

· 临床流行病学 ·

载脂蛋白 E 基因多态性对血脂的影响

肖志杰 赵水平 聂赛 谭利民 蒋波 吴军

【摘要】 目的 探讨载脂蛋白 E(ApoE)基因多态性对血脂水平的影响。方法 1452 例受试者,其中心脑血管疾病患者 1101 例(脑梗死 379 例、脑出血 313 例、冠心病 257 例、其他类型 152 例)及对照组 351 例。采用聚合酶链反应-限制性片段多态性方法检测 ApoE 基因多态性。结果 调整年龄、性别和体重指数,ApoE4 携带者的血清总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇和 ApoB 水平显著高于 ApoE3/3 和 ApoE2 携带者($P < 0.05$),这种作用在不同性别和不同年龄段中相似;ApoE4 携带者的甘油三酯(TG)水平和 E3/3 型差异有统计学意义($P < 0.05$),ApoE2 携带者的高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平显著高于 ApoE4 携带者($P < 0.05$)。ApoE2 携带者的 HDL-C 水平随年龄增大而升高($\beta = 0.178, P = 0.015$),且在 65~74 岁年龄段中 HDL-C 水平明显高于 E3/3 和 E4 携带者($P < 0.05$);ApoE4 携带者的 TC 和 TG 水平随年龄增大而下降($\beta = -0.179, P = 0.009; \beta = -0.147, P = 0.032$)。结论 ApoE 基因多态性影响血脂的代谢水平,这种作用在不同性别和年龄段存在;ApoE2 和 ApoE4 携带者对血脂的作用程度与年龄相关。

【关键词】 载脂蛋白 E; 基因多态性; 血脂

The relationship between ApoE gene polymorphism and lipid parameters XIAO Zhi-jie, ZHAO Shui-ping, NIE Sai, TAN Li-min, JIANG Bo, WU Jun. Department of Neurology, Xiangya Second Hospital of Central South University, Changsha 410011, China

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between apolipoprotein E (ApoE) gene polymorphism and serum lipid profile. **Methods** Polymerase chain reaction-restricted fragments length polymorphism(PCR-RFLP) was used to determine ApoE genotype on 1452 subjects including 1101 cases with cardio cerebrovascular disease including 379 cases with cerebral infarction, 313 cases with cerebral hemorrhage, 257 cases with coronary heart disease, and 152 cases with other types and on 351 healthy controls. **Results** After adjusting for age, sex and BMI, the subjects with ApoE4 carriers had significantly higher levels of total cholesterol(TC), low density lipoprotein-cholesterol(LDL-C) and ApoB than those with ApoE2 carriers and ApoE3/3 ($P < 0.05$), and higher level of triglyceride(TG) than those with ApoE3/3 ($P < 0.05$), while the subjects with ApoE2 carriers had significantly higher levels of high density lipoprotein-cholesterol(HDL-C) than those with ApoE4 ($P < 0.05$). The effects of ApoE polymorphism exhibited similarity in different sex and age of subjects. Linear regression analysis showed that unlike ApoE3/3, the HDL-C level in ApoE2 carriers tend upward with age ($\beta = 0.178, P = 0.015$), significantly higher than ApoE4 carriers and ApoE3/3 in the cohort of 65-74 years ($P < 0.05$). The level of TC and TG in ApoE4 carriers had a tendency of downward with age ($\beta = -0.179, P = 0.009; \beta = -0.147, P = 0.032$). **Conclusion** ApoE gene polymorphism affected profile of blood lipids and the effects were found in different sex and age. The degrees of effects related to ApoE2 carriers and ApoE4 carriers to blood lipid level seemed to be related to age.

【Key words】 Apolipoprotein E; Gene polymorphism; Serum lipid level

人类载脂蛋白 E(ApoE)基因位于 19 号染色体,具有明显的基因遗传多态性。ApoE 有三种主要的异构体即 E2、E3、E4,它们分别由一个基因位点的三个等位基因 $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$ 编码。ApoE 是血清中主要载脂蛋白之一,参与机体脂质代谢及调节胆固醇平衡。ApoE 三种异构体与受体的亲和力不同而

影响脂质代谢,从而不同程度地影响血脂水平和动脉粥样硬化病变的形成。ApoE 基因多态性与血脂水平的相关性研究近年屡有报道,但样本量较小。本研究以社区正常人群、健康体检者、患者为研究对象,全面探讨 ApoE 基因多态性对血脂水平的影响。

对象与方法

作者单位: 410011 长沙,中南大学湘雅医学院附属第二医院神经内科(肖志杰、谭利民、蒋波、吴军),心内科(赵水平、聂赛)

1. 研究对象:共收集受试者 1452 例。心脑血管

疾病(脑梗死 379 例、脑出血 313 例、冠心病 257 例、其他类型 152 例)患者来源于 2001 年 2 月至 2002 年 11 月在湘雅医学院附属第二医院神经内科和心血管内科住院的患者;男性 653 例,女性 448 例,年龄 24~94 岁,平均(61.4±11.2)岁。非心脑血管疾病人群 351 例,其中 224 例为长沙市雨花区普查人群,其余部分来源于同期的门诊体检者;男性 201 例,女性 150 例,年龄 40~82 岁,平均(61.5±7.3)岁。非心脑血管疾病人群部分经 CT/MRI 证实无卒中。通过问卷访谈收集研究对象的基本资料、家族史、既往史、吸烟饮酒史等。凡下列情况者予以剔除:合并周围血管疾病或周围血管栓塞性疾病者、大动脉炎、血液病、结核、恶性肿瘤、严重肝肾功能不全者、入院前一周内使用降脂等药物者。

2. ApoE 基因型测定:取肘静脉血 5~8 ml,采用低渗溶血、酚/氯仿法抽提外周白细胞基因组 DNA。上游引物:5'-TAAGCTTGGCACGGCTGTCCAA GGA-3',下游引物:5'-AGAATTCGCCCCGGCCTG GTACAC-3'。聚合酶链(PCR)反应体系为 10 μl,含有基因组 DNA 0.2~0.5 μg,上游和下游引物分别为 10 pmol/L, dNTPmix 0.25 mmol/L, Taq 酶 0.5 U, 10×Taq 酶缓冲液 1 μl, MgCl₂ 2 mmol/L 及灭菌去离子水适量,应用自动循环仪进行扩增。扩增条件:预变性 94℃ 3 min,反应循环:变性 94℃ 50 s、退火 58℃ 50 s、延伸 72℃ 1 min,循环 32 次;最后 72℃ 延伸 10 min。限制性内切酶消化反应体系 20 μl; PCR 产物 10 μl, CfoI 5 U, 10×buffer B 2 μl, 10×BSA 0.2 μl, 灭菌去离子水补充体积至 20 μl, 37℃ 消化 6 h。8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离酶切产物,以 pUC19DNA/Msp I 酶解片段作为 DNA 片段的标准物(图 1)。

3. 血脂检测:采用酶法测定血清总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG);用磷钨沉淀法测定高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C);低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)采

用公式计算;圆周免疫法测定载脂蛋白 A1(ApoA1)和载脂蛋白 B100(ApoB100);ELISA 双抗夹心法测定脂蛋白(a)[Lp(a)]。

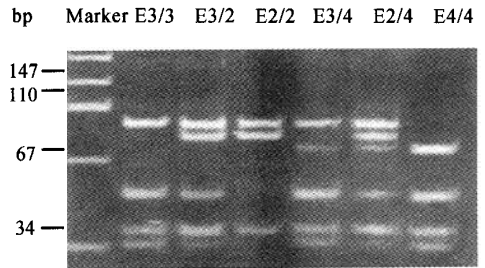


图1 ApoE PCR 产物酶解片段 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳

4. 统计学分析:应用 SPSS 10.0 软件包进行统计分析。多数计量资料近似正态分布,而 Lp(a)呈偏态分布,将其进行对数转换后再行检验。计量资料组间比较采用 *t* 检验,两组以上采用方差分析检验,用 Bonferroni 方法进行两两比较。调整年龄、性别和体重指数(BMI),采用多变量方差分析比较 ApoE 基因型与血脂的相关性。运用方差分析的线性趋势检验变量的变化趋势。分类资料的组间比较采用 χ^2 检验。双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 研究对象的一般资料:见表 1。各组研究对象在性别构成和 LDL-C 上差异无统计学意义($P > 0.05$),年龄、BMI、空腹血糖(FBG)、TG、TC、HDL-C 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2. ApoE 基因型在研究对象中的分布:本组资料共发现 6 种 ApoE 基因型,分别为 E3/3、E3/4、E3/2、E2/4、E4/4 和 E2/2,频率分别为 71.2% (1034 例)、13.2% (192 例)、12.3% (178 例)、1.4% (20 例)、1.3% (19 例)和 0.6% (9 例);等位基因 ϵ_3 、 ϵ_2 和 ϵ_4 的频率分为 84.0%、7.4% 和 8.6%。研究对象的 ApoE 基因型和等位基因频率之间差异无统计学意义($P > 0.05$)(表 2)。

表1 研究对象的一般资料

组别	例数	年龄(岁)	性别例数		BMI (kg/m ²)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	FBG (mmol/L)
			男	女						
普查正常	224	61.4±7.1	131	93	23.4±3.2	1.44±0.72	4.80±0.92	1.42±0.36	2.80±0.74	5.32±1.45
门诊正常	127	61.9±7.0	70	57	23.1±3.5	1.41±0.75	4.72±0.83	1.42±0.37	2.75±0.69	5.25±1.79
脑梗死	379	62.8±11.3	223	156	23.9±3.4	1.79±1.09	4.85±1.07	1.25±0.34	2.91±0.86	6.59±3.12
脑出血	313	60.6±11.5	198	115	23.4±3.5	1.51±0.89	4.84±1.06	1.40±0.42	2.82±0.83	7.16±4.05
冠心病	257	62.4±9.7	148	109	22.9±2.8	1.65±1.06	4.56±1.02	1.16±0.32	2.73±0.84	6.27±2.05
其他疾病	152	58.0±12.0	84	68	23.7±3.1	1.82±1.29	4.72±1.08	1.29±0.33	2.77±0.85	6.01±1.91
合计	1452	61.5±7.1	854	598	23.4±3.3	1.62±1.00	4.76±1.02	1.31±0.37	2.81±0.82	6.29±2.87
组间 P 值	-	0.000	0.517		0.012	0.000	0.009	0.000	0.107	0.000

表2 研究对象 ApoE 基因型和等位基因频率的分布

组别	例数	ApoE 基因型频率 (%)						等位基因频率 (%)		
		E3/3	E3/4	E3/2	E4/4	E2/4	E2/2	ε3	ε2	ε4
普查正常	224	72.3(162)	12.9(29)	11.2(25)	0.9(2)	0.9(2)	1.8(4)	84.4	7.8	7.8
门诊正常	127	70.9(90)	12.6(16)	12.6(16)	1.6(2)	0.8(1)	1.6(2)	83.4	8.3	8.3
脑梗死	379	72.3(274)	14.5(55)	11.6(44)	0.8(3)	0.8(3)	-	85.4	6.2	8.4
脑出血	313	69.0(216)	15.0(47)	11.5(36)	1.0(3)	2.9(9)	0.6(2)	82.3	7.8	9.9
冠心病	257	73.2(188)	12.5(32)	12.1(31)	1.6(4)	0.8(2)	-	85.4	6.4	8.2
其他疾病	152	68.4(104)	8.6(13)	17.1(26)	3.5(5)	2.0(3)	0.7(1)	81.3	10.2	8.5
合计	1452	71.2(1034)	13.2(192)	12.3(178)	1.3(19)	1.4(20)	0.6(9)	84.0	7.4	8.6
组间 P 值				0.141					0.954	

注:括号内数据为例数

3. ApoE 基因型与血脂谱:将 ApoE 基因型分为 E2/X、E3/3 和 E4/X 三类,其中 E2/2 和 E4/4 分别归类于 E2/X 和 E4/X,由于 E2/4 仅 20 例,且作用为中性,不包括在内。在男女不同性别和全部研究人群的 ApoE 各基因型之间年龄、BMI 差异无统计学意义($P > 0.05$)。在男女不同性别之间的血脂及脂蛋白水平存在差异,尤其以 HDL-C 明显。在男性和女性人群中,ApoE 各基因型之间的血脂水平与全部研究对象中的 ApoE 各基因型的血脂水平相似。在全部研究人群中,调整性别、年龄和 BMI,ApoE 各基因型之间 TG、TC、HDL-C、LDL-C 和 ApoB 差异有统计学意义($P < 0.05$);组间两两比较显示,E4/X 的 TC、LDL-C 和 ApoB 明显高于 E3/3 和 E2/X ($P < 0.05$),E3/3 的 LDL-C 和 TC 水平也显著高于 E2/X ($P < 0.05$),E2/X 的 HDL-C 水平高于 E4/X 和 E3/3,其中与 E4/X 的差异有统计学意义;E4/X 的 TG 水平高于 E3/3 和 E2/X,其中与 E3/3 的差异有统计学意义($P > 0.05$)(表 3)。

4. 年龄对 ApoE 基因型与血脂关系的影响效

应:将全部研究对象分成 < 45 岁、45~ 岁、55~ 岁、65~ 岁和 ≥ 75 岁年龄组。趋势检验发现全部受试者(含 E2/4 基因型)的 HDL-C 水平随年龄增大而升高($\beta = 0.059, P = 0.024$),TC 和 TG 水平随年龄增大而下降($\beta = -0.057, P = 0.030; \beta = -0.083, P = 0.002$)。我们进一步检测了不同年龄组的 ApoE 各基因型与血清 TG、TC 和 HDL-C 的关系。分别在各个年龄组中,ApoE 各基因型与血脂关系与全部研究对象相似,其中 E4/X 的 TC 水平在 < 45 岁年龄组中与 E3/3 的差异有统计学意义($P < 0.05$),在 45~ 岁和 55~ 岁年龄组与 E2/X 的差异有统计学意义($P < 0.05$),E2/X 的 HDL-C 水平在 65~ 岁年龄组中明显高于 E3/3 和 E4/X ($P < 0.05$)。线性回归分析发现,E2/X 的 HDL-C 水平随年龄增大而升高($\beta = 0.178, P = 0.015$),E4/X 的 TC 水平随年龄增大而下降($\beta = -0.179, P = 0.009$),E4/X 的 TG 水平与年龄也呈下降趋势($\beta = -0.147, P = 0.032$),与年龄和全部受试者血脂水平的相关性相似,但这种趋势在 E3/3 不明显($P < 0.05$)。

表3 各 ApoE 基因型与血脂的关系($\bar{x} \pm s$)

基因型 分组	例数	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	调整年龄、性别和 BMI 后的血脂水平						
				TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	ApoA-I (g/L)	ApoB (g/L)	Lp(a) (mg/ml)
男性										
E2/X	95	60.5 ± 10.8	23.8 ± 3.5	1.70 ± 1.22	4.38 ± 0.90*	1.28 ± 0.37 ^a	2.42 ± 0.73*	1.32 ± 0.27 ^a	0.83 ± 0.31	236 ± 208
E3/3	630	61.9 ± 10.3	23.5 ± 3.3	1.60 ± 0.97	4.68 ± 0.90 ^b	1.25 ± 0.35 ^b	2.80 ± 0.78	1.32 ± 0.28 ^b	0.90 ± 0.34	244 ± 222 ^b
E4/X	117	61.0 ± 10.3	23.7 ± 2.8	1.86 ± 1.23*	4.89 ± 1.08 ^d	1.20 ± 0.40 ^c	2.96 ± 0.88* ^Δ	1.27 ± 0.31	0.95 ± 0.35 ^Δ	277 ± 504
女性										
E2/X	92	60.0 ± 11.7	23.6 ± 2.9	1.57 ± 1.10	4.54 ± 1.05*	1.40 ± 0.38 ^a	2.46 ± 0.80	1.40 ± 0.28 ^a	0.84 ± 0.32	241 ± 192
E3/3	404	61.5 ± 10.0	23.2 ± 3.4	1.55 ± 0.93	4.90 ± 1.05 ^b	1.41 ± 0.38 ^b	2.88 ± 0.80	1.39 ± 0.30 ^b	0.91 ± 0.32	214 ± 173 ^b
E4/X	94	61.9 ± 10.5	23.2 ± 3.1	1.71 ± 0.93	5.16 ± 1.07 ^d	1.32 ± 0.36 ^c	3.16 ± 0.87* ^Δ	1.35 ± 0.31	1.00 ± 0.33* ^Δ	226 ± 215
合计										
E2/X	187	60.3 ± 11.2	23.9 ± 4.6	1.63 ± 1.16	4.46 ± 0.98 [#]	1.34 ± 0.38	2.44 ± 0.77 [#]	1.36 ± 0.28	0.83 ± 0.31 [#]	238 ± 199
E3/3	1034	61.8 ± 10.2	23.5 ± 3.4	1.58 ± 0.95	4.77 ± 1.01	1.31 ± 0.37	2.83 ± 0.79	1.34 ± 0.29	0.90 ± 0.33	232 ± 204
E4/X	211	61.4 ± 10.4	23.7 ± 3.4	1.79 ± 1.10 [#]	5.01 ± 1.08 ^{#Δ}	1.26 ± 0.39 ^Δ	3.05 ± 0.88 ^{#Δ}	1.31 ± 0.31	0.98 ± 0.34 ^{#Δ}	255 ± 402

注:①在同一性别的人群中:与 E3/3 型比较 * $P < 0.05$,与 E2/X 型比较 $\Delta P < 0.05$; ②在男性和女性人群组之间 ApoE 各基因型之间的比较: E2/X 型之间的比较 ^a $P < 0.05$, E3/3 型之间的比较 ^b $P < 0.05$, E4/X 型之间的比较 ^c $P < 0.05$; ③在全部研究人群中,调整性别(男 = 1, 女 = 0)、年龄和 BMI 的 ApoE 各基因型之间的比较:与 E3/3 型比较 [#] $P < 0.05$;与 E2/X 型比较 ^Δ $P < 0.05$

讨 论

ApoE 基因呈多态性改变,人群中 有 6 种 ApoE 表型,即 3 种纯合子(E2/2、E3/3、E4/4)和 3 种杂合子(E2/3、E2/4、E4/3),其分子基础是半胱氨酸和精氨酸的相互取代。人群中最常见的等位基因是 $\epsilon 3$,最常见的表型是 ApoE3/3。我们测定的 1452 例研究对象中,以 ApoE3/3 基因型频率最高,占全体研究对象的 71.2%,ApoE 等位基因中也以 $\epsilon 3$ 频率最高,占全体研究对象的 84.0%,与流行病学研究相符。本研究对象虽包含冠心病和脑卒中人群,但选择的研究对象未服用降脂药物,且卒中患者都是为入院后 24 h 内采血,尽可能消除了药物和卒中状态对血脂的影响^[1,2]。

ApoE 是多种脂蛋白的结构蛋白,在血浆脂质运转和代谢过程中起着重要的作用。ApoE 基因多态性影响成人的血脂浓度。ApoE 多态性与血 TC 水平密切相关,各 ApoE 表型的 TC 水平高低依次为 E4/4 > E3/4 > E2/4 > E3/3 > E3/2 > E2/2,这种作用不因环境因素和性别、年龄等遗传因素干扰而存在,目前尚未发现其他载脂蛋白的等位基因如此显著影响 TC 水平。ApoE 基因多态性与 TG 和 HDL-C 之间的相关性存在较大的争议,Dalloneville 等^[3] Meta 分析发现 ApoE 各基因型 E2/2、E3/2、E3/4 和 E2/4 对人群 TG 水平的影响明显高于 E3/3,同时还发现 E4/4 的 HDL-C 浓度明显低于 E3/3,但有研究认为 ApoE 基因多态性与 TG 和 HDL-C 之间无相关性^[4,5]。Tan 等^[6]对三个不同的种族人群研究后认为 HDL-C 与 ApoE 基因多态性的关系受种族的影响,而 Gomez-Coronado 等^[7]则报道性别影响 ApoE 基因多态性对血脂谱的作用,但最近一项对希腊西北部人群的研究中,没有观察到 $\epsilon 4$ 等位基因与血脂水平的相关性,而 $\epsilon 2$ 携带者的血清 TG 水平明显升高,TC、LDL-C 和 ApoB 水平明显降低^[8]。本研究结果也显示血清 TC、LDL-C 和 ApoB 水平高低依次是 E4/X > E3/3 > E2/X,差异具有统计学意义,且这种作用不受性别和年龄的影响;E4/X 型和 E2/X 型血清 TG 水平高于 E3/3 型,其中 E4/X 型与 E3/3 型的差异有统计学意义;E2/X 型 HDL-C 水平高于 E3/3 和 E4/X,与 E4/X 的差异亦有统计学意义,且在 65~ 岁年龄组中显著高于 E3/3 和 E4/X,说明 ApoE 基因多态性确实影响个体的血脂和脂蛋白水平,与多数研

究得出的结论相似。我们的研究结果也显示在不同性别之间的血脂及脂蛋白水平存在差异和血脂水平随年龄而变化,与大量的流行病学调查的结果相一致^[9]。进一步线性回归分析发现,E2/X 的 HDL-C 水平随年龄增大而升高,E4/X 的 TC 和 TG 水平随年龄增大而下降,与全部受试者血脂水平和年龄的相关性相似,但这种趋势在 E3/3 中不明显,说明 ApoE2 和 ApoE4 表型携带者对血脂作用程度与年龄相关。

目前关于 ApoE 表型调节体内血脂代谢的机制还不十分清楚,一般认为与各种 ApoE 异构体的受体结合活性及自身体内代谢速率的差异有关,而年龄对 ApoE 表型的影响有必要进一步探讨。血脂紊乱是动脉粥样硬化和心脑血管疾病的独立危险因素,因此 ApoE 基因型产生的血脂效应对人群动脉粥样硬化和心脑血管疾病的防治具有一定的指导意义。

参 考 文 献

- 1 Konishi M, Iso H, Komachi Y, et al. Associations of serum total cholesterol different types of stroke, and stenosis distribution of cerebral arteries. *Stroke*, 1993, 24:954-964.
- 2 Woo J, Lam CWK, Kay R, et al. Acute and long-term changes in serum lipids after acute stroke. *Stroke*, 1990, 21:1407-1411.
- 3 Dalloneville J, Lussier-Cacan S, Davignon J. Modulation of plasma triglyceride levels by ApoE phenotype: a meta-analysis. *J Lipid Res*, 1992, 33:447-455.
- 4 Hsueh WC, Mitchell BD, Hixson JE, et al. Effects of the ApoE polymorphism on plasma lipoproteins in Mexican Americans. *Ann Epidemiol*, 2000, 10:524-531.
- 5 Kao JT, Tsai KS, Chang CJ, et al. The effects of apolipoprotein E polymorphism on the distribution of lipids and lipoproteins in the Chinese population. *Atherosclerosis*, 1995, 114:55-59.
- 6 Tan CE, Tai ES, Tan CS, et al. ApoE polymorphism and lipid profile in three ethnic groups in Singapore population. *Atherosclerosis*, 2003, 170:253-260.
- 7 Gomez-Coronado D, Alvarez JJ, Entrala A, et al. Apolipoprotein E polymorphism in men and women from a Spanish population: allele frequencies and influence on plasma lipids and apolipoproteins. *Atherosclerosis*, 1999, 147:167-176.
- 8 Liberopoulos E, Miltiadous G, Hatzivassiliou M, et al. Apolipoprotein E polymorphism in northwestern Greece: frequency and effect on lipid parameters. *Ann Clin Lab Sci*, 2004, 34:347-354.
- 9 赵水平. 老年人血脂异常. 见:赵水平,主编. 临床血脂学. 长沙:湖南科技出版社,1997. 163-197.

(收稿日期:2004-11-18)

(本文编辑:张林东)