

# 胆固醇酯转运蛋白 TaqIB 基因多态性与冠心病的关系

张国兵, 江智文, 孙宝贵, 陆元善, 温沁竹, 庄文燕, 王 丰

(上海市第一人民医院内科, 上海市 200080)

[关键词] 内科学; 冠状动脉疾病的遗传因素; 聚合酶链反应—限制片段长度多态性; 胆固醇酯转运蛋白; 基因多态性; 等位基因; 冠心病

[摘要] 目的 分析胆固醇酯转运蛋白 TaqIB 基因多态性与冠心病的相关性。方法 选择确诊的冠心病病人, 自全血中抽提基因组 DNA 后, 用聚合酶链反应—限制片段长度多态性方法检测胆固醇酯转运蛋白 TaqIB 基因型。以  $\chi^2$  检验和 Logistic 多因素回归分析作统计学差异检验。结果 冠心病组和对照组的胆固醇酯转运蛋白 TaqIB 基因型和等位基因频率分布均差异无显著性。进一步进行性别及心肌梗死型和非心肌梗死型冠心病分层分析亦差异无显著性。结论 胆固醇酯转运蛋白 TaqIB 基因多态性与冠心病无相关性。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## Relationship of Taq IB Polymorphism in the Cholesteryl Ester Transfer Protein Gene to Coronary Artery Disease

ZHANG Guo-Bing, JIANG Zhi-Wen, SUN Bao-Gui, LU Yuan-Shan, WEN Qing-Zhu, ZHUANG Wen-Yan, and WANG Feng

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

[KEY WORDS] Cholesterol Ester Transfer Protein; Polymorphism Genetics; Allele; Coronary Artery Disease; Genotype; Polymerase Chain Reaction; Restriction Fragment Length Polymorphism

[ABSTRACT] **Aim** To elucidate the relationship of Taq IB polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene and coronary artery disease (CHD). **Methods** Taq IB polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein gene was analysed in 88 patients and 94 controls. The polymorphism was determined by polymerase chain reaction (PCR)-restriction fragment length polymorphism (RFLP) using genomic DNA from anticoagulation blood.  $\chi^2$  test and Logistic regression analysis were used. **Results** There are no differences in both allele frequency and genotype distribution of cholesteryl ester transfer protein gene between patients and control groups. **Conclusion** The Taq IB polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein gene doesn't contribute to coronary artery disease.

胆固醇酯转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 是参与高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 介导的胆固醇逆转运过程的重要成份。CETP 对血浆中 HDL 水平、颗粒大小和构成有重要调节作用。CETP 基因含 16 个外显子, 约 25 000 个碱基, 存在着较多基因突变, 其中位于第一内含子 277 号碱基的突变可由 TaqI 内切酶识别, 形成 B1 和 B2 等位基因, 组合成 B1/1、B1/2 和 B2/2 基因型<sup>[1]</sup>, 且该多态性与血浆 CETP 浓度及活性、载脂蛋白 AI 以及 HDL 胆固醇浓度相关<sup>[1-3]</sup>。本文对 CETP 基因 Taq IB 基因多态性与冠心病的相关性进行了研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究对象

冠心病组选择 88 例冠状动脉造影明确有 1 支以上冠状动脉狭窄  $\geq 50\%$  (38 例) 和/或有心肌梗死病史 (50 例) 的冠心病病人, 年龄  $65 \pm 10$  岁。对照组选择 94 例健康体检人群 (67 例) 和因胸闷症状行冠状动脉造影检查结果正常的住院病人 (27 例), 无冠心病和糖尿病病史, 年龄  $54 \pm 18$  岁。

### 1.2 试剂和仪器

Taq DNA 多聚酶和 Taq I 内切酶购自 Promega 公司, 其余试剂均为分析纯。小量血基因组 DNA 抽提试剂盒购自上海华舜公司。引物 (中科院生物化学所上海合成) 序列: 5'-CTG AGC CCA GCC GCA CAC TAA G-3'; ④ 5'-CAC TAG CCC AGA GAG AGG AGT GCC-3'。Progene DNA 扩增仪购自英国。

### 1.3 聚合酶链反应—限制片段长度多态性分析

DNA 抽提参照产品说明书; 聚合酶链反应体系

[收稿日期] 2004-04-02 [修回日期] 2004-12-27

[作者简介] 张国兵, 博士, 副主任医师, 研究方向为动脉粥样硬化的基础与临床, 电话为 021-63240090-3051, E-mail 为 zhangguobing@medmail.com.cn。江智文, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病, 电话为 021-63240090-3051。孙宝贵, 博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为心脏起搏与电生理, 电话为 021-63240090-3052。

含 DNA 模板 3  $\mu$ L、引物各 0.5  $\mu$ mol/L、MgCl<sub>2</sub> 2 mmol/L、dNTP 200 mmol/L、Taq 多聚酶 0.7 u；循环 30 次：95  $^{\circ}$ C 变性 30 s  $\rightarrow$  60  $^{\circ}$ C 退火 30 s  $\rightarrow$  72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min。取产物 10  $\mu$ L，加 Taq I 内切酶 0.5  $\mu$ L 65  $^{\circ}$ C 消化 3 h；酶切产物于 2.5% 琼脂糖电泳 100 V 30 min，紫外灯下识别基因型。所扩增 CETP 基因片断长度为 535 bp，B2/2 型无酶切位点，电泳显示为单一 535 bp 条带；B1/1 型经 Taq I 酶切成 361 和 174 bp 两个条带；B1/2 型则为 3 个条带（图 1，Figure 1）。

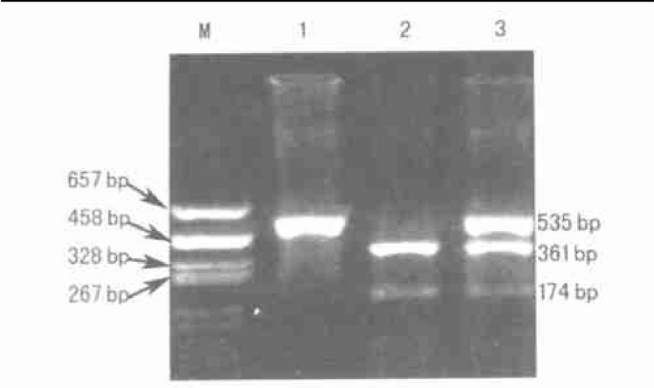


图 1. 胆固醇酯转运蛋白 Taq IB 基因多态性检测结果 M 为标准分子量，1、2 和 3 分别为 B2/2、B1/1 和 B1/2 基因型。

Figure 1. Results of Taq IB polymorphism of cholesterol ester transfer protein

1.4 统计学处理

胆固醇酯转运蛋白基因型、表型及性别上的差异用  $\chi^2$  检验；相关性分析用非条件 Logistic 多因素回归分析（SPSS10.0 统计软件）。

2 结果

2.1 胆固醇酯转运蛋白表型和等位基因频率分布

B1/1、B1/2 和 B2/2 基因型冠心病组分别为 35%、46% 和 19%，对照组分别为 34%、53% 和 13%，其分布差异无显著性（ $\chi^2 = 0.8765$ ， $P > 0.05$ ）。B1 和 B2 等位基因频率冠心病组分别为 57.95% 和 42.05%，对照组分别为 60.64% 和 39.36%，其分布差异无显著性（ $\chi^2 = 0.271$ ， $P > 0.05$ ）。进一步分别比较两组中男性和女性 CETP 基因型和等位基因频率分布情况，亦无统计学差异（ $P > 0.05$ ）（表 1，Table 1）。

2.2 心肌梗死型和非心肌梗死型冠心病与胆固醇酯转运蛋白基因型及等位基因的关系

将冠心病组分为心肌梗死和非心肌梗死组，分别与对照组比较发现，心肌梗死组（基因型  $\chi^2 = 0.$

31，等位基因  $\chi^2 = 0.07$ ）及非心肌梗死组（基因型  $\chi^2 = 3.115$ ，等位基因  $\chi^2 = 0.37$ ）与对照组相比在基因型和等位基因频率分布上差异均无显著性（ $P > 0.05$ ）（表 2，Table 2）。

表 1. 对照组和冠心病组胆固醇酯转运蛋白基因型和等位基因频率分布的比较

Table 1. Genotype and allele frequency of CETP in control and coronary artery disease groups

分 组	n	基因型			等位基因	
		B1/1	B1/2	B2/2	B1	B2
对照组	女	42	14	24	4	52
	男	52	18	26	8	62
冠心病组	女	27	10	13	4	33
	男	61	21	27	13	69

表 2. 心肌梗死型和非心肌梗死型冠心病组胆固醇酯转运蛋白基因型和等位基因频率的比较

Table 2. Genotype and allele frequency of CETP in control and subgroups of coronary artery disease

分 组	n	基因型			等位基因	
		B1/1	B1/2	B2/2	B1	B2
对照组	94	32	50	12	114	74
心肌梗死组	50	17	25	8	59	41
非心肌梗死组	38	14	15	9	43	33

2.3 年龄、性别、胆固醇酯转运蛋白基因型与冠心病的关系

考虑到其他因素对冠心病的影响，在进行回归分析时没有设置自变量的取舍值。以  $P < 0.05$  为该变量对回归方程有显著影响。回归分析结果见表 3（Table 3），基因型/等位基因单因素分析时无明显统计学差异（ $P > 0.05$ ）。结合年龄、性别进行分析时除年龄外均无统计学差异（ $P > 0.05$ ）。

2.4 胆固醇酯转运蛋白 Taq IB 基因多态性的人群分布

由于冠心病组和对照组在 CETP Taq IB 基因多态性分布上差异无显著性，把两组合并后作人群的频率分布分析，182 例研究对象中 B1/1、B1/2 和 B2/2 基因型占人群比例分别为 35%、49% 和 16%；B1 和 B2 等位基因频率分布分别为 59% 和 41%。

3 讨论

胆固醇酯转运蛋白 TaqIB 基因多态性与冠心病的关系一直存在争议。Kuivenhoven 等<sup>[4]</sup>发现冠心病

表 3. 非条件 Logistic 回归分析胆固醇酯转运蛋白基因型、等位基因和冠心病的关系

Table 3. Relationship of genotype and allele frequency of CETP and coronary artery disease

变 量	估计参数	Wald 检验值	P 值	OR
基因型/等位基因单因素分析				
B1/2	- 0.1914	0.3376	0.5612	0.8258
B2/2	0.3801	0.7023	0.4020	1.4624
B2	0.3399	2.4847	0.1150	1.4048
年龄、性别和基因型				
B1/2	- 0.1348	0.1528	0.6959	0.8739
B2/2	0.4451	0.8874	0.3462	1.5606
年龄	0.4196	11.9587	0.0005	1.5214
性别	- 0.3978	1.4814	0.2236	0.6718
年龄、性别和等位基因				
B2	0.4055	3.1848	0.0743	1.5001
年龄	0.4240	24.2015	0.0000	1.5281
性别	- 0.4165	3.2677	0.0707	0.6593

病人冠状动脉病变进展程度随 B2/2、B1/2 和 B1/1 基因型的不同而加重, 呈 B1 剂量依赖关系, 同时普伐他汀对动脉粥样硬化进展的延缓作用在 B1/1 基因型个体最为明显。刘宽芝等<sup>[5]</sup>研究也提示 B1 等位基因是糖尿病大血管病变包括冠状动脉病变的遗传易患因子。但也有研究未能证实 CET TaqIB 基因多态性与血浆 CETP 浓度、HDL 浓度、载脂蛋白 AI 浓度以及心肌梗死或冠心病的相关性<sup>[6]</sup>。在意大利<sup>[7]</sup>、土耳其<sup>[2]</sup>、韩国<sup>[8]</sup>、中国<sup>[9]</sup> 以及台湾<sup>[3]</sup> 患者中进行的研究均未发现 CETP TaqIB 基因多态性与冠心病相关。本研究结果显示冠心病组 and 对照组在 CETP TaqIB 基因型频率分布和等位基因频率分布上差异均无显著性, 未能证实 CETP TaqIB 基因多态性与冠心病的相关性。上述研究结果的不一致性可能与不同研究的病例选择、种族差异、遗传背景、环境因素、吸烟及脂质代谢状况等有关。

由于心肌梗死患者存在斑块不稳定及明显的血栓形成过程, 与无心肌梗死病史的冠心病患者在发病因素上存在一定的差异, 因此本文对心肌梗死亚组进行了分析, 未发现 CETP TaqIB 基因多态性与心肌梗死相关, 与文献<sup>[10]</sup> 研究结果一致。性别也可能对 CETP 基因多态性与冠心病的关系产生影响, 本文因此也对男性和女性患者分别进行分析, 但均未发现 CETP TaqIB 基因多态性与冠心病相关。

但这些研究结果之间仍然有不一致性, 如 Eiriksdottir 等<sup>[11]</sup> 发现 B1 等位基因与冰岛男性心肌梗死患者相关, 与上述结果不一致。此外 CETP TaqIB 基因多态性分布可能存在种族差异, 本文将两组合并后作人群基因多态性频率分布, 结果与 Kuivenhoven 等<sup>[4]</sup> 研究相似, 提示 CETP TaqIB 基因多态性是人群中一种常见的基因变异。

本文病例数较少, 可能对研究结果的分析产生影响。但综合各研究认为 CETP TaqIB 基因多态性本身并不与冠心病相关, 而可能是冠心病某个遗传易患因素的相关遗传标记。

[参考文献]

[1] Ordoas JM, Cupples LA, Corella D, Otvos JD, Osgood D, Martinez A, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein-TaqIB polymorphism with variations in lipoprotein subclasses and coronary heart disease risk: the Framingham study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (5): 1323-329

[2] Yilmaz H, Isbir T, Agachan B, Ermis Karaali Z. Effects of cholesterol ester transfer protein TaqIB gene polymorphism on serum lipoprotein levels in Turkish coronary artery disease patients. *Cell Biochem Funct*, 2004, **23** (1): 23-28

[3] Wu JH, Lee YT, Hsu HC, Hsieh LL. Influence of CETP gene variation on plasma lipid levels and coronary heart disease: a survey in Taiwan. *Atherosclerosis*, 2001, **159** (2): 451-458

[4] Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, de Knijff P, Mcpherson R, Bruschke AV, et al. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med*, 1998, **338**: 86-93

[5] 刘宽芝, 王晓英, 张进贵. 胆固醇酯转运蛋白及其基因多态性与 2 型糖尿病大血管病变的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (6): 549-552

[6] Tenkanen H, Koskinen P, Kontula K, Aalto-Setälä K, Mänttari M, Manninen V, et al. Polymorphism of the gene encoding cholesteryl ester transfer protein and serum lipoprotein levels in subjects with and without coronary heart disease. *Hum Genet*, 1991, **87**: 574-578

[7] Arca M, Montali A, Ombres D, Battiloro E, Campagna F, Ricci G, et al. Lack of association of the common TaqIB polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein gene with angiographically assessed coronary atherosclerosis. *Clin Genet*, 2001, **60** (5): 374-380

[8] Park KW, Choi JH, Kim HK, Oh S, Chae IH, Kim HS, et al. The association of cholesteryl ester transfer protein polymorphism with high-density lipoprotein cholesterol and coronary artery disease in Koreans. *Clin Genet*, 2003, **63** (1): 31-38

[9] Zheng KQ, Zhang SZ, He Y, Zhang L, Zhang KL, Huang DJ, et al. Association between cholesteryl ester transfer protein gene polymorphisms and variations in lipid levels in patients with coronary heart disease. *Chin Med J (Engl)*, 2004, **117** (9): 1288-292

[10] Eiriksdottir G, Bolla MK, Thorsson B, Sigurdsson G, Humphries SE, Gudnason V. The -629C>A polymorphism in the CETP gene does not explain the association of TaqIB polymorphism with risk and age of myocardial infarction in Icelandic men. *Atherosclerosis*, 2001, **159** (1): 187-192

[11] Liu S, Schmitz C, Stampfer MJ, Sacks F, Hennekens CH, Lindpaintner K, et al. A prospective study of TaqIB polymorphism in the gene coding for cholesteryl ester transfer protein and risk of myocardial infarction in middle-aged men. *Atherosclerosis*, 2002, **161** (2): 469-474

(此文编辑 朱雯霞)