DOI:10.16016/j.1000-5404.201601013

APOB、APOC-Ⅰ和LDLR基因多态性与血脂水平的关联性分析

李美勇[1],王 倩[1],齐晓明[2],尤崇革[1,3] (730030 兰州,兰州大学第二医院检验医学中心[1];730000 兰州,甘肃省人民医院临床检验中心[2];730030 兰州,甘肃省消化系肿瘤重点实验室[3])

[摘要] **目的** 探讨LDLR基因rs688 C>T、APOB基因rs693 C>T、APOC-Ⅰ基因rs4420638 A>G位点分布特征及其与血脂水平的相关性。**方法** 以462例兰州地区汉族人群为研究对象,采用聚合酶链式反应-高分辨率熔解(PCR-HRM)技术对LDLR基因rs688 C>T、APOB基因rs693 C>T、APOC-Ⅰ基因rs4420638 A>G 3个SNP位点进行基因分型,分析其与血脂水平的关系。**结果** LDLR基因rs688 C>T、APOB基因rs693 C>T、APOC-Ⅰ基因rs4420638 A>G基因型频率和等位基因频率分别为CC 64.9%、CT 32.5%、TT 2.6%,C 81.2%、T 18.8%;CC 87.0%、CT 13.0%,C 93.5%、T 6.5%;AA 85.7%、AG 14.3%,A 92.9%、G 7.1%。在显性模型下,分别以TC、TG、LDL-C、HDL-C为因变量,以性别、年龄、BMI、rs688 C>T、rs693 C>T、rs4420638 A>G为自变量进行多元线性回归分析发现,LDLR基因rs688 T等位基因携带者的TC、LDL-C水平显著高于CC纯合型($\beta=0.301$,$P<0.01$;$\beta=0.335$,$P<0.01$);APOB基因rs693 T等位基因携带者的TC、TG水平显著低于CC纯合型($\beta=-0.250$,$P=0.027$;$\beta=-0.162$,$P=0.029$);APOC-Ⅰ基因rs4420638 G等位基因携带者的TG水平显著高于AA纯合型($\beta=0.180$,$P=0.016$)。**结论** LDLR基因rs688 C>T、APOB基因rs693 C>T、APOC-Ⅰ基因rs4420638 A>G位点与中国兰州地区汉族人群血脂水平相关。

[关键词] 高分辨率熔解技术;载脂蛋白B类;载脂蛋白C-Ⅰ;LDL受体;血脂
[中图法分类号] R344;R394.3;R394.5 [文献标志码] A

Association analysis of genetic polymorphisms of APOB, APOC-Ⅰ, LDLR genes with blood lipid levels

Li Meiyong[1], Wang Qian[1], Qi Xiaoming[2], You Chongge[1,3] ([1]Center for Laboratory Medicine, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu Province, 730030; [2]Clinical Laboratory Center, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou, Gansu Province, 730000; [3]Gansu Provincial Key Laboratory of Digestive System Tumor, Lanzhou, Gansu Province, 730030, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the distributional characteristics of single nucleotide polymorphisms (SNPs) of apolipoproteins B (APOB) (rs693 C>T), low-density lipid receptor (LDLR) (rs688 C>T), and apolipoproteins C-Ⅰ (APOC-Ⅰ) (rs4420638 A>G), and explore their relationship with the blood lipid levels. **Methods** The gene polymorphisms of the 3 SNPs (rs693, rs688, rs4420638) were determined by polymerase chain reaction-high resolution melting (PCR-HRM) in 462 subjects of Han nationality living in Lanzhou region. The relationship of the 3 SNPs with the blood lipid levels was analyzed. **Results** The genotype and allele frequencies of rs688, rs693 and rs4420638 were CC 64.9%, CT 32.5%, TT 2.6%, C 81.2% and T 18.8%; CC 87.0%, CT 13.0%, C 93.5% and T 6.5%; AA 85.7%, AG 14.3%, A 92.9%, and G 7.1%. Under dominant model, the multiple linear regression analyses were carried out by putting total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipid-cholesterol (LDL-C) and high-density lipid-cholesterol (HDL-C) as the dependent variable, and gender, age, body mass index (BMI), rs688 C>T, rs693 C>T, and rs4420638 A>G as independent variables. The results showed that

[基金项目] 甘肃省技术研究与开发专项(1105TCYA002);甘肃省卫生行业科研计划管理项目(GWGL2014-02)
[通信作者] 尤崇革,E-mail:youchg@lzu.edu.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160516.1350.001.html(2016-05-16)

serum levels of TC and LDL-C of rs688 T allele carriers were significantly higher than homozygous type (β = 0.301, P < 0.01; β = 0.335, P < 0.01). The serum levels of TC and TG of rs693 T allele carriers were significantly lower than homozygous type (β = −0.250, P = 0.027; β = −0.162, P = 0.029). The TG levels of rs4420638 T allele carriers were significantly higher than homozygous type (β = 0.180, P = 0.016). **Conclusion** SNPs of rs688, rs693 and rs4420638 are significantly associated with blood lipid levels in Chinese Han population.

[**Key words**] high-resolution melting technology; apolipoproteins B; apolipoprotein C-Ⅰ; low-density lipid receptor; blood lipids

Supported by the Special Program for Technology Research and Development of Gansu Province (1105TCYA002) and the Scientific Research Plan and Management Program of Gansu Health Industry (GWGL2014-02). Corresponding author: You Chongge, E-mail: youchg@lzu.edu.cn

血脂异常是心血管病的重要危险因素之一,血清甘油三酯(triglyceride,TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipo-cholesterol,LDL-C)增高或高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipo-cholesterol,HDL-C)降低均可增加心血管病的发病危险[1-2]。全基因组关联研究(genome-wide association studies,GWAS)和病例对照研究表明,低密度脂蛋白受体(low-density lipid receptor,LDLR)基因 rs688 C>T、载脂蛋白 B(apolipoproteins B, APOB)基因 rs693 C>T、载脂蛋白 C-Ⅰ(apolipoproteins C-Ⅰ,APOC-Ⅰ)基因 rs4420638 A>G 位点与血脂水平相关[3-5]。但上述研究针对的均为欧洲人群,LDLR 基因 rs688 C>T、APOB 基因 rs693 C>T、APOC-Ⅰ基因 rs4420638 A>G 位点是否在中国人群中与血脂水平也存在相关性,仍需进一步的验证。本研究拟采用高分辨率熔解曲线分析(high resolution melting,HRM)技术,检测 LDLR 基因 rs688 C>T、APOB 基因 rs693 C>T、APOC-Ⅰ基因 rs4420638 A>G 位点的基因多态性,分析其与兰州地区汉族人群血脂水平的相关性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

样本取自兰州大学第二医院 2013 年 10 月至 2015 年 3 月体检中心体检健康者 462 例,包括男性 150 例,女性 312 例,年龄(52.7±15.2)岁。纳入样本均排除各种心血管疾病、甲状腺疾病、肾上腺疾病、消化系统疾病、糖尿病,以及正在使用贝特类、他汀类、激素、胆固醇吸收抑制剂等影响血脂代谢相关药物者,且均为无血缘关系的兰州汉族人。本研究经兰州大学第二医院医学伦理学委员会批准,研究对象签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

QuickGene-Mini80 核酸仪及全血基因组 DNA 提取试剂盒(日本 Fujifilm 公司),Nano-drop 2000 微量蛋白质核酸检测仪(美国 Thermal Scientific 公司),Rotor-Gene 6000 实时荧光定量扩增仪(澳大利亚 Corbett 公司),LC Green Plus 染料(美国 Biotium 公司),Cobas 8000 自动生化分析仪及其配套试剂(Roche 公司)。

1.3 基因组 DNA 提取

收集研究对象 EDTA 抗凝的空腹静脉血 5 mL,用全血基因组 DNA 提取试剂盒提取白细胞基因组 DNA。通过微量蛋白质核酸检测仪及琼脂糖凝胶电泳鉴定 DNA 样本纯度和完整性,所得 DNA 标本于 −40 ℃的冰箱保存。

1.4 引物的设计与合成

针对 LDLR 基因 rs688 C>T、APOB 基因 rs693 C>T、APOC-Ⅰ基因 rs4420638 A>G 位点用引物设计软件 Primer Premier 5 进行引物设计,通过 Primer-BLAST、Two-state melting 和 uMelt 软件对引物的特异性、有效性和可辨性进行验证,引物由上海生工生物公司合成,引物具体信息见表 1。

表 1 APOB、APOC-I 及 LDLR 各基因位点的 PCR 引物及产物信息

SNP 位点	基因	突变类型	引物序列(5′→3′)	产物长度(bp)
rs688	LDLR	C>T	上游 GGCCGCCTCTACTGGGTTGAC	107
			下游 GGGTGGGCCAGCCTCTTTTCA	
rs693	APOB	C>T	上游 AAGCCTACAGGACACCAAAATAAC	125
			下游 ACATTCGGTCTCGTGTATCTTCTA	
rs4420638	APOC-Ⅰ	A>G	上游 GCAATGTCACTATGCTACACTTTTCC	50
			下游 CCTCATCTCGGGTAGACCACA	

1.5 PCR 扩增与 HRM 分析

PCR 反应体系总体积 10 μL,包括 10×PCR buffer 1 μL,10 mmol/L dNTP 0.2 μL,10×LC Green Plus 荧光染料 1 μL,50 mmol/L $MgCl_2$ 0.5 μL,Invitrogen *Taq* DNA polymerase(浓度 5 U/μL)0.06 μL,20 μmol/L 上、下游引物各 0.20 μL,基因组 DNA 1 μL,加 DEPC 水至总体积为 10 μL。rs688 与 rs693 两个位点的扩增条件:95 ℃预变性 6 min,前 10 个循环为:92 ℃变性 15 s,59 ℃退火 15 s,72 ℃延伸 20 s;后 30 个循环为

92 ℃ 变性 15 s,57 ℃退火 15 s,72 ℃延伸 20 s;72 ℃再延伸 2 min。rs4420638 位点扩增条件:96 ℃预变性 6 min,前 10 个循环为:88 ℃变性 10 s,72 ~ 62 ℃(每个循环降退火温度 1 ℃)退火延伸 45 s;后 30 个循环为 88 ℃变性 10 s,62 ℃退火延伸 45 s;72 ℃再延伸 2 min。HRM 分析条件:96 ℃变性 60 s,40 ℃退火 60 s,收集 70 ~ 90 ℃熔解曲线数据,分辨率为 0.15 ℃/s。依据熔解曲线峰型和位置的改变进行基因分型,随机挑选不同特征峰的 PCR 产物各 10 例送上海生工生物公司测序验证。PCR 扩增及 HRM 熔解均在 Rotor-Gene 6000 荧光定量 PCR 仪上进行。

1.6 血脂指标检测

血脂指标在兰州大学第二医院检验中心 Cobas 8000 自动生化分析仪上检测,检测项目包括总胆固醇(total cholesterol,TC)、TG、HDL-C 和 LDL-C。各检测项目参考范围 TC:2.30 ~ 5.80 mmol/L,TG:0.45 ~ 1.80 mmol/L,HDL-C:0.70 ~ 2.20 mmol/L 和 LDL-C:1.20 ~ 3.30 mmol/L。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 21.0 统计软件,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。基因型频率、基因频率、Hardy-Weinberg 平衡均采用 SHEsis 在线软件进行分析,不同基因型之间的各血脂指标比较采用单因素方差分析。在显性模型下,采用多元线性回归分析方法分析 SNP 位点与血脂水平的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象临床资料

性别间各项临床资料的统计学结果见表 2。男性具有较高的收缩压(systolic blood pressure,SBP)、舒张压(diastolic blood pressure,DBP)、体质量指数(body mass index,BMI)、TG 水平和较低的 TC 及 HDL-C 水平($P<0.05$)。两组间年龄、空腹血糖、LDL-C 指标差异均无统计学意义($P>0.05$)。

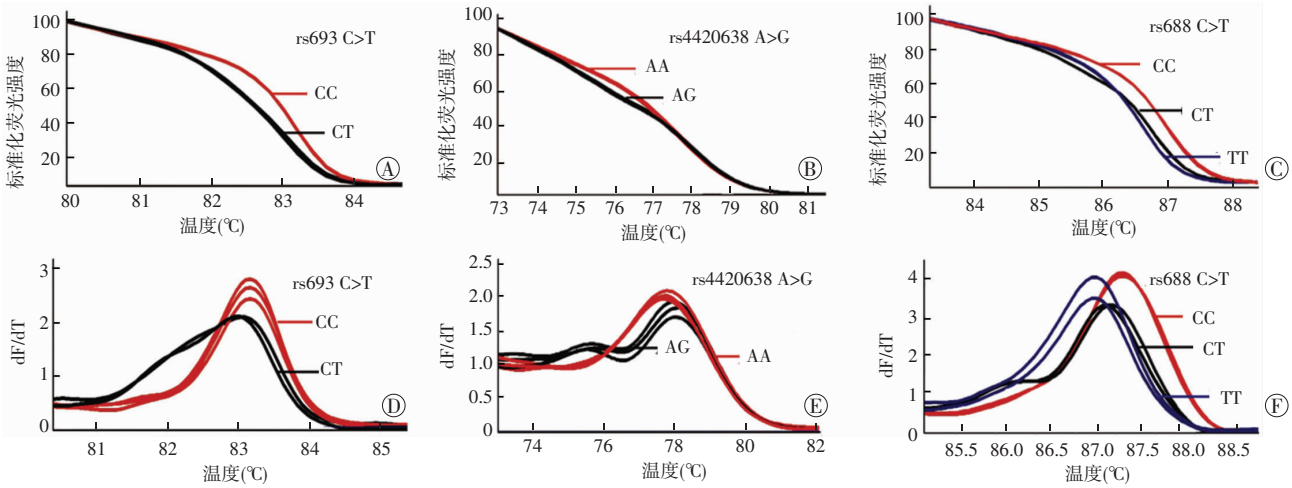
2.2 基因多态性检测结果

3 个 SNP 位点的 HRM 基因分型如图 1 所示。运用 PCR-HRM 分型技术成功地对所研究的标本进行了基因分型。Hardy-Weinberg 遗传平衡结果显示所有 SNP 位点(rs688、rs693、rs4420638)均符合 Hardy-Weinberg 平衡(χ^2 值分别为 1.780、2.228、2.734,$P>0.05$),说明本研究纳入研究对象具有群体代表性。rs688 共发现 CC、CT、TT 3 种基因型,其基因型频率分别为 64.9%、32.5%、2.6%,C 和 T 等位基因频率分别为 81.2%、18.8%;rs693 共发现 CC、CT 2 种基因型,其基因型频率分别为 87.0%、13.0%,C 和 T 等位基因频率分别为93.5%、6.5%;rs4420638 共发现 AA、AG 2 种基因型,其基因型频率分别为 85.7%、14.3%,A 和 G 等位基因频率分别为 92.9%、7.1%。与 SNP 数据库的数据相比,本研究中 rs688、rs693、rs4420638 位点的基因型频率和基因频率与日本人、中国人十分接近,但与欧洲人群相差较大,如表 3 所示。

表 2 研究对象一般临床资料($\bar{x} \pm s$)

性别	n	年龄(岁)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	BMI(kg/m^2)	空腹血糖(mmol/L)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
男	150	53.00 ± 14.60	131.84 ± 21.93	78.52 ± 10.68	24.04 ± 2.88	5.04 ± 1.28	3.76 ± 0.63	1.38 ± 0.64	1.04 ± 0.21	2.50 ± 0.58
女	312	52.48 ± 15.42	124.71 ± 16.76[b]	74.27 ± 8.45[b]	22.72 ± 3.28[b]	5.06 ± 0.89	3.94 ± 0.88[a]	1.18 ± 0.46[b]	1.29 ± 0.26[b]	2.49 ± 0.84

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与男性比较



A ~ C:分别为 rs693、rs4420638、rs688 位点标准化熔解曲线;D ~ F:分别为 rs693、rs4420638、rs688 位点求导熔解曲线

图 1 APOB、APOC-I 以及 LDLR 各基因位点 HRM 分型

2.3 不同基因型之间血脂水平分析

方差分析发现,TC、LDL-C 在 LDLR 基因 rs688 C>T 位点基因型之间的差异有统计学意义($P<0.05$),且 T 等位基因携带者具有较高的 TC 和 LDL-C 水平;TC、TG 在 APOB 基因 rs693 C>T 位点基因型之间的差异有统计学意义($P<0.05$),且 CT 基因型具有较低的 TC、TG 水平;TG 在 APOC-Ⅰ基因 rs4420638 A>G 位点基因型之间的差异有统计学意义($P<0.05$),且 AG 基因型具有较高的 TC 水平,见表 4。

2.4 血脂水平相关性分析

在显性模型下,分别以 TC、TG、LDL-C、HDL-C 为因变量,以性别、年龄、BMI、rs688 C>T、rs693 C>T、rs4420638 A>G 为自变量,进行多元线性回归分析。结果发现,rs688 T 等位基因携带者的 TC、LDL-C 水平显著高于 CC 纯合型($\beta=0.301$,$P<0.01$;$\beta=0.335$,$P<0.01$);rs693 T 等位基因携带者的 TC、TG 水平显著低于 CC 纯合型($\beta=-0.250$,$P=0.027$;$\beta=-0.162$,$P=0.029$);rs4420638 G 等位基因携带者的 TG 水平显著高于 AA 纯合型($\beta=0.180$,$P=0.016$),见表 5、6。

表 3 各 SNP 位点在不同人种间的基因型频率和基因频率的分布

SNP 位点	人种	例数	基因型频率			*P*	基因频率		*P*
			AA	AB	BB		A	B	
rs688 C>T									
	欧洲人	226	0.354	0.442	0.204	<0.01	0.575	0.425	<0.01
	日本人	172	0.698	0.291	0.012	0.355	0.843	0.157	0.416
	中国人	86	0.674	0.302	0.023	0.903	0.825	0.174	0.880
	本研究	462	0.649	0.325	0.026	-	0.812	0.188	-
rs693 C>T									
	欧洲人	226	0.248	0.522	0.230	<0.01	0.509	0.491	<0.01
	日本人	172	0.860	0.140	-	0.792	0.930	0.070	0.858
	中国人	86	0.930	0.070	-	0.148	0.965	0.035	0.456
	本研究	462	0.870	0.130	-	-	0.935	0.065	-
rs4420638 A>G									
	欧洲人	118	0.661	0.305	0.034	<0.01	0.814	0.186	<0.01
	日本人	90	0.844	0.133	0.022	0.744	0.911	0.089	0.516
	中国人	90	0.756	0.244	-	0.026	0.878	0.122	0.133
	本研究	462	0.857	0.143	-	-	0.929	0.071	-

表 3 中各个 SNP 位点在不同人群中的基因型频率及基因频率数据均来自 PubMed 中的 SNP 数据库;AA、AB、BB 表示的基因型分别为野生型、杂合突变型、纯合突变型;*P* 值是本研究的数据分别与欧洲人、日本人和中国人的数据进行的 χ^2 检验

表 4 不同基因型之间血脂水平方差分析结果 ($\bar{x}\pm s$)

SNP 位点	基因型	TC	TG	HDL-C	LDL-C
rs688	CC	3.77±0.83[b]	1.21±0.51	1.21±0.28	2.36±0.77[b]
	CT+TT	4.08±0.74	1.31±0.57	1.21±0.26	2.74±0.70
rs693	CC	3.91±0.85[a]	1.27±0.56[b]	1.21±0.29	2.52±0.80
	CT	3.68±0.48	1.06±0.24	1.23±0.14	2.34±0.45
rs4420638	AA	3.86±0.80	1.22±0.47[a]	1.21±0.27	2.48±0.75
	AG	4.00±0.86	1.39±0.80	1.20±0.28	2.60±0.88

a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与同一位点另一个基因型比较

表 5 APOB、APOC-I 及 LDLR 与 TC、TG 水平的多元线性回归分析结果

自变量	TC			TG		
	β	95% *CI*	*P*	*β*	95% *CI*	*P*
rs688	0.301	0.145,0.456	<0.01	0.042	-0.061,0.145	0.421
rs693	-0.250	-0.470,-0.029	0.027	-0.162	-0.307,-0.017	0.029
rs4420638	0.186	-0.036,0.408	0.101	0.180	0.033,0.326	0.016
性别	0.312	0.146,0.478	<0.01	-0.124	-0.233,-0.014	0.027
年龄	0.001	-0.004,0.006	0.694	-0.001	-0.004,0.002	0.561
BMI	0.037	0.012,0.062	0.004	0.027	0.010,0.043	0.002

表6 APOB、APOC-Ⅰ及LDLR与HDL-C、LDL-C水平的多元线性回归分析结果

自变量	HDL-C			LDL-C		
	β	95% CI	P	β	95% CI	P
rs688	0.041	-0.007,0.089	0.096	0.335	0.189,0.480	<0.01
rs693	-0.044	-0.112,0.025	0.209	-0.152	-0.359,0.054	0.148
rs4420638	0.025	-0.044,0.094	0.484	0.147	-0.061,0.355	0.165
性别	0.229	0.178,0.281	<0.01	0.138	-0.017,0.294	0.081
年龄	0.000	-0.001,0.002	0.604	-0.003	-0.007,0.002	0.269
BMI	-0.015	-0.023,-0.008	<0.01	0.053	0.030,0.077	<0.01

3 讨论

本研究采用PCR-HRM分型技术成功地对所研究的标本进行了基因分型,并获得LDLR基因rs688 C>T、APOB基因rs693 C>T、APOC-Ⅰ基因rs4420638 A>G位点在兰州地区汉族人群中的分布特点。与PubMed网站中的SNP数据库中的数据相比,本研究中rs688 C>T、rs693 C>T、rs4420638 A>G位点的基因型频率和基因频率与日本人、中国人比较接近,但与欧洲人群相差较大,提示SNP位点的等位基因的突变具有显著的种族差异性。

LDLR基因rs688位点位于LDLR基因的第12外显子中,虽然发生的是C>T的同义突变,但有研究表明该位点是一个功能性的突变位点,能够影响第12外显子的转录[6-7]。Gao等[8]发现rs688突变可影响LDLR的转录以及LDLR在细胞表面和溶酶体中的分布,最终使血浆TC、LDL-C的水平上升。在不同人种中的研究也表明rs688位点与TC水平增高相关[9-10]。本研究发现rs688 T等位基因具有较高的TC和LDL-C水平,与上述研究结果一致。但一项针对墨西哥西南部女性人群的研究表明rs688与血浆TC、LDL-C没有相关性,导致这种不同结果的原因可能与人种以及女性人群的绝经情况有关[11]。研究表明rs688位点对女性血浆TC、LDL-C的影响与女性绝经与否有关[7]。

APOB基因rs693位点位于APOB基因的第26号外显子中,虽然发生的是C>T的同义突变,但该位点与血脂水平密切相关,其原因可能是该位点与APOB基因或者是其他与血脂有关的基因相互关联[12]。Kathiresan等[13]研究发现rs693 T等位基因与LDL-C及TG水平的升高相关。Rodrigues等[14]通过病例对照分析发现rs693位点T等位基因携带者具有更高的TC和LDL-C水平。一项针对科威特人的研究发现rs693位点与TG、TC水平没有相关性[15]。但本研究发现rs693位点的T等位基因携带者具有更低的TC、TG水平,与上述研究结论不一致。多因素分析显示多种环境因素与血脂谱相关,这种差异性也可能与环境因素或环境-基因相互作用对血脂谱的影响有关。同时遗传背景、人种、环境因素以及研究的样本量都可能引起研究结论的不一致[12]。

APOC-Ⅰ基因rs4420638位点靠近APOC-Ⅰ基因的3′端,发生的是A>G的突变。Teslovich等[16]在对欧洲、东亚、南亚等国家人群进行候选基因研究以及Meta分析发现rs4420638基因型具有增高TC、LDL-C水平同时降低HDL-C水平的趋势。Park等[17]在韩国人群研究中发现rs4420638 G等位基因具有较高的LDL-C、TG水和较低的HDL-C水平。Liu等[18]在我国上海人群研究中发现rs4420638基因型与TC、TG、LDL-C水平增高有关,但未见与HDL-C水平显著相关。本研究发现rs4420638是TG水平的独立危险因素,但未发现其与TC、HDL-C、LDL-C水平相关。综上所述,rs4420638基因多态性对血脂代谢有着重要影响,但在不同种族中其对血脂谱的影响不同。

本研究运用HRM分型技术成功对所研究的标本进行了基因分型,发现rs693、rs688、rs4420638基因多态性在中国汉族人群中广泛存在,且具有显著的种族差异性。同时发现rs688、rs693、rs4420638位点与中国兰州地区汉族人群血脂水平相关。由于本研究纳入的是某一地区的汉族人群,样本量相对较小且单一,上述发现仍需经多中心大样本的研究进一步验证。

参考文献:

[1] 国家心血管病中心. 中国心血管病报告2014[M]. 北京:中国大百科全书出版社, 2015.

[2] Breitling C, Gross A, Buttner P, *et al*. Genetic Contribution of Variants near SORT1 and APOE on LDL Cholesterol Independent of Obesity in Children[J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0138064. DOI:10.1371/journal.pone.0138064

[3] Sandhu M S, Waterworth D M, Debenham S L, *et al*. LDL-cholesterol concentrations: a genome-wide association study[J]. Lancet, 2008, 371(9611): 483-491. DOI:10.1016/S0140-6736(08)60208-1

[4] Kathiresan S, Willer C J, Peloso G M, *et al*. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia[J]. Nat Genet, 2009, 41(1): 56-65. DOI:10.1038/ng.291

[5] Kathiresan S, Melander O, Anevski D, *et al*. Polymorphisms associated with cholesterol and risk of cardiovascular events [J]. N Engl J Med, 2008, 358(12): 1240-1249. DOI: 10.1056/NEJMoa 0706728

[6] Lee J D, Hsiao K M, Wang T C, *et al*. Mutual effect of rs688 and rs5925 in regulating low-density lipoprotein receptor splicing[J]. DNA Cell Biol, 2014, 33(12): 869-875. DOI:10.1089/dna.2014. 2577

[7] Zhu H, Tucker H M, Grear K E, *et al*. A common polymorphism decreases low-density lipoprotein receptor exon 12 splicing efficiency and associates with increased cholesterol[J]. Hum Mol Genet, 2007, 16(14): 1765-1772. DOI:10.1093/hmg/ddm124

[8] Gao F, Ihn H E, Medina M W, *et al*. A common polymorphism in the LDL receptor gene has multiple effects on LDL receptor function[J]. Hum Mol Genet, 2013, 22(7): 1424-1431. DOI: 10.1093/hmg/dds559

[9] Boright A P, Connelly P W, Brunt J H, *et al*. Association and linkage of LDLR gene variation with variation in plasma low density lipoprotein cholesterol[J]. J Hum Genet, 1998, 43(3): 153-159. DOI:10.1007/s100380050060

[10] Fu Y, Katsuya T, Higaki J, *et al*. A common mutation of low-density lipoprotein receptor gene is associated with essential hypertension among Japanese[J]. J Hum Hypertens, 2001, 15(2): 125-130.

[11] Cahua-Pablo G, Cruz M, Moral-Hernandez O D, *et al*. Elevated Levels of LDL-C are Associated With ApoE4 but Not With the rs688 Polymorphism in the LDLR Gene[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2016, 22(5): 465-470. DOI: 10.1177/1076029614568714

[12] Bentzen J, Jorgensen T, Fenger M. The effect of six polymorphisms in the Apolipoprotein B gene on parameters of lipid metabolism in a Danish population[J]. Clin Genet, 2002, 61(2): 126-134. DOI: 10.1034/j.1399-0004.2002.610207.x

[13] Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, *et al*. Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglyecrides in humans[J]. Nat Genet, 2008, 40(2): 189-197. DOI: 10.1038/ng.75

[14] Rodrigues A C, Sobrino B, Genvigir F D, *et al*. Genetic variants in genes related to lipid metabolism and atherosclerosis, dyslipidemia and atorvastatin response[J]. Clin Chim Acta, 2013, 417: 8-11. DOI:10.1016/j.cca.2012.11.028

[15] Al-Bustan S A, Alnaqeeb M A, Annice B G, *et al*. Genetic association of APOB polymorphisms with variation in serum lipid profile among the Kuwait population[J]. Lipids Health Dis, 2014, 13: 157. DOI:10.1186/1476-511X-13-157

[16] Teslovich T M, Musunuru K, Smith A V, *et al*. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids [J]. Nature, 2010, 466(7307): 707-713. DOI: 10.1038/nature09270

[17] Park M H, Kim N, Lee J Y, *et al*. Genetic loci associated with lipid concentrations and cardiovascular risk factors in the Korean population[J]. J Med Genet, 2011, 48(1): 10-15. DOI: 10.1136/jmg.2010.081000

[18] Liu Y, Zhou D, Zhang Z, *et al*. Effects of genetic variants on lipid parameters and dyslipidemia in a Chinese population [J]. J Lipid Res, 2011, 52(2): 354-360. DOI: 10.1194/jlr.P007476

(收稿:2016-01-05;修回:2016-03-15)

(编辑 邓强庭)