

# 广西地区壮族和汉族冠心病患者 胱抑素 C 水平及其基因多态性的比较研究\*

黄生金<sup>1</sup>, 郑利平<sup>2</sup>, 陆俊佳<sup>2</sup>, 朱 旭<sup>2</sup>

(1. 南宁市马山县人民医院医学检验科, 南宁 530600;

2. 南宁市第二人民医院医学检验科, 南宁 530031)

**摘要:**目的 探讨广西地区壮族冠心病患者血清中胱抑素 C(Cys C)水平及其基因位点+148 G/A和-82 G/C的多态性与同地区汉族冠心病(CHD)患者及两个民族正常人的不同。方法 采用免疫比浊法检测壮族、汉族 CHD 患者和壮族、汉族正常个体(各 100 例)血清中 Cys C 水平,聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 Cys C 基因位点+148 和-82 的多态性,并分析上述数据和临床资料。结果 ①两组 CHD 组血清中 Cys C 水平和临床资料与两组正常组间的差异有统计学意义( $P$ 值均 $<0.05$ );②四组中 Cys C 基因位点+148 和-82 等位基因分布频率符合 H-W 群体遗传平衡法则( $P$ 值均 $>0.05$ ),具有群体代表性。CHD 组 Cys C 基因+148 和-82 位点不同基因型分布频率较同民族正常组虽有差异,但差异均无统计学意义( $\chi^2=0.760\sim2.090, P>0.05$ );③CHD 病组血清中 Cys C 水平与 Cr 呈正相关( $r=0.597, P<0.001$ )。结论 Cys C 基因位点+148 和-82 的多态性与广西地区的壮族、汉族 CHD 相关性需作进一步研究,但肾损伤引起的高 Cys C 血清水平可能是广西地区壮族、汉族 CHD 患者的一个危险因素。

**关键词:**胱抑素 C; 基因多态性; 壮族; 冠心病

中图分类号: R541.4; R446.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)03-026-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.03.007

## Comparative Study of Cystatin C and Its Gene Polymorphism of Patients with Coronary Heart Disease between Zhuang and Han in Guangxi Region

HUANG Sheng-jin<sup>1</sup>, ZHENG Li-ping<sup>2</sup>, LU Jun-jia<sup>2</sup>, ZHU Xu<sup>2</sup> (1. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Mashan, Nanning 530600, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Nanning, Nanning 530031, China)

**Abstract:** Objective To investigate the difference of serum levels of cystatin C and its gene polymorphism of patients with CHD and normal people between Zhuang and Han in Guangxi region. Methods The levels of serum cystatin C in Zhuang CHD patients, Han CHD patients, Zhuang normal people and Han normal people (each of 100 cases) were detected by Immunoturbidimetric Assays, Cys C+148 and Cys C-82 genotypes were conducted by using PCR-RFLP, and that data and clinical data were analyzed. Results The difference of Cys C levels and clinical data between two CHD groups and two normal groups were statically significant (all  $P<0.05$ ). ①The Cys C levels of two CHD groups was not statically significant difference ( $P=0.156$ ). ②The CysC+148 and Cys C-82 of 4 groups conform the Hardy-Weinberg population genetic equilibrium law (all  $P>0.05$ ). The genotypes frequency difference of Cys C+148 and Cys C-82 between two CHD groups and two normal group were no statically significant ( $\chi^2=0.760\sim2.090, P>0.05$ ). ③The serum Cys C level and Cr of CHD group were positively correlated ( $r=0.597, P<0.001$ ). Conclusion The correlation Cys C+148, -82 polymorphism and Guangxi Zhuang CHD were in need of further study, but the kidney damage caused by the high serum Cys C level may be a risk factor for Guangxi Zhuang and Han CHD patients.

**Keywords:** cystatin C; polymorphism; Zhuang nationality; coronary heart disease

冠心病(coronary heart disease, CHD)是由冠状动脉狭窄或阻塞,导致心肌缺血、缺氧而导致的心脏病。目前 CHD 发病有年龄年轻化、发病率逐年升高的趋势。CHD 是一个遗传、环境、个人生活习惯等多因素疾病,其中易感基因可能对 CHD 的发生起着非常重要的作用。胱抑素 C(cystatin C, Cys C)可调节半胱氨酸蛋白酶的活性,参与动脉粥

样硬化性疾病的病理过程。Cys C 基因多态性及其频率分布存在人种、地域差异,其多态性与 CHD 的关系目前国内外研究结果尚不一致。本研究旨在通过检测广西壮族、汉族 CHD 患者 Cys C 水平及其基因位点+148 G/A 和-82 G/C 基因多态性及其分布频率,比较广西壮族和汉族 CHD 的 Cys C 水平及基因多态性的差异,为防治 CHD 提供新

\* 基金项目:广西壮族自治区南宁市科技课题资助(编号:2012137)。

作者简介:黄生金(1964—),男,本科学历,副主任检验技师,主要研究方向临床医学检验, Tel:13237719025, E-mail:huangshengjin1964@126.com。

通讯作者:朱 旭(1961—),男,本科学历,主任检验技师,主要研究方向分子生物诊断学, Tel:0771-2246516。

的视角。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 广西南宁市(壮族主要分布区)的壮族、汉族 CHD 患者,壮族、汉族正常个体各 100 例。壮族 CHD 患者:男性 54 例,女性 46 例,年龄 43~76 岁,平均年龄 55.9 岁;汉族 CHD 患者:男性 55 例,女性 45 例,年龄 42~81 岁,平均年龄 58.3 岁;壮族正常个体:男性 53 例,女性 47 例,年龄 45~71 岁,平均年龄 52.9 岁;汉族正常个体:男性 54 例,女性 46 例,年龄 45~70 岁,平均年龄 54.4 岁。4 组研究对象在年龄和性别上差异无统计学意义。研究对象正常个体入选标准:①三代以上未与其他民族通婚的壮族或汉族家族,选择最后一代个体为研究对象,尽可能确认研究对象在其可追踪的历史上没有与外族通婚;②无急、慢性疾病史及遗传性疾病家族史。壮族、汉族 CHD 入选标准:正常个体入选标准+CHD 诊断。CHD 的诊断标准参照卫生部颁布的“心血管系统药物临床研究指导原则”冠心病诊断标准:①有典型心绞痛发作及心电图 ST-T 段动态表现或心肌梗死病史,而无重度主动脉瓣狭窄关闭不全、主动脉炎,也无冠状动脉栓塞或原发性心肌病的证据;②男性>40 岁、女性>45 岁患者,休息时心电图有明显心肌缺血表现,或心电图运动试验阳性,无其他原因可查;并伴有 1 个易患因素(高血压、高脂血症、糖尿病)以上;③>40 岁患者心脏增大或心力衰竭,或乳头肌功能失调伴有静息心电图明显心肌缺血表现,而不能用心肌疾病或其他原因解释,并伴有 1 个易患因素(高血压、高脂血症、糖尿病)以上。上述①~③项中具备任何 1 项即可诊断为 CHD。出现以下情况 CHD 患者即排除:脑梗死、急性脑出血、自身免疫性疾病、所有感染、糖尿病以外代谢性疾病、肾脏疾病以及使用激素、妊娠、肿瘤。采样过程遵循知情同意原则,并通过询问确保研究对象间无血缘关系,收集临床资料。

1.2 标本采集 抽取各研究对象空腹静脉血 5 ml,注入干燥管(3 ml)和 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝管(2 ml)中。干燥管静置 30 min,3 000 r/min 离心 10 min,血清用于测定三酰甘油(triacylglycerol, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、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)、空腹血糖(fasting blood-glucose, FPG)、Cys C 及肌酐(creatinine, Cr)水平。EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝管充分混匀后,置 4℃ 冰箱短时(<7 天)保存,用于 Cys C 基因位点的检测。

1.3 主要仪器和试剂 日立 7600 全自动生化仪

(日本日立公司),ABI-9700 核酸扩增仪(美国 ABI 公司),凝胶电泳仪(北京六一仪器厂),OneC 超微量紫外分光光度计(美国赛默飞世尔公司),凝胶成像仪(珠海黑马公司),Cys C, Cr 试剂(浙江伊利康生物技术有限公司),空腹血糖、三酰甘油、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇试剂(罗氏公司),DNA 抽提试剂(北京天根公司),引物(上海生工公司),PCR 扩增试剂(大连 TaKaRa 公司)。

1.4 血清 FPG, TG, TC, HDL-C, LDL-C, Cys C 及 Cr 的检测 按照全自动生化仪及相关试剂盒说明书操作检测血清 FPG, TG, TC, HDL-C, LDL-C, Cys C 和 Cr 水平。

1.5 DNA 制备 全血 DNA 的制备采用离心柱法制备 DNA,一切操作严格按照 DNA 提取试剂说明书,最后-20℃ 保存备用。

1.6 聚合酶链反应-限制性片段长度多态性检测 Cys C 基因

1.6.1 引物序列和反应体系:根据 GenBank 中 Cys C 基因序列,用 Primer 5.0 软件设计 Cys C 两个位点引物,引物序列见表 1。PCR 反应体系共 50 μl:混合反应液 8 μl(含 dNTP, buffer),Taq 酶 0.5 μl, DNA 模版 2 μl,上、下游引物各 1 μl 和无菌水 37.5 μl。

表 1 Cys C+148 G/A 和-82 G/C 基因位点引物序列

位点	引物序列	PCR 产物大小(bp)
Cys C+148	上游引物:5'-TCTATCTAGCTCCAGCTCTCG-3'	254
	下游引物:5'-TGCTGGCTTTGTGTACTCG-3'	
Cys C-82	上游引物:5'-GATGGATGGGAAGGACAG-3'	379
	下游引物:5'-CAGGATGGCCAGCAGGAG-3'	

1.6.2 Cys C+148 和-82 基因位点的扩增条件及限制性片段长度多态性分析:Cys C 基因扩增条件:94℃ 5 min 预变性;94℃ 1 min, 62℃ 45 s, 72℃ 45 s, 35 个循环;72℃ 延伸 5 min。扩增后,PCR 后产物 20 μl, Sac II 内切酶 1 μl, buffer 3 μl, 无菌水 6 μl, 37℃ 酶切 1 h。酶切后, 5 μl 产物在 2 g/dl 琼脂糖凝胶上点样,电压 100V,电泳 30 min 后凝胶图象分析仪下观察电泳结果并摄像保存。Cys C+148 位点酶切结果:AA 基因型为 254bp 片段;AG 基因型为 254, 132 和 122 bp 3 个片段;GG 基因型为 132 bp 和 122 bp 的 2 个片段。Cys C-82 位点酶切结果:CC 基因型为 379 bp 片段;CG 基因型为 379, 179 和 200 bp 3 个片段;GG 基因型 179 bp 和 200 bp 2 个片段。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计学软件进

行数据处理,计量资料用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )描述,组间计量资料的比较采用方差分析。Cys C等位基因进行 Hardy-Weinberg 平衡检验,  $P > 0.05$  即表明样本具有群体代表性,不存在选择性偏倚。4组间 Cys C 不同基因型频率分布比较采用卡方检验,血清 Cys C 水平与相关指标的相关性分析采用单因素相关分析和多元逐步回归分析,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

表 2 四组临床一般资料和血清中 Cys C 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

参 数	壮族 CHD 组 ( $n=100$ )	汉族 CHD 组 ( $n=100$ )	壮族健康组 ( $n=100$ )	汉族健康组 ( $n=100$ )	F	P
Cys C(mg/L)	1.82±0.67	1.93±0.54	1.27±0.51	1.24±0.57	5.834	0.004
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	26.23±2.41	26.73±2.49	22.18±2.32	22.39±2.84	15.942	<0.001
FPG(mmol/L)	6.61±2.67	6.84±2.92	4.38±0.68	4.45±0.59	6.014	0.003
收缩压(mmHg)	143.24±18.13	144.18±18.85	114.50±15.70	116.80±14.90	42.991	<0.001
舒张压(mmHg)	89.28±13.15	91.93±13.10	72.1±8.200	74.40±8.00	14.125	<0.001
TG(mmol/L)	2.91±0.61	2.99±0.65	1.13±0.52	1.24±0.58	6.394	0.002
TC(mmol/L)	5.62±1.74	5.70±1.69	4.27±1.12	4.35±1.24	7.436	0.001
LDL-C(mmol/L)	3.42±1.62	3.48±1.70	1.79±0.89	1.85±0.96	8.406	<0.001
HDL-C(mmol/L)	1.23±0.44	1.22±0.47	1.62±0.54	1.69±0.58	5.799	0.004
Cr( $\mu$ mol/L)	82.3±19.3	86.7±20.5	68.8±16.7	69.4±17.1	32.847	<0.001

2.2 四组 Cys C 基因分型结果及不同基因分型血清 Cys C 水平 见表 3, 表 4。野生型是四组 Cys C+148 和 Cys C-82 基因位点的主要型别。四组的 Cys C+148 和 Cys C-82 基因位点的 H-W 平衡检验  $P$  值均  $> 0.05$ , 符合 H-W 群体遗传平衡法则, 具有群体代表性。四组 Cys C+148 和 Cys C-

2.1 四组临床资料及 Cys C 水平的比较 见表 2。4 组间临床资料及 Cys C 水平差异有统计学显著性意义 ( $P < 0.01$ )。与同民族正常对照组比较, 两个民族 CHD 组 HDL-C 显著降低, 而 Cys C, Cr, BMI, FPG, 收缩压、舒张压、TG, TC, LDL-C 显著升高, 差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.05$ )。比较壮族 CHD 组与汉族 CHD 组的 FPG, BMI, 收缩压、舒张压、TG, TC, HDL-C, LDL-C, Cys C 及 Cr 间虽有差异, 但差异无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ )。

82 位点的不同基因型分布频率虽有差异, 但差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 6.504, P = 0.369; \chi^2 = 3.795, P = 0.704$ )。比较 Cys C+148 和 Cys C-82 位点不同基因型间的 CHD 患者血清中 Cys C 水平, 虽不同基因型间 Cys C 水平略有不同, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。电泳图见图 1。

表 3 广西壮族、汉族冠心病和正常个体 Cys C 的基因检测结果

组 别	n	Cys C+148					H-W 值 P 值	Cys C-82					H-W 值 P 值
		GG	GA	AA	G	A		GG	GC	CC	G	C	
壮族冠心病组	100	63	29	8	77.5	22.5	0.092	62	31	7	77.5	22.5	0.267
壮族正常组	100	68	26	6	81	19	0.120	55	34	11	72	28	0.117
汉族冠心病组	100	53	36	11	71	29	0.208	67	27	6	80.5	19.5	0.162
汉族正常组	100	63	32	5	79	21	0.722	61	30	9	76	24	0.076

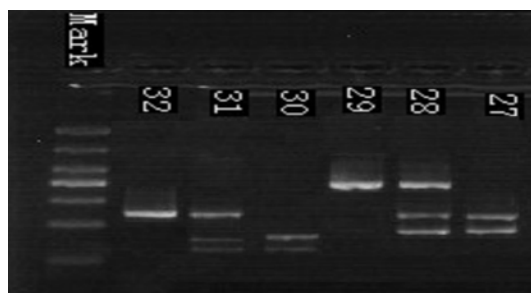
注: 27~29, Cys C-82 GG, GC, CC 基因型; 30~32, Cys C+148 GG, AG, AA 基因型。

表 4 CHD 组 Cys C+148G/A 和 Cys C-82G/C 不同基因型的血清 Cys C 水平

组 别	CHD 组 ( $n=200$ )	F 值	P	壮族 CHD 组 ( $n=100$ )	汉族 CHD 组 ( $n=100$ )	F 值	P
Cys C+148G/A	GG	108.69±10.41		108.96±10.97	108.31±11.08		
	GA	106.98±10.68	1.839	106.81±10.24	107.15±10.32	1.664	0.198
	AA	106.63±11.06		107.05±10.33	107.28±10.58		
Cys C-82G/C	GG	107.79±9.93		107.29±10.11	107.93±9.82		
	GC	107.42±9.09	1.031	107.32±9.57	107.59±9.05	1.637	0.200
	CC	107.93±9.84		107.83±9.49	108.08±10.08		

2.3 CHD 患者血清 Cys C 水平与相关指标的相关性分析 经单因素相关分析发现两个 CHD 组患者血清中 Cys C 水平与 FPG, BMI, 收缩压、舒张压、TG, TC, HDL-C, LDL-C, Cys C-82G/C 和 Cys C+148G/A 位点多态性未见明显相关性 ( $P > 0.05$ ), 但与 Cr, Cys C+73A/G 位点多态性呈正相

关。结果见表 5。经多元逐步回归分析发现, 校正年龄、性别、FPG, BMI, 收缩压、舒张压、TG, TC, HDL-C, LDL-C 的影响, Cys C 仍与 Cr 呈正相关 ( $B = 0.018, SE = 0.005, \beta = 1.162, t = 5.974, P < 0.001$ )。



27~29 为 Cys C-82G/C, GC, CC 基因型; 30~32 为 Cys C+148G/A, AG, AA 基因型。

图1 Cys C+148G/A 和 Cys C-82G/C 位点电泳图

表5 冠心病组 Cys C 水平与其他危险因素单因素相关分析

Cys C	r	P
BMI	0.035	0.716
FPG	0.234	0.108
收缩压	0.206	0.172
舒张压	0.247	0.079
TG	0.136	0.216
TC	0.158	0.312
LDL-C	0.119	0.409
HDL-C	-0.258	0.064
Cr	0.597	<0.001

3 讨论 冠心病(coronary heart disease, CHD)是由冠状动脉(动脉粥样硬化)狭窄或阻塞,导致供血不足,心肌缺血、缺氧而导致的心脏病,是大多数发达国家的主要死亡原因之一。CHD 是一个由遗传因素、环境因素和不良生活方式相互作用导致的多因素复杂疾病,其中易感基因可能对 CHD 的发生起着非常重要的作用。胱抑素 C(Cys C)是一种广泛分布于所有有核细胞表面和体液中的小分子碱性蛋白。Cys C 除了作为评价肾小球滤过功能的一个重要指标外<sup>[1]</sup>,还通过抑制半胱氨酸蛋白酶的活性,影响细胞外基质产生和降解的动态平衡以及粒细胞的吞噬及趋化作用,参与了动脉粥样硬化和炎症反应的病理过程,有研究表明了 Cys C 水平与 CHD 的发生有着密切关系<sup>[2,3]</sup>。检测血清 Cys C 水平逐渐不能满足于临床,于是从基因水平对 Cys C 的基因进行研究成为必要。Cys C 编码基因为 CST3,位于染色体 20p11.2,是 cystatin 超家族中的成员<sup>[4]</sup>,Cys C 基因突变主要在基因启动子处,且基因突变及其频率分布有人种、地域差异性,不同人种,不同地域冠心病(CHD)患者其 Cys C 多态性均不一致<sup>[5~7]</sup>。因此检测广西壮族、汉族 CHD 患者 Cys C 水平及其基因位点+148 G/A 和 Cys C-82 G/C 基因多态型及等位基因的分布频率,探讨 Cys C 水平及 2 个基因位点与广西壮族 CHD 的关系,从而为 CHD 防治提供全新视角。

本研究结果显示,广西壮族 CHD 组和汉族 CHD 组血清中 Cys C 水平较同民族正常个体显著升高,这与刘君<sup>[8]</sup>的研究结果相似,证实了血清中

高 Cys C 水平可能是 CHD 的危险因素。Barka 等<sup>[9]</sup>通过动物实验推测在病理状态下,特别是缺血状态下,Cys C 被释放出来,可调节从坏死和/或炎症细胞释放出来的组织蛋白酶的活性。国内也有研究提示 Cys C 可以促进心肌细胞的生长。有研究进一步发现<sup>[6,9]</sup>CHD 的不同阶段,Cys C 水平存在一个动态变化。但本研究中 CHD 组标本主要是在入院即刻(发病急性期)采集,未进一步采集和检测 CHD 其他阶段的标本,因此本研究 CHD 患者血清中 Cys C 水平仅反映了急性发病期的较高水平。确定 CHD 其他阶段的血清中 Cys C 水平,需作进一步研究。

在 Cys C+148 和 Cys C-82 位点的基因型和等位基因频率比较中,壮族冠心病组和同地区汉族冠心病组 Cys C 基因位点+148 A 基因型和 Cys C-82 位点的 G 基因型高于同民族正常组,但差异并无统计学意义,分析原因可能是:①Cys C+148 和 Cys C-82 位点基因多态性不是广西地区的 CHD 的候选基因位点,这与郭进京等<sup>[10]</sup>和徐向红等<sup>[6]</sup>研究甘肃省 CHD 患者 Cys C 的基因多态性的结论相一致,但与 Eriksson 等<sup>[11]</sup>的研究不一致(可能是研究对象的种族不同,基因遗传规律存在差异);②Cys C+148 位点的 A 基因型和 Cys C-82 位点 G 基因型可能是广西地区的壮族和汉族 CHD 发生、发展的一个危险因素,但因本研究观察的样本例数较少,研究人群代表性可能具有局限性,不足以检测出相关性。

本研究中两个民族 CHD 患者 Cys C 水平整体较正常个体升高,分析 CHD 患者外周循环中 Cys C 水平与临床相关资料的相关性时,发现 Cys C 水平与反映肾功能的 Cr 水平呈正相关。在校正年龄、性别、血糖、BMI,血压、血脂等影响后,外周循环中 Cys C 水平与 Cr 水平仍呈正相关,提示可能因 CHD 患者存在肾功能受损,导致外周血循环中 Cys C 水平升高。

总之,肾功能受损导致血清中高脂联素水平是广西地区汉族、壮族 CHD 患者的易感因素。Cys C 基因+148 和 Cys C-82 位点是否是壮族冠心病的易感基因,还需增加样本进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Ayub S, Zafar MN, Aziz T, et al. Evaluation of renal function by cystatin C in renal transplant recipients [J]. Exp Clin Transplant, 2014, 12(1): 37-40.
- [2] Akgul O, Uyarel H, Ergelen M, et al. Predictive value of elevated cystatin C in patients undergoing primary angioplasty for ST-elevation myocardial infarction [J]. J Crit Care, 2013, 28(5): 882. e13-882. e20.

(下转 33 页)

- [4] 王婷敬,孙爱宁,吴德沛,等.血清胸苷激酶1与急性髓系白血病的关联性分析[J].中国实验血液学杂志,2013,21(5):1095-1098.  
Wang TJ, Sun AN, Wu DP, et al. Analysis of correlation between serum thymidine kinase 1 and acute myeloid leukemia[J]. Journal of Experimental Hematology, 2013, 21(5):1095-1098.
- [5] 林祥伟,张苏伟.流式细胞术在急性白血病细胞凋亡及预后判断中的应用[J].中国基层医药,2016,23(18):2784-2786.  
Lin XW, Zhang SW. Application of flow cytometry in the judgment of apoptosis and prognosis in patients with acute leukemia[J]. Chinese Journal of Primary Medicine and Pharmacy, 2016, 23(18):2784-2786.
- [6] 张之南,沈 悌.血液病诊断及疗效标准[M].3版.北京:科学出版社,2007:106-115.  
Zhang ZN, Shen D. The standardization of diagnose and curative effect in hematologic diseases[M]. 3th Ed. Beijing: Science Press, 2007:106-115.
- [7] 中华医学会血液学分会白血病学组.急性髓系白血病治疗的专家共识(第二部分)[J].中华血液学杂志,2010,31(1):69-70.  
Chinese Medical Association Leukemia Group. The expert consensus on the treatment of Acute myeloid leukemia[J]. Chinese Journal of Hematology, 2010, 31(1):69-70.
- [8] 李步任,张惠冰,张诗颜.ROC曲线及Logistic回归评价血清AFU,AFP和TK1在原发性肝癌的诊断价值[J].现代检验医学杂志,2015,30(6):56-59.  
Li BR, Zhang HB, Zhang SY. Diagnostic value of serum AFU, AFP and TK1 for primary liver cancer with logistic regression and ROC curve[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 30(6):56-59.
- [9] Aufderklamm S, Todenhöfer T, Gakis G, et al. Thymidine kinase and cancer monitoring[J]. Cancer Lett, 2012, 316(1):6-10.
- [10] 邢应如,胡万发,杨路宝,等. DNA倍体联合肿瘤标志物检测在胸腔积液诊断中的应用[J].中国肿瘤外科杂志,2013,5(3):151-155.  
Xing YR, Hu WF, Yang LB, et al. Diagnostic application of the DNA ploidy analysis combined tumor markers in the pleural effusion[J]. Chinese Journal of Surgical Oncology, 2013, 5(3):151-155.
- [11] 胡艳芬,陈 龙,荆 超,等.流式细胞术检测DNA倍体数对鉴别良恶性肿瘤价值的Meta分析[J].中国医科大学学报,2015,44(2):136-142.  
Hu YF, Chen L, Jing C, et al. Meta analysis of FCM DNA ploidy in distinguishing benign tumor from malignant ones[J]. Journal of China Medical University, 2015, 44(2):136-142.
- [12] 刘崇梅,王彩霞,陈 凤,等.胸腔积液患者细胞DNA异倍体、microRNA-192及其相关因子对非小细胞肺癌的诊断意义[J].中国现代医学杂志,2015,25(32):26-30.  
Liu CM, Wang CX, Chen F, et al. Combined detection of pleural effusion cell DNA aneuploidy and microRNA-192 and its related factors in diagnosis of non-small cell lung cancer[J]. China Journal of Modern Medicine, 2015, 25(32):26-30.
- 收稿日期:2017-01-03 修回日期:2017-02-16
- 
- (上接29页)
- [3] Vieira C, Nabais S, Ramos V, et al. Multimarker approach with cystatin C, N-terminal pro-brain natriuretic peptide, C-reactive protein and red blood cell distribution width in risk stratification of patients with acute coronary syndromes[J]. Rev Port Cardiol, 2014, 33(3):127-136.
- [4] Song W, Jiang KJ, Zhang FY, et al. Molecular cloning and gene expression analysis of cystatin C-like proteins in spinyhead croaker *Collichthys lucidus* [J]. Genet Mol Res, 2016, 15(1):7417.
- [5] Akerblom A, Eriksson N, Wallentin L, et al. Polymorphism of the cystatin C gene in patients with acute coronary syndromes: Results from the PLATElet inhibition and patient Outcomes study[J]. Am Heart J, 2014, 168(1):96-102, e2.
- [6] 徐志强,周 赞,王 骏.胱抑素C rs1064039位点单核苷酸基因多态性与冠心病的相关性研究[J].临床心血管病杂志,2015,31(2):152-155.  
Xu ZQ, Zhou Y, Wang J. Correlation between single nucleotide polymorphisms at rs1064039 site of CST3 gene with coronary heart disease[J]. Journal of Clinical Cardiology (China), 2015, 31(2):152-155.
- [7] De Servi S, Mariani G, Piatti T, et al. Time course changes of cystatin C and inflammatory and biochemical markers in non-ST-elevation acute coronary syndromes[J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2014, 15(1):42-47.
- [8] 刘 君.胱抑素C检测在冠心病患者中的临床意义研究[J].实用心脑血管病杂志,2011,19(1):16-17.  
Lin J. Detection of cystatin C in the clinical significance of coronary heart disease[J]. PJCCPVD, 2011, 19(1):16-17.
- [9] Barka T, Van der Noen H. Expression of the cysteine proteinase inhibitor Cystatin C gene in rat heart: use of digoxigenin-labeled probes generated by polymerase chain reaction directly for in situ and northern blot hybridizations[J]. J Histochem Cytochem, 1993, 41(12):1863-1867.
- [10] 郭进京,居 军,徐向红,等.胱抑素C基因多态性、载脂蛋白E基因多态性与冠心病的相关性探讨[J].现代检验医学杂志,2009,24(1):40-43.  
Guo JJ, Jun J, Xu XH, et al. Association of polymorphism of cystatin C gene and polymorphism of apolipoprotein E gene in coronary heart disease[J]. J Mod Lab Med, 2009, 24(1):40-43.
- [11] Eriksson P, Deguchi H, Samnegard A, et al. Human evidence that the cystatin C gene is implicated in focal progression of coronary artery disease[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(3):551-557.
- 收稿日期:2017-01-07 修回日期:2017-02-10