = \sqrt{S_p^2} \quad 95\% \text{ CI } P \pm 1.96 SE_{(P)}$$

式中 T 为同胞总人数; R 为同胞中患病总人数; J 为同胞中只有 1 例患者家庭数。

2.3.2 遗传度 根据 Falconer 多基因易患性阈值模型估算冠心病血瘀证中一、二级亲属的遗传度。

公式为: $h^2 = b/R$

$$\text{其中: } b = P_c(X_c - X_r) / a_c$$

$$\text{标准差 } SE_{(b)}^2 = 1/R \cdot \sqrt{V_b}$$

$$V_b = (p_c/a_c)^2 (p_r/a_r^2 A_r)$$

式中下标 r、c 分别表示先证病例和对照组, R 为亲缘系数, A 为患者亲属中的发病人数, q 为发病率, $P = 1 - q$, X 与 a 为查表^[5]得出。

2.3.3 遗传模式 采用 Penrose's 法估计冠心病血瘀证的遗传模式。根据同胞患病率(s)和一般人群患病率(q)估计某种疾病的遗传方式, 按以下标准判断遗传模式: s/q 接近 1/2q 为单基因显性遗传病, s/q 接近 1/4q 为单基因隐性遗传病, s/q 接近 1/√q 为多基因遗传病。本研究因无一般人群中“冠心病血瘀证”的患病率资料, 参照文献^[7], 以对照组一级亲属患病率来代替一般人群患病率。

2.3.4 多基因遗传方式的确定 应用多阈值模型理论推算公式, 即 $X_r = X_g - rh^2 a_g$ 进行分析。式中: X 为阈值与群体平均值的正态偏差; a 为患者的平均值与群体平均值的正态偏差; 下标 g 为一般群体; 下标 r 为患者亲属; r 为亲缘系数; h^2 为遗传度。

2.4 统计学方法

采用 Excel 建立数据库, 双重录入数据并逻辑检错无误后转换为 SPSS 数据库文件, 应用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行分析。计量资料组间比较采用独立样本 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 基本情况分析

3.1.1 两组家系均衡性比较 观察组冠心病血瘀证先证者 125 例, 男性 68 例, 女性 57 例, 平均年龄分别为 (62.12 ± 6.79) 岁和 (60.65 ± 6.94) 岁; 家系调查总例数为 1565 例, 其中一级亲属 985 例, 家系平均人口数为 (7.85 ± 1.42) 例, 男性 502 例, 女性 483 例, 性别比为 1.04:1; 二级亲属 580 例, 家系平均人口数为 (4.63 ± 1.25) 例, 其中男性 308 例, 女性 272 例, 性别比为 1.13:1。对照组冠心病非血瘀证

表1 两组家系一级、二级亲属患病率比较

亲属	总例数	观察组 患病数	患病率(%)	总例数	对照组 患病数	患病率(%)	χ^2 值	P 值
一级亲属	985	58	5.89	968	9	0.93	33.864	<0.001
父母	165	7	6.67	208	2	0.10	3.994	0.048
同胞	541	44	8.13	487	6	1.23	24.040	<0.001
子女	279	7	1.08	273	1	0.04	4.311	0.039
二级亲属	580	24	4.13	585	11	1.88	4.797	0.021
合计	1565	82	5.24	1553	20	1.29	36.051	<0.001

先证者 125 例,男性 68 例,女性 57 例,平均年龄分别为(60.85±6.71)岁和(61.32±7.22)岁;家系调查总例数为 1553 例,其中一级亲属 968 例,家系平均人口数为(7.74±1.49)例,男性 506 例,女性 462 例,性别比为 1.10:1;二级亲属 585 例,家系平均人口数为(4.67±1.41)例,男性 302 例,女性 283 例,性别比为 1.07:1。两组研究对象家系均衡性比较差异无统计学意义($P>0.05$),表明两组家系具有可比性。

3.1.2 家系中男女性患病率比较 两组家系总计 3118 例一、二级亲属中,男性 1618 例,患病数 59 例,患病率为 3.64%;女性 1500 例,患病数 43 例,患病率 2.87%,家系中男女性患病率比较差异无统计学意义($\chi^2=1.402, P>0.05$)。

3.1.3 两组家系一级、二级亲属患病率比较 表 1 示,观察组亲属冠心病血瘀证的患病率为 5.24%,对照组为 1.29%,两者差异有统计学意义($P<0.01$)。两组一级亲属、二级亲属冠心病血瘀证患病率的比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。观察组一级亲属、二级亲属、对照组亲属的冠心病血瘀证患病率分别为 5.89%、4.13%和 1.29%,呈现观察组一级亲属>观察组二级亲属>对照组亲属的趋势。

3.1.4 两组先证者配偶患病率比较 观察组配偶冠心病血瘀证的患病率为 4.00%(5/125),对照组配偶患病率为 1.60%(2/125),观察组虽略高于对照组,但差异无统计学意义($\chi^2=1.251, P=0.233$)。

3.2 遗传流行病学分析

3.2.1 冠心病血瘀证的分离比分析 表 2 示,在观察组 125 个冠心病血瘀证家系中,同胞总人数为 666 人,其中冠心病血瘀证患者为 169 例,同胞中仅有 1 例的家庭数为 95 户,计算冠心病血瘀证一级亲属分离比 P 为 0.1296,分离比标准差 $SE(P)$ 为 0.0141,95%CI 为 0.1020~0.1572。

3.2.2 冠心病血瘀证的遗传度分析 计算观察组

一级亲属的遗传度为 53.23%~62.76%,观察组二级亲属遗传度为 39.84%~69.76%,两组一、二级亲属遗传度估算具体见表 3。

3.2.3 冠心病血瘀证的遗传模式分析 冠心病血瘀证的遗传模式估算结果见表 4,观察组 s/q 值为 3.47,较接近 $1/\sqrt{q}=8.80$ 。

3.2.4 冠心病血瘀证多基因遗传方式的确认 确定多基因遗传疾病须估计先证者的各级亲属的预期发病率,如表 5 所示。一级亲属遗传方式推算:本研究以一般人群的发病率作为群体发病率,观察组一级亲属遗传度为 0.5804,采用多阈值模型理论推算公式进行预期值推算,结果观察组一级亲属的理论

表2 观察组冠心病血瘀证的分离比估算表

每户同胞 人数	家庭户数 (N)	同胞总人数 (T)	同胞中病例数 (R)	同胞中只有 1 例患者的 家庭户数(J)
1	2	2	2	2
2	1	4	3	1
3	13	39	22	10
4	18	72	23	15
5	34	170	43	26
6	32	192	41	25
7	17	119	23	12
8	5	40	9	1
9	2	18	2	2
10	1	10	1	1
合计	125	666	169	95

表3 两组一、二级亲属遗传度估算表

亲属关系	组别	q(%)	P= (1-q)	X 值	a 值	b 值	$h^2 \pm SE(h)$ (%)
一级亲属	观察组	5.89	0.9411	1.565	1.993	0.290	58.04±4.72
	对照组	0.93	0.9907	2.353	2.690		
二级亲属	观察组	4.13	0.9587	1.739	2.144	0.137	54.80±14.96
	对照组	1.88	0.9812	2.079	2.444		

表4 观察组遗传模式估算表

人群患病率 q(%)	同胞患病率 s(%)	s/q	单基因显性 (1/2q)	单基因隐性 (1/4q)	多基因遗传 (1/√q)
1.29	4.47	3.47	38.76	19.38	8.80

发病率为 8.00%，与实际发病率 5.89% 呈接近，提示冠心病血瘀证在一级亲属中的分布符合多基因遗传的特征。二级亲属遗传方式推算：观察组二级亲属的遗传度为 0.5480，其理论发病率为 6.20%，与实际发病率 4.13% 呈接近趋势，说明冠心病血瘀证在二级亲属中的分布亦符合多基因遗传的特征。

表 5 冠心病血瘀证在一、二级亲属中遗传方式推算

亲属关系	遗传度	理论发病率 (%)	实际发病率 (%)	遗传方式
一级亲属	0.5804	8.00	5.89	多基因遗传
二级亲属	0.5480	6.20	4.13	多基因遗传

4 讨论

父母患有冠心病或高血压病或糖尿病，其子女患相应疾病的危险度增高，对此结论国内外已有研究报道^[8-9]。现阶段在冠心病发病过程中遗传因素的作用尚未完全清楚，大多数学者认为冠心病属于多基因遗传病，其遗传受环境因素影响较大。但冠心病血瘀证是否也存在着这种多基因遗传的模式值得深入研究。本研究采用遗传流行病学中的病例对照研究方法分析了冠心病血瘀证发病的家族聚集倾向。结果显示，观察组的父母、同胞及二级亲属冠心病血瘀证的患病率均明显高于对照组 ($P < 0.05$)；而对与先证者有着相近生活环境的配偶的患病率调查，观察组配偶 (4.0%) 与对照组配偶 (1.6%) 的患病率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，以上研究结果都提示遗传因素影响着冠心病血瘀证的发生。

本研究通过计算分离比分析了冠心病血瘀证的遗传方式，结果显示观察组一级亲属分离比为 0.1296，明显低于孟德尔单基因遗传病的分离比 (0.25)，符合多基因遗传病的特点^[10]。而应用 Penrose's 法对冠心病血瘀证遗传模式的估计也显示出冠心病血瘀证为多基因遗传的病证，这与分离分析结果一致。因此可以考虑，冠心病血瘀证的发生可能是由于多个微效基因长期暴露在某些环境因素中所产生的共同效应，而并非是单一基因作用的结果。在观察组与对照组亲属患病率的分析中，观察组一级亲属患病率高于二级亲属，同时观察组一、二亲属患病率高于对照组，这也表明冠心病血瘀证具有一定的家族聚集的倾向。

多基因遗传的疾病受到遗传和环境的双重影响，因此遗传流行病学分析常用遗传度的大小表示遗传因素所起作用。在估算多基因遗传疾病的方法中，目前公认的是以 Falconer 阈值理论来计算遗传度，遗传度越高，表明遗传因素在疾病发生中越重

要。本项研究估算得到的冠心病血瘀证一级亲属遗传度为 58.04%，二级亲属遗传度为 54.80%，两者都低于 60%，均属中度遗传。当然，本研究中估算的遗传度并不能完全除去环境因素的影响，因此还需进一步研究，以期更准确地阐释冠心病血瘀证遗传因素与环境因素之间的相互关系。

有学者认为，证实并阐明血瘀证的遗传特征，寻找血瘀证的易感基因，阐明其血液高凝状态的遗传机制，不仅能加深对血瘀证发生机理的理解，也为从医学遗传学角度探讨中医证候本质提供一条新的研究思路^[11]。本研究对冠心病血瘀证的多基因遗传方式的确认采用阈值模型理论推算预期值，当一级亲属遗传度为 0.5804 时，其一级亲属的理论发病率为 8.00%，与实际发病率 5.89% 呈接近趋势；当冠心病血瘀证病二级亲属的遗传度为 0.5480 时，其理论发病率为 6.20%，与实际发病率 4.13% 呈接近趋势，表明冠心病血瘀证在一级、二级亲属中的分布均符合多基因遗传的特征。本项研究结果从遗传流行病学的角度提示了冠心病血瘀证的遗传特征。

参考文献

- [1] 袁肇凯, 黄献平, 毛以林, 等. 心血瘀阻证遗传倾向的调查分析[J]. 湖南中医学院学报, 2003, 23(3): 54-56.
- [2] 马晓娟, 殷惠军, 陈可冀, 等. 血瘀证患者差异基因表达谱研究[J]. 中西医结合学报, 2008, 6(4): 355-360.
- [3] 贝政平. 内科疾病诊断标准[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [4] 沈绍功, 王承德, 闫希军. 中医心病诊断疗效标准与用药规范[M]. 北京: 北京出版社, 2002: 179.
- [5] 金帆. 医学遗传学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2005: 108-109.
- [6] 江三多. 医学遗传数理统计方法[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 54-144.
- [7] 杨智, 邹勇莉, 涂颖, 等. 348 例痤疮遗传因素分析[J]. 中华皮肤科杂志, 2007, 40(6): 368-370.
- [8] 顾东风. 常见复杂性疾病的遗传学和遗传流行病学研究: 挑战和对策[J]. 中国医学科学院学报, 2006, 28(2): 115-118.
- [9] 李炜弘, 严石林, 丁维俊, 等. 冠心病血瘀证家族史背景与疗效相关性初探[J]. 四川医学, 2006, 27(11): 1106-1107.
- [10] Sundquist K, Li X, Hemminki K. Familial risk of ischemic and hemorrhagic stroke: A large-scale study of the Swedish population[J]. Stroke, 2006, 37(7): 1668-1673.
- [11] 王庆国. 以血瘀证为切入点进行中医证候规范及其生物学基础研究[J]. 江西中医学院学报, 2004, 16(5): 5-10.

(收稿日期: 2012-11-20; 修回日期: 2013-02-04)

[编辑: 崔京艳]