

# 硒蛋白基因 GPX3 启动子区甲基化对心力衰竭患者的作用及影响机制

邹雨珊 李付贵 曾科文 严海忠 李明星

中山市人民医院预防保健科 广东 中山 528403

**摘要:**目的 分析心力衰竭患者 GPX3 启动子区甲基化水平变化, 及其与各临床检验指标之间的关系。方法 选取 15 例心衰患者和 15 例健康人为研究对象, 采用基质辅助激光解吸电离-飞行时间-质谱技术检测了 GPX3 启动子区域的 10 个 CpG 的甲基化水平, 分析心力衰竭患者 GPX3 启动子区甲基化水平变化, 及其与各临床检验指标之间的关系。结果 与健康对照组相比, 心衰患者的 GPX3-FA3 启动子区的 CpG-5 明显升高 ( $P < 0.05$ ); 限制性立方样条回归函数分析显示随着 GPX3-FA3-CpG-5 甲基化水平升高, ApoB 先明显降低, 随后升高, 呈现非线性剂量反应关系 ( $P < 0.05$ )。结论 心衰患者的硒蛋白基因 GPX3 启动子区甲基化水平明显升高, 并且随着 GPX3-FA3-CpG-5 甲基化水平与 ApoB 呈现非线性剂量反应关系, 表明 GPX3 启动子区甲基化水平与 HF 的相关性可能是通过影响患者的血脂水平所导致。

**关键词:**心力衰竭; DNA 甲基化; 硒; 硒蛋白

心力衰竭是一种广泛存在的心血管疾病, 严重影响人群健康。据估计全球约有 2600 万人患有心力衰竭。近年来, 研究发现: 心衰与 DNA 甲基化之间存在一定的关系, 虽然研究仍在不断深入中。甲基化是一种重要的表观遗传修饰方式, 可影响基因的表达和功能<sup>[1]</sup>。一些研究表明, 在心衰患者中, 某些基因的甲基化水平可能发生改变, 与心衰的发病和发展有关<sup>[2]</sup>, 表观遗传改变可能影响心脏肌肉细胞的功能、结构和代谢, 导致心脏功能的下降。甲基化在心血管疾病的发展过程中可能发挥调节作用, 影响心脏肌肉细胞的重塑和炎症反应等过程<sup>[3]</sup>。然而, 对于心衰与甲基化之间确切机制的理解仍处于探索阶段, 需要更多的研究来揭示二者之间的关系以及潜在的治疗靶点。

硒蛋白对人体的健康发挥着重要的生物学作用; 但是硒蛋白对心衰的发生发展的影响机制不清楚。本研究以硒蛋白基因 GPX3 启动子区甲基化为切入点, 采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪定量检测心力衰竭患者外周血中 CpGs 的甲基化水平, 并探讨上述 CpGs 的甲基化水平与血脂水平的关系, 旨在初步分析 GPX3 启动子甲基化在心力衰竭患者中的作用, 为其防治提供科学依据。

## 一、资料与方法

### (一) 研究对象

研究对象来自中山市人民医院住院的心衰患者及体检中心的健康体检者各 15 例为研究对象, 收集其血液样本; 所有研究对象均根据国家心力衰竭诊断标准进行明确诊断, 自愿参加, 并签署知情同意书; 本研究设计和方案经中山市人民医院伦理委员会批准。

### (二) 引物设计与合成

利用 AGNA 软件设计 GPX3 启动子区域的甲基化 CpG 位点的引物, 根据靶基因的序列确定 CpG 位点的甲基化模式, 所有基因的目标片段大小在 200-600 个碱基对之间。GPX3 片段含有 10 个 CpG, 该引物由华大基因技术

有限公司合成。

### (三) MALDI-TOF MS 定量甲基化检测

根据 EZ - 96 DNA 甲基化试剂盒, 按照制造商的说明, 用亚硫酸氢盐处理每个参与者的基因组 DNA 200ng; 然后使用 Agena MassARRAY 平台对 GPX3 的甲基化进行定量分析, 该平台由基质辅助激光解吸/电离飞行时间, 质谱仪和 RNA 碱基特异性裂解模块组成, 使用 Agena MassARRAY 平台上的 Spectro CHIP 和 Mass ARRAY Compact 系统进行甲基化检测, 最后借助 EpiTYPER1.0 采集数据并分析。

### (四) 数据分析

采用 SPSS 23.0 软件对数据进行分析; 组间比较采用 t 检验或 MannWhitney U 检验, 筛选差异性 HF 差异 CpG 位点; 以 HF 差异 CpG 位点甲基化水平的第 25、50 和 75 百分位数作为 3 个节点, 采用限制性立方样条模型分析剂量反应关系,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 二、结果

(一) 心衰患者与健康对照组基线特征及临床参数比较

经统计学检验, 两组的年龄、性别及血脂指标的差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 可进行后期的比较分析, 见表 1。

(二) 心衰患者与健康对照组硒蛋白基因 GPX3-FA3 启动子区甲基化水平比较

心衰患者与健康对照组硒蛋白基因 GPX3-FA3 启动子区甲基化水平比较结果显示, 与健康对照组相比, 心衰患者的 GPX3-FA3 启动子区的 CpG\_5 明显升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

(三) HF 差异 GPX3-FA3-CpG\_5 位点甲基化水平与血常规指标的相关性

利用限制性立方样条回归函数分析 GPX3-FA3-CpG\_5 甲基化水平与主要血常规指标的相关性, 结果显示: GPX3-FA3-CpG\_5 甲基化水平与血常规指标不存在

非线性剂量反应关系 (P 均 > 0.05)。

(四) HF 差异 GPX3\_FA3\_CpG\_5 位点甲基化水平与血压的相关性

利用限制性立方样条回归函数分析 GPX3\_FA3\_CpG\_5 甲基化水平与舒张压和收缩压的相关性, 结果显示: GPX3\_FA3\_CpG\_5 甲基化水平与舒张压和收缩压不存在非线性剂量反应关系 (P 均 0.05)。

(五) HF 差异 GPX3\_FA3\_CpG\_5 位点甲基化水平与主要血脂指标的剂量反应关系

利用限制性立方样条回归函数分析 GPX3\_FA3\_CpG\_5 甲基化水平与 ApoB 具有剂量反应关系, 随着 GPX3\_FA3\_CpG\_5 甲基化水平升高, ApoB 先明显降低, 随后升高, 呈现非线性剂量反应关系 (P < 0.05), 其余血脂指标与 GPX3\_FA3\_CpG\_5 甲基化水平无明显的相关性, 见图 1。

### 三、讨论

心力衰竭是一种心脏功能异常的疾病, 影响着各个年龄段人群的健康, 其发病机制一直是研究的热点领域。近年来, 研究人员对心力衰竭发病的分子机制进行了深入研究。例如: 发现了一些与心力衰竭相关的基因变异和突变, 进一步揭示了心肌细胞功能异常和心肌重构的机制<sup>[4]</sup>。炎症反应和免疫系统在心力衰竭的发病机制中扮演重要角色。研究人员发现, 慢性炎症反应和免疫系统的紊乱与心力衰竭的发展密切相关, 这为开发新的治疗策略提供了新的方向<sup>[5]</sup>。神经内分泌系统在心力衰竭中也起到重要作用。研究人员对神经递质和激素在心力衰竭中的作用进行了深入研究, 例如: 肾素-血管紧张素-醛固酮系统和交感神经系统的异常活化等<sup>[4]</sup>。然而, 心力衰竭的发病机制非常复杂, 仍有很多未解之谜。研究人员还在继续努力, 希望能够进一步深入

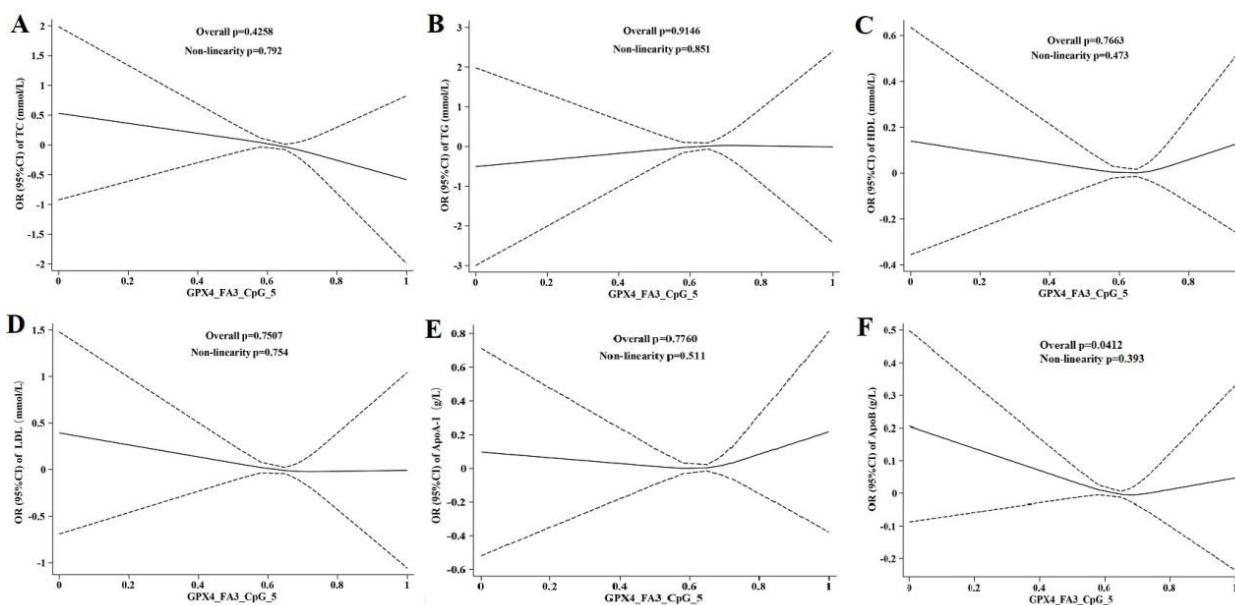


图 1 HF 差异 GPX3\_FA3\_CpG\_5 位点甲基化水平与血脂指标的剂量反应关系

表 1 两组研究对象的人口学特征及血压、血脂指标的比较

人口学特征及临床参数	健康组	心衰患者	p-value
Age, years	66.05 ± 13.915	61.35 ± 14.612	0.304
Male, n (%)	13 (65%)	10 (50%)	0.337
SBP, mmHg	117.40 ± 15.537	120.30 ± 12.425	0.291
DBP, mmHg	78.21 ± 10.326	72.05 ± 16.038	0.165
甘油三酯 (TG, mmol/L)	1.74 (1.51, 2.73)	1.24 (0.75, 1.57)	0.057
总胆固醇 (TC, mmol/L)	4.59 ± 1.05	4.10 ± 0.76	0.241
高密度脂蛋白胆固醇 (HDL, mmol/L)	0.95 ± 0.15	1.09 ± 0.27	0.235
低密度脂蛋白胆固醇 (LDL, mmol/L)	2.91 ± 0.92	2.69 ± 0.55	0.493
载脂蛋白 A1 (ApoA-1, g/L)	1.13 ± 0.17	1.2 ± 0.32	0.606
载脂蛋白 B (ApoB, g/L)	1.02 ± 0.22	0.89 ± 0.16	0.129

理解心力衰竭的发病机制，并为心力衰竭的预防和治疗提供更有策略。

DNA 甲基化与心力衰竭的发生和发展密切相关。心力衰竭患者的心肌细胞 DNA 甲基化水平与正常人群相比存在显著差异<sup>[1-2]</sup>。DNA 甲基化修饰可以影响基因的转录活性，进而影响心肌细胞的功能和代谢，从而参与心力衰竭的发病机制。高甲基化水平与心力衰竭的严重程度和不良预后相关。心力衰竭与 DNA 甲基化的关系仍然在不断深入研究中，目前的研究主要是观察性研究，尚需进一步的实验和临床研究来验证这些关系，并探索 DNA 甲基化在心力衰竭的发病机制和治疗中的潜在作用。

本研究采用限制性立方样条回归函数分析 GPX3 启动子的 CpG 的甲基化水平与血压、血常规及血脂指标的关系，结果显示随着 GPX3 启动子区甲基化水平升高，ApoB 先明显降低，随后升高，呈现非线性剂量反应关系，我们推测，GPX3 启动子区甲基化水平与 HF 的相关

性可能是通过影响患者的血脂水平所导致的。本研究的上述结果与以往的研究中的实验证据类似。例如：一些研究表明在高脂饮食条件下，DNA 甲基化模式可能发生改变，从而影响血脂代谢通路的调控<sup>[1]</sup>。此外，一些基因的 DNA 甲基化水平与血脂异常（如高胆固醇）之间存在明显的关联，通过改变 DNA 甲基化水平，可以调节与血脂代谢相关的基因的表达，进而影响血脂水平<sup>[5]</sup>。这为针对血脂异常的治疗提供了新的思路和方法。未来更多的研究将进一步揭示 DNA 甲基化在调控血脂水平中的作用机制，为相关疾病的预防和治疗提供新的靶点和策略。

综上所述，心衰患者的硒蛋白基因 GPX3 启动子区甲基化水平明显升高，并且随着 GPX3\_FA3\_CpG\_5 甲基化水平与 ApoB 呈现非线性剂量反应关系，表明 GPX3 启动子区甲基化水平与 HF 的相关性可能是通过影响患者的血脂水平所导致。

#### 参考文献：

- [1] 聂子锦. 三参颗粒对气虚血瘀型慢性心衰患者 DNA 甲基化的影响 [D]. 山东中医药大学, 2021.
- [2] 李冰. 外周血白细胞基因组 DNA 甲基化在心力衰竭中的作用及临床意义 [D]. 吉林大学, 2017.
- [3] 潘璐, 党时鹏, 张楨焯, 等. 炎症小体在心力衰竭发生发展中的作用及表观遗传学调控机制研究进展

[J]. 江苏大学学报 (医学版), 2023,33(06): 539-544.

- [4] 方永有, 刘莉, 魏晓, 等. 心衰患者去甲肾上腺素转运体基因启动子区甲基化水平与预后的关联研究 [J]. 标记免疫分析与临床, 2018,25(06): 851-854.

- [5] 刘滴, 李云盟, 周刚, 等. 去甲基化酶 FTO 在心血管疾病中的研究进展 [J]. 生命的化学, 2021,41(03): 552-557.

基金项目：2021 年中山市卫生健康局医学科研项目，《硒蛋白 GPX3 遗传与表观遗传学交互作用对心力衰竭的影响及机制研究》项目编号：2021J110。

作者简介：第一作者：邹雨珊（1984.5-），女，江苏镇江，汉，硕士，副主任医师；研究方向：营养与食品卫生。