文章编号:1000-5404(2007)24-2347-03

论著

ABCA1基因变异与血浆高密度脂蛋白胆固醇水平的关系

李 亚[1],王玉明[1],贺 勇[2],潘克俭[1] ([1]成都医学院生物化学教研室,成都 610083;[2]四川大学华西医院心血管内科,成都 610041)

提 要:目的 探讨腺苷三磷酸结合盒转运体A1(ATP-binding transporter A1, ABCA1)基因多态性与汉族人群血浆高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平的关系。**方法** 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析技术检测376例无血缘关系的正常汉族人ABCA1基因M883I、R1587K和R219K多态性。**结果** 研究人群中KK1587基因型者HDL-C水平明显低于RR1587和RK1587基因型者($P<0.05$)。按性别分层后,仅女性KK1587基因型者HDL-C水平低于RR1587和RK1587基因型者($P<0.01$)。一般线性模型分析显示,R1587K多态对女性个体HDL-C水平变异的贡献度为2.3%($P<0.01$)。**结论** ABCA1基因M883I和R219K多态与汉族人群HDL-C水平无关,但K1587等位基因以隐性作用方式与女性HDL-C水平降低有关。

关键词: 腺苷三磷酸结合盒转运体A1基因;冠状动脉粥样硬化性心脏病;高密度脂蛋白胆固醇
中图法分类号: R181.33;R344.81;R446.69 **文献标识码:** A

Relationship between ATP-binding transporter A1 gene variation and plasma high density lipoprotein cholesterol level

LI Ya[1], WANG Yu-ming[1], HE Yong[2], PAN Ke-jian[1] ([1]Department of Biochemistry, Chengdu Medical College, Chengdu 610083, [2]Department of Cardiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective To investigate the association between the ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) gene polymorphisms and plasma high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) level in Chinese general population. **Methods** M883I, R1587K and R219K polymorphisms of the ABCA1 gene were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism technique in 376 unrelated Chinese healthy subjects. **Results** In the study population, the subjects with the KK1587 genotype had markedly lower HDL-C levels than those with RR1587 and RK1587 genotypes ($P<0.05$). When subgroups were divided by gender, the KK1587 genotype was associated with lower HDL-C levels compared with the RR1587 and RK1587 genotypes only in women ($P<0.01$). Moreover, the general linear model showed that R1587K polymorphism led to 2.3% of the variation in HDL-C levels in women studied ($P<0.01$). **Conclusion** M883I and R219K polymorphisms of the ABCA1 gene are not correlated with HDL-C level in Chinese population, but the recessive K1587 allele may be involved in the decreased level of HDL-C in women.

Key words: ATP-binding cassette transporter A1 gene; coronary heart disease; high-density lipoprotein cholesterol

流行病学研究表明,血浆高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平与冠心病发生呈高度负相关[1],对高密度脂蛋白代谢调控因素的研究一直是冠心病病因学的重要内容。近年研究表明,腺苷三磷酸结合盒转运体A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)促进胆固醇从肝外组织流出,在胆固醇逆向转运及高密度脂蛋白生成的起始阶段扮演着关键角色[2]。文献[2]报道,ABCA1基因突变导致个体HDL-C严重缺乏,早发冠心病;此外,ABCA1基因某些多态性也可通过改变其编码产物的活性或剂量,影响个体HDL-C水平[3]。为此,本研究探讨了ABCA1基因M883I、R1587K和R219K多态性与汉族人群HDL-C水平变化的关系。

基金项目: 四川省教育厅青年基金(2006B084)
Supported by the Project for Young Scholars of Educational Department of Sichuan Province (2006B084)
作者简介: 李 亚(1966-),男,四川省成都市人,硕士,副教授,主要从事心血管疾病相关基因方面的研究,发表论文9篇。电话:(028)68289239,E-mail:liyalhj@tom.com
通讯作者: 王玉明,电话:(028)68289238,E-mail:wym@cmc.edu.cn
收稿日期: 2007-03-06;**修回日期:** 2007-04-20

1 材料与方法

1.1 对象

来自四川大学华西医院和成都医学院第一附属医院无血缘关系的汉族个体376例(男性194例,女性182例),年龄(58.4±8.6)岁,HDL-C浓度(1.41±0.52)mmol/L,体质量指数(24.62±3.39)kg/m^2,总吸烟率为27%,并经询问病史、体检、心电图等检查排除心血管疾病史。

1.2 标本采集与处理

禁食12 h后取研究对象外周血5 ml,采用全自动生化仪测定血脂水平;另采集外周血3 ml,1 ml ACD抗凝,盐析法提取DNA,TE缓冲液溶解DNA并置于4 ℃冰箱中备用。

1.3 基因型分析

采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析方法,即设计、合成相应引物,分别对全部研究个体ABCA1基因R1587K、M883I和R219K多态位点所在序列进行PCR扩增;取扩增产物15 μl,加入4 U限制性内切酶,2 μl酶切缓冲液,并补加超纯水至总体积20 μl,37 ℃水浴中消化16 h;消化产物经3%琼脂糖凝胶电泳,通过凝胶分析系统鉴定基因型(PCR反应条件和内切酶见表1)。

表1 3种多态的PCR-RFLP分析

多态位点	引物(5′→3′)	复性温度(℃)	限制性内切酶
M883I	正向:GAGAAGAGCCACCCTGGTTCCAACCAGAAGAGGAT	55	*Eco*R V
	反向:AAGGCAGGAGACATCGCTT		
R1587K	正向:ATTTATGACAGGACTGGACACGA	58	*Bss*S I
	反向:CCTTTTGCAGGTTGGCCCGG		
R219K	正向:AAGTGTCCTGTCATTGTGCC	56	*Xag* I
	反向:TCTCCAGTGAGCAAGTCTAC		

1.4 统计学分析

计算各基因型频率,用χ^2检验判定是否符合遗传平衡;不同基因型个体间HDL-C水平差异比较用协方差分析;采用一般线性模型分析各种因素对血浆HDL-C水平的影响;数据用SPSS 11.0统计软件分析。

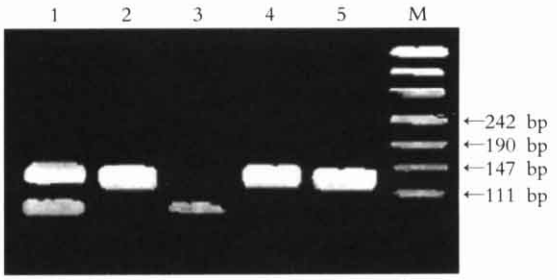
2 结果

2.1 基因型的鉴定

图1中,MM883基因型显示129 bp 1条带;MI883基因型显示129 bp和94 bp 2条带;II883基因型显示94 bp 1条带。图2中,KK1587基因型显示164 bp 1条带;RK1587基因型显示164、141 bp 2条带;RR1587基因型显示141 bp 1条带。图3中,RR219基因型显示404 bp 1条带;RK219基因型显示404、310、94 bp 3条带;KK219基因型显示310、94 bp 2条带。

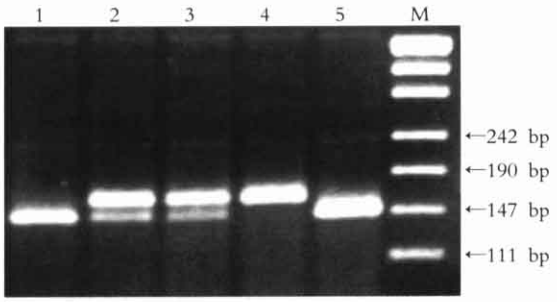
2.2 3种多态等位基因和基因型的频率

经χ^2检验,3种多态各自基因型频率在本研究人群中分布符合遗传平衡($P<0.05$),表明研究样本具有人群代表性。其中,R219K多态变异频率显著高于欧美人群(分别为0.452、0.27,$P<0.01$),而I883等位基因在欧美人群则为野生型等位基因[4](表2)。



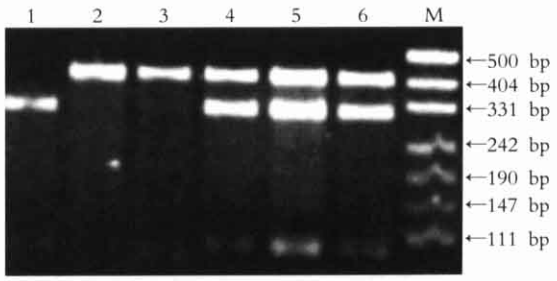
1:MI883基因型;2,4,5:MM883基因型;3:II883基因型;M:DNA标准(PUC19/MspI)

图1 M883I多态的PCR-RFLP检测



1,5:RR1587基因型;2,3:RK1587基因型;4:KK1587基因型;M:DNA标准(PUC19/MspI)

图2 R1587K多态的PCR-RFLP检测



1:KK219基因型;2,3:RR219基因型;4,5,6:RK219基因型;M:DNA标准(PUC19/MspI)

图3 R219K多态的PCR-RFLP检测

表2 3种多态等位基因和基因型频率分布

多态位点	基因型频率			等位基因频率	
	AA	AB	BB	A	B
R1587K	0.513(193)	0.399(150)	0.088(33)	0.713	0.287
M883I	0.548(206)	0.370(139)	0.082(31)	0.733	0.267
R219K	0.306(115)	0.484(182)	0.210(79)	0.548	0.452

A、B分别表示野生型和变异型等位基因;括号内数字为例数

2.3 基因多态性与HDL-C水平的关系

校正吸烟、年龄和体质量指数等协变量后,表3显示,本研究人群中KK1587基因型个体HDL-C水平较RR1587和RK1587基因型显著下降($P<0.05$);但未见M883I和R219K多态各自不同基因型个体间HDL-C水平显著性差异。将本研究人群划分为男性和女性亚组,表4可见,女性组KK1587基因型个体HDL-C水平较RR1587和RK1587基因型显著降低($P<0.01$);而3种多态各自不同基因型男性个体间HDL-C水平差异均无统计学意义。

2.4　R1587K 对女性组 HDL-C 水平的影响

为定量分析 R1587K 对女性 HDL-C 水平的影响,本研究以 R1587K、年龄和体质量指数为自变量,女性研究个体 HDL-C 水平为应变量,建立一般线性模型,并用确定系数(R^2)解释各自变量对 HDL-C 水平变异的贡献度。结果显示,年龄、体质量指数和 R1587K 与女性 HDL-C 水平变化密切相关,对女性研究个体之间 HDL-C 水平变异的贡献值分别为 2.6%、5.7%、2.3%($P<0.01$)。

表 3　研究人群各基因型个体间 HDL-C 水平比较(mmol/L,$\bar{x}\pm s$)

多态位点	AA	AB	BB
R1587K	1.51 ±0.38(193)	1.45 ±0.46(150)	1.13 ±0.57(33)[a]
M883I	1.43 ±0.51(206)	1.37 ±0.36(139)	1.40 ±0.36(31)
R219K	1.38 ±0.59(115)	1.44 ±0.47(182)	1.37 ±0.51(79)

a:$P<0.05$,与 AA 和 AB 基因型比较;A、B 分别表示野生型和变异型等位基因;括号内数字为例数

表 4　两个亚组各基因型个体间 HDL-C 水平比较(mmol/L,$\bar{x}\pm s$)

多态位点	女性个体			男性个体		
	AA	AB	BB	AA	AB	BB
R1587K	1.42 ±0.47(96)	1.53 ±0.46(71)	1.01 ±0.57(15)[a]	1.45 ±0.58(97)	1.40 ±0.37(79)	1.29 ±0.44(18)
M883I	1.49 ±0.37(99)	1.41 ±0.43(69)	1.39 ±0.35(14)	1.34 ±0.47(107)	1.46 ±0.33(70)	1.42 ±0.61(17)
R219K	1.36 ±0.48(57)	1.47 ±0.32(85)	1.44 ±0.39(40)	1.43 ±0.56(58)	1.35 ±0.38(97)	1.41 ±0.57(39)

a:$P<0.01$,与 AA 和 AB 基因型比较;A、B 分别表示野生型和变异型等位基因;括号内数字为例数

3　讨论

研究表明,ABCA1 基因是决定 HDL-C 水平主要遗传位点之一[2]。迄今为止,已鉴定出 10 余种 ABCA1 基因编码区多态,其中 R219K、R1587K 和 M883I 变异频率较高,分别导致 ABCA1 蛋白第 219 和1 587 位精氨酸→赖氨酸、第 883 位异亮氨酸→甲硫氨酸的替代。目前,尽管国内已有一些关于该 3 种多态与 HDL-C 水平变化的关联研究报道,但其研究对象大多为冠心病患者。为此,本研究在汉族正常人群中对上述 3 种多态进行分析,并在研究中采用了协方差分析,以此消除各种混杂因素对研究结果的干扰。

Clee 等[5]研究发现,K219 等位基因在不升高 HDL-C 水平的前提下,具有降低个体冠心病易感性的作用;而 M883I 各基因型间 HDL-C 水平也无明显差异。与 Clee 等报道相似,我们在汉族人群中也未检测到 M883I 和 R219K 多态与 HDL-C 水平变化关联。尽管如此,仍有国内学者在汉族人群中观察到 K219 等位基因与 HDL-C 水平升高相关[6]。由此可见,本研究结果与上述报道[6]有较大差异,这种差异可归因于研究对象的不同,本研究资料资料来自汉族一般人群,而王旭东等[6]的研究对象则是冠心病患者,二者的脂代谢过程应该有所不同。

本研究表明,汉族群体 R1587K 与 HDL-C 水平变化的关系不同于欧美人群。2 个大样本研究显示,K1587 等位基因与欧美人群 HDL-C 水平降低相关[5,7];本研究中,尽管 KK1587 基因型个体 HDL-C 水平显著低于 RR1587 和 RK1587 基因型,但进一步分析发现这种 HDL-C 水平差异仅存在于女性上述基因型个体间,提示 R1587K 多态 K1587 等位基因可能以隐性作用的方式在一定程度上降低了汉族女性 KK1587 基因型个体 HDL-C 水平。

另外,我们运用多元统计学方法定量分析了 R1587K 对女性人群 HDL-C 水平的影响,结果显示,R1587K 对女性研究人群间 HDL-C 水平变异的贡献度仅为 2.3%,说明 ABCA1 基因变异对女性 HDL-C 水平的影响仍是有限的,HDL-C 水平作为一种数量性状,还受到其他多个基因以及多种环境因素共同作用。

值得注意的是,本研究仅在女性中观察到 R1587K 与 HDL-C 水平变化的关联。我们认为,其潜在的原因是多方面的:首先,不同性别的遗传构成不同,其基因型对使 HDL-C 水平改变的影响因素的易感程度可能不一样;其次,不同性别激素水平存在差异;此外,也表明环境因素(如吸烟、饮酒等)与基因的交互作用对不同性别 HDL-C 水平的影响也不相同。其确切的机制值得进一步研究。

参考文献:

[1] Wilson P W, Abbott R D, Castelli W P. High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham Heart Study[J]. Arteriosclerosis, 1988, 8(6): 737 - 741.

[2] Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee S M, *et al*. Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency[J]. Nat Genet, 1999, 22(4): 336 - 345.

[3] Singaraja R R, Brunham L R, Visscher H, *et al*. Efflux and atherosclerosis: the clinical and biochemical impact of variations in the ABCA1 gene[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(8): 1322 - 1332.

[4] Tregouet D A, Ricard S, Nicaud V, *et al*. In-depth haplotype analysis of ABCA1 gene polymorphisms in relation to plasma ApoA1 levels and myocardial infarction[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(4): 775 - 781.

[5] Clee S M, Zwinderman A H, Engert J C, *et al*. Common genetic variation in ABCA1 is associated with altered lipoprotein levels and a modified risk for coronary artery disease[J]. Circulation, 2001, 103(9): 1198 - 1205.

[6] 王旭东, 傅　研, 姜惠杰. 冠心病患者 ABCA1 基因 R219K 多态性分析[J]. 临床心血管病杂志, 2004, 20(4): 215 - 218.

[7] Frikke-Schmidt R, Nordestgaard B G, Jensen G B, *et al*. Genetic variation in ABC transporter A1 contributes to HDL cholesterol in the general population[J]. J Clin Invest, 2004, 114(9): 1343 - 1353.

(编辑　邓强庭)