

[文章编号] 1007-3949(2009)17-09-0765-03

· 临床研究 ·

## 载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病的相关性

胡迎富<sup>1,2</sup>, 江洪<sup>1</sup>, 杨波<sup>1</sup>, 夏豪<sup>1</sup>

(1. 武汉大学人民医院心内科, 湖北省武汉市 436000; 2. 荆门市第一人民医院心内科, 湖北省荆门市 448000)

[关键词] 载脂蛋白 E; 基因多态性; 冠心病

**[摘要]** 目的 探讨载脂蛋白 E 基因遗传变异与冠心病病变程度的相关性及对预后的影响。方法 抽取 251 例冠心病患者和 200 例对照者, 应用常规方法测定血脂和脂蛋白水平, 采用聚合酶链反应限制片段多态性技术对两组载脂蛋白 E 基因型频率分布进行分析。结果 共检测出 5 种基因型, 分别为载脂蛋白 E3/3、E3/2、E4/3、E4/2 及 E4/4, E2/2 未见。不同载脂蛋白 E 等位基因型对血脂、脂蛋白水平的作用具有较大差异; 在正常血脂水平亚组, 冠心病组载脂蛋白 E4/3 基因型和 E4 等位基因频率明显高于对照组, E3/3 基因型和 E3 等位基因频率则明显低于对照组; 而在高脂血症亚组, 两组之间载脂蛋白 E 各基因型和等位基因型频率均未见统计学差异。冠心病组心功能 Ⅳ~Ⅵ级患者的载脂蛋白 E4/3 基因型和 E4 等位基因频率高于心功能 Ⅰ~Ⅲ级患者, 并具有较低的 E3/3 基因型频率。结论 载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病的发生发展密切相关, 且对心脏功能有一定的作用; 载脂蛋白 E4/3 基因型和 E4 等位基因是冠心病发病重要的遗传易患标记之一, 并可能与冠心病心功能低下或心脏事件的发生有关; E3/3 基因型为冠心病的保护因子。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### The Research on Apolipoprotein E Gene Polymorphism Relating to the Severity of Coronary Artery Disease

HU Ying-Fu, JIANG Hong, YANG Bo, and XIA Hao

(Cardiology Department of People's Hospital, Wuhan University, Wuhan 436000, China)

[KEY WORDS] Apolipoprotein E; Gene Polymorphism; Coronary Artery Disease

**[ABSTRACT]** **Aim** To study the apolipoprotein E (apo E) gene polymorphism relating to the severity of coronary artery disease (CAD) and its impact on prognosis. **Methods** Polymerase chain reaction-restriction fragment length (PCR-RFLP) was used to determine apoE genotype of 251 CAD patients and 200 controls. Plasma lipid levels were measured by routine ways. **Results** Five kinds of apoE genotype, E3/3, E3/2, E4/3, E4/2 and E4/4 were detected in the study. It indicates that different kind of apo E allele had different function on plasma lipid and lipoprotein levels. There were statistic differences in apoE E4/3 genotype and E4 allele frequencies between normal lipid-leveled CAD patients and controls, but between the two hyperlipidemia subgroups, no differences had been found. Patients with heart function of class Ⅳ~Ⅵ had higher apoE E4/3 genotype and E4 allele frequencies and lower E3/3 genotype frequencies than those with better heart function (class Ⅰ~Ⅲ). **Conclusion** Apo E gene polymorphism is involved in the occurrence, the development and the heart of CAD. ApoE E4/3 genotype and E4 allele are important genetic factors of CAD and may have relationship with worse heart function or cardiac events, while E3/3 genotype might be a protective factor of CAD.

冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)是动脉粥样硬化导致器官病变的最常见类型,也是严重危害人民健康的常见病,载脂蛋白 E 与胆固醇的动员、再分配和利用有十分密切的关系。本研究旨在探讨载脂蛋白 E 基因遗传变异与冠心病病变程度的相关性以及对预后的影响。

### 1 对象和方法

#### 1.1 研究对象

冠心病患者 251 例,男性 142 例,女性 109 例,年龄  $67.1 \pm 9.4$  岁,其中高脂血症者 86 例,正常血脂水平者 165 例。200 例同期体检健康者作为对照组,男性 118 例,女性 82 例,年龄  $59.3 \pm 2.6$  岁,其中高脂血症者 85 例,正常血脂水平者 115 例。两组研究对象年龄和性别无统计学差异,其余基线条件均互相匹配。冠心病的诊断行冠状动脉造影,以冠状动脉有一支或一支以上狭窄大于 50% 为确诊病例,心功能分级标准参照纽约心脏病协会(NYHA)分级标准,高脂血症的诊断参照我国 1997 年《血脂

[收稿日期] 2009-08-21 [修回日期] 2009-09-01

**[作者简介]** 胡迎富,副主任医师,主要从事心血管疾病的介入诊疗研究。江洪,博士,主任医师,教授,主要从事心血管疾病的介入诊疗研究。杨波,博士,主任医师,教授,主要从事心血管疾病的介入诊疗研究。

异常防治建议》。所有研究对象均排除糖尿病、重度高血压病及甲状腺、肾脏或肝脏疾病等。两组研究个体之间无血缘关系。

### 1.2 血脂水平检测

所有受试者均清晨空腹采静脉血样,检测甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL)水平。采血前确认空腹时间,空腹不足10h者不予采血。由生化自动测定仪检测。

### 1.3 载脂蛋白E基因测定

根据文献[1]设计一对特异寡聚核苷酸引物扩增载脂蛋白E具有多态位点的第4个外显子序列,上游5'-AAC AAC TGA CCC CGG TGG CG-3',下游5'-ATG GCG CTG AGG CCG CGC TC-3'。PCR反应体系总体积为20 μL; DNA模板量为0.1 μg, 10× Buffer(含Mg<sup>2+</sup>) 2.0 μL, dNTPs终浓度为200 μmol/L,引物P1、P2各6 pmol/L, 2 μL DMSO,混匀后加入1 u TaqDNA聚合酶。PCR反应条件:94℃预变性5 min,经94℃ 1 min, 65℃ 1 min, 72℃ 1 min,共35个循环,72℃延伸6 min。特异扩增的DNA片段长度为292 bp。用1.5%琼脂糖凝胶鉴定目的产物,根据扩增效率取15 μL PCR产物用1 u HhaI酶于37℃消化1.5 h。酶切产物经10%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离(5 V/cm, 3.5 h),溴乙锭染色30 min后在凝胶成像仪上进行基因型读取。

### 1.4 统计学方法

载脂蛋白E基因型与等位基因频率采用频率计数法计算,不同载脂蛋白E等位基因之间血脂水平的比较采用单因素方差分析法;不同血脂水平亚组间载脂蛋白E基因型和等位基因频率分布及载脂蛋白E基因多态性与不同心功能分级相关关系的比较采用χ<sup>2</sup>检验。

## 2 结果

### 2.1 载脂蛋白E基因HhaI酶切图谱

共检测出5种载脂蛋白E基因型,分别为ε3/3、ε4/4、ε3/2、ε4/3及ε4/2,ε2/2未见(图1)。

### 2.2 载脂蛋白E等位基因对血脂、脂蛋白水平的影响

在冠心病组,与ε3等位基因相比,ε4等位基因具有升高血TC和LDLC的作用,而ε2等位基因具有降低TC和LDLC的作用。三组载脂蛋白E等位基因间TC和LDLC水平依次为ε4>ε3>ε2(表1)。

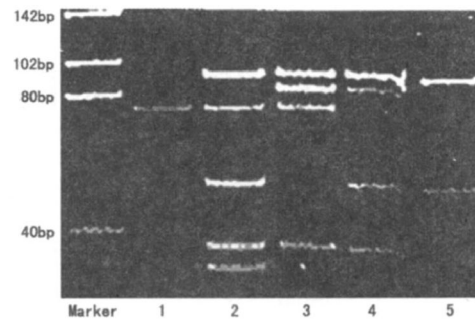


图1 载脂蛋白E酶切图谱 泳道1~5分别为ε4/4、ε4/3、ε4/2、ε3/2及ε3/3基因型。

表1 载脂蛋白E等位基因对血脂、脂蛋白水平的影响

等位基因	TC (mol/L)	TG (mol/L)	HDL (mol/L)	LDLC (mol/L)
ε2	4.01 ± 0.83 <sup>a</sup>	1.52 ± 0.21	1.48 ± 0.17	2.04 ± 0.71 <sup>a</sup>
ε3	4.85 ± 0.92	1.48 ± 0.24	1.47 ± 0.19	3.22 ± 1.03
ε4	5.58 ± 1.15 <sup>a</sup>	1.45 ± 0.22	1.49 ± 0.21	4.31 ± 1.07 <sup>a</sup>

a为P<0.05与ε3组相比较。

### 2.3 载脂蛋白E基因型及等位基因频率分布

正常血脂水平中,冠心病组载脂蛋白ε4/3基因型和ε4等位基因频率明显高于对照组,ε3/3基因型和ε3等位基因频率明显低于对照组。高脂血症中,冠心病组与对照组之间各基因型和等位基因型频率均无统计学差异,ε4/2和ε4/4例数较少,未行统计(表2和3)。

### 2.4 不同心功能的冠心病患者载脂蛋白E基因频率比较

251例冠心病中,心功能iv~Ⅲ级者158例,Ⅱ~Ⅰ级者93例。两组基因型和等位基因频率的比较显示,ε4/3基因型和ε4等位基因型频率在心功能Ⅱ~Ⅰ级患者中比iv~Ⅲ级患者为高(P<0.01和P<0.05);APOε3/3基因型则在心功能iv~Ⅲ级患者中具有较高的频率(P<0.05,表4)。

## 3 讨论

目前对冠心病发病机制的研究已深入到分子生物学水平,医学工作者试图找到冠心病发生的遗传危险因素,以解释正常血脂、血压且无不良生活习惯下冠心病的发生原因。流行病学研究表明,ε4等位基因分布频率最高的芬兰白种人群其冠心病发生率最高,而ε4分布频率较低的亚洲黄种人群其冠心病的发生率较低。说明ε4等位基因分布频率可能与世界各地冠心病发病率不同有密切关系,ε4等位基因

表 2 正常血脂水平载脂蛋白 E 基因型和等位基因频率分布

分 组	基因型 (例数)					等位基因		
	ε3/3	ε4/4	ε3/2	ε4/3	ε4/2	ε2	ε3	ε4
冠心病组 (n= 165)	101(61.2%) <sup>a</sup>	2(1.2%)	18(10.9%)	42(25.5%) <sup>b</sup>	2(1.2%)	6.1%	79.4% <sup>a</sup>	14.6% <sup>b</sup>
对照组 (n= 115)	86(74.8%)	0(0)	15(13.0%)	13(11.3%)	1(0.9%)	7.0%	87.0%	6.1%

a为  $P < 0.05$ , b为  $P < 0.01$ , 与对照组相比。

表 3 高血脂水平载脂蛋白 E 基因型和等位基因频率分布

分 组	基因型 (例数)					等位基因		
	ε3/3	ε4/4	ε3/2	ε4/3	ε4/2	ε2	ε3	ε4
冠心病组 (n= 86)	47(54.7%)	1(1.2%)	12(14.0%)	25(29.1%)	1(1.2%)	7.6%	76.2%	16.4%
对照组 (n= 85)	52(61.2%)	0(0)	13(15.3%)	16(18.8%)	4(4.7%)	10.0%	78.2%	11.8%

表 4 不同心功能的冠心病患者载脂蛋白 E 基因频率比较

心功能分级	ε3/3	ε3/2	ε4/3	ε2	ε3	ε4
iv ~ Ⅲ级 (n= 158)	99(62.7%)	21(13.3%)	37(23.4%)	7.0%	81.0%	12.0%
Ⅲ ~ Ⅰ级 (n= 93)	45(48.4%) <sup>a</sup>	8(8.6%)	39(41.9%) <sup>b</sup>	4.3%	73.6%	22.0% <sup>a</sup>

a为  $P < 0.05$ , b为  $P < 0.01$ , 与 iv ~ Ⅲ级相比。

可能决定了冠心病的遗传易感性。近期研究认为, 载脂蛋白 E 是决定心血管发病危险性的有效参数, ε4 等位基因是独立于传统的冠心病危险因子以外的一个有显著意义的遗传危险因子, 这可能是通过其较低的血载脂蛋白 E 水平而产生的作用。有定量分析提示根据冠状动脉造影确诊的冠心病严重程度与 ε4 等位基因呈显著正相关<sup>[2]</sup>, 载脂蛋白 E 不同基因型可能通过作用于血脂代谢而影响冠心病的发病。ε4 等位基因的“升 TC”作用和 ε2 等位基因的“降 TC”作用十分显著, 目前尚未发现其他任何载脂蛋白的等位基因能如此明显地影响血脂水平。本研究中, ε4 等位基因具有较高的 TC 和 LDLC 水平, 并发现对照组高脂血症和非高脂血症 ε4 等位基因频率存在差异, 高脂血症 C4 频率增高, 说明载脂蛋白 E 基因变异反映了血脂和脂蛋白的一种遗传变异。在正常血脂水平两组间的比较表明, 冠心病组 ε4 等位基因和 ε4/3 基因型频率明显增高, 而对照组则有较高的 ε3 等位基因和 ε3/3 基因型频率。在高脂血症水平两组间则未发现载脂蛋白 E 基因型和等位基因型频率的任何差异。因此可以说明, 在有血脂因素混杂时, 由于载脂蛋白 E 基因多态性对血脂水平有一定的影响, 大大抵消了它对冠心病发生的独立作用。对二者直接关系的分析产生混杂影响而进行分层分析时, 由于剔除了血脂因素的混

杂影响, 并在组间平衡其他混杂因素, 可以得到较为令人信服的结论: 载脂蛋白 E 基因多态性不仅对血脂、脂蛋白代谢具有不同影响, 而且与冠心病的发生有直接的相关关系, 即载脂蛋白 E 的基因变异是冠心病发生遗传方面重要的危险因素。

本研究对载脂蛋白 E 基因变异与冠心病患者的心功能进行了相关性分析。心功能不良的冠心病患者 ε4/3 基因型和 ε4 等位基因频率明显增高, 而 ε3/3 基因型频率较低, 说明载脂蛋白 E 基因变异不仅与冠心病的发生相关, 还可能影响此类患者的预后。ε4/3 基因型和 ε4 等位基因是冠心病发生的重要遗传易患因素, 并可能与冠心病患者心脏功能低下或心脏事件的发生有关; ε3/3 基因型和 ε3 等位基因可视为冠心病发生的保护因素。当然, 此结论尚需要进一步的研究支持, 即不同人群、大样本量和周密的设计实施来证实。

#### [参考文献]

- [1] Richard P, Thomas G, De Zulueta MP, et al. Common and rare genotypes of human apolipoprotein E determined by specific restriction profiles of polymerase chain reaction amplified DNA [J]. *Clin Chem*, 1994, 40 (1): 24-29
- [2] 袁肇凯, 黄献平, 谭光波, 等. 冠心病血瘀证 ApoE 基因多态性的检测分析 [J]. *北京中医药大学学报*, 2008, 12(10): 830-834 (此文编辑 文玉珊)