

# 低密度脂蛋白受体基因多态性与高脂血症的关系

刘爱萍 詹思延 李立明

**【摘要】** 目的 探讨上海市城市社区高血压人群中低密度脂蛋白受体( low density lipoprotein receptor , LDL-R )基因多态性与高脂血症的关系。方法 运用聚合酶链反应-限制性内切酶片段长度多态性( PCR-RFLP )技术检测 107 例高脂血症、104 例临界高脂血症和 108 例正常血脂的 LDL-R 基因多态性。结果 发现 LDL-R 基因型有 3 种,即( +/+ )型、( +/- )型、( -/- )型。男性 3 组均有( +/+ )基因型,高脂血症组 2 例,临界高脂血症组和正常血脂组均为 1 例。高脂血症组、临界高脂血症组、正常血脂组( +/- )基因型频率分别为 41.18%、46.15%、19.05% ,3 组( + )等位基因频率分别为 24.51%、25.00%、11.11%。高脂血症组和临界高脂血症组( +/- )基因型频率及( + )等位基因频率均高于正常血脂组(  $P < 0.05$  );女性 3 组均无( +/+ )基因型,且 3 组基因型及等位基因频率差异无显著性(  $P < 0.05$  )。单因素和多因素非条件 logistic 回归分析显示:男性 LDL-R Ava II( +/+ , +/- )基因型与高脂血症(  $OR = 3.08$  )、临界高脂血症(  $OR = 3.82$  )关联显著。结论 上海市城市社区高血压人群中男性高脂血症 LDL-R 基因( +/- )基因型显著高于正常血脂组( + )等位基因频率也明显高于正常血脂组,说明 LDL-R 基因多态性与高脂血症发生有一定关系,LDL-R 基因可能是高脂血症的易感基因之一。

**【关键词】** 低密度脂蛋白受体 ; 基因多态性 ; 高脂血症 ; 高血压

**The relationship of low density lipoprotein receptor gene polymorphism and hyperlipidemia** LIU Aiping , ZHAN Siyan , LI Liming . Department of Epidemiology , Beijing Medical University , Beijing 100083 , China ( Correspondence : LIU Aiping , Preventive Medicine Baotou Medical College , Baotou 014000 )

**【Abstract】 Objective** To study the relationship of low density lipoprotein receptor gene polymorphism and hyperlipidemia in the population with essential hypertension. **Methods** People with different lipid levels including 107 hyperlipidemia ,104 at margin level and 108 normal were recruited in the study. Their polymorphisms of LDL-R gene were analyzed using PCR-RFLP. **Results** There were three kinds of genotype : ( +/+ ) ( +/- ) ( -/- ). In male , the frequencies of the( +/- ) in three study groups were shown as follows : 41.18% in hyperlipidemia , 46.15% in margin level , 19.05% in normal lipid. The frequency of ( + ) allele was significantly higher in hyperlipidemia than that in normal lipid ( 24.51% , 25.00% and 11.11% , respectively ). In women , the differences were not statistically significant. The nonconditional univariate and multivariate logistic regression analysis demonstrated that ( + ) allele of Ava II polymorphism of LDL-R was a genetic marker of male 's hypercholesterolemia. **Conclusions** The frequency of ( +/- ) hyperlipidemia in males was higher than that in normal lipid group and the ( + ) allele in male hyperlipidemia was significantly more frequent seen than that in normal lipid group. These results suggested that polymorphisms of LDL-R gene might play an independent role of risk factor for hyperlipidemia.

**【Key words】** Low density lipoprotein receptor ; Gene polymorphism ; Hyperlipidemia ; Essential hypertension

高血压常与高脂血症并存且对心血管病起相互协同作用。“血脂代谢障碍性高血压”与载脂蛋白B

( apoB ) 升高、甘油三酯( TG )增高、高密度脂蛋白( HDL )降低、小而致密的低密度脂蛋白( LDL )增高、高胰岛素抵抗性等有关<sup>[1]</sup>。低密度脂蛋白受体( LDL-R )的作用是清除中间密度脂蛋白( IDL ) , 限制 LDL 的生成 , 介导细胞摄取 LDL , 增加 LDL 的降解。

作者单位 : 100083 北京医科大学流行病学教研室( 第一作者现在工作单位包头医学院预防医学教研室 014010 )

LDL-R 基因异常可导致 LDL-R 数目降低或蛋白结构改变,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。本研究的目的在于探讨上海市城市社区高血压人群中 LDL-R 基因多态性与高脂血症的关系,为冠心病的预测提供科学依据。

## 对象与方法

### 一、研究对象

1. 对象来源:来自国家“九五”科技攻关项目“原发性高血压社区综合防治研究”城市社区——上海市南市区,具备较完整的高血压患病资料及影响因素等方面的基线数据。

2. 研究对象的选择:从高血压者(SBP  $\geq$  140 mmHg, DBP  $\geq$  90 mmHg, 年龄  $\geq$  35 岁,排除有冠心病、脑卒中、肿瘤、糖尿病肾病病史者及有严重心、肝、肾病等慢性病者)中按胆固醇水平<sup>[2]</sup>分别从中按随机数字表抽取随机样本作为研究对象,共 338 例,其中:①高脂血症组 107 例总胆固醇(TC)  $\geq$  5.72 mmol/L; ②临界高脂血症组 104 例(5.2 mmol/L < TC < 5.72 mmol/L); ③正常血脂组 108 例(TC < 5.2 mmol/L 同时 LDL-C < 3.12 mmol/L, TG < 1.7 mmol/L); ④甘油三酯血症 19 例(TC < 5.2 mmol/L 同时 LDL-C < 3.12 mmol/L, TG  $\geq$  1.7 mmol/L)。

### 二、研究方法

1. 现场资料的收集:问卷包括一般情况、疾病史、吸烟史、饮酒史。体检包括身高、体重、血压,按体重/身高<sup>2</sup>(kg/m<sup>2</sup>)计算体质指数。

2. 血脂检测:空腹 12 h 采集静脉血,常规分离血清和血细胞,血清用于测定血脂,含有血细胞的血凝块 -20℃ 保存,从血凝块中提取基因组 DNA 模板。血脂测定方法如下。

(1)总胆固醇(TC)和 TG 均采用氧化酶法。

(2)高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C):用磷钨酸酶沉淀极低密度脂蛋白和低密度脂蛋白,酶法测定上清液中的胆固醇。

以上试剂统一使用总胆固醇试剂盒、甘油三酯试剂盒(中国科学院生物物理研究所、中生公司生产,卫生部老年医学研究所监制)。

(3)低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C):采用 Freidewald 公式计算。

北京医科大学或卫生部临床检验中心进行质控,上述各项检测质控合格。

### 3. LDL-R 基因多态性分析(PCR-RFLP):

(1)人基因组 DNA 的提取:血凝块标本用等体积 4%(体积分数)十六烷基三甲基溴化铵及蒸馏水室温处理 10 min,各 2 次,离心后收集沉淀,用 60  $\mu$ g/L 蛋白酶 K 37℃ 消化过夜,次日用常规酚、氯仿法提取 DNA。

(2)PCR 扩增 LDL-R 基因目的片段:引物由 LTI 公司合成,序列为:

上游引物 5'-GTCATCTTCCTTGCTGCTGTTEAG-3',

下游引物 5'-GTTTCCACAAGGAGGTTTCAAGGTT-3'。

PCR 扩增条件为:94℃ 变性 4 min;94℃ 30 s, 60℃ 1 min,共 30 个循环;60℃ 延伸 2 min。2% 琼脂糖凝胶电泳观察 PCR 产物的扩增情况。相应位置有清晰条带,则进行酶切反应。

(3)PCR 反应产物的限制性片段长度多态性分析(PCR-RFLP):PCR 产物用限制性内切酶 Ava II,经 37℃ 消化后,2.5% 琼脂糖凝胶电泳分析。

4. 统计学处理:用 SPSS 统计软件进行方差分析、 $\chi^2$  检验及 logistic 回归分析。

## 结 果

### 一、LDL-R 基因外显子 13 的 Ava II 多态性

本研究所得 LDL-R 基因 13 外显子 Ava II 酶切片段有 3 种,分子量分别为 228 bp、141 bp、87 bp。等位基因如有 Ava II 酶切位点,得到 141 bp 和 87 bp 的酶切片段(等位基因 +);无 Ava II 酶切位点的等位基因只能得到一条 228 bp 的带(等位基因 -),基因型有 3 种(-/-)基因型(1 条 228 bp 的电泳带)、(+/-)基因型(3 条电泳带:228 bp、141 bp、87 bp)及(+++)基因型(2 条前移的电泳带:141 bp、87 bp)。

### 二、高脂血症组与正常血脂组的一般资料

107 例高脂血症者、104 例临界高脂血症者和 108 例正常血脂者相比,年龄在男性差异无显著性;而女性高脂血症组、临界高脂血症组的年龄高于正常血脂组。高脂血症组、临界高脂血症组血清 TC、TG、LDL-C 高于正常血脂组( $P < 0.05$ );正常血脂组血清 HDL-C 水平高于高脂血症组及临界高脂血症组,但未显示统计学差异(表 1)。

### 三、3 组基因型构成比及等位基因频率的比较

(1)男性 3 组均有(+++)基因型,高脂血症组 2 例,临界高脂血症组和正常血脂组均为 1 例;高脂血症组、临界高脂血症组(+/-)基因型频率均高于

正常血脂组( $\chi^2 = 7.23, 9.89, P < 0.05$ )。女性 3 组均无(+/+)基因型,且 3 组基因型频率差异无显著性( $\chi^2 = 0.014, 0.018, P > 0.05$ ) (表 2)。

(2) 男性, 高脂血症组、临界高脂血症组(+)等位基因频率均高于正常血脂组( $\chi^2 = 7.13, 7.650, P < 0.05$ )。女性, 高脂血症组、临界高脂血症组(+)等位基因频率与正常血脂组相比差异均无显著性( $\chi^2 = 0.013, 0.014, P > 0.05$ ) (表 2)。

(3) 将 LDL-R 基因分为(-/-)型和(+/, +, +/-)型, 分析(+)等位基因与高脂血症的关系。结果显示: 男、女合计临界高脂血症组 OR 为 2.01, 差异有显著性。男性临界高脂血症组 OR 为 3.56, 高脂血症组 OR 为 3.16, 两组差异均有显著性。女性 OR 值差异均无显著性。

#### 四、危险因素的 logistic 回归分析

将 LDL 受体 Ava II 多态性和年龄、性别等变量作多因素非条件 logistic 回归分析(后退法), 结果显示: 控制其他因素后, LDL 受体基因(+)等位基因仍与男性高脂血症(OR = 3.08, 95% CI 为 1.33 ~ 7.11,

$P < 0.05$ )、临界高脂血症(OR = 3.26, 95% CI 为 1.56 ~ 9.35,  $P < 0.05$ ) 有关。

#### 五、高血压人群中 LDL-R 基因多态性与不同类型高脂血症的关系

1. 不同类型高脂血症组和正常血脂组 LDL 受体基因型构成的比较: 除临界混合型高脂血症组外, 其余各组均有 1 例(+/+)基因型(+/-)基因型构成以临界高胆固醇血症组和高胆固醇血症组居高, 分别为 46.70% 和 43.50%, 其次是混合型高脂血症组为 31.10%。高甘油三酯血症、正常血脂组、临界混合型高脂血症组分别为 26.30%、25.00%、24.10%。

2. LDL 受体(+)等位基因与不同类型高脂血症的关系: 将 LDL 受体基因分为(-/-)型和(+/, +, +/-)型, 分析(+)等位基因与不同类型高脂血症的关系。(+)等位基因与男性高胆固醇血症、临界高胆固醇血症的 OR 差异有显著性; 与女性高胆固醇血症 OR 值差异无显著性。(+)等位基因与

表1 各组不同变量特征比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

性别	分 组	例数	年龄 (岁)	体质指数 (kg/m <sup>2</sup> )	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)
男	高脂血症组	51	55.33 ± 9.94	25.12 ± 2.99	6.41 ± 0.46* <sup>△</sup>	2.20 ± 1.28* <sup>△</sup>	1.46 ± 0.66	4.50 ± 0.93* <sup>△</sup>
	临界高脂血症组	52	56.54 ± 9.71	24.64 ± 2.63	5.51 ± 0.12*	1.74 ± 0.87*	1.41 ± 0.32	3.67 ± 0.54*
	正常血脂组	63	54.87 ± 10.87	24.28 ± 3.31	4.30 ± 0.45	1.08 ± 0.31	1.46 ± 0.30	2.56 ± 0.50
女	高脂血症组	56	57.82 ± 7.50*	24.23 ± 2.93	6.59 ± 0.61* <sup>△</sup>	2.04 ± 0.95* <sup>△</sup>	1.51 ± 0.33	4.75 ± 0.66* <sup>△</sup>
	临界高脂血症组	52	53.33 ± 6.70*	24.48 ± 3.78	5.48 ± 0.14*	1.50 ± 0.72*	1.56 ± 0.36	3.73 ± 0.53*
	正常血脂组	45	48.64 ± 7.76	23.54 ± 4.07	4.27 ± 0.49	1.09 ± 0.31	1.60 ± 0.47	2.42 ± 0.54
合计	高脂血症组	107	56.64 ± 8.79*	24.65 ± 2.98	6.50 ± 0.50* <sup>△</sup>	2.11 ± 1.12* <sup>△</sup>	1.49 ± 0.51	4.63 ± 0.80* <sup>△</sup>
	临界高脂血症组	104	54.93 ± 8.46*	24.56 ± 3.25	5.50 ± 0.13*	1.62 ± 0.81*	1.48 ± 0.35	3.70 ± 0.54*
	正常血脂组	108	52.28 ± 10.13	23.97 ± 3.65	4.28 ± 0.46	1.08 ± 0.31	1.52 ± 0.39	2.51 ± 0.52
总计		319	54.61 ± 9.31	24.39 ± 3.31	5.42 ± 1.01	1.60 ± 0.92	1.50 ± 0.42	3.61 ± 1.08

\* 与正常血脂组比  $P < 0.05$ ; <sup>△</sup> 与临界高脂血症组相比  $P < 0.05$

表2 高血压人群各组 LDL 受体基因型构成及等位基因频率的比较

性别	分 组	例数	基 因 型			等 位 基 因	
			(-/-) 例数(%)	(+/-) 例数(%)	(+/+) 例数(%)	(-) 例数(%)	(+) 例数(%)
男性	正常血脂组	63	5(79.36)	1(19.05)	1(1.59)	1(88.89)	1(11.11)
	临界高脂血症组	52	2(51.92)	2(46.15)*	1(1.92)	7(75.00)	2(25.00)*
	高脂血症组	51	2(54.90)	2(41.18)*	2(3.92)	7(75.49)	2(24.51)*
女性	正常血脂组	45	3(66.67)	1(33.33)	0(0.00)	7(83.33)	1(16.67)
	临界高脂血症组	52	3(65.38)	1(34.62)	0(0.00)	8(82.69)	1(17.31)
	高脂血症组	56	3(67.86)	1(32.14)	0(0.00)	9(83.93)	1(16.07)
合计	正常血脂组	108	8(74.07)	2(25.00)	1(0.93)	18(86.57)	2(13.43)
	临界高脂血症组	104	6(58.65)	4(40.38)*	1(0.96)	16(78.85)	4(21.15)*
	高脂血症组	107	6(61.68)	3(36.45)	2(1.87)	17(79.91)	4(20.09)

注: 表中括号内数字为构成比(%); \* 与正常血脂组相比  $P < 0.05$

男女两性混合型高脂血症、高甘油三酯血症 OR 值 差异均无显著性。说明(+)等位基因仅与男性高胆

固醇血症有关联(表 3)。

讨 论

基因多态性是人类进化过程中由于各种原因引起的 DNA 序列的改变。DNA 多态性(顺序差异性)涉及到限制性内切酶识别位点时,利用限制性内切酶可将 DNA 切割成不同长度的限制性片段,这些具有不同长度的限制性片段类型在人群中的分布现象就称为限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)<sup>[3,4]</sup>。

LDL-R 基因位于人类第 19 号染色体短臂末端(p13.1~p13.3),全长 45 kb,是编码 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。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 1 个 Ava II 酶识别位点。

本次从遗传变异的角度着重探讨了高血压人群中 LDL-R 基因 Ava II 多态性与高脂血症的关系。研究发现,在男性,高脂血症组、临界高脂血症组(+)等位基因频率分别为 24.50%、25.00%,与正常血脂组(11.10%)相比差异均有显著性;与正常血脂组相比,男性(+)等位基因携带者发生高脂血症的危险性为 3.16,发生临界高脂血症的危险性为 3.56,差异均有显著性;在女性未见此种效应。非条件 logistic

回归分析显示,调整年龄、超重后,在男性高脂血症和临界高脂血症 LDL-R 基因 Ava II(+ )等位基因携带者的 OR 值差异仍有显著性,提示(+ )等位基因可能是高脂血症的危险因素。弗明翰心脏研究所发现 TC 水平与冠心病的发生呈强大的正相关。冠心病死亡率随血清 TC 增高而不断上升,TC 在 5.20 mmol/L(200 mg/dl)以上时更为明显。提示:具有 LDL-R 基因 Ava II 多态性(+ )等位基因者发生冠心病的危险性增高。

脂质代谢异常与冠心病的发生、发展密切相关,但不同类型的脂质异常对冠心病的影响不同<sup>[5,6]</sup>。本次研究发现:高胆固醇血症患者(+/-)基因型构成高于混合型高脂血症、高甘油三酯血症患者和正常血脂者,LDL-R 基因(+ )等位基因是男性高胆固醇血症的危险因素,高胆固醇血症 OR 值为 4.70,临界高胆固醇血症 OR 值为 4.87,差异均有显著性;但与女性高胆固醇血症无关;与两性的混合型高脂血症、高甘油三酯血症亦无关。提示,LDL-R 基因型 Ava II 多态性主要影响血清胆固醇水平,与血清甘油三酯水平可能无关。表明:在高血压人群中 LDL-R 基因 Ava II 多态性与高脂血症发病有关,是决定血脂水平,尤其是血清胆固醇水平的遗传因素之一。但常见的 LDL-R 基因变异与胆固醇水平关联的机制尚不清楚,可能是由于 LDL-R 基因多态性与 LDL-R 功能位点之间连锁不平衡,有待进一步探讨。

表 3 (+ )等位基因携带者与不同类型高脂血症的关系

高脂血症类型	男 性		女 性		合 计	
	OR 值	95%可信限	OR 值	95%可信限	OR 值	95%可信限
高 胆 固 醇 血 症	4.70**	1.61 ~ 13.72	1.25	0.46 ~ 3.41	2.40*	1.17 ~ 4.94
混 合 型 高 脂 血 症	2.43	0.94 ~ 6.26	0.73	0.26 ~ 2.02	1.39	0.70 ~ 2.77
高 甘 油 三 酯 血 症	-	-	-	-	0.79	0.26 ~ 2.19
临 界 高 胆 固 醇 血 症	4.87**	1.96 ~ 12.12	1.42	0.59 ~ 3.41	2.64**	1.41 ~ 4.93
临 界 混 合 型 高 脂 血 症	1.92	0.61 ~ 6.10	0.20	0.02 ~ 1.71	0.91	0.35 ~ 2.36

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01

参 考 文 献

- Williams RR, Hunt SC, Hopkins PN, et al. Familial dyslipidemic hypertension: Evidence from 58 Utah essential hypertension. JAMA, 1988, 259:3579-3586.
- 方圻,王钟林,宁田海,等.血脂异常防治建议.中华心血管病杂志,1997,25:169-173.
- Humphries SE. DNA polymorphism of the apolipoprotein genes-their use in the investigation of the genetic component of hyperlipidemia and atherosclerosis. Atherosclerosis, 1988, 72:89-95.

- 俞民澍,邱信芳,薛京伦,主编.医学分子遗传学.北京:科学出版社,1990.327-330.
- 周北凡,吴锡桂,主编.心血管病流行病学及人群防治.北京:人民卫生出版社,1991.86-95.
- Expert Panel on Detection, Evaluation, Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Summary of the second report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adults Treatment Panel II). JAMA, 1993, 269:3015-3023.

(收稿日期 2000-01-14)