

# 中国汉族人群 rs12740374 单核苷酸多态性与急性缺血性脑卒中的关联性研究

张晶晶, 余丽华, 尹延英, 卢倩, 雷蕾, 肖静, 郭建

赵晶晶, 王雅楠, 何国倩, 徐严明, 何俐<sup>△</sup>

四川大学华西医院 神经内科(成都 610041)

**【摘要】** 目的 采用病例-对照研究方式,探讨中国汉族人群中 rs12740374 基因多态性与缺血性脑卒中的相关关系。方法 应用连接酶(LDR)的方法对所有受试者(778 例缺血性脑卒中患者及 602 例对照)进行基因型分型,分析两组间 rs12740374 位点基因型频率的差异及该位点基因多态性与患者血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)浓度的关系。结果 卒中组和对照组均检出了 GG、GT、TT 3 种基因型。运用 logistic 回归校正多种混杂因素后,结果发现 rs12740374 基因多态性与缺血性脑卒中无明显关系。携带 rs12740374 等位基因 T 的受试者,血清平均 LDL-C 水平均较 GG 型受试者低,但差异无统计学意义。结论 中国汉族人群中 rs12740374 位点与缺血性脑卒中之间可能无明确关联;rs12740374 可能与不同基因型受试者的 LDL-C 差异有关。

**【关键词】** 缺血性脑卒中 rs12740374 单核苷酸多态性 低密度脂蛋白胆固醇 病例-对照研究

**Association Between SNP rs12740374 and Acute Ischemic Stroke in Chinese Han Population** ZHANG Jing-jing, YU Li-hua, YIN Yan-ying, LU Qian, LEI Lei, XIAO Jing, GUO Jian, ZHAO Jing-jing, WANG Ya-nan, HE Guo-qian, XU Yan-ming, HE Li<sup>△</sup>. Department of Neurology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: heli2003new@126.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the association between single nucleotide polymorphism (SNP) rs12740374 and acute ischemic stroke in Chinese Han population. **Methods** All subjects (778 ischemic stroke patients and 602 controls) were genotyped using ligation detection reaction (LDR). We analyzed the differences among all genotypes in two groups, as well as the association between rs12740374 and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C). **Results** All three genotypes (GG, GT, TT) of rs12740374 were found in both stroke and control group. After adjusting for risk factors, although there was a trend that participants with a minor allele T of rs12740374 (GT/TT) had lower LDL-C concentration, no significant association was found between rs12740374 and ischemic stroke, and also no significant association between different genotypes and LDL-C was found. **Conclusion** SNPs of rs12740374 was not significantly associated with ischemic stroke in the Chinese Han population.

**【Key words】** Ischemic stroke rs12740374 Single nucleotide polymorphism Low-density lipoprotein cholesterol Case-control study

卒中是目前导致死亡和残疾最常见的疾病之一<sup>[1,2]</sup>。据统计,每年中国人的年龄标化后卒中平均死亡率为 52~142/10<sup>4</sup><sup>[3]</sup>。缺血性脑卒中是卒中的重要类型之一,其主要病理基础为动脉粥样硬化,与遗传因素亦存在很大的关系<sup>[4]</sup>。近年来,全基因组关联研究(GWAS)相继识别出一系列与缺血性脑卒中遗传因素和危险因素相关的候选基因<sup>[5-11]</sup>。其中,血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)作为缺血性脑卒中重要的危险因素之一,其相关基因也被证

实与该病相关<sup>[12]</sup>;亦有研究表明,降低 LDL-C 能够降低缺血性脑卒中的发病风险<sup>[13-17]</sup>。

最近,Musunuru 等<sup>[18]</sup>通过大规模人群研究发现,位于染色体 1p13 的 rs12740374 位点与另一动脉粥样硬化性疾病——心肌梗死呈强相关,尤其与 LDL-C 关联性最强;该位点可上调 SORT1 基因表达,从而降低血清 LDL-C 水平。戴慧蓉等<sup>[19]</sup>亦发现,rs12740374 与中国维族人群心肌梗死相关。心肌梗死与缺血性脑卒中发病机制有一定相似性,且 LDL-C 对后者同样是一个重要的危险因素,目前尚未见到在中国汉族人群对该单核苷酸多态性(SNP)

位点与该病关联的相关文献报道。因此,我们首次在中国汉族人群中对 rs12740374 位点进行缺血性脑卒中的大样本病例-对照研究,以探讨该位点与中国汉族人群中缺血性脑卒中的关联性。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

所有入选对象均为中国西南地区汉族人群,遵循知情同意原则,所有对象均已被告知。①卒中组:共 778 例,其中男性 497 例,女性 281 例,平均年龄为 (59.3±11.2) 岁,均为四川大学华西医院神经内科 2009 年 4 月至 2011 年 9 月收治的缺血性脑卒中患者,依据 WHO 关于缺血性脑卒中的诊断标准<sup>[20]</sup>,病例均具有缺血性脑卒中病史,如局部神经功能缺损症状和体征,以及经 CT 或 MRI 确诊的缺血性脑卒中病灶,并排除脑出血、蛛网膜下腔出血、脑肿瘤、脑血管畸形、治疗低分子肝素试验(TOAST)分型中不明原因卒中以及有冠心病史、服用过降脂药物的患者<sup>[21]</sup>。本研究中将卒中组分为 3 种主要类型:大动脉粥样硬化型卒中(TOAST=1),心源性脑栓塞(TOAST=2)以及小动脉闭塞性卒中(TOAST=3);②对照组:共 602 例,其中男性 343 例,女性 259 例,平均年龄为 (54.4±10.3) 岁,选取自同期临床检查无卒中病史、头颅 CT 或 MRI 无脑梗塞的人群。入选对象中高血压定义为收缩压 $\geq 140$  mmHg 或舒张压 $\geq 90$  mmHg (1 mmHg=0.1333 kPa),或正在进行降压治疗的高血压患者;糖尿病定义为随机血糖水平 $\geq 7.0$  mmol/L,或正在进行降糖治疗的糖尿病患者;高胆固醇血症定义为血胆固醇大于 200 mg/dL,血甘油三酯大于 150 mg/dL<sup>[22]</sup>。吸烟状态定义为纳入本研究前仍在持续吸烟,或持续戒烟时间未滿 3 年<sup>[23]</sup>。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 DNA 抽提** 取受试者清晨空腹外周静脉血 5 mL,经 EDTA 抗凝,应用血 DNA 提取试剂盒提取 DNA(美国 Axygen 公司产品,并按照说明书严格操作),保存于 $-20$  °C。

**1.2.2 血清胆固醇水平测定** 两组受试者均于禁食隔夜后采血,离心取血清,测定血清总胆固醇(TC),甘油三酯(TG)和 LDL-C 水平。以上指标均由 Roche Modular DDP 生化仪测定。

**1.2.3 连接酶方法(LDR)检测 rs12740374 位点多态性** 本研究的基因型检测基于连接酶方法,并委托上海翼和应用生物技术有限公司进行操作(<http://www.biowing.com.cn/>)<sup>[24,25]</sup>。针对

rs12740374 位点特异性扩增的上游引物为 5'-AAGTTGCGCTTCTTTGCTGT-3',下游引物为 5'-AGAGGCCACAGCAGGTTAGA-3',扩增片段长度为 181 bp。①PCR 体系(20  $\mu$ L 体系):采用多重 PCR 扩增 DNA 序列,PCR 反应条件为预变性 95 °C 15 min,变性 94 °C 30 s,退火 59 °C 1 min 30 s,延伸 72 °C 1 min 30 s,35 个循环,最后 72 °C 延伸 7 min 终止反应。待反应结束后,取 2  $\mu$ L 反应产物于 30 g/L 琼脂糖凝胶和 0.5 $\times$ TBE 中电泳,剩余样品保存于 $-20$  °C。②连接酶检测 PCR 产物:在 PCR 扩增产物中加入等体积 ddH<sub>2</sub>O 稀释,作为连接反应模板。LDR 反应体系 10  $\mu$ L,在 1.5 mL 的 eppendorf 离心管中分别加入 100  $\mu$ L buffer (10 $\times$ ),100  $\mu$ L Probe Mix,5  $\mu$ L 连接酶及 695  $\mu$ L 去离子水。充分混匀后离心,取 9  $\mu$ L 分装在 200  $\mu$ L 的 PCR 反应管中,最后再加入 1  $\mu$ L PCR 反应产物。反应条件为 95 °C 变性 2 min,35 个循环,每个循环有 2 个温度,94 °C 30 s,50 °C 2 min。各取 1  $\mu$ L LDR 连接产物与 1  $\mu$ L ABI GS-500 ROX 荧光标记分子量标准和 1  $\mu$ L 去离子甲酰胺上样液混合,95 °C 加热变性 2 min,冰中骤冷,于 5% 聚丙烯酰胺和 5 mol/L 尿素中 3000 V 电泳 2.5 h,应用 GENESCAN<sup>TM</sup> 672 软件进行数据收集、泳道线校正、迁移片段大小测量和校正内在分子量标准;运用 Genemapper 软件进行数据分析和基因分型。剩余样品保存于 $-20$  °C。

### 1.3 数据处理与统计学方法

常见的遗传学模型有显性模型、隐性模型和累加模型等。针对本研究来说,SNP rs12740374 包含一个主要等位基因 G 和次要等位基因 T,其中显性模型的计算为 GT+TT vs. GG,隐性模型的计算为 TT vs. GT+GG,累加模型的计算为 GT vs. GG 或 TT vs. GG,由于与血栓相关的 SNP 一般都遵循累加模型的模式(即风险等位基因的拷贝数越多,致病性则越强,具体计算中 GG 定义为 0,GT 定义为 1,TT 定义为 2),因此本研究中关于基因型的计算均基于累加模型<sup>[26]</sup>。两组人群基因型频率采用 SHESIS 软件进行 Hardy-Weinberg 平衡定律检验<sup>[27]</sup>。检验效能采用 NCSS-PASS 11 计算。两组间计量资料的比较采用两组独立样本 *t* 检验,3 组间计量资料的比较采用单因素方差分析;计数资料的比较采用卡方检验;各组基因型的多因素分析采用 logistic 回归分析。 $\alpha_{\text{双侧}}=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 卒中组与对照组的一般特征比较

本研究共纳入 778 例缺血性脑卒中患者和 602 例对照者, 检验效能为 0.8986。危险因素如吸烟、高血压、糖尿病等方面在两组构成比中差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

### 2.2 rs12740374 的基因型检测结果

本研究共检测出 rs12740374 位点的 3 种基因

表 1 卒中组与对照组的一般特征

Table 1 General characteristics of the ischemic stroke (IS) case-control study

	IS group (n=778)	Control group (n=602)	P
Age (yr.)	59.3±11.2	54.4±10.3	<0.001
Female [case (%)]	281 (36.1)	259 (43.0)	0.009
Smoking [case (%)]	295 (37.9)	179 (29.7)	0.001
Hypertension [case (%)]	482 (62.0)	71 (11.8)	<0.001
DM [case (%)]	209 (26.9)	40 (6.6)	<0.001
Hypercholesterolemia [case (%)]	105 (13.5)	90 (15.0)	0.442
Hypertriglyceridemia [case (%)]	234 (30.1)	158 (26.2)	0.118
LDL-C (mmol/L)	2.73±1.12	2.66±0.91	0.255

DM: Diabetes mellitus

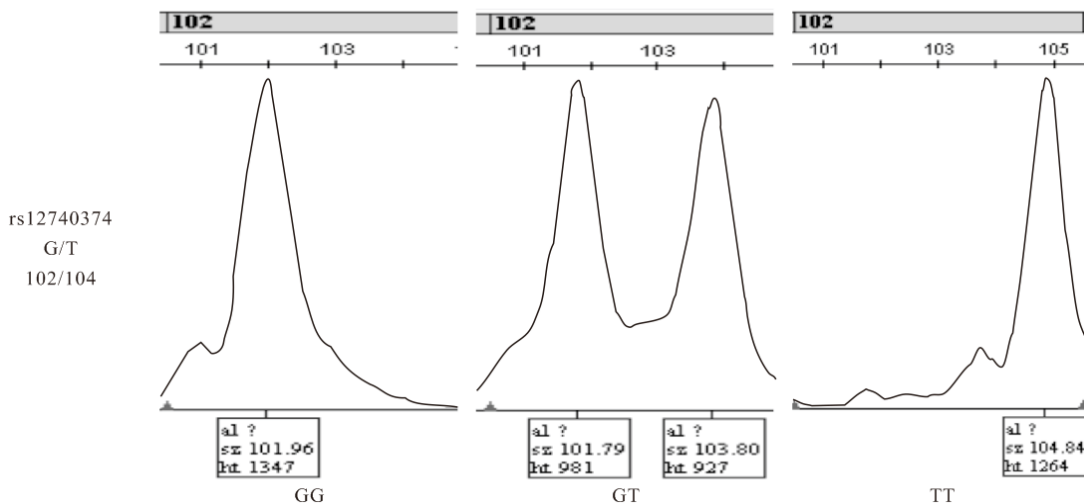
型: GG 型, GT 型, TT 型 (附图), 其中卒中组 GG 型 701 例, GT 型 76 例, TT 型 1 例, 对照组 GG 型 544 例, GT 型 55 例, TT 型 3 例。3 种基因型的分布在对照组中符合 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P = 0.218$ ), 说明研究对象来自同一群体。

### 2.3 卒中组与对照组的 rs12740374 基因多态性比较

本研究基于累加模型计算, 结果表明, 缺血性脑卒中的不同亚型与对照组 rs12740374 位点基因型频率的差异不具有统计学意义。考虑到卒中组与对照组间的临床特征部分指标 (年龄、性别、吸烟、高血压、糖尿病) 存在差异, 我们进行 logistic 回归分析以排除混杂因素的影响, 结果示 rs12740374 位点基因型的不同对于缺血性脑卒中的发生仍无明显影响。见表 2。

### 2.4 rs12740374 基因多态性与血清 LDL-C 水平的关系

结果见表 3。虽然尚未发现血清 LDL-C 水平在不同基因型间的差异有统计学意义, 但可观察到, 不论是全部卒中组、某个卒中亚型或是对照组, 含有



附图 Genemapper 进行数据分析的位点分型截图

Fig Genotype of rs12740374 by Genemapper

表 2 rs12740374 位点不同基因型与缺血性脑卒中的关系

Table 2 Analysis of genotypic association of SNP rs12740374 with ischemic stroke (IS)

SNP	Group	Genotype [case (%)]			Additive model 1		Additive model 2	
		GG	GT	TT	Adjusted-P	OR (95%CI)	Adjusted-P	OR (95%CI)
rs12740374	TOAST=1	387 (89.0)	47 (10.8)	1 (0.2)	0.244	1.338 (0.820-2.181)	0.315	0.215 (0.011-4.318)
	TOAST=2	244 (91.7)	22 (8.3)	NA	0.766	1.142 (0.476-2.740)	NA	NA
	TOAST=3	70 (90.9)	7 (9.1)	NA	0.407	0.746 (0.374-1.490)	NA	NA
	All IS	701 (90.1)	76 (9.8)	1 (0.1)	0.479	1.171 (0.757-1.813)	0.188	0.126 (0.006-2.744)

In subtypes of IS, TOAST=1 indicates large-artery atherosclerosis, TOAST=2 indicates cardioembolism, TOAST=3 indicates small-vessel occlusion. Additive 1 indicates GT vs. GG, and additive 2 indicates TT vs. GG. Adjusted-P value by multivariate logistic regression analysis for potential confounders, including age, gender, smoking, hypertension *et al.* NA indicates data are not available

表 3 rs12740374 基因多态性与血清 LDL-C 水平的关系  
Table 3 Quantitative analysis of SNP rs12740374 with serum LDL-C levels

SNP	Group	LDL-C level (mmol/L)			P
		GG	GT	TT	
rs12740374	TOAST=1	2.78±1.12	2.63±0.75	2.20	0.607
	TOAST=2	2.59±1.01	2.41±0.94	NA	0.647
	TOAST=3	2.73±1.23	2.69±0.88	NA	0.886
	All IS	2.74±1.15	2.62±0.80	2.20	0.626
	Control	2.67±0.93	2.64±0.73	2.39±1.12	0.855

等位基因 T 的受试者的平均 LDL-C 浓度均低于 GG 型受试者,且 TT 型受试者 LDL-C 浓度在 3 种基因型中最低。

### 3 讨论

卒中是一种常见的多基因遗传性疾病,由遗传因素与环境因素共同作用所致。近年来,由于缺血性脑卒中中具有患病比例日趋增高、发病年轻化、致残率高等特点,愈发受到学术界重视<sup>[26]</sup>。

rs12740374 位于染色体 1p13 上的 *CELSR2* 基因和 *PSRC1* 基因之间的非编码区,与 *SORT1* 基因相邻,并和其他 5 个 SNP 高度连锁<sup>[18]</sup>。国外 GWAS 研究结合小鼠肝脏 siRNA 实验表明,rs12740374 的等位基因 T 可产生 C/EBP(CCAAT 增强子结合蛋白)转录因子结合位点,上调 *SORT1* 基因的表达并增加其基因产物 sortilin,通过后者与 apoB100 的相互作用来降低血清 LDL-C 水平<sup>[18]</sup>;值得注意的是,通过 sortilin 通路实现的降脂效果大于他汀类药物(后者为缺血性脑卒中常用降脂药物,可有效降低卒中风险),可能成为新的降脂干预靶点。目前对 rs12740374 位点与疾病的关联性研究并不多,Musunuru 等<sup>[18]</sup>在近 9 000 例非裔美国人和近 20 000 例欧洲人中发现,rs12740374 位点与心肌梗死呈强相关,并与 LDL-C 关联性最强;该位点作为一个保护性因素,可通过作用 *SORT1* 基因,降低血清 LDL-C 水平。而戴慧蓉等<sup>[19]</sup>则得出与前者矛盾的结论,他们检测了 150 例中国维族心肌梗死患者,发现 rs12740374 位点的等位基因 T 可能增加维族人群的心肌梗死发病风险( $OR=2.01, 95\% CI=1.12\sim 3.59, P=0.017$ )。这说明,该位点与心肌梗死的关联尚存争议。

基于心肌梗死和缺血性脑卒中发病机制的相似性,本研究采用病例-对照研究方式,首次探讨了我国汉族人群中 rs12740374 基因多态性与缺血性脑卒中的相关关系。结果表明:①我国汉族人群在该位点存在 G/T 多态性,且基因型分布达到遗传平衡,具有群体代表性;但本研究对照组 rs12740374

的 G/T 多态性分布与 HapMap 报道 ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=12740374](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=12740374))中的中国人汉族基因频率略有差异,可能由于本研究与 HapMap 纳入样本的属性差异(如性别、年龄及地域等)和样本量差异所致(HapMap 纳入样本为 90 例)。②本研究中将卒中组按 TOAST 分型分为 3 种主要亚型(大动脉粥样硬化性,心源性脑栓塞,小动脉闭塞性),结果提示 rs12740374 位点与该 3 种亚型均无明显关联,可能因为:缺血性脑卒中是一种多基因遗传性疾病,同时有多种不同的危险因素(如环境因素)亦作用于该病,致使某个特定基因或位点所能起到的作用十分有限;rs12740374 亦可能通过与附近高度连锁的 SNP 相互作用,从而削弱了单个位点对缺血性脑卒中发病产生的影响。③与国外研究结果一致的是,我们发现对于具有等位基因 T 的受试者,其血清平均 LDL-C 浓度均低于 GG 基因型的受试者,且 TT 基因型受试者的血清 LDL 水平最低,说明等位基因 T 与低 LDL-C 水平可能具有一定关联,rs12740374 可能为一个保护性因素。而戴慧蓉等<sup>[19]</sup>则发现,rs12740374 的次要等位基因 T 为心肌梗死的风险基因,与本研究结果矛盾。其可能因为戴慧蓉等的研究人群为中国维族人群,而本研究仅纳入中国汉族人群,因此,rs12740374 在中国不同民族之间的基因频率差异与疾病发病风险方面的关联值得进一步的研究探讨;另外,因戴慧蓉等的研究样本量较小,亦可能存在纳入人群的偏倚以及假阳性结果的出现。因此,关于该位点是否能够通过其他机制影响心肌梗死和脑梗死的发病风险,仍需要进一步的研究来验证。本研究尚具有一定局限性:①卒中组和对照组有某些基本资料(如性别、年龄)存在一些差异,例如,由于部分对照样本来自健康体检人群,其年龄相对较年轻,造成了两组的年龄差异;因此,我们采用 logistic 回归分析校正上述混杂因素,最大程度减少了这些因素对结果的影响。②由于 LDL-C 为经过大量研究确定的缺血性脑卒中中危险因素,而本研究结果显示血清 LDL-C 在卒中组与对

对照组中差异并无统计学意义,可能由于以下原因所致:虽然本研究已排除所有服用降脂药物的样本,然而对照组人群中包含非健康人群,其疾病状态亦可能影响血清 LDL-C 水平。

综上所述,本研究结果表明,中国汉族人群中 rs12740374 位点与缺血性脑卒中之间无明确关联;但我们发现携带 rs12740374 的等位基因 T 的受试者血清 LDL-C 水平可能更低,这在一定程度上反映出 rs12740374 在降低 LDL-C 方面的作用:其可能为一个重要保护性因素。本研究仍存在一定局限性,因此,为了进一步阐明 rs12740374、LDL-C 及缺血性脑卒中三者间的关联,未来仍需要进行多种族、多中心、大样本和前瞻性的人群研究,以及功能实验方面的深入探索。

### 参 考 文 献

- Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, *et al.* Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 2011; 123(4): e18-e209.
- Warlow C, Sudlow C, Dennis M, *et al.* Stroke. *Lancet*, 2003; 362(9391): 1211-1224.
- Liu M, Wu B, Wang WZ, *et al.* Stroke in China: epidemiology, prevention, and management strategies. *Lancet Neurol*, 2007; 6(5): 456-464.
- Dichgans M. Genetics of ischaemic stroke. *Lancet Neurol*, 2007; 6(2): 149-161.
- Matsushita T, Ashikawa K, Yonemoto K, *et al.* Functional SNP of ARHGEF10 confers risk of atherothrombotic stroke. *Hum Mol Genet*, 2010; 19(6): 1137-1146.
- Helgadottir A, Gretarsdottir S, St Clair D, *et al.* Association between the gene encoding 5-lipoxygenase-activating protein and stroke replicated in a Scottish population. *Am J Hum Genet*, 2005; 76(3): 505-509.
- Hata J, Matsuda K, Ninomiya T, *et al.* Functional SNP in an Sp1-binding site of AGTRL1 gene is associated with susceptibility to brain infarction. *Hum Mol Genet*, 2007; 16(6): 630-639.
- Kohara K, Fujisawa M, Ando F, *et al.* MTHFR gene polymorphism as a risk factor for silent brain infarcts and white matter lesions in the Japanese general population: the NILS-LSA Study. *Stroke*, 2003; 34(5): 1130-1135.
- Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Reynisdottir ST, *et al.* The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke. *Nat Genet*, 2003; 35(2): 131-138.
- Xu C, Wang F, Wang B, *et al.* Minor allele C of chromosome 1p32 single nucleotide polymorphism rs11206510 confers risk of ischemic stroke in the Chinese Han population. *Stroke*, 2010; 41(8): 1587-1592.
- Ikram MA, Seshadri S, Bis JC, *et al.* Genomewide association studies of stroke. *N Engl J Med*, 2009; 360(17): 1718-1728.
- Lee JD, Lin YH, Hsu HL, *et al.* Genetic polymorphisms of low density lipoprotein receptor can modify stroke presentation. *Neurol Res*, 2010; 32(5): 535-540.
- Amarenco P, Bogousslavsky J, Callahan A 3rd, *et al.* High-dose atorvastatin after stroke or transient ischemic attack. *N Engl J Med*, 2006; 355(6): 549-559.
- Amarenco P, Labreuche J, Lavalley P, *et al.* Statins in stroke prevention and carotid atherosclerosis: systematic review and up-to-date meta-analysis. *Stroke*, 2004; 35(12): 2902-2909.
- Amarenco P, Steg PG. The paradox of cholesterol and stroke. *Lancet*, 2007; 370(9602): 1803-1804.
- Koren-Morag N, Tanne D, Graff E, *et al.* Low- and high-density lipoprotein cholesterol and ischemic cerebrovascular disease: the bezafibrate infarction prevention registry. *Arch Intern Med*, 2002; 162(9): 993-999.
- Kurth T, Everett BM, Buring JE, *et al.* Lipid levels and the risk of ischemic stroke in women. *Neurology*, 2007; 68(8): 556-562.
- Musunuru K, Strong A, Frank-Kamenetsky M, *et al.* From noncoding variant to phenotype via SORT1 at the 1p13 cholesterol locus. *Nature*, 2010; 466(7307): 714-719.
- 戴慧蓉, 李 佳, 李 莉. 新疆阿克苏地区维族人 1p13.3 区域单核苷酸多态性与心肌梗死的关系. 2012 全国临床微生物与感染免疫学术研讨会论文集.
- Stroke-1989. Recommendations on stroke prevention, diagnosis, and therapy. Report of the WHO Task Force on Stroke and other Cerebrovascular Disorders. *Stroke*, 1989; 20(10): 1407-1431.
- Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, *et al.* Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*, 1993; 24(1): 35-41.
- 胡大一, 丁荣晶. 《中国成人血脂异常防治指南》解读. *中华内科杂志*, 2008; 47(9): 723-724.
- Hallstrom AP, Cobb LA, Ray R. Smoking as a risk factor for recurrence of sudden cardiac arrest. *N Engl J Med*, 1986; 314(5): 271-275.
- Thomas G, Sinville R, Sutton S, *et al.* Capillary and microelectrophoretic separations of ligase detection reaction products produced from low-abundant point mutations in genomic DNA. *Electrophoresis*, 2004; 25(10-11): 1668-1677.
- Yi P, Chen Z, Yu L, *et al.* Development of a PCR/LDR/capillary electrophoresis assay with potential for the detection of a beta-thalassemia fetal mutation in maternal plasma. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2010; 23(8): 920-927.
- Kurnik D, Lubetsky A. Genetic variants and risk for venous thromboembolic events: summing up the evidence. *Thromb Haemost*, 2009; 102(2): 183-184.
- Shi YY, He L. SHEsis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci. *Cell Res*, 2005; 15(2): 97-98.

(2013-01-10 收稿, 2013-04-26 修回)

编辑 余琳