

·基础研究·

中国北方汉族人群 Apolipoprotein 基因 T-1131C 多态 与急性冠脉综合症的关联研究*

张效林 刘腾飞 蔡文芝 闫承慧 梁振洋 孙莹 冯雪瑶 韩雅玲[△]

(中国人民解放军沈阳军区总医院心内科 辽宁 沈阳 10016)

摘要 目的 探讨 ApoA5 基因 T-1131C 多态性与急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)的相关关系。方法 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术结合琼脂糖凝胶电泳和基因测序等方法对 675 例 ACS 的患者和 660 例正常对照组进行检测,分析 ApoA5 基因 T-1131C 单核苷酸多态的基因型和等位基因频率的在 ACS 组和对对照组的分布情况。结果 ApoA5 基因 T-1131C 单核苷酸多态在 ACS 组和对对照组间的分布频率皆符合 Hardy-Weinberg 平衡定律($P>0.05$) ApoA5 基因 T-1131C 单核苷酸多态三种基因型(TT 型,TC 型和 CC 型)在 ACS 组分布频率分别为 35.4%、48.1%和 16.4%,在对对照组的分布频率分别为 41.1%、48.6%和 10.4%。ApoA5 基因 T-1131C 单核苷酸多态的 CC 等位基因在 ACS 组和对对照组间的分布存在显著性差异($P=0.002$) C 等位基因是 ACS 发病的独立的危险因素 1.28 ($P=0.002$, 95% CI=1.09-1.57)。Logistic 回归校正性别、年龄、体重指数、吸烟、高血压、高脂血症、糖尿病等 CAD 易患因素后 ApoA5 基因 T-1131C 多态与 ACS 的发病仍存在相关关系。结论 在中国北方汉族人群中 ApoA5 基因 T-1131C 多态与 ACS 的发病相关 ApoA5 基因 T-1131C 多态 C 等位基因是 ACS 发病的独立危险因素。

关键词 冠心病 心肌梗死 基因 单核苷酸多态性

中图分类号 R541.4 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)08-1401-04

Association of Apolipoprotein T-1131C with Acute Coronary Syndrome in Han Population of North China*

ZHANG Xiao-lin, LIU Teng-fei, CAI Wen-zhi, YAN Cheng-hui, LIANG Zhen-yang, SUN Ying, FENG Xue-yao, HAN Ya-ling[△]

(Department of Cardiology, General Hospital of Shenyang Military Command, Shenyang, Liaoning, 10016, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between the T-1131C variant of ApoA5 gene and ACS in Han population of North China. **Methods:** A case-control study was conducted in 675 patients with ACS and 660 control who had normal coronary angiograms. Polymorphic genotypes were determined by polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism, sequencing analysis. **Results:** The genotype frequencies in ApoA5 T-1131C polymorphism conformed well to the Hardy-Weinberg equilibrium in both case and control group. The genotype frequencies of GG, GT and TT of ApoA5 T-1131C polymorphism were 41.1%, 48.6% and 10.4% in the controls, while they were 35.4%, 48.1% and 16.4% in ACS patients respectively. A significantly higher frequency of CC genotype was observed in ACS patients than that in the controls ($P=0.002$). The relative risk of ACS in patients carrying C allele was 1.28 ($P=0.002$, 95% CI=1.09-1.57). Logistic regression analysis with adjustments for other risk factors revealed that the T-1131C allele carriers significantly increased risk of ACS compared with the non-carriers. **Conclusions:** Genetic variations in the ApoA5 gene promoter may contribute to interindividual variability in risk of ACS. The C allele may play an important role in the occurrence of ACS and help to predict susceptible individuals.

Key words: ApoA5; Acute myocardial infarction; Gene; Polymorphism

Chinese Library Classification(CLC): R541.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)08-1401-04

前言

冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)是严重威胁人类健康和生命的心血管疾病,是我国 40 岁以上人群最主要的死亡原因^[1,2]。研究证实高甘油三脂是心血管疾病的独立的危险因子,载脂蛋白 A5 (apolipoprotein A5 ApoA5) 由于能降低血浆中 TG 水平,故被认为是 TG 的负性调节因子。高密度脂蛋白对心血管系统的保护作用与 HDL 亚类在血浆中的相对含量密切相关, HDL 亚类分布异常可能是导致心血管疾病发生的重要原

因之一^[3-6]。Apo A5 主要存在于 HDL 中,但在 HDL 代谢中的作用仍未确定。Apo A5 抑制肝脏合成 VLDL 并作为脂蛋白脂肪酶(LPL)及肝脂酶的激活剂加速血管内 VLDL-TG 的脂解,从而起到降低 TG 的作用。Apo A5 T-1131C 基因多态性可能与冠心病的发病密切相关,且显著影响患者血浆中的 TG 水平^[7,8]。因此,本研究应用 PCR 扩增基因组 DNA 直接测序结合聚合酶链反应方法对中国北方汉族急性冠脉综合征和正常对照人群的 Apo A5 基因单核苷酸多态性进行分析,进而从分子遗传学角度探讨 ACS 的发病机制。

* 基金项目 军队临床高新技术重大项目(2010GXJS001), 国家自然科学基金青年科学基金项目(81100135)

作者简介 张效林(1975-)女,硕士研究生,主要研究方向 冠心病的诊断与治疗, E-mail: xiaolindianyu75@163.com

[△]通讯作者 韩雅玲 电话 024-28851762 E-mail: hanyl126@126.com

(收稿日期 2011-10-09 接受日期 2011-11-03)

1 资料与方法

1.1 研究对象

2005 年 5 月至 2010 年 10 月期间在沈阳军区总医院心血管内科住院的 ACS 患者 675 例(男性 372 例,女性 303 例,平均年龄 56.4 ± 9.9 岁)。在我科住院病人中随机选取年龄(± 5 岁)和性别(频数)与病例组匹配的对照者 636 例(男性 354 例,女性 282 例,平均年龄 55.8 ± 10.4 岁)。入选患者主要来自于中国北方地区,并在我院接受冠状动脉造影检查,诊断符合 ACS 的临床诊断标准^[9,10]。对照组入选标准:既往无心脏病史,无胸痛、胸闷等心脏病症状,心电图无明显缺血性改变,冠状动脉造影证实主要冠状动脉狭窄 $<20\%$ 。本研究得到本院伦理委员会批准,并且所有受试者均知情同意。

1.2 方法

空腹状态下抽取研究对象外周血 5 ml,加入含 1.5 mg/ml 乙二胺四乙酸二钠(EDTA- Na_2)的抗凝管中,摇匀后置 -20°C 冰箱储存备用。常规酚-氯仿法抽提基因组 DNA,稀释 DNA 样本并用紫外可见分光光度计检测 DNA 浓度,保证各 DNA 样本浓度基本一致, -20°C 冰箱储存备用。聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增基因组 DNA,引物按照 Primer 5.0 以及 Oligo 6 软件设计如下:ApoA5 基因(NC_000011.9)T-1131C 位点扩增引物:F 5'-GATTGATTCAAGATGCAT TTAG GAC-3' R 5'-CCCCAGGAAGTGGAGCGAAATT-3' (上海生物工程有限公司合成)。ApoA5 基因 T-1131C 多态 PCR 反应体系(25 μl):基因组模板 DNA 50ng 2.5 μl 10 $\times$ PCR 缓冲液 2 μl

200 $\mu\text{mol/L}$ dNTPs ,Taq 酶 (Takara 公司)0.5 U 200 pmol/L 的特异性正向引物和反义引物各 0.4 μl ,不足体积用灭菌双蒸水补足至 25 μl 。扩增反应在 PCR 热循环仪(Bio-Rad, USA)中完成,PCR 扩增条件:94 $^\circ\text{C}$ 预变性 5 min ,94 $^\circ\text{C}$ 30 s ,56 $^\circ\text{C}$ 30 s ,72 $^\circ\text{C}$ 30 s ,重复 30 个循环,最后 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 7 min。应用 ABI 公司 DNA 测序仪(3730)测序。PCR 产物经限制性内切酶消化后,酶切产物经 2 %琼脂糖凝胶电泳,随机抽取 10 %样品的测序结果经由他人复核,结果 100 %一致。

1.3 统计学方法

连续型变量(或数值变量)用“均数 $\pm$ 标准差”表示,组间统计分析应用两样本的 t 检验和方差分析(ANCOVA)。计数资料以例数(百分比)表示,以 χ^2 检验或 Fisher's 精确检验对组间计量资料、基因型和等位基因频率分布进行分析,以 χ^2 检验分析基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。统计分析由 SPSS 13.0 软件包完成,双侧检验 $P < 0.05$ 被认为有统计学显著性差异。

2 结果

ACS 组共入选病例共患者 675 例(男性 372 例,女性 303 例,平均年龄 56.4 ± 9.9 岁)。在我科住院病人中随机选取年龄(± 5 岁)和性别(频数)与病例组匹配的对照者 636 例(男性 354 例,女性 282 例,平均年龄 55.8 ± 10.4 岁)。入选研究对象的年龄和性别在病例组和对照组间无显著差异。ACS 组吸烟及伴有糖尿病病史者的比例明显高于对照组($P < 0.05$)。ACS 组血脂各项生化指标:在病例组低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和甘油三酯(TG)水平高于对照组(见表 1)。

表 1 临床基本资料
Table 1 Baseline Demographic and Clinical Characteristics of the Study Cohort

	Control group	Case group	P
n	636	675	
Age	55.8 $\pm$ 10.4	56.4 $\pm$ 9.9	0.134
Gender(Female/Male)	354/282	372/303	0.84
BMI(kg/m ²)	24.6 $\pm$ 3.2	25.7 $\pm$ 3.1	<0.001*
Diabete(%)	67 (10.5)	144(21.3)	<0.001*
Hypertension(%)	287(45.1)	353 (52.3)	0.009*
Smoke(%)	200 (31.4)	299 (44.3)	<0.001*
Total cholesterol(mmol/l)	2.03 $\pm$ 1.01	2.29 $\pm$ 1.17	0.001*
Triglyride (mmol/l)	4.36 $\pm$ 1.16	4.53 $\pm$ 1.11	0.006*
Lipoprotein cholesterol(mmol/l)	2.33 $\pm$ 0.44	2.38 $\pm$ 0.57	0.083
High density	1.21 $\pm$ 0.20	1.28 $\pm$ 0.23	0.001*
Lipoprotein-cholesterol(mmol/l)			

Note : * $P < 0.05$ Case group compared with control group

Apo A5 基因 T-1131C 基因型和等位基因频率在 ACS 组和正常对照组间的分布皆符合 Hardy - Weinberg 平衡定律($P > 0.05$) ,ApoA5 基因 T-1131C 单核苷酸多态三种基因型(TT

型 ,TG 型和 GG 型) 在 ACS 组和对照组的分布频率如表 2 所示。ApoA5 基因 T-1131C 多态 CC 等位基因和 C 等位基因频率在正常对照组和 ACS 组之间明显的相关关系($P = 0.002$)(表

2)。Logistic 回归校正性别、年龄、体重指数、吸烟、高血压、高脂 C 等位基因与 ACS 的发病的存在相关关系。血症、糖尿病等 CAD 易患因素后 ,ApoA5 基因 T-1131C 多态

表 2 急性冠脉综合征组与对照组 ApoA5 基因各位点基因型分布和等位基因频率
Table 2 The genotype and allele frequency of ApoA5 gene T-1131C in ACS group and control group

ApoA5 T-1131C	Case group	Control group	P	OR(95% CI)
	675	636		
T/T, no. (%)	239(35.4)	261(41.1)	0.002	
T/C, no. (%)	325(48.1)	309(48.6)		
C/C, no. (%)	111(16.4)	66(10.4)		
C allele	547(40.5)	441(34.7)	0.002	1.28(1.09-1.50)
T allele	803(59.5)	831(65.3)		

3 讨论

心血管疾病已成为是危害人类健康的全球性疾病 ,由动脉粥样硬化所导致的冠心病已成为我国 40 岁以上人群最主要的死亡原因之一。脂质代谢异常在动脉粥样硬化发病的病理生理过程中发挥重要的作用 ,高甘油三脂是心血管疾病的独立的危险因素 ,Apo A5 能够降低血浆中甘油三脂水平 ,故被认为是甘油三脂代谢中的负性调节因子。高密度脂蛋白对心血管系统的保护作用与 HDL 亚类在血浆中的相对含量密切相关 ,HDL 亚类分布异常可能是导致心血管疾病发生的重要原因之一^[11,12]。ApoA5 抑制肝脏合成 VLDL 并作为脂蛋白脂肪酶(LPL)及肝脂酶的激活剂加速血管内 VLDL-TG 的脂解 ,从而起到降低 TG 的作用^[13,14]。

ApoA5 基因定位于 11q23 区 ,与载脂蛋白 A1/C3/A4 基因簇紧密相连 ,基因组全长约 2.5kb ,有 4 个外显子、2 个内含子^[15]。研究表明 ApoA5-1131T/C 基因多态性可能与冠心病的发生密切相关 ,且显著影响患者血浆中的 TG 水平^[16]。本研究以 ApoA5 基因为候选基因在 675 例 ACS 患者和 636 例非 ACS 对照受试者中进行病例 - 对照研究 ,分析 ApoA5 基因单核苷酸 T-1131C 多态位点与中国汉族人群 ACS 发病的相关关系。结果显示 :ApoA5 基因单核苷酸 T-1131C 多态位点 CC 基因型和 C 等位基因是中国北方汉族人群 ACS 易感等位基因 ,多元 logistic 回归分析结果进一步证实 ApoA5 基因 T-1131C 单核苷酸多态位点 C 等位基因是 ACS 发病的独立危险因素。基因型与临床表型的分析结果显示在对照组中 ,携带 T-1131C(CC+CT)的受试者血浆 TG 水平显著高于携带 T-1131C TT 的对照者。ApoA5 对 HDL 代谢起重要调节作用 ,ApoA5 是 HDL 相关蛋白 ,它的蛋白质结构分析提示它可能参与血浆胆固醇的运输 ,过量表达 ApoA5 可增加血浆 HDL-C 的水平 ,促进前 β -HDL 的生成 ,促进 THP-1 泡沫细胞内胆固醇向 HDL 的外流^[17-19]。由于 T-1131C 多态位点位于 ApoA5 基因的启动子区 ,可能直接参与 ApoA5 蛋白表达调控 ,故 ApoA5 基因的多态性可能通过使 ApoA5 表达增加而使 ACS 的发病增加。然而 ,由于种族、地域的差异 ,ApoA5 基因 T-1131C 多态性的分布频率也存在差异^[20]。所以 ,研究中国北方汉族人群 ApoA5 基因多态性的分布

特征及其与 ACS 的发病的相关关系有助于从分子遗传学角度探讨 ACS 的发病机制 ,并为其易感人群的筛选以及早期治疗提供有力的依据。

总之 ,ApoA5 基因变异与中国汉族人群 ACS 发生风险的风险呈强相关。该研究结果有必要在将来基于其他人群的大型病例 - 对照研究中进行复制验证 ,并通过详尽的体内外试验阐明其作用机制。

参考文献(References)

[1] Ho PM, Luther SA, Masoudi FA, et al. Inpatient and follow-up cardiology care and mortality for acute coronary syndrome patients in the Veterans Health Administration[J]. Am Heart J, 2007, 154: 489-494

[2] Fox KA, Dabbous OH, Goldberg RJ, et al. Prediction of risk of death and myocardial infarction in the six months after presentation with acute coronary syndrome: prospective multinational observational study (GRACE)[J]. BMJ, 2006, 333: 1091

[3] Scott IA, Derhy PH, O'Kane D, et al. Discordance between level of risk and intensity of evidence-based treatment in patients with acute coronary syndromes[J]. Med J Aust, 2007, 187: 153-159

[4] Masoudi FA, Foody JM, Havranek EP, et al. Trends in acute myocardial infarction in 4 US states between 1992 and 2001: clinical characteristics, quality of care, and outcomes[J]. Circulation, 2006, 114: 2806-2814

[5] De Caterina R, Talmud PJ, Merlini PA, et al. Gruppo Italiano Atherosclerosi. Strong association of the APOA5-1131T>C gene variant and early-onset acute myocardial infarction [J]. Atherosclerosis, 2011, 214 (2):397-403

[6] Guardiola M, Ribalta J, Gómez-Coronado D, et al. The apolipoprotein A5 (APOA5) gene predisposes Caucasian children to elevated triglycerides and vitamin E (Four Provinces Study). Atherosclerosis[J]. 2010, 212(2):543-547

[7] Jang Y, Chae JS, Kim OY, et al. APOA5-1131T>C genotype effects on apolipoprotein A5 and triglyceride levels in response to dietary intervention and regular exercise (DIRE) in hypertriglyceridemic subjects[J]. Atherosclerosis, 2010,211(2):512-519

[8] Niculescu LS, Vi?die? M, Sima AV. Association of APOA5 and APO-C3 gene polymorphisms with plasma apolipoprotein A5 level in patients with metabolic syndrome[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010,

- 391(1):587-591
- [9] Hamelin BA, Methot J, Arsenault M, et al. Influence of the menstrual cycle on the timing of acute coronary events in premenopausal women [J]. Am J Med 2003, 114: 599-602
- [10] Me'thot J, Hamelin BA, Bogaty P, et al. Does hormonal status influence the clinical presentation of acute coronary syndromes in women? [J]. J Women's Health, 2004, 13: 695-702
- [11] Laurila PP, Naukkarinen J, Kristiansson K, et al. Genetic association and interaction analysis of USF1 and APOA5 on lipid levels and atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010,30(2):346-352
- [12] Chien KL, Hsu HC, Chen YC, Su TC, Lee YT, Chen MF. Association between sequence variant of c.553 G > T in the apolipoprotein A5 gene and metabolic syndrome, insulin resistance, and carotid atherosclerosis[J]. Transl Res, 2009,154(3):133-141
- [13] Delgado LJ, Perez JF, Ruano J, et al. Effects of variations in the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster on different parameters of postprandial lipid metabolism in healthy young men[J]. J Lipid Res, 2010, 51(1):63-73
- [14] Cardona F, Guardiola M, Queipo OMI, et al. The -1131T>C SNP of the APOA5 gene modulates response to fenofibrate treatment in patients with the metabolic syndrome: a postprandial study[J]. Atherosclerosis, 2009, 206(1):148-152
- [15] Kisfali P, Mohás M, Maasz A, et al. Apolipoprotein A5 IVS3+476A allelic variant associates with increased triglyceride levels and confers risk for development of metabolic syndrome in Hungarians[J]. Circ J, 2008, 72(1):40-43
- [16] Grallert H, Sedlmeier EM, Huth C, et al. APOA5 variants and metabolic syndrome in Caucasians[J]. J Lipid Res, 2007,48(12):2614-2621
- [17] Martinelli N, Trabetti E, Bassi A, et al. The -1131 T>C and S19W APOA5 gene polymorphisms are associated with high levels of triglycerides and apolipoprotein C-III, but not with coronary artery disease: an angiographic study[J]. Atherosclerosis, 2007,191(2):409-417
- [18] Moreno R, Perez JF, Marin C, et al. A single nucleotide polymorphism of the apolipoprotein A-V gene -1131T>C modulates postprandial lipoprotein metabolism[J]. Atherosclerosis, 2006, 189(1):163-168
- [19] Wright WT, Young IS, Nicholls DP, et al. SNPs at the APOA5 gene account for the strong association with hypertriglyceridaemia at the APOA5/A4/C3/A1 locus on chromosome 11q23 in the Northern Irish population[J]. Atherosclerosis, 2006,185(2):353-360
- [20] Hsu LA, Ko YL, Chang CJ, et al. Genetic variations of apolipoprotein A5 gene is associated with the risk of coronary artery disease among Chinese in Taiwan[J]. Atherosclerosis, 2006, 185(1):143-149

• 重要信息 •

《分子影像学》第二版已正式出版发行

卜丽红¹ 戴薇薇²

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院医学影像科 150001 2 人民卫生出版社医药教育出版中心第四编辑室)

由哈尔滨医科大学附属第四医院申宝忠教授主编的《分子影像学》第二版(ISBN 978-7-117-13344-9/R·13345)一书已于2010年9月14日由人民卫生出版社出版发行。《分子影像学》是国内第一分子影像学大型专著。对于分子影像学的基本概念、基本原理、基本方法 and 应用概况都有精彩而详细的论述,充分体现了国际分子影像学的最新进展。

《分子影像学》第二版由著名医学影像学家、中国工程院院士刘玉清教授和美国分子影像学专家、美国医学科学院院士 Sanjiv Sam Gambhir 教授亲自作序。编委会包括美国哈佛大学、斯坦福大学等国外知名院校7名专家作为国外编委,国内多家知名大学、研究中心学术带头人13名作为国内编委,还包括国内外共40名专家参与编写。

全书共计130余万字,收录图片378幅,共分基础篇和应用篇。

基础篇共分10章,主要介绍了分子影像学的发展简史,分子成像的相关概念、基本原理、基本技术和设备等,内容较第一版更为精准、完善,覆盖面更加宽泛。着重针对探针合成这一当前分子成像研究的技术瓶颈,纳入了材料学、生物学和化学等相关技术内容。

应用篇共分7章,着重介绍了分子影像学技术的最新进展和应用情况,并详细介绍了分子成像在肿瘤、中枢神经系统和心血管系统疾病诊断中的应用情况,重点阐述了分子成像在监测基因治疗、活体细胞示踪以及新药研发等方面的最新研究进展,并就分子影像学向临床转化所面临的问题进行了深入剖析。

本书内容系统详实,深入浅出,图文并茂,可读性强。可供医学影像学专业、临床专业学生使用,并可为临床各学科研究生、临床医师及其他相关生命科学的研究人员提供参考。

《分子影像学》精装本定价260元,全国各大书店有售。