

• 论 著 •

# ApoE 基因 rs429358 和 rs7412 位点基因多态性与喀什地区维吾尔族人群尿道结石的关系研究\*

张 媛<sup>1</sup>, 侯 丽<sup>2</sup>, 杨 帆<sup>3</sup>, 邝 辉<sup>1△</sup>

(1. 新疆维吾尔自治区喀什地区第二人民医院检验科, 新疆喀什 844000; 2. 新疆医科大学第一附属医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830000; 3. 同济大学附属同济医院检验科, 上海 200333)

**摘要:**目的 分析载脂蛋白 E(ApoE) 基因 rs429358 和 rs7412 位点基因多态性与喀什地区维吾尔族人群尿道结石的关系。方法 选取喀什地区第二人民医院泌尿外科 2016 年 6 月至 2018 年 6 月收治的 216 例维吾尔族尿道结石患者为观察组, 另选取同期体检的 216 例维吾尔族健康者为对照组。比较两组 ApoE 基因 rs429358 和 rs7412 位点基因型及等位基因频率分布情况; 比较两组血脂相关指标[总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、载脂蛋白 A、载脂蛋白 B 及 ApoE]水平。结果 观察组 ApoE 基因 rs429358 位点 TT、TC 基因型频率分别为 70.83% 和 29.17%, T、C 等位基因频率分别为 85.42% 和 14.58%, 与对照组比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组 ApoE 基因 rs7412 位点 TT、TC、CC 基因型频率分别为 1.85%、12.96% 和 85.19%, T、C 等位基因频率分别为 8.33% 和 91.67%, 与对照组比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。观察组 TG、TC、LDL-C 及 ApoE 水平均高于对照组, HDL-C 水平低于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 喀什地区维吾尔族人群 ApoE 基因 rs429358 位点是尿道结石的易感基因位点, 其可能通过影响血脂水平而使尿道结石的发生风险增加。

**关键词:** 载脂蛋白 E; 基因多态性; 尿道结石; 维吾尔族

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.12.011

中图法分类号: R691.4

文章编号: 1673-4130(2020)12-1453-04

文献标识码: A

## Relationship between ApoE gene rs429358 and rs7412 loci gene polymorphism and urethral calculus of Uyghur population in Kashgar Prefecture\*

ZHANG Yuan<sup>1</sup>, HOU Li<sup>2</sup>, YANG Fan<sup>3</sup>, KUANG Hui<sup>1△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Second People's Hospital of Kashgar Prefecture, Kashgar, Xinjiang 844000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Tongji Hospital of Tongji University, Shanghai 200333, China)

**Abstract: Objective** To analyze the relationship between apolipoprotein E (ApoE) gene rs429358 and rs7412 loci gene polymorphism and urethral calculus of Uyghur population in Kashgar Prefecture. **Methods** From June 2016 to June 2018, 216 Uyghur patients with urethral calculus admitted to the urology department of the Second People's Hospital of Kashgar Prefecture were selected as the observation group. In addition, 216 Uyghur healthy persons who underwent physical examination in the same period were selected as the control group. The genotype and allele frequency distribution of ApoE gene rs429358 and rs7412 loci were compared between the two groups. The levels of the blood lipid-related indexes [total cholesterol (TC), triacylglycerol (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), apolipoprotein A, apolipoprotein B and ApoE] of the two groups were compared. **Results** The frequencies of TT and TC genotypes of ApoE gene rs429358 loci in the observation group were 70.83% and 29.17% respectively, and

\* 基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2016D01C089)。

作者简介: 张媛, 女, 主管技师, 主要从事临床检验研究。△ 通信作者, E-mail: 1713541954@qq.com。

本文引用格式: 张媛, 侯丽, 杨帆, 等. ApoE 基因 rs429358 和 rs7412 位点基因多态性与喀什地区维吾尔族人群尿道结石的关系研究[J].

the frequencies of T and C alleles were 85.42% and 14.58% respectively, compared with the control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The frequencies of TT, TC and CC genotypes of ApoE gene rs7412 loci in the observation group were 1.85%, 12.96% and 85.19% respectively, and the frequencies of T and C alleles were 8.33% and 91.67% respectively, compared with the control group, the differences were not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The levels of TG, TC, LDL-C and ApoE in the observation group were higher than those in the control group, and the level of HDL-C was lower than that in the control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The ApoE gene rs429358 loci of Uyghur population in Kashgar Prefecture is a susceptible gene loci of urethral calculus, which may increase the risk of urethral calculus through the influence on blood lipid levels.

**Key words:** apolipoprotein E; gene polymorphism; urethral calculus; Uyghur

尿道结石作为泌尿系统最常见的疾病,其发病人数逐年递增<sup>[1]</sup>。目前,尿道结石诊断主要依靠 CT 等影像学检查,缺少相关的实验室诊断标志物,大多数患者确诊时病情已较严重。寻找灵敏度、特异度高的诊断标志物,用于早期诊断,对尿道结石的治疗及预防具有重要意义<sup>[2]</sup>。尿道结石的发病除了与生活方式、饮食习惯有关外,还与遗传因素密切相关。有研究报道,尿道结石的发病呈现一定的地域和种族差异,喀什地区尿道结石发病率较高,考虑与该地区地理位置和维吾尔族人群的种族特异性有关<sup>[3]</sup>。载脂蛋白 E(ApoE)是一种由肝脏合成的富含精氨酸的碱性蛋白,主要参与机体脂代谢过程。有研究证实,ApoE 基因多态性是影响脂代谢紊乱的重要因素之一,而脂代谢紊乱又参与了尿道结石的发生、发展<sup>[4-5]</sup>。本研究探讨了喀什地区维吾尔族尿道结石患者 ApoE 基因 rs429358 和 rs7412 位点的基因多态性分布情况及其与尿道结石发生的关系,旨在为临床尿道结石的诊疗及预防提供参考依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取喀什地区第二人民医院泌尿外科 2016 年 6 月至 2018 年 6 月收治的维吾尔族尿道结石患者 216 例作为观察组,其中男 127 例,女 89 例;年龄 24~70 岁,平均(42.52±11.35)岁。纳入标准: B 超、CT 等影像学检查确诊为尿道结石;患者父母均为维吾尔族;临床资料完整。排除标准:合并其他恶性肿瘤;合并高血压等心脑血管疾病;合并泌尿系统感染、尿路畸形等。选取 216 例同期体检的维吾尔族健康者作为对照组,其中男 119 例,女 97 例;年龄 23~71 岁,平均(43.62±10.73)岁。两组性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究经喀什地区第二人民医院伦理委员会批准。

## 1.2 方法

**1.2.1 DNA 提取及检测** 所有研究对象清晨空腹采集静脉血 4 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝后,根

据 DNA 试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司)说明书提取 DNA;提取完成后检测 DNA 纯度,水平  $> 20 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ,且  $A_{260}/A_{280}$  为 1.7~1.9;采用双蒸水调整 DNA 水平至  $50 \text{ ng}/\mu\text{L}$  后  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  保存备用。

**1.2.2 PCR 扩增及测序** rs429358 和 rs7412 引物序列如表 1 所示,扩增片段长度分别为 240 bp 和 498 bp。反应体系包括 TaqDNA 聚合酶  $2 \mu\text{L}$ ,  $2.5 \text{ mmol/L}$  dNTP  $2 \mu\text{L}$ ,  $20 \text{ mmol/L}$  正向引物和反向引物各  $0.4 \mu\text{L}$ , DNA 模板  $0.5 \sim 0.6 \mu\text{L}$ ,加无菌去离子水至总反应体积为  $30 \mu\text{L}$ 。反应条件:  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  预热 3 min,  $94 \text{ }^\circ\text{C}$  变性 30 s,  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  退火 35 s,  $72 \text{ }^\circ\text{C}$  延伸 40~50 s;循环 30 次后再延伸 10 min。PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,并于测序仪上完成测序。测序方法:根据高分辨溶解曲线分析的不同曲线和酶切片段大小、数量确定不同的基因型,产物 rs429358 序列长度为 238 bp,rs7412 序列长度为 384 bp。

表 1 rs429358 和 rs7412 引物序列

基因位点	引物序列
rs429358	F: 5'-CGGAAGTGGAGGAACAAGTGA-3' R: 5'-GCAGGTCATCGGCATCG-3'
rs7412	F: 5'-ACAAATCGGAAGTGGAGGAA-3' R: 5'-CCACCTGCTCCTTCACCTC-3'

注: F 为正向引物, R 为反向引物。

**1.2.3 ApoE 基因多态性分析** 取 PCR 产物  $1 \mu\text{g}$  进行 ApoE 酶切反应,酶切体系:  $10 \times$  缓冲液  $2 \mu\text{L}$ , ApoE 内切酶  $5 \mu\text{L}$ , DNA  $1 \mu\text{L}$ ,加无菌水至总反应体积为  $20 \mu\text{L}$ ;反应条件为  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  4 h;酶切终止后采用聚丙烯酰胺凝胶,90 V 电压,电泳 2 h,然后用凝胶图像分析系统分析基因型。

**1.2.4 血脂相关指标水平检测** 所有研究对象清晨空腹采集静脉血 3~5 mL,分离血清待测。于贝克曼 Au5800 全自动生化分析仪上进行总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、载脂蛋白 A(ApoA)、载脂蛋

白 B(ApoB)及 ApoE 水平检测。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析。采用 Hardy-Weinberg 平衡检验,结合基因计数法统计两组基因型频率;正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 Hardy-Weinberg 平衡检验** 对两组研究对象 ApoE 基因 rs429358 和 rs7412 位点的基因型分布进行 Hardy-Weinberg 平衡检验,结果显示,均符合 Hardy-Weinberg 平衡( $P > 0.05$ ),所纳入的研究对象具有人群代表性。见表 2。

**2.2 ApoE 基因 rs429358 和 rs7412 位点基因型及等位基因频率比较** 观察组 ApoE 基因 rs429358 位点 TT、TC 基因型频率分别为 70.83%和 29.17%,T、C

等位基因频率分别为 85.42%和 14.58%,与对照组基因型频率和等位基因频率比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。ApoE 基因 rs429358 位点 TC 基因型携带者患尿道结石的风险较 TT 基因型增加( $OR = 2.75, 95\%CI = 1.24 \sim 6.02$ ),T 等位基因携带者患尿道结石的风险较 C 等位基因增加( $OR = 2.19, 95\%CI = 1.30 \sim 5.64$ )。观察组 ApoE 基因 rs7412 位点 TT、TC、CC 基因型频率分别为 1.85%、12.96%和 85.19%,T、C 等位基因频率分别为 8.33%和 91.67%,与对照组基因型频率和等位基因频率比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 3。

**2.3 两组血脂相关指标水平比较** 观察组 TG、TC、LDL-C 及 ApoE 水平均高于对照组,HDL-C 水平低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );ApoA 和 ApoB 水平在两组间比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 4。

表 2 ApoE 基因 rs429358 和 rs7412 位点 Hardy-Weinberg 平衡检验

组别	n	基因型	rs429358				rs7412			
			观察值(n)	预测值(n)	$\chi^2$	P	观察值(n)	预测值(n)	$\chi^2$	P
观察组	216	TT	153	153.4	1.956	0.153	4	3.6	1.632	0.215
		TC	63	62.2			28	29.2		
		CC	0	0.4			184	183.2		
对照组	216	TT	185	184.3	0.462	0.603	0	0.3	0.836	0.416
		TC	31	30.8			40	42.3		
		CC	0	0.9			176	173.4		

表 3 ApoE 基因 rs429358 和 rs7412 位点基因型及等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	rs429358 基因型		rs429358 等位基因		rs7412 基因型			rs7412 等位基因	
		TT	TC	C	T	TT	TC	CC	C	T
观察组	216	153(70.83)	63(29.17)	63(14.58)	369(85.42)	4(1.85)	28(12.96)	184(85.19)	396(91.67)	36(8.33)
对照组	216	185(85.65)	31(14.35)	31(7.18)	401(92.82)	0(0.00)	40(18.52)	176(81.48)	392(90.74)	40(9.26)
OR(95%CI)		1	2.75(1.24~6.02)	1	2.19(1.30~5.64)	1	0.55(0.21~1.37)	0.72(0.41~2.04)	1	0.64(0.34~1.83)
P			0.009		0.013		0.075	0.530		0.650

表 4 两组血脂相关指标水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	ApoA (mmol/L)	ApoB (mmol/L)	ApoE (mg/dL)
观察组	216	2.08 ± 0.34	5.09 ± 0.78	1.04 ± 0.32	2.15 ± 0.63	2.12 ± 0.54	1.52 ± 0.33	5.03 ± 1.06
对照组	216	1.27 ± 0.41	3.42 ± 0.68	2.17 ± 0.42	1.52 ± 0.73	2.31 ± 0.48	1.40 ± 0.45	3.56 ± 0.89
<i>t</i>		3.317	2.632	-2.563	-1.996	-0.895	0.757	3.784
P		0.003	0.014	0.018	0.038	0.475	0.597	<0.001

**3 讨 论**

尿道结石具体的发病机制目前尚不明确,有学者认为生活方式、饮食习惯、地域差异及遗传因素在尿

道结石形成过程中发挥着重要作用<sup>[6]</sup>。新疆维吾尔自治区是尿道结石的高发地区,该地区维吾尔族人群由于生活方式和饮食习惯与汉族人群有着较大差异,

其尿道结石的发病率及复发率明显高于汉族人群<sup>[3]</sup>。喀什地区位于新疆维吾尔自治区南部,该地区维吾尔族人群日常饮食以面食和牛羊肉为主,加上常年食用奶制品与茶点,摄入高脂肪和高蛋白食物较多,导致脂代谢紊乱在该地区发病率较高;而相关研究证实,脂代谢紊乱与尿道结石的发生、发展有关<sup>[4-5]</sup>。血脂水平升高与 ApoE 基因表型相关<sup>[7-8]</sup>,喀什地区维吾尔族人群 ApoE 基因多态性是否与尿道结石的发生有关,健康人群与尿道结石患者 ApoE 基因型及等位基因的差异是否对尿道结石的诊断有一定的价值,目前少有报道。因此,本研究对此进行了深入探讨,以期对尿道结石的诊疗及预防提供参考。

叶炳华等<sup>[8]</sup>、宋雨等<sup>[9]</sup>报道了国内汉族人群 ApoE 基因 rs429358 和 rs7412 位点包含多种基因型和等位基因,且人群间等位基因和基因型分布存在一定的差异。本研究中,观察组 ApoE 基因 rs429358 位点 TT、TC 基因型频率和 T、C 等位基因频率与对照组有明显差异,且 TC 基因型携带者患尿道结石的风险较 TT 基因型增加( $OR = 2.75, 95\% CI = 1.24 \sim 6.02$ ),T 等位基因携带者患尿道结石的风险较 C 等位基因增加( $OR = 2.19, 95\% CI = 1.30 \sim 5.64$ )。提示 TT、TC 基因型和 T、C 等位基因的差异可能是导致喀什地区维吾尔族人群患尿道结石的可能原因,同时 TC 基因型、T 等位基因可能分别是导致尿道结石的高风险基因型与等位基因。

本研究中,观察组 ApoE 基因 rs7412 位点 TT、TC、CC 基因型频率和 T、C 等位基因频率与对照组无明显差异,与吴计超<sup>[10]</sup>对广西壮族人群的研究结果类似,提示 ApoE 基因 rs7412 位点基因型与基因频率可能与尿道结石的发病无关。

王艳梅等<sup>[11]</sup>、梁爱芬等<sup>[12]</sup>的研究指出,心血管疾病患者血脂水平与 ApoE 基因多态性密切相关,ApoE 基因 rs429358 位点突变患者血脂水平升高,且心脑血管事件的发生风险也明显升高。本研究中,观察组 TG、TC、LDL-C 及 ApoE 水平均高于对照组( $P < 0.05$ ),HDL-C 水平低于对照组( $P < 0.05$ ),进一步证实了 ApoE 基因多态性与脂代谢紊乱有关,从而增加了尿道结石的发病风险。

## 4 结 论

喀什地区维吾尔族人群 ApoE 基因 rs429358 位点是尿道结石的易感基因位点,其可能通过对血脂水平的影响从而使尿道结石的发生风险增加,可成为尿道结石早期预防和治疗的潜在生物标志物。

## 参考文献

- [1] 朱海亮,王竞,程静,等.常熟地区 728 例尿结石患者的尿石成分与 24 小时尿液分析异常的相关性[J].实用医学杂志,2016,32(4):656-658.
- [2] 陈光勇,林雨冬,黄维,等.超声伪像声影彗尾征在尿结石诊断中的意义[J].中国误诊学杂志,2012,12(1):8-9.
- [3] 钱彪,王勤章,丁国富,等.载脂蛋白 E 基因多态性与新疆南部维吾尔族泌尿系结石相关性的研究[J].中国现代医学杂志,2013,23(24):33-35.
- [4] 杨万勇,阮富旺,陈小隗.东莞地区老年人高脂血症 ApoE 基因多态性与血脂水平相关性探讨[J].中国实用医药,2018,13(11):30-32.
- [5] 丁伟,游运辉,周萍,等.原发性痛风患者脂代谢异常与尿酸结石相关性分析[J].热带医学杂志,2019,19(2):185-188.
- [6] 王京伟,李艳,乔斌,等.华中地区汉族人群 SLCO1B1 与 APOE 基因多态性分析及临床意义[J].实用医学杂志,2018,34(18):3041-3046.
- [7] 蒋晓钦.载脂蛋白基因多态性与早发冠心病的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2017,38(11):1547-1548.
- [8] 叶炳华,孙筱晔,蒋泽,等. ApoE 基因多态性与血脂、氧化低密度脂蛋白、糖尿病足的相关性分析[J].中国医学创新,2017,14(23):49-52.
- [9] 宋雨,田淑芬. ApoE 基因多态性与缺血性脑血管病患者脑微出血的相关性[J].山东大学学报(医学版),2019,57(4):47-51.
- [10] 吴计超. ApoE 基因单核苷酸多态性与桂西壮族人群泌尿系结石相关性研究[D].百色:右江民族医学院,2017.
- [11] 王艳梅,严美花,徐远,等. ApoE 基因多态性与 2 型糖尿病周围神经病变及中医证型的关系[J].中华中医药杂志,2018,33(11):4912-4915.
- [12] 梁爱芬,何韶坚,华仙丽,等. ApoE 基因多态性与慢性心血管疾病及患者血脂水平的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2017,38(12):1601-1602.

(收稿日期:2019-11-09 修回日期:2020-03-05)