

脂蛋白脂肪酶 - 447C/G 基因多态性与老年脑梗死的关系

胡晓雁¹, 肖志杰², 刘晗睿¹, 常波¹, 秦蔚¹

(1. 山西长治医学院附属和济医院神经内科, 山西省长治市 046011; 2. 中南大学湘雅二医院神经内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 脂蛋白脂肪酶; -447C/G; 基因多态性; 脑梗死; 老年

[摘要] **目的** 探讨脂蛋白脂肪酶基因 -447C/G 多态性与我国老年脑梗死的关系。**方法** 采用病例-对照研究, 对 206 例老年脑梗死患者和 203 例非脑血管病患者(对照组)采用多聚酶链反应-限制性片段长度多态性对 -447C/G 基因多态性进行分析。**结果** 脑梗死组中 CC、CG + GG 基因型和 C、G 等位基因的频率分别是 83.98%、16.02% 和 91.75%、8.25%; 对照组中 CC、CG + GG 基因型和等位基因 C、G 的频率分别是 81.77%、18.23% 和 90.89%、9.11%。-447C/G 基因型分布和等位基因频率在脑梗死组与对照组之间差异无显著性($P > 0.05$); 各基因型之间血脂、血压水平差异无显著性($P > 0.05$)。脑梗死多因素回归方程的主要危险因素包括吸烟史、糖尿病史、家族史。**结论** (1) -447C/G 基因多态性可能与老年脑梗死的发病无关。(2) -447C/G 基因多态性与老年人的血脂及血压可能无关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Relationship Between Lipoprotein Lipase - 447C/G Genepolymorphism and Cerebral Infarction in the Elderly

HU Xiao-Yan¹, XIAO Zhi-Jie², LIU Han-Rui³, CHANG Bo³, and QIN Wei³

(1. Department of Neurology, Heji Hospital Affiliated to the Changzhi Medical College, Changzhi, Shanxi 046011, China;

2. Department of Neurology, Xiangya Second Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

[KEY WORDS] Lipoprotein Lipase; -447C/G; Gene Polymorphism; Cerebral Infarction; Elderly

[ABSTRACT] **Aim** To explore the relationship between the lipoprotein lipase (LPL) -447C/G gene polymorphism and cerebral infarction in the elderly. **Methods** This was a case-control study, which enrolled 206 cases with cerebral infarction in the elderly and 203 elderly incerebrovascular disease controls. The genotype and allele frequencies of lipoprotein lipase -447C/G gene polymorphism were assayed by polymerase chain reaction-restricted fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The cerebral infarction patients were strictly diagnosed according to revise conference in the national fourth session of cerebrovascular disease. The basic document object of study was collection through questionnaire interview. **Results** The LPL -447C/G genotype and allele distribution in the cerebral infarction group was CC 83.98%, CG + GG 16.02% and C 91.75%, G 8.25% respectively. The distribution in control group was CC 81.77%, CG + GG 18.23% and C 90.89%, G 9.11% respectively. There was no significant difference in LPL -447C/G allele and genotype distribution between the cerebral infarction group and the control group ($P > 0.05$). There was no significant difference detected in blood pressure level and blood lipids level between various genotypes ($P > 0.05$). Cerebral infarction multi-factor regression equation indicated primary hazard factors included smoking history, diabetes history and family history. **Conclusions** (1) LPL -447C/G gene polymorphism is not significantly associated with cerebral infarction in elderly. (2) LPL -447C/G gene polymorphism is not significantly associated with blood lipids level, blood pressure level in elderly.

脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase, LPL)是人体脂代谢中的关键酶,其结构与功能异常可引起脂质

代谢紊乱,与动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)、高血压的发生相关联^[1],目前 LPL 基因变异与心脑血管

[收稿日期] 2011-10-01

[作者简介] 胡晓雁, 硕士, 讲师, 研究方向为血脂与动脉粥样硬化, E-mail 为 746985644@QQ.com。肖志杰, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为血脂代谢相关蛋白的基因多态性与脑卒中。通讯作者常波, 研究方向为血脂与脑血管病, E-mail 为 406216142@QQ.com。

管病的确切关系还不十分明确, 研究结果并不一致。我国目前关于 LPL - 447C/G 与脑梗死的研究较少, 且与老年脑梗死人群相关的报道还没有。本研究采用病例-对照研究, 观察汉族人群 LPL 基因 - 447C/G 多态性与老年脑梗死的相关性, 为探寻老年脑梗死的病因提供依据, 对筛选老年脑梗死易感基因, 从而为老年脑梗死的早期预警提供理论依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

病例来源于 2009 年 3 月至 2010 年 4 月湘雅二医院神经内科住院的老年脑梗死患者。脑梗死组共 206 例, 其中男性 123 例, 女性 83 例, 平均年龄 67.68 ± 7.05 岁。脑梗死患者严格按照全国第 4 届脑血管病会议修订的诊断标准^[2], CT/MRI 显示梗死灶最小直径大于 15 mm。对照组共 203 例, 来源于湘雅二医院同期门诊体检的非心脑血管疾病的老年人群, 其中男性 110 例, 女性 93 例, 平均年龄 66.35 ± 4.78 岁, 部分经 CT/MRI 扫描证实无卒中。通过问卷访谈收集研究对象的基本资料、既往史、家族史、高血压病史、糖尿病史、吸烟史、饮酒史、脑卒中史等。凡有以下情况者予以剔除: 脑栓塞、周围血管疾病或周围血管阻塞性疾病、大动脉炎、自身免疫疾病、血液病、甲状腺疾病、结核或明显肺部感染及其他明显的炎性感染者、恶性肿瘤、严重肾功能不全、曾接受器官移植者、入院前一周使用降纤、降脂等药物者。

1.2 研究方法

取肘静脉血 3 ~ 5 mL, 采用低渗溶血、酚/氯仿法抽提外周白细胞基因组 DNA, 用多聚酶链反应-限制性片长多态性 (polymerase chain reaction-restricted fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 测定 -447C/G 基因多态性。多聚酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 体系 25 μ L, 上游和下游引物分别为 10 μ mol/L 1 μ L, 基因组 DNA 20 mg/L 1 μ L, Taq 酶 5×10^6 U/L 0.5 μ L, 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 2.5 μ L, 加灭菌双蒸水 (distillation-distillation H₂O, dd-H₂O) 至 25 μ L, 震荡混匀。引物序列: 上游引物 5'-TACACTAGCAATGTCTAG-GTGA-3', 下游引物 5'-TCAGCTTAGCCCAGAATGC-3'; 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 反应循环: 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min、56 $^{\circ}$ C 退火 1 min、72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 循环 30 次; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min。使用 Mnl I 内切酶 37 $^{\circ}$ C 消化过夜。采用聚丙烯酰胺凝胶电泳, 然后将凝胶

采用银染法染色观察。PCR 扩增产物经特异性限制性内切酶 Mnl I 消化后裂解, 聚丙烯酰胺凝胶电泳显示 -447C/G 基因酶切产物存在 2 种等位基因 (C/G) 和 3 种基因型 (CC 纯合野生型; CG 突变杂合型; GG 纯合突变型)。CC 型含 285 bp 和 203 bp 两个片段; CG 型含 285、248、203、37 bp 四个片段; GG 型含 248、203、37 bp 三个片段 (图 1)。

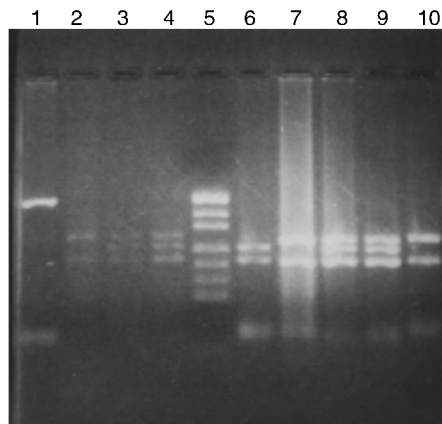


图 1. 酶切产物电泳图像 1 为 PCR 产物, 2、7、10 为 CC 型, 5 为 Marker, 3、4、8、9 为 CG 型, 6 为 GG 型; Marker: 从上至下分别为 501、404、331、242、190、147、111 bp。

Figure 1. Digestion products electrophoresis

1.3 统计学处理

应用 SPSS 16.0 软件包进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 2 组以上采用 One Way ANOVA 检验, 用 LSD 方法进行两两比较。计数资料采用 χ^2 检验。各组间基因型和等位基因频率分布采用 χ^2 检验。采用 Logistic 回归模型判断脑梗死危险因素作用的大小, 分别计算各自的比值比 (OR) 及其 95% 可信区间 (CI)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。由于 GG 的基因型频率太低, 将 CG 型与 GG 型合并后进行运算。

2 结果

2.1 两组一般临床资料比较

脑梗死组与对照组在年龄、性别、体质指数 (BMI)、饮酒史构成上, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。常见的脑梗死危险因素如高血压病史、糖尿病史、家族史及收缩压 (systolic blood pressure, SBP)、舒张压 (diastolic blood pressure, DBP), 脑梗死组均明显高于对照组, 差异有显著性 ($P < 0.01$); 吸烟史脑梗死组明显高于对照组, 差异有显著性 ($P < 0.05$; 表 1)。

表 1. 两组一般临床资料比较

Table 1. Comparison of the clinical data

项目	对照组 (n=203)	脑梗死组 (n=206)	P
年龄(岁)	66.35 ± 4.78	66.78 ± 7.05	>0.05
性别(男/女)	110/93	123/83	>0.05
SBP(mmHg)	135(25)	160(20)	<0.01
DBP(mmHg)	80(15)	90(10)	<0.01
BMI(kg/m ²)	23.60 ± 3.39	23.63 ± 3.28	>0.05
吸烟史	38.9%	51.0%	<0.05
饮酒史	21.8%	27.6%	>0.05
高血压史	39.4%	75.0%	<0.01
糖尿病史	4.7%	26.5%	<0.01
家族史	6.9%	23.7%	<0.01

2.2 两组血脂指标比较

脑梗死组与对照组在总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、载脂蛋白 A I (apolipoprotein A I, ApoA I) 的比较上差异无显著性($P > 0.05$)。甘油三酯(triglyceride, TG)、肌酐(creatinine, Cr)、ApoB 水平脑梗死组显著高于对照组, 差异有显著性($P < 0.01$); 高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)脑梗死组显著低于对照组, 差异有显著性($P < 0.01$; 表 2)。

2.3 脂蛋白脂肪酶-447C/G 基因型对血脂的影响

对不同 LPL-447C/G 基因型携带者的血脂水平进行比较, 发现 CG + GG 型 TG 低于 CC 型, 而 HDLC 则稍高于后者, 但差异均无显著性($P > 0.05$); LDLC 在 CG + GG 型高于 CC 型, 差异也无显著性($P > 0.05$)。其它血脂指标也均无明显差异

表 4. LPL-447C/G 基因型对血压的影响(例)

Table 4. The effect of LPL-447C/G genotype on blood pressure

	对照组		脑梗死组	
	CC	CG + GG	CC	CG + GG
非高血压	124(82.03%)	26(17.97%)	65(80.26%)	17(19.38%)
高血压	47(91.46%)	6(8.54%)	103(85.42%)	21(14.58%)

2.5 脑梗死组与对照组-447C/G 基因型的比较

在脑梗死组与对照组中皆以 CC 型频率最高。203 例对照组中 CC、CG + GG 基因型和 C、G 等位基因的频率分别是 81.77%、18.23% 和 90.89%、9.11%, 206 例脑梗死组中 CC、CG + GG 基因型和

($P > 0.05$; 表 3)。

2.4 脂蛋白脂肪酶-447C/G 基因型对血压的影响

通过分析不同组中高血压与非高血压患者 LPL-447C/G 基因型分布, 发现两组中高血压与非高血压者 LPL-447C/G 基因型分布相似, 差异无显著性($P > 0.05$; 表 4)。

表 2. 两组血脂指标比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Comparison of the lipid data

生化指标	对照组 (n=203)	脑梗死组 (n=206)	P
TG(mmol/L)	1.22 ± 0.36	1.48 ± 0.79	<0.01
TC(mmol/L)	4.72 ± 0.88	4.82 ± 1.07	>0.05
HDLC(mmol/L)	1.44 ± 0.37	1.28 ± 0.38	<0.01
LDLC(mmol/L)	2.73 ± 0.73	2.87 ± 0.86	>0.05
ALT(U/L)	30.23 ± 40.66	28.88 ± 24.12	>0.05
Cr(μmol/L)	91.50 ± 30.46	101.15 ± 30.12	<0.01
BUN(mg/L)	6.20 ± 3.37	5.56 ± 6.35	>0.05
ApoA I(g/L)	1.34 ± 0.31	1.35 ± 0.28	>0.05
ApoB(g/L)	0.82 ± 0.27	0.91 ± 0.32	<0.01

表 3. LPL-447C/G 基因型对血脂的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3. The effect of LPL-447C/G genotype on blood lipid

血脂指标	CC 型(n=337)	CG + GG 型(n=72)	P
TG(mmol/L)	1.39 ± 0.80	1.37(0.76)	0.902
TC(mmol/L)	4.75 ± 0.97	4.88 ± 1.07	0.350
LDLC(mmol/L)	2.77 ± 0.77	2.94 ± 0.94	0.128
HDLC(mmol/L)	1.35 ± 0.39	1.36 ± 0.37	0.936
ApoAI(g/L)	1.35 ± 0.30	1.34 ± 0.27	0.855
ApoB(g/L)	0.87 ± 0.31	0.85 ± 0.29	0.627

C、G 等位基因的频率分别是 83.98%、16.02% 和 91.75%、8.25%, 均符合 Hardy-Weinberg 平衡($P > 0.05$)。所以本研究所选择的研究人群基因频率能够代表群体的基因分布。脑梗死组与对照组-447C/G 基因型和等位基因频率比较, 统计学差异

无显著性($P > 0.05$; 表 5)。

表 5. 脑梗死组与对照组 -447C/G 基因型及等位基因频率比较

Table 5. Comparison of LPL genotype and allele in infarction group and the control group

分 组	例数	基因型(例)		等位基因频率(例)	
		CC	CG + GG	C	G
脑梗死组	206	173(83.98%)	33(16.02%)	378(91.75%)	34(8.25%)
对照组	203	166(81.77%)	37(18.23%)	369(90.89%)	37(9.11%)

2.6 脂蛋白脂肪酶 -447C/G 基因型与脑梗死危险性

以脑梗死组/对照组为应变量,通过 Logistic 回归进行单变量分析,结果表明, -447C/G 基因 CG + GG 基因型 OR 为 0.842 (95% CI 为 0.489 ~ 1.451, $P > 0.05$)。显示 G 等位基因携带者(CG + GG 型)发生脑梗死的危险低于非携带者,但结果显示 CG + GG 基因型作为独立保护因素未达显著性($P > 0.05$),未能进入多因素 Logistic 回归模型。而吸烟、糖尿病史、高血压病史、家族史等危险因素进入方程。最后主要的独立危险因素包括吸烟、家族史、糖尿病史。

3 讨 论

脂蛋白脂肪酶 -447C/G 突变是否影响脂解活性各家报道不一。多数国外人群的研究都显示 LPL -447C/G 突变在临床上产生了有益的血脂谱改变^[3,4]。我国的一些研究^[5-7]也显示 LPL -447C/G 携带者同样具有相似的效应。我们的研究表明卒中和对照人群中 LPL -447C/G G 等位基因携带者 TG 水平低于非携带者,而 HDLC 则高于非携带者,但均未达统计学意义。分析其原因可能是由于血脂水平受饮食等因素影响较大,我们研究的人群为老年人,从时间上老年人受饮食等因素的影响比年轻人更长,饮食对老年人的影响更大,且我们的研究人群饮食等并没有进行严格匹配,可能会对研究结果有所影响。

Sass 等^[8]报道 LPL447Ter 对舒张压及收缩压的减少均有关联($P < 0.05$)。国内黄爱群也有研究^[9]发现 LPL -447C/G 对血压产生显著有益影响。推测 LPL 可能是汉族人原发性高血压的重要遗传因子^[10]。因此,LPL -447C/G 变异有可能与血压的调节有关。但我们的资料显示,在高血压与非高血压患者中, -447C/G 基因型分布没有差异。这与

上述研究结果不一致,但与国内仝其广等人^[11]的研究结果一致,均未发现 LPL -447C/G 对血压有影响。研究的结果可能与病例选择、地域差异、生活方式、遗传背景有关。另外,老年人暴露于环境因素的时间更长,这个年龄阶段高血压的发生可能受环境因素(吸烟、过多饮酒、食盐摄入、体力活动减少)影响较多,所以在一定程度上削弱了 LPL -447C/G 基因多态性对高血压的相关性,但至少在本研究中没有观察到 -447C/G 突变对血压有影响。

据报道 20% ~ 30% 的脑卒中是由于颈动脉狭窄性病变更进行性发展所致^[12]。Guan 等^[13]的结果显示合并颈内动脉粥样硬化性狭窄的卒中患者,G 等位基因频率较低($P < 0.01$),比不合并颈内动脉狭窄的卒中患者 G 等位基因携带率(0.077)还要低,因此 -447C/G 对卒中的保护作用部分可能源于它对颈动脉粥样硬化的阻抑作用。无论怎样,LPL -447C/G 可能通过产生有益血脂谱等作用延缓 As 的发生,而 As 又是脑梗死的基础,所以 LPL -447C/G 有可能是脑梗死的保护因素。目前国内外一系列研究发现 -447C/G 是脑梗死的保护因素。本研究提示 LPL -447C/G 基因与血脂、血压及血脂紊乱可能导致的脑梗死并无直接的相关联系,脑梗死组该基因突变虽低于对照组但未达显著性意义。可能与我们选择的样本偏小有关,而且脑梗死是多种基因与环境因素相互作用的结果,单一基因多态性只能增加或减少个体对疾病或环境因素的易感性,同时要考虑到不同种族和环境因素的影响,尚需进一步作更大样本和不同人种间的遗传学调查、不同基因间联合作用的研究以明确其遗传学特征,家族内对照设计将使基因变异与卒中的关系更明确清晰。

[参考文献]

[1] 杜纪坤,黄青阳. 脂蛋白脂肪酶基因的研究进展[J]. 中

- 华医学遗传学杂志, 2007, 29(1): 8-16.
- [2] 中华神经科学会、中华神经外科学会. 脑血管疾病分类 (1995)[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 376-380.
- [3] Myllykangas L, Lammie GA, Notkola IL, et al. Apolipoprotein E (APOE) and lipoprotein lipase (LPL) gene variants and carotid atherosclerotic lesions in the oldest old: a population-based autopsy study[J]. Arch Gerontol Geriatr, 2009, 49(1): 108-112.
- [4] Radha V, Mohan V, Vidya R, et al. Association of lipoprotein lipase Hind III and Ser447Ter polymorphisms with dyslipidemia in Asian Indians[J]. Am J Cardiol, 2006, 97(9): 1 337-342.
- [5] Zhao SP, Tong QG, Xiao ZJ, et al. The lipoprotein lipase -447C/G mutation and risk of stroke in the Chinese[J]. Clin Chim Acta, 2003, 330(1-2): 161-164.
- [6] Guan GD, Xu E, Wang XJ, et al. Associations between Ser447Ter gene polymorphism of lipoprotein lipase and atherosclerotic cerebral infarction[J]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi, 2006, 23(5): 519-522.
- [7] 赵水平, 仝其广, 肖志杰, 等. 脂蛋白脂酶 -447C/G 基因变异对血脂影响[J]. 中华心血管病杂志, 2003, 31(2): 101-104.
- [8] Sass C, Cheng S, Siest G, et al. Genetic influences on blood pressure within the Stanislas Cohort[J]. J Hypertens, 2004, 22(2): 297-304.
- [9] 黄爱群, 胡永华, 徐波, 等. 双生子中脂蛋白脂酶基因 S447X 突变与血脂、血压的关联和连锁分析[J]. 北京大学学报(医学版), 2005, 37(6): 585-590.
- [10] Tu X, Tu J, Wen X, et al. A study of lipoprotein lipase gene intron 8 polymorphisms in Chinese: Han race essential hypertension patients[J]. Int Cardiol, 2005, 99(2): 263-267.
- [11] 仝其广, 赵水平, 肖志杰, 等. 脂蛋白脂酶 Ser447 基因变异对血压影响[J]. 中国医药导刊, 2008, 10(7): 986-988.
- [12] Coombs PR, Downie R, Phan TG, et al. Disappearing flapping plaque in the internal carotid artery[J]. Ann Vasc Surg, 2010, 24(2): 254.e7-254.e9.
- [13] Guan GD, Xu E, Wang XJ, et al. Associations between Ser447Ter gene polymorphism of lipoprotein lipase and atherosclerotic cerebral infarction[J]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi, 2006, 23(5): 519-522.

(此文编辑 曾学清)