

[文章编号] 1007-3949(2011)19-07-0561-04

• 实验研究 •

载脂蛋白 CⅢ 基因多态性与汉族男性血脂的关系

唐晓君¹, 唐 敏², 张阳丹¹, 张名均³, 戴 勇⁴

(重庆医科大学 1. 流行病学教研室, 2. 诊断学教研室 重庆 400016;

3. 重庆市九龙坡区第一人民医院检验科 重庆 400050; 4 深圳市人民医院临床研究中心 深圳市 518020)

[关键词] 载脂蛋白 CⅢ; 基因多态性; 血脂

[摘要] 目的 探讨载脂蛋白 CⅢ 基因(ApoCⅢ) C3157G、T3206G 多态性与汉族男性血脂的关系。方法 采用 DNA 测序方法,对两所医院 337 名男性健康体检者检测载脂蛋白 CⅢ 基因 3175 位核苷酸 C→G、3206 位核苷酸 T→G 多态性,并分析其与血脂的关系。结果 该人群 ApoCⅢ 3175 CC、CG 和 GG 的基因型频率分别为 51.93%、40.06% 和 8.01%,C 和 G 等位基因频率分别为 71.96% 和 28.04%;ApoCⅢ 3206 TT、TG 和 GG 的基因型频率分别为 6.82%、32.34% 和 60.83%,T 和 G 等位基因频率分别为 23.0% 和 77.0%;ApoCⅢ 3157G 等位基因有使甘油三酯增高的趋势;将人群按 TG 含量(TG < 2.26 mmol/L 及 TG ≥ 2.26 mmol/L)分层,在高 TG 血症人群中,ApoCⅢ 基因与总胆固醇、低密度脂蛋白有联系;多元线性逐步回归分析显示腹型肥胖(WHR)和 ApoCⅢ C3157G 多态性与甘油三酯有联系。结论 ApoCⅢ 基因 C3157G 与血浆甘油三酯相关,其 T3206G 基因多态性在高 TG 血症人群中与血脂有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Relationship Between Apolipoprotein CⅢ Gene Polymorphism and the Levels of Serum Lipids in Male

TANG Xiao-Jun, Tang Ming, ZHANG Yang-Dan, ZHANG Ming-Jun, and DAI Yong

(Department of Epidemiology, School of Public Health, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[KEY WORDS] ApoCⅢ gene; Polymorphism; Serum Lipids

[ABSTRACT] **Aim** To explore the relationship between apolipoprotein CⅢ (ApoCⅢ) gene C3175G, T3206G polymorphism and the levels of serum lipids in male, as well as the multiple risk factors of overweight-obesity. **Methods**

A total 337 males were selected from two hospitals by using DNA sequencing, and the apolipoprotein CⅢ gene C3175G, T3206G polymorphism and the serum lipids were determined and analyzed their relationships were analyzed. **Results**

The genotype frequencies of the CC, CG and GG for ApoCⅢ 3175 were 51.93%, 40.06% and 8.01%, respectively, and C allele was 71.9% and G allele was 28.04%. The frequencies of TT, TG and GG for ApoCⅢ 3206 were 6.82%, 32.34% and 60.83%, respectively, and T was 23.0% and G was 77.0%. The carriers of ApoCⅢ 3157G could have the higher level of triglyceride (TG). According to stratified selection of TG, there were relationships between ApoCⅢ and TC /LDLC. The multiple linear regression showed that abdomen obesity and ApoCⅢ C3157G polymorphism might be associated with TG. **Conclusion** The ApoCⅢ C3157G is related to the levels of serum TG and the results were supported the relationships between ApoCⅢ T3206G and TC/LDLC in population with high TG.

ApoCⅢ 基因定位于人第 11 号染色体长臂 q23 区,其基因长约 311 kb,由 4 个外显子,3 个内含子组成。载脂蛋白 CⅢ 是一种水溶性低分子量蛋白质,其在体内富含甘油三酯的脂蛋白(triglyceride -

rich lipoprotein, TRL) 的分解代谢中具有重要的调节作用,它是脂蛋白脂酶的抑制剂,同时还可抑制肝脏对 TRL 及其残粒的摄取。ApoCⅢ 基因存在许多多态性位点,本课题以中国汉族男性人群为研究对

[收稿日期] 2010-09-30

[基金项目] 广东省科技厅项目(2003C30609);重庆市教委自科项目(编号 KJ070313)

[作者简介] 唐晓君,硕士,副教授,研究方向为慢性病流行病学,联系电话为 023-68485228, E-mail 为 tangxiaoj0726@qq.com。唐 敏,博士,副教授,研究方向为疾病诊断机制研究, E-mail 为 565261030@qq.com。张阳丹,硕士研究生,研究方向为分子流行病学, E-mail 为 532598464@qq.com。

象,选择 ApoCⅢ 基因第 3 175 位核苷酸 C→G 突变(ApoCⅢ C3175G)、第 3 206 位核苷酸 T→G 突变(ApoCⅢ T3206G),探讨其变异与血脂的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

来源于 2 所医院 337 名男性健康体检者,平均年龄为 48.06 ± 4.02 岁,均为汉族人。

1.2 临床检测

所有研究对象均测定身高、体重、腰围、臀围和血压等,检测血脂等生化指标。体质指数(BMI) = 体质量(kg) / 身高²(m²),腰臀比(WHR) = 腰围 / 臀围。

1.3 标本采集和处理

空腹 12 h 采外周静脉血 5 mL,其中 2 mL 置于干燥管,用以测定血脂;3 mL 置于 EDTA 抗凝管(终浓度为 0.2 g/L),上下颠倒数次混匀,QIAGEN 血液 DNA 提取试剂盒提取 DNA,存放于 4℃ 备用。

1.4 血脂检测

血浆总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triacylglycerol, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)均采用氧化酶法,以 Beckmanlx20 全自动生化仪检测。

1.5 ApoC3 基因扩增和 DNA 测序

用 Primer Premier 5.0 软件对基因 ApoC3 进行引物设计。上游引物: 5'-TAG GGG CTG GGT GAC CGA TG-3' (20 bp);下游引物: 5'-CTT GCG ACG GCC CAC TCA TAG-3' (21 bp)。扩增的片段 327 bp,包括 ApoC3 C3175G (SacI 的酶切点- / +) 和 ApoC3 T3206G。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

PCR 体系(20 μL): 50 μmol/L 上游引物 1 μL, 50 μmol/L 下游引物 1 μL, 10 × buffer 2 μL, 2.5 mmol/L MgCl₂ 2 μL, 10 mmol/L dNTP 1 μL, 5 u / μL Taq 酶 0.4 μL, H₂O 9.6 μL, DNA 3 μL。PCR 反应条件: 96℃ 5 min, (94℃ 50 s, 68℃ 50 s) × 34 个循环, 72℃ 10 min。ApoC3 PCR 产物送上海生工生物工程技术有限公司测序部测序。测序引物: 5'-CTT GCG ACG GCC CAC TCA TAG-3'。

1.6 统计分析

采用 Excel 2003 录入数据, SAS 9.03 软件包进行统计分析。等位基因频率比较采用 χ² 检验; 血脂水平之间的比较用方差分析, P < 0.05 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 载脂蛋白 CⅢ 基因多态性

载脂蛋白 CⅢ 基因多态性扩增片段为 327 bp, DNA 测序结果(图 1,) 显示 C3175G 基因有 3 种结果, CC、CG 和 GG 型。CC、CG 和 GG 的基因型频率分别为 51.93%、40.06% 和 8.01%, C 和 G 等位基因频率分别为 71.96% 和 28.04%。经检验, C3175G 多态性基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律(χ² = 4.168, P < 0.01), 说明所选样本具有人群代表性; T3206G 基因有 3 种结果, TT、TG 和 GG 型,(图 1)。TT、TG 和 GG 的基因型频率分别为: 6.82%、32.34% 和 60.83%, T 和 G 等位基因频率分别为 23.0% 和 77.0%, 经检验, T3206G 多态性基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律(χ² = 2.078, P < 0.01)

2.2 载脂蛋白 CⅢ 基因多态性与血脂的关系

根据 C3175G 多态性基因型分组, GG 基因型比 CG 型、CC 型具有更高的 TG 水平(P < 0.05); 而其它血脂水平在三组间比较差异无统计学意义(表 1)。

表 1. 载脂蛋白 CⅢ 基因 C3157G/T3206G 多态性与血脂的关系 (x̄ ± s)

Table 1. The relationship of ApoCⅢ C3157G/T3206G gene polymorphisms and the blood lipid level (x̄ ± s)

Variable	ApoCⅢ ³¹⁷⁵			ApoCⅢ ³²⁰⁶		
	CC (n = 175)	CG (n = 135)	GG (n = 27)	TT (n = 23)	TG (n = 109)	GG (n = 205)
Age (岁)	49.12 ± 3.95	48.22 ± 4.07	47.25 ± 3.80	49.48 ± 4.16	48.72 ± 3.87	48.47 ± 4.09
TC (mmol/L)	5.23 ± 0.97	5.25 ± 0.85	5.40 ± 0.65	5.46 ± 1.24	5.21 ± 0.98	5.24 ± 0.81
TG (mmol/L)	1.87 ± 1.24	2.05 ± 1.45 ^a	2.54 ± 1.97 ^{a,b}	1.65 ± 0.87	2.08 ± 1.41	1.99 ± 1.45
HDLC (mmol/L)	1.18 ± 0.42	1.15 ± 0.42	1.09 ± 0.22	1.22 ± 0.32	1.19 ± 0.51	1.14 ± 0.35
LDLC (mmol/L)	3.21 ± 0.82	3.17 ± 0.79	3.14 ± 0.63	3.46 ± 1.01	3.16 ± 0.81	3.18 ± 0.76
WHR	0.94 ± 0.04	0.93 ± 0.05	0.92 ± 0.05	0.94 ± 0.04	0.93 ± 0.05	0.94 ± 0.05
BMI (kg/m ²)	26.46 ± 5.50	25.73 ± 3.66	25.04 ± 2.43	25.52 ± 3.50	25.16 ± 2.94	26.59 ± 4.43

a 为 P < 0.05, 与 CC 基因型比较; b 为 P < 0.05, 与 CG 基因型比较。

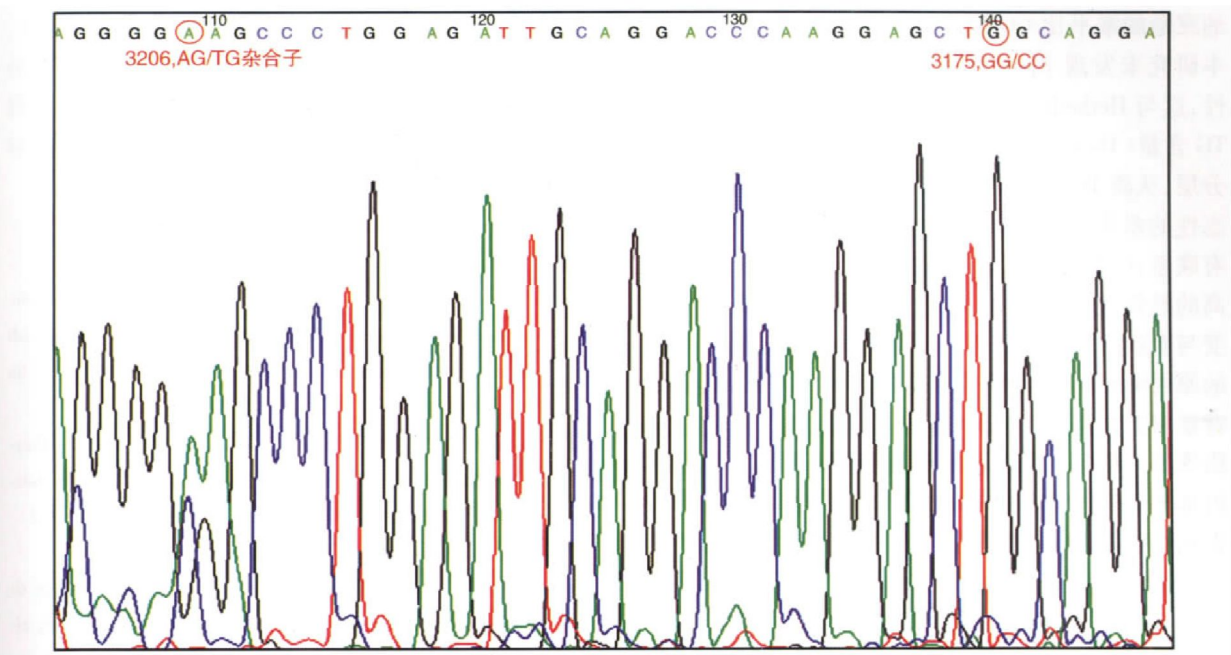


图 1. 某标本 ApoC III DNA 测序结果 (包括 C3175G 和 T3206G)

Figure1. The result of a sample ApoC III DNA sequencing product (C3175G and T3206G)

将人群按 TG 含量 ($TG < 2.26 \text{ mmol/L}$ 及 $TG \geq 2.26 \text{ mmol/L}$) 分层, 从高 TG 血症的角度分析比较该等位基因多态性的差异。TG $< 2.26 \text{ mmol/L}$ 人群其基因型在脂质组间及 BMI、WHR 差异无统计学意

义; 人群高 TG 血症 ($TG \geq 2.26 \text{ mmol/L}$) 共 98 例, 结果发现其基因型在 TC 和 LDLC 间差异有统计学意义 ($P < 0.05$; 表 2)。

表 2. 载脂蛋白 C III 基因 C3157G/T3206G 多态性与高 TG 血症的关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2. The relationship of ApoC III C3157G/T3206G gene polymorphisms and high TG level ($\bar{x} \pm s$)

Variable	ApoC III ³¹⁷⁵			ApoC III ³²⁰⁶		
	CC ($n = 49$)	CG ($n = 36$)	GG ($n = 13$)	TT ($n = 8$)	TG ($n = 36$)	GG ($n = 54$)
TC (mmol/L)	5.12 ± 0.52	5.24 ± 0.78^a	5.78 ± 0.67^{ab}	5.29 ± 0.71	5.64 ± 0.95^a	6.69 ± 1.06^{ab}
HDLc (mmol/L)	1.11 ± 0.52	0.98 ± 0.14	0.96 ± 0.16	1.14 ± 0.25	1.13 ± 0.59	0.97 ± 0.16
LDLC (mmol/L)	2.83 ± 0.60	3.01 ± 0.52^a	3.44 ± 0.96^{ab}	2.99 ± 0.61	3.26 ± 0.83^a	4.57 ± 0.78^{ab}
WHR	0.95 ± 0.04	0.94 ± 0.03	0.93 ± 0.04	0.96 ± 0.03	0.94 ± 0.04	0.95 ± 0.04
BMI	30.73 ± 2.72	26.27 ± 2.92	25.81 ± 2.89	26.49 ± 1.90	25.49 ± 2.43	30.71 ± 2.73

a 为 $P < 0.05$, 与 CC 和 TT 基因型比较; b 为 $P < 0.05$, 与 CG 和 TG 基因型比较。

2.3 甘油三酯相关因素多元线性回归分析

以 TG 为因变量, 年龄、BMI、WHR、ApoC III³¹⁷⁵、ApoC III³²⁰⁶ 多态性位点为自变量, 采用多元逐步回归方法引入回归模型, 经筛选后, 腹型肥胖 (WHR)、ApoC III³¹⁷⁵ 基因 2 个因素与 TG 有显著性关联。回归方程为: $Y(TG) = -2.175 + 5.73WHR + 0.24 \text{ ApoC III}^{3175}$ ($F = 4.21, P = 0.001$)。

3 讨论

近年来, 随着分子生物学的发展, ApoC III 基因多态性与高脂血症的关系进行了大量研究, 国外有研究^[1,2]报道 ApoC III 基因 C3175G 和 T3206G 多态性与甘油三酯水平升高有关。本次研究显示 ApoC III C3175 G 多态性位点与汉族男性人群血浆甘油三酯 (TG) 的关系密切, 3157G 等位基因有使甘油三酯增高的趋势, 其纯合子 (GG 型) 的携带者血浆甘

油三酯的水平比 CG 型高,而 CG 型高于 CC 型;但本研究未发现 ApoC III 基因 T3206G 与 TG 的相关性,这与 Herbeth^[3] 研究结果一致。进一步将人群按 TG 含量(TG < 2.26 mmol/L 及 TG ≥ 2.26 mmol/L) 分层,从高 TG 血症的角度分析比较该等位基因多态性的差异。结果显示 ApoC III 基因与 TG、LDLC 均有联系;G 等位基因有使胆固醇和低密度脂蛋白升高的趋势,说明在高 TG 血症的人群中,其基因的改变与血脂的关系更密切。出现这些研究结果不一致的原因可能有:一是研究人群的异质性不同,其遗传背景因素差异较大,ApoC III 基因多态性位点与血浆脂质的关系在不同人群中作用强度不同;二是血脂的水平受到环境因素,如饮食习惯及生活方式等的影响及脂质之间的作用;因此可能加强或减弱其对基因位点的作用^[4,5],而经过分层分析控制 TG 混杂因素作用后,可见 ApoC III 基因与血脂的关系。本研究多因素分析亦显示:甘油三酯水平除受到 C3175G 位点的影响外,还与腹型肥胖有较强的联系。

本研究中,在不同 ApoC³¹⁷⁵、ApoC³²⁰⁶ 基因型间与总胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白水平比较,C3175G 基因多态性在 TC 水平中按 CC < CG < GG 升高的趋势,在 HDL 中按 CC > CG > GG 降低的趋势,但差异均无统计学意义($P > 0.05$);T3206G 基因多态性在各血脂水平中比较,差异均无统计学意义,但高 TG 血症的人群中显示其 G 等位基因有使胆固醇和低密度脂蛋白升高的趋势。当然,还需

获得大样本、多中心的实验以进一步证实其结果。

本研究表明 ApoC III C31275G 多态性和肥胖是影响个体间甘油三酯水平的危险因素,因此,对人群中 ApoC III 基因的测定,可以早期发现高脂血症,对预防心血管疾病具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Masana L, Febrer G, Cavanna J, et al. Common genetic variants that relate to disorders of lipid transport in Spanish subjects with premature coronary artery disease [J]. Clin Sci (Lond), 2001, 100 (2): 183-190.
- [2] Souverein OW, Jukema JW, Boekholdt SM, et al. Polymorphisms in APOA1 and LPL genes are statistically independently associated with fasting TG in men with CAD [J]. Eur J Hum Genet, 2005, 13 (4): 445-451.
- [3] Herbeth B, Gueguen S, Leroy P, et al. The lipoprotein lipase serine 447 stop polymorphism is associated with altered serum carotenoid concentrations in the Stanislas Family Study [J]. J Am Coll Nutr, 2007, 26 (6): 655-656.
- [4] 李国平, 陈保生, 薛红, 等. 载脂蛋白 c3 基因多态性—482C>T 与血浆脂质的关系 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13 (3): 335-339.
- [5] 唐敏, 戴勇, 蔡晓钟. 中国汉族人群 17 个 ban 管疾病易感基因位点基因型和基因频率分析 [J]. 第四军医大学学报, 2007, 28 (17): 1 609-612.

(此文编辑 李小玲)