

低密度脂蛋白受体基因多态性与血脂、肥胖及高血压的关系

刘爱萍 詹思延 李立明

低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDL-R) 是 Goldstein 和 Brown 等在研究家族性高胆固醇血症患者的发病机制时发现的。低密度脂蛋白受体基因突变可导致家族性高胆固醇血症^[1]。然而,低密度脂蛋白受体位点存在多种轻微变异的等位基因,这些轻微变异可能影响 DNA 序列中的酶切位点,因而有可能用限制性片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 的检测方法加以识别。近年来,对人群中 LDL-R 基因多态性与血脂、肥胖及高血压的关系进行了研究,本文仅就这方面的研究做一概述。

一、LDL-R 及 LDL-R 基因多态性

LDL-R 是一种细胞表面糖蛋白,以肝细胞含量最多,新合成的 LDL-R 前体由 860 个氨基酸残基组成,分子量为 120×10^3 。它通过介导血浆胆固醇的主要载体——低密度脂蛋白 (LDL) 进入细胞来调节血浆胆固醇水平。LDL-R 能高亲和性地与血浆中两种致动脉硬化性脂蛋白即 LDL 和极低密度脂蛋白 (β -VLDL) 结合,介导它们内吞和胞内分解。细胞表面,特别是肝细胞表面有功能的 LDL-R 数量在决定上述两种脂蛋白血浆浓度中起关键作用。

LDL-R 基因位于人类第 19 号染色体短臂末端 (p 13.1~13.3),全长 45 kb,编码 860 个氨基酸的受体前体蛋白,由 18 个外显子和 17 个内含子组成。研究证明,外显子 1 构成 5' 端非翻译区,并编码信号肽;外显子 2~6 编码受体蛋白的第一个结构域,该结构域由 7 个富含半胱氨酸的重复序列组成;外显子 7~

14 编码第二个结构域;外显子 15 编码 0~ 连接糖链的第三个结构域;外显子 16 和部分外显子 17 编码跨膜域;外显子 17 编码胞浆域前 39 个氨基酸残基;外显子 18 为最大的外显子,编码羧基端最后 11 个氨基酸残基和 3' 端非翻译区。17 个内含子分别在相当于 LDL-R 氨基酸顺序第 2、43、84、211、252、293、333、375、432、508、548、594、642、693、750、776 和 828 位处插断外显子序列。已发现的 LDL-R 多态性位点有 22 个,其中 6 个位于外显子内,Stu I 位点不影响编码蛋白。

二、LDL-R 基因多态性与血脂

血脂谱水平是受遗传和环境因素共同影响的,遗传对血脂谱水平的影响可通过多个脂蛋白相关基因的作用而实现。正常人群血脂谱水平的遗传变异是由于相关基因在 DNA 水平上的差异所致,这些相关基因的 DNA 差异可能通过影响载脂蛋白的合成和代谢而影响血脂谱水平。血胆固醇水平过高使冠心病危险性增高,其中尤其是以 LDL 为载体时,危险性更大。而 LDL 是通过非受体介导的途径,及 LDL 受体介导途径被清除的。LDL-R 基因发生突变,可引起 LDL 受体数目降低或受体蛋白结构发生改变,不再能与 LDL 结合或阻止 LDL 进入细胞内,最终导致血浆胆固醇水平显著上升。国外对正常人群血脂谱水平与 LDL-R 基因多态性进行了一些研究。

Pvu II 限制性片段长度多态性位于 LDL-R 基因第 15 内含子中,此酶切位点 (CAGCTG) 是由于外显子 16 连接点 5' 端约第 600 个碱基 CAGCCG 序列内 CpG 到 TpG 转变时产生的^[2]。Pvu II 位点与人群血脂谱水平变异的关系首先由 Pedersen 于 1988 年在对挪威人群的研究中观察到的^[3],他发现 Pvu II 酶切位点等位基因 A1 的频率为 0.22,无此酶切

位点等位基因 A2 的频率为 0.78, Pvu II 位点缺失者 (基因型为 A2A2) 血清 TC 水平明显高于位点存在者 (基因型为 A1A1) 及此等位基因的杂合子 (基因型 A1A2); Pvu II 位点缺失者与位点存在者相比,人群血清 TC 值在第 75 百分位数以上的 OR 值为 2.7。此后 Schuster、Humphries 对前西德及捷克人群的研究中,也看到了相似的结果^[4,5], Schuster 报道了德国正常人群的血脂谱水平变异与 LDL-R 基因 Stu I、Pvu II、Apa I、Nco I 位点的关系,发现 Pvu II 酶切位点存在者与较低的 TC 水平显著相关, Pvu II 多态性可解释胆固醇变异的 3%, 此研究进一步表明在正常人群中 LDL-R 基因位点是决定血清胆固醇水平的因素之一。Gudnason 对冰岛三组健康人群的 Pvu II 多态性基因型进行检测,他发现冰岛正常人群有 Pvu II 酶切位点等位基因的频率为 0.23,性别间差异无显著性。英格兰和苏格兰男性有此酶切位点等位基因的频率分别为 0.23、0.25。有 Pvu II 酶切位点等位基因纯合型的个体胆固醇、甘油三酯和 ApoB 水平低于其他基因型,与无 Pvu II 酶切位点等位基因纯合型相比,有 Pvu II 酶切位点等位基因纯合型者胆固醇水平下降 6%,甘油三酯水平下降 15%^[2]。我国董治亚等^[6]分析了正常血脂儿童和单纯性高胆固醇血症患儿的 LDL-R Pvu II 多态性,结果显示正常血脂组有 Pvu II 酶切位点等位基因的频率为 0.277,无此酶切位点等位基因的频率为 0.723,且高胆固醇血症患儿有 Pvu II 酶切位点等位基因的相对频率明显低于正常血脂组,表明具有 Pvu II 酶切位点等位基因与较低的胆固醇相关,与国外报道相一致。

Gylling 等^[7]对芬兰人群的研究中首次报道了 LDL-R 基因多态性与胆固醇吸

作者单位: 014010 内蒙古包头医学院预防医学教研室 (刘爱萍); 北京大学公共卫生学院流行病学教研室 (詹思延、李立明)

收、代谢的关系,他发现有 Pvu II 酶切位点等位基因(P₊)的频率为0.24,无此酶切位点等位基因(P₋)的频率为0.76,Pvu II 位点缺失者(基因型为 P-P-)总胆固醇、LDL-C、LDL ApoB 分解代谢率、胆固醇吸收显著低于位点存在者(基因型为 P+P₊),而胆固醇和胆汁酸合成显著高于位点存在者,以 LDL-C 为因变量,遗传因素为自变量进行多元逐步回归分析发现 LDL-R Pvu II 多态性可解释 LDL-C 变异的7.1%。这一研究结果与上述研究结果相反,其原因何在?该研究人群是来自自愿者,其中载脂蛋白 E(ApoE)多态性 E₂ 和 E₄ 等位基因的频率显著高于芬兰一般随机人群,而 P₋和 P₊ 等位基因的频率与一般人群无显著差异。Wardell 认为人群血清胆固醇水平 60% 是由遗传决定的,其中 ApoE 基因多态性大约可占 14% ;Davignon 亦发现 ApoE 基因多态性是影响血脂谱水平,特别是血清胆固醇的最重要的因素,而 E₄ 等位基因与高胆固醇水平显著相关。因此,作者认为在 E₂ 和 E₄ 等位基因频率高的人群中更强调 ApoE 基因多态性对胆固醇变异的作用。Pvu II 位点与血胆固醇的关系在英国人群和丹麦的高加索人群中没有观察到^[8,9]。

Ava II 位点位于 LDL-R 基因的第 13 个外显子,第 632 位密码子的第 3 个碱基 C→T 突变,产生一个 Ava II 酶识别位点。Nco I 位点位于第 18 外显子,被转录但未被翻译,因而并未引起氨基酸的改变。Ahn 等^[10]于 1994 年报道了两个美国正常人群(拉丁裔和非拉丁裔)的血脂谱水平变异与 LDL-R 基因 Ava II、Nco I 位点的关系,主要结果为:①在这两个人群中,Ava II 和 Nco I 位点 RFLP 仅与女性的 TC 及 LDL-C 水平变异有关;②Ava II 和 Nco I 位点 RFLP 基因型与 TC 和 LDL-C 水平间有明显的剂量效应关系,基因型 -/-、+/- 和 +/+ 的血清 TC 及 LDL-C 平均水平依次为低、中、高;③Ava II RFLP 可分别解释血清 TC 及 LDL-C 水平总变异的 4% 和 2%,Nco I RFLP 可分别解释血清 TC 及 LDL-C 水平总变异的 3.3% 和 2.6%。在中国人群中看到了相似的结果^[11]。

Stu I 酶切位点位于 LDL-R 基因第 8 外显子,由于 370 位密码子的 A→G 的改变,使丙氨酸(Ala)变为苏氨酸(Thr),原有的 Stu I 酶切位点消失。Stu I 多态性是引起氨基酸改变的 LDL-R 基因的常见多态性,也是已报道的发生氨基酸替换而不引起家族性高胆固醇血症的一种多态性。人群中 Stu I 酶切位点缺失频率在 4%~8% 之间^[8]。Gudnason 报道了冰岛健康人群 370 位 A→G 改变对脂质的影响,发现男性 Thr 等位基因者胆固醇、LDL-C、ApoB 水平分别比常见 Ala 等位基因者增高了 8.3%、11.8%、10.3%,而女性中 Thr 等位基因者胆固醇、LDL-C、ApoB 水平分别下降了 7.4%、13.3% 和 10.1%,但仅男性有统计学意义($P < 0.05$)^[12]。很多研究亦发现遗传多态性对男女两性脂质特性的影响不同,如:Reilly 等^[13]报道 apoE₄ 等位基因仅与男性的血胆固醇水平有关,Sigurdsson 等^[14]发现冰岛人群 apoA I 多态性亦仅与男性的 HDL-C 的增高有关;Gudnason 认为这可能是由于激素差异造成的,如:雌激素影响大鼠肝脏 LDL 受体的表达或活性。由于胆固醇水平在 5.2 mmol/L 的基础上每增加 1%,冠状动脉疾病的危险性增加 2%。因此,作者认为有 Thr 等位基因的男性与 Ala 等位基因者相比 CAD 的危险性大约增高 20%。

可见,LDL-R 基因与血脂谱水平显著相关。但由于遗传变异是多种类、多位点的,不同种族、不同人群的变异位置和性质可能不同,而使同一种 RFLP 的基因型频率在不同人群中不尽相同,因此,还需要在不同人群中进行更广泛的研究,而单个基因、单个位点间的差别往往并不明显,因此,一个基因的多个位点或多个基因结合起来研究将有助于揭示遗传与表型间的关系。

三、LDLR 基因多态性与肥胖及高血压

肥胖是一种多因素作用的结果,毫无疑问环境因素在肥胖的发展中起着重要的作用,但遗传变异亦决定了个体对脂肪蓄积的敏感性。Rutherford 等^[15]的病例对照研究表明:LDL-R 小卫星区变异与女性的肥胖有关,具有 106 bp 等位

基因的个体可能为瘦型人,而具有 112 bp 和/或 108 bp 等位基因的个体则趋向于肥胖,表明 LDL-R 在女性肥胖的发展中起着重要的作用。

流行病学研究表明高血压既有遗传因素又有环境因素的作用。血压的异常升高不仅使心脑血管疾病危险性增加,还可导致包括血脂代谢紊乱、高胰岛素血症、糖耐量异常及心脑血管形态结构改变等在内的一系列病理症候群。高血压常与高血脂血症并存且起相互协同作用。1978 年 Framingham 研究发现高血脂血症与高血压的增多有关;1988 年美国医学杂志报道的“血脂代谢障碍性高血压”与 ApoB 升高,甘油三酯(TG)增高,高密度脂蛋白(HDL)降低,小而致密的 LDL 增高,高胰岛素抵抗性等有关。体重指数(BMI)是高血压发病的一个独立危险因素,BMI 与高血压的相关关系即使在平均体重指数低于西方的我国依然存在,在肥胖的人群中,高血压患病率明显升高。脂质代谢紊乱、肥胖和原发性高血压综合征^[16]表明在原发性高血压人群中常见的遗传紊乱疾患比一般或正常血压人群更普遍。

近年来,国外仅有的几个研究分析了原发性高血压中 LDL-R 基因与肥胖和血脂的关系。

Apal I 多态性是在 LDL-R 基因的第 15 内含子中一个核苷酸被替代而形成的。Zee 报道了高加索原发性高血压人群中 LDL-R 基因 Apal I 多态性与血压和肥胖的关系,发现尽管 LDL-R Apal I 多态性与高血压无关,但在高血压人群中按肥胖和非肥胖分组后,BMI ≥ 26 kg/m² 者 6.6 kb 等位基因频率为 0.63,而 BMI < 26 kg/m² 者 6.6 kb 等位基因频率为 0.39,等位基因频率有极显著差异,同时,高血压肥胖者中未见 9.4 kb 纯合型,提示 LDL-R 多态性在高血压人群中与肥胖明显相关^[17]。这种关联是否仅发生于高血压人群,Morris 等^[18]测定了高血压人群和正常血压人群中肥胖与非肥胖的 LDL-R 基因型,发现高血压肥胖者中具有与肥胖相关的 Apal I 位点 6.6 kb 等位基因纯合者 BMI 显著高于杂合者,9.4 kb 纯合者及 6.6 kb 等位基因纯合的非高

血压肥胖者 ;TG 亦显著高于杂合者 ;而高血压非肥胖者中 LDL-R 基因型未见显著差异 ,提示高血压人群中 LDL-R 基因变异与高 BMI 和高甘油三酯有关。正常血压人群中肥胖者与非肥胖者相比 LDL-R 基因 Apal I 位点 6.6 kb 等位基因频率无显著差异 ,肥胖者与非肥胖者中 LDL-R 各基因型间 BMI 和血脂亦无显著性差异 ,提示正常血压者中 Apal I 多态性与肥胖无显著关联。

Griffiths 等¹⁹对正常血压人群的横断面研究发现 ,LDLR 基因 3'末端的小卫星区与肥胖有关 ,表明 LDL-R 在高血压的独立危险因素肥胖的发生发展中起重要作用。

Hinc II 多态性是在 LDL-R 基因的 12 外显子中一个核甙酸被替代 (T→C)而形成的。Zee 等²⁰分析了高加索原发性高血压人群和正常人群肥胖与非肥胖者 LDL-R Hinc II 多态性等位基因频率和基因型 ,发现高血压中肥胖与多态性 T→C 变异的 C 等位基因显著相关 ,而正常血压人群中未见此种关联 (CC 基因型 OR = 3 ,CT 基因型 OR = 2.7) ;且在高血压人群中 BMI 与 C 等位基因呈轨迹现象。但此基因型与血脂无明显关联。

综上所述 ,LDL-R 基因多态性在高血压人群中与肥胖显著相关 ,而正常血压中未见此种关联。这是由于高血压中代谢紊乱所致 ,还是由于其他原因所致 ? 尚有待进一步研究。

参 考 文 献

1 Moorjani S , Roy M , Torres A , et al. Mutations of low-density-lipoprotein-receptor gene , variation in plasma cholesterol , and expression of coronary heart disease in homozygous familial hypercholesterolemia. *Lancet* ,1993 ,341:1303-1306.

2 Gudnason V , Zhou T , Thormar K , et al. Detection of the low density lipoprotein receptor gene Pvu II into 15 polymorphism using the polymerase chain reaction : association with plasma lipid traits in health

men and women. *Dis-markers* ,1998 ,13 : 209-220.

3 Pedersen JC , Berg K. Normal DNA polymorphism at the low-density lipoprotein receptor (LDLR) locus associated with serum cholesterol levels. *Clin Genet* ,1988 ,34:306-312.

4 Humphries S , Coviello DA , Masturzo P , et al. Variation in the low-density lipoprotein receptor gene is associated with differences in plasma low-density lipoprotein cholesterol levels in young and old normal individuals from Italy. *Arterioscler Thromb* ,1991 ,11:509-516.

5 Schuster F , Humphries R , Rauh G , et al. Association of DNA-haplotypes in the human LDLR-receptor gene with normal serum cholesterol levels. *Clin Genet* ,1990 ,38:401-409.

6 董治亚 ,高雁翔 ,金焯 ,等. 低密度脂蛋白受体基因多态性与高脂血症相关性研究. *临床儿科杂志* ,1997 ,15:291-292.

7 Gylling H , Kontula K , Miettinen TA. Cholesterol absorption and metabolism and LDL kinetics in health men with different apoprotein E phenotypes and apoprotein B Xba I and LDL receptor Pvu II genotypes . *Arterioscler Thromb Vasc Biol* . 1995 ,15:208-213.

8 Taylor R. Four DNA polymorphism in the LDL receptor gene : their genetic relationship and use in the study of variation at the LDL receptor locus. *J Med Genet* ,1988 ,25:653.

9 Klauien IC , Hansen PS , Gerdes LU , et al. A Pvu II polymorphism of the low density lipoprotein receptor gene is not association with plasma concentration of low density lipoprotein including Lp(a). *Hum Genet* ,1993 ,91:193-195.

10 Ahn YI , Kamboh I , Chridtopher E , et al. Role of common polymorphism in the LDL receptor gene in affecting plasma cholesterol levels in the general population. *Arterioscler Thromb* , 1994 ,14:663-670.

11 郑芳 ,周新 ,崔天盆 ,等. 低密度脂蛋白受体基因 Ava II 位点多态性及其与血清胆固醇水平的关系. *中华医学杂志* ,1998 ,78 : 834-835.

12 Gudnason V , Patel D , Sun X-M , et al. Effect

of the Stu I polymorphism in the LDL receptor gene (Ala 370 to Thr) on lipid levels in healthy individuals. *Clin Genet* ,1995 ,47:68-74.

13 Reilly SL , Ferrell RE , Kottke BA , et al. The gender-specific apolipoprotein of lipids and apolipoprotein in the population of Rochester , MN. I . Pleioreophic effects on means and variances. *Am J Hum Genet* ,1991 ,49:1155-1166.

14 Sigurdsson G Jr , Gudnasson V , Sigurdsson G , et al. Interaction between a polymorphism of the apoA-I promoter region and smoking determines plasma levels of HDL and ApoA-I. *Atheroscler Thromb* ,1992 ,12:1017-1022.

15 Rutherford S , Nyholt DR , Curtain RP , et al. Association of a low density lipoprotein receptor microsatellite variant with obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* ,1997 ,21:1032-1037.

16 Reavan GM ,Hoffman BB. Hypertension as a disease of carbohydrate and lipoprotein metabolism. *Am J Med* ,1989 ,87(suppl 6A) : 6A-2S-6A-6S.

17 Zee RYL , Griffiths LR , Morris BJ. Marked association of a RFLP for the low density lipoprotein receptor gene with obesity in essential hyperten-sives. *Biochem Biophys Res Commun* ,1992 ,189:965-971.

18 Morris BJ , Zee RYL , Robinson BG. Significant relationships of plasma lipids and body mass index with polymorphism at the linked low-density-lipoprotein receptor gene and insulin receptor gene loci (19 p13.2) in essential hypertensive patients. *Clinical Science* ,1994 ,86:583-592.

19 Griffiths LR , Nyholt DR , Curtain RP , et al. Cross-Sectional study of a microsatellite marker in the low density lipoprotein receptor gene in obese normotensives. *Clin Exp Pharmacol Physiol* ,1995 ,22:496-498.

20 Zee RYL , Schrader AP , Robinson BG , et al. Association of Hinc II RFLP of low-density lipoprotein receptor gene with obesity in essential hypertensives. *Clin Genet* ,1995 ,47: 118-121.

(收稿日期 2000-04-18)