

文章编号 1006-8147(2015)02-0117-04

论 著

CETP TaqIB 基因多态性与血脂及冠心病相关性研究

刘 瑞¹, 刘玉洁², 何 乐²

(1.天津医科大学研究生院, 天津 300070; 2.天津市胸科医院心内科, 天津 300222)

摘要 目的:探索 CETP TaqIB 基因多态性与脂代谢及冠心病(CHD)发生的相关性。方法:选择天津市胸科医院住院病人 430 例,分为 CHD 组 322 例,对照组 108 例。入院后测定总胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、载脂蛋白 A1(Apo-A1)、载脂蛋白 B(Apo-B)水平。采用 PCR-RFLP 方法测定研究对象 CETP TaqIB 基因型,分析 CETP TaqIB 基因多态性与血脂水平及冠心病发生的相关性。结果:(1)在 CHD 组,CETP TaqIB 基因型 B1B2、B2B2 的 HDL-C 水平 $[(1.29\pm0.35)\text{ mmol/L}, (1.16\pm0.36)\text{ mmol/L}]$ 较基因型 B1B1 $[(1.09\pm0.22)\text{ mmol/L}]$ 相比有增高的趋势,但无显著的统计学差异($P>0.05$),CHO、TG、LDL-C、Apo-A1、Apo-B 水平均无显著差异($P>0.05$);对照组基因型间血脂水平无显著差异。(2)B1B1、B1B2、B2B2 基因型频率在 CHD 组为 35.1%、45.0%、19.9%,在对照组为 37.0%、43.5%、19.5%;B1、B2 等位基因频率在 CHD 组及对照组分别为 57.6%、58.6%和 42.4%、41.2%。两组 CETP TaqIB 基因型及等位基因分布无显著统计学差异($P>0.05$)。结论:天津地区人群 CETP TaqIB 等位基因 B2 频率分布与国内其他地区人群相一致;尚不足以证明 CETP TaqIB 基因多态性与冠心病存在相关性。

关键词 冠心病; CETP; 血脂; 基因多态性

中图分类号 R541.4

文献标志码 A

Studies on the correlation between CETP TaqIB gene polymorphism and blood lipid and coronary heart disease

LIU Rui¹, LIU Yu-jie², HE Le²

(1.Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2.Department of Cardiology, Chest Hospital of Tianjin, Tianjin 300222, China)

Abstract Objective: To investigate the correlation between CETP TaqIB gene polymorphism and lipid metabolism and coronary heart disease (CHD). **Methods:** A total of 430 patients in Tianjin Chest Hospital were selected in the analysis. All the enrolled patients were divided into CHD group ($n=322$) and the control group ($n=108$). After admission total cholesterol (CHO), triglyceride (TG), high density lipoprotein (HDL-C), low density lipoprotein (LDL-C), apolipoprotein A1 (ApoA1), apolipoprotein B (ApoB) were tested. PCR-RELP was executed to determine the genotypes of CETP TaqIB. **Results:** (1) In the CHD group, the CETP TaqIB genotype B1B2, B2B2 levels of HDL-C $[(1.29\pm0.35)\text{ mmol/L}, (1.16\pm0.36)\text{ mmol/L}]$ were higher than genotype B1B1 level of HDL-C $[(1.09\pm0.22)\text{ mmol/L}]$, but no statistically significant difference ($P>0.05$) was found. The levels of CHO, TG, LDL-C, Apo-A1, Apo-B were statistically significant. No significant difference was found in the level of lipid in the control group genotype. (2) The frequencies of genotype B1B1, B1B2 and B2B2 were 35.1%, 45.0%, 19.9% in CHD group, and 37.0%, 43.5%, 19.5% in the control group. The frequencies of B1, B2 allele were 57.6%, 58.6% in CHD group, and 42.4%, 41.2% in the control group. No statistical significance in genotype and allele frequency was found between CHD group and the control group ($P>0.05$). **Conclusion:** CETP TaqIB gene B2 people in Tianjin area is consistent with other parts of the country. The existence of correlation between CETP TaqIB gene polymorphism and coronary heart disease needs further evidence.

Key words coronary heart disease; CETP; lipid; gene polymorphism

冠心病(CHD)的发病机制十分复杂,脂代谢异常是其主要发病机制之一,大量流行病学研究表明,高密度脂蛋白(HDL-C)是逆向转运的内源性胆固醇酯,其主要作用是抗炎、抗氧化、保护血管内皮功能等^[1],进而降低冠心病的发生率。胆固醇酯转运蛋白(cholesteryl ester transfer protein, CETP)是胆固

醇逆向转运的关键蛋白,介导胆固醇酯和甘油三酯(TG)在密度脂蛋白和含载脂蛋白 B(Apo-B)的低密度脂蛋白(LDL-C)和极低密度脂蛋白间转运,其主要是将 HDL-C 中胆固醇酯转运到富含甘油三酯的脂蛋白中,富含甘油三酯的脂蛋白连同胆固醇酯一起通过肝脏上的受体介导进入肝脏,从循环中清除,从而影响血清中 HDL 的浓度、颗粒大小及构型^[2]。TaqIB 是 CETP 比较常见的基因位点,从目前国内外研究可看出,关于该位点多态性与冠心病发生有

基金项目 天津市卫生局科技基金资助项目(2013KY34)

作者简介 刘瑞(1989-),女,硕士在读,研究方向:心血管疾病;通信作者:刘玉洁, E-mail: yujieliu2011@126.com。

无相关性尚存在争议。本研究对天津地区部分人群 CETP TaqIB 基因多态性进行分析,探索 CETP TaqIB 基因多态性与脂代谢及冠心病发生有无相关性,从而为患者提供更科学更有效的个体化治疗。

1 资料和方法

1.1 研究对象 本研究所选的对象为 2013 年 8 月-2014 年 4 月在天津市胸科医院接受住院治疗并行冠状动脉造影的患者,共 430 例。入选标准:近期 1 月未服用调脂药物,接受冠脉造影患者。排除标准:肝肾疾患、甲状腺疾病、炎症性疾病、恶性肿瘤、近期脑血管疾病、免疫性疾病及合并严重感染者。

1.2 分组 根据冠状动脉造影结果分组:冠状动脉造影检查显示冠脉血管直径狭窄 $\geq 50\%$ 者为有意义狭窄可确定为 CHD 组,冠脉血管正常或狭窄 $<50\%$ 者可排除冠心病确定为对照组。按照基因型可分为 B1B1 组、B1B2 组、B2B2 组。

1.3 基本资料采集及生化指标的测定 记录研究对象的性别、年龄、吸烟史、糖尿病病史及高血压病史。采集空腹 12 h 后的静脉血 5 mL,应用日本 OLYMPUS 全自动生化分析仪测定总胆固醇(CHO)、TG、HDL-C、LDL-C、载脂蛋白 A1(Apo-A1)、载脂蛋白 B(Apo-B)水平。

1.4 CETP TaqIB 基因多态性测定

1.4.1 DNA 提取 采集空腹静脉血 5 mL,EDTA 抗凝,用低渗溶血法提取外周白细胞 DNA,置于 -20°C 冰箱保存。

1.4.2 引物设计 上游引物序列:5'-CACTAGC-CCAGAGAGAGGAGTGCC-3';下游引物序列:5'-

CTGAGCCCAGCCGCACACTAAG-3'。

1.4.3 PCR 扩增 PCR 扩增体系共 25 μL ,包括引物 1 μL ,缓冲液 5 μL ,dNTP 0.5 μL ,Taq 聚合酶 0.3 μL , H_2O 17.2 μL ,DNA 模板 1 μL 。经过变形、退火、延伸三步循环。扩增时间为 1.5 h。PCR 产物行 1% 琼脂糖凝胶电泳 40 min,紫外灯下可见扩增的片段。PCR 产物 12 μL ,限制性内切酶 *TaqI* B1 μL ,缓冲液 1.8 μL , H_2O 3.2 μL ,混匀后离心,放置行 37 $^{\circ}\text{C}$ 电热恒水温箱水浴过夜,将酶切产物行 2%的琼脂糖凝胶电泳分析,观察酶切产物,紫外灯下判断基因型。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件处理相关数据。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验;两组间基因型与等位基因频率采用 χ^2 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料比较 通过冠脉造影检查分析 CHD 组 322 例,对照组 108 例。CHD 组与对照组相比较:年龄、性别、高血压、糖尿病、吸烟及血脂水平均存在统计学差异($P<0.05$)(表 1)。

2.2 CHD 组与对照组不同基因型与血脂水平比较

CHD 组 322 例,基因型 B1B1 113 例,基因型 B1B2 145 例,基因型 B2B2 64 例,基因型 B1B2、B2B2 的 HDL-C 水平较基因型 B1B1 相比有增高趋势,但未达到显著差异($P>0.05$);其他血脂水平均无差异($P>0.05$)。对照组基因型 B1B1 40 例、基因型 B1B2 47 例、基因型 B2B2 21 例,基因型 B1B2、B2B2 血脂水平较基因型 B1B1 相比无显著差异($P>0.05$)(表 2)。

表 1 CHD 组和对照组临床基本资料比较

Tab 1 Comparison of the basic clinical data between CHD group and the control group

分组	<i>n</i>	年龄/ 岁	性别 (男)/%	高血 压/%	糖尿 病/%	吸烟 /%	CHO/ (mmol/L)	TG/ (mmol/L)	HDL-C/ (mmol/L)	LDL-C/ (mmol/L)	Apo-A1/ (g/L)	Apo-B/ (g/L)
CHD 组	322	61.05 \pm 8.59	65.5	58.1	35.1	26.4	4.99 \pm 1.22	2.01 \pm 1.11	1.17 \pm 0.32	3.09 \pm 0.95	1.07 \pm 0.26	1.13 \pm 0.35
对照组	108	58.31 \pm 8.68	34.2	42.6	13.9	38.9	4.71 \pm 0.95	1.75 \pm 0.99	1.25 \pm 0.35	2.82 \pm 0.77	1.21 \pm 0.27	1.02 \pm 0.82
χ^2 或 <i>t</i>		2.838	32.390	7.809	17.393	-6.317	2.513	2.197	-2.375	2.734	-4.689	2.734

表 2 TaqIB 不同基因型组中血脂水平的比较

Tab 2 Comparison of gene TaqIB lipid levels in different genotype groups

分组	基因型	<i>n</i>	TG/(mmol/L)	CHO/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	Apo-A1/(g/L)	Apo-B/(g/L)
CHD 组	B1B1	113	2.05 \pm 0.71	4.660 \pm 0.34	1.09 \pm 0.22	2.84 \pm 0.52	1.04 \pm 0.13	0.99 \pm 0.15
	B1B2	145	1.85 \pm 0.79	3.89 \pm 1.68	1.29 \pm 0.35	3.18 \pm 0.59	1.10 \pm 0.31	1.03 \pm 0.41
	B2B2	64	2.02 \pm 1.09	5.00 \pm 1.38	1.16 \pm 0.36	3.16 \pm 1.17	1.03 \pm 0.24	1.21 \pm 0.39
对照组	B1B1	40	1.53 \pm 0.64	4.52 \pm 0.80	1.19 \pm 0.35	2.73 \pm 0.68	1.15 \pm 0.27	0.88 \pm 0.20
	B1B2	47	1.75 \pm 1.33	4.79 \pm 1.16	1.18 \pm 0.37	2.60 \pm 0.68	1.14 \pm 0.30	0.92 \pm 0.37
	B2B2	21	2.05 \pm 1.22	4.76 \pm 0.83	1.23 \pm 0.33	2.84 \pm 0.72	1.20 \pm 0.28	0.95 \pm 0.28

2.3 CETP TaqIB 等位基因、基因型分布及与冠心病关系 基因型 B1B1 在 CHD 组和对照组中的分布频率分别为 35.1%和 37.0%, 基因型 B1B2 在 CHD 组和对照组中的分布频率分别为 45.0%和 43.5%, 基因型 B2B2 在 CHD 组和对照组中的分布频率分别为 19.9%和 19.5%。对两组人群中 TaqIB 基因型分布进行 χ^2 检验,各基因型在两组间分布无显著差异($P>0.05$)。B1 等位基因频率在 CHD 组与对照组分别为 57.6%及 58.8%;B2 等位基因频率在两组间分别为 42.4%及 41.2%, 两者比较亦无统计学差异($P>0.05$)。研究对象中 B1、B2 的等位基因频率分别为 0.58、0.42(表 3)。

表 3 TaqIB 基因型及等位基因频率分布[n(%)]

Tab 3 The genotype and allele frequency of gene TaqIB in two groups[n(%)]

分组	n	基因型			等位基因频率	
		B1B1	B1B2	B2B2	B1	B2
CHD 组	322	113(35.1)	145(45.0)	64(19.9)	371(57.6)	273(42.4)
对照组	108	40(37.0)	47(43.5)	21(19.5)	127(58.8)	89(41.2)
χ^2	-	0.135			0.020	
P	-	0.935			0.967	

3 讨论

冠心病是指冠状动脉粥样硬化使管腔狭窄或阻塞,导致心肌缺血、缺氧而引起的心脏病。冠心病已成为人类死亡率最高的疾病之一,世界卫生组织指出:全球每年心血管病人约 1 700 万人,在欧美等发达国家,冠心病死亡率已超过所有癌症致死率的总和,成为第一位的死亡病因,同时也是中国居民死亡比例构成中上升最快的疾病^[3]。冠心病的发生机制十分复杂,曾有多种学说从不同角度来阐述,包括脂肪浸润学说、血小板聚集和血栓形成学说以及平滑肌细胞克隆学说。同时遗传因素在冠心病的发生发展中也占着重要的地位,随着分子生物学技术的发展,冠心病的基因机制也越来越受到人们的关注,其发生相关基因涉及炎症反应系统、血压调节系统、糖类及脂类代谢的调节系统等^[4-5],CETP 就是被广泛认为的冠心病易感基因之一^[6]。CETP 是分子量为(70~74)×10³的单链高疏水糖蛋白,由肝脏、脾脏及脂肪组织合成并分泌至血液,参与循环。CETP 通过介导 HDL-C 与 VLDL 及 LDL 之间脂蛋白与甘油三酯的转运,影响血浆中 HDL-C 浓度水平及颗粒大小,其在促进胆固醇的逆向转运中起着重要的作用^[7]。另外,研究发现 CETP 基因多态性可影响 CETP 的血浆浓度及其活性,CETP 水平升高,活性增强,可加快 CE 的转运率,导致 HDL-C 水平

降低^[8]。血浆 HDL-C 浓度是由非遗传因素和遗传因素共同决定的,遗传因素约占 23%~84%^[9]。研究表明 HDL 浓度与冠心病的发生成负相关,其是冠心病的保护因素^[10]。大量研究显示 CETP 基因中 TaqIB 基因多态性具有普遍性。TaqIB 基因位点是位于第一内含子中第 277 位核苷酸,PCR-RFLP 结果显示,PCR 产物为 526 bp 片段,依据酶切位点是否存在分为 3 种基因型:B1B1、B1B2、B2B2。本研究测序后结果与 PCR-RFLP 结果一致。

近年来 CETP TaqIB 基因多态性与心血管疾病关系的研究尚处于初级阶段。从目前研究可看出,CETP TaqIB 基因多态性与冠心病发生的关系尚未达到统一意见。Ordewas 等^[11]对 Framingham 家系调查结果表明 B2 等位基因与血浆 CETP 活性降低、血浆 HDL-C 水平升高相关,从而降低冠心病的发生率。Borggreve 等^[12]对荷兰 8 289 名人群进行研究,结果显示 B2 等位基因使 HDL-C 浓度水平升高,然而该等位基因携带者冠心病的患病率同样也升高了,因此推断 TaqIB 多态性尚不足以作为冠心病的预测因子。本研究中经过基因型测定及与血脂水平分析显示:CHD 组中基因型 B1B2 的 HDL-C 水平较基因型 B1B1 增高,基因型 B2B2 的 HDL-C 水平较基因型 B1B1 增高,虽然均未达到统计学差异,但相比有梯度增高趋势;对照组基因型 B1B1、B1B2、B2B2 的 HDL-C 水平无显著差异。关于等位基因频率分布,既往研究显示我国南方人群的 B2 等位基因频率为 0.46^[13],我国北方人群的 B2 等位基因频率为 0.437^[14],本研究 CETPTaqIB B2 等位基因频率为 0.42,和我国其他地区人群等位基因频率基本相似。陈筱潮等^[15]通过将 1 161 名 CHD 患者和 1 149 名对照者纳入 Meta 分析进行统计分析,研究表明 TaqIB 酶切位点多态性与中国人冠心病易感性相关,提示 B1 等位基因可能是冠心病的遗传危险因素。然而,周代峰等^[16]的研究表明 CETP TaqIB 基因多态性与冠心病无明显相关性。本研究显示 CHD 组与对照组基因型与基因分布均未达到统计学意义,因此表明尚不足以证明天津地区人群 CETP TaqIB 基因多态性与冠心病发生存在相关性。本研究样本例数偏少,其结果能否证实 CETP TaqIB 基因多态性与脂代谢及冠心病发生存在相关性仍需我们扩大样本量来进一步证实。

参考文献:

- [1] 刘静,赵冬,秦兰萍,等. 低密度脂蛋白胆固醇与心血管病发病关系的前瞻性研究[J]. 中华心血管病杂志, 2001,29(9):561
- [2] de Simone G, Devereux R B, Chinali M, et al. Metabolic syndrome

- and left ventricular hypertrophy in the prediction of cardiovascular events: the strong Heart Study[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2009, 19(7):98
- [3] He J, Gu D, Wu X, et al. Major causes of death among men and women in China[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(11):1124
- [4] Badimon L, Vilahur G, Padro T. Nutraceuticals and atherosclerosis: human trials[J]. *Cardiovasc Ther*, 2010, 28(4):202
- [5] Mitchell L E, Long J, Garbarini J, et al. Variants of folate metabolism genes and risk of Left-Sided cardiac defects[J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2010, 88(1):48
- [6] Musunuru K, Lettrec G, Young T, et al. Candidate gene association resource(CARe) design, methods, and proof of concept[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2010, 3(3):U94
- [7] Shinkai H. cholesteryl ester transfer-protein modulator and inhibitors and their potential for the treatment of cardiovascular diseases[J]. *Vase Health Risk Manag*, 2012, 8:323
- [8] Thompson J F. High-density genotyping and functional SNP localization in the CETP gene[J]. *J Lipid Res*, 2007, 48(2):434
- [9] Peacock J M, Arnett D K, Atwood L D, et al. Genome scan for quantitative trait loci linked to high-density lipoprotein cholesterol - The NHLBI family heart study[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(11):1823
- [10] Eren E, Yilmaz N, Aydin O. High density lipoprotein and its dysfunction[J]. *Open Biochem J*, 2012, 6:78
- [11] Ordovas J M, Cupples L A, Corella D, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein TaqIB polymorphism with variations in lipoprotein subclasses and coronary heart disease risk: the Framingham study[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(5):1323
- [12] Borggreve S E, Hillege H L, Wolfenbuttel B H, et al. An increased coronary risk is paradoxically associated with common cholesteryl ester transfer protein gene variations that relate to higher high-density lipoprotein cholesterol: a population-based study[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(9):3382
- [13] 王伟, 周新, 刘芳, 等. 胆固醇酯转运蛋白基因 TaqIB 多态性、D442G 突变与冠心病的相关性研究[J]. *中华心血管病杂志*, 2004, 32(11):24
- [14] 鄢盛恺, 朱燕林, 程澍, 等. 汉族人胆固醇酯转运蛋白基因 TaqIB、MspI 多态性与冠心病的关系研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2004, 27(10):47
- [15] 陈筱潮, 徐明彤, 韩春丽, 等. 中国人胆固醇酯转运蛋白 TaqIB 基因多态性与冠心病关系的 Meta 分析[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, 14(11):997
- [16] 周代锋, 云美玲, 蔡望伟, 等. 胆固醇酯转运蛋白基因 6 个多态位点与冠心病的关系[J]. *临床心血管病杂志*, 2010, 26(2):116

(2014-09-01 收稿)

+++++

(上接第 112 页)

- [2] 杨晓霞, 杨生为, 马莉. 老年血压变异与心脑血管疾病的关系[J]. *西北国防医学杂志*, 2012, 33(1):20
- [3] 朱海燕. 浅谈心脑血管疾病的预防与保健[J]. *中国医药指南*, 2013, 11(36):297
- [4] 范承哲, 刘悦, 毕齐. 短暂性脑缺血发作患者血流变水平及临床意义[J]. *河北医药*, 2014, 36(6):898
- [5] 孟立辉, 李景平, 王宣. 脑血管性疾病血流变指标及血脂谱的测定分析[J]. *中国医药指南*, 2012, 10(11):262
- [6] 徐坤, 阚军. 高血压患者监测血流变、血脂的临床意义[J]. *医学信息:下旬刊*, 2010, 23(4):121
- [7] 刘国涛, 王先菊, 艾保全, 等. 复杂动脉血管内血液流动的研究进展[J]. *中国医学物理学杂志*, 2003, 20(3):168
- [8] Chen J, Lu X Y. Numerical investigation of the non-Newtonian pulsatile blood flow in a bifurcation model with a non-planar branch[J]. *J Biomech*, 2006, 39(5):818
- [9] Jozwik K, Obidowski D. Numerical simulations of the blood flow through vertebral arteries[J]. *J Biomech*, 2010, 43(2):177
- [10] Politis A K, Stavropoulos G P, Christolis M N, et al. Numerical modeling of simulated blood flow in idealized composite arterial coronary grafts: transient flow[J]. *J Biomech*, 2008, 41(1):25
- [11] Shadden S C, Taylor C A. Characterization of coherent structures in the cardiovascular system[J]. *Ann Biomed Eng*, 2008, 36(7):1152
- [12] Biasetti J, Hussain F, Gasser T C. Blood flow and coherent vortices in the normal and aneurysmatic aortas: a fluid dynamical approach to intra-luminal thrombus formation[J]. *J R Soc Interface*, 2011, 8(63):1449
- [13] Lorenzini G, Casalena E. CFD analysis of pulsatile blood flow in an atherosclerotic human artery with eccentric plaques[J]. *J Biomech*, 2008, 41(9):1862
- [14] 巴燕燕, 苗秀娟. 血管狭窄处易发生附壁血栓的流变学解释[J]. *内蒙古民族大学学报:自然科学版*, 2011, 26(2):210
- [15] 张柏根, 薛冠华. 深静脉血栓形成的病因及高危因素[J]. *中国实用外科杂志*, 2003, 23(4):197
- [16] 刘赵森, 马瑞艳, 刘鑫. 均匀动脉直管中血脉对血液流动的影响分析[J]. *北京工业大学学报*, 2008, 23(增刊):78

(2014-09-20 收稿)