

CETP基因启动子区多态与他汀类药物调血脂效果的关联分析

李俊涛^{1,2}, 李果明³, 郭志斌¹, 张鹏辉¹, 郑克勤¹

(1. 广东医学院医学遗传学研究室 广东省湛江市 524023; 2. 肇庆医学高等专科学校 广东省肇庆市 526020;

3. 广东医学院附属医院心内科 广东省湛江市 524023)

[关键词] 胆固醇酯转运蛋白基因; 血脂异常; 单核苷酸多态性; 他汀类药物

[摘要] 目的 探讨胆固醇酯转运蛋白基因启动子区 - 69G/A、- 629C/A、- 971G/A 和 - 1337C/T 单核苷酸多态性与他汀类药物调血脂效果的关系。方法 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态方法检测 207 例经辛伐他汀调脂治疗的血脂异常患者胆固醇酯转运蛋白基因 4 个多态性位点的基因型频率分布情况, 并比较各项血脂水平的改变量在各多态位点基因型之间的差异。结果 - 69G/A 多态未检出 A 等位基因; 辛伐他汀治疗后, 总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平的改变量在 - 629C/A 多态各基因型组间差异均有显著性 ($P = 0.025$, $P = 0.000$), - 629AA 基因型个体的总胆固醇水平下降幅度较 CC 基因型个体要高出 0.495 mmol/L ($P = 0.020$), - 629AA 和 CA 基因型个体中的低密度脂蛋白胆固醇水平下降幅度比 CC 基因型个体分别高出 0.577 mmol/L 和 0.352 mmol/L ($P = 0.000$, $P = 0.012$); 高密度脂蛋白胆固醇水平的改变量在 - 1337C/T 多态各基因型组间差异有显著性 ($F = 3.064$, $P = 0.044$), 高密度脂蛋白胆固醇水平升高的幅度在 - 1337TT、TC 和 CC 基因型组间有逐渐增大的趋势; 各项血脂水平的改变量在 - 971G/A 多态 3 种基因型组间的差异无统计学意义。结论 - 629C/A 多态和 - 1337C/T 多态与他汀类药物调血脂效果有关联。

[中图分类号] R542.2

[文献标识码] A

The Association Between CETP Gene Promoting Polymorphism with the Lipid-Regulating Effects of Statins

LI Jun-Tao^{1,2}, LI Guo-Ming³, GUO Zhi-Bin¹, ZHANG Peng-Hui¹, and ZHENG Ke-Qin¹

(1. Department of Medical Genetics, Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524023, China; 2. Zhaoqing Medical College, Zhaoqing, Guangdong 526020, China; 3. Department of Cardiology, the Affiliated Hospital, Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong 524023, China)

[KEY WORDS] Cholesteryl Ester Transfer Protein Gene; Dyslipidemia; Single Nucleotide Polymorphism; Statins

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the association between the lipid-regulating effect of statins with the CETP - 69G/A, - 629C/A, - 971G/A and - 1337C/T polymorphisms. **Methods** The target DNA fragments of CETP gene were amplified and analyzed by PCR-RFLP technique in 207 dyslipidemia patients treated with statins. The relationship between each SNP and each blood-fat index was analyzed by SPSS statistic software. **Results** The A allele was not found in the - 69G/A polymorphism. After the treatment with simvastatin, the TC and LDLC decreasing extent were significantly different ($P = 0.025$, $P = 0.000$) between - 629C/A genotypes, respectively. The - 629AA individuals were 0.495 mmol/L ($P = 0.020$) higher than CC individuals in TC decreasing extent. The LDLC decreasing extent were 0.577 mmol/L and 0.352 mmol/L ($P = 0.000$, $P = 0.012$) higher in - 629AA and CA individuals than CC individuals. The - 1337C/T polymorphism was associated with the rising extent of HDLC level ($F = 3.064$, $P = 0.044$). The HDLC rising extent was gradually increased among - 1337TT, TA and AA genotypes. There was no significant difference in the change of blood-

[收稿日期] 2010-09-07

[基金项目] 广东省自然科学基金资助项目 (04011388)

[作者简介] 李俊涛, 硕士, 助教, 研究方向为分子遗传学, Email为 lijuntao001@yahoo.com.cn. 李果明, 硕士, 主任医师, 研究方向为心血管疾病, Email为 liguoming@gdmc.edu.cn. 郭志斌, 硕士, 助教, 研究方向为分子遗传学, Email为 389454537@qq.com. 通讯作者郑克勤, 博士, 教授, 研究方向为分子遗传学, Email为 zhengkq@gdmc.edu.cn.

fat level between the - 971G /A genotypes after the treatment with simvastatin
- 1337C /T polymorphisms were associated with the lipid-regulating effect of statins

Conclusion The - 629C /A and

胆固醇酯转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP)通过介导胆固醇酯 (cholesteryl esters, CE)在 高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)和富含载脂蛋白 B 的脂蛋白之间的交换,在胆固醇逆向转运过程中起着关键的作用。CETP 基因变异引起 CETP 活性的部分或全部缺失,显著改变了血浆高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)的水平及 HDL 颗粒大小^[1]。CETP 基因单核苷酸多态与他汀类药物调血脂效果近年来国内外都有报道,但多集中在 TaqIB 多态位点,且结果也不一致^[2]。流行病学研究资料已经阐明,位于启动子区的 - 69G /A、- 629C /A、- 971G /A 和 - 1337C /T 4 个多态位点与血浆脂蛋白代谢水平相关联,其中 - 629C /A 多态又被认为是 CETP 基因内的功能性位点^[3],这些提示 CETP 基因启动子区内可能存在影响他汀类药物调血脂效果的多态位点。本研究对血脂异常患者 CETP 基因启动子区 - 69G /A、- 629C /A、- 971G /A 和 - 1337C /T 4 个多态位点进行了筛查,并探讨了各个多态与他汀类药物调血脂效果的关联。

1 对象与方法

1.1 对象

选取广东医学院附属医院无血缘关系的 207 例血脂异常患者,总胆固醇 (TC) ≥ 6.22 mmol/L 或低密度脂蛋白胆固醇 (LDLC) ≥ 4.14 mmol/L,均属血脂异常危险中危层,符合药物治疗标准,见《中国成人血脂异常防治指南 (2007 年)》男 104 例,女 103 例,均为粤西地区汉族人,平均年龄为 66.26 ± 11.87 岁,其中原发性高血压 1 级患者 46 人。住院前一月内未服用过调脂类药物,住院后次日起开始服用辛伐他汀 (调脂期间高血压患者用对血脂、血糖等代谢无明显影响的钙拮抗剂类药物降压),调脂治疗 4 周 (20 mg/d)。所有患者均除外有糖尿病、冠心病、近期感染史、严重肝肾疾病和肿瘤及有手术或外伤史者。血脂异常患者辛伐他汀治疗前后的基本临床资料见表 1。

1.2 血液标本采集及 DNA 提取

对每例患者于治疗前后分别两次抽取禁食 12 h 后的外周静脉血 5 mL,经枸橼酸钠抗凝,4℃冰箱保存。并均在采血 1 周内以蛋白酶 K 消化饱和氯化钠盐析法提取外周血白细胞 DNA。以上血液标本

采集均经本人知情同意。

表 1 血脂异常患者辛伐他汀治疗前后的临床资料 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Clinical data of patients before and after simvastatin therapy ($\bar{x} \pm s$)

项 目	治疗前	治疗后
性别 (男 /女)	104 /103	104 /103
年龄 (岁)	66.26 \pm 11.87	66.26 \pm 11.87
体质指数 (kg/m ²)	26.87 \pm 2.03	26.87 \pm 2.03
高血压 (是 /否)	161 /46	161 /46
吸烟 (是 /否)	143 /64	143 /64
TG (mmol/L)	1.54 \pm 0.77	1.32 \pm 0.99
TC (mmol/L)	6.52 \pm 1.12	4.69 \pm 0.91
HDL-C (mmol/L)	1.52 \pm 0.43	1.64 \pm 0.41
LDLC (mmol/L)	4.37 \pm 0.91	3.04 \pm 0.71
VLDLC (mmol/L)	0.71 \pm 0.46	0.62 \pm 0.37
TC /HDL-C	4.46 \pm 0.93	2.98 \pm 0.76

1.3 血脂水平检测

所有血液标本均由广东医学院附属医院检验科使用 Beckman Coulter 公司试剂盒并在 Beckman Coulter Synchron Lx20 生化检测仪上测定,分别检测每例患者调脂治疗前后两套的主要血脂指标:总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDLC)、极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDLC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)以及 TC /HDL-C。

1.4 CETP 基因启动子区四个多态位点的基因型检测

1.4.1 PCR 扩增目的片段 PCR 扩增引物根据 GeneBank 中 AF027656 和 M 32992 的序列并参照文献 [3~ 5]设计,由上海生工生物工程公司 (Sangon)合成。- 69G /A 多态上游引物: 5'-AAA ATG GTG CAG ATG GTG GAG GG-3',下游引物: 5'-GAT GCT ACT GAT ACT TAC ACA ACC AG-3'; -629C /A 多态上游引物: 5'-TTC TTG GCC CCA GCT GTA GG-3',下游引物: 5'-GAA ACA GTC CTC TAT GTA GAC TTT CCT TGA TAT GCA TAA AAT ACC ACT GG-3'; -971G /A 多态上游引物: 5'-CCC AGT CTG CAC TAG AGG AT-3',下游引物: 5'-GGC ATT TCA ATT CTG AGT TGT GTG AAC -3'; -1337C /T 多态上游引物: 5'-AGT CTG CAC TAG AGG ATG GGG CCC A-3',下游引物: 5'-TCA CTG AGT GAG CAT GTA CCA TCG G-3'。PCR 反应体积为 50 μ L,其中含宝生物

工程(大连)有限公司生产的 Prime STAR™ HS Premix 制品(内含 DNA Polymerase, Buffer, dNTP Mixture, Mg^{2+}) 25 μ L, 上下游引物 25 μ mol/L 各 0.5 μ L(终浓度 0.25 μ mol/L)、模板 DNA 70~100 ng/2 μ L, 灭菌水 22 μ L。PCR 扩增反应参数为: 冷启动, 94℃预变性 5 min, 98℃变性 10 s, 60℃退火 15 s, 72℃延伸 30 s, 30 个循环, 最后 72℃延伸 10 min。

1.4.2 限制性片段长度多态性(RFLP)分析

-69G/A、-629C/A、-971G/A 和 -1337C/T 4 个多态位点的 PCR 扩增产物分别用 Msp I, Vn91 I, Eco88 I 和 EcoT14 I 限制性内切酶 37℃酶切 4 h。所有酶切产物取 10~15 μ L 经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 以 DL-2000 DNA marker 作分子量参照, 电泳时间 40 min, 用 UV-2100 凝胶分析系统观察电泳结果并确定基因型。

1.5 统计学分析

用 Hardy-Weinberg 平衡定律检测样本的代表性。SPSS 15.0 软件对血脂异常患者辛伐他汀治疗前的基线血脂水平及治疗 4 周后的血脂水平变化量作单因素方差分析、Post Hoc 多重比较, 调整混杂因素用协方差分析。各多态位点的连锁不平衡分析用 LDA 软件。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 限制性片段长度多态性分析结果

-69G/A 多态的酶切产物在本实验中只有 GG 基因型, 电泳条带为 232 bp 和 139 bp 而 GA 基因型(371、232 bp 和 139 bp)和 AA 基因型(371 bp)未检出(图 1)。
-629C/A 多态的酶切产物电泳结果为: AA 基因型为 175 bp 和 47 bp(片段小跑出凝胶故图中未显示); CA 基因型为 222、175 bp 和 47 bp(片段小跑出凝胶故图中未显示); CC 基因型只有 222 bp(图 2)。
-971G/A 多态的酶切产物电泳结果为: GG 基因型为 453、185 bp 和 72 bp(片段小跑出凝胶故图中未显示); GA 基因型为 525、453、185 和 72 bp(片段小跑出凝胶故图中未显示); AA 基因型为 525 和 185 bp(图 3)。
-1337C/T 多态的酶切产物电泳结果为: CC 基因型电泳条带为 197 和 105 bp; CT 基因型为 197、105、82 bp 和 23 bp(片段小跑出凝胶故图中未显示); TT 基因型为 197 bp、82 bp 和 23 bp(片段小图中未显示, 图 4)。

2.2 基因型频率与等位基因频率分析

在 207 例血脂异常患者中, -629C/A 多态 C 等位基因频率为 51.8%, 其 -629CC(57 例)、CA

(101 例)和 AA(49 例)基因型频率分别为 27.5%、48.8% 和 23.7%; -971G/A 多态 G 等位基因频率为 68.8%, 其 -971GG(104 例)、GA(77 例)和 AA(26 例)基因型频率分别为 50.2%、37.2% 和 12.6%; -1337C/T 多态 C 等位基因频率为 81.2%, 其 -1337CC(140 例)、CT(53 例)和 TT(11 例)基因型频率分别为 67.6%、27.1% 和 5.3%。

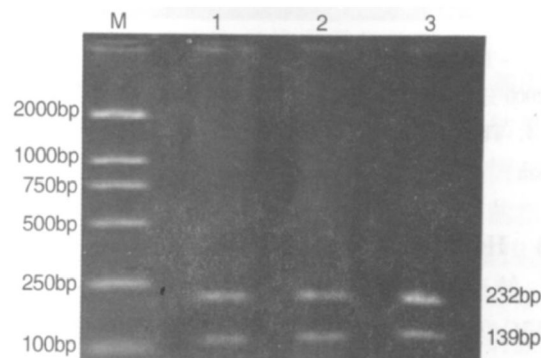


图 1. -69C/A 多态位点的 PCR-RFLP 电泳结果 M 为 DL-2000 分子量标准, 1、2 和 3 为基因型 GG。

Fig 1. The gel picture of CETP gene -69G/A polymorphism

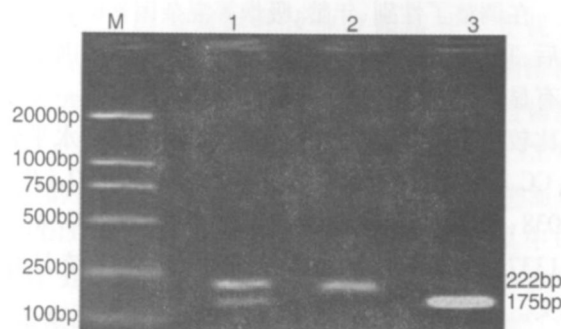


图 2. -629C/A 多态位点的 PCR-RFLP 电泳结果 M 为 DL-2000 分子量标准, 1 为基因型 CA, 2 为基因型 CC, 3 为基因型 AA。

Fig 2. The gel picture of CETP gene -629C/A polymorphism

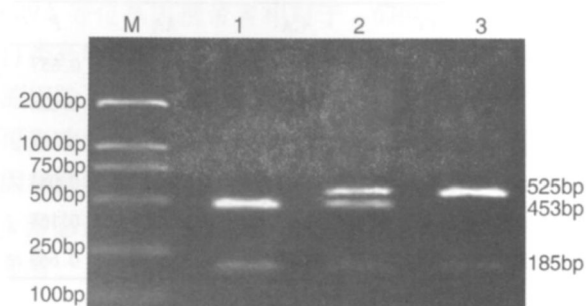


图 3. -971G/A 多态位点的 PCR-RFLP 电泳结果 M 为 DL-2000 分子量标准, 1 为基因型 GG, 2 为基因型 GA, 3 为基因型 AA。

Fig 3. The gel picture of CETP gene -971G/A polymorphism

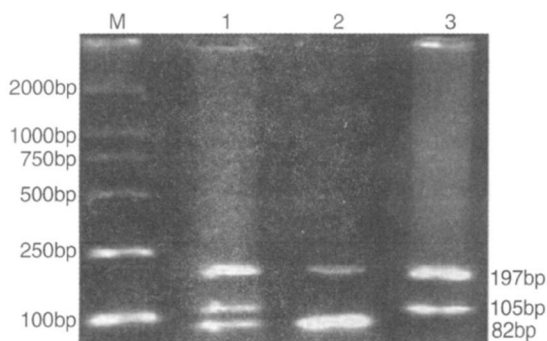


图4 -1337C/T多态位点的PCR-RFLP电泳结果 M为DL-2000分子量标准, 1为基因型CT, 2为基因型TT, 3为基因型CC。

Figure 4 The gel picture of CETP gene -1337C/T polymorphism

2.3 Hardy-Weinberg遗传平衡检验

统计学处理显示-629C/A、-971G/A和-1337C/T多态位点的基因型频率分布符合Hardy-Weinberg遗传平衡($\chi^2 = 0.109$, $P > 0.05$, $\chi^2 = 3.657$, $P > 0.05$, $\chi^2 = 2.756$, $P > 0.05$, $df = 1$)。

2.4 辛伐他汀治疗前各项血脂基线水平在-629C/A、-971G/A和-1337C/T多态各基因型组间的比较

在调整了性别、年龄、吸烟等混杂因素的影响作用后, TC基线水平在-629C/A多态不同基因型组间有显著性差异($F = 3.326$, $P = 0.038$), 进一步多重比较结果表明-629AA基因型个体的TC水平较之CC基因型个体明显增高了 0.558 mmol/L ($P = 0.038$, 表2)。各项血脂基线水平在-971G/A和-1337C/T多态各基因型组间的差异无统计学意义。

表2 -629C/A多态各基因型组间血脂基线水平($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Table 2 Baseline lipid profile in 3 genotypes of -629C/A ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

项目	CC	CA	AA	P
TG	1.49 ± 0.79	1.56 ± 0.77	1.55 ± 0.78	0.857
TC	6.28 ± 1.11	6.49 ± 1.11	6.84 ± 1.11	0.038
HDL	1.44 ± 0.43	1.53 ± 0.42	1.61 ± 0.43	0.101
LDL	4.17 ± 0.92	4.39 ± 0.91	4.58 ± 0.92	0.083
VLDL	0.63 ± 0.46	0.72 ± 0.46	0.80 ± 0.46	0.168
TC/HDL	4.55 ± 0.94	4.45 ± 0.93	4.39 ± 0.94	0.668

2.5 辛伐他汀治疗后各项血脂水平变化量在-629C/A、-971G/A和-1337C/T多态各基因型患者的比较

在调整了性别、年龄、吸烟等混杂因素的影响作用后, 辛伐他汀治疗4周后TC和LDLC水平的变化量在-629C/A多态的各基因型组别间的差异有统计学意义($F = 3.767$, $P = 0.025$, $F = 8.533$, $P = 0.000$), 进一步Post Hoc多重比较结果表明, -629AA基因型个体的TC水平下降幅度较之CC基因型个体多出了 0.495 mmol/L ($P = 0.020$), 即-629AA基因型个体的TC水平下降幅度大。在-629AA和CA基因型个体中的LDLC水平下降幅度较之CC基因型个体分别多出了 0.577 mmol/L 和 0.352 mmol/L ($P = 0.000$, $P = 0.012$), 即-629AA和CA基因型个体LDLC水平下降的更低, 见表3。HDL水平变化量在-1337C/T多态各基因型组间有显著性差异($F = 3.064$, $P = 0.044$), 这差异在调整混杂因素影响前并不明显。多重比较结果显示, 虽然从-1337TT、CT到CC, HDL升高的幅度有增大的趋势, 但任意两种基因型组别间的差异无统计学意义(表4)。各血脂指标的变化量在-971G/A多态各基因型组别间无显著性差异。

2.5 连锁不平衡分析

采用LDA软件分析发现-629C/A和-1337C/T单核苷酸多态间不存在连锁不平衡关系($r^2 = 0.001$, $D' = 0.050$)。

表3 各项血脂水平变化量在-629C/A多态各基因型组间的比较($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Table 3 Change values of lipid profile in 3 genotypes of -629C/A ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

项目	CC	CA	AA	P
TG	-0.26 ± 0.89	-0.23 ± 0.88	-0.16 ± 0.88	0.846
TC	-1.60 ± 0.92	-1.83 ± 0.91	-2.09 ± 0.92	0.025
HDL	0.11 ± 0.30	0.12 ± 0.30	0.09 ± 0.30	0.838
LDL	-1.02 ± 0.72	-1.37 ± 0.72	-1.60 ± 0.72	0.000
VLDL	-0.09 ± 0.24	-0.08 ± 0.24	-0.11 ± 0.26	0.759
TC/HDL	-1.41 ± 0.98	-1.52 ± 0.97	-1.48 ± 0.98	0.811

表4 各项血脂水平变化量在-1337C/T多态各基因型组间的比较($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

Table 4 Change values of lipid profile in 3 genotypes of -1337C/T ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

项目	CC	CA	AA	P
TG	-0.22 ± 0.88	-0.17 ± 0.90	-0.45 ± 0.89	0.629
TC	-1.83 ± 0.93	-1.74 ± 0.95	-2.12 ± 0.93	0.479
HDL	0.14 ± 0.30	0.08 ± 0.31	-0.07 ± 0.30	0.044
LDL	-1.32 ± 0.75	-1.31 ± 0.76	-1.54 ± 0.75	0.632
VLDL	-0.08 ± 0.24	-0.12 ± 0.25	-0.10 ± 0.24	0.555
TC/HDL	-1.55 ± 0.97	-1.35 ± 0.99	-1.13 ± 0.98	0.221

3 讨 论

他汀类药物作为治疗临床血脂异常的常用药物,主要机制之一就是通过抑制胆固醇合成早期的限速酶 β -羟 β -甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶的活性,降低血清总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇和甘油三酯的水平。然而大量临床实践表明,由于患者的遗传背景各不相同,他汀类药物的调脂效果具有明显的个体差异性^[6]。CETP作为细胞内胆固醇代谢过程的一个关键成员,其有可能是影响他汀类药物调脂效果的重要因子之一。

CETP基因在多个位点上存在着多态性,是普遍存在于人群中的遗传变异。有关 CETP 基因多态与他汀类药物调脂效果的关联性报道为 TaqIB 多态最为广泛,但结论并不一致。如在 Fiegenbaum^[7] 研究结果中, B2B2 基因型携带者在服用他汀类药物后有更好的调脂效果,其心血管事件发生率显著下降;而 Regieli^[8] 的结果表明,虽然 B2 基因型与高水平的 HDLC 相关联,但在他汀类药物调脂效果的作用中受益不如 B1B1 基因型。因 TaqIB 多态位于 CETP 基因无功能区的内含子 1 中,所以造成这些结论差异的原因目前尚不清楚^[9-10]。

考虑到 CETP 基因启动子对血浆 CETP 活性及脂蛋白代谢的影响,本文对 CETP 基因启动子区的 -69G/A、-629C/A、-971G/A 和 -1337C/T 四个多态位点与他汀类药物调脂效果关联性进行了探讨。-69G/A 多态是 CETP 基因启动子区上游 PEA3/ETS 结合位点 (CGGAA) 第二个核苷酸发生的 G \rightarrow A 突变,在日本, Nagano 对 196 名无亲缘关系的高 α 脂蛋白血症 (hyperalphalipoproteinemia HALP) 患者进行了研究,有 4 人被检出是 -69GA 杂合子,其突变基因频率为 1.0%。与 -69GG 纯合子相比, -69GA 杂合子患者血浆 CETP 的水平显著下降,且 HDLC 的水平明显升高。HepG2 细胞的转染试验表明该突变基因启动子的转录活性只有野生型基因的 8%。迄今为止 -69A 等位基因仅见于日本人群体,在欧美白种人群体中尚未见有报道^[4]。

在本研究中,粤西汉族人群体总共 207 个血脂异常患者中未发现 -69G/A 多态的 GA 基因型和 AA 基因型。表明该多态在粤西汉族群体中分布较低,可能不是他汀类药物调脂效果个体化差异的主要影响因素。

-629C/A 多态是 CETP 基因中一个功能性多态,在多个种族均有报道,在亚洲 A 等位基因的频

率为 50.0%,略高于欧洲白种人的 48.0%^[11]。HepG2 细胞转染试验表明,核转录因子 Sp1/Sp3 能与 -629A 等位基因特异性结合从而抑制 CETP 基因启动子的转录活性,因此 -629A 等位基因携带者血浆 CETP 的浓度和活性显著下降, HDLC 的水平则明显升高^[3-12]。

在本研究中,粤西汉族人群体 -629A 等位基因的频率为 48.2%,接近欧洲白种人。在对血脂异常患者调脂治疗前血脂基线水平的比较中发现, -629AA 基因型个体的 TC 基线水平较之 CC 基因型个体升高了 0.558 mmol/L ($P=0.038$),该结果提示,在汉族血脂异常群体中, -629A 等位基因与血浆高 TC 水平有关联性,因此其 A 等位基因的携带者发生心血管疾病的概率可能要大于 CC 基因型。这与国外大多数报道 (A 等位基因与高 HDLC 水平相关联) 的结论不同,遗传背景和受试群体的差异可能是其主要原因。此外在吴银等^[13] 对中国四川一个群体的研究结论中,并未发现 -629C/A 多态同 HDLC 的相关性。

对于 -629C/A 多态与他汀类药物调脂效果的关系, Blankenberg^[14] 和 Venrooij^[15] 的研究结果显示 -629CC 基因型对阿托伐他汀调脂效果要优于 -629AA 基因型。阿托伐他汀除能降低胆固醇酯 (CE) 在 HDL 同 VLDL 之间的交换,并能通过甾醇调控元件结合蛋白 (SREBP) 的干扰途径下调 CETP 基因的表达,使得 CETP 的浓度和活性下降,进而导致 LDLC 水平的明显降低, CC 纯合子血浆中的 CETP 处于高表达水平,那么相对于 CETP 原本就处于低浓度和活性的 AA 纯合子,经过阿托伐他汀治疗一段时期后, CC 纯合子血浆中的 LDLC 下降的水平则要更为明显^[14-15]。

本研究结果中,虽然 -629A 等位基因与血浆较高的基线 TC 水平相关联,但患者经调脂治疗后, -629A 等位基因携带者相对于 -629CC 基因型对他汀类药物的降血脂效果更为敏感。产生这种矛盾的原因除了环境因素和受试者遗传背景不同外,其它可影响他汀药物效应动力学的 HMG-CoA 还原酶基因和载脂蛋白 E 基因等功能性多态位点与 -629C/A 多态连锁不平衡也可能导致结论不同,甚至相互矛盾。

-971G/A 多态的 A 等位基因频率在欧美白种人群体的分布为 49.1%,远高于汉族人群体的 31.2%。此等位基因与显著降低的 CETP 浓度和显著升高的 HDLC 水平相关联。HepG2 细胞的短暂转染实验表明, -971G/A 启动子多态并不调节

CETP启动子的转录活性,因而与-629 C/A不同,-971G/A多态可能是一个非功能性的遗传标记^[16]。而本研究结果中也并未发现血脂水平变化量在-971G/A多态三种基因型组间的差异。表明-971G/A多态可能不是影响辛伐他汀调血脂效果异质性的主要影响因素。

-1337C/T多态是否为CETP基因的功能性位点目前尚无定论,HepG2细胞转染试验显示它能与-629C/A功能性多态相互作用来影响CETP基因的转录活性^[3]。在本实验中,血脂异常患者经他汀类药物治疗后,HDLC水平升高的幅度在-1337TT、TC和CC基因型组间有增大的趋势,提示-1337C等位基因携带者较之TT基因型患者,对他汀类药物降血脂效果的敏感性大。但进一步连锁不平衡分析结果显示-629C/A与-1337C/T两多态位点并未存在连锁不平衡,提示CETP基因启动子区存在着尚未发现的能解释已知多态与CETP或HDLC水平相关联的功能多态位点。

综上所述,CETP基因多态性与他汀类药物调脂效果有关联,但具体影响机制有待进一步研究。另外本研究也存在一定的局限,如选择CETP基因功能性位点少,同时样本量不大也会对结果造成一定偏差,因此对本研究结果的解释应充分考虑这些因素。

[参考文献]

- [1] Tall AR. Plasma cholesteryl ester transfer protein[J]. *J Lipid Res* 1993; 34 (8): 1 255-274
- [2] Dullaart RP, Sluiter WJ. Common variation in the CETP gene and the implications for cardiovascular disease and its treatment: an updated analysis[J]. *Pharmacogenomics* 2008; 9 (6): 747-763
- [3] Frisdal E, Klerkx AH, Le GW, et al. Functional interaction between -629C/A, -971G/A and -1337C/T polymorphisms in the CETP gene is a major determinant of promoter activity and plasma CETP concentration in the REGRESS Study[J]. *Hum Mol Genet* 2005; 14 (18): 2 607-618
- [4] Nagano M, Yamashita S, Hirano K, et al. Molecular mechanisms of cholesteryl ester transfer protein deficiency in Japanese[J]. *J Arterioscler Thromb* 2004; 11 (3): 110-121
- [5] Klerkx AH, Tanck MW, Kastelein JJ, et al. Haplotype analysis of the CETP gene: not TaqIB, but the closely linked -629C->A polymorphism and a novel promoter variant are independently associated with CETP concentration [J]. *Hum Mol Genet* 2003; 12 (2): 111-123
- [6] Miura S, Saku K. Effects of statin and lipoprotein metabolism in heart failure[J]. *J Cardio* 2010; 55 (3): 287-290
- [7] Fiegenbaum M, Silveira FR, Van der Sand CR, et al. Pharmacogenetic study of apolipoprotein E, cholesteryl ester transfer protein and hepatic lipase genes and simvastatin therapy in Brazilian subjects[J]. *Clinica Chimica Acta* 2005; 362 (1-2): 182-188
- [8] Regieli JJ, Jukema JW, Grobbee DE, et al. CETP genotype predicts increased mortality in statin-treated men with proven cardiovascular disease: an adverse pharmacogenetic interaction[J]. *Eur Heart J* 2008; 29 (22): 2 792-799
- [9] 汪俊军, 张春妮, 庄一义. 胆固醇酯转运蛋白在动脉粥样硬化中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007; 15 (6): 473-475
- [10] 陈筱潮, 徐明彤, 韩春丽, 等. 中国人胆固醇酯转运蛋白 TaqIB基因多态性与冠心病关系的Meta分析[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006; 16 (11): 997-1 000
- [11] Padmaja N, Ravindra Kumar M, Soya SS, et al. Common variants of Cholesteryl ester transfer protein gene and their association with lipid parameters in healthy volunteers of Tamilian population[J]. *Clin Chim Acta* 2007; 375 (1-2): 140-146
- [12] Dullaart RP, Borggreve SE, Hillege HL, et al. The association of HDL cholesterol concentration with the -629C>A CETP promoter polymorphism is not fully explained by its relationship with plasma cholesteryl ester transfer[J]. *Scand J Clin Lab Invest* 2008; 68 (2): 99-105
- [13] Wu Y, Bai H, Liu R, et al. Analysis of cholesterol ester transfer protein gene TaqIB and -629 C/A polymorphisms in patients with endogenous hypertriglyceridemia in Chinese population[J]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2006; 23 (6): 640-646
- [14] Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, et al. Common genetic variation of the cholesteryl ester transfer protein gene strongly predicts future cardiovascular death in patients with coronary artery disease[J]. *J Am Coll Cardio* 2003; 41 (11): 1 983-989
- [15] Venrooij FV, Stolk RP, Banga JD, et al. Common cholesteryl ester transfer protein gene polymorphisms and the effect of atorvastatin therapy in type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care* 2003; 26 (4): 1 216-223
- [16] Spiehlmann N, Leon AS, Rao DC, et al. CETP genotypes and HDL-cholesterol phenotypes in the HERITAGE family study[J]. *Physiol Genomics* 2007; 31 (1): 25-31

(此文编辑 李小玲)