

载脂蛋白 C3 基因多态性与男性超重及肥胖的关系

张阳丹¹, 唐晓君¹, 唐敏², 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; 3. 重庆市九龙坡区第一人民医院检验科, 重庆市 400016; 4 深圳市人民医院临床研究中心, 广东省深圳市 518067)

[关键词] 载脂蛋白 C3 基因; 基因多态性; 肥胖

[摘要] **目的** 分析探讨载脂蛋白 C3 基因 C3175G 多态性与男性超重及肥胖的关系, 以及超重和肥胖的危险因素。**方法** 采用病例对照研究方法, 调查了重庆市某医院 338 名男性门诊病人和健康体检者, 以体质指数作为肥胖的评价指标, 获得超重及肥胖患者 184 人, 体质指数正常者(对照组)154 人, 选择健康人和肥胖患者载脂蛋白 C3(Apo C3), 检测 3175 位核苷酸 C→G 多态性, 并对其血脂水平进行比较。**结果** 该人群 CC、CG、GG 的基因型频率分布分别为 51.78%、39.94% 和 8.28%, C 和 G 等位基因频率分布分别为 71.75% 和 28.25%。超重及肥胖组 CC、CG、GG 基因型频率分别为 47.28%、44.57% 和 8.15%, 对照组分别为 57.14%、34.42% 和 8.44%; 超重及肥胖组 C 等位基因和 G 等位基因频率分别为 69.57% 和 30.43%, 对照组分别为 74.35% 和 25.65%, 其差异经检验均无统计学意义。除腰臀比及甘油三酯在对照组内 C3175G 不同基因型间差异有统计学意义外, 体重、身高、总胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白在超重及肥胖组和对照组的差异均无统计学意义($P > 0.05$); 非条件 Logistic 回归分析提示, 甘油三酯偏高是肥胖的危险因素。**结论** 载脂蛋白 C3 基因 C3175G 可能与男性超重及肥胖的发生无关。

[中图分类号] R18

[文献标识码] A

Research on Relationship Between Apolipoprotein C3 Gene C3175G Polymorphism and Overweight-Obesity in Male

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

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

[KEY WORDS] Apolipoprotein C3 Gene; Gene Polymorphism; Overweight-Obesity

[ABSTRACT] **Aim** To study the relationship between apolipoprotein C3 gene C3175G polymorphism and overweight-obesity in male, as well as the risk factors of overweight-obesity. **Methods** A total 154 normal weight subjects (control group) and 184 overweight-obese subjects(case group) were selected from one hospital in Chongqing during the period of May, 2008 to Sep, 2008. PCR-RFLP was applied to analyze the polymorphism, and logistic regression was used for the analysis of the risk factors of overweight-obesity. **Results** Genotype frequency distribution of CC, CG and GG were 51.78%, 39.94%, 8.28% respectively, C and G allele frequencies were 71.75% and 28.25%. There was no significant difference of CC genotype, CG genotype, GG genotype and C allele, G allele between case group (47.28%, 44.57%, 8.15%, 69.57%, 30.43%) and control group(57.14%, 34.42%, 8.44%, 74.35%, 25.65%). In each group, there was no significant difference for the level of age, serum total cholesterol (TC), high density lipoprotein (HDL) and low density lipoprotein (LDL) between the 2 C3175G genotypes, except waist-hip ratio (WHR), triglyceride (TG) between the 2 C3175G genotypes in control group. The logistic regression analysis showed that TG may be the risk factor of overweight-obesity. **Conclusion** The polymorphism of Apolipoprotein C3 gene C6175G may not be associated with overweight-obesity, but the persons with CC gene type are more likely to suffer from central obesity.

肥胖是指一定程度的明显超重和脂肪层过厚, 它与人类的健康有着密切的关系, 它不仅是单一的疾病, 而且可以通过机体的代谢作用, 引起全身多个

系统的异常。随着我国人民生活水平不断提高, 肥胖的发病率也在迅速增加。“中国居民 2002 年营养与健康状况调查”结果显示^[1], 全人群超重率和

[收稿日期] 2011-04-04

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

[作者简介] 张阳丹, 硕士研究生, 研究方向为慢性病流行病学。通讯作者唐晓君, 副教授, E-mail 为 tangxiaoj0726@qq.com。

肥胖率合计为 23.2%。近年来,分子生物学的迅速发展使得对肥胖相关基因的研究亦不断深入。

载脂蛋白 C3(Apo C3)是一种水溶性低分子量蛋白质,由 79 个碱基残基组成,位于人第 11 号染色体长臂 q23 区,基因长约 311 kb,有 4 个外显子,3 个内含子,与载脂蛋白 A 1、A 4 基因紧密相连,共同组成一个基因家族。它是脂蛋白脂酶的抑制剂,可抑制肝脂酶及脂蛋白脂肪酶等的活性从而影响血脂分解代谢。大量研究发现 Apo C3 基因在调节血脂水平中重要作用^[2-4]。Apo C3 基因存在多个多态性位点,其 3'端 UTR 存在一 SstI 多态位点,系 Apo C3 基因第 3 175 位核苷酸 G→C 突变(Apo C3 C3175C)而产生的一个 SstI 限制性内切酶识别序列,但这一变化未造成所编码的氨基酸序列改变^[5]。长期以来多数学者均关注其多态性与冠心病及高脂血症的关系,但与其与肥胖的关系却鲜有报道。本研究以中国汉族男性人群为研究对象,选择 Apo C3 基因第 3175 位核苷酸 C→G 突变(Apo C3 C3175G)位点,探讨其变异频率与肥胖及血脂异常的关系。

1 对象与方法

1.1 对象

来源于重庆市某两所医院 338 名男性门诊病人和健康体检者,排除高血压、糖尿病、恶性肿瘤等疾病。获得超重及肥胖患者 184 人(其中超重 139 例,占 75.5%;肥胖 45 例,占 24.5%),正常者(对照组)154 人。

1.2 现场调查

由经过培训的调查员完成,采用自行设计的调查表,详细询问其一般情况,并测量身高、体重、腰围、臀围。肥胖的划分按照 WHO(1997)标准:体质指数(BMI) = 体重(kg)/身高²(cm²)、腰臀比(WHR) = 腰围/臀围;体质指数(BMI)≥25 为超重,BMI≥30 为肥胖,即全身性肥胖)、腰臀比(WHR)≥0.90 为腹型肥胖。

1.3 血液标本的采集

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,用于基因型检测。存放于 -20℃ 备用。

1.4 血脂的测定

均采用氧化酶法,以 Beckmanlx20 全自动生化仪检测。

1.5 Apo C3 基因多态性测定

采用 QIAGEN 血液 DNA 提取试剂盒提取

DNA。Apo C3 3175 基因引物设计与合成:用 Primer Primer 5.0 软件对基因 Apo C3 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),包括基因芯片上的 Apo C3 C3175G (SacI 的酶切点 -/+) 和 Apo C3 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 μmmol/L upper primer 1 μL, 50 μmmol/L down primer 1 μL, 10 × buffer 2 μL, 2.5mmol/L MgCl₂ 2 μL, 10 mmmol/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。

酶切体系:PCR 产物 10 μL,去酶水 16 μL, 10 × buffer Scal 2 μL, 10 u/μL SacI (Fermentas # ER1137)。酶切反应条件为 37℃, 16 h。1.5% 琼脂糖凝胶电泳。

1.6 统计学分析

采用 Excel 2003 录入数据,SAS 9.03 软件包进行统计分析。定性资料使用 χ^2 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 *t* 检验,多因素分析使用 Logistic 回归分析。运用 Hardy-Weinberg 平衡检验确认研究样本的群体代表性。

2 结果

2.1 一般情况

本次研究对象共 338 人,全部为男性,CC、CG、GG 的基因型频率分布分别为 51.78%、39.94% 和 8.28%,C 和 G 等位基因频率分布分别为 71.75% 和 28.25%;以 BMI 作为肥胖的评价指标,超重及肥胖组 184 人,平均年龄 48.5 ± 4.03 岁,平均 BMI 为 28.8 ± 14.83 kg/m²;对照组 154 人,平均年龄 48.7 ± 4.03 岁,平均 BMI 为 22.7 ± 1.79 kg/m²,年龄经 *t* 检验,差异无统计学意义(*P* = 0.62)。

2.2 Apo C3 基因 C3175G 多态性基因型和等位基因频率比较

Apo C3 基因多态性扩增片段为 327 bp,酶切结果见图 1。经检验,C3175G 多态性基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律(*P* = 0.1434),说明所选样本具有人群代表性。超重及肥胖组 CC、CG、GG 基因型频率分别为 47.28%、44.57% 和 8.15%,对照组 CC、CG、GG 基因型频率分别为 57.14%、34.42% 和 8.44%,其差异无统计学意义($\chi^2 = 0.0710, P = 0.7898$);Apo C3 基因在 C3175G 位点

存在核苷酸 C→G 的变异, 超重及肥胖组 C 等位基因和 G 等位基因的频率分别为 69.57% 和 30.43%, 对照组为 74.35% 和 35.65%, 其差异经检验也无统计学意义 ($\chi^2 = 1.8941, P = 0.1687$; 表 1)。

2.3 对照与超重及肥胖组内各临床及生化特征比较
按基因型 CC 型和 CG/GG 型分类(因 GG 型例数较少, 与 CG 型合并为一组进行分析), 对照组中指标 WHR、TG 在两个基因型间的差别有统计学意义 ($P < 0.05$), 其他指标间的差异均无统计学意义(表 2)。

表 1. Apo C3 基因 C3175G 多态性基因型和等位基因频率比较

Table 1. The comparison of the genotype and allele frequency between the two groups

分 组	n	基因型						等位基因			
		CC		CG		GG		C		G	
		n	频率	n	频率	n	频率	n	频率	n	频率
超重及肥胖组	184	87	47.28%	82	44.57%	15	8.15%	256	69.57%	112	30.43%
对照组	154	88	57.14%	53	34.42%	13	8.44%	229	74.35%	79	25.65%

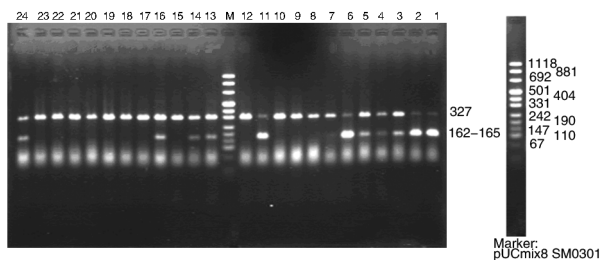


图 1. Apo C3 C3175G 酶切电泳图 7-10、12、15、17-23 为 CC 基因型, 1、2、6、11 为 GG 基因型, 其余为 CG 基因型。

2.4 超重及肥胖相关危险因素 Logistic 回归分析

以是否为超重及肥胖为因变量, 血脂、Apo C3 基因 C3175G 基因型(亚变量赋值为 CC - 00; CG + GG - 11, 其它变量按照二分类变量赋值引入模型中分析)为自变量, 进行多因素非条件 Logistic 回归分析, 以 $\alpha = 0.05$ 为显著性水准引入回归模型, 结果显示, 甘油三酯 ($P = 0.0169$) 与超重及肥胖有联系, 提示 TG 是发生超重和肥胖的危险因素(表 3)。

Figure 1. Electropherogram for Apo C3 C3175

表 2. 对照与超重及肥胖组各临床及生化特征比较

Table 2. The comparison of clinical variable between overweight-obesity group and control group

分 组	超重及肥胖组				对照组			
	CC	CG/GG	t 值	P 值	CC	CG/GG	t 值	P 值
体重(kg)	79.85 ± 12.99	79.39 ± 8.33	0.28	0.7766	65.79 ± 6.08	65.08 ± 6.28	0.72	0.4746
身高(cm)	167.64 ± 10.22	168.77 ± 5.48	-0.94	0.3476	169.06 ± 4.99	170.62 ± 6.24	-1.72	0.0871
WHR	0.96 ± 0.03	0.96 ± 0.04	-0.32	0.7457	0.92 ± 0.04	0.90 ± 0.04	2.82	0.0055
TG (mmol/L)	2.17 ± 1.32	2.20 ± 1.52	-0.14	0.8893	1.58 ± 1.11	2.03 ± 1.61	-2.06	0.0410
TC (mmol/L)	5.29 ± 1.03	5.23 ± 0.86	0.44	0.6576	5.18 ± 0.93	5.32 ± 0.778	-1.00	0.3201
HDLC (mmol/L)	1.11 ± 0.52	1.13 ± 0.41	-0.26	0.7937	1.18 ± 0.28	1.23 ± 0.38	-0.82	0.4109
LDLC (mmol/L)	3.27 ± 0.85	3.18 ± 0.81	0.68	0.4975	3.16 ± 0.81	3.14 ± 0.69	0.19	0.8479

表 3. 超重及肥胖相关危险因素 Logistic 回归分析

Table 3. Multi-factors unconditional Logistic regression analysis for risk factors of overweight and obesity

因素	β 值	Sx	χ^2	OR	(95% CI)	P 值
年龄	0.00338	0.0258	0.014	1.003	(0.95 ~ 1.06)	0.9058
TG	-0.5652	0.2366	5.7073	0.568	(0.36 ~ 0.90)	0.0169
TC	0.0981	0.3559	0.076	1.103	(0.55 ~ 2.22)	0.7829
HDLC	-0.7274	0.3755	3.7516	0.483	(0.23 ~ 1.01)	0.0528
LDLC	-0.3414	0.3545	0.9272	0.711	(0.36 ~ 1.42)	0.3356
Apo C3	-0.3556	0.2272	2.4493	1.427	(0.91 ~ 2.23)	0.1176

3 讨论

肥胖作为一种多种原因引起的疾病,其遗传易感性日益受到重视。国内外研究表明肥胖是一种独立的疾病,并且是多个慢性非传染性疾病的危险因素^[6]。Apo C3 是由 79 个氨基酸残基构成的 8.8 kDa 的糖蛋白,能通过抑制肝脏脂蛋白受体对富含 TG 脂蛋白的获取,以及抑制卵磷脂胆固醇酰基转移酶的活性等多种途径,影响脂质代谢,尤其是富含甘油三酯蛋白的代谢^[7]。大多肥胖患者同时患有高脂血症,本研究旨在探讨 Apo C3 基因 C3175G 多态性与肥胖的关系。

本研究对 338 名男性进行了 Apo C3 基因 C3175G 多态性与超重及肥胖的关系的研究,发现超重及肥胖组 CG 基因型的频率(44.57%)、CC 型和 GG 型频率(47.28% 和 8.15%) 和对照组(34.42%、57.14% 和 8.44%) 之间差异均无统计学意义;超重及肥胖组和对照组间 C 等位基因和 G 等位基因的频率差异经检验也无统计学意义。

非条件 Logistic 回归分析显示 TG 偏高是发生肥胖的危险因素。Apo C3 基因的多态性影响血脂代谢^[2], Apo C3 在富含 TG 的脂蛋白(TRL)代谢中起重要作用,其基因多态性可能对高三酰甘油血症有影响^[8],而 TG 升高,脂质代谢紊乱,可造成体内脂肪蓄积而引起肥胖,皮肤皱褶厚度及比值与血清甘油三酯(TG)升高和高密度脂蛋白胆固醇(HDLc)降低有关。同时肥胖可合并许多代谢紊乱,包括葡萄糖耐量改变、胰岛素反应不敏感、高胰岛素血症、高甘油三酯血症等^[9],有文献报道,体质指数空腹血清甘油三酯水平相关程度相对较高。

综上所述,合理均衡饮食,积极参加体育锻炼,

控制血脂和腰围、臀围,是防止肥胖的重要而有效的措施。

[参考文献]

- [1] 李立明,饶克勤,孔灵芝,等. 中国居民 2002 年营养与健康状况调查[J]. 中华流行病学杂志, 2005, 26: 478-484.
- [2] Ding Y, Wang Y, Zhu H, et al. Hypertriglyceridemia and delayed clearance of fat load in transgenic rabbits expressing human apolipoprotein CIII[J]. Transgenic Res, 2011, 20(4): 867-875.
- [3] 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.
- [4] 唐晓君,唐敏,张阳丹,等. 载脂蛋白 CIII 基因多态性与汉族男性血脂的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(7): 561-564.
- [5] 郭阳,郑东明,刘晓梅,等. 低密度脂蛋白受体基因 Nco I/ApoC-III 基因 Sac I 多态性与动脉粥样硬化脑梗死关系[J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(5): 641-644.
- [6] 朱旅云,任青娟,胡丽叶,等. 肥胖 2 型糖尿病发病相关危险因素研究[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(15): 2371-374.
- [7] 杨青如,马根山,陈忠. 载脂蛋白 C-III 基因多态性与早发冠心病的关系[J]. 实用心脑血管病杂志, 2008, 16(8): 1-4.
- [8] 周琴,罗桐秀,谭玉林,等. 载脂蛋白 C-III 研究进展[J]. 心血管病学进展, 2009, 30(5): 798-801.
- [9] 姜军作,衣运玲. 单纯性肥胖病与高脂血症[J]. 世界中西医结合杂志, 2008, 3(11): 684-686.

(此文编辑 李小玲)