

肝脂酶基因 -514 C/T 变异对血脂的影响

姚友权¹, 徐力辛¹, 熊术道²

[摘要]目的: 探讨肝脂酶 (HL) 基因启动子 -514 C/T 变异是否影响血脂水平。方法: 选入符合录用标准者 322 例作血脂测定, 从全血中用 DNA 试剂盒提取 DNA, 采用聚合酶链式反应-限制性片段多态性方法检测 HL 基因多态性。结果: 在调整年龄和体重指数 (BMI) 后, HL-514 C/T 基因型对血清高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 的水平影响有统计学意义 ($P < 0.01$), 其高低是 T/T+T/C > C/C 这种效应与男性关系明显 ($P < 0.01$), 但与女性关系不明显。结论: 肝脂酶基因 -514 C/T 变异可影响血脂水平, 且存在男女性别差异, 各 HL 基因型的分布无性别差异。

[关键词] 血脂蛋白过多; 肝脂酶; 基因; 调节; 变异

[中国图书资料分类法分类号] R 589.2 [文献标识码] A

Influence of hepatic lipase gene C-514T variants on blood lipids

YAO You-quan¹, XU Li-xin¹, XIONG Shu-dao²

(1 Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China)

[Abstract] Objective: To investigate whether the promoter -514 C/T of hepatic lipase (HL) variants affect blood lipids level. Methods: Three hundred and twelve subjects were studied. The serum lipid and apolipoprotein were measured by enzymatic methods and the genomic DNA was isolated from peripheral blood by DNA isolation kit. Polymerase chain reaction and restricted fragments polymorphism were used to determine HL genotype. Results: After adjusting age and BMI, the influence of HL genotype on profiles of HDL-C levels had statistical significance ($P < 0.05$) with values in the order of T/T+T/C > C/C. This effect appears more evident in male than in female ($P < 0.01$ and $P < 0.05$). Conclusions: HL-514 C/T gene variants affect blood lipids and there exists gender difference; however the difference is not significant among the HL genotypes.

[Key words] hyperlipoproteinemia; hepatic lipase genes; regulator variation

肝脂酶 (hepatic lipase, HL) 是由肝细胞合成、分泌, 催化残粒脂蛋白和 HDL 中的甘油三酯和磷脂水解, 促进肝脏摄取乳糜残粒。肝脂酶基因 -514 C/T 的变异是由于 HL 基因启动子 -514 位点的 C 被 T 取代, 这种肝脂酶基因 -514 C/T 变异是否对血脂产生影响国内尚未见报道。本研究对 322 例中国成人受试者 HL 基因 -514 C/T 变异进行检测, 探讨 HL-514 C/T 变异对血脂水平的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象 来源于 2004 年 5~10 月本院体检中心的体检人员, 通过问卷、访谈收集研究对象的基本资料, 如饮食、饮酒史和运动情况等。凡有下列情况者给予剔除: 甲状腺功能亢进及减退, 肾衰竭, 肾病综合征, 糖尿病, 心肌梗死, 不稳定型心绞痛, 冠状动脉血运重建手术, 肝功能异常, 肌酸激酶 (CK) 水

平升高, 半年内有引起血脂升高的创伤, 接受类固醇、红霉素、免疫抑制剂药物治疗和近 4 周内曾服过调脂药物。收集符合录入标准者共 322 例, 其中男 176 例, 女 146 例; 年龄 40~60 岁。血脂正常范围的指标按照 1997 年中华心血管病学会提出中国人的血脂水平划分标准确定。

1.2 血脂和脂蛋白分析 血脂检测: 清晨抽取空腹静脉血, 测定血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、血糖以及血红蛋白、白细胞、血小板计数、肝功能、肾功能等生化指标 (检验科专人质控检验)。各指标均采用盲法测定。

1.3 基因型检测

1.3.1 人类基因组 DNA 的制备 取肘静脉血 300 μ 放入 1.5 ml 离心管中, 用 EDTA 抗凝。按照 DNA 提取试剂盒常规提取 DNA。分别用 900 μ 红细胞裂解液, 300 μ 白细胞裂解液, 100 μ 蛋白沉淀溶液, 300 μ 100% 的异丙醇, 300 μ 170% 乙醇, 50 μ 1 DNA 溶解液。溶解后的 DNA 于 65 $^{\circ}$ C 孵育 5 min, 标本进行纯度和浓度的测定, -20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。

1.3.2 HL 基因型检测 上游引物: 5'-TCA CTT GGC AAG GGC ATC TTT G-3', 下游引物: 5'-AGG

[收稿日期] 2006-08-30

[作者单位] 温州医学院第一附属医院 1 心内科, 2 医科所, 浙江温州 325000

[作者简介] 姚友权 (1969-), 男, 主治医师 (现在新乡医学院第一附属医院呼吸内科工作, 453100)。

[通讯作者] 徐力辛, 男, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师。

TCG GGG TAG GTG GCT TCC A₃¹¹。聚合酶链式反应 (PCR)体系为 20 μl 含有基因组 DNA 0.2 ~ 0.6 μg 上下游引物 (浓度为 20.0 μmol/L) 1.2 μl, 核酸聚合酶 (1 U/μl) 1 μl, Mg²⁺ (2 μmol/L) 1 μl, 10× DNA 合成缓冲液 2 μl, 镁离子 (25 μmol/L) 1.6 μl, 用去离子水补充至 20 μl, 用自动循环扩增仪进行扩增, PCR 扩增条件: 94 °C 5 min, 94 °C 1 min, 60 °C 1 min, 72 °C 1 min, 共 35 个循环, 72 °C 延伸 10 min。反应产物经鉴定后置 4 °C 冰箱保存待酶切。

1.3.3 Nla^{III} 特异性限制内切酶消化 取 PCR 产物 8 μl 中加入缓冲液 1 μl 和 Nla^{III} 特异性限制内切酶 1 μl 用去离子水补充至 10 μl, 37 °C 消化 6 h。HL 的 PCR 产物片段长度为 274 bp, 经 Nla^{III} 特异性限制内切酶消化后, 可出现 3 种片段大小的组合。可分别出现一个条带 274 bp 为 CC 型, 出现 274 bp, 248 bp 和 46 bp 三个条带的 CT 型, 出现 248 bp 和 46 bp 二个条带的为 TT 型。

1.3.4 电泳 以 2.5% 琼脂糖凝胶电泳 (电压 120 V×60 min), 在紫外线分析仪里观察, 并判断酶切结果, 由于 46 bp 分子量太小, 琼脂糖谱未能显示 (见图 1)。

1.4 统计学方法 采用 检验。

2 结果

2.1 群体遗传学分布 肝脂酶基因的启动子 -514 C/T 多态性基因型在抽样人群分为 CC 型 208 例, CT 型 93 例, TT 型 11 例; C 和 T 等位基因数量分别为 519 和 125, T 等位基因突变的频率为 0.172, C 等位基因突变的频率为 0.828 符合 Hardy-Weinberg 分布。

2.2 HL 基因型与血脂谱 HL 是 TG 代谢的关键酶之一, 在脂质代谢中起重要作用。对不同 HL 基因型携带者的血脂水平进行比较, 发现 CC 型携带者 HDL-C 水平低于 CT 型或 TT 型携带者 ($P < 0.001$), 其它血脂指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各基因型之间体重指数 (BMI)、年龄差异亦均无统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 1)。

2.3 不同性别肝脂酶基因 -514 C/T 突变对血脂的影响 男性 CC 型携带者 HDL-C 浓度低于男性 TT+CT 型携带者 ($P < 0.001$); 这种趋势较女性明显。其他血脂指标均无统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 2)。

表 1 HL 基因突变对血脂和 BMI 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

基因分型	n	年龄 (岁)	BMI	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
CC 型	208	50.7 ± 15.8	22.3 ± 3.00	1.50 ± 1.00	4.82 ± 1.36	1.39 ± 0.24	2.42 ± 1.01
CT + TT 型	114	50.6 ± 15.7	23.1 ± 2.84	1.51 ± 1.02	4.79 ± 1.20	1.86 ± 0.35	2.39 ± 0.95
t	—	0.05	0.29	0.09	0.20	14.21	0.26
P	—	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.001	> 0.05

表 2 不同性别 HL 基因突变对血脂影响 ($\bar{x} \pm s$)

基因分型	n	年龄 (岁)	BMI	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
男性							
CC 型	116	50.7 ± 15.7	22.9 ± 2.99	1.50 ± 0.99	4.80 ± 1.36	1.38 ± 0.24	2.39 ± 1.00
CT + TT 型	60	50.6 ± 15.8	23.0 ± 2.97	1.51 ± 1.11	4.79 ± 1.20	1.93 ± 0.42	2.39 ± 0.98
t	—	0.04	0.21	0.06	0.05	11.05	0.00
P	—	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.001	> 0.05
女性							
CC 型	92	50.6 ± 15.7	22.9 ± 3.02	1.50 ± 1.01	4.79 ± 1.35	1.40 ± 0.24	2.39 ± 1.02
CT + TT 型	54	50.6 ± 15.8	23.0 ± 2.99	1.51 ± 0.92	4.79 ± 1.19	1.78 ± 0.23	2.38 ± 1.00
t	—	0.00	0.19	0.06	0.00	9.38	0.06
P	—	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.001	> 0.05

3 讨论

在冠心病的致病因素中, 血清 HDL-C 水平的

降低是一项重要因素。近年来, 探讨相关基因多态性与 HDL-C 的关系, 以阐明相关基因多态性是否与血清中 HDL-C 水平的关系正越来越受到人们的重视。

HL是一种水解 TG和磷脂的酶,在 HDL-C和 LDL-C的代谢及构成成分中起关键性的作用。在高 TG的情况下,HL的活性增加有利于 TG从 HDL至富含 TG脂蛋白的转运,促进 HDL₂转化为 HDL₃将大的 HDL-C微粒和 LDL-C微粒转化为对应的小微粒,从而导致 HDL-C含量的减少。虽然 HL的活性与 HDL-C的水平成反比关系,但其对动脉硬化的作用还不清楚,因为它在残余脂蛋白和 HDL-C代谢中具两重作用。

HL的活性在健康个体中有明显的不同,在人种和性别中也有差异,黑人及其女性比白人及其女性有低的 HL活性和高 HDL-C水平^[1]。通过对孪生和家族成员的研究表明,HL活性在个体内的不同是由于其具有遗传性。相关分析的结果提示 HL基因多态性影响血清中 HDL-C的水平。

肝脂酶基因位于第 15号染色体长臂,全长 35 kb有 4个常见的基因多态性(G-250A C-514T T-710C A-763G)^[2,3]。研究发现 HL-514T等位基因的频率在白人中是 0.149~0.263^[4,5];在黑人中是 0.520~0.546^[6];而本实验提示中国汉族人此等位基因的频率是 0.172。通过相关研究分析,在 4个基因多态性中 HL的启动子 C-514T被发现与 HL活性和血清 HDL-C水平相关,携带 -514T的等位基因具有低 HL活性和血清高 HDL-C水平。现有报道^[7,8]认为,在 HL基因中其启动子的多态性或此基因另一个相关的位点多态性可能通过修饰 HL基因的表达来影响 HDL-C的水平。最近研究^[2,5,8]显示,HL基因启动子的普通突变总是和低 HL活性和高 HDL-C的水平相联系。本研究结果证明,肝脂酶基因 -514T等位基因在中国成年人中影响血清 HDL-C的水平有统计学意义,与国外的实验结果相符合。

Juo等^[7]报道,在 10年期间,通过对 589例黑人成年男性中此基因位点的多态性研究表明,HL启动子的突变和血清高 HDL-C HDL₂-C和 Apo A 水平相关。然而,只有 HDL₂-C的水平一直持续显示有一定意义。基于 HL对底物的 HDL₂-C的研究分析,-514T等位基因仅对 HDL₂-C的水平有影响,且在黑人的男性和女性以及白人男性中-514T等位基因携带者总具有低活的 HL和高水平 HDL₂-C^[9-12]。

Chen等^[13]结果也表明 HL-514T等位基因的相对频率在黑人和白人中是不同的,在儿童和成人 HL-514T等位基因的血清中具有高水平 HDL-C并发现在白人中 HL-514T等位基因与性别对 HDL-C水平的影响有相互作用,但在黑人中未发现。HL-

514T基因型在白人男性中对 HDL-C水平有意义,但在白人的女性中其基因型对 HDL-C水平无意义;而在黑人中其基因型对 HDL-C水平的影响无明显的性别差异。本研究结果提示 HL-514T基因型在中国成人男性中对 HDL-C水平有统计学意义($P < 0.001$);在女性中其基因型对 HDL-C的水平影响也有统计学意义($P < 0.001$)。

肝脂酶受性激素的调节已有清楚的认识。然而,HL基因启动子的基因型影响 HDL-C水平在性别的差异不能用体内性激素的水平来解释。据报道,HL-514T基因型与 HL活性减弱幅度在男性和女性中是一致的,HL-514T等位基因对 HL活性的影响是独立作用,而与男性激素无关^[14-16]。

研究表明,在白人和黑人的儿童和成人肝脂酶基因启动子区 -514T的突变与高 HDL-C水平明显相关,本实验也证明在中国成人中肝脂酶基因启动子区 -514T的突变对 HDL-C水平的影响也符合这一规律性。虽然肝脂酶基因启动子 -514C/T多态性与低 HL活性和高 HDL-C相联系,但载脂蛋白 A 等也参与影响 HDL-C水平,这还需要进一步对 HDL-C有影响的其它基因及因素进行多因素的研究。

[参 考 文 献]

- [1] Tahvanainen E, Svanne M, Frick MH, et al. Association of variation in hepatic lipase activity with promoter variation in the hepatic lipase gene. The LOCAT Study Investigators [J]. *J Clin Invest* 1998; 101(5): 956-960
- [2] Vega GL, Clark LT, Tang A, et al. Hepatic lipase activity is lower in African American men than in white American men: Effects of 5' flanking polymorphism in the hepatic lipase gene (LIP) [J]. *J Lipid Res* 1998; 39(1): 228-232
- [3] van't Hooft FM, Lundahl B, Ragogna F, et al. Functional characterization of 4 polymorphisms in promoter region of hepatic lipase gene [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(5): 1335-1339
- [4] Cohen JC, Wang Z, Grundy SM, et al. Variation at the hepatic lipase and apo lipoprotein A IV/CIII/AV loci is a major cause of genetically determined variation in plasma HDL cholesterol levels [J]. *J Clin Invest* 1994; 94(6): 2377-2384
- [5] Jansen H, Verhoeven AJ, Weeks L, et al. Common C to T substitution at position -480 of the hepatic lipase promoter associated with a lowered lipase activity in coronary artery disease patients [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 17(11): 2837-2842
- [6] Juo SH, Han Z, Smith JD, et al. Promoter polymorphisms of hepatic lipase gene influence HDL₂ but not HDL₃ in African American men. CARDIA study [J]. *J Lipid Res* 2001; 42(2): 258-264
- [7] Zamboni A, Deeb SS, Hokanson JE, et al. Common variants in the promoter of the hepatic lipase gene are associated with lower levels of hepatic lipase activity, buoyant LDL, and higher HDL₂ cholesterol [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18(11): 1723-1729

宫颈癌患者放射治疗后性生活质量调查

程元芝¹, 张国田²

[摘要] 目的: 探讨宫颈癌患者放射治疗后性生活质量变化及影响因素。方法: 自行设计性生活质量调查表, 对 50 例子宫颈癌患者放射治疗后疾病及其治疗对性生活质量的影响进行调查。结果: 宫颈癌患者放疗后性生活质量较差, 性生活质量与年龄、文化程度有一定关系 ($P < 0.05$)。结论: 宫颈癌放疗患者性生活质量较差, 与生殖器官放射损伤和患者心理因素有关。

[关键词] 宫颈肿瘤; 性生活质量; 肿瘤 / 放射治疗

[中国图书资料分类法分类号] R 737.33 [文献标识码] A

Study of quality of sexual life in patients with cervical cancer after radiotherapy

CHENG Yuan-zhi, ZHANG Guo-tian²

(Department of Radiation Oncology Huaibei Miners General Hospital Huaibei 235000 China)

[Abstract] Objective: To explore quality of sexual life and correlative factors of cervical cancer (CC) patients who received radiotherapy. Methods: Questionnaires of self designed was investigated in 50 patients with CC and to assess the effects of diseases and therapy on quality of sexual life. Results: Quality of sexual life of CC patients who received radiotherapy seemed to be dissatisfied. Culture degree and age of patients were related with quality of sexual life ($P < 0.05$). Conclusion: Patients who received radiotherapy have the lower quality of sexual life. It was related with radiation injury of genitals and psychology factors.

[Key words] cervix neoplasms; quality of sexual life; neoplasms; radiotherapy

随着癌症治愈率的提高, 癌症治疗不仅旨在提高患者的生存率, 而且也越来越重视生活质量 (QOL) 的提高。在患子宫宫颈癌患者的人群中, 特别强调性生活质量的提高。因为导致妇科癌症患者 QOL 下降的最主要因素是性功能损伤^[1]。为进一步了解子宫宫颈癌患者的性生活情况, 笔者对子宫宫颈癌患者放射治疗后的性生活状况及相关因素进行调查, 现作报道。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2000 年 1 月 ~ 2005 年 10 月在我院肿瘤科接受单纯放射治疗的子宫宫颈癌患者 50 例, 均经临床、影像学 and 病理确诊, 否认其他躯体性疾病史。肿瘤局部控制满意, 放疗后生存期超过半年。年龄 25 ~ 69 岁, 均已婚。病理类型: 鳞癌 41 例, 腺癌 6 例, 腺鳞癌 2 例, 其它 1 例。文化程度: 大专及以上 5 例, 中学 (高中及初中) 18 例, 小学及以下 (包括文盲) 27 例。职业: 农民 16 例, 全职主妇 13 例, 工人 12 例, 干部 9 例。临床分期: I 期 1 例, II 期 9 例, III 期 34 例, IV 期 6 例。

[收稿日期] 2006-12-15

[作者单位] 安徽省淮北矿工总医院 1. 放疗科, 2 泌尿外科, 235000

[作者简介] 程元芝 (1970-), 女, 主治医师。

[8] Deeb SS, Peng R. The C-514T polymorphism in the human hepatic lipase gene promoter diminishes its activity [J]. *J Lipid Res* 2000, 41 (1): 155-158

[9] Friday KE, Srinivasan SR, Elkasabany A, et al. Black-white differences in postprandial triglyceride response and postheparin lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase among young men [J]. *Metabolism* 1999, 48 (6): 749-754

[10] Applebaum-Bowden D. Lipases and lecithin cholesterol acyltransferase in the control of lipoprotein metabolism [J]. *Curr Opin Lipidol* 1995, 6 (3): 130-135

[11] Donahue RP, Jacobs DR, Jr, Sidney S, et al. Distribution of lipoproteins and apolipoproteins in young adults: The CARDIA Study [J]. *Arteriosclerosis* 1989, 9 (5): 656-664

[12] Srinivasan SR, Wattigney W, Webber LS, et al. Race and gender differences in serum lipoproteins of children, adolescents and young adults: emergence of an adverse lipoprotein pattern in white males: The Bogalusa Heart Study [J]. *Prev Med* 1991, 20 (6): 671-684

[13] Chen W, Srinivasan SR, Boerwinkle E, et al. Hepatic lipase promoter C-514T polymorphism influences serial changes in HDL cholesterol levels since childhood: The Bogalusa Heart Study [J]. *Atherosclerosis* 2003, 169 (1): 175-182

[14] Carr MC, Hokanson JE, Zambon A, et al. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86 (6): 2 831-2 837

[15] Apple-Bowden D, Haffner SM, Wahl PW, et al. Postheparin plasma triglyceride lipases: Relationships with very low density lipoprotein triglyceride and high density lipoprotein cholesterol [J]. *Arteriosclerosis* 1985, 5 (3): 273-282

[16] Clayman N, Newham HJ, Barter PJ. Hepatic lipase promotes a loss of apolipoprotein A-I from triglyceride-enriched human high density lipoproteins during incubation in vitro [J]. *Arterioscler Thromb* 1991, 11 (2): 415-422