

·短篇报道·

载脂蛋白 E 基因多态性与老年冠心病患者发病的相关性研究

邹阳春 胡大一 洪秀芳 杨新春 贾兴元

冠状动脉粥样硬化性心脏病 (coronary artery disease, CAD)是由遗传因素与环境因素等冠心病危险因素共同作用而形成的以冠状动脉粥样硬化为病理特征的一种疾病。随着人类基因组计划的实施,人们试图从基因水平对冠心病进行重新认识。载脂蛋白 E(Apo E)与抗动脉粥样硬化功能效应有关,由此推测,Apo E 基因多态性与老年人冠心病发病相关联。

1 对象与方法

所有病例年龄在 60 岁以上,在北方生活三代以上。分为(1)冠心病组:经冠脉造影证实为冠心病者,共 55 例,男 41 例,女 14 例,平均年龄(72±11)岁;冠脉造影显示有 1 支或 1 支以上冠脉直径狭窄≥50%,所有患者均为汉族,无血缘关系。(2)正常对照组:36 例,男 27 例,女 9 例,平均年龄(71±10)岁,亦经冠脉造影证实未见明显冠脉狭窄性病变。冠脉造影结果分析:由两位冠心病介入专家对病人冠脉造影结果进行估评;Apo E 基因多态性分析:冠脉造影前取空腹静脉血 4ml 放入含 EDTA-Na₂ 样本管,2h 内于 4℃ 下 1500rpm 离心分离出血浆与细胞成分,并分开保存于 -70℃ 低温冰箱中待测。基因多态性分析的具体方法参见文献[1],应用聚合酶链式反应(PCR)-限制性片段长度多态性分析方法对 Apo E 基因 DNA 244-bp 的 5' 末端片段进行扩增;基因型分析:Apo E 基因 DNA PCR 扩增区域内存在 2 个 HhaI 酶切位点,它们分别位于 158-bp 与 112-bp 处,酶切产物用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳(45Ma,3h),溴化乙啶染色 30min,然后在瑞典 Pharmacia Biotech 公司 Image Master^(R) VSD 下进行观察,对照标记为 pGEM-7zf(+),可见 6 种片段:91-bp、83-bp、72-bp、48-bp、36-bp、35-bp,产生 6 种 Apo E 基因型:E2/2、E2/3、E2/4、E3/3、E3/4、E4/4,分别由等位基因 ε₂、ε₃、ε₄ 所决定;血脂分析按常规生化方法进行^[2,3];统计分析:资料分析应用 SPSS 10.0 版计算机统计软件完成。计算基因型及等位基因型频率按 Hardy-Weinberg 平衡法确定各组样本 RFLPS 频率的群体代表性;用 χ² 检验对各组基因型及等位基因型频率差异进行比较;计量

资料用 *t* 检验比较其差异的显著性水平,其值用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义;用 Logistic 回归计算危险比。

2 结果

2.1 在年龄、性别条件可比时,老年冠心病组与对照组的基线血脂多数指标值水平间存在显著差异,冠心病组 TG、TC、LDL-c、载脂蛋白 B(Apo B)及脂蛋白(a)Lp(a)水平均高于对照组,而冠心病组 Apo A1 水平则低于对照组(P 均 < 0.05)。

2.2 与冠脉正常组比较,冠心病组 Apo E 等位基因 ε₂ 型频率明显为低,差别有显著性意义($P < 0.05$)。

2.3 Apo E 基因多态性对血脂各指标水平均产生不同程度的影响,自 E2/2 至 E4/4,研究个体 TC、TC、LDL-c、Apo B、Lp(a)水平呈依次增高趋势,而 HDL-c、Apo A1 水平则呈依次降低趋势。

2.4 多因素 Logistic 回归分析发现,除了年龄、性别、吸烟、高血压、血脂紊乱、糖尿病等以外,Apo E 等位基因 ε₂ 的缺失也与老年人冠心病发病密切相关,Apo E 等位基因 ε₂ 插入或缺失是冠心病的遗传预示因子($RR = 3.4487, 95\% CI$ 为 1.2613~6.6592, $P < 0.01$)。

3 讨论

本研究对 55 例冠脉造影明确诊断为冠心病的老年患者血脂、脂蛋白与载脂蛋白水平的变化进行了对比观察,并对 Apo E 基因 112-bp 及 158-bp 位点 HhaI 酶切多态性进行了分析,结果提示,在老年人群冠心病发病机制中,Apo E 基因多态性改变可能也参与其中,Apo E 基因由于上述二个位点的多态性改变而影响脂蛋白及载脂蛋白特别是 LDL-c 水平与 Apo B 的功能水平。作为 LDL-c 载体,Apo B 功能水平直接影响到血中 LDL-c 水平,而 Apo B 功能水平又受到其配体——Apo E 功能状态的影响。Apo E 基因长度多态性改变可以通过影响 LDL-c 水平及 Apo B 的功能状态而与冠心病的发生存在着某种意义上的内在联系,一种可能就是 Apo E 基因插入与缺失会改变 Apo E 基因及 Apo E 的功能,从而也会改变个体对机体环境因素影响的易感性^[4]。Apo E 基因 112-bp 与 158-bp 位点碱基改变在本文所研究的老年人群中是与 LDL-c 及 Apo B 水平的升高相关联的,Apo E 基因结构的改变影响着 Apo E 分子的结构、向血液中释放与分泌速率及其功能状态,进而控制和影响血中 Apo E 与 LDL-c 水平及功能,与其他冠心病危险因素一起协同参与冠脉粥样硬化的形成与发展。进一步研究将分析 Apo E 基因多态性改变与冠心病严重程

收稿日期:2005-08-15

作者单位:100020 北京市,北京朝阳医院心脏中心与基础医学中心(邹阳春、杨新春、贾兴元);100044 北京市,北京大学人民医院心内科(胡大一);830054 乌鲁木齐市,新疆医科大学第一附属医院心内科(洪秀芳)

作者简介:邹阳春,男,1963 年生,湖南衡阳人,医学博士,主任医师。E-mail: springzou99@126.com.cn

度之间的相关性,为动脉粥样硬化患者血脂及脂蛋白水平的基因调控与基因治疗^[5,6]提供理论与临床决策依据。

参考文献

- 1 Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res*, 1990,31:545-548.
- 2 Zou YC, He BX, Hu DY, et al. Studies on relationships among apolipoproteinA1 gene polymorphisms, lipid levels and coronary atherosclerosis disease. *Chin Med J*, 2003,116:665-668.
- 3 Borque L, Maside C, Iglesias A. Automated turbidimetry of

- serum Lp(a). *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1993,31:869-874
- 4 Von Muhlen D, Barrett-Connor E, Kritiz-Silverstein D, et al. Apolipoprotein E phenotype and the response of lipid levels to postmenopausal estrogen use. *Atherosclerosis*, 2002,161:209-214.
 - 5 Lin SK, Kao JT, Tsai SM, et al. Association of apolipoprotein E genotypes with serum lipid profiles in a healthy population of Taiwan. *Ann Clin Lab Sci*, 2004,34:443-448.
 - 6 Masson LF, McNeill G. The effect of genetic variation on the lipid response to dietary change: recent findings. *Curr Opin Lipidol*, 2005,16:61-67.

·短篇论著·

代谢综合征患者 MEF2A 基因突变的研究

张玮 赵玉生 王琳 刘谟焱

研究发现,代谢综合征可使冠心病和脑卒中的患病率增加3倍,并导致心血管病死亡率增加5倍,代谢综合征是一个多因素疾病,影响因素包括环境和基因等方面,如今越来越多的证据显示代谢综合征的发生与遗传有关。近期的研究显示,MEF2A常染色体显性突变可导致冠状动脉疾病的发生,在急性心肌梗死的患者中MEF2A的这一突变的发生机率为1.93%左右。因此,认为可以通过筛查这一突变预测冠心病的发生。本研究的目的在于观察代谢综合征患者中是否存在MEF2A外显子11中特定位点21bp的缺失,MEF2A的这一突变是否为代谢综合征易发冠心病和心肌梗死的遗传学基础。

1 资料和方法

在2002-2005年于解放军总医院住院并明确诊断为代谢综合征的患者164例,其中男性88例,女性76例,平均年龄(61.2±7.6)岁,非代谢综合征组(对照组)62例,其中男性34例,女性28例,平均年龄(62.5±8.4)岁。

代谢综合征按2004年中华医学会糖尿病分会诊断标准,冠心病的诊断标准为陈旧性心肌梗死病史或冠状动脉造影结果至少有一支血管狭窄>50%。对照组为非代谢综合征组,OGTT试验阴性,无高脂血症、肥胖、高血压的患者。有以下疾病的患者未纳入本实验:重症感染、脑卒中、脑梗死、慢性肾功能衰竭、血液病、肿瘤、甲状腺功能异常、肝脏疾病。

2 方法

空腹抽取入选患者的肘静脉血,进行PCR反应,行1.2%的琼脂糖凝胶电泳,观察各产物条带的情况,阴性结果随机

抽样测序分析,阳性结果行10%的聚丙烯酰胺电泳,比较各色带的位置,将有差别的产物测序。

3 结果

经测序证实样本中并未发现预期的MEF2A外显子11中相应部位的缺失突变,也并未在这一位点找到其它突变,所测PCR产物的DNA序列均能在Genbank中找到相关的模板,属正常的基因多态性。

4 讨论

2003年Wang等^[1]报道,MEF2A基因21bp的缺失突变作为一种常染色体突变与冠状动脉疾病有关,本研究在实验组和对对照组中均未发现这一突变,分析原因为代谢综合征患者中可能并不存在MEF2A这一位点的缺失突变,即MEF2A这一突变并不一定是代谢综合征患者易发冠心病的分子基础,也许代谢综合征患者易发展为冠心病存在其它分子基础,本试验并没有涉及到。本次实验样本量有限,有待于增大样本量进一步求证。最近文献报道300例冠心病患者的研究中并没有发现MEF2A的这一缺失突变^[2],而在非冠心病人群中却筛查到这一突变的存在^[3],这使得冠心病的发生有待于进一步的研究。

参考文献

- 1 Wang L, Fan C, Topol SE, et al. Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease. *Science*, 2003, 302: 1578-1581.
- 2 Altshuler D, Hirschhorn JN. MEF2A sequence variants and coronary artery disease: a change of heart? *J Clin Invest*, 2005, 115:831-833.
- 3 Weng L, Kavaslar N, Ustaszewska A. Lack of MEF2A mutations in coronary artery disease. *J Clin Invest* 2005 115: 1016-1020.

收稿日期:2005-11-25

作者单位:100853北京市,解放军总医院老年心血管病研究所

作者简介:张玮,女,1980年7月生,河北省廊坊市人,在读硕士研究生,住院医师。Tel:010-66936787