

载脂蛋白 E 基因多态性对血脂及高血压病的影响

刘颖望¹, 赵水平¹, 周安², 聂赛¹

(中南大学湘雅二医院 1. 心血管内科, 2. 急诊科; 湖南省长沙市 410011)

[主题词] 载脂蛋白 E; 基因; 多态性; 脂质; 高血压

[摘要] 为探讨载脂蛋白 E 基因多态性对血脂及高血压病的影响, 采用聚合酶链式反应—限制性片段多态性方法测定 112 例原发性高血压病人及 118 例非高血压病对照的载脂蛋白 E 基因型。结果发现高血压病患者中 ϵ_4 等位基因频率及载脂蛋白 E ϵ_4 携带者显著高于对照组 ($P < 0.05$)。载脂蛋白 E ϵ_4 携带者的总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平显著高于载脂蛋白 E ϵ_2 携带者 ($P < 0.05$), 载脂蛋白 E ϵ_3/ϵ_3 携带者的低密度脂蛋白胆固醇水平也显著高于载脂蛋白 E ϵ_2 携带者 ($P < 0.05$)。载脂蛋白 E ϵ_4 携带是高血压病的独立危险因素 ($P < 0.05$)。研究表明载脂蛋白 E 基因多态性影响个体的血脂和脂蛋白水平, 载脂蛋白 E ϵ_4 为高血压病的一种重要遗传标志。

[中图分类号] R544.1

[文献标识码] A

Effect of Apolipoprotein E Gene Polymorphism on Lipid and Essential Hypertension

LIU Ying-Wang¹, ZHAO Shui-Ping¹, ZHOU An², and NIE Sai¹

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Emergency, Second Xiang Ya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

[MeSH] Apolipoprotein E; Genes; Polymorphism; Lipids; Hypertension

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of apolipoprotein E (Apo E) polymorphism on lipid and essential hypertension.

Methods Polymerase chain reaction-restricted fragments length polymorphism was used to determine the Apo E genotypes in 112 cases with essential hypertension and 118 controls without hypertension. **Results** The ϵ_4 allele frequency and the Apo E ϵ_4 carriers was significantly higher in the hypertensive patient group than that in the group of normotensive control ($P < 0.05$).

The subjects carrying Apo E ϵ_4 had significantly higher levels of total cholesterol (TC) and low density lipoprotein cholesterol (LDLC) than those carrying Apo E ϵ_2 ($P < 0.05$); the Apo E ϵ_3/ϵ_3 carriers had significantly higher LDLC levels than the Apo E ϵ_2 carriers ($P < 0.05$). The Apo E ϵ_4 was an independent risk factor for essential hypertension ($P < 0.05$). **Conclusions** The Apo E gene polymorphism affects plasma levels of lipids and lipoproteins. The Apo E ϵ_4 may be an important risk factor for essential hypertension.

载脂蛋白 E 有 3 种主要的异构体 E2、E3 和 E4, 分别由 19 号染色体上的一个基因位点的 3 个等位基因 ϵ_2 、 ϵ_3 和 ϵ_4 编码, 因此人群中具有 6 种表型, 即 3 种纯合子 (E2/2、E3/3、E4/4) 和 3 种杂合子 (E2/3、E2/4、E4/3)^[1]。流行病学资料表明载脂蛋白 E 基因多态性对血脂浓度有十分明显的影响^[2], 也证实血压和血胆固醇浓度呈正相关关系^[3]。因此, 有人提出研究载脂蛋白 E、胆固醇和血压之间的关系被认为是了解生活方式相关疾病中遗传和环境因素相互作用的良好模型^[4]。本研究将以高血压病人和性别、年龄匹配的对照人群为研究对象, 探讨载脂蛋白 E 基因多态性对血脂代谢的调节及其与高血压病的

关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

病例来源于 2000 年 10 月至 2002 年 1 月在中南大学湘雅二医院心血管内科住院的确诊为原发性高血压的患者, 且无伴随疾病。对照来源于同期住院的非高血压病人。高血压诊断标准按 1999 年 WHO 和 ISH 标准。病例组与对照组进行性别、年龄配对。凡有冠心病、糖尿病、甲状腺疾病、结核、恶性肿瘤和严重肝、肾功能不全等情况者予以剔除。本研究共收集符合条件的病例 112 例及对照 118 例, 其中男性 154 例, 女性 76 例。平均年龄 58.59 岁 (19~83 岁)。

1.2 研究方法

载脂蛋白 E 基因型测定采用聚合酶链式反应—限制性片段多态性方法。首先按常规方法从外周

[收稿日期] 2002-06-14

[修回日期] 2002-10-21

[作者简介] 刘颖望, 女, 1971 年出生, 主治医师, 研究方向为心血管疾病; E-mail: ywliu88@hotmail.com。赵水平, 男, 1954 年出生, 教授, 研究方向为血脂与心脑血管疾病。周安, 男, 1969 年出生, 主治医师, 研究方向为急症医学。

血白细胞中进行 DNA 抽提, 然后进行聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增。引物序列为: 上游引物 5-TAAGCTTGGCACGGCTGTCAAGGA-3, 下游引物 5-AGAATTCGCCCCGGCCTGGTACAC-3 (上海生物工程研究所合成)。扩增条件为: 94℃ 3 min; 94℃ 50 s、58℃ 50 s、72℃ 60 s, 循环 32 次; 最后 72℃ 10 min。PCR 产物经 Cfo iv 限制性内切酶 (Promega 公司产品) 37℃ 消化 6 h, 消化产物经 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 最后用溴乙锭染色 30 s, 紫外透射灯下观察结果。

用日立 7600-020 全自动生物化学分析仪测定患者空腹 12 h 后血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、载脂蛋白 A iv (apolipoprotein A iv, Apo A iv)、载脂蛋白 B (apolipoprotein B, Apo B)、脂蛋白 (a) [lipoprotein (a), Lp(a)]。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 10.0 软件包进行统计分析。主要统计指标均进行正态性检验, 正态分布的各统计指标均以均数 \pm 标准差表示。计量资料的两组间比较采用 *t* 检验, 两组以上比较采用 Oneway ANOVA 检验, 用 LSD 方法进行两两比较。分类资料的组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。采用非条件 logistic 回归模型筛选高血压病危险因素并判断其作用的大小。

2 结果

2.1 高血压病组与对照组一般资料的比较

在两组研究对象中, 进行了基本资料的收集和比较, 如表 1 (Table 1) 所示。两组在年龄和性别构成上无显著性差异。原发性高血压常见的发病危险因素, 如高血压家族史在高血压病组显著高于对照组,

体重指数 (body mass index, BMI)、吸烟及饮酒史在高血压病组也趋向于较对照组高。

表 1. 高血压病组与对照组的一般临床资料。

Table 1. Characteristics of the studied population.

Indexes	Control group (<i>n</i> = 118)	Hypertensive group(<i>n</i> = 112)
Age (years)	57.4 \pm 10.0	59.9 \pm 12.2
Sex (male/female)	78/40	76/36
BMI (kg/m ²)	22.17 \pm 3.04	22.78 \pm 3.26
Hypertensive familial history (%)	4.2%	25.9% ^a
Smoking (%)	34.2%	39.3%
Alcoholic (%)	17.8%	22.3%

a: $P < 0.001$, compared with control group.

2.2 高血压病组与对照组的载脂蛋白 E 基因型及等位基因频率的比较

高血压病组与对照组的载脂蛋白 E 基因型及根据平衡法计算的载脂蛋白 E 等位基因频率的分布情况见表 2 (Table 2)。在 6 种载脂蛋白 E 基因型中, 以 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 频率最高, 占全体研究对象的 68.7%; 载脂蛋白 E 等位基因中也以等位基因 $\epsilon 3$ 频率最高, 占全体的 82%。同时还观察到 $\epsilon 4$ 等位基因频率在高血压病组中显著高于对照组 ($\chi^2 = 7.959$, $P < 0.05$)。进一步根据载脂蛋白 E 基因型将研究对象分为载脂蛋白 E $\epsilon 2$ 携带者 $\epsilon 2/X$ ($\epsilon 2/\epsilon 2 + \epsilon 2/\epsilon 3$)、 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 携带者和载脂蛋白 E $\epsilon 4$ 携带者 $\epsilon 4/X$ ($\epsilon 4/\epsilon 4 + \epsilon 3/\epsilon 4$) 三类, 由于 $\epsilon 2/\epsilon 4$ 作用为中性, 所以高血压病组和对照组各有 4 例不包括在内。经卡方检验发现, 载脂蛋白 E $\epsilon 4/X$ 携带者在高血压病组明显多于对照组, 高血压病组载脂蛋白 E $\epsilon 3/\epsilon 3$ 携带者则低于对照组 (表 3, Table 3)。

表 2. 高血压病组与对照组载脂蛋白 E 基因型及等位基因频率分布情况。

Table 2. The distribution of apolipoprotein E genotype and gene frequencies in hypertensive patients and controls.

Groups	Genotype (cases, %)						Gene frequency (%)		
	$\epsilon 4/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 2/\epsilon 2$	$\epsilon 2/\epsilon 4$	$\epsilon 4$	$\epsilon 3$	$\epsilon 2$
Hypertensive group (<i>n</i> = 112)	2 (1.8)	20 (17.9)	68 (60.7)	18 (16.1)	0 (0)	4 (3.6)	12.5 ^a	77.7	9.8
Control group (<i>n</i> = 118)	0 (0)	8 (6.8)	90 (76.3)	15 (12.7)	1 (0.8)	4 (3.4)	5.1	86.0	8.9
Total (<i>n</i> = 230)	2 (0.9)	28 (12.2)	158 (68.7)	33 (14.3)	1 (0.4)	8 (3.5)	8.7	82.0	9.3

a: $\chi^2 = 7.959$, $P < 0.05$, compared with control group.

表 3. 高血压病组与对照组载脂蛋白 E 基因型分布比较.

Table 3. Comparison of apolipoprotein E genotype ($\epsilon 2/X$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 4/X$) between hypertensive patients and controls (cases, %).

Groups	$\epsilon 2/X$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 4/X$
Hypertensive group ($n=108$)	18(16.7)	68(63.0) ^a	22(20.4) ^b
Control group ($n=114$)	16(14.0)	90(78.9)	8(7.0)

a: $\chi^2=6.906$, $P=0.009$, compared with control group; b: $\chi^2=8.461$, $P=0.004$, compared with control group.

2.3 载脂蛋白 E 基因型与血脂的关系

我们分别比较了不同载脂蛋白 E 基因型携带者的主要血脂指标 (表 4, Table 4)。发现载脂蛋白 E $\epsilon 4$ 携带者的 TC 和 LDLC 水平显著高于载脂蛋白 E $\epsilon 2$ 携带者 ($P<0.05$), 载脂蛋白 E $\epsilon 3/\epsilon 3$ 携带者的 LDLC 水平也显著高于载脂蛋白 E $\epsilon 2$ 携带者 ($P<0.05$); 载脂蛋白 E $\epsilon 4$ 携带者的 TC 和 LDLC 水平也均高于载脂蛋白 E $\epsilon 3/\epsilon 3$ 携带者, 但未达显著性差异。

表 4. 载脂蛋白 E 基因型间血脂水平的比较.

Table 4. Comparison of plasma levels of lipids and lipoproteins between apolipoprotein E genotypes ($\bar{x} \pm s$).

Indexes	$\epsilon 2/X$ ($n=34$)	$\epsilon 3/\epsilon 3$ ($n=158$)	$\epsilon 4/X$ ($n=30$)
TG (mmol/L)	1.33 \pm 0.71	1.46 \pm 0.94	1.68 \pm 1.20
TC (mmol/L)	3.99 \pm 1.03	4.34 \pm 1.02	4.63 \pm 1.04 ^a
HDL (mmol/L)	1.18 \pm 0.36	1.19 \pm 0.35	1.26 \pm 0.33
LDL (mmol/L)	2.23 \pm 0.77	2.57 \pm 0.82 ^a	2.70 \pm 0.81 ^a
Apo A iv (g/L)	1.06 \pm 0.23	1.17 \pm 0.31	1.17 \pm 0.24
Apo B (g/L)	0.94 \pm 0.34	1.07 \pm 0.37	1.15 \pm 0.43
Lp(a) (mg/L)	225.05 \pm 288.43	198.08 \pm 197.63	182.60 \pm 122.83

a: $P<0.05$, compared with $\epsilon 2/X$ genotype.

2.4 高血压病危险因素 logistic 回归分析

将高血压病的常见危险因素引入多因素 logistic 回归模型, 采用逐步回归方法筛选出最后主要的独立危险因素, 这些因素包括年龄、高血压家族史及载脂蛋白 E $\epsilon 4$ (表 5, Table 5)。

3 讨论

载脂蛋白 E 是一个含有 299 个氨基酸的磷脂糖蛋白, 其分子量为 34 kDa。载脂蛋白 E 多态性的分子基础就是半胱氨酸和精氨酸的相互取代: E3 为

表 5. 高血压病主要危险因素 logistic 回归模型.

Table 5. The logistic regression model of the major risk factors for essential hypertension.

Risk factor	B	P	OR	95% CI
Age	0.045	0.002	1.046	1.017~1.076
Hypertensive familial history	2.446	0.000	11.545	3.570~37.338
$\epsilon 4/X$	1.081	0.025	2.948	1.146~7.587

B: regression coefficient; OR: odds ratio; CI: confidence interval; Hypertensive familial history: yes=1, no=0; $\epsilon 4/X$: Apo E $\epsilon 4$ carrier=1, Apo E $\epsilon 2$ carrier or Apo E $\epsilon 3/\epsilon 3$ carrier=0.

112 位上是半胱氨酸, 158 位上是精氨酸; E2 则为 112 位和 158 位上均是半胱氨酸, E4 则为 112 位和 158 位上均是精氨酸。这种单个氨基酸不同造成的异构体就是由载脂蛋白 E 基因的多态性所决定的。载脂蛋白 E 羧基末端的稳定区可能是主要的脂蛋白脂类结合区, 而载脂蛋白 E 氨基末端的 140~160 氨基酸残基附近区域, 对受体的结合非常必要, 这一区域中仅一个氨基酸的取代就可影响受体的结合活性。载脂蛋白 E 不仅是多种脂蛋白的结构蛋白, 而且在血脂代谢过程中起着重要作用^[1]。

流行病学研究显示, 人群中最常见的表型是载脂蛋白 E3/3, 最常见的等位基因是 $\epsilon 3$ ^[1]。我们测定了 230 名研究对象的载脂蛋白 E 基因型, 结果发现: 在 6 种载脂蛋白 E 基因型中, 以载脂蛋白 E $\epsilon 3/\epsilon 3$ 频率最高, 载脂蛋白 E 等位基因中也以等位基因 $\epsilon 3$ 频率最高, 与上述流行病学研究相符, 因而说明本研究人群选择偏倚可能性小。

载脂蛋白 E 调节血脂代谢, 不同载脂蛋白 E 基因型可能会影响个体的血脂水平。本研究比较了不同载脂蛋白 E 基因型携带者的主要血脂指标, 发现载脂蛋白 E 基因多态性确实影响个体的血脂和脂蛋白水平。目前多数研究也得出相似的结论^[2,4], 即载脂蛋白 E4 与血 TC 和 LDLC 浓度升高相关, 载脂蛋白 E2 与血 TC 和 LDLC 浓度降低相关。关于载脂蛋白 E 表型调节体内血浆脂蛋白代谢的机制, 目前比较公认的观点是由于各种载脂蛋白 E 异构体的受体结合活性存在差异所致^[5]。

人群的研究显示血 TC 和血压间具有正相关关系^[3], 由于载脂蛋白 E 基因多态性对脂质代谢有重要调节作用, 因此目前推测血压和载脂蛋白 E 表型间可能存在某种联系。然而相关的研究报道不多, 且存在争议。本研究比较了 112 例原发性高血压病人及 118 例非高血压病对照组的载脂蛋白 E 基因型

及载脂蛋白 E 等位基因频率分布情况,发现高血压病患者中 $\epsilon 4$ 等位基因频率及载脂蛋白 E $\epsilon 4$ 携带者显著高于对照组,表明载脂蛋白 E 基因多态性与高血压间存在相关性。Isbir 等^[6]也观察到高血压病人组携带 $\epsilon 4$ 等位基因的频率显著高于正常血压对照组,我们的结果与之相符。

载脂蛋白 E 基因多态性与高血压病的关系可能通过影响血脂代谢而发挥作用^[4,7]。有研究^[8]证实,原发性高血压患者有内皮介导的血管舒张功能受损,这一缺陷可能对高血压病人阻力血管的功能障碍起着重要作用。有研究报道高胆固醇血症与内皮功能异常有关^[9],并认为氧化型低密度脂蛋白是与内皮功能缺陷关系最密切的脂质异常^[10]。

目前认为原发性高血压是在一定的遗传背景下与多种环境因素相互作用而引起的疾病,血压升高与多种因素有关。本研究将高血压病的常见危险因素引入多因素 logistic 回归模型,采用逐步回归方法分析,表明年龄、高血压家族史及载脂蛋白 E $\epsilon 4$ 是高血压病的独立危险因素,载脂蛋白 E $\epsilon 4$ 对高血压病的作用在控制血脂等因素后仍存在显著性,提示载脂蛋白 $\epsilon 4$ 有独立于血脂之外的作用。载脂蛋白 E 基因多态性还可能通过其他途径对血压产生影响。有研究发现,与非 $\epsilon 4$ 等位基因携带者相比较,携带 $\epsilon 4$ 等位基因的高血压病人中高胰岛素血症患者较多, $\epsilon 4$ 等位基因携带者的基础胰岛素水平和负荷试验后 120 min 的胰岛素和血糖水平也较高,载脂蛋白 E 基因多态性与胰岛素抵抗有关的代谢异常相关^[11]。载脂蛋白 E 还可能参与调节平滑肌细胞的增殖和分化,导致动脉管壁增厚,具有传统脂质代谢以外的新功能^[12]。研究^[13]还发现,载脂蛋白 E 本身可能具有血管活性作用,且 E4 大于 E3,而 E2 无,载脂蛋白 E 可能通过加强血管收缩而在高血压

的发病机制中产生作用。

本研究结果提示,载脂蛋白 E $\epsilon 4$ 为高血压病的一种重要遗传标志,它为高血压病的病因研究提供了新的线索,这将有助于高血压病高危人群的确定和高血压病的预防。

[参考文献]

- [1] Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*, 1988, **240**: 622-630
- [2] Srinivasan SR, Ehnholm C, Elkasabany A, et al. Influence of apolipoprotein E polymorphism on serum lipids and lipoprotein changes from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis*, 1999, **143**: 435-443
- [3] Hjermann I, Helgeland A, Holme I, et al. The association between blood pressure and serum cholesterol in healthy men: the Oslo study. *J Epidemiol Com Health*, 1978, **32**: 117-123
- [4] Shiwaku K, Gao TQ, Hojo N, et al. Low levels of serum cholesterol and systolic blood pressure in Japanese with the apolipoprotein E3/2 genotype. *Clin Chim Acta*, 1999, **284**: 15-23
- [5] Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis*, 1988, **8**: 1-21
- [6] Isbir T, Yilmaz H, Bihorac A, et al. Mild-to-moderate hypertension and apolipoprotein E gene polymorphism. *Am J Hypertens*, 1997, **10**: 827-828
- [7] Rantala M, Savolainen MJ, Kervinen K, et al. Apolipoprotein E phenotype and diet-induced alteration in blood pressure. *Am J Clin Nutr*, 1997, **65**: 543-550
- [8] Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, et al. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*, 1990, **323**: 22-27
- [9] Goode CK, Heagerty AM. In vitro responses of human peripheral small arteries in hypercholesterolemia and effects of therapy. *Circulation*, 1995, **91**: 2 898-903
- [10] Chin JH, Azhar S, Hoffman BB. Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins. *J Clin Invest*, 1992, **89**: 10-18
- [11] Stiefel P, Montilla C, Muniz-Grijalvo O, et al. Apolipoprotein E gene polymorphism is related to metabolic abnormalities, but does not influence erythrocyte membrane lipid composition or sodium-lithium countertransport activity in essential hypertension. *Metabolism*, 2001, **50**: 157-160
- [12] Majack RA, Castle CK, Goodman LV, et al. Expression of apolipoprotein E by cultured vascular smooth muscle cells is controlled by growth state. *J Cell Biol*, 1988, **107**: 1 207-213
- [13] Paris D, Town T, Parker TA, et al. Isoform-specific vasoconstriction induced by apolipoprotein E and modulation of this effect by Alzheimer's beta-amyloid peptide. *Neurosci Lett*, 1998, **256**: 73-76

(此文编辑 曾学清)