

· ARTICLES ·

· 论 著 ·



DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2018.09.001  
[www.csumed.org/xbwk/fileup/PDF/201809929.pdf](http://www.csumed.org/xbwk/fileup/PDF/201809929.pdf)

## CACNA1C基因的遗传多态性与慢性自发性荨麻疹易感性及预后的相关研究

严晋洁<sup>1,2</sup>, 李清霖<sup>1,2</sup>, 罗宇雪<sup>1,2</sup>, 闫思聿<sup>1,3</sup>, 贺毅憬<sup>1,3</sup>, 陈翔<sup>1,3</sup>

(1. 中南大学湘雅医院皮肤科, 长沙 410008; 2. 中南大学湘雅医学院2012级临床医学五年制, 长沙 410078;  
3. 皮肤肿瘤与银屑病湖南省重点实验室, 长沙 410008)

**[摘要]** 目的: 本实验选取CACNA1C基因3个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)位点rs58619945, rs7316246和rs216008, 研究该基因多态性与慢性自发性荨麻疹发病以及非镇静类抗组胺药物疗效的相关性。方法: 提取191名慢性自发性荨麻疹患者外周血全基因组DNA, 并收集统计上述患者服用非镇静类抗组胺药物地氯雷他定、咪唑斯汀、非索非那定时荨麻疹疾病活动评分(Urticaria Activity Score 7, UAS7)及生活质量评分(Dermatology Life Quality Index, DLQI)的变化, 通过PubMed检索系统选取可能与慢性荨麻疹发病相关的SNPs位点, 即CACNA1C基因rs58619945, rs7316246和rs216008位点。将上述SNPs位点的等位基因型和等位基因数与千人基因组计划资料的对应数据进行对比, 运用 $\chi^2$ 检验完成基因型明确的189例患者和105例正常中国南方人群(千人基因组数据)不同基因型及等位基因频率之间易感性及使用非镇静类第二代抗组胺药疗效的比较。结果: 慢性自发性荨麻疹患者携带CACNA1C rs58619945 G等位基因频率明显高于正常中国南方人群[OR(95%CI)=0.660(0.470~0.925), P=0.016], 而rs7316246和rs216008位点的突变在两者之间的差异不具有统计学意义。并且以上3个SNPs位点与非镇静类第二代抗组胺药物治疗慢性自发性荨麻疹的总体疗效无明显相关性(rs58619945: OR=0.843, P=0.454; rs7316246: OR=2.103, P=0.102; rs216008: OR=0.237, P=0.363), 但在单药分析时地氯雷他定的病例中rs216008位点的不同等位基因间疗效存在差异[OR(95%CI)=0.480(0.247~0.933), P=0.029], 而咪唑斯汀的病例疗效未观察到与3个SNPs位点(rs58619945, rs7316246和rs216008)的相关性。结论: rs58619945位点在患者中的A/G突变可能与慢性自发性荨麻疹的发病相关, 而rs216008位点的不同等位基因可能与地氯雷他定药物作用的疗效有关。

**[关键词]** 慢性自发性荨麻疹; 易感性; 遗传多态性; CACNA1C基因; 非镇静类第二代抗组胺药

## Association of CACNA1C gene genetic polymorphism with the susceptibility as well as prognosis for chronic spontaneous urticaria

YAN Jinjie<sup>1,2</sup>, LI Qinglin<sup>1,2</sup>, LUO Yuxue<sup>1,2</sup>, YAN Siyu<sup>1,3</sup>, HE Yijing<sup>1,3</sup>, CHEN Xiang<sup>1,3</sup>

收稿日期(Date of reception): 2017-11-21

第一作者(First author): 严晋洁, Email: rice\_yan@163.com, ORCID: 0000-0003-0431-0121

通信作者(Corresponding author): 贺毅憬, Email: yijinghe@gmail.com, ORCID: 0000-0001-5831-641X; 陈翔, Email: chenxiangck@126.com, ORCID: 0000-0001-8187-636X

基金项目(Foundation item): 国家级大学生创新与创业项目(201510533365)。This was supported by the National Innovation and Entrepreneurship Training Program for Undergraduates, China (201510533365).

- (1. Department of Dermatology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008;  
2. 2012 Grade Five Years of Clinical Medicine, Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410078;  
3. Hunan Key Laboratory of Skin Cancer and Psoriasis, Changsha 410008, China)

## ABSTRACT

**Objective:** To investigate the relationship between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of CACNA1C (SNPs rs58619945, rs7316246 and rs216008) and susceptibility of chronic spontaneous urticaria (CSU) as well as the curative effect of non-sedating antihistamine drugs.

**Methods:** Peripheral blood were extracted from 191 CSU patients to collect DNA. Urticaria Activity Score 7 (UAS7) and Dermatology Life Quality Index (DLQI) changes were collected from these patients with different non-sedating antihistamine drugs. PubMed retrieval system was used to select the 3 SNPs (rs58619945, rs7316246 and rs216008) of CACNA1C. Susceptibility of CSU and curative effect of non-sedating antihistamine drugs (desloratadine, mizolastine, fexofenadine) in 189 CSU patients and 105 controls with different SNPs were compared with Chi-squared test. Data of 105 southern Chinese controls were extracted from the 1 000 genome database.

**Results:** Frequency of rs58619945 G allele in the CSU patients was significantly higher than that in the controls [OR(95%CI)=0.660(0.470–0.925),  $P=0.016$ ]. However, there was no significant differences in rs7316246 and rs216008 between the CSU patients and the controls. Meanwhile there was no significant difference in general curative effect of the 3 drugs in the 3 SNPs (rs58619945: OR=0.843,  $P=0.454$ ; rs7316246: OR=2.103,  $P=0.102$ ; rs216008: OR=0.237,  $P=0.363$ ). There was significant difference in different alleles of rs216008 in the patients administered by desloratadine [OR(95%CI)=0.480(0.247–0.933),  $P=0.029$ ]. No difference was shown in the 3 SNPs in patients administered by mizolastine.

**Conclusion:** The rs58619945 A/G might be related to susceptibility of CSU, and the rs216008 mutation might affect drug response of desloratadine.

## KEY WORDS

chronic spontaneous urticaria; susceptibility; genetic polymorphism; CACNA1C gene; second generation non-sedating antihistamines

慢性荨麻疹(chronic urticarial, CU)主要表现为反复发作的风团，伴或不伴血管性水肿，病程不小于6周<sup>[1-3]</sup>。作为一种常见的过敏性疾病，CU可以发生在任何年龄，但以年轻人、青春期后最多见。欧美有研究<sup>[4]</sup>报道该病患病率为0.1%~3.0%，女性多见<sup>[4]</sup>。该病特点为皮肤瘙痒及反复发作的风团且难以完全治愈，严重影响患者的生活质量<sup>[4-6]</sup>。CU的发病机制不明，病因较多，可能与自身免疫、环境、遗传等因素相关。随着对CU研究的不断深入，基因遗传多态性与CU的发病引人关注<sup>[7-9]</sup>。慢性自发性荨麻疹(chronic spontaneous urticarial, CSU)在CU中最常见<sup>[10-11]</sup>。CSU发病的中心环节之一是肥大细胞脱颗粒，释放炎性因子和细胞因子<sup>[12-13]</sup>。肥大细胞的激活脱颗粒与胞质内钙离子浓度上升密切相关，浓度升高的钙离子一方面与活化T细胞核因子(nuclear factor

of activated T-cells, NFAT)等蛋白结合进入细胞核内，调节细胞因子的合成及转录因子的功能，另一方面促进肥大细胞脱颗粒，从而引起炎症反应<sup>[14]</sup>。在该过程中，主要存在2种钙离子内流的方式，分别为钙库控制的钙离子内流(store-operated Ca<sup>2+</sup> entry, SOCE)和非钙库控制的钙离子内流(non-SOCE)<sup>[15-16]</sup>。

L型钙离子通道(L-type Ca<sup>2+</sup> channel, LTCC)是一种电压门控通道，由3个穿膜亚单位( $\alpha_1$ ,  $\gamma$ 和 $\alpha_2/\delta$ 复合体)以及1个胞质链( $\beta_1$ )构成，在细胞膜去极化时引起钙离子的内流<sup>[17]</sup>。研究<sup>[18]</sup>表明LTCC是介导non-SOCE的重要通道，肥大细胞配体与免疫球蛋白E(immunoglobulin E, IgE)交联后引起的胞质内钙离子升高是由LTCC通道引起的，而其中LTCC的二氢吡啶(dihydropyridine, DHP)敏感的 $\alpha_1$ 亚基起到了重要的调控作用。

CACNA1C基因是LTCC中 $\alpha_{1c}$ 亚基的编码基因, CACNA1C基因的突变与精神方面的疾病易感性相关, 比如有研究<sup>[19]</sup>显示rs1006737的突变与双向情感障碍以及精神分裂症存在很大的相关性<sup>[19]</sup>; 也有一些研究<sup>[20-29]</sup>表明该基因的突变在树突形成、神经元存活、突触塑性、记忆形成、学习以及行为习得中扮演重要角色; 同时, 还有研究<sup>[30]</sup>表明该基因的突变与室性心动过速存在相关性, 但很少有该基因与免疫方面疾病相关性的报道。

鉴于CACNA1C基因与LTCC的关系<sup>[30]</sup>, 作者将该基因遗传多态性与CSU的发病及治疗效果的相关性进行研究。在本实验中, 使用已收集的191例CSU患者的外周血, 以千人基因组计划中105例健康中国南方人群的基因资料作对照, 采用候选片段相关研究策略法, 研究CACNA1C基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)位点与CSU易感性及疗效的相关性, 从遗传学层面探讨CSU的发病机制及药物疗效。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

根据以下入组条件收集中南大学湘雅医院皮肤科门诊临床诊断为CSU的患者: 1)CSU患者(排除慢性诱导性CU及急性CU); 2)病程>6周, 年龄>18岁; 3)近1周内未服用过抗组胺药物; 4)不合并其他系统性疾病; 5)未同时服用其他治疗药物如止痛药、抗凝药等; 6)获得本人已签字的知情同意书。最终共入选191例, 其中男77例, 女114例, 病例样本主要来自中国南方汉族人群, 人群分布主要为湖南、江西、贵州。收集病例样本的临床资料, 其中患者年龄为 $(36.48\pm12.30)$ 岁, 体重指数(body mass index, BMI)为 $(22.41\pm3.66)$ kg/m<sup>2</sup>, 血清C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平为 $(3.54\pm5.43)$ mg/dL。入选前所有患者均告知其研究方法及意义, 并签字同意, 该研究通过伦理委员会批准, 并在临床试验相关网站注册(项目编号ChiCTR-OCH-14004518)。本研究中对照者数据来自105例千人基因组计划中正常中国南方人群资料。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 外周血提取全基因组DNA

使用QIAGEN全血试剂盒(德国Hilden公司), 具体步骤如下: 1)将抗凝血从-20℃冰箱中取出, 置于37℃水浴中30 min; 2)吸取1 000 μL的FlexiGene(FG)1至1.5 mL离心管中, 加入全血500 μL, 并上下颠倒离心管5~10次, 将二者混合; 3)1 000 r/min离心1 min; 4)弃上清液, 将EP管小心倾斜, 慢慢倒出上清液,

保证管底沉淀留在管子内, 将EP管小心倒置在吸水纸上, 吸走部分未流出的液体; 5)加入250 μL FG2及蛋白酶混合液到EP管中。蛋白酶与FG2的比例为1:100。迅速盖好管子, 立即震荡, 至沉淀完全溶解。每个样本添加完FG2/蛋白酶混合液后立即单独震荡, 若震荡后还有未溶解物质, 则可再向管中加入适量FG2/蛋白酶混合液, 并震荡; 6)将EP管至于65℃中约5 min, 待样本的颜色由红色变为橄榄绿色; 7)向管中加入250 μL异丙醇, 上下颠倒, 充分混合, 直到DNA沉淀以丝状或者絮状出现为止; 8)12 000 r/min离心5 min; 9)弃上清液, 将EP管倒置于吸水纸上, 保证DNA沉淀留在管底; 10)加入250 μL的70%的乙醇, 上下颠倒, 涡旋震荡5 s; 11)12 000 r/min离心5 min; 12)弃上清, 将EP管倒置于干净的吸水纸上5 min, 保证DNA沉淀留在管底, 空气中干燥10 min; 13)加入200 μL FG3溶液, 37℃溶解过夜, 置-80℃冰箱中备用。

#### 1.2.2 候选基因及候选SNPs位点的选择

利用美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的PubMed数据库, 查阅与CSU发病相关的基因作为CSU易感性的候选基因。利用NCBI-核苷酸多态性数据库(Single Nucleotide Polymorphism database, dbSNP)数据库和人类国际基因组单倍型图计划(Hapmap)中公布的中国人群候选基因的SNP数据, 并综合NCBI-PubMed数据库中相关文献, 选取可能与疾病相关的SNPs位点, 或者位于候选基因功能区域的SNPs位点作为候选SNPs位点。所有入选SNPs位点的最小等位基因频率(minor allele frequency, MAF)大于0.05。

选取所需SNPs位点后, 通过SNPs分型平台, 即3730XL Snapshot平台, 对CSU患者及健康对照的候选SNPs位点进行分型。核心反应(即延伸反应)体系中包含测序酶、4种荧光标记脱氧核糖核苷三磷酸(ddNTP)、紧挨多态位点5'-端的不同长度延伸引物、包含SNP位点的PCR产物模板。通过反应, 引物延伸一个碱基即终止, 再经测序仪检测, 根据峰的移动位置确定该延伸产物对应的SNP位点, 根据峰的颜色可得知掺入的碱基种类, 从而确定该样本的基因型。

#### 1.2.3 非镇静类抗组胺药治疗CSU的疗效研究

1)对入选患者进行用药前CSU疾病活动评分(Urticaria Activity Score 7, UAS7)及生活质量评分(Dermatology Life Quality Index, DLQI)。2)将服用单药患者依据不同用药情况分为地氯雷他定(5 mg/d)组、咪唑斯汀(10 mg/d)组及非索非那定(120 mg/d)组, 用药4周后进行UAS7和DLQI评分。3)进行不同用药组的药物疗效评价。其中UAST评分中, 风团评分

规则如下：无(0分)，<20个(1分)，20~50个(2分)，>50个(3分)；瘙痒程度评分规则如下：无瘙痒(0分)，轻度瘙痒(1分)，中度瘙痒(2分)，重度瘙痒(3分)。7 d风团和瘙痒评分总和即为UAS7评分。当患者治疗后UAS7的评分较治疗前UAS7的评分下降不少于50%，则认为此次治疗为有效，反之，则认为无效<sup>[31-32]</sup>。

### 1.3 统计学处理

本研究通过直接对SNPs位点等位基因型和等位基因数进行计数，计算各基因型频率和等位基因频率。应用SPSS 22.0对数据进行统计学分析。CSU病例和正常南方人群之间的临床特征以及UAS7和DLQI评分均使用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示，并采用单因素方差分析进行分析；不同基因型及等位基因频率之间易感性及使用非镇静类第二代抗组胺药的疗效比较均采用 $\chi^2$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

对191例CSU患者的全血DNA进行飞行质谱分析后，选取CACNA1C基因3个SNPs位点基因型均明确的189例患者进行统计学分析。

### 2.1 SNPs位点不同基因型的临床特征分析及UAS7和DLQI评分

在189名患者中，比较SNPs位点不同基因型的患者性别(男=1，女=2)、年龄、BMI和CRP水平，结果发现CSU患者血清CRP水平与rs7316246位点上基因型的频率有关( $P=0.016$ )，其余各因素均与CSU的发病不相关(均 $P>0.05$ ，表1)。同时将不同位点不同基因型的UAS7及DLQI评分进行统计学分析，结果发现UAS7与DLQI在以上3个位点不同基因型间无明显差异(表2)。

### 2.2 候选基因SNPs位点与CSU易感性的关联分析

将入组CSU患者CACNA1C基因单个SNP位点进行基因分型后，分析其与疾病的关系，结果发现患者rs58619945携带G等位基因频率明显高于A等位基因( $OR=0.660$ ,  $P=0.016$ ；表3)；rs58619945AA+AG基因型与GG基因型相比，CSU患者与正常南方人群存在差异( $OR=1.780$ ,  $P=0.042$ ；表4)；而CACNA1C基因rs7316246和rs216008两个SNPs等位基因频率在CSU患者及正常南方人群中差异不明显，不具有统计学意义(表4)。

表1 CSU患者CACNA1C候选各SNPs位点不同基因型的临床特征( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Clinical characteristics of all genotypes of chosen CACNA1C SNPs in the CSU patients ( $\bar{x}\pm s$ )

临床特征	rs58619945			<i>P</i>
	AA( <i>n</i> =36)	GG( <i>n</i> =61)	AG( <i>n</i> =92)	
性别	1.56±0.50	1.60±0.49	1.61±0.49	0.164
年龄/岁	36.5±12.19	37.56±11.31	35.75±12.89	0.478
BMI/(kg·m <sup>-2</sup> )	22.18±2.89	22.88±3.33	22.19±4.06	0.534
CRP/(mg·dL <sup>-1</sup> )	2.37±1.51	3.50±4.76	3.96±6.44	1.341
临床特征	rs7316246			<i>P</i>
	AA( <i>n</i> =2)	GG( <i>n</i> =156)	AG( <i>n</i> =31)	
性别	1.5±0.71	1.61±0.49	1.56±0.50	3.361
年龄/岁	51±7.07	36.02±12.46	37.84±11.28	1.504
BMI/(kg·m <sup>-2</sup> )	25.55±0.23	22.51±3.33	21.70±5.00	0.811
CRP/(mg·dL <sup>-1</sup> )	2.31±1.42	3.54±5.80	3.62±3.54	0.016
临床特征	rs216008			<i>P</i>
	AA( <i>n</i> =38)	GG( <i>n</i> =76)	AG( <i>n</i> =75)	
性别	1.5±0.51	1.68±0.47	1.56±0.50	0.811
年龄/岁	35.53±11.44	38.70±11.73	34.53±12.98	4.001
BMI/(kg·m <sup>-2</sup> )	22.55±3.62	22.91±3.28	22.12±3.08	0.811
CRP/(mg·dL <sup>-1</sup> )	5.48±10.20	3.43±3.48	2.58±2.58	2.044

表2 各SNPs位点上不同基因型患者UAS7和DLQI评分的比较( $\bar{x}\pm s$ )Table 2 Comparison of UAS7 and DLQI among all different genotype of chosen SNPs ( $\bar{x}\pm s$ )

SNPs位点	基因型	UAS7评分	P	DLQI评分	P
rs58619945	AA	29.42±9.88	0.196	7.47±6.28	0.402
	AG	27.60±10.95		6.49±3.94	
	GG	30.81±11.02		7.49±5.59	
rs7316246	AA	42.00±0.00	0.214	13.00±14.14	0.156
	AG	28.13±11.38		7.70±5.41	
	GG	28.99±10.69		6.79±4.79	
rs216008	TT	29.63±10.43	0.919	7.27±5.81	0.686
	TC	28.81±11.31		7.27±5.28	
	CC	28.83±10.63		6.62±4.32	

表3 CACNA1C SNPs等位基因与CSU易感性的关联分析

Table 3 Correlation analysis of CACNA1C SNPs allele and susceptibility of CSU

组别	n	rs58619945/[例(%)]		rs7316246/[例(%)]		rs216008/[例(%)]	
		A	G	A	G	T	C
CSU患者	189	164(43.4)	214(56.6)	35(9.3)	343(90.7)	151(39.9)	227(60.1)
正常南方人群	105	113(53.8)	97(46.2)	22(10.5)	188(89.5)	79(37.6)	131(62.4)
P		0.016		0.664		0.598	
OR(95% CI)		0.660(0.470~0.925)		0.889(0.508~1.556)		1.103(0.780~1.560)	

表4 CACNA1C SNPs位点基因型与CSU易感性的关联分析

Table 4 Correlation analysis of CACNA1C SNPs genotype and susceptibility of CSU

组别	n	rs58619945/[例(%)]						P	OR(95% CI)
		AA	AG	GG	P	GG	AA+AG		
CSU患者	189	36(19.4)	92(48.3)	61(32.3)	0.055	61(32.3)	128(67.7)	0.042	1.780(1.022~3.100)
正常南方人群	105	31(29.5)	51(48.6)	23(21.9)		23(21.9)	82(78.1)		
rs7316246/[例(%)]									
组别		AA	AG	GG	P	GG	AA+AG	P	OR(95% CI)
CSU患者		2(1.1)	31(16.4)	156(82.5)	0.819	156(82.5)	33(17.5)	0.753	0.899(0.486~1.663)
正常南方人群		2(1.9)	18(17.1)	85(81.0)		85(81.0)	20(19.0)		
rs216008/[例(%)]									
组别		TT	TC	CC	P	CC	TT+TC	P	OR(95% CI)
CSU患者		38(20.3)	75(40.1)	76(40.6)	0.524	76(40.6)	113(60.4)	0.079	1.607(0.950~2.719)
正常南方人群		16(15.2)	47(44.8)	42(40.0)		42(40.0)	63(60.0)		

### 2.3 候选基因多态性与非镇静类第二代抗组胺药治疗CSU疗效的关联分析

在189个病例样本中, 咪唑斯汀组有64例, 非索非那定组有12例, 地氯雷他定组有113例, 所有用药的疗程均为4周。该实验中, 在只讨论上述非镇静类第二代抗组胺药治疗CSU疗效与患者3个SNPs等位基因的关系时, 发现CSU患者CACNA1C基因3个SNPs位

点不同等位基因之间抗组胺药疗效差异不具有统计学意义( $P>0.05$ , 表5)。将患者不同用药疗效细化后分析发现(单用非索非那定组病例数太少, 不纳入分析): 单用地氯雷他定组在rs216008位点不同等位基因间疗效存在差异( $OR=0.480$ ,  $P=0.029$ ), 而其余2个等位基因未观察到此种现象( $P>0.05$ , 表6)。单用咪唑斯汀组中3个SNPs之间差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表6)。

表5 非镇静类第二代抗组胺药物治疗患者时3个SNPs不同等位基因的疗效对比

Table 5 Comparative analysis of efficacy of 3 different SNPs alleles in the treatment of non-sedative second-generation antihistamines

组别	rs58619945/[例(%)]		rs7316246/[例(%)]		rs216008/[例(%)]	
	A	G	A	G	T	C
有效	113(42.2)	155(57.8)	29(10.8)	239(89.2)	108(44.3)	136(55.7)
无效	51(46.4)	59(53.6)	6(5.5)	104(94.5)	43(39.1)	67(51.1)
P	0.454		0.102		0.363	
OR(95% CI)	0.843(0.540~1.318)		2.103(0.848~5.218)		0.237(0.782~1.958)	

表6 不同抗组胺药物对各SNPs不同等位基因的疗效对比

Table 6 Comparative analysis of efficacy of different antihistamine drugs on different SNPs alleles

组别	地氯雷他定/[例(%)]					
	rs58619945		rs7316246		rs216008	
	A	G	A	G	T	C
有效	66(44.0)	84(66.0)	15(10.0)	135(90.0)	67(48.9)	70(51.1)
无效	27(50.0)	27(50.0)	3(5.6)	51(94.4)	17(31.5)	37(68.5)
P	0.524		0.323		0.029	
OR(95% CI)	1.273(0.682~2.374)		0.529(0.147~1.906)		0.480(0.247~0.933)	
组别	咪唑斯汀/[例(%)]					
	rs58619945		rs7316246		rs216008	
	A	G	A	G	T	C
有效	20(43.5)	26(56.5)	3(6.5)	43(93.5)	20(43.5)	26(56.5)
无效	43(42.2)	59(57.8)	14(13.7)	88(86.3)	39(39.0)	61(61.0)
P	0.88		0.203		0.608	
OR(95% CI)	0.9470(0.469~1.914)		2.28(0.622~8.360)		0.831(0.409~1.687)	

### 3 讨 论

CACNA1C基因位于染色体12p13.3, 生成大约6.45 Mb的基因组区段(基因ID为775)。该基因由至少55个外显子组成<sup>[33]</sup>, 外显子约740 kb。CACNA1C基因负责编码LTCC中 $\alpha_{1c}$ 亚基, 该亚基是构成LTCC的主要亚单位,  $\alpha_{1c}$ 亚基由4个同源域构成(I~IV), 每个域又有6个穿膜的 $\alpha$ 螺旋片段(S1~S6), 这些穿膜蛋白片段构成配体的结合位点并形成跨膜的亲水通道, 膜电位的变化可以引起该亚基中带正电荷的氨基酸残基改变电性, 从而改变通道的构型, 使通道开放或关闭<sup>[34~37]</sup>, 从而引起肥大细胞内钙离子浓度的变化, 进一步引起细胞脱颗粒。故推测CACNA1C基因的遗传多态性可以通过影响肥大细胞激活与脱颗粒过程, 从而影响CSU的发病。

本实验通过病例-对照研究, 采用候选基因相关研究策略, 对191例CSU患者CACNA1C基因中的3个SNPs位点进行测序, 然后将3个SNPs位点基因型均

明确的189例患者的检测结果与千人基因组计划资料中的中国南方人群对应的SNPs比较, 发现rs58619945位点上患者的G等位基因频率高于A等位基因, 说明该位点的不同等位基因与CSU的易感性可能相关, 其余2个位点的多态性与CSU发病可能无关。此外, rs58619945位点上基因型AA+AG与基因型GG相比, CSU患者与正常南方人群之间存在明显差异, 这可能是因为该基因位点存在共显性。该位点上G等位基因频率明显高于A等位基因, 患者中GG/(AA+AG)的比例高于正常南方人群, 携带GG基因型患者可能与CSU发病相关, 但该结果仍需要扩大样本量进一步验证。CACNA1C基因的rs58619945突变是位于基因上游内含子的突变, 该位点突变引起CSU易感性发生改变的可能的机制是该突变使得CACNA1C基因表达发生改变, 从而可能影响肥大细胞上 $\alpha_{1c}$ 亚基表达数量或者构型的变化, 使此位点上存在不同等位基因的人易感性升高, 可以通过将CACNA1C基因rs58619945突变转导入肥大细胞模型后, 测定其编码蛋白表达情

况, 从而进一步验证。

另一方面, 有回顾性研究<sup>[38]</sup>曾报道, CRP水平较高的CSU患者对比CRP较低者在治疗后复发率升高, 并具有统计学意义。也有研究<sup>[39]</sup>报道, 较高的CRP水平可能与CSU疾病严重程度相关。本实验在研究CSU患者特定SNP位点的基因型与各病例的临床特征时发现: rs7316246位点与CSU患者血清CRP水平存在相关关系, 可以推测如果患者存在rs7316246位点上的突变, 有可能提示疾病的严重程度及预后的差异。但该突变引起的CRP差异的临床意义仍需要进一步的研究, 如果存在相关关系, 对于该类CSU患者可能需要个体用药。

另外, 本实验通过将CSU患者的候选3个SNPs位点的测序结果与其用药(非选择性H<sub>1</sub>受体拮抗剂)后的疗效比较, 发现不同SNPs不同等位基因的患者间疗效无明显差别。在将患者用药种类细化后, 进行疗效对比发现: 单用咪唑斯汀组的3个SNPs之间无明显差异; 地氯雷他定组可以通过结合细胞表面H<sub>1</sub>受体使得被组胺激活的细胞内钙离子水平下降, 起到拮抗组胺的作用<sup>[40]</sup>, 单用地氯雷他定组rs216008位点不同等位基因间疗效存在差异, 这表明rs216008位点上不同等位基因调控的蛋白可能与地氯雷他定发挥抗组胺作用的靶点有关, 或者表明rs216008位点上不同等位基因可能与地氯雷他定药物作用疗效有关, 而其余2个等位基因未见此种差异。

## 参考文献

- [1] Zuberbier T, Aberer W, Asero R, et al. The EAACI/GA (2) LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2013 revision and update[J]. Allergy, 2014, 69(7): 868-887.
- [2] 中华医学会皮肤性病学分会免疫学组. 中国荨麻疹诊疗指南(2014版)[J]. 中华皮肤科杂志, 2014, 47(7): 514-516.
- [3] 中华医学会皮肤性病学分会免疫学组. 中国荨麻疹诊疗指南(2014版)解读[J]. 中华皮肤科杂志, 2016, 49(6): 388-390.
- [4] LOU Jie, SONG Zhiqiang, ZHONG Hua, et al. Clinical epidemiological characteristics of chronic urticaria: report of 535 cases[J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2011, 33(22): 2421-2424.
- [5] ZHAO Zutao, HAO Fei. Interpretation of urticaria guidelines in China (2014 version)[J]. Chinese Journal of Dermatology, 2016, 49(6): 388-390.
- [6] Hennino A, Berard F, Guillot I, et al. Pathophysiology of urticaria[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2006, 30(1): 3-11.
- [7] WU Yixuan, SHEN Huifeng. Advances in study on pathogenesis of chronic urticaria[J]. Journal of Clinical Dermatology, 2008, 37(2): 136-137.
- [8] Suzuki Y, Inoue T, Ra C. Calcium signaling in mast cells: focusing on L-type calcium channels[J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 740: 955-77.
- [9] Suzuki Y, Yoshimaru T, Inoue T, et al. Cav1.2 L-type Ca<sup>2+</sup> channel protects mast cells against activation-induced cell death by preventing mitochondrial integrity disruption[J]. Mol Immunol, 2009, 46(11/12): 2370-2380.
- [10] Suzuki Y, Yoshimaru T, Inoue T, et al. The high-affinity immunoglobulin E receptor (FcεRI) regulates mitochondrial calcium uptake and a dihydropyridine receptor-mediated calcium influx in mast cells: Role of the FcεRIβ chain immunoreceptor tyrosine-based activation motif[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 75(7): 1492-1503.
- [11] Bodl I, Mikala G, Koch SE, et al. The L-type calcium channel in the

- heart: the beat goes on[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(12): 3306.
- [18] Yoshimaru T, Suzuki Y, Inoue T, et al. L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels in mast cells: activation by membrane depolarization and distinct roles in regulating mediator release from store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  channels[J]. *Mol Immunol*, 2009, 46(7): 1267-1277.
- [19] Lancaster TM, Heerey EA, Mantripragada K, et al. CACNA1C risk variant affects reward responsiveness in healthy individuals[J]. *Transl Psychiatry*, 2014, 4(10): e461.
- [20] Bhat S, Dao DT, Terrillion CE, et al. CACNA1C (Cav1.2) in the pathophysiology of psychiatric disease[J]. *Prog Neurobiol*, 2012, 99(1): 1-14.
- [21] Barad M. Later developments: molecular keys to age-related memory impairment[J]. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2003, 17(3): 168.
- [22] Dudkin SM, Polev PV, Soldatov NM. Calcium entry blockers and oxiracetam have opposite effects on the density of dihydropyridine receptors in rat cerebral cortex[J]. *Brain Res*, 1990, 525(2): 319-321.
- [23] Kibrinsky E, Duong SQ, Sheydina A, et al. Microdomain organization and frequency-dependence of CREB-dependent transcriptional signaling in heart cells[J]. *FASEB J*, 2011, 25(5): 1544-1555.
- [24] Moosmang S, Haider N, Klugbauer N, et al. Role of hippocampal Cav1.2  $\text{Ca}^{2+}$  channels in NMDA receptor-independent synaptic plasticity and spatial memory[J]. *J Neurosci*, 2005, 25(43): 9883.
- [25] Shibasaki M, Kurokawa K, Ohkuma S. Upregulation of L-type Cav1 channels in the development of psychological dependence[J]. *Synapse*, 2010, 64(6): 440-444.
- [26] West AE, Chen WG, Dalva MB, et al. Calcium regulation of neuronal gene expression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(20): 11024.
- [27] Wheeler DG, Barrett CF, Groth RD, et al. CaMKII locally encodes L-type channel activity to signal to nuclear CREB in excitation-transcription coupling[J]. *J Cell Biol*, 2008, 183(5): 849.
- [28] White JA, McKinney BC, John MC, et al. Conditional forebrain deletion of the L-type calcium channel Cav1.2 disrupts remote spatial memories in mice[J]. *Learn Mem*, 2008, 15(1): 1.
- [29] Yoshii M, Watabe S. Enhancement of neuronal calcium channel currents by the nootropic agent, nefiracetam (DM-9384), in NG108-15 cells[J]. *Brain Res*, 1994, 642(1/2): 123-131.
- [30] Bai J, Wang K, Li Q, et al. Pro-arrhythmogenic effects of CACNA1CG1911R mutation in human ventricular tachycardia: insights from cardiac multi-scale models[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31262.
- [31] Sanada S, Tanaka T, Kameyoshi Y, et al. The effectiveness of montelukast for the treatment of anti-histamine-resistant chronic urticaria[J]. *Arch Dermatol Res*, 2005, 297(3): 134-138.
- [32] Akoglu G, Atakan N, Cakir B, et al. Effects of low pseudoallergen diet on urticarial activity and leukotriene levels in chronic urticaria[J]. *Arch Dermatol Res*, 2012, 304(4): 257-262.
- [33] Soldatov NM. Genomic structure of human L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel[J]. *Genomics*, 1994, 22(1): 77-87.
- [34] 张月华, 吴希如. 钙离子通道与人类遗传病[J]. 中华儿科杂志, 2004, 42(7): 547-550.
- ZHANG Yuehua, WU Xiru. Calcium channels and human genetic diseases[J]. *Journal of Pediatrics*, 2004, 42(7): 547-550.
- [35] Abernethy DR, Soldatov NM. Structure-functional diversity of human L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel: perspectives for new pharmacological targets[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 300(3): 724.
- [36] Mikami A, Imoto K, Tanabe T, et al. Primary structure and functional expression of the cardiac dihydropyridine-sensitive calcium channel[J]. *Nature*, 1989, 340(6230): 230-233.
- [37] Tanabe T, Takeshima H, Mikami A, et al. Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle[J]. *Nature*, 1987, 328(6128): 313-318.
- [38] Kasperska-Zajac A. Acute-phase response in chronic urticaria[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2012, 26(6): 665-672.
- [39] 郭霞. 慢性荨麻疹患者血液学指标的改变及对预后的影晌[J]. 中华全科医学, 2015, 13(11): 1789-1790.
- GUO Xia. The study of the correlation between acute-phase response biomarkers and coagulation/fibrinolysis in patients with chronic urticaria[J]. *Chinese Journal of General Practice*, 2015, 13(11): 1789-1790.
- [40] Anthes JC, Gilchrest H, Richard C, et al. Biochemical characterization of desloratadine, a potent antagonist of the human histamine H(1) receptor[J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 449(3): 229.

(本文编辑 傅希文)

**本文引用:** 严晋洁, 李清霖, 罗宇雪, 闫思聿, 贺毅慷慨, 陈翔. CACNA1C基因的遗传多态性与慢性自发性荨麻疹易感性及预后的相关研究[J]. 中南大学学报(医学版), 2018, 43(9): 929-936. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2018.09.001

**Cite this article as:** YAN Jinjie, LI Qinglin, LUO Yuxue, YAN Siyu, HE Yijing, CHEN Xiang. Association of CACNA1C gene genetic polymorphism with the susceptibility as well as prognosis for chronic spontaneous urticaria[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2018, 43(9): 929-936. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2018.09.001