

中国人群 ApoB EcoRI 基因位点多态性与冠心病关联性的 Meta 分析

陈业达, 赵翔, 谭艺青, 饶绍奇

(广东医学院医学系统生物学研究所与公共卫生学院, 广东省东莞市 523808)

[关键词] 冠心病; 载脂蛋白 B; 多态性; Meta 分析

[摘要] **目的** 对中国人群载脂蛋白 B(ApoB)EcoRI 基因多态性与冠心病相关性的研究进行 Meta 分析。**方法** 应用哈代-温伯格遗传平衡检验对入选文献的基因型进行遗传平衡性检验, 根据异质性检验结果选用固定或随机效应模型, 采用 Begg's 秩相关法和 Egger's 线性回归法对发表偏倚进行量化检测, 应用 stata 12.0 软件进行 Meta 分析。**结果** 该研究共纳入 10 篇文献, 得到 1 418 例冠心病患者和 1 418 例对照, 纳入文献无明显发表偏倚。E⁺ vs E⁻ 等位基因的合并统计量 OR(95% CI) 为 1.29(1.04 ~ 1.60), E⁺E⁺ vs E⁺E⁻ + E⁻E⁻ 基因型的合并统计量 OR(95% CI) 为 1.28(1.02 ~ 1.61), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 在中国人群中, ApoB EcoRI 基因位点是冠心病的一个重要的易感位点。

[中图分类号] R18

[文献标识码] A

A Meta-analysis of the Association ApoB EcoRI Polymorphism and Coronary Heart Disease in Chinese Population

CHEN Ye-Da, ZHAO Xiang, TAN Yi-Qing, and RAO Shao-Qi

(Institute for Medical Systems Biology and School of Public Health, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease; Apolipoprotein B; Polymorphism; Meta-analysis

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the association of apolipoprotein B (ApoB) EcoRI polymorphisms with coronary heart disease (CHD) in Chinese population by using a meta-analysis. **Methods** Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) test was used to check genetic equilibrium among genotypes for the selected articles. A fixed or random effect model was selected based on a heterogeneity test. Publication bias was quantified and tested with Begg's rank correlation method and/or Egger's linear regression. This meta-analysis was conducted by using Stata 12.0 software. **Results** Ten reports that met the inclusion criteria were utilized for this meta-analysis. The results of meta-analysis indicated that the pooled OR(95% CI) of E⁺ vs E⁻ was 1.29 (1.04 ~ 1.60), and $P < 0.05$, the pooled OR(95% CI) of E⁺E⁺ vs E⁺E⁻ + E⁻E⁻ was 1.28 (1.02 ~ 1.61), and $P < 0.05$. **Conclusion** In Chinese population, ApoB XbaI locus is an important susceptibility site for CHD.

冠心病(coronary heart disease, CHD)属于多因子复杂性疾病,即多个易感基因共同参与致病的过程^[1],其病因及发病机制复杂,常涉及血脂调节的异常。载脂蛋白 B(apolipoprotein, ApoB)是调节脂质水平的一种多态性蛋白,其参与脂蛋白的转化与

代谢过程^[2]。有研究^[2-3]表明 ApoB EcoRI 位点与冠心病存在一定的关联, E⁻ 等位基因是冠心病发病的易感基因。但也有部分研究^[4]表明 ApoB EcoRI 位点与冠心病无关联。由于不同种族、地区的冠心病患者在遗传和表型上都存在异质性,研究结论也不

[收稿日期] 2015-04-21

[修回日期] 2015-06-30

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31071166, 81373085); 广东省科技计划攻关项目(2009A030301004); 东莞市科技重点项目(2011108101015)

[作者简介] 陈业达, 硕士研究生, 研究方向为冠心病遗传流行病学, E-mail 为 1037701930@qq.com。赵翔, 硕士研究生, 研究方向为冠心病生物信息学。通讯作者饶绍奇, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病遗传统计与生物信息学, E-mail 为 raoshaoq@gdmc.edu.cn。

尽相同。为了进一步明确在中国人群中 ApoB EcoRI 位点多态性和冠心病间的关系,本文运用循证医学的基本原理与方法,首次在大样本的条件下对已发表的有关中国人群 ApoB EcoRI 基因多态性与冠心病发病风险相关的 10 个独立的群体关联研究进行 Meta 分析,系统性地评价了该位点在中国人群中的冠心病易感风险,预期为中国人群冠心病的早期预防和诊断提供可靠的分子标记。

1 资料与方法

1.1 资料来源

对中文数据库(CNKI、万方、维普)及外文数据库(PubMed)进行检索,搜集截止至 2015 年 1 月以前发表的有关于 ApoB 基因多态性与冠心病易感性的相关文献及博硕士学位论文,并对各纳入的文献及有关综述研究文献中的有关参考文献进行追溯,中英文检索关键词有:载脂蛋白 B (apolipoproteins B、ApoB)、多态性(polymorphisms)和冠心病(coronary heart disease, CHD)。

1.2 文献纳入标准和排除标准

纳入标准:①冠心病诊断均符合 1979 年 WHO 诊断标准或经冠状动脉造影检查证实一支冠状动脉狭窄 $\geq 50\%$;②纳入文献中均能提供病例组 and 对照组间基因型及等位基因型的分布差异的信息,以及 OR 值及其 95% CI;③研究类型为病例-对照研究;④研究人群为中国人群。

排除标准:①不符合纳入标准的文献;②数据不完整或有误且无法修正的文献;③设计不完善且质量差的文献;④综述性文献(相关领域的研究进展、综述、评述等非原创性研究);⑤使用哈代-温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)定律检验纳入研究的基因型分布是否具有代表性,代表性不足的文献予以排除。

1.3 数据提取

由两名评价者按照纽卡斯尔-渥太华量表(the Newcastle-Ottawa Scale, NOS)独立评价纳入随机对照研究的质量,并提取有效数据,提取的数据包括文献的作者、发表时间、病例-对照研究中各基因型数量。不一致的地方由第三位评价者介入并通过讨论达成一致。

1.4 统计分析

将文献中提取的基因型频率数据进行 HWE 检验。应用 Stata 12.0 计算效应变量 OR 值及 95%

CI,并得出森林图。采用基于 C^2 分布的 Q 检验统计量对各纳入文献的结果进行异质性检验^[5],并结合 P 值的结果进行判断,若 P 值大于或等于 0.1,则认为不存在异质性;若 P 值小于 0.1,则认为存在异质性。同时结合 I^2 值是否大于 50% 来定量判断文献的异质性,若 I^2 大于 50%,则可认为各研究结果间的异质性较大。反之,若 I^2 小于或等于 50%,则可认为各研究结果间无明显异质性。当无统计学意义时,按照固定效应模型进行分析;反之,有统计学意义时则按照随机效应模型来进行分析。应用相应的模型计算得到合并的 OR 值及其 95% CI,并对此 OR 值进行 z 检验,判断其是否具有统计学意义。采用 Begg's 法和 Egger's 法检验来分析发表偏倚情况,取检验水准 $\alpha = 0.05$,若 $P < 0.05$ 则可认为有发表偏倚,否则不存在发表偏倚。

2 结果

2.1 文献一般特征

共 13 篇文献符合条件纳入研究。经阅读文献筛选剔除 1 篇样本资料重复的文献,采用 HWE 遗传平衡定律对剩余的 12 篇文献进行检验,取多重检验校正水准 $\alpha = 0.002 (0.05/12 \approx 0.004)$,有 2 篇文献不符合条件予以剔除。最终入选 10 篇文献,累积样本量为冠心病患者 1 418 例和健康对照 1 418 例(表 1)。

2.2 异质性评估

异质性检验结果显示,ApoB EcoRI 基因位点多态性 Q 检验统计量对应 P 值均大于 0.1。在等位遗传模型(E^+ vs E^-)下,异质性检验 $c^2 = 9.11$, $df = 9$, $P = 0.427$, $I^2 = 1.20\%$,合并效应量检验 $z = 2.27$, $P = 0.023$,根据 $\alpha = 0.1$ 的检验水准,各研究结果间无统计学意义,认为不存在异质性。在显性遗传模型(E^+E^+ vs $E^+E^- + E^-E^-$)下,异质性检验 $c^2 = 7.94$, $df = 9$, $P = 0.54$, $I^2 = 0.00\%$,合并效应量检验 $z = 2.12$, $P = 0.034$,根据 $\alpha = 0.1$ 的检验水准,各研究结果间无统计学意义,认为不存在异质性。

2.3 数据合并分析

根据异质性检验结果, E^+ vs E^- 和 E^+E^+ vs $E^+E^- + E^-E^-$ 采用固定效应模型合并数据计算合并 OR 值。图 1 为 E^+ vs E^- 的森林图,结果显示合并后 OR(95% CI)为 1.29(1.04 ~ 1.60);图 2 为 E^+E^+ vs $E^+E^- + E^-E^-$ 的森林图,合并后 OR(95% CI)为 1.28(1.02 ~ 1.61)。以上结果表明,ApoB

EcoRI 的 E^- 等位基因是冠心病的风险等位基因。易感性。

相对于 E^+ 等位基因, E^- 等位基因能增加冠心病的

表 1. 纳入文献的 ApoB EcoRI 基因型分布

Table 1. ApoB EcoRI genotypes distribution of selected literatures

作者	时间	病例数	对照数	CHD 病例组			健康对照组			HWE 健康 对照组 P 值
				E^+E^+	E^+E^-	E^-E^-	E^+E^+	E^+E^-	E^-E^-	
Saha, et al ^[6]	1992	139	154	117	21	1	133	20	1	0.7946
Pan, et al ^[7]	1995	148	153	135	13	0	138	14	1	0.3426
李飞雪, 等 ^[8]	1997	90	80	78	10	2	76	4	0	0.8186
苏上贵, 等 ^[9]	2002	55	95	44	11	0	89	6	0	0.7506
鄢盛恺, 等 ^[10]	2002	137	120	120	16	1	108	11	1	0.2483
张岸平, 等 ^[11]	2004	97	90	89	8	0	82	7	1	0.0855
Zhao, et al ^[12]	2007	501	489	445	53	3	440	49	0	0.2435
汤丽苑, 等 ^[13]	2007	26	60	24	1	1	56	4	0	0.7894
黄刚, 等 ^[14]	2011	204	132	153	50	1	105	27	0	0.1901
李顺辉, 等 ^[15]	2013	21	45	18	3	0	42	3	0	0.8171

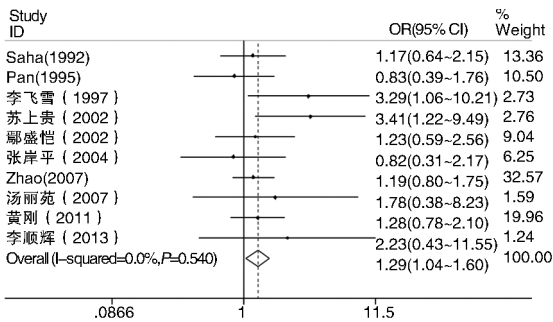


图 1. 等位基因 E^+ vs E^- 与冠心病关联的森林图

Figure 1. Forest plot of the association between CHD and EcoRI for E^+ vs. E^- allele

表偏倚无统计学意义。基因型 E^+E^+ vs $E^+E^- + E^-E^-$ 比对, 图 4 显示漏斗图无明显不对称, 采用 Begg's 检验和 Egger's 检验结果显示, 偏倚系数 $t = 1.47, P = 0.179$, 认为发表偏倚无统计学意义, 说明研究结果较为稳健。

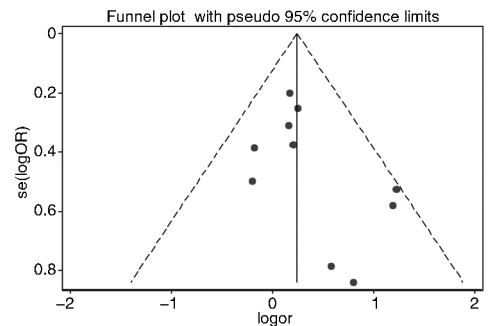


图 3. 等位基因 E^+ vs E^- 与冠心病关联的漏斗图

Figure 3. Funnel plot of the association between CHD and EcoRI for E^+ vs E^- allele

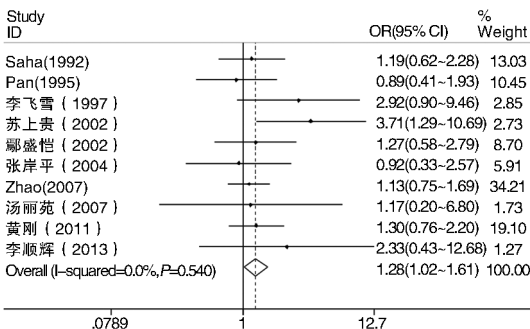


图 2. 基因型 E^+E^+ vs $E^+E^- + E^-E^-$ 与冠心病关联的森林图

Figure 2. Forest plot of the association between CHD and EcoRI for E^+E^+ vs $E^+E^- + E^-E^-$ genotype

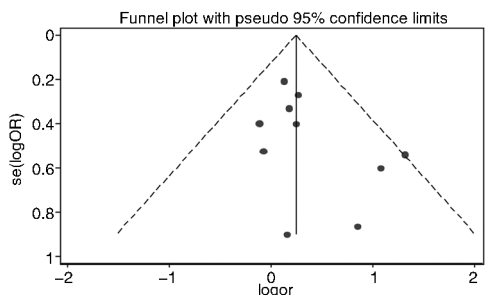


图 4. 基因型 E^+E^+ vs $E^+E^- + E^-E^-$ 与冠心病关联的漏斗图

Figure 4. Funnel plot of the association between CHD and EcoRI for E^+E^+ vs $E^+E^- + E^-E^-$ genotype

2.4 发表偏倚评估

等位基因 E^+ vs E^- 比对, 漏斗图见图 3, 散点分布未见明显不对称, 采用 Begg's 检验和 Egger's 检验结果见表 2, 偏倚系数 $t = 1.49, P = 0.176$, 认为发

表 2. 发表偏倚 Begg's 和 Egger's 评估

Table 2. Begg's and Egger's test of publication bias

遗传模型	Begg's 检验		Egger's 检验	
	z 值	P 值	t 值	P 值
E ⁺ vs E ⁻	1.25	0.210	1.49	0.176
E ⁺ E ⁺ vs E ⁺ E ⁻ + E ⁻ E ⁻	1.07	0.283	1.47	0.179

2.5 敏感性分析

通过删除单个研究来考察合并效应量的变化,每次将一个研究删除后,分别进行新的 Meta 分析,将得到的合并效应量 OR 值与总的效应量相比较,查看结果有无变化。结果显示在等位基因比较中,合并 OR 值在均在总合并效应量 95% 可信区间 (1.036 ~ 1.602) 内。在基因型分析中,合并 OR 值在均在总合并效应量 95% 可信区间 (1.018 ~ 1.614) 内,敏感性分析表明,Meta 分析结果稳定性良好。

3 讨论

近年来,关于 ApoB EcoRI (rs1042031) 位点多态性与冠心病关联的研究样本量较小,病例组为 21 ~ 501 例,对照组为 45 ~ 489 例。小样本的研究往往检验效能不高,且常出现研究结果不一致的情况,为避免此种情况,本文采用 Meta 分析方法,综合多个未取得一致结论的研究,在大样本的条件下进行统计分析。本文通过对 10 篇文献累计 1 418 个病例和 1 418 个健康对照的 Meta 分析显示,在中国人群中,ApoB EcoRI 基因多态性与冠心病之间存在关联性,与等位基因 E⁺ 比较,携带等位基因 E⁻ 的人群发病风险增加。与 E⁺E⁺ 基因型人群相比,E⁺E⁻ + E⁻E⁻ 人群的发病风险增加。Sharma 等^[16] 研究认为 ApoB EcoRI 位点多态性与冠心病的发病密切相关,与本研究结果一致。而有研究^[17-18] 认为 ApoB EcoRI 位点多态性不会增加冠心病发病的风险。

ApoB 是低密度脂蛋白 (LDL) 的蛋白质主要成分,并且作为 LDL 受体的配基,在吞噬脂蛋白粒子时,由 LDL 受体识别,发挥转运内源性胆固醇的功能,以维持体内血胆固醇平衡。ApoB 基因对 LDL 及极低密度脂蛋白 (VLDL) 的生成、运输和从血浆中被清除、调节血中胆固醇的浓度起关键作用^[19-20]。EcoRI 突变是 ApoB 基因常见突变位点,可以增加冠状动脉粥样硬化的易感性^[21-22]。EcoRI 位点位于 ApoB 基因的第 29 号外显子,编码 4154 位谷氨酸的密码子 GAA 突变为 AAA,使原有的 EcoRI

酶切位点消失,而产生 E⁻ 等位基因,并且 4 154 位密码子所编码的谷氨酸被赖氨酸替代。Turner 等^[23] 研究表明基因突变能使 ApoB 蛋白构象发生变化,从而减弱受体与 LDL 结合的能力而影响 LDL 的分解代谢率,引起 LDL 清除障碍,使 LDL 在血浆中蓄积,导致体内血脂水平升高,进而促进了动脉粥样硬化的发生发展。因此,本 Meta 分析的结果在生物学机制上也得到了合理的解释。

目前对于 ApoB EcoRI 位点多态性与冠心病的关联研究多为小样本的研究,得出的结论可靠性欠佳。本研究通过 Meta 分析综合多个研究结果进行综合评价和定量分析,能增加统计学检验效能,得到更可靠的结论。关于 ApoB EcoRI 的多态性研究发现,不同地区、人群中的 E⁻ 等位基因频率分布有一定差异,斯里兰卡人为 0.031^[24],欧洲白种人为 0.15 ~ 0.198^[25],高加索人为 0.207^[22]。为了消除不同地区、人群等位基因频率分布差异的影响,本研究将人群限定于中国人群,减少了地区、人群差异造成的偏倚。同时,为了使纳入的文献具有代表性,我们把对照组是否符合 HWE 平衡定律作为评价各文献质量的一个重要指标,并且校正 HWE 平衡的检验水准,符合 HWE 平衡的研究予以纳入,代表性不足的予以排除。根据纳入排除标准,共纳入了 10 篇病例-对照研究的文献。对纳入的文献进行异质性检验,得到的 P 值大于 0.05, I² 也远小于 50%,提示研究间无异质性。发表偏倚是影响 Meta 分析结果可靠性与真实性的重要因素,本研究使用量化检测的方法 (Begg's 秩相关法和 Egger's 线性回归法) 对发表偏倚进行评估,结果显示 Begg's 和 Egger's 检验的 P 值均大于 0.05,提示无明显发表偏倚,Meta 分析结果稳健。

该研究存在一定的局限性:纳入部分文献中单个研究中的样本量偏小;检索的文献全为已发表的文献,尚未发表的文献未纳入研究;本研究仅研究了单个位点与冠心病的关联性,忽略了多基因多位点的交互作用及其与环境因素的交互作用与冠心病的关系;在本研究中,由于在原始文献中缺乏协变量的数据 (如 LDL 等),我们尚未考虑这些协变量对 meta 分析结果产生的影响,在以后的研究中可以考虑协变量及环境因素对冠心病的影响;研究效能有限,需要扩大人群规模来进一步揭示 ApoB 基因 EcoRI 位点多态性与冠心病的关联性。

[参考文献]

[1] Wang Q. Advances in the genetic basis of coronary artery

- disease [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2005, 7(3): 235-241.
- [2] Cruz-Bautista I, Mehta R, Cabiedes J, et al. Determinants of VLDL composition and apo B-containing particles in familial combined hyperlipidemia [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 438: 160-165.
- [3] Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG, Gerdes LU, et al. Variation of apolipoprotein B gene is associated with myocardial infarction and lipoprotein levels in Danes [J]. *Atherosclerosis*, 1991, 89(1): 69-81.
- [4] Peacock R, Dunning A, Hamsten A, et al. Apolipoprotein B gene polymorphisms, lipoproteins and coronary atherosclerosis: a study of young myocardial infarction survivors and healthy population-based individuals [J]. *Atherosclerosis*, 1992, 92(2-3): 151-164.
- [5] Rothwell PM, Robertson G. Meta-analyses of randomised controlled trials [J]. *Lancet*, 1997, 350(9085): 1181-182.
- [6] Saha N, Tong MC, Tay JS, et al. DNA polymorphisms of the apolipoprotein B gene in Chinese coronary artery disease patients [J]. *Clinical genetics*, 1992, 42(4): 164.
- [7] Pan J P, Chiang A N, Tai J J, et al. Restriction fragment length polymorphisms of apolipoprotein B gene in Chinese population with coronary heart disease [J]. *Clinical Chemistry*, 1995, 41(3): 424.
- [8] 李飞雪, 黄体钢, 李正言, 等. 载脂蛋白 B 基因多态性与血脂代谢及冠心病关系的研究 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 1997, (04): 1-5.
- [9] 苏上贵. 广西地区壮、汉两族人群载脂蛋白 B 基因多态性研究 [D]. 广西医科大学, 2002, 1-40.
- [10] 鄢盛恺. 汉族人载脂蛋白 B 基因 EcoRI、MspI 多态性和 3 端可变数目串联重复序列与冠心病的关系研究 [D]. 中国协和医科大学, 2002, 1-106.
- [11] 张岸平, 宁树成, 武守山, 等. 载脂蛋白 B 基因结构变异与冠心病和血浆脂质关联程度的研究 [J]. *中国心血管病研究杂志*, 2004, 2(6): 475-477.
- [12] Zhao WY, Huang JF, Wang LY, et al. Association of the apolipoprotein B gene polymorphisms with essential hypertension in Northern Chinese Han population [J]. *Biomed Environ Sci*, 2007, 20(3): 260-264.
- [13] 汤丽苑, 王小同, 俞康, 等. 载脂蛋白 B、E 基因多态性与浙南几种常见疾病的相关性分析 [J]. *温州医学院学报*, 2007, 37(01): 14-17.
- [14] 黄刚, 谢印军. 载脂蛋白 B 基因 EcoRI、XbaI 及载脂蛋白 AI 基因 -75 bp、+83 bp 位点多态性与冠心病的关系 [Z]. 2011, 28: 132-135.
- [15] 李顺辉, 熊强珍. 载脂蛋白 B、E 基因多态性与老年高血压病和冠心病相关性分析 [J]. *中国医疗前沿*, 2013, 8(18): 11-12.
- [16] Sharma R, Mahajan M, Singh B, et al. Role of the APOB Gene Polymorphism (c.12669G>A, p. Gln4154Lys) in Coronary Artery Disease in the Indian Punjabi Population [J]. *Balkan J Med Genet*, 2011, 14(2): 35-40.
- [17] Duman BS, Türko? lu ?, Akpınar B, et al. Genetic variations of the apolipoprotein B gene in Turkish patients with coronary artery disease [J]. *Annals of Human Biology*, 2005, 32(5): 620-629.
- [18] Biswas S, Ghoshal P K, Halder B, et al. Apolipoproteins AI/B/E gene polymorphism and their plasma levels in patients with coronary artery disease in a tertiary care-center of Eastern India [J]. *Indian Heart J*, 2013, 65(6): 658-665.
- [19] Pencina M J, D'Agostino R B, Zdrojewski T, et al. Apolipoprotein B improves risk assessment of future coronary heart disease in the Framingham Heart Study beyond LDL-C and non-HDL-C [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2015, 22(10): 1321-327.
- [20] Paulweber B, Friedl W, Krempler F, et al. Association of DNA polymorphism at the apolipoprotein B gene locus with coronary heart disease and serum very low density lipoprotein levels [J]. *Arteriosclerosis*, 1990, 10(1): 17-24.
- [21] Myant N B, Gallagher J, Barbir M, et al. Restriction fragment length polymorphisms in the apo B gene in relation to coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis*, 1989, 77(2-3): 193.
- [22] Genest JJ, Ordovas JM, Mcnamara JR, et al. DNA polymorphisms of the apolipoprotein B gene in patients with premature coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis*, 1990, 82(1-2): 7-17.
- [23] Turner P R, Talmud P J, Visvikis S, et al. DNA polymorphisms of the apolipoprotein B gene are associated with altered plasma lipoprotein concentrations but not with perceived risk of cardiovascular disease: European Atherosclerosis Research Study [J]. *Atherosclerosis*, 1995, 116(2): 221-234.
- [24] Mendis S, Shepherd J, Packard CJ, et al. Restriction fragment length polymorphisms in the Apo B gene in relation to coronary heart disease in a southern Asian population [J]. *Clin Chim Acta*, 1991, 196(2-3): 107-117.
- [25] Corbo RM, Scacchi R, Mureddu L, et al. Apolipoprotein B, apolipoprotein E, and angiotensin-converting enzyme polymorphisms in 2 Italian populations at different risk for coronary artery disease and comparison of allele frequencies among European populations [J]. *Hum Biol*, 1999, 71(6): 933-945.