

胆固醇酯转运蛋白基因 Taq I B 多态性和血浆浓度的人群分布特征和相互关系

刘静 赵冬 刘飒 刘军 秦兰萍 吴兆苏

【摘要】 目的 研究胆固醇酯转运蛋白(CETP)基因 Taq I B 位点多态性和 CETP 血浆浓度在自然人群中的分布特征以及两者的关系。方法 1999 年 9~10 月在北京市自然人群中采用分层随机抽样方法进行横断面调查。测定了 719 名 45~64 岁男女两性人群的血浆 CETP 浓度和 CETP 基因 Taq I B 多态性。结果 (1) B1B1、B1B2 和 B2B2 基因型的频率分别为 0.356、0.478 和 0.166, 等位基因 B2 的频率为 0.405, 基因型和等位基因频率的分布无性别差异。(2) 人群中 CETP 浓度呈正态分布, 均值为 2.03 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 女性比男性高 20.3% ($P < 0.001$), 各年龄组间的差异无显著性。(3) B1B1 和 B1B2 型的 CETP 浓度分别比 B2B2 型者高 19.6% 和 13.4%, 差异有显著性。(4) 按血脂水平、吸烟、饮酒状况进行分层后, 仅当甘油三酯 $\geq 150 \text{ mg}/\text{dl}$ 时, 不同基因型间 CETP 浓度的差异无显著性。血脂水平、吸烟、饮酒状况对 CETP 的影响在 B1B2 型杂合子中较明显。结论 CETP 基因 Taq I B 多态性可影响血浆 CETP 浓度, 但这种关系受血脂水平和吸烟、饮酒等因素的影响。

【关键词】 胆固醇酯转运蛋白; 基因多态性; 横断面研究

Study on the distribution and association of cholesteryl ester transfer protein-Taq I B polymorphism and plasma concentration in general population LIU Jing, ZHAO Dong, LIU Sa, LIU Jun, Qin Lan-ping, WU Zhao-su. Department of Epidemiology, Beijing Institute of Heart, Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing 100029, China

【Abstract】 Objective To study the distribution of cholesteryl ester transfer protein(CETP)-Taq I B polymorphism and plasma concentration in general population and the association between the two. **Methods** A cross-sectional study was carried out in a general population of Beijing in 1999, using stratified-random sampling method. CETP-Taq I B polymorphism and plasma CETP concentration were determined in 719 individual aged 45-64 years. **Results** (1) Frequencies of B1B1, B1B2 and B2B2 genotypes were 0.356, 0.478 and 0.166, respectively. The frequency of allele B2 was 0.405. Distributions of genotypes and alleles were homogeneous in both sexes. (2) Plasma CETP concentration manifested as a normal distribution, with the mean of 2.03 $\mu\text{g}/\text{ml}$. The value of female was 20.3%, higher than that of male ($P < 0.001$). There were no differences among age groups. (3) Plasma CETP concentrations of B1B1 and B1B2 were 19.6% and 13.4% higher than that of B2B2 homozygotes. (4) Stratified by lipid levels, smoking and alcohol consumption, only when tryglyceride exceeded 150 mg/dl , with no significant difference among three genotypes. The effect of lipids, smoking and alcohol consumption status was more significant in B1B2 heterozygotes. **Conclusion** CETP-Taq I B polymorphism was a determinant of plasma CETP concentration. However, the effect could be modified by other factors, such as lipids, smoking and alcohol consumption.

【Key words】 Cholesteryl ester transfer protein; Gene polymorphism; Cross-sectional study

胆固醇酯转运蛋白(CETP)是调节血浆中非极性脂质在各种脂蛋白间交换和平衡的重要因子。CETP的主要功能是将高密度脂蛋白(HDL)中的胆固醇酯(CE)转运到非高密度脂蛋白(nonHDL),即

极低密度脂蛋白(VLDL)、中间密度脂蛋白(IDL)和低密度脂蛋白(LDL),并将后者中的甘油三酯(TG)转运回HDL。家系研究发现,某些CETP基因的突变不能形成正常的mRNA,表现为血浆CETP缺失和HDL-C明显升高^[1]。而这种基因突变在人群中的频率很低,公共卫生意义较小,且这种极端的遗传缺陷对表型的影响不一定适用于普通人。近几年来,国外研究发现CETP基因Taq I B位点的多态

基金项目 北京市心血管病高技术实验室课题资助项目(01)

作者单位:100029 北京心肺血管疾病研究所北京安贞医院流行病学研究室

性与 CETP 浓度有关^[2,3]。我国有关 CETP 的研究尚属起步阶段,许多问题需要人群流行病学研究来阐明。如 CETP Taq I B 位点基因多态性及血浆浓度的人群分布特征如何?是否与外国人群有差异?该基因型与表型的关系如何,受哪些因素影响等。为此,我们进行了大样本的自然人群的横断面研究,旨在阐明国内尚未见报道的 CETP 基因 Taq I B 多态性和血浆 CETP 浓度在人群中的分布特征及两者的关系。

对象与方法

1. 研究人群:1999年9~10月,按照北京市心血管病高技术实验室课题“动脉粥样硬化性疾病发病危险因素的分子流行病学研究”的方案,在北京市自然人群中采用分层随机抽样方法进行心血管病危险因素的横断面调查。共抽出45~64岁719名,男性304人,女性415人做为研究对象,测定血浆 CETP 浓度和 CETP 基因 Taq I B 多态性。

2. 研究内容:调查问卷根据 WHO-MONICA 危险因素调查问卷进行设计,包括人口学资料、个人病史、心血管病家族史、吸烟和饮酒水平,并测量了血压、身高、体重、腰围等,实验室检查包括总胆固醇(TC)、LDL-C、HDL-C、TG等。TC、TG采用酶法测定,HDL-C采用磷钨酸镁沉淀法,LDL-C采用匀相直接测定法。CETP采用日本第一化学(Daiichi)ELISA方法的试剂盒,在ETI-STAR全自动酶标仪上进行。全部测定由专人负责在固定的仪器上进行,并用专门的质控血清进行质控,批间变异系数为5.9%。基因多态性的检测方法为:EDTA抗凝血以酚氯仿法提取基因组DNA。PCR反应体系为:1 μg基因组DNA,每侧引物20 pmol/L(引物序列为:5'-CAC TAG CCC AGA GAG AGG AGT GCC;3'-CTG AGC CCA GCC GCA CAC TAA C),10倍缓冲液2.5 μl,dNTPs 每种2.5 nmol/L,Taq DNA聚合酶1 U,去离子水补充至25 μl。PCR反应周期为:94℃预变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸1 min,重复30个循环。取PCR产物10 μl,限制性内切酶Taq I 5 U,10倍缓冲液2 μl,100倍BSA 0.2 μl,去离子水补充至20 μl,65℃水浴3 h。1.5%琼脂糖凝胶电泳后产生361 bp和174 bp 2条带的为B1B1基因型,产生535 bp、361 bp和174 bp 3条带的为B1B2基因型,只产生535 bp 1条带的为B2B2基因型。

3. 统计学方法:两组计量资料的比较采用 *t* 检

验。三组以上计量资料的比较采用方差分析。为排除性别因素的影响,在男女合计的分析中按男女各1/2的权重进行标化。计数资料的比较采用卡方检验。正态性检验用 Kolmogorov-Smirnov 检验。全部分析以 SPSS 软件完成。极低密度脂蛋白胆固醇(VLDL-C)以公式计算:VLDL-C = TC - HDL-C - LDL-C

结 果

1. CETP-Taq I B 基因型和等位基因频率的人群分布:人群中 CETP-Taq I B 基因型以 B1B2 杂合子为主,B1B1 纯合子其次,B2B2 纯合子最少;等位基因以 B1 为主。基因型和等位基因频率的分布均无性别差异(表1)。基因频率的分布符合 Hardy-Weinberg 定律($\chi^2=0.02, P=0.99$)。

表1 CETP-Taq I B 基因型与等位基因频率的人群分布

型 别	男性		女性		合计		
	人数	频率	人数	频率	人数	频率	
基因型	B1B1	110	0.362	146	0.352	256	0.356
	B1B2	146	0.480	198	0.477	344	0.478
	B2B2	48	0.158	71	0.171	119	0.166
等位基因	B1	-	0.602	-	0.590	-	0.595
	B2	-	0.398	-	0.410	-	0.405

注:男女两性基因型频率的差异无显著性($\chi^2=0.24, P=0.89$);男女两性等位基因频率的差异无显著性($\chi^2=0.10, P=0.75$)

2. 血浆 CETP 浓度的人群分布特征:经 Kolmogorov-Smirnov 检验,人群中血浆 CETP 呈正态分布($P=0.18$)。男女合计的均值为2.03 μg/ml,中位数为2.00 μg/ml。女性的 CETP 水平比男性高20.3%,差异有显著性($P<0.001$);各年龄组间的差异无显著性(表2)。

表2 男女两性不同年龄组的血浆 CETP 浓度(μg/ml)

年龄组 (岁)	男性		女性		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
	人数	$\bar{x} \pm s$	人数	$\bar{x} \pm s$		
45~	84	1.79 ± 0.41	103	2.11 ± 0.52	-4.594	<0.001
50~	61	1.75 ± 0.50	93	2.18 ± 0.54	-4.975	<0.001
55~	63	1.78 ± 0.49	104	2.26 ± 0.50	-6.058	<0.001
60~64	96	1.91 ± 0.49	115	2.21 ± 0.49	-4.429	<0.001
合计	304	1.82 ± 0.47	415	2.19 ± 0.52	-9.795	<0.001

3. CETP-Taq I B 基因型与 CETP 血浆浓度的关系:B1B1、B1B2 和 B2B2 三种基因型者血浆 CETP 浓度的差异有显著性($P<0.001$)。男女合计后 B1B1 型纯合子的 CETP 浓度比 B2B2 型高19.6%。男女的趋势一致(表3)。

表3 男女两性不同基因型的血浆 CETP 浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$)

基因型	男性		女性		合计	
	人数	$\bar{x} \pm s$	人数	$\bar{x} \pm s$	人数	$\bar{x} \pm s$
B1B1	110	1.96 \pm 0.45	146	2.27 \pm 0.50	256	2.14 \pm 0.51
B1B2	146	1.79 \pm 0.47	198	2.21 \pm 0.50	344	2.03 \pm 0.53
B2B2	48	1.57 \pm 0.42	71	1.95 \pm 0.50	119	1.79 \pm 0.50
F 值	12.27		10.49		17.83	
P 值	<0.001		<0.001		<0.001	

4. 其他因素对 CETP 多态性和 CETP 浓度关系的影响:

(1) 不同血脂水平和吸烟、饮酒状况下三种基因型的 CETP 水平: 调整性别的影响后, $\text{TG} \geq 150 \text{ mg}/\text{dl}$ 时三种基因型之间的差异无显著性, 而其他血脂水平和吸烟、饮酒状况时三种基因型之间的差异均有显著性(表 4)。

(2) 同一基因型内血脂水平和吸烟、饮酒状况不同的 CETP 水平: 血脂水平仅对 B1B2 杂合子的影响较明显, 在 B1B2 型杂合子中, $\text{HDL-C} < 35 \text{ mg}/\text{dl}$ 时 CETP 浓度降低, $\text{LDL-C} \geq 120 \text{ mg}/\text{dl}$ 时 CETP 浓度升高, 差异有显著性; 而 B1B1 和 B2B2 纯合子的 CETP 浓度在不同血脂水平差异无显著性。B1B2 型杂合子吸烟者的 CETP 浓度降低, 饮酒者的 CETP 浓度升高。吸烟、饮酒对 B1B1 和 B2B2 纯合子的影响差异无显著性(表 4)。

讨 论

CETP 是调节血浆中非极性脂质在各种脂蛋白间交换和平衡的重要因子。它的主要作用是将 CE 从 HDL 转运到 VLDL、LDL 和 IDL, 并与其中的

TG 进行交换。

环境因素和遗传因素都会影响 CETP 水平^[4]。家系研究发现 CETP 基因突变能严重影响血浆 CETP 水平^[1]。但从公共卫生的角度而言, 更需要研究那些在人群中分布较广但作用相对较弱的基因变异是否影响 CETP 表型。CETP 基因第 1 内含子的 Taq I B 位点的 B1B2 多态性是近年来国外研究的热点, 而国内尚未见此方面的报道。

本研究表明, 稀有等位基因 B2 的频率为 0.40, 与欧美人群^[2,3]和韩国人^[5]相近, 说明 CETP B1B2 等位基因的频率分布可能无人群异质性。这一点与某些基因多态性的种族差异明显不同^[6]。

CETP 表型是否有人群异质性缺乏可比性。主要原因是 CETP 水平的测定方法不统一。早期研究多测定 CETP 的活性, 其结果受底物和反应时间的影响较大, 故近几年来多采用 RIA 或 ELISA 的方法测定 CETP 的浓度。本研究采用商品化的 ELISA 试剂盒、标准血清和专门的质控血清, 从而保证了结果的可靠性和与其他结果的可比性。

本研究在大样本人群中采用较可靠的方法证明 CETP 血浆浓度呈正态分布, 有性别差异(女性高于男性), 但在 45~64 岁年龄组内无年龄差异。

本研究表明, CETP Taq I B 基因多态性可以影响 CETP 表型, B1B1 型纯合子的 CETP 浓度比 B2B2 型纯合子高 19.6%。此结果与多数国外研究结果一致^[3,7]。此外, 本研究还发现基因型对表型影响程度的大小受其他因素的调节: 高 TG 时基因型对表型的影响不再有显著性, 提示 TG 可能对 CETP 有影响。在高 TG 情况下, 该基因型的作用

表4 CETP-Taq I B 基因型和其他因素对 CETP 浓度的共同影响(调整性别)

因 素	B1B1		B1B2		B2B2		F 值	P 值
	人数	$\bar{x} \pm s$	人数	$\bar{x} \pm s$	人数	$\bar{x} \pm s$		
TG<150(mg/dl)	178	2.14 \pm 0.52	238	2.02 \pm 0.54	85	1.74 \pm 0.52	16.43	<0.001
TG \geq 150(mg/dl)	78	2.06 \pm 0.47	106	1.95 \pm 0.52	34	1.83 \pm 0.43	2.80	0.063
HDL-C \geq 35(mg/dl)	234	2.11 \pm 0.51	325	2.00 \pm 0.53	111	1.76 \pm 0.50	17.17	<0.001
HDL-C<35(mg/dl)	22	2.16 \pm 0.53	19	1.75 \pm 0.44*	8	1.84 \pm 0.42	3.96	0.026
LDL-C<120(mg/dl)	152	2.08 \pm 0.52	186	1.92 \pm 0.52	65	1.80 \pm 0.52	7.67	<0.001
LDL-C \geq 120(mg/dl)	104	2.17 \pm 0.49	158	2.10 \pm 0.52**	54	1.71 \pm 0.47	16.11	<0.001
VLDL-C<30(mg/dl)	80	2.14 \pm 0.54	104	2.05 \pm 0.55	40	1.72 \pm 0.48	8.47	<0.001
VLDL-C \geq 30(mg/dl)	176	2.10 \pm 0.49	240	1.98 \pm 0.52	79	1.77 \pm 0.51	11.58	<0.001
不吸烟	185	2.16 \pm 0.50	244	2.04 \pm 0.51	92	1.77 \pm 0.50	18.37	<0.001
吸烟	71	2.07 \pm 0.53	100	1.86 \pm 0.48**	27	1.74 \pm 0.71	4.97	0.008
不饮酒	216	2.12 \pm 0.48	284	1.99 \pm 0.53	98	1.78 \pm 0.50	15.29	<0.001
饮酒	40	1.95 \pm 0.54	60	2.21 \pm 0.56**	21	1.89 \pm 0.48	4.16	0.018

* 同一基因型内不同血脂、吸烟、饮酒状况 CETP 浓度的差异有显著性, $P < 0.05$;** 同一基因型内不同血脂、吸烟、饮酒状况 CETP 浓度的差异有显著性, $P < 0.01$

不如在 TG 正常时明显。这种 TG 对基因型-表型关系的影响尚需进一步的研究来证实。同时,本研究还发现血脂和吸烟、饮酒状况对 CETP 的影响主要见于 B1B2 杂合子,而对纯合子的影响则不显著。

Taq I B 多态性位于内含子,它本身不会改变 CETP 基因的表达,但可能与其他功能性变异(如启动子-629C > A 多态性)连锁而改变 CETP 的表型^[8]。

综上所述,本研究阐明了 CETP Taq I B 基因多态性和血浆 CETP 浓度的人群分布特征,以及两者的相互关系。CETP Taq I B 位点 B1B2 多态性可影响血浆 CETP 水平,但这种关系受血脂水平和吸烟、饮酒等因素的影响。

参 考 文 献

1 Brown ML, Inazu A, Hesler CB, et al. Molecular basis of lipid transfer protein deficiency in a family with increased high-density lipoproteins. *Nature*, 1989, 342:448-451.

- 2 Fumeron F, Betoule, Luc G, et al. Alcohol intake modulates the effect of a polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein gene on plasma high density lipoprotein and the risk of myocardial infarction. *J Clin Invest*, 1995, 96:1664-1671.
- 3 Ordovas JM, Cupples LA, Corella D, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein-Taq I B polymorphism with variations in lipoprotein subclasses and coronary heart disease risk, the framingham study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20:1323-1329.
- 4 Lagrost L. Regulation of cholesteryl ester transfer protein (CETP) activity: review of in vitro and in vivo studies. *Biochimica Biophysica Acta*, 1994, 1215:209-236.
- 5 Hong SH, Kim YR, Song J, et al. Genetic variations of cholesterol ester transfer protein gene in Koreans. *Human Biology*, 2001, 73: 815-821.
- 6 刘静,赵冬,吴桂贤,等.载脂蛋白 B 基因 XbaI 位点多态性对血清载脂蛋白及血脂的影响. *中华医学遗传学杂志*, 2001, 18:70-71.
- 7 Kark JD, Sinnreich R, Leitersdorf E, et al. Taq I B CETP polymorphism, plasma CETP, lipoproteins, apolipoproteins and sex differences in a Jewish population sample characterized by low HDL-cholesterol. *Atherosclerosis*, 2000, 151:509-518.
- 8 Inazu A, Koizumi J, Mabuchi H. Cholesteryl ester transfer protein and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 2000, 11:389-396.

(收稿日期 2002-05-20)

(本文编辑:尹廉)

· 疾病控制 ·

羊种布鲁氏菌心内膜炎一例

王鑫 徐彦霞 赵宝珍

患者男性,40岁,农民。一年前牧羊数月后,关节、肌肉反复酸痛,间断发热。2002年10月14日因高热(39.5℃)、胸闷、气短、全身乏力、加重时不能平卧入我院心内科。入院时查体:心率110次/min;口唇紫绀、杵状指,甲床苍白,叩诊心界向两侧扩大,心尖区闻及舒张期奔马律,主动脉第二听诊可闻及双期杂音;心脏超声显示:主动脉狭窄和中重度主动脉瓣畸形;主动脉和二尖瓣可疑赘生物,提示感染性心内膜炎。3次血培养分离出羊种布鲁氏菌。本例患者有先天性动脉瓣畸形,并有羊接触史,波浪式热型,布鲁氏菌诊断血清效价1:1600。临床诊断:①先天性动脉瓣畸形;②布鲁氏菌性心内膜炎。选用敏感性抗生素头孢他啶治疗,3天后体温降至37.8℃,后改用利福平和强力霉素,体温降至正常。实验室检查:①细菌学鉴定:血培养瓶经 Bact/Alert 120 全自动血培养仪监测,70~76 h 报警阳性,分别转种羊血、巧克力和麦康凯琼脂平板,5%~10% CO₂ 孵箱,72 h 后,羊血琼脂平板和巧克力琼脂平板生长有 0.5 mm,圆形、光滑、凸起、珍珠状闪光、透明、边缘整齐的菌落,麦康凯琼脂平板不生长;镜下可见革兰阴性小球杆菌,多数成双排列,偶有单个,

无动力。生化反应:触酶、氧化酶试验阳性,尿素酶 2 h 内阳性,硝酸盐还原试验阳性,分解葡萄糖,不分解半乳糖、阿拉伯糖、木糖、蔗糖,精氨酸双水解酶、赖氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶均阴性,不产生硫化氢,根据以上生物学特性和生化反应可鉴定为羊种布鲁氏菌;②血清学诊断:布鲁氏菌诊断血清效价1:1600;③染料抑制试验:硫堇和品红抑制试验阴性;④噬菌体裂解试验:RTD 和 10⁴ RTD 均为阴性;⑤药敏试验:利福平、头孢他啶、环丙沙星、左氟沙星、头孢曲松、庆大霉素、头孢噻肟均敏感,氨苄青霉素/舒巴坦、青霉素耐药。

讨论:布鲁氏菌以皮肤感染为主,其次是食用生奶和污染的食物经消化道感染。布鲁氏菌易反复侵入血流,形成菌血症,引起组织器官的病变和变态反应。本患者患有基础性疾病(先天性动脉瓣畸形),有羊接触史,极易导致感染性心内膜炎。自上个世纪 90 年代至今,布病疫情有回升势头,羊种布鲁氏菌在流行中仍占优势(80%)。羊种布鲁氏菌引起的心内膜炎国内报道很少,是导致布病死亡的主要并发症。布鲁氏菌生长缓慢,需 CO₂ 环境,实验室应延长血培养转种后的培养时间至 6~7 天,以防漏检。对于患者治疗,鉴定到种已经足够,生物学分型对流行病学研究有重要意义。

(收稿日期 2002-11-08)

(本文编辑:张林东)

作者单位 050000 石家庄,河北医科大学第二医院检验科(王鑫、赵宝珍)河北省阜城县医院检验科(徐彦霞)