

• 临床检验研究论著 •

湖北汉族人群 APOC3-455T>C 基因多态性与 MS 的相关性

丁 妍¹, 朱名安², 朱 静², 卢智勇¹, 袁雅红¹, 王小莉¹, 李东升¹

(湖北医药学院附属太和医院:1. 生命科学研究所, 2. 检验科, 湖北十堰 442000)

摘要:目的 探讨载脂蛋白 C3(APOC3)-455T>C 基因多态性与湖北汉族人群代谢综合征(MS)及血脂的关系。方法 采集 226 例 MS 患者和 258 名健康者(对照组)血液用聚合酶链反应限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)分析 APOC3-455T>C 基因多态性的分布,并检测其血脂和血糖水平。结果 -455C 等位基因在 MS 与对照组中的分布频率不同,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组中 C 等位基因携带者三酰甘油(TG)水平比 TT 纯合子者高($P<0.05$),而高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平比 TT 纯合子者低。APOC3 等位基因是 MS 独立影响因子($OR=1.987, P=0.038$)。结论 APOC3-455T>C 基因多态性与血脂水平特别是 TG 及 HDL-C 有关, APOC3-455C 等位基因可能为 MS 的危险因素。

关键词:代谢综合征 X; 载脂蛋白 C 类; 多态现象, 遗传; 基因

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.10.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)10-1170-02

Correlation between apolipoprotein C3 gene -455T>C polymorphism and metabolic syndrome in Han Population of Hubei

Ding Yan¹, Zhu Mingan², Zhu Jing², Lu Zhiyong¹, Yuan Yahong¹, Wang Xiaoli¹, Li Dongsheng¹

(1. Institute of Life Sciences; 2. Clinical Laboratory, Hubei Medical University

Affiliated Taihe Hospital, Shiyan, Hubei 442000, China)

Abstract:Objective To investigate the relationship between -455T>C polymorphism in apolipoprotein C3(APOC3) gene and metabolic syndrome(MS)and blood lipid level in Han Population of Hubei. **Methods** 226 patients with MS(MS group) and 258 healthy controls(control group) were enrolled and detected for the distribution of -455T>C polymorphism in apolipoprotein C3 gene by using polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphisms(PCR-RFLP), and the levels of blood lipid and fasting blood glucose were also detected. **Results** The frequency of -455C genotype in MS group were significantly higher than in control group($P<0.05$). In the tow groups, subjects with C allele were with higher triglyceride(TG) level and lower high density lipoprotein cholesterol(HDL-C), compared with those of TT homozygote($P<0.05$). APOC3 -455C allele was an independent risk factor of MS($OR=1.987, P=0.038$). **Conclusion** APOC3-455T>C polymorphism might be associated with plasma triglyceride and HDL-C level, and APOC3-455C allele might be an independent risk factor for MS.

Key words:metabolic syndrome X; apolipoproteins C; polymorphism, genetic; genes

载脂蛋白 C3(APOC3)是代谢综合征(MS)的一个潜在的遗传危险因素,是脂质代谢中研究最多的基因之一,早先研究发现,位于启动子区胰岛素反应元件(IRE)内的 APOC3-455T>C 基因多态性与三酰甘油(TG)升高有关^[1]。本研究以湖北地区 MS 患者为对象,以与之匹配的健康者作为对照,初步探讨 APOC3-455T>C 基因多态性与 MS 及血脂水平的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象 MS 组:选择 2010 年 5 月至 2011 年 5 月在本院内内分泌科新诊断干预患者 226 例,其中男 112 例,女 114 例;年龄 40~75 岁。MS 诊断标准根据适合中国人群的 MS 诊断标准建议(中华医学会糖尿病分会,2004 年)确定。对照组为同期在本院进行健康体检者 258 例,其中男 132 例,女 126 例;年龄 40~75 岁,血糖、血脂水平正常,无糖尿病及心血管病家族史,所有研究对象均为无血缘关系湖北地区汉族人。

1.2 APOC3 -455T>C 基因型检测 外周血白细胞基因组 DNA 提取采用 NaI 法。引物设计参照文献^[2],由上海生工合成。上游引物:5'-GCACTCGCCTGCCTGGATT 3';下游引物:5'-TGATGCCACGCTGCTGTCCC 3',产物长度为 413 bp。反应总体积 50 μ L,其中包括 10 $\times$ buffer 5 μ L, dNTP 200 μ mol/L,正、反向引物各 25 pmol, 50 ng 基因组 DNA, Taq DNA 聚合酶 0.5 U。退火温度 60 $^{\circ}$ C,循环 35 次,扩增结束后取 10 μ L 产物进行 2%琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。

取 PCR 产物 10 μ L,用 8 U BseG I 限制性内切酶,37 $^{\circ}$ C

进行酶切,酶切产物用 2%琼脂糖凝胶电泳鉴定基因型,紫外灯下观察并照相。结果判断:CC 型为 413 bp 1 个片段,CT 型为 413、123、290 bp 3 个片段,TT 型为 123、290 bp 2 个片段。不同基因型 PCR 产物送上海生工测序。

1.3 血脂及血糖测定 采集患者用药前及健康体检者禁食 12 h 静脉血,测定血脂和空腹血糖(FBG)。其中总胆固醇(TC)、TG 及 FBG 采用酶法测定,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)采用直接匀相法测定,均使用 Abbott 全自动生化分析仪。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间计量资料比较采用 t 检验;计数资料如等位基因和基因型频率比较及研究对象 Hardy-weinberg 平衡符合程度采用 χ^2 检验,基因型对发病危险度的影响采用 logistic 回归模型分析;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 聚合酶链反应限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)分析 见图 1。

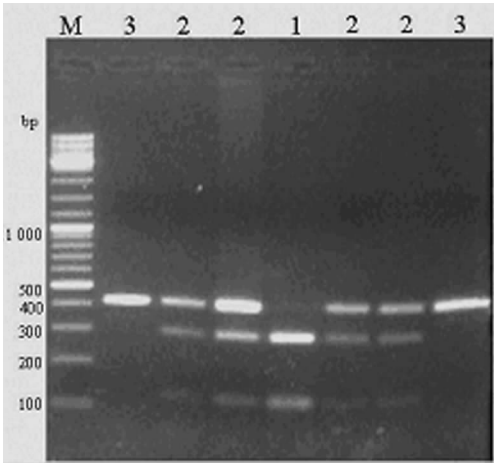
2.2 各组一般资料及血脂、血糖水平比较 见表 1。

2.3 APOC3 基因型和等位基因频率比较 两组基因型和等位基因分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡($P>0.05$)。两组基因型和等位基因频率分布见表 2。

2.4 两组不同基因型血脂水平比较 见表 3。

2.5 APOC3 等位基因与 MS 相关性分析 APOC3 等位基因

与 MS 的发生呈正相关。校正年龄、性别、BMI、血压、血脂等混杂因素后影响仍然存在($OR=1.987,P=0.038$),见表 4。



M:100 bp DNA ladder;1:TT 型;2:CT 型;3:CC 型。

图 1 PCR-RFLP 产物电泳图

表 1 各组一般资料及血脂、血糖水平比较($\bar{x}\pm s$)

指标	MS 组($n=226$)	对照组($n=258$)	<i>P</i>
性别(男/女)	112/114	132/126	>0.05
年龄(岁)	59.10 ± 9.4	59.30 ± 9.6	>0.05
体质量指数(BMI,kg/m ²)	23.24 ± 2.26	22.75 ± 1.97	<0.01
收缩压(mm Hg)	126.10 ± 10.43	112.93 ± 8.10	<0.01
舒张压(mm Hg)	74.40 ± 13.6	74.80 ± 13.8	>0.05
TC(mmol/L)	4.62 ± 0.92	3.78 ± 0.81	<0.01
TG(mmol/L)	1.31 ± 0.63	0.98 ± 0.42	<0.01
HDL-C(mmol/L)	0.95 ± 0.26	1.24 ± 0.37	<0.01
LDL-C(mmol/L)	4.16 ± 0.87	2.85 ± 0.73	<0.01
FBG(mmol/L)	6.24 ± 1.31	4.77 ± 1.07	<0.01

表 2 两组 G/T 基因型和等位基因频率分布[%(n)]

组别	<i>n</i>	基因型			等位基因	
		TT	TC	CC	T	C
对照组	258	26.4(68)	5.39(139)	19.8(51)	53.3(275)	46.7(241)
MS 组	226	19.9(45)	50.4(114)	29.6(67)	45.1(204)	54.9(248)
χ^2		7.237			6.421	
<i>P</i>		0.027			0.012	

表 3 两组不同基因型血脂水平比较($\bar{x}\pm s$,mmol/L)

组别	<i>n</i>	TG	TC	HDL-C	LDL-C
对照组					
TT	68	0.83 ± 0.19	3.69 ± 0.68	1.38 ± 0.19	2.81 ± 0.56
TC+CC	190	$1.14\pm0.25^*$	3.87 ± 0.73	$1.10\pm0.17^*$	2.89 ± 0.57
MS 组					
TT	45	1.17 ± 0.16	4.58 ± 0.91	1.08 ± 0.22	4.07 ± 0.88
TC+CC	181	$1.45\pm0.23^*$	4.66 ± 0.94	$0.82\pm0.15^*$	4.25 ± 0.91

*: $P<0.05$,与同组 TT 比较。

表 4 MS 危险因素的 Logistic 回归模型分析

等位基因	校正前			校正后		
	OR	95%CI	<i>P</i>	OR	95%CI	<i>P</i>
T	1			1		
C	2.840	1.225~4.851	0.018	1.987	1.136~4.235	0.038

3 讨 论

MS 是一种合并高血压、葡萄糖及脂质代谢异常的综合征,主要包括 HDL-C 降低、TG 增高等。流行病学研究发现血脂紊乱是 MS 危险因素,因此,参与调节 HDL、富含 TG 脂蛋白代谢的 APOC3 可能也是 MS 易感因素。近年来 APOC3 被越来越多地看作是冠心病(CHD)及 MS 潜在生物学标记以及调节血脂水平药物治疗靶点,其基因多态性更是成为研究焦点。

Li 等^[3]进行的体外研究证实位于 APOC3 基因 IRE 上的-482C>T 及 -455T>C 多态性使该反应元件对胰岛素反应性降低甚至缺失,因此,胰岛素下调 APOC3 表达的作用就会丧失,APOC3 表达增高。-482C>T 与血脂水平的关系不太确定^[4],但 -455T>C 多态性在多项研究中均被证实与血脂水平变异相关,在加拿大土著人中-455T 等位基因不仅可以降低血浆 TG 水平,而且还可增高 HDL-C 及 APOAI 水平^[5],因而,T 等位基因可能对血脂水平起着隐性作用。

本研究对 226 例 MS 患者及 258 名健康者 APOC3-455T>C 基因多态性进行了研究,发现 APOC3-455T>C 位点基因型及等位基因频率分布在 MS 组及对照组中有一定差别,其中 TT、TC、CC 3 种基因型分布频率与对照组有明显差别($P=0.027$)。通过 logistic 回归模型对 APOC3-455T>C 基因多态性与 MS 各组的相关性进行分析显示,C 等位基因发生 MS 风险较 T 等位基因高 2.84 倍($OR=2.840,95\%CI$ 为 $1.225\sim4.851,P=0.018$)。校正年龄、性别、BMI、血糖、血脂等混杂因素后风险依然存在($OR=1.987,95\%CI$ 为 $1.136\sim4.235,P=0.038$);此外 MS 组 C 等位基因携带者血浆 TG 水平明显高于 TT 纯合子者($P<0.05$),而 HDL-C 水平明显低于 TT 纯合子者($P<0.05$),该差异在对照组中亦然。Pdlex 等^[6]对 2 675 例来自 6 个不同国家和种族的人群进行研究发现 APOC3-455C 等位基因携带者比 C-非携带者更易发生 MS($OR=1.73,95\%CI$ 为 $1.40\sim2.14$),这是因为与 T 携带者相比-455C 携带者 TG 水平升高 20%($P<0.01$),特别是女性。在-455C 携带者中还可以观察到 HDL-C 降低。从对 563 例意大利人群的研究中观察到 APOC3 水平升高是 MS 的一个常见特征^[7]。另外-455T>C SNP 可能与其他未知遗传变异连锁不平衡。因此,这是一个仍有待弄清的复杂问题。不过本研究结果与 APOC3 在血脂异常及 MS 发生中起直接或间接的作用这一观点是一致的^[8]。

参考文献:

[1] Dallongeville J,Meirhaeghe A,Cottel D,et al. Gender related association between genetic variations of APOC-III gene and lipid and lipoprotein variables in northern France[J]. Atherosclerosis, 2000,150(1):149-157.

[2] Hegele RA,Connelly PW,Hanley AJ,et al. Common genomic variation in the APOC3 promoter associated with variation in plasma lipoproteins[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,(下转第 1174 页)

2.3 发表偏倚评价和敏感性分析 Meta 分析漏斗图对称性较好,表明该位点基因多态性 Meta 分析结果发表偏倚较小,说明纳入的所有研究组都具有较好代表性。同时采用逐一排除各项研究的方法进行敏感性分析时合并 OR 值未见明显改变,说明本次 Meta 分析结果稳定可靠,见图 1。

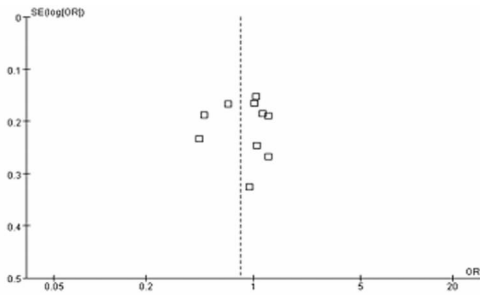


图 1 Meta 分析漏斗图

3 讨 论

作为脂肪细胞特异性分泌的一种新型脂肪因子的脂联素,有研究证明其是一种胰岛素增敏性激素,缺乏或功能不全可能引起胰岛素抵抗,最终导致 T2DM 的发生。人的脂联素基因在脂肪组织中具有高表达。全基因组扫描显示该位点是 T2DM 和代谢综合征的易感位点;其基因的外显子、启动子,甚至内含子单核苷酸基因多态性均影响血液脂联素水平及代谢表型,在不同地区、种族也存在差异。脂联素基因多态性部分可调控脂联素的表达,从而影响血清脂联素水平以及糖尿病发生、发展的危险性。

本研究纳入的 11 项研究中累计 T2DM 患者 1 697 例,健康对照者 1 341 例,Meta 分析结果表明其+276G/T 位点多态性与 T2DM 易感性可能与中国人不存在明显相关性。关于脂联素基因+276G/T 位点多态性与 T2DM 易感性相关方面的研究,国内外学者得出的结论均不尽相同。国外有些研究结果表明,与 T2DM 易感性相关^[2],有些研究结果表明,与 T2DM 易感性无关^[1];在本研究纳入的 11 项研究中有 4 项研究结果表明,与 T2DM 易感性相关^[6-7,10,12];而有 7 项研究结果表明,与 T2DM 易感性无关^[3-5,8-9,11,13]。以上研究结果差异产生的主要原因可能与人群遗传背景、样本量、研究对象入选标准、年龄和性别构成、是否具有 T2DM 家族史等相关,建议今后在研究脂联素基因多态性与 T2DM 易感性是否相关时必须考虑或排除以上各种混杂因素。

本研究其他不足之处:(1)文献检索限制是英/中文献,可能存在文种偏倚;(2)各研究的对照组并未与病例组进行性别和年龄匹配。

总之,本研究通过对中国人群脂联素基因+276G/T 位点多态性与 T2DM 易感性进行 Meta 分析,结果表明脂联素基因+276G/T 位点多态性可能与 T2DM 易感性无关。由于纳入研究和例数有限,上述结果还需要在中国人群中进行严格设计、最大程度排除各种混杂因素、大样本、同质性的病例对照或前瞻性研究加以验证,同时也要充分考虑基因与基因,以及基因与环境等相互作用的影响,以便能更好地阐明 T2DM 的发病机制。

参考文献:

[1] Salmenniemi U,Zacharova J,Ruotsalainen E,et al. Association of adiponectin level and variants in the adiponectin gene with glucose metabolism,energy expenditure,and cytokines in offspring of type 2 diabetic patients[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2005, 90 (7): 4216-4223.

[2] Hara K,Boutin P,Mori Y,et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated risk of type 2 diabetes in the Japanese population[J]. Diabetes,2002,51(4):536-540.

[3] 董艳,李果,骆天红,等. 脂联素基因多态性与 2 型糖尿病的关系[J]. 上海第二医科大学学报,2004,24(12):1001-1003.

[4] 王淑芬. 脂联素脂肪组织表达及其基因多态性与糖尿病相关性研究[D]. 济南:山东大学,2005.

[5] 孙志连. 脂联素基因多态性与 2 型糖尿病及胰岛素抵抗相关因素研究[D]. 呼和浩特:内蒙古医学院,2006.

[6] 张红霞. 脂联素基因多态性与糖尿病及其大血管病变的关系[D]. 济南:山东大学,2007.

[7] 孙英姿,郭志新. 脂联素基因 SNP276 多态性与 2 型糖尿病的关系[J]. 山西医药,2007,36(9):661-663.

[8] 王吉影,王艳波,于永春,等. 2 型糖尿病家系脂联素基因多态性研究[J]. 第二军医大学学报,2007,28(2):143-147.

[9] 王淑芳,赵家军,姜强,等. 脂联素基因多态性与 2 型糖尿病相关性研究[J]. 中华内分泌代谢杂志,2007,23(1):51-52.

[10] 王燕,何凌,王春冬. 广东汉族人群脂联素基因多态性与 2 型糖尿病相关性研究[J]. 热带医学杂志,2007,7(7):651-653.

[11] 劳力敏,向红丁. 脂联素基因多态性与妊娠糖尿病的相关性[J]. 中国全科医学,2008,11(18):1640-1642.

[12] 王琨,聂秀玲,刘德敏,等. 脂联素基因多态性与胰岛素抵抗和 2 型糖尿病关系的研究[J]. 天津医科大学学报,2009,15(2):190-193,212.

[13] 李奕平,姚宇峰,张瑛,等. 脂联素基因多态性与 2 型糖尿病的相关性研究(英文)[J]. 中国现代医学杂志,2010,20(7):961-965, 970.

(收稿日期:2011-10-08)

(上接第 1171 页)

1997,17(11):2753-2758.

[3] Li WW,Dammerman MM,Smith JD,et al. Common genetic variation in the promoter of the human apo C-III gene abolishes regulation by insulin and may contribute to hypertriglyceridemia[J]. J Clin Invest,1995,96(6):2601-2605.

[4] Hegele RA,Connelly PW,Hanley AJ,et al. Common Genomic Variation in the APOC3 Promoter Associated With Variation in Plasma Lipoproteins[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997, 17(11): 2753-2758.

[5] Hegele RA,Connelly PW,Hanley AJ,et al. Common genomic variants associated with variation in plasma lipoproteins in young aboriginal Canadians[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,1997,17(6):1060-1066.

[6] Pollex RL,Ban MR,Young TK,et al. Association between the -455T>C promoter polymorphism of the APOC3 gene and the metabolic syndrome in a multiethnic sample[J]. BMC Med Genet, 2007,20(8):80.

[7] Olivieri O,Bassi A,Stranieri C,et al. Apolipoprotein C-III, metabolic syndrome,and risk of coronary artery disease[J]. J Lipid Res, 2003,44(12):2374-2381.

[8] Miller M,Rhyne J,Chen H,et al. APOC3 promoter polymorphisms C-482T and T455C are associated with the metabolic syndrome [J]. Arch Med Res,2007,38(3):444-451.

(收稿日期:2011-10-08)