基础研究 文章编号:0253-3626(2011)01-0035-03

心血管疾病易感基因 SNPs 对中国汉族男性人群血脂的影响分析

蔡晓钟[1],唐晓君[2],戴 勇[3],唐 敏[1]

(1.重庆医科大学医学检验系实验诊断教研室,重庆 400016;2.重庆医科大学公共卫生学院流行病学教研室,重庆 400016;3.深圳市人民医院临床研究中心,深圳 518020)

【摘 要】目的:了解中国汉族男性人群中 16 个心血管疾病易感基因 SNPs 与血脂的关系。方法:采用基因芯片技术和单因素方差、多元线性逐步回归方法,分析 409 例男性体检者 16 个 SNPs 的基因型,同时测定其血浆总胆固醇(Total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、低密度脂蛋白(Low-density lipoprotein, LDL)和高密度脂蛋白(High density lipoprotein, HDL)水平。结果:在中国汉族男性人群中,$ANP^{2\,238}$C、$NPRC^{-55}$C、$ApoB^{Ecor\,1}$+、$ApoC3^{3\,206}$T 和 $ApoE^{112,158}$ 的 E3E4,$Serpina3^{n4\,943}$ AG 有升高 TC 趋势;$ApoC3^{3\,206}$T 和 $MTHFR^{677}$C 亦可能与 TG 增高相关;$ANP^{2\,238}$C、$ET\text{-}2^{985}$G 和 $ApoE^{112,158}$E3E4 则与 LDL 水平增高有一定联系;$ET\text{-}2^{985}$A 则可能使 HDL 增高。结论:内皮系统相关的 $ANP^{2\,238}$、$NPRC^{-55}$ 和 $ET\text{-}2^{985}$,载脂蛋白基因中的 $ApoB^{Ecor\,1}$、$ApoC3^{3\,175}$、$ApoC3^{3\,206}$ 和 $ApoE^{112,158}$,以及 $MTHFR^{677}$ 和 $SerpinA3^{n4\,934}$ 等 9 个 SNPs 可能与中国汉族男性的血脂调控有关。

【关键词】单核苷酸多态性;基因芯片;血浆脂蛋白

【中国图书分类法分类号】R596.3 【文献标志码】A 【收稿日期】2009-09-07

The variance analysis and multiple linear regression analysis for 16 cardiovascular disease predisposing gene SNPs and plasma lipoproteins in male Chinese Han's population

CAI Xiao-zhong, et al

(*Department of Clinical Laboratory, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To learn the association between 16 SNPs of 12 cardiovascular disease predisposing genes and the levels of blood TC, TG, LDL and HDL in male Chinese Han's population. *Methods*: The 16 SNPs genotypes of 409 Han male whose native places were almost over the mainland of China were detected. The relationships between the SNPs and blood TC, TG, LDL and HDL were analyzed with variance analysis and multiple linear regression analysis. *Results*: Variance analysis and/or multiple linear regression showed that: $ANP^{2\,238}$C, $NPRC^{-55}$C, $ApoB^{Ecor\,1}$+, $ApoC3^{3\,206}$, $ApoE^{112,158}$E3E4 and $Serpina3^{n4\,943}$ AG were associated with the elevation of TC; $ApoC3^{3\,206}$T and $MTHFR^{677}$C might have related with TG elevation; $ANP^{2\,238}$C, $ET\text{-}2^{985}$G and $ApoE^{112,158}$E3E4 might increase the level of blood LDL. $ET\text{-}2^{985}$ A could increase the value of HDL. *Conclusions*: In male Chinese Han's population, $ANP^{2\,238}$, $NPRC^{-55}$, $ET\text{-}2^{985}$, $ApoB^{Ecor\,1}$, $ApoC3^{3\,175}$, $ApoC3^{3\,206}$, $ApoE^{112,158}$, $MTHFR^{677}$ and $SerpinA3^{n4\,934}$ could influence the regulation of plasma lipoprotein.

【Key words】polymorphism single nucleotide; oligonucleotide array sequence analysis; plasma lipoprotein

高脂血症是动脉粥样硬化、冠心病等心脑血管疾病等疾病的主要危险因素。影响血脂水平的主要有两大类:一种是原发性,因遗传缺陷或环境因素相互作用引起;一种为继发性,由全身性疾病所致,在原发性疾病治愈后脂蛋白紊乱可纠正。随着人类基因组计划的顺利实施,了解血脂水平与基因多态性的关系,对预防、诊断和控制血脂和相关心血管疾病具有重要的意义[1]。本研究采用基因芯片的技术,在调查中国人群中多个心血管疾病易感基因 SNPs(包括 RAAS 中的 2 个 SNPs:AGT^{235} 和 ACE^{Alu};与内皮系统相关的 4 个 SNPs:$NOS3^{298}$、$ET\text{-}2^{985}$、$ANP^{2\,238}$ 和 $NPRC^{-55}$;载脂蛋白相关基因的 7 个 SNPs:$ApoB^{Msp\,1}$、$ApoB^{Xmn\,1}$、$ApoB^{Ecor\,1}$、$ApoC3^{3\,175}$、$ApoC3^{3\,206}$ 和

作者介绍:蔡晓钟(1962-),男,高级实验师,研究方向:遗传疾病的基因诊断。

通信作者:唐 敏,女,副教授,Email: catom@126.com。

基金项目:重庆医科大学资助项目(编号:XBYB2008087;NS-FLX200636)。

ApoE^{112,158}和其他 4 个分别涉及离子通道、代谢等方面的SNPs：KCNQ1^{140}、MTHFR^{677}、CYP46^{rs754203}和 SerpinA3^{rs4934})的基因型与频率的基础上[2]，探讨中国汉族人群血脂的基因影响因素。

1　材料与方法

1.1　研究对象

2006 年 8 月 ~2006 年 12 月在深圳市人民医院进行健康体检的中国汉族男性 409 人[(48.47 ± 4.30)岁]，样本均经供者知情同意用于本研究。

1.2　研究方法

1.2.1　标本采集　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，供基因芯片检测。存放于 -20℃备用。

1.2.2　血脂检测　血浆总胆固醇(Total cholesterol，TC)、甘油三酯(Triacylglycerol，TG)、高密度脂蛋白(High density lipoprotein，HDL)和低密度脂蛋白(Low density lipoprotein，LDL)均采用氧化酶法，以 Beckmanlx20 全自动生化仪检测。

1.2.3　17 个心血管疾病相关 SNPs 基因型分析　采用基因芯片技术同时进行 17 个 SNPs 基因型分析。DNA 抽提、PCR 扩增、杂交、显色及检测等步骤都严格按照上海百傲公司的 Baio 基因型检测芯片试剂盒使用说明书进行，芯片用 BaiO 基因芯片识读仪检测，检测图像经 Array Doctor 软件分析。

1.3　统计方法

所有资料均以 SPSS11.5 软件包分析。采用单因素方差和多元线性回归分析人群样本中各 SNPs 对 TC、TG、HDL 和 LDL 的作用(P<0.05 差异具有统计学意义)。

2　结　果

2.1　研究人群一般情况

年龄和血浆 TC、TG、LDL 和 HDL 分布皆符合正态分布。见表 1。

2.2　SNPs 与中国汉族男性人群血脂分析

由于前期研究中[2]，发现正常人群中，17 个 SNPs 中，KCNQ1^{140}只有 SS 基因型，故本研究中只分析另外 16 个 SNPs 与血脂的关系。

2.2.1　单因素方差分析结果　ET-2^{985}各亚型间 LDL 的差异具有统计学意义，其 F 和 P 分别为 3.942 和 0.020；ANP$^{2\,238}$各亚型间 TC 和 LDL 的差异具有统计学意义，其 F 和 P 分别为(7.138，0.008；5.944，0.015)；ApoC3$^{3\,175}$各亚型间 TG 比较，ApoB$^{Ecor\,I}$和 ApoE^{112,158}各亚型间的 TC 比较，P 值接近 0.05。

2.2.2　多元线性逐步回归分析　分别以 TC、TG、LDL 和 HDL 为因变量，AGT^{235}、ACE^{Alu}、NOS3^{298}、ET-2^{985}、ANP$^{2\,238}$、NPRC$^{(-55)}$、ApoB$^{Msp\,I}$、ApoB$^{Xal\,I}$、ApoB$^{Ecor\,I}$、ApoC3$^{3\,175}$、ApoC3$^{3\,206}$、ApoE^{112,158}、MTHFR^{677}、CYP46$^{rs754\,203}$和 SerpinA3$^{rs4\,934}$等 16 个 SNPs 分类变量和年龄作自变量，采用多元逐步回归方法引入回归模型(P<0.05 进入，P>0.10 排出)。

各方程的 Durbin-Watson 统计量都接近 2，可见残差间没有明显的相关性。各方程决定系数 R^2 较小，分别为 10%，1.2%、5.8%和 3.3%。各方程的 P 都小于 0.05，故各回归方程具有统计学意义。

各多元线性逐步回归方程中常数项的 P 值均小于 0.05，提示 TC、TG、LDL 和 HDL 还受到除方程中列出的基因以外的因素(包括环境和其他基因因素)影响。各方程结果分别提示 ANP$^{2\,238}$、ApoE^{112,158}、NPRC^{-55}、ApoC3$^{3\,206}$、ApoB$^{Ecor\,I}$和 SerpinA3$^{rs4\,943}$基因型对 TC 有影响，MTHFR^{677}基因型与 TG 水平有关，而 ET-2^{985}、ANP$^{2\,238}$、ApoC3$^{3\,206}$和 ApoE^{112,158}基因型则对 LDL 水平可能有关系，ET-2^{985}基因型则可能对 HDL 有影响。

2.2.3　SNPs 各亚型与血脂之间的关系　ANP$^{2\,238}$的 C、ApoC3$^{3\,206}$的 T 和 NPRC^{-55}的 C 等位基因可能使血清 TC 增高；而 ApoB$^{Ecor\,I}$的则可能是高 TC 的保护基因。ApoE^{112,158}的 E3E4 和 Serpina3$^{rs4\,943}$的 AG 杂合子个体 TC 明显增高。ApoC3$^{3\,175}$的 G 和 MTHFR^{677}的 C 与对应的等位基因相比，有使 TG 增高的趋势。ANP$^{2\,238}$的 C 和 ApoC3$^{3\,206}$的 T 与对应的等位基因相比，有使 TG 增高的趋势，ET-2^{985}的 A 则有明显的降低 LDL 的趋势；ApoE^{112,158}的 E3E4 杂合子个体 LDL 明显高于其他基因型。ET-2^{985}的 A 与对应的等位基因相比有使 HDL 增高的趋势。

3　讨　论

本研究中采用单因素方差和多元线性回归方法，分析 16 个心血管易感基因 SNPs 与血清 TC、TG、LDL 和 HDL 水平关系，内皮系统相关的 ANP$^{2\,238}$、NPRC^{-55}和 ET-2^{985}，载脂蛋白基因中的 ApoB$^{Ecor\,I}$、ApoC3$^{3\,175}$、ApoC3$^{3\,206}$和 ApoE^{112,158}，以及 MTHFR^{677}和 SerpinA3$^{rs4\,934}$等 9 个 SNPs 可能与中国汉族男性的血脂调控有关。与本课题组在中国老年人中的研究[3]结果比较，所发现的影响中国汉族男性的血脂基因因素更广，可

表 1　研究人群一般情况

	例数	最小值	最大值	平均值	标准差
年龄(岁)	409	28	59	48.47	4.30
TC(mmol/L)	409	3.15	9.34	5.27	0.91
TG(mmol/L)	409	0.23	10.15	1.93	1.32
LDL(mmol/L)	409	0.73	6.09	3.26	0.81
HDL(mmol/L)	409	0.52	4.47	1.18	0.39

能与病例数、年龄、性别等有关。

内皮系统相关 SNPs：单因素方差分析和多元线性回归方程分析结果皆提示 $ANP^{2\,238}C$ 等位基因有升高中国汉族男性 TC 和 LDL 的趋势，Dedoussis 等[4]在希腊人中的研究则没有发现 $ANP^{2\,238}$ 与 LDL 和 TC 相关。本研究还发现 $ET\text{-}2^{985}$ A 则有明显的降低 LDL，增加 HDL 的趋势；而 $NPRC^{-55}$ 的 C 等位基因可能使血清 TC 增高。Sarzani 等[5,6]在意大利人群的研究亦发现 $NPRC^{-55}C$ 等位基因与肥胖相关。

载脂蛋白相关 SNPs：多元线性回归分析发现 $ApoB^{Xbal\ I}$ 的 -- 与 +- 比，TC 降低，这与 Duma[7]在土耳其人群和巴西人群的研究结论相同。研究还发现 $ApoC3^{3\,206}$ 的 T 等位基因可能使血清 TC 和 TG 增高；$ApoC3^{3\,175}$ 的 G 与对应的等位基因相比，有使 TG 增高的趋势；$ApoE^{112,158}$ E3E4 杂合子的 TC 和 LDL 明显增高，这与 Stancakova，Franca，肖志杰等[8-11]在不同人群中研究得到的结论相似。

多元线性回归方程还提示：$MTHFR^{677}$ 的 C 与对应的等位基因相比，有使 TG 增高的趋势；这与 Zuntar[12]和 Yilmaz[13]等的研究结果吻合。而 $Serpina3^{ns4\,943}$ 的 AG 杂合子个体 TC 明显增高。

本研究中影响中国汉族男性血脂的基因涉及广，包括内皮系统，载脂蛋白和与代谢相关的基因等，相关 SNPs 或导致相关蛋白质结构改变（$ANP^{2\,238}$、$ApoB^{Xbal\ I}$、$ApoE^{112,158}$、$MTHFR^{677}$ 和 $SerpinA3^{ns4\,934}$）或处于基因的启动子区域，影响该基因产物的表达（$NPRC^{-55}$ 和 $ET\text{-}2^{985}$），或为中性突变（$ApoC3^{3\,175}$ 和 $ApoC3^{3\,206}$），可能作为基因标记，与本基因的其他影响血脂的突变或相邻基因的突变连锁，但本实验分析结果并不能揭示同一系统或同一基因中 SNPs 的相互作用关系。另一方面，本研究中 16 个心血管易感基因 SNPs 中有 9 个 SNPs 与血清 TC、TG、LDL 和 HDL 水平关系，比例超过 50%。其提示很多心血管疾病的发生和发展都与血脂有关，那么在心血管疾病的治疗和预后判断中，应该更加重视血脂的问题。

参 考 文 献

[1] 沈洪兵. 基因多态性与疾病易感性的分子流行病学研究：问题与策略[J]. 中华流行病学杂志，2004，25(9)：766-769.

[2] 唐 敏，戴 勇，蔡晓钟，等.中国汉族人群 17 个心血管疾病易感基因位点基因型和基因频率分析[J]. 第四军医大学学报，2007，28(17)，1609-1613.

[3] 唐 敏，戴 勇，蔡晓钟，等. 应用寡核苷酸微阵列分析老年人血脂相关基因[J].中国老年学杂志，2007，6(27)：1476-1479.

[4] Dedoussis G V，Maumus S，Skoumas J.Natriuretic peptide Val7Met substitution and risk of coronary artery disease in Greek patients with familial hypercholesterolemia[J]. J Clin Lab Anal，2006，20(3)：98-104.

[5] Sarzani R，Strazzµllo P，Salvi F，et al.Natriuretic peptide clearance receptor alleles and susceptibility to abdominal adiposity[J].Obes Res，2004，12(2)：351-356.

[6] Sarzani R，Dessi-Fulgheri P，Salvi F，et al. A novel promoter variant of the natriuretic peptide clearance receptor gene is associated with lower atrial natriuretic peptide and higher blood pressure in obese hypertensives [J]. J Hypertens，1999，17(9)：1301-1305.

[7] Duman B S，Turkoglu C，Akpinar B，et al. Genetic variations of the apolipoprotein B gene in Turkish patients with coronary artery disease[J]. Ann Hum Biol，2005，32(5)：620-629.

[8] Stancakova A，Baldaufova L，Javorsky M，et al. Effect of gene polymorphisms on lipoprotein levels in patients with dyslipidemia of metabolic syndrome[J]. Physiol Res，2006，55(5)：483-490.

[9] Herron K L，Lofgren I E，Adiconis X，et al. Associations between plasma lipid parameters and ApoC3 and ApoA4 genotypes in a healthy population are independent of dietary cholesterol intake[J].Atherosclerosis，2006，184(1)：113-120.

[10] de Franca E，Alves J G，Hutz M H. ApoA1/C3/A4 gene cluster variability and lipid levels in Brazilian children[J].Braz J Med Biol Res，2005，38(4)：535-541.

[11] 肖志杰，赵水平，聂 赛，等.载脂蛋白 E 基因多态性对血脂的影响[J]. 中华流行病学杂志，2005，26(7)：533-536.

[12] Zuntar I，Antoljak N，Vrkic N，et al.Association of methylenetetrahydrofolate(MTHFR) and apolipoprotein E(apo E) genotypes with homocysteine，vitamin and lipid levels in carotid stenosis[J].Coll Antropol. 2006，30(4)：871-878.

[13] Yilmaz H，Agachan B，Isbir T，et al.Is there additional effect of MTHFR C677T mutation on lipid abnormalities in renal allograft recipients[J].Transplant Proc，2003，35(4)：1390-1392.

（责任编辑：冉明会）