

## • 基础研究 •

成纤维细胞生长因子 1 基因启动子多态性与  
晚发型阿尔茨海默病的相关性研究陈煜森<sup>1</sup>, 赵斌<sup>1</sup>, 许志恩<sup>1</sup>, 山巢英久<sup>2</sup>, 三木哲郎<sup>2</sup>

[摘要] 目的 探讨成纤维细胞生长因子 1 (FGF-1) 基因启动子多态性是否与晚发型阿尔茨海默病 (LOAD) 相关。方法 收集 206 例尸体检查的样本, 包括 100 例 LOAD 和年龄匹配的对照组 106 例。PCR-RFLP (Restriction fragment length polymorphism) 法分析 FGF-1 基因启动子 (-1385 A/G) 的基因型。结果 FGF-1 基因启动子 (-1385 A/G) 的基因型频率分布是: AA 型 20 例 (10%), GA 型 89 例 (43%), GG 型 97 例 (47%), 在 LOAD 组和对照组之间, 不同基因型频率分布有显著性差异 ( $P=0.027$ ); GG 基因型与 LOAD 呈正相关 (odds ratio = 2.02, 95%CI: 1.16 ~ 3.52)。结论 FGF-1 基因启动子 (-1385 A/G) 多态性与 LOAD 显著相关。

[关键词] 晚发型阿尔茨海默病 (LOAD); 成纤维细胞生长因子 1 (FGF-1) 基因; 启动子多态性; 相关性

**Correlation between the Promoter Polymorphism of Fibroblast Growth Factor 1 gene and Late onset Alzheimer's Disease** CHEN Yusen, ZHAO Bin, XU Zhi-en, et al. Department of Neurology, The Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524001, Guangdong, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the correlation between the promoter polymorphism of Fibroblast Growth Factor 1 (FGF-1) and late-onset Alzheimer's disease (LOAD). **Methods** Clinic pathological data from 206 autopsies were analyzed, including 100 autopsy-confirmed LOAD patients and 106 age-matched non-demented controls. PCR-RFLP (Restriction fragment length polymorphism) approach was used to determine the genotype of the promoter polymorphism of FGF-1 gene. **Results** The genotyping frequencies of the promoter polymorphism (-1385 A/G) were AA 20 (10%), GA 89 (43%), GG 97 (47%), respectively. There was significant ( $P=0.027$ ) difference of genotyping frequencies between the cases and controls; GG genotype was positively associated with LOAD (odds ratio = 2.02, 95%CI: 1.16 ~ 3.52). **Conclusion** The promoter polymorphism (-1385 A/G) of FGF-1 gene was associated with LOAD.

[Key words] late-onset Alzheimer's disease; fibroblast growth factor 1 (FGF-1) gene; promoter polymorphism; correlation

中图分类号: R742 文献标识码: A 文章编号: 1006-9771(2006)05-0394-02

[本文著录格式] 陈煜森, 赵斌, 许志恩, 等. 成纤维细胞生长因子 1 基因启动子多态性与晚发型阿尔茨海默病的相关性研究 [J]. 中国康复理论与实践, 2006, 12(5): 394-395.

在老年人中, 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是引起痴呆的最常见原因, 晚发性阿尔茨海默病 (late-onset AD, LOAD) 一般是指 65 岁以上发病的 AD。研究表明, 环境因素和遗传因素都对 AD 的发病有影响。但至今 AD 的确切的病因还不清楚, 亦没有理想的治疗方法<sup>[1]</sup>。因此, 对 AD 的病因进行深入研究对制定预防或干预 AD 的策略具有重要的意义。成纤维细胞生长因子 1 (Fibroblast growth factor 1, FGF-1) 亦称为酸性成纤维细胞生长因子, 它是成纤维细胞生长因子家族成员之一, 具有促进有丝分裂和细胞生存的活性, 并参与胚胎发生和器官形成等多种生物学过程<sup>[2]</sup>。研究表明, 在 AD 或人体免疫缺陷病毒 (HIV) 脑炎的过程中, FGF-1 对神经元有选择性保护作用<sup>[3-5]</sup>。在 AD 尸体脑组织的免疫组织化学检查中发现, FGF-1 特异性地表达在老年斑周围的反应性星形胶质细胞亚群中。FGF-1 的表达上调可能与反应性星形细胞的出现有关, 而不是  $\beta$ -淀粉样蛋白的沉积<sup>[6-7]</sup>。最近的研究提示, 在反应性星形细胞中, FGF-1 上调载脂蛋白 E (ApoE) 的合成, 随后使高密度

脂蛋白 (HDL) 的生成增加; 在中枢神经系统受损后, 通过 ApoE 的分泌来发挥其效应<sup>[8-9]</sup>。FGF-1 在海马中的表达比在运动神经元中的表达低, 提示在 AD 中, 内嗅皮质神经元容易受损与 FGF-1 有关, 并且 FGF-1 免疫活性改变的方式可能在 AD 的患病过程中起重要的作用<sup>[4, 10]</sup>。

## 1 资料和方法

**1.1 研究对象** 本研究经日本爱媛大学医学部伦理委员会同意, 脑或血样本来自于日本关西地区, 并有书面同意书。LOAD 病例选择符合美国国立神经病、语言机能紊乱和卒中研究所及阿尔茨海默病和相关疾病协会 (NINCDS-ADRDA) 诊断标准 (确诊标准) 100 例, 对照组选择年龄及性别匹配的门诊健康老年人或健康自愿者 106 人, 并经简易智力检查 (Mini Mental State Examination, MMSE) 评分对智能进行严格的评估<sup>[12-13]</sup>。LOAD 平均发病年龄为 (75.2 ± 7.0) 岁, 入组时的平均年龄 (85.3 ± 6.0) 岁; 对照组平均年龄 (83.0 ± 4.9) 岁。病例组和对组的其他资料参见我们先前的报道<sup>[13-14]</sup>。

## 1.2 方法

**1.2.1 基因组 DNA 的提取** 按酚-氯仿法提取脑组织或外周血白细胞基因组 DNA<sup>[15]</sup>。

**1.2.2 FGF-1 基因的 PCR-RFLP 分析** FGF-1 基因

作者单位: 1. 广东医学院附属医院神经内科, 广东湛江市 524001; 2. 爱媛大学医学部老年医学, 日本爱媛县 791-0295。作者简介: 陈煜森 (1966-), 男, 广东廉江市人, 博士, 副教授, 主要研究方向: 脑血管病、痴呆。

引物序列如下:上游为 5'-TCAAGCAATTCTCCTGC-CTT-3',下游为引物 5'-CCACTTCAAGGGATTATGGTG-3'。PCR 反应体积 25  $\mu$ l,含有模板 DNA 50 ~ 100 ng、dNTP 0.2 mmol/L、上下游引物各 5 mmol/L、KCl 50 mmol/L、MgCl<sub>2</sub> 1.5 mmol/L、Tris-HCl 10 mmol/L, pH=8.3、TaqDNA 聚合酶 0.5 U。PCR 反应条件:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,然后按 95  $^{\circ}$ C 30 s、60  $^{\circ}$ C 30 s、72  $^{\circ}$ C 1 min,35 个循环。PCR 扩增产物长度为 355 bp。PCR 产物 HhaI 酶切后,于 2%琼脂糖凝胶电泳分离,EB 染色观察结果。G 等位基因酶切后产物为 53+141+161 bp,A 等位基因酶切产物为 53+302 bp。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 11.0 统计软件进行  $\chi^2$  检验(Chi-square test);相对危险度(relative risk ratio, RR)和相对应的 95%可信度(confidence interval, CI)采用 Mantel-Haenszel 统计方法计算。

2 结果

FGF-1 基因启动子(-1385 A/G)的基因型频率分布是:AA 型 20 例(10%),GA 型 89 例(43%),GG 型 97 例(47%),经 Pearson  $\chi^2$  检验,符合 Hardy-Weinberg 平衡规律( $P>0.05$ )。3 种基因型(AA、GA、GG)在病例组和对照组中的频率分布有显著性差异( $P=0.027$ );基因型 GG 与 AA+GA 在两组之间频率分布有显著性差异( $P=0.013$ ),G 等位基因在病例组和对照组中的频率分别是 75%和 63%,有显著性差异( $P=0.0073$ )。见表 1。GG 基因型与 LOAD 呈正相关(odds ratio=2.02,95%CI:1.16~3.52)。

表 1 FGF-1 基因启动子(-1385 A/G)基因型和等位基因频率分布

组别	n	AA	GA	GG	AA+GA	G	A
病例组	100	6	38	56 <sup>a</sup>	44 <sup>b</sup>	150	50 <sup>c</sup>
对照组	106	14	51	41	65	133	79

注:a: $P=0.027$ ;b: $P=0.013$ ;c: $P=0.0073$ 。

3 讨论

最近的研究提示,FGF-1 基因多态性与颅内动脉瘤相关<sup>[16]</sup>,但是其在病理生理学上的功能还不清楚。FGF-1 基因 5'-端包含有选择性非翻译性外显子,至少有 4 种启动子组织特异性的方式调控其转录<sup>[17-19]</sup>。Payson 等报道,从 -1614 至 FGF-1 基因起始位置的序列就足以刺激启动子的活性<sup>[18]</sup>。因此,我们有理由认为,FGF-1 基因启动子 -1385 G/A 多态性与启动子的活性有关。我们的初步研究提示,FGF-1 基因或其附近的基因是 LOAD 的危险因子。相关性研究通常出现相互矛盾的结果,其可能原因有 3 种:①I 类统计学误差,这种情况可出现基因多态性与疾病呈弱相关。②遗传背景不同,如美国、法国、亚洲人等人群之间的差异。在一些研究中,AD 组是由家族性和散发性 AD 所组成,本研究为了尽量做到研究对象的均一性,选择的 LOAD 组是经脑的病理检查证实的。③致病多态

性呈连锁不平衡状态。

本研究的结果是 GG 基因型比 A 等位基因患病风险高,提示启动子 GG 基因型可能对 FGF-1 的表达有影响,并且可能与 AD 神经元选择性的脆弱性有关。研究结果支持这样假设:FGF-1 基因使 AD 患者内嗅皮质神经元选择性产生脆弱性,FGF-1 免疫反应性发生改变,这种改变可能在 AD 的病理生理的过程中产生重要的作用<sup>[10-12]</sup>。这种假设需要进一步研究证实,如 FGF-1 基因的功能分析等。

[参考文献]

[1]Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy[J]. Physiol Rev,2001,81:741-766.

[2]Eckenstein FP. Fibroblast growth factors in the nervous system[J]. J Neurobiol,1994,25:1467-1480.

[3]Guo Z, Mattson M. Neurotrophic factors protect cortical synaptic terminals against amyloid and oxidative stress-induced impairment of glucose transport, glutamate transport and mitochondrial function[J]. Cereb Cortex,2000,10:50-57.

[4]Thorns V, Masliah E. Evidence for neuroprotective effects of acidic fibroblast growth factor in Alzheimer disease[J]. J Neuropathol Exp Neurol,1999,58:296-306.

[5]Everall IP, Trillo-Pazos G, Bell C,et al. Amelioration of neurotoxic effects of HIV envelope protein gp120 by fibroblast growth factor: a strategy for neuroprotection[J]. J Neuropathol Exp Neurol,2001,60:293-301.

[6]Tooyama I, Akiyama H, McGeer PL,et al. Acidic fibroblast growth factor-like immunoreactivity in brain of Alzheimer patients[J]. Neurosci Lett,1991,121:155-158.

[7]Kimura H, Tooyama I, McGeer PL,et al. Acidic FGF expression in the surroundings of senile plaques[J]. Tohoku J Exp Med,1994,174:279-293.

[8]Ueno S, Ito J, Nagayasu Y,et al. An acidic fibroblast growth factor-like factor secreted into the brain cell culture medium upregulates APOE synthesis, HDL secretion and cholesterol metabolism in rat astrocytes[J]. Biochim Biophys Acta,2002,1589:261-272.

[9]Tada T, Ito J, Asai M,et al. Fibroblast growth factor 1 is produced prior to apolipoprotein E in the astrocytes after cryo-injury of mouse brain[J]. Neurochem Int,2004,45:23-30.

[10]Thorns V, Licastro F, Masliah E,et al. Locally reduced levels of acidic FGF lead to decreased expression of 28-kDa calbindin and contribute to the selective vulnerability of the neurons in the entorhinal cortex in Alzheimer's disease[J]. Neuropathology,2001,21:203-211.

[11]McKhann G, Drachman D, Folstein M,et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease[J]. Neurology,1984,34:939-944.

[12]Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR,et al. Mini-mental state, a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician[J]. J Psychiatr Res,1975,12:189-198.

[13]Akatsu H, Takahashi M, Matsukawa N,et al. Subtype analysis of neuropathologically diagnosed patients in a Japanese geriatric hospital[J]. J Neurol Sci,2002,196:63-69.

[14]Matsubara M, Yamagata H, Kamino K,et al. Genetic association between Alzheimer disease and the alpha-synuclein gene[J]. Dement Geriatr Cogn Disord,2001,12:106-109.

[15]Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T,et al. Molecular Cloning: A Laboratory Manual[M]. 2 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989:9-14.

[16]Yoneyama T, Kasuya H, Onda H, et al. Association of positional and functional candidate genes FGF1, FBN2, and LOX on 5q31 with intracranial aneurysms[J]. J Hum Genet,2003,48:309-314.

[17]Myers RL, Payson RA, Chotani MA,et al. Gene structure and differential expression of acidic fibroblast growth factor mRNA: identification and distribution of four different transcripts[J]. Oncogene, 1993,8:341-349.

[18]Payson RA, Chotani MA, Chiu IM,et al. Regulation of a promoter of the fibroblast growth factor 1 gene in prostate and breast cancer cells[J]. J Steroid Biochem Mol Biol,1998,66:93-103.

[19]Chiu IM, Touhalisky K, Baran C, et al. Multiple controlling mechanisms of FGF-1 gene expression through multiple tissue-specific promoters[J]. Prog Nucleic Acid Res Mol Biol,2001,70:155-174.