

· 论 著 ·

糖皮质激素受体基因多态性与脓毒症临床转归的相关性研究

刘 瑜,方 放,黄 方

[摘要] 目的 探讨华东汉族人群糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR) 基因多态性与脓毒症临床转归的相关性。方法 共募集脓毒症患者 194 例。以连接酶检测反应 (ligase detection reaction, LDR) 技术对 GR 基因中的 15 个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点进行基因分型。非条件 Logistic 回归,校正年龄、性别、吸烟、饮酒、APACHE II 评分后,在不同遗传模式下分析各基因型与脓毒症临床转归 (器官功能障碍、休克、死亡) 的相关性。结果 rs9324924 GT/TT 携带者与 GG 携带者相比较,可能降低重度器官功能障碍风险 (OR [95%CI] = 0.39 [0.16~0.99],  $P=0.047$ ); rs4912905 CG/CC 携带者与 GG 携带者相比较,发生重度器官功能障碍风险增加 (OR [95%CI] = 2.53 (0.99~6.50),  $P=0.047$ ); rs9324921 CA/AA 携带者与发生脓毒性休克的风险是 CC 携带者的 2.47 倍 (OR [95%CI] = 2.47 (1.04~5.84),  $P=0.038$ )。未发现与脓毒症死亡相关的位点。结论 GR 基因单核苷酸多态性可能与华东汉族人群脓毒症后器官功能障碍和休克发生相关。

[关键词] 脓毒症;糖皮质激素受体;单核苷酸多态性;临床转归

[中图分类号] R631.2 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2015.06.005

Association of polymorphisms in glucocorticoid receptor with outcome of sepsis in a Chinese Han population

LIU Yu, FANG Fang, HUANG Fang. Department of Geriatrics, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Geriatric Research Center of Nanjing Military Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China

[Abstract] Objective To explore the association of glucocorticoid receptor (GR) gene polymorphisms with outcome of sepsis in Eastern China population. Methods Total of 15 single nucleotide polymorphisms (SNPs) were classified by genotype in 194 septic patients using LDR technology. Unconditioned logistic regression analysis was used to explore the association of GR gene polymorphisms with outcome (organ dysfunction/shock/death) of sepsis after adjusting for age, sex, smoking and drinking status and APACHE II score. Results Compared with GG genotype, the rs9324924GT/TT reduced severity of organ dysfunction with OR value of 0.39(95% CI: 0.16-0.99,  $P=0.047$ ). The rs4912905 CG/CC genotype increased the risk of severe organ dysfunction compare with GG genotype (OR[95%CI] = 2.47[1.04-5.84],  $P=0.038$ ). The CA/AA genotype of rs9324921 polymorphism were significantly overrepresented among septic shock patients compared with controls (OR [95%CI] = 2.47[1.04-5.84],  $P=0.038$ ). However, there were no associations between polymorphisms of GR gene and death of sepsis. Conclusion Genetic polymorphisms in GR gene are thought to associate with severity of organ failure and shock after sepsis.

[Key words] sepsis; glucocorticoid receptor; single nucleotide polymorphism; clinical outcome

脓毒症为感染引起的全身炎症反应综合征,其发病机制目前尚未阐明。已有研究表明,遗传因素在脓毒症及其他多种疾病的发生及多样化的临床转归中发挥重要作用<sup>[1-3]</sup>。了解脓毒症发生的遗传因素,有助于对危重患者早期诊断并施行个体化治疗,提高脓毒症患者存活率。糖皮质激素受体 (GR) 属于核受体超家族成员,其本质是配体调控的核转录因子。GR 与糖皮质激素 (glucocorticoid, GC) 结合后,通过多种机制抑制炎症细胞因子的转录和表达,从而调节炎症反应过程<sup>[4-7]</sup>。GR 遗传变异可能影

响 GR 的功能,影响其对炎症反应的调节能力。携带相关变异型的患者易产生过度炎症反应,表现为对脓毒症易感或预后不良。本研究以 GR 基因为候选基因,分析中国华东汉族人群中 GR 基因单核苷酸多态性 (nucleotide polymorphism, SNP) 与脓毒症临床转归的相关性,为危重脓毒症患者早期诊疗提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象 自 2014 年 2 月-2015 年 2 月,连续收集南京军区南京总医院呼吸科收治的由肺部感染导致的脓毒症患者 194 例。诊断标准参照 2001 年美国胸科医师学会和危重病医学会制定的脓毒症诊断和分级标准。患者的入选标准为:①年龄 ≥ 14

基金项目:南京军区南京总医院院管课题(2014068)  
作者单位:210002 江苏南京,南京军区南京总医院干部二科,南京军区老年病研究中心  
通讯作者:黄 方,E-mail:88100224@qq.com

周岁;②汉族,籍贯为中国华东地区(江苏、浙江、安徽、上海),相互间无生物学亲缘关系;③脓毒症诊断明确,且原发感染灶为肺部;④病史资料和临床实验室检查和辅助检查结果齐全。排除标准:①入院后 24 h 内死亡;②具有其他特殊疾病,如获得性免疫缺陷综合征、恶性肿瘤、自身免疫性疾病、器官移植后等;③曾摄入或应用过对炎症过程有调节作用的细胞因子,如 TNF- $\alpha$ 抗体、INF- $\gamma$ 等;④接受免疫抑制剂和激素治疗;⑤孕妇。采用调查表收集患者的社会人口学资料、既往史、吸烟、饮酒史、实验室检查和辅助检查资料及脓毒症诊断基本指标、诊断脓毒症后 24 h 内急性生理和慢性健康评分系统(acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)评分,住院期间多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)最高评分(参照 Marshall MODS 评分系统)、临床转归(器官功能障碍、休克、死亡)。所有入选病例抽取静脉血 3 mL,枸橼酸钠抗凝,-80  $^{\circ}$ C 保存备用。所有受试者均签署知情同意书。本研究经南京军区南京总医院伦理委员会的审核通过。

1.2 方法

1.2.1 SNP 位点的选择 在 Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)上查阅已发表的有关 GR 基因多态性与疾病相关性研究的文献,找到常见的 SNP 位点。查阅 NCBI 的 dbSNP 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>),找到位于基因功能区(外显子、3'及 5'非翻译区)的 SNP 位点。从 HapMap 数据库(<http://www.hapmap.org>)中选择北京汉族人群样本,以  $r^2>0.8$ ,作为条件,得到标签 SNP(Tag SNP)。以上得到的 SNP 位点且在中国人群中次要等位基因频率(minor allele frequency, MAF)大于 10%者为入选,最终选取 15 个 SNP 进行研究(表 1)。

1.2.2 基因分型 采用德国 QIAGEN<sup>TM</sup>试剂盒提取外周静脉血 DNA。基因分型采用上海天昊生物科技有限公司改良的连接酶检测反应(LDR)分型方法。根据 dbSNP 数据库提供的基因组序列自行设计引物。PCR 过程中设置阴性对照。实验结束后随机双盲选取 20 个标本进行重复性检验,重复率达 100%。

1.3 统计学处理 使用 SPSS 软件(19.0 版本, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)进行统计学分析。计数每个 SNP 位点的基因型频率,进行 goodness-of-fit  $\chi^2$ 检验,判断是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。连续变量的差异采用独立样本的  $t$  检验,分类变量采用

表 1 糖皮质激素受体基因 SNP 位点信息

| SNP ID     | 位置      | 等位基因  | HWE( $P$ 值) |
|------------|---------|-------|-------------|
| rs7701443  | 内含子 1   | A < G | 0.16        |
| rs4912911  | 内含子 1   | G < A | 0.66        |
| rs61757411 | 5'-非翻译区 | T < G | 0.83        |
| rs2963155  | 内含子 3   | G < A | 0.55        |
| rs10052957 | 内含子 1   | A < G | 0.75        |
| rs9324924  | 内含子 1   | T < G | 0.77        |
| rs6191     | 3'-非翻译区 | A < C | 0.51        |
| rs6865292  | 内含子 1   | C < T | 0.30        |
| rs4912905  | 内含子 3   | C < G | 1.00        |
| rs41423247 | 内含子 3   | C < G | 0.64        |
| rs9324921  | 内含子 3   | A < C | 0.16        |
| rs6198     | 3'-非翻译区 | G < A | 1.000       |
| rs4607376  | 内含子 1   | A < G | 0.0013      |
| rs12656106 | 内含子 1   | C < G | 0.14        |
| rs852980   | 内含子 3   | G < C | 0.51        |

$\chi^2$ 检验。根据临床转归将脓毒症病例进行分组:①轻度器官功能障碍(MODS 评分 0~8 分)和重度器官功能障碍组(MODS 评分 9~18 分);②脓毒症休克和非休克组;③死亡和存活组。采用非条件 Logistic 回归模型校正年龄、性别、体重指数(body mass index, BMI)、吸烟、饮酒、慢性病状态、APACHE II 评分等,在不同的遗传模式下分析各位点基因型频率与脓毒症临床转归的关系,计算  $P$  值、比值比(odds ratio, OR)和 95%置信区间(confidential interval, CI)。所有统计均为双侧检验, $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 研究对象 共纳入 194 名脓毒症患者(表 2),原发感染灶均为肺部,年龄 16~95 (61.90 $\pm$ 18.47)岁,男性比例较高(63.92%)。痰培养以革兰阴性菌(28.87%)和混合性感染(29.90%)多见,最常见的感染细菌为铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌。革兰阳性菌感染(4.12%)中最常见的为金黄色葡萄球菌。单纯真菌感染 12 例(6.19%),其中曲霉菌感染 4 例。住院期间并发重度器官功能障碍 41 例(21.13%)、脓毒性休克 51 例(26.29%),死亡 57 例(29.38%)。每两组之间的社会人口学资料和临床特征比较见表 3~5。

2.2 GR 基因多态性与脓毒症临床转归的相关性 除 rs4607376 外,其他位点的频率分布在本组病例中均符合 Hardy-Weinberg 平衡。rs6198 在本研究脓毒症病例中未检测出突变型,故 rs4607376 和

表 2 脓毒症患者临床特征

| 项目                                       | 结果            |
|--|---------------|
| 脓毒症[ <i>n</i> (%) ]                      | 194           |
| 男  | 124( 63. 92)  |
| 女  | 70( 36. 08)   |
| 年龄( 岁, $\bar{x}\pm s$ )                  | 61. 90±18. 47 |
| 男  | 60. 44±19. 17 |
| 女  | 64. 50±16. 98 |
| BMI(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x}\pm s$ ) | 23. 10±4. 46  |
| 吸烟[ <i>n</i> (%) ]                       | 66( 34. 02)   |
| 饮酒[ <i>n</i> (%) ]                       | 24( 12. 37)   |
| 致病微生物[ <i>n</i> (%) ]                    |               |
| 革兰阴性菌                                    | 56( 28. 87)   |
| 革兰阳性菌                                    | 8( 4. 12)     |
| 真菌                                       | 12( 6. 19)    |
| 混合性                                      | 58( 29. 90)   |
| 无  | 60( 30. 93)   |
| APACHE II 评分                             | 17. 22±7. 97  |
| MODS 评分                                  | 4. 69±4. 20   |
| 临床转归[ <i>n</i> (%) ]                     |               |
| 重度器官功能障碍                                 | 41( 21. 13)   |
| 脓毒性休克                                    | 51( 26. 29)   |
| 死亡                                       | 57( 29. 38)   |

表 3 轻度和重度器官功能障碍患者临床特征比较

| 项目                                       | 轻度器官<br>功能障碍<br>( <i>n</i> = 153) | 重度器官<br>功能障碍<br>( <i>n</i> = 41) | <i>P</i> 值 |
|--|-----------------------------------|----------------------------------|------------|
| 年龄( 岁, $\bar{x}\pm s$ )                  | 61. 18±18. 39                     | 64. 61±18. 74                    | 0. 29      |
| 性别[ <i>n</i> (%) ]                       |                                   |                                  | 0. 77      |
| 男  | 97( 63. 40)                       | 27( 65. 85)                      |            |
| 女  | 56( 36. 60)                       | 14( 34. 15)                      |            |
| BMI(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x}\pm s$ ) | 23. 23±4. 13                      | 22. 64±5. 55                     | 0. 46      |
| 吸烟[ <i>n</i> (%) ]                       | 52( 33. 99)                       | 14( 34. 15)                      | 0. 78      |
| 饮酒[ <i>n</i> (%) ]                       | 17( 11. 11)                       | 7( 17. 07)                       | 0. 79      |
| APACHE II 评分                             | 14. 87±6. 17                      | 25. 98±7. 86                     | <0. 001    |
| MODS 评分                                  | 2. 95±2. 64                       | 11. 15±1. 87                     | <0. 001    |
| 高血压病[ <i>n</i> (%) ]                     | 59( 38. 56)                       | 20( 48. 78)                      | 0. 24      |
| 冠心病[ <i>n</i> (%) ]                      | 23( 15. 03)                       | 9( 21. 95)                       | 0. 29      |
| 2 型糖尿病[ <i>n</i> (%) ]                   | 41( 26. 80)                       | 10( 24. 39)                      | 0. 76      |
| 高脂血症[ <i>n</i> (%) ]                     | 7( 4. 58)                         | 4( 9. 76)                        | 0. 25      |
| COPD[ <i>n</i> (%) ]                     | 13( 8. 50)                        | 4( 9. 76)                        | 0. 76      |
| 脓毒性休克[ <i>n</i> (%) ]                    | 18( 11. 76)                       | 33( 80. 49)                      | <0. 001    |
| 死亡[ <i>n</i> (%) ]                       | 21( 13. 73)                       | 36( 87. 80)                      | <0. 001    |

rs6198 两个位点未纳入统计分析。校正年龄、性别、吸烟、饮酒、APACHE II 评分后,非条件 Logistic 回

表 4 休克与非休克患者临床特征比较

| 项目                                       | 非休克<br>( <i>n</i> = 143) | 休克<br>( <i>n</i> = 51) | <i>P</i> 值 |
|--|--------------------------|------------------------|------------|
| 年龄( 岁, $\bar{x}\pm s$ )                  | 59. 89±18. 05            | 68. 16±18. 03          | 0. 006     |
| 性别( <i>N</i> , %)                        |                          |                        | 0. 18      |
| 男  | 88( 61. 54)              | 36( 70. 59%)           |            |
| 女  | 55( 38. 46)              | 15( 29. 41%)           |            |
| BMI(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x}\pm s$ ) | 23. 44±4. 10             | 22. 61±4. 27           | 0. 22      |
| 吸烟[ <i>n</i> (%) ]                       | 51( 35. 66)              | 15( 29. 41)            | 0. 18      |
| 饮酒[ <i>n</i> (%) ]                       | 17( 11. 89)              | 7( 13. 73)             | 0. 55      |
| APACHE II 评分                             | 14. 17±5. 97             | 26. 04±5. 72           | <0. 001    |
| MODS 评分                                  | 2. 83±2. 81              | 9. 75±2. 99            | <0. 001    |
| 高血压病[ <i>n</i> (%) ]                     | 54( 37. 76)              | 25( 49. 02)            | 0. 12      |
| 冠心病[ <i>n</i> (%) ]                      | 25( 17. 48)              | 7( 13. 73)             | 0. 35      |
| 2 型糖尿病[ <i>n</i> (%) ]                   | 36( 25. 17)              | 15( 29. 41)            | 0. 72      |
| 高脂血症[ <i>n</i> (%) ]                     | 7( 4. 90)                | 4( 7. 84)              | 0. 32      |
| COPD[ <i>n</i> (%) ]                     | 12( 8. 39)               | 5( 9. 80)              | 0. 48      |
| 重度器官功能障碍[ <i>n</i> (%) ]                 | 7( 4. 90)                | 34( 66. 67)            | <0. 001    |
| 死亡[ <i>n</i> (%) ]                       | 14( 9. 79)               | 43( 84. 31)            | <0. 001    |

表 5 存活与死亡患者临床特征比较

| 项目                                       | 存活<br>( <i>n</i> = 137) | 死亡<br>( <i>n</i> = 57) | <i>P</i> 值 |
|--|-------------------------|------------------------|------------|
| 年龄( 岁, $\bar{x}\pm s$ )                  | 59. 25±18. 52           | 68. 91±16. 39          | 0. 001     |
| 性别[ <i>n</i> (%) ]                       |                         |                        | 0. 28      |
| 男  | 84( 61. 31)             | 40( 70. 18)            |            |
| 女  | 53( 38. 69)             | 17( 29. 82)            |            |
| BMI(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x}\pm s$ ) | 23. 41±4. 06            | 22. 78±4. 41           | 0. 34      |
| 吸烟[ <i>n</i> (%) ]                       | 48( 35. 04)             | 18( 31. 58)            | 0. 19      |
| 饮酒[ <i>n</i> (%) ]                       | 13( 9. 49)              | 11( 19. 30)            | 0. 17      |
| APACHE II 评分                             | 13. 79±5. 59            | 25. 68±6. 13           | <0. 001    |
| MODS 评分                                  | 2. 63±2. 80             | 9. 51±2. 69            | <0. 001    |
| 高血压病[ <i>n</i> (%) ]                     | 55( 40. 15)             | 24( 42. 11)            | 0. 51      |
| 冠心病[ <i>n</i> (%) ]                      | 22( 16. 06)             | 10( 17. 54)            | 0. 50      |
| 2 型糖尿病[ <i>n</i> (%) ]                   | 32( 23. 36)             | 19( 33. 33)            | 0. 57      |
| 高脂血症[ <i>n</i> (%) ]                     | 7( 5. 11)               | 4( 7. 02)              | 0. 43      |
| COPD[ <i>n</i> (%) ]                     | 12( 8. 76)              | 5( 8. 77)              | 0. 61      |
| 重度器官功能障碍[ <i>n</i> (%) ]                 | 4( 2. 92)               | 37( 64. 91)            | <0. 001    |
| 脓毒性休克[ <i>n</i> (%) ]                    | 8( 5. 84)               | 43( 75. 44)            | <0. 001    |

归分析显示,rs9324924 与脓毒症器官功能障碍相关,GT/TT 基因型较 GG 能够降低重度器官功能障碍风险( OR [ 95% CI ] = 0. 39 [ 0. 16 ~ 0. 99 ], *P* = 0. 047 );rs4912905 CG/CC 基因型较 GG 发生重度器官功能障碍风险增加 1. 53 倍( OR [ 95% CI ] = 2. 53 ( 0. 99 ~ 6. 50 ), *P* = 0. 047 )( 表 6)。rs9324921 CA/AA 基因型发生脓毒性休克的风险是 CC 的 2. 47 倍( OR [ 95% CI ] = 2. 47 ( 1. 04 ~ 5. 84 ), *P* = 0. 038 )( 表 7)。在本研究中,未发现位点与脓毒症死亡有关。



表 6 糖皮质激素受体基因多态性  
与脓毒症器官功能障碍的相关性[ n( % ) ]

| SNP       | 轻度<br>(n=153) | 重度<br>(n=41) | P 值   | OR(95%CI)        |
|-----------|---------------|--------------|-------|------------------|
| rs9324924 |               |              |       |                  |
| GG        | 38(24.84)     | 16(39.02)    |       | 1.00             |
| GT        | 82(53.59)     | 17(41.46)    | 0.09  | 0.41(0.15~1.09)  |
| TT        | 33(21.57)     | 8(19.51)     | 0.13  | 0.36(0.10~1.26)  |
| GT/TT     | 115(75.16)    | 25(60.98)    | 0.047 | 0.39(0.16~0.99)  |
| GG/GT     | 120(78.43)    | 33(80.49)    |       | 1.00             |
| TT        | 33(21.57)     | 8(19.51)     | 0.39  | 0.63(0.21~1.87)  |
| rs4912905 |               |              |       |                  |
| GG        | 67(43.79)     | 13(31.71)    |       | 1.00             |
| CG        | 68(44.44)     | 22(53.66)    | 0.079 | 2.45(0.91~6.57)  |
| CC        | 18(11.76)     | 6(14.63)     | 0.2   | 2.84(0.72~11.22) |
| CG/CC     | 135(88.24)    | 35(85.37)    | 0.047 | 2.53(0.99~6.50)  |
| GG/CG     | 86(56.21)     | 28(68.29)    |       | 1.00             |
| CC        | 67(43.79)     | 13(31.71)    | 0.4   | 1.70(0.50~5.74)  |

表 7 糖皮质激素受体基因多态性  
与脓毒性休克的相关性[ n( % ) ]

| SNP       | 非休克<br>(n=143) | 休克<br>(n=51) | P 值   | OR(95%CI)        |
|-----------|----------------|--------------|-------|------------------|
| rs9324921 |                |              |       |                  |
| CC        | 92(64.34)      | 26(50.98)    |       | 1.00             |
| CA        | 44(30.76)      | 18(35.29)    | 0.064 | 2.44(0.96~6.22)  |
| AA        | 7(4.90)        | 7(13.73)     | 0.29  | 2.56(0.54~12.09) |
| CA/AA     | 51(35.66)      | 25(49.02)    | 0.038 | 2.47(1.04~5.84)  |
| CC/CA     | 136(95.10)     | 44(86.27)    |       | 1.00             |
| AA        | 7(4.90)        | 7(13.73)     | 0.38  | 1.96(0.44~8.85)  |

3 讨 论

GR 基因位于人染色体 5q31-q32, 含有 9 个外显子。根据对第 9 个外显子 mRNA 剪切方式的不同,产生α、β两种异构体,GC 的抗炎作用主要是通过 GR-α介导的。当 GC 与 GR 结合后发生同源二聚化,在细胞核内通过多种机制抑制炎症细胞因子的转录和表达(如 TNF-α、IL-1 等)<sup>[4-7]</sup>,即 GR 基因是调控炎症细胞因子生成的上游基因。GR 基因突变或多态性可影响 GR 功能,导致个体间炎症反应的差异和对 GC 治疗的敏感性。因此,GR 基因是脓毒症遗传学因素研究的候选基因。既往 GR 基因多态性与肥胖、高血压病、血脂紊乱、支气管哮喘、慢性支气管炎、特发性关节炎等的关系已有报道,但与脓毒症的相关性尚未见报道<sup>[8-10]</sup>。本研究首次研究了中国华东汉族人群中 GR 基因多态性与脓毒症临床转

归的相关性。

研究报道最多的与感染或炎症相关的 GR 基因 SNP 位点位于外显子 9 β3' UTR 区的 rs6198( G < A)。该位点 GG 基因型在荷兰人群能够降低鼻腔内金黄色葡萄球菌定植风险<sup>[11]</sup>,与白种人类风湿性关节炎发病相关<sup>[12]</sup>,能增加白种人老年人群 IL-6 和超敏 CRP 水平<sup>[13]</sup>。在本研究脓毒症病例中未检测到 rs6198 突变型,与有关中国汉族急性淋巴细胞白血血病儿童的检测结果一致,考虑该位点在中国汉族人群中的突变频率远较白种人低,故该位点无法进行关联分析,有待于进一步扩大样本量进行研究。Panek 等<sup>[14]</sup>报道 rs10052957 与喘息型慢性支气管炎发病有关,Kostik 等<sup>[15]</sup>发现 rs41423247 与白种人女孩幼年特发性关节炎发病年龄和炎症反应水平有关,而在本研究中这两个位点与脓毒症临床转归均无相关。考虑原因是由于选择压力的存在,不同人群基因 SNP 存在较大差异,同时由于入选病例数量、感染病原体的差异和不同环境因素的作用,导致有些位点在其他人群报道中与感染或炎症有关,而在本研究人群中为阴性结果。

因脓毒症的发生与多种遗传因素有关,可能涉及多个基因变异,因此我们未采取既往研究只选择位于编码区或启动子区的 1 个或几个 SNP 进行研究,而是综合 3 种方法选择更广范围的 SNP 位点(15 个),最大程度的代表了 GR 基因上常见遗传信息。这些位点中的大多数在既往关联研究中都未见报道。结果表明,rs9324924 GT/TT 基因型较 GG 型能够降低重度器官功能障碍风险;rs4912905 CG/CC 基因型较 GG 型发生重度器官功能障碍风险增加;rs9324921 CA/AA 基因型发生脓毒性休克的风险比 CC 型高,提示 GR 基因变异与脓毒症相关,有关基因型可能成为脓毒症临床转归的预警指标。3 个阳性位点均位于内含子中(见表 1),研究表明内含子区突变可能通过影响 mRNA 的剪切、稳定性或定位来影响基因的功能<sup>[16]</sup>。但不排除这些阳性位点因和其他与脓毒症有关的 SNP 位点连锁,而表现出与脓毒症相关。因此对于本研究得到的阳性位点还要扩大样本量进行验证,以了解其具体机制。

总之,GR 基因多态性可能与脓毒症临床转归相关。深入了解 GR 基因多态性影响脓毒症的机制,不仅有助于进一步理解脓毒症的发病机制,还可以根据患者的基因型,对高危患者进行早期、个体化治疗,以期研制出疗效更好、副作用更小的 GR 激活剂,为脓毒症治疗提供新的思路。

(下转第 601 页)

4 讨 论

本试验中健脾和胃颗粒提取溶剂选用甲醇,因甲醇提取的效率最高<sup>[8]</sup>。经试验证实超声提取要比回流提取效率高<sup>[9]</sup>,且超声 45 min 时的提取效率最高。本文参照《中国药典》2010 版一部骨碎补中丹酚酸 B 的含量测定方法,选择甲醇-乙腈-1.67%甲酸水溶液(27:9:64)作为流动相,目标峰与杂质峰分离效果亦较好。

【参考文献】

[1] 王 闰,孟 慧,许 勇.复方甘草软膏的制备及含量测定法的建立[J].东南国防医药,2015,17(4):389-391.  
[2] 申 欣,查娅妮.风热感冒颗粒质量标准研究[J].中国药业,2008,17(9):25.

[3] 陈明霞,孙万晶,王筱亮.消瘰丸质量标准的研究[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(6):16.  
[4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2010:29-30,70,264.  
[5] 吴 笛,王德勤,李楚源.复方丹参片薄层色谱鉴别方法研究[J].药物分析杂志,2012,32(9):1658-1660.  
[6] 廉 丽,袁 杰.健脾消食中红参、山楂、麦冬的薄层色谱法鉴别[J].中医药学刊,2003,21(12):2168.  
[7] 王贤英.参芪颗粒中党参的薄层鉴别[J].重庆中草药,2009,6(1):8-9,13.  
[8] 刘 梅,俞桂新,张 勉,等.超高效液相色谱法同时测定丹参药材中丹酚酸 B 和丹参酮ⅡA 的含量[J].中国中药杂志,2008,33(3):319-321.  
[9] 王 华.HPLC 法测定丹参颗粒中丹酚酸 B 的含量[J].中国现代药物应用,2008,2(12):13-15.

(收稿日期:2015-07-20;修回日期:2015-09-17)

(本文编辑:徐燕茹; 英文编辑:王建东)

(上接第 578 页)

【参考文献】

[1] Sutherland AM, Walley KR. Bench-to-bedside review: Association of genetic variation with sepsis [J]. Crit Care, 2009, 13(2): 210-219.  
[2] 汪广剑,瞿发林,仲爱芳,等.产后抑郁症与雌激素受体  $\beta$  基因的多态性[J].东南国防医药,2013,15(2):177-178.  
[3] 徐若男,陈 烁,刘宏滨,等.缓激肽 B2 受体基因多态性在膝骨关节炎发生和发展中的作用[J].东南国防医药,2013,15(4):361-364.  
[4] Kadmiel M, Cidowski JA. Glucocorticoid receptor signaling in health and disease[J]. Trends Pharmacol Sci, 2013, 34(9): 518-530.  
[5] Surjit M, Ganti KP, Mukherji A, et al. Widespread negative response elements mediate direct repression by agonist-liganded glucocorticoid receptor[J]. Cell, 2011, 145(2):224-241.  
[6] Uhlenhaut NH, Barish GD, Yu RT, et al. Insights into negative regulation by the glucocorticoid receptor from genome-wide profiling of inflammatory cistromes[J]. Mol Cell, 2013, 49(1): 158-171.  
[7] 卫红齐,李泽卿,王秋萍.鼻-鼻窦黏膜中糖皮质激素受体的研究进展[J].医学研究生学报,2007,20(4):434-437.  
[8] Huizenga NA, Koper JW, De Lange P, et al. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene may be associated with and increased sensitivity to glucocorticoids in vivo[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1998, 83(1):144-151.  
[9] Lin RC, Wang XL, Morris BJ. Association of coronary artery dis-

ease with glucocorticoid receptor N363S variant[J]. Hypertension, 2003, 41(3):404-407.  
[10] Ukkola O, Rosmond R, Tremblay A, et al. Glucocorticoid receptor Bel I variant is associated with an increased atherogenic profile in response to long-term overfeeding[J]. Atherosclerosis, 2001, 157(1):221-224.  
[11] van den Akker EL, Nouwen JL, et al. Staphylococcus aureus nasal carriage is associated with glucocorticoid receptor gene polymorphisms[J]. J Infect Dis, 2006, 194(6):814-818.  
[12] van Oosten MJ, Dolhain RJ, Koper JW, et al. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene that modulate glucocorticoid sensitivity are associated with rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(4):R159.  
[13] Manenschi L, van den Akker EL, Lamberts SW, et al. Clinical features associated with glucocorticoid receptor polymorphisms. An overview[J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, 1179:179-198.  
[14] Panek M, Pietras T, Fabijan A, et al. Effect of glucocorticoid receptor gene polymorphisms on asthma phenotypes[J]. Exp Ther Med, 2013, 5(2):572-580.  
[15] Kostik MM, Klyushina AA, Moskalenko MV, et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphism and juvenile idiopathic arthritis[J]. Pediatr Rheumatol Online J, 2011, 9(1):2.  
[16] Cartegni L, Chew SL, Krainer AR. Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing[J]. Nat Rev Genet, 2002, 3(4):285-298.

(收稿日期:2015-07-15;修回日期:2015-08-23)

(本文编辑:齐 名; 英文编辑:王建东)