

# 广州 75 岁以上老年人群中载脂蛋白 E 基因多态性与阿尔茨海默病关系的研究

赖世隆 陈云波 温泽淮 侯孟君 梁伟雄 王奇 杨志敏

**【摘要】** 目的 了解广州地区高龄老年人群中阿尔茨海默病(AD)患者载脂蛋白 E(apoE)基因型的分布,探讨 apoE $\epsilon$ 4 等位基因和 AD 之间的关联性。方法 采用系统整群抽样方法获取样本进行社区横断面研究。调查广州市荔湾区 75 岁以上的老年居民 3 825 名,按 DSM-III-R 和 NINCDS/ADRDA 的诊断标准,从中筛选出无血缘关系的散发性 AD 患者 190 例,其中 110 例接受抽血检查,并以该人群中 518 名接受抽血检查的健康老年人作为对照组。用 PCR-RFLP 技术检测以上两组的 apoE 基因型。结果 AD 组 apoE $\epsilon$ 2、 $\epsilon$ 3、 $\epsilon$ 4 等位基因频率分别为 10.0%、83.2%、6.8%,对照组 apoE $\epsilon$ 2、 $\epsilon$ 3、 $\epsilon$ 4 等位基因频率分别为 9.2%、84.3%、6.5%。AD 组与对照组在 apoE 基因型频率及等位基因频率分布上的差异均无显著性( $P > 0.05$ )。结论 广州市荔湾区 75 岁以上老年人群中,未发现 apoE $\epsilon$ 4 等位基因与散发性 AD 之间有显著性关联。

**【关键词】** 阿尔茨海默病;载脂蛋白 E 类;等位基因;基因频率

**Association between apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease: A population-based study in Guangzhou, China** LAI Shilong, CHEN Yunbo, WEN Zehuai, et al. Guangzhou University of Tradition Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the distribution of apolipoprotein E (apoE) genotype of patients with Alzheimer's disease (AD) in the population aged 75 and older in Guangzhou and to determine whether there was an association between AD and apoE $\epsilon$ 4 allele. **Methods** A systematic cluster sampling design, two-stage screening and field evaluations were used in a cross-sectional population-based study. Three thousand eight hundred and twenty-five subjects aged 75 and above in Liwan district of Guangzhou were interviewed. Blood samples were collected from 110 cases and 518 normal controls. The criteria of DSM-III-R and NINCDS-ADRDA were used for clinical diagnosis of probable AD. Polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) were used to determine apoE genotypes. **Results** There were 190 cases diagnosed as sporadic AD from this sample. The frequencies of the three apoE alleles were detected as follows:  $\epsilon$ 2 = 0.100,  $\epsilon$ 3 = 0.832,  $\epsilon$ 4 = 0.068 in AD patients;  $\epsilon$ 2 = 0.092,  $\epsilon$ 3 = 0.843,  $\epsilon$ 4 = 0.065 in normal controls. The frequencies of apoE genotype and allele in the AD patients were not significantly different from that in normal subjects ( $P > 0.05$ ). **Conclusion**

No association between sporadic AD and apoE  $\epsilon$ 4 allele was found among the population aged 75 and above in Liwan district of Guangzhou.

**【Key words】** Alzheimer's disease; Apolipoprotein E; Alleles; Gene frequency

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是老年期痴呆的常见类型,以家族性或散发性两种形式存在,大多数 AD 是散发的。载脂蛋白 E(apoE) $\epsilon$ 4 等位基因是目前较为肯定的 AD 发病的遗传易感因子,这已被世界各地的多个研究所证实<sup>[1]</sup>。不过,

不同的种族、地区及人群的 AD 患者与 apoE $\epsilon$ 4 基因的关联及联系强度是不一致的<sup>[2]</sup>。为了进一步了解广州汉族人群中 AD 患者 apoE 基因型分布的情况,我们和美国加州大学圣迭戈 AD 研究中心等单位合作,对广州市荔湾区 75 岁以上的老年人群进行了调查。

基金项目 广东省科委自然科学基金(930914)和广东省卫生系统“五个一科教兴医工程”重点科研项目资助(粤卫科[1996]20)

作者单位 510405 广州中医药大学 DME 中心(赖世隆、陈云波、温泽淮、梁伟雄、王奇);广东省中医院老年脑病研究所(侯孟君、杨志敏)

## 资料与方法

### 一、对象

来源于 1994~1995 年广州市荔湾区 75 岁以上的老年调查人群,共有 AD 患者 110 例,正常对照者

518 名,他们之间皆无血缘关系。

二、方法

1. 抽样调查与诊断:本研究为社区横断面调查。采用系统整群抽样方法,获得目标人群 4 753 人,共完成访问 3 825 人。用简易智能状态检查量表(MMSE)为主要工具,筛查出 MMSE 阳性者(得分低于确定的分界值,小学 20/21 及初中以上 24/25 分者为阳性)共有 1 160 人。同时,从 MMSE 阴性者(得分高于上述分界值)中采用分层随机方法抽出 196 人作为对照。以上两批共 1 356 人被纳入第二阶段进行诊断,其中 1 087 人完成诊断评价。该阶段的调查员由神经精神科医生担任,并经美国加州大学圣迭戈分校 AD 研究中心和我单位医师的系统培训。调查员以盲法作出初步诊断印象后,由本中心研究人员和美国专家再评价。诊断标准采用 DSM-III-R<sup>[3]</sup>和 NINCDS/ADRDA<sup>[4]</sup>。最终诊断为很可能是 AD(probable AD)的有 190 例,一般体检正常及排除神经系统疾病的有 781 人。190 例 AD 患者中有 110 例、781 人正常对照者中有 518 名分别接受抽血检查。

2. apoE 基因型的检测:以酚氯仿法提取受检对象血凝块的 DNA,参照 Hixson 等人<sup>[5]</sup>设计的引物序列,用多聚酶链反应限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术分析各样本的 apoE 基因型<sup>[6]</sup>。

3. 统计方法:AD 组和正常对照组之间的 apoE 基因型频率及等位基因频率比较采用  $\chi^2$  检验,并用吻合度检验证实其是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律。根据性别、年龄、教育程度对两组 apoE 等位基因频率进行分层分析。采用 SAS 6.12 统计软件进行 logistic 回归分析,以相对危险度(RR 值)估测 apoE $\epsilon$ 4 基因与 AD 的关联程度。

结 果

1. apoE 基因型频率及等位基因频率的分布:表 1 显示 AD 组与正常对照组相比,apoE 基因型、等位基因在两组构成的差异均无显著性意义( $P > 0.05$ )。各组基因型频率经吻合度检验, $P > 0.05$ ,符合 Hardy-Weinberg 定律,显示其处于遗传平衡状态。

2. 性别、年龄、教育程度差异对两组 apoE 等位基因频率分布的影响:由表 2 可见,根据年龄、性别、教育程度进行分层比较,除年龄  $\geq 85$  岁 AD 组的  $\epsilon_2$  等位基因频率低于正常对照组( $P < 0.05$ )外,其余因素分层后的两组 apoE 等位基因频率分布趋势仍然一致( $P > 0.05$ )。

表1 AD 组及正常对照组 apoE 基因型频率和等位基因频率分布

组别	例数	apoE 基因型频率(%) <sup>*</sup>						apoE 等位基因频率(%) <sup>**</sup>		
		$\epsilon_2/\epsilon_2$	$\epsilon_2/\epsilon_3$	$\epsilon_2/\epsilon_4$	$\epsilon_3/\epsilon_3$	$\epsilon_3/\epsilon_4$	$\epsilon_4/\epsilon_4$	$\epsilon_2$	$\epsilon_3$	$\epsilon_4$
AD 组	110	0.9	16.4	1.8	69.1	11.8	0.0	10.0	83.2	6.8
正常对照	518	0.0	17.4	0.9	69.9	11.6	0.2	9.2	84.3	6.5
合计	628	0.2	17.2	1.1	69.7	11.6	0.2	9.3	84.2	6.5

注:AD 组及正常对照组比较:<sup>\*</sup>  $\chi^2 = 2.47, P = 0.665$ ;  
<sup>\*\*</sup>  $\chi^2 = 0.20, P = 0.905$

3. apoE $\epsilon_4$  基因与 AD 的关联分析:含  $\epsilon_4$  基因与不含  $\epsilon_4$  基因者相比,发生 AD 的 RR 值为 1.07(95% 可信区间为 0.650 ~ 1.749),提示 apoE $\epsilon_4$  基因与 AD 没有关联(表 3)。在进行了性别、年龄、教育程度的校正后,含  $\epsilon_4$  与不含  $\epsilon_4$  者相比,发生 AD 的 RR 值为 0.93(95% 可信区间为 0.492 ~ 1.759)。

讨 论

apoE 是一种多功能蛋白,具有输送和调节脂类代谢的作用。现有证据表明,apoE 可积聚于老年斑

表2 AD 组及正常对照组性别、年龄、教育程度分层后 apoE 等位基因频率比较

分层项目		例数	AD 组 apoE 等位基因频率(%)			例数	正常对照组 apoE 等位基因频率(%)		
			$\epsilon_2$	$\epsilon_3$	$\epsilon_4$		$\epsilon_2$	$\epsilon_3$	$\epsilon_4$
性 别	男	10	20.0	75.0	5.0	151	9.3	85.1	5.6
	女	100	9.0	84.0	7.0	367	9.1	84.1	6.8
年龄(岁)	75 ~	20	12.5	82.5	5.0	265	7.9	86.4	5.7
	80 ~	38	18.4	73.7	7.9	172	10.8	79.9	9.3
	85 ~	52	2.9 <sup>*</sup>	90.4	6.7	81	9.9	87.0	3.1
教育程度	文盲	79	10.1	82.9	7.0	299	8.9	84.3	6.8
	小学以上	31	9.7	83.9	6.4	219	9.6	84.5	5.9

注:  $\chi^2$  检验,与正常对照组比较:<sup>\*</sup>  $\chi^2 = 4.67, P < 0.05$

表3 apoE $\epsilon$ 4 基因与 AD 的相关分析

组别	患病		$\chi^2$ 值	P 值	RR(95% CI)
	例数	频率 (%)			
含 $\epsilon$ 4 基因	81	18.5	0.06	>0.05	1.07(0.650~1.749)
不含 $\epsilon$ 4 基因	547	17.4			

注:将性别、年龄、教育程度纳入模型,进行 logistic 回归分析,结果含  $\epsilon$ 4 基因者 RR 值为 0.93 95% 的可信区间为 0.492~1.759

和神经元纤维缠结内,提示 apoE 与 AD 的病理发生有关,但确切机理仍不清楚。自从 1993 年 Strittmatter 等<sup>[7]</sup>发现 apoE $\epsilon$ 4 等位基因与 AD 的联系以来,大量的研究表明,约 50% 患 AD 的危险性可以归因于 apoE 基因型,且与 apoE $\epsilon$ 4 等位基因有剂量-依赖关系,即患 AD 的危险性依次为含  $\epsilon$ 4 纯合子 > 含  $\epsilon$ 4 杂合子 > 不含  $\epsilon$ 4 者。不过,这些报道同样表明,并不是所有携带  $\epsilon$ 4 等位基因的人都发病,同时 AD 患者也并非都含有  $\epsilon$ 4 等位基因,apoE $\epsilon$ 4 基因作为 AD 的危险因子可能受其他尚未明确的遗传或环境因素的影响<sup>[8]</sup>。

尽管世界各地大多数的研究都证实 apoE $\epsilon$ 4 等位基因与 AD 有着不同程度的联系,国内现已发表的有关报道大多也支持这种观点。但本研究却发现广州市荔湾区 75 岁以上老年人群中,AD 患者 apoE 基因型频率及等位基因频率分布与对照组差异均无显著性意义( $P > 0.05$ )。按性别、年龄、教育程度对两组 apoE 等位基因频率分布进行分层分析,结果也表明,除年龄  $\geq 85$  岁 AD 组的  $\epsilon$ 2 频率低于对照组( $P < 0.05$ )外,其余因素分层后的两组 apoE 等位基因频率分布趋势仍然一致( $P > 0.05$ ),在本次研究中提示 apoE $\epsilon$ 4 与散发性 AD 无关联( $P > 0.05$ )。

研究对象来自家族或医院的众多资料表明,AD 患者 apoE $\epsilon$ 4 等位基因频率都比对照组高, $\epsilon$ 4 与 AD 的联系较强,有的甚至提示含  $\epsilon$ 4/ $\epsilon$ 4 者到 80 岁时都会发生 AD<sup>[9]</sup>,而少数以人群为基础的研究却未观察到同样结果<sup>[10]</sup>。一般来说,来源于医院的样本可能存在社会人口学特征或患病率不同等所致的偏倚,其结论难以推及社区样本。本研究采用系统整群抽样获取样本,研究对象来自社区,与病例来源于医院的研究具有不同的社会人口学特征,在校正了性别、年龄和教育程度后,仍然提示 apoE $\epsilon$ 4 基因与 AD 无显著性关联。本研究调查人群的  $\epsilon$ 4 等位基因频率相对国外的研究较低,AD 患者中甚至未发现  $\epsilon$ 4 纯

合子,这可能也是该人群 AD 患者  $\epsilon$ 4 基因频率较低原因之一。另外,根据年龄分层比较结果表明,年龄  $\geq 85$  岁 AD 组的  $\epsilon$ 2 频率低于正常对照组( $P > 0.05$ ),说明  $\epsilon$ 2 可能有减少 AD 发病的作用。

国内外已报道的中国汉族人群 AD 患者与 apoE $\epsilon$ 4 基因的联系强度不尽相同,这也可能是不同地区人群的遗传异质性导致的。因此,广州市荔湾区 75 岁以上老年人群中,是否存在其他未知的遗传或环境危险因素对 AD 的发病起作用,尚有待进一步研究。

(本研究得到美国加州大学圣迭戈分校 AD 研究中心的 Robert Katzman 教授、David Salmon 博士,以及美国加州圣迭戈州立大学的 Elena Yu 教授和香港科技大学的 William T Liu 教授大力协助,特此致谢)

#### 参 考 文 献

- 1 Lendon CL, Ashall F, Goate AM. Exploring the etiology of Alzheimer disease using molecular genetics. JAMA, 1997, 277:825-831.
- 2 Kambach MI. Apolipoprotein E polymorphism and susceptibility to Alzheimer's disease. Hum Biol, 1995, 67:195-215.
- 3 American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 3rd Edition-Revised. Washington, DC: American Psychiatric Association, 1987.
- 4 McKhann G, Drachman D, Folstein M, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. Neurology, 1984, 34:939-944.
- 5 Hixson JE, Vernier DF. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. J Lipid Res, 1990, 31:545-548.
- 6 赖世隆, 侯孟君, 陈云波, 等. 512 例健康中老年人载脂蛋白 E 的基因多态性分布的研究. 中国老年学杂志, 1999, 19:328-330.
- 7 Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to  $\beta$ -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90:1977-1981.
- 8 Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science, 1988, 240:622-630.
- 9 Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. Science, 1993, 261:921-923.
- 10 Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, et al. Effects of age, gender, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer's disease. JAMA, 1997, 278:1349-1356.

(收稿日期 2000-10-15)