

老年人血脂水平与载脂蛋白 E 等位基因的关系

郭刚 陈涛 杨洁 牛文彦 解用虹

(天津医科大学生物化学教研室, 天津 300070)

Alleles of Apolipoprotein E and Their Relation to Serum Lipid Level in the Aged

GUO Gang, CHEN Tao, YANG Jie, NIU Wen-Yan and XIE Yong-Hong

(Department of Biochemistry, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT

Aim To analyse the internal relation between the serum lipid levels and apolipoprotein E genotypes in the aged.

Methods The serum lipid levels (TC, TG, LDLC and HDLC) and the apolipoprotein E (apo E) genotypes in 106 the aged were determined with enzymology and PCR-RFLP respectively.

Results There were three alleles of apo E and five different genotypes in 106 the aged. The aged with ϵ_1 allele showed higher TC, LDLC and lower TG levels as well as the aged with ϵ_2 allele showed lower LDLC and higher TG levels than the aged with ϵ_3 allele.

Conclusion The alleles of apo E have a certain effect on the serum lipid levels in the aged, but the effect may not be as obvious and strong in the aged as in adults.

KEY WORDS Apolipoprotein E; Aged; Allele; Serum lipid

摘要 为了解老年人血脂水平与载脂蛋白 E 基因多态性的关系,并探讨载脂蛋白 E 等位基因对老年人血脂水平的内在影响,利用 PCR-RFLP 法测定了载脂蛋白 E 基因型,并用酶学方法对其血脂水平进行了测定。

天津市自然科学基金资助课题(973608611)

定。结果发现存在五种不同基因型;与携有 ϵ_3 等位基因的人群相比,携有 ϵ_1 等位基因的人群倾向具有较高的总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平以及较低的甘油三酯水平,而携有 ϵ_2 等位基因的人群则有较低的低密度脂蛋白胆固醇水平以及较高的甘油三酯水平,但无统计学差异。提示载脂蛋白 E 等位基因影响老年人的血脂水平,但可能不如成年人显著和明显。

关键词 载脂蛋白 E; 基因; 老年人; 血脂

载脂蛋白 E (apolipoprotein E) 是人血浆中主要的载脂蛋白成分之一,有明显的遗传多态性,人群中主要存在 3 种等位基因和 6 种不同的基因型。国内外许多有关载脂蛋白 E 等位基因的研究绝大多数是在青壮年和成年人群中进行的,很少有关于老年人血脂水平与载脂蛋白 E 等位基因关系的资料。老年人作为一个特殊年龄段的人群在机体代谢方面有许多与成年人不完全相同的特点。本文测定了 106 名天津市老年人的载脂蛋白 E 基因型和血脂水平,初步分析和探讨老年人载脂蛋白 E 等位基因对血脂水平的影响。

1 资料和方法

1.1 研究对象

106 名被检测对象均为 60 岁以上的老年志愿者,其中男性 64 名,女性 42 名,年龄 60~88 岁(平均 67.1 ± 5.3 岁),绝大多数为高校离、退休干部和教职员工,否认患有常见的影响血脂水平的内分泌或代谢性疾病。

1.2 样品采集

要求被检测者采血前一日进非高脂一般膳食,空腹过夜。清晨肘静脉采血,血清用于血脂测定,EDTA 抗凝全血用于基因组 DNA 的提取和载脂蛋白 E 基因型的分析。

1.3 血脂测定

总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG) 和高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 的测定均采用酶学测定方法, 使用北京中生生物工程高技术公司提供的测定试剂盒。低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 依 Friedewald^[1] 公式计算获得。

1.4 基因型分析

载脂蛋白 E 的基因型测定主要依 Hixson 方法^[2] 修改进行。首先用 TKM 法^[3] 提取人基因组 DNA, 利用上游引物 5'-TAAGCTTGGCACGGCTGTCCAAGGA-3' 和下游引物 5'-ACAGAATTCGCCCCGGCC TGGTACAC-3' 常规特异性扩增载脂蛋白 E 基因外显子中含多态性位点的 DNA 片段, 扩增产物长度为 244 bp。反应体系 25 μ L, 首先在 95°C 预变性 10 min, 继之按 95°C 变性 \rightarrow 62°C 退火 \rightarrow 72°C 延伸各 1 min 进行 30 个循环, 最后在 72°C 延伸 7 min。扩增产物用 Hha I 限制性内切酶 2 μ L (5 u) 37°C 反应 6~8 min。酶切产物进

行浓度为 12%、交联度为 5% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳, 用 pBR322/Mst I 为参考标准, 电泳凝胶用硝酸银显色。依据硝酸银染色凝胶电泳图谱, 主要是 91 bp、81 bp、72 bp 和 48 bp 长度 DNA 片段的有无和组合, 分析和确定载脂蛋白 E 的基因型。

1.5 统计学处理

数据均进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 基因型分布

结果如表 1 (Table 1), 表中同时附有 Wang 等^[4] 和解用红^[5] 相关数据以资比较。三组相关数据虽然存在着一定的差别, 但也具备明显的共同特征: ① *E*₃/3 基因型分布最高, 均超过 60%, 反映在等位基因频率上均超过 0.77; ② 含 ϵ_3 等位基因的杂合子分布居中, 占 18%~35%; ③ *E*₄/4、*E*₂/2 和 *E*₄/2 基因型分布最低, 三者之和也不超过 6%。

Table 1. Distribution of genotypes and frequency of ApoE allele in 106 the aged and compared with reference (%).

Groups	n	Distribution of genotypes (%)						Frequency of alleles (%)		
		<i>E</i> ₂ /3	<i>E</i> ₂ /3	<i>E</i> ₃ /3	<i>E</i> ₃ /4	<i>E</i> ₄ /4	<i>E</i> ₄ /2	ϵ_2	ϵ_3	ϵ_4
GUO	106	2.83	21.70	64.15	9.43	0	1.89	14.63	79.71	5.66
Wang ^[4]	95	0	9.47	78.96	9.47	1.05	1.05	5.30	88.30	6.40
Xie ^[4]	5650	0.74	12.06	60.64	21.79	2.87	1.90	7.70	77.60	14.70

2.2 基因型与血脂水平

根据所携带等位基因不同将受检者分为三组: ① 携带 ϵ_4 等位基因者, 相应基因型为 *E*₄/4 和 *E*₄/3, 共 10 人; ② 仅携带 ϵ_3 等位基因者, 即 ϵ_3 的纯合子, 相应基因型为 *E*₃/3, 共 68 人; ③ 携带 ϵ_2 等位基因者, 相应基因型为 *E*₂/2 和 *E*₃/2, 共 26 人; 此外有两人基因型为 *E*₄/2, 未予分组。表 2 (Table 2) 可见, ϵ_4 组 TC 和 LDLC 水平高于 ϵ_3 和 ϵ_2 组, 而 TG 水平低于 ϵ_3 和 ϵ_2 组, 但无统计学差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

老年人作为一个特殊的群体在许多代谢方

Table 2. Comparison of the serum lipid levels between the aged with different Apo E alleles ($\bar{x} \pm s$, mmol/L).

Allele	n	TC	TG	LDLC	HDLC
ϵ_4	10	6.04 \pm 1.23	1.71 \pm 0.77	4.00 \pm 0.93	1.30 \pm 0.31
ϵ_3	68	5.92 \pm 1.23	2.05 \pm 1.57	3.99 \pm 0.89	1.41 \pm 0.31
ϵ_2	26	6.03 \pm 1.28	2.12 \pm 1.00	3.83 \pm 1.13	1.29 \pm 0.26

面有其自身的特点, 血脂异常和与之相关的心脑血管疾病是老年人的常见病和主要的死亡原因, 研究和探讨老年人血脂水平与载脂蛋白 E 等位基因的关系对于有效地防治老年人的血脂异常和相关疾病无疑具有理论和应用意义。Davignon 等^[6] 曾报道过 236 名 80 岁以上加拿

大长寿老人的载脂蛋白 E 表型分布,并与 102 名对照组行了比较,他们发现长寿组比对照组有较低的 ϵ_4 等位基因频率(0.087/0.152, $P < 0.025$),但未报道等位基因与血脂水平的关系。

我们对 106 名老年志愿者载脂蛋白 E 等位基因进行研究发现,三种等位基因中以 ϵ_3 等位基因频率为最高,反应在基因型上以纯合子 $E3/3$ 分布最高,含 ϵ_3 的杂合子居中, $E4/4$ 、 $E2/2$ 和 $E4/2$ 分布最低。而同时进行血脂测定,显示携带有 ϵ_4 等位基因的人群具有较高的 TC 和 LDLC 水平以及较低的 TG 水平;而携带有 ϵ_2 等位基因的人群则恰恰相反,这与文献[7~9]报道一致。我们推测,源于不同等位基因的三种载脂蛋白 E 异构体具有不同的受体结合活性,而受体介导途径是脂蛋白代谢的最主要途径。由于载脂蛋白 E 既能和存在于肝脏的载脂蛋白 E 受体(又称乳糜微粒残基受体)结合,又能和遍及全身组织的载脂蛋白 BE 受体(又称 LDL 受体)结合,所以它可通过多种代谢途径参于机体的脂质代谢调节,成为影响机体血脂水平的重要内在因素。这种差别一方面可以影响具有不同异构体的脂蛋白代谢的速率,另一方面也可以影响机体对膳食脂质特别是胆固醇的摄取和吸收^[7,10]。例如 III 型高脂蛋白血症患者几乎均为 ϵ_2 的纯合子,迄今已报告的载脂蛋白 E 基因变异个体多具有血脂异常^[5]。

本文老年人血脂水平与载脂蛋白 E 基因型的关系显示一些与成年人的不同:一是趋势不如一般成年人组完整,如具有 ϵ_2 等位基因的人群平均胆固醇水平高于具有 ϵ_3 等位基因的人群;二是不同组间的差别不如一般成年人组明显,缺乏统计学显著性差异。分析其原因有两方面的可能:一是老年人血脂自身的特点,另一种可能是实验设计和检测方法的偏差,限于资料目前尚不能做出肯定的结论。本文测定的 106 名老人,入选条件较松,仅根据本人口述排除明显影响血脂水平的常见内分泌和代谢性疾病,

缺乏必要的客观检测指标;由于被检测者年事已高,部分人不同程度得患有一些疾病,检测前服用治疗药品或保健品,有可能影响血脂水平;本组老年人多为高校离、退休干部和教职员工,文化水平较高,饮食调理较为科学和规范,膳食影响因素较小;另一重要的因素是由于受条件制约,测定人数有限,有可能使一些内在的规律未能完全显现。进一步的研究尚需科学规范地在更广泛的范围内和更多的人群中开展进行。

参考文献

- 1 李健斋. 血脂测定技术及其标准化的建议. 中华心血管病杂志, 1997, 25: 172~174.
- 2 Hixson J E, Vernier D T. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with Hha I. *J Lipid Res*, 1990, 31: 545~548.
- 3 Lahiri D K, Schnabel B. DNA isolation by a rapid method from human blood samples. *Biochemical Genetics*, 1993, 31: 321~328.
- 4 Wang KQ, He JL, Xie YH. Studies on human apolipoprotein E genetic isoform and their phenotypes among the Chinese population. *Proc CAMS and PUMC*, 1987, 2: 133~139.
- 5 解用虹. 载脂蛋白 E. 见: 王克勤(主编). 脂蛋白与动脉粥样硬化. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 137~168.
- 6 Davignon L, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis*, 1986, 8: 1~21.
- 7 Ehnholm C. Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations. *J Lipid Res*, 1986, 27: 227~235.
- 8 Utermann G. Apolipoprotein E polymorphism in health and disease. *Am Heart J*, 1987, 113: 433~440.
- 9 解用虹, 郭善一, 吴茹莲, 等. 高胆固醇血症的遗传易患因子. 中华医学杂志, 1989, 69: 585~587.
- 10 Weintraub MS. Dietary fat clearance in normal subjects is regulated by genetic variations in apolipoprotein E. *J Clin Invest*, 1987, 80: 1571~1576.

(此文 1998-07-11 收到, 1998-11-25 修回)

(此文编辑: 朱雯霞)