

·临床研究·

[文章编号] 1007-3949(2001)-04-0310-03

载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病的关系

张国兵¹, 陈灏珠², 江智文¹, 温沁竹¹, 陆元善¹, 庄文燕¹

(1. 上海市第一人民医院心内科, 上海 200080; 2. 上海市中山医院心血管研究所, 上海 200032)

[关键词] 载脂蛋白 E; 基因; 多态性; 冠状动脉疾病

[摘要] 为研究载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病及其严重程度相关性, 选择已经冠状动脉造影证实的冠心病病人(60 例)和冠状动脉造影阴性的对照组病人(50 例), 自外周抗凝血抽提基因组 DNA 后多聚酶链反应扩增特异性载脂蛋白 E 片段, 经 HhaI 限制性内切酶消化后电泳识别基因型, 多因素 Logistic 回归分析载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病相关性。结果显示, E2/3、E3/3、E3/4、E2/4、E4/4 和 E2/2 基因型在冠心病组分别占 11.7%、68.4%、10.7%、1.7%、1.7% 和 0, ε2、ε3 和 ε4 等位基因在冠心病组分别占 7%、82.2% 和 10.8%; 对照组分别占 6%、76%、16%、2%、0 和 4%、87%、9%。多因素 Logistic 回归分析显示载脂蛋白 E 基因多态性分布在冠心病组和对照组间无明显差异($P > 0.05$)。提示载脂蛋白 E 基因多态性分布与冠心病无明显相关性, 与冠心病严重程度也无明显相关性。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

The Relationship of Apolipoprotein E Gene Polymorphism to Coronary Artery Disease

ZHANG Guo Bing, CHEN Hao Zhu, JIANG Zhi Wen, WEN Qin Zhu, LU Yuan Shan, and ZHUANG Wen Yan

(Department of Cardiology, Shanghai First People's Hospital, Shanghai 200080, China)

MeSH Apolipoprotein E; Genes; Polymorphism; Coronary Artery Disease

ABSTRACT **Aim** To elucidate the relationship of apolipoproteins E gene polymorphism to coronary artery disease.

Methods Apolipoproteins E genotype was analyzed in 60 patients judged by selective coronary angiography and 50 cases with negative coronary angiography as control. PCR-restriction fragment length polymorphism methods was employed using genomic DNA from anti-coagulation blood. χ^2 test and Logistic regression were used for statistical analysis. **Result and Conclusion**

The apolipoproteins E2/3, E3/3, E3/4, E2/4, E4/4 and E2/2 genotypes and ε2, ε3 and ε4 alleles frequency in patients group were 11.7%, 68.4%, 10.7%, 1.7%, 1.7%, 0 and 7%, 82.2%, 10.8%; while 6%, 76%, 16%, 2%, 0, 0 and 4%, 87%, 9% in control group respectively. χ^2 test and Logistic regression analysis showed no differences in gene polymorphism between patients and control group. The apolipoproteins E gene polymorphism were also found not related to the severity of coronary artery disease.

基因多态性是冠心病(coronary artery disease, CHD)的遗传易患因素之一, 载脂蛋白 E(apolipoprotein E, Apo E) 第四外显子上编码第 112 位和 158 位氨基酸的密码子存在着多态性现象, 分别构成 ε2、ε3 和 ε4 等位基因, 组成六种基因型, 即纯合子 E2/2、E3/3、E4/4 和杂合子 E2/3、E2/4、E3/4。有较多研究显示载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病发病及其严重程度相关^[1,2], 但在不同种族及环境因素下的研究结果并不完全一致^[3,4]。本文旨在观察上海地区冠状动脉造影证实的冠心病病人和冠状动脉造影正常的对照组病人载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病及其严重程度的相关性。

[作者简介] 张国兵, 男, 1971 年出生, 江苏常州人, 内科心血管专业博士, 主治医师, 从事动脉粥样硬化基础研究。陈灏珠, 男, 广东新会人, 博士生导师, 工程院院士, 从事冠心病的基础和临床研究。

1 对象与方法

1.1 对象及分组

选择 1999 年 8 月至 2000 年 3 月在本院心内科住院的病人。冠心病组 60 例, 均经选择性冠状动脉造影术确诊, 其中男性 46 例, 女性 14 例, 年龄 64 ± 9 岁; 均为一支以上血管腔径狭窄 $\geq 50\%$ 者, 其中合并高血压的病人 20 例, 合并高脂血症的病人 19 例(32%)。对照组 50 例, 为冠状动脉造影正常个体, 男性 25 例, 女性 25 例, 年龄 59 ± 9 岁, 其中合并高血压的病人 15 例, 高脂血症的病人 11(22%) 例。除外肝肾功能异常和糖尿病病人。

冠心病的严重程度按两种方法评定^[5]: 病变血管数: 单支病变、双支病变、三支病变; Greer Lane 冠状动脉评分标准: 0 分、~ 5 分、~ 10 分、~ 15 分。

1.2 方法

外周血基因组 DNA 抽提试剂盒: 上海华舜公司。Taq DNA 多聚酶、HhaI 内切酶: Promega 公司。引物序列为 A 链: 5'-AACAACTGACCCCGGTGGCG-3'; B 链: 5'-ATAAATATAAAATATAAATAATGGCGCTGAGGCCGCGCTG-3', 由皓嘉公司合成。载脂蛋白 E 基因型测定采用等位基因限制性片段长度多态性方法, 多聚酶链反应扩增特异性载脂蛋白 E 基因片段后以 HhaI 内切酶酶切, 经 10% 聚丙烯酰胺电泳后紫外灯下识别基因型。

1.3 统计学方法

各组间年龄及血脂测定值比较用 *t* 检验和方差分析, 性别、基因型及等位基因频率分布比较用卡方检验, 上述各因素与冠心病的相关性用 Logistic 多因素回归分析。所有统计分析在 SPSS 软件包中完成。

2 结果

2.1 一般情况

冠心病组高密度脂蛋白浓度显著低于对照组 ($P < 0.01$), 其余各血脂指标在两组之间无明显差异。

2.2 冠心病患者载脂蛋白 E 基因多态性

表 1(Table 1) 显示两组间基因型 ($\chi^2 = 0.663, P = 0.718$) 和等位基因 ($\chi^2 = 0.741, P = 0.69$) 频率分布均无明显差异。

Logistic 多因素回归单因素分析显示载脂蛋白 E 基因型和等位基因频率分布与冠心病无相关性; 与年龄、性别、血脂各指标共同分析时, 除年龄、性别和高密度脂蛋白外 ($P < 0.05$), 其余指标均与冠心病的发病无关。

表 1. 冠心病组和对照组载脂蛋白 E 基因型和等位基因频率分布

Figure 1. The relationship of apolipoprotein E gene polymorphism to coronary artery disease

Groups		E2/3	E3/3	E3/4	E2/2	E2/4	E4/4	ε2	ε3	ε4
Control	M	1(2%)	20(40%)	3(6%)	0(0%)	1(2%)	0(0%)	2(2%)	44(44%)	4(4%)
	F	2(4%)	18(36%)	5(10%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	2(2%)	43(43%)	5(5%)
CHD	M	7(11.7%)	28(46.7%)	9(15%)	0(0%)	1(1.7%)	1(1.7%)	8(7%)	72(60%)	12(10%)
	F	0(0%)	13(21.7%)	1(1.7%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	27(22.2%)	1(0.8%)

M: male, F: female.

2.3 载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病严重程度

载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病严重程度相关性结果显示, 按病变血管数分析相关性时载脂蛋白 E 基因型 $\chi^2 = 5.483, P = 0.483$; 等位基因 $\chi^2 = 9.309, P = 0.157$ 。按冠状动脉病变积分分析时载脂蛋白 E 基因型 $\chi^2 = 5.98, P = 0.43$, 载脂蛋白 E 等位基因 $\chi^2 = 8.02, P = 0.24$ 。无论是按病变血管数评定还是按 Green-Lane 冠状动脉评分标准, 所确定的冠心病严重程度均与载脂蛋白 E 基因多态性无明显相关性。

3 讨论

本文采用等位基因限制性片段长度多态性方法对上海地区的冠心病病人进行了载脂蛋白 E 基因多态性分析, Logistic 多因素回归分析显示无论是单独分析载脂蛋白 E 基因型及等位基因频率分布, 还是与年龄、性别和血脂状况共同分析, 均未能证实载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病有相关性, χ^2 检验也未发现冠心病的严重程度与载脂蛋白 E 基因型及

等位基因频率分布有何相关。近年来有关载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病相关性的多数研究发现在急性心肌梗死病人和冠状动脉造影证实的冠心病病人中 ε4 等位基因分布频率明显增高, 在芬兰、英国、美国、荷兰、意大利以及日本人群^[1,6-9] 中均有类似报道, 并认为 ε4 是通过升高血浆胆固醇水平而成为冠心病易患因素的。同时发现载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病的严重程度也有类似的相关性^[2]。然而, 与本文研究结果相似, 在芬兰、美国、荷兰、意大利、澳大利亚、巴西、韩国和中国人群^[3,10-13] 中, 也有较多研究未能证实载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病发病及其严重程度^[4,11] 相关。

研究结果的不一致可能与病例选择、地域差异、饮食和生活方式、遗传背景等因素有关。Corb 等^[7] 研究发现在美国生活的非洲人群中 ε4 与冠心病发病相关, 但在撒哈拉沙漠地区的非洲人群中未见二者相关; Loktionov 等^[6] 发现南非黑人中 ε4 的分布频率虽然高于英国高加索白人, 但冠心病的发病率却显著低于后者, 提示环境因素如饮食习惯、生活方式

等影响着 $\epsilon 4$ 与冠心病的相关性, 并足以抵销 $\epsilon 4$ 对冠心病发病的不利影响。本研究人群来自上海, 属亚洲黄种人, 为中式饮食习惯及生活方式, 胆固醇摄入量及生活紧张程度均显著低于欧美人群, 因此 $\epsilon 4$ 与冠心病的相关性可能不如后者显著; 本研究病例数偏少, 病例组载脂蛋白 E2/2 基因型例数为 0, 对照组载脂蛋白 E2/2 及 E4/4 基因型均为 0, 可能影响实验结果; 同时冠心病组平均年龄偏高也可能对实验结果产生影响, 有研究发现载脂蛋白 E 基因多态性与早发冠心病相关, 而对于高龄病人, 冠心病的其他危险因素可能起着更为重要的作用^[14], 并可能掩盖载脂蛋白 E 基因多态性对冠心病发病的影响。此外, 也有研究者认为载脂蛋白 E 本身并不与冠心病相关, 而只是冠心病某个遗传易患因素的相关遗传标记。

参考文献

- [1] Stengard JH, Pekkanen J, Ehnholm C, et al. Genotypes with the apolipoprotein epsilon4 allele are predictors of coronary heart disease mortality in a longitudinal study of elderly Finnish men [J]. *Hum Genet*, 1996, **97**: 677- 684
- [2] Dzimiri N, Meyer BF, Hussain SS, et al. Relevance of apolipoprotein E polymorphism for coronary artery disease in the Saudi population [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 1999, **123**: 1 241- 245
- [3] Kuusisto J, Mykkanen L, Kervinen K, et al. Apolipoprotein E4 phenotype is not an important risk factor for coronary heart disease or stroke in elderly subjects [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**: 1 280- 286
- [4] Benes P, Muzik J, Benedik J, et al. Single effects of apolipoprotein B, (a), and E polymorphisms and interaction between plasminogen activator inhibitor 1 and apolipoprotein(a) genotypes and the risk of coronary artery disease in czech male caucasians [J]. *Mol Genet Metab*, 2000, **69**: 137- 143
- [5] Brand PT, Partridge JB, Wattle WJ. Coronary arteriography: method of presentation of the arteriogram report and a scoring system [J]. *Clin Radiol*, 1997, **28**: 361- 365
- [6] Loktionov A, Vorster H, O' Neill, et al. Apolipoprotein E and methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms in relation to other risk factors for cardiovascular disease in UK Caucasian and Black South Africans [J]. *Atherosclerosis*, 1999, **145**: 125- 135
- [7] Corb RM, Scacchi R. Apolipoprotein E(APOE) allele distribution in the world, Is APOE4 a 'thrifty' allele [J]. *Ann Hum Genet*, 1999, **63**: 301- 310
- [8] Corbo RM, Vilardo T, Ruggeri M, et al. Apolipoprotein E genotype and plasma levels in coronary artery disease. A case control study in the Italian population [J]. *Clin Biochem*, 1999, **32**: 217- 222
- [9] Wilson PW, Schaefer EJ, Larson MG, et al. Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16**: 1 250- 255
- [10] Marshall HW, Morrison LC, Wu LL, et al. Apolipoprotein polymorphisms fail to define risk of coronary artery disease, Results of a prospective, angiographically controlled study [J]. *Circulation*, 1994, **89**: 567- 577
- [11] Mansur AP, Annicchino BJ, Favarato, et al. Angiotensin converting enzyme and apolipoproteins gene polymorphism in coronary artery disease [J]. *Clin Cardiol*, 2000, **23**: 335- 340
- [12] Kim IJ, Hong BK, Lee BK, et al. Apolipoprotein E polymorphism in non-diabetic patients with acute coronary syndrome [J]. *Yonsei Med J*, 1999, **40**: 377- 382
- [13] Shen X, Xia Y, Sass C, et al. Association of apoprotein E polymorphism and concentration with serum lipids and lipoprotein levels in the Chinese from Shanghai [J]. *Clin Chem Lab Med*, 1998, **36**: 615- 619
- [14] Ilveskoski E, Perola M, Lehtimaki T, et al. Age dependent association of apolipoprotein E genotype with coronary and aortic atherosclerosis in middle aged men: an autopsy study [J]. *Circulation*, 1999, **100**: 608- 613

(此文 2001- 03- 01 收到, 2001- 07- 28 修回)

(此文编辑 朱雯霞)

•读者•作者•编者•

作者更正

本刊 2001 年第 9 卷第 2 期第 93 页右栏第五行“Nofe ZR 等^[10]发现 HDL3 通过减少 IP3 生成, 抑制凝血酶, 导致血小板聚集, 血栓形成。”此句中, 请在“……血栓形成”后加上“减少”二字。全句应为“Nofe ZR 等^[10]发现, HDL3 通过减少 IP3 生成, 抑制凝血酶, 导致血小板聚集和血栓形成减少”。