

# 宁夏地区老年人群载脂蛋白 E 等位基因 $\epsilon 4$ 携带与血脂水平的相关性研究

刘启玲<sup>1</sup>, 王志忠<sup>2</sup>, 张荣强<sup>1</sup>, 刘秀英<sup>2</sup>, 张志刚<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的:** 分析老年人群中载脂蛋白 E(APOE) 基因多态性与血脂之间的关系。**方法:** 采用典型抽样法抽取宁夏地区城市社区 55 岁及以上人群, 行问卷调查和血脂相关指标检查; 采用高通量溶解曲线法检测 APOE 基因多态性, APOE 基因多态性与血脂关系采用方差分析。**结果:** 共 924 人完成了所有研究内容; 各年龄组三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、载脂蛋白 A(ApoA)、体质量指数(BMI)、葡萄糖 5 项指标差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 等位基因频率分布为 E3 所占比例最大, 且不同年龄组间、不同性别间基因型分布、等位基因频率分布、携带基因 E4 频率分布差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 将年龄和性别进行控制后, 基因型与 HDL-C、LDL-C、ApoA 和 ApoB 均有相关关系( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。**结论:** 宁夏地区老年人群的血脂水平分布与年龄存在相关性, 等位基因  $\epsilon 4$  携带与血脂水平显著相关。

**[关键词]** 血脂; 老年人; 载脂蛋白 E; 基因多态性

**[中图分类号]** R 589.2

**[文献标志码]** A

**DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2017.07.001

## The correlation between ApoE allele $\epsilon 4$ carrier and blood lipid level in elders in Ningxia

LIU Qi-ling<sup>1</sup>, WANG Zhi-zhong<sup>2</sup>, ZHANG Rong-qiang<sup>1</sup>, LIU Xiu-ying<sup>2</sup>, ZHANG Zhi-gang<sup>1</sup>

(1. Department of Epidemiology and Health Statistics, Public Health Faculty of Shanxi University of Chinese Medicine, Xi'an Shanxi 712046; 2. Faculty of Epidemiology and Health Statistics, School of Public Health and Management of Ningxia Medical University, Yinchuan Ningxia 750004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the correlation between the apolipoprotein E(ApoE) gene polymorphism and blood lipid in elders.

**Methods:** Nine hundred and twenty-four elders aged over 55 years old were selected using typical sampling method. The cases were investigated using a questionnaire, and the blood lipid indicators were examined. The ApoE gene polymorphism was detected using the high resolution melting(HRM) curve method. The correlation between ApoE gene polymorphism and blood lipid was analyzed using ANOVA. **Results:** The differences of the levels of TG, HDL-C, ApoA, BMI and glucose in all cases were statistically significant( $P < 0.05$ ). The proportion of E3 in all allele frequency distribution was the largest. The differences of the genotype distribution, allele frequency distribution and carry E4 frequency distribution among all cases were statistically significant( $P < 0.05$ ). After the age and gender were controlled, the genotype was correlation with the HDL-C, LDL-C, ApoA and ApoB( $P < 0.05$  to  $P < 0.01$ ). **Conclusions:** The blood lipid level is associated with age, and the ApoE4 carriers is significant associated with the blood lipid level of the elders in Ningxia.

**[Key words]** blood lipid; the elder; apolipoprotein  $\epsilon$ ; gene polymorphism

目前中国人血脂异常的现状不容乐观。调查<sup>[1-2]</sup>发现血脂水平不同, 冠心病、糖尿病等老年病的发生率、死亡率显著不同。既往研究提示载脂蛋白 E(Apolipoprotein E, ApoE) 基因多态性是导致个体间血脂和脂蛋白水平差异的重要因素之一。ApoE 主要存在于极低密度脂蛋白中, 其 3 种常见的等位基因( $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$ ) 分别编码 3 种主要异构体(E2、E3、E4), WILSON 等研究发现<sup>[3]</sup>,  $\epsilon 4$  通过对低

密度脂蛋白(LDL-C)、甘油三酯(TG)、糖代谢及其它因素的作用, 引起动脉粥样硬化。然而, 全世界范围内关于 ApoE 基因多态性与血脂的关系在不同人群中存在着显著的不一致。本研究以宁夏地区回、汉族社区人群为研究对象, 探讨载脂蛋白 E 基因多态性与血脂之间的相关性, 为开展老年人群的疾病预防提供参考。

### 1 材料与方法

1.1 研究对象 采用典型抽样法, 选取宁夏银川市和吴忠市老年人口比较集中的城市社区 5 个, 对所有符合纳入标准的老年人进行问卷调查, 采集早晨空腹血检测血脂和临床检查。纳入标准: 年龄  $\geq 55$  岁, 宁夏户籍。排除标准: 视力及听力障碍者; 患有

[收稿日期] 2016-05-20

[基金项目] 宁夏回族自治区自然科学基金项目(NZ15083)

[作者单位] 1. 陕西中医药大学公共卫生学院 流行病学与卫生统计学教研室, 陕西 西安 712046; 2. 宁夏医科大学 公共卫生与管理学院 流行病学与卫生统计学系, 宁夏 银川 750004

[作者简介] 刘启玲(1977-), 女, 硕士研究生, 副教授。

[通信作者] 王志忠, 教授。E-mail: wzhzh\_lion@126.com

严重躯体疾病不能配合者。

1.2 研究方法 对纳入的研究对象进行问卷调查采集一般人口学信息。调查由经过专业培训的调查员在社区现场一对一完成。调查前进行预调查,统一调查标准和方法,保证调查资料客观性和准确性。本研究受宁夏医科大学伦理委员会审查和监督,所有研究对象均在研究开始前签署知情同意书。

1.3 血脂检测 采用酶法测定血清总胆固醇(TC)和TG;用磷钨沉淀法测定高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C);LDL-C采用公式计算;圆周免疫法测定载脂蛋白A1(ApoA1)和载脂蛋白B100(ApoB100)。

1.4 标本制备和检测 提取清晨安静状态空腹12 h后抽取静脉血5 mL置于含有EDTA的抗凝管中,采用试剂盒(Wizard, Genomic DNA Purification Kit)法提取DNA,置于250  $\mu$ L DNA溶解液中,-20  $^{\circ}$ C保存备用。血清生化检查采用MOL-300型全自动生化分析仪完成。

1.5 ApoE基因多态性检测 采用高通量溶解曲线法检测ApoE基因多态性<sup>[4]</sup>,检测仪器为罗氏Light Cycler480型(美国)。引物由美国Invitrogen公司设计合成,引物序列:rs429835(112)位点上游引物:5'CGG GCA CGG CT-GTC CAA G3',下游引物:5'CGG TAC TGC ACC AGG CGG C3',产物长度89 bp;

rs7412(158)位点上游引物:5'GCT GCG TAA GCG GCT CCT CC3',下游引物:5'GGC CCC GGC CTG GTA CAC T3',产物长度70 bp。所有检测均由生物芯片北京国家工程研究中心宁夏分中心按照说明书操作完成。

1.6 统计学方法 采用方差分析、秩和检验、LSD检验、Fisher确切概率法及偏相关分析。

## 2 结果

2.1 一般情况 共有1 022人符合纳入标准,其中924人(90.4%)完成所有研究内容。年龄55~88岁;男353人,女571人;回族305人,汉族619人;文化程度:文盲239人,小学253人,初中254人,高中及以上178人;农民187人,工人304人,政府机关职员83人,商人、私企职员33人,教师41人,医务工作者12人,服务行业68人,其他196人。

2.2 年龄与血脂之间的关系 与55~64岁比较,75岁以上组的TG、HDL-C、ApoA、体质量指数(BMI)差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),而65~74岁组的TG、血糖含量差异均有统计学意义 $P < 0.01$ ;同时,65~74岁组与75岁以上组BMI差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。(见表1)。

表1 不同年龄组间老年人血脂水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

年龄/岁	<i>n</i>	TC/ (mmol/L)	TG/ (mmol/L)	HDL-C/ (mmol/L)	LDL-C/ (mmol/L)	ApoA/ ( $\mu$ mol/L)	ApoB/ ( $\mu$ mol/L)	BMI/ (kg/m <sup>2</sup> )	血糖/ (mmol/L)
55~64	414	4.809 $\pm$ 0.998	1.900 $\pm$ 0.923	3.981 $\pm$ 1.007	3.206 $\pm$ 0.663	1.272 $\pm$ 1.976	1.007 $\pm$ 0.208	25.423 $\pm$ 0.208	6.326 $\pm$ 1.401
65~74	382	4.762 $\pm$ 0.988	1.746 $\pm$ 0.858 $\Delta$	4.101 $\pm$ 1.063	3.249 $\pm$ 0.668	1.296 $\pm$ 1.999	1.018 $\pm$ 0.211	25.294 $\pm$ 3.304	6.712 $\pm$ 1.703 $\Delta\Delta$
$\geq 75$	128	4.783 $\pm$ 0.971	1.679 $\pm$ 0.726 $\Delta\Delta\Delta$	4.307 $\pm$ 1.059 $\Delta\Delta\Delta$	3.256 $\pm$ 0.684	1.327 $\pm$ 0.210 $\Delta\Delta$	0.996 $\pm$ 0.211	24.339 $\pm$ 3.394 $\Delta\Delta\#$	6.5 $\pm$ 1.582
<i>F</i>	—	0.22	4.67	5.02	0.52	0.05	0.60	9.68	6.11
<i>P</i>	—	>0.05	<0.01	<0.01	>0.05	<0.05	>0.05	<0.01	<0.01
<i>MS</i> <sub>组内</sub>	—	0.99	0.76	1.08	0.45	3.41	0.04	6.12	2.43

两两比较:与55~64岁组比较, $\Delta P \leq 0.05$ , $\Delta\Delta P \leq 0.01$ ;与65~74岁组比较, $\# P \leq 0.05$

2.3 不同年龄和民族与ApoE基因型、等位基因以及携带基因 $\epsilon 4$ 之间的关系 本研究中有8个等位基因在收集数据时未报,故实际等位基因总个数为1840,检测携带E4基因的个体数为68。不同基因型在各年龄组中的频率分布顺序为E3/3 > E2/3 > E3/4 > E2/2 > E4/4 > E2/4;等位基因频率分布为E3(86.30%),E2(7.83%),E4(5.87%);不同年龄组间基因型分布、等位基因频率分布、携带基因E4频率分布均有统计学差异( $P < 0.05$ )(见表2、3)。

2.4 ApoE基因型间血浆脂质和脂蛋白水平比较 将ApoE基因型分为E2/X、E4/X和E3/3三类,其

中E2/2和E4/4分别归类于E2/X和E4/X,由于E2/4仅3例,且作用为中性,不包括在内。男性E3/3 LDL-C、E4/X与E3/3 ApoB水平均明显高于E2/X者( $P < 0.01$ ),而男性E4/X与E3/3 ApoA水平显著低于E2/X者( $P < 0.01$ )。女性E3/3 HDL-C和ApoA水平均低于E2/X者( $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ )。而E4/X和E3/3 ApoB均明显高于E2/X者( $P < 0.01$ ),男性E4/X和E3/3年龄、E2/X与E4/X TG、E3/3 ApoB、E2/X和E4/X及E3/3 TC、HDL-C、LDL-C与ApoA水平与女性同一指标差异均有统计学意义( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )(见表4)。

表 2 不同年龄和民族 ApoE 基因型频率分布

	n	基因型					
		E2/2	E2/3	E2/4	E3/3	E3/4	E4/4
年龄/岁							
55~64	414	14	51	1	327	20	1
65~74	382	5	47	2	301	23	4
≥75	128	0	20	0	91	15	2
合计	924	19	118	3	719	58	7
$H_c$	—			20.417			
$P$	—			<0.05			
民族							
汉族	619	11	83	1	480	41	3
回族	305	8	39	1	236	17	4
合计	924	19	122	2	716	58	7
$H_c$	—			3.24			
$P$	—			>0.05			

表 3 不同年龄和民族等位基因与 E4 基因携带频率分布

研究项目	n	等位基因			E4 基因携带
		E2	E3	E4	
年龄/岁					
55~64	414	80	717	23	22
65~74	382	59	672	33	29
≥75	128	20	217	19	17
合计	924	159	1 606	75	68
$\chi^2$	—		12.750		8.961
$P$	—		<0.05		<0.05
民族					
汉族	619	106	1084	48	45
回族	305	56	528	26	22
合计	924	19	122	267	
$\chi^2$	—		0.377		0.001
$P$	—		>0.05		>0.05

表 4 各 ApoE 基因型与血浆脂质和脂蛋白水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

性别	n	年龄/岁	BMI/ (kg/m <sup>2</sup> )	TC/ (mmol/L)	TG/ (mmol/L)	HDL-C/ (mmol/L)	LDL-C/ (mmol/L)	ApoA/ (μmol/L)	ApoB/ (μmol/L)
男									
E2/X	58	67.48 ± 7.60	24.69 ± 3.21	4.30 ± 0.84 <sup>##</sup>	1.56 ± 0.82 <sup>#</sup>	4.01 ± 1.12 <sup>△</sup>	2.79 ± 0.53 <sup>##</sup>	1.28 ± 0.20 <sup>△△</sup>	0.87 ± 0.17
E4/X	24	70.71 ± 7.38 <sup>△</sup>	25.10 ± 3.40	4.65 ± 1.02 <sup>△</sup>	1.57 ± 0.50 <sup>#</sup>	3.58 ± 0.98 <sup>△△</sup>	3.12 ± 0.67 <sup>△</sup>	1.15 ± 0.21 <sup>**△△</sup>	1.03 ± 0.20 <sup>**</sup>
E3/3	270	67.56 ± 6.76 <sup>△△</sup>	25.50 ± 3.18	4.53 ± 0.89 <sup>△△</sup>	1.76 ± 0.86	3.77 ± 0.99 <sup>△△</sup>	3.07 ± 0.61 <sup>**△△</sup>	1.21 ± 0.18 <sup>**△△</sup>	0.98 ± 0.19 <sup>**△△</sup>
$F$	—	2.32	1.60	1.95	1.76	1.93	5.47	5.10	9.74
$P$	—	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01
$MS_{组内}$	—	48.245	10.239	0.794	0.696	1.024	0.362	0.034	0.035
女									
E2/X	83	66.02 ± 6.53	25.63 ± 3.48	4.83 ± 1.11	1.95 ± 1.05	4.49 ± 1.24	3.28 ± 0.69	1.40 ± 0.18	0.92 ± 0.20 <sup>##</sup>
E4/X	41	66.90 ± 7.17	25.14 ± 3.36	5.24 ± 0.89	2.00 ± 1.07	4.41 ± 0.91	3.55 ± 0.67	1.36 ± 0.19	1.11 ± 0.25 <sup>**</sup>
E3/3	445	65.48 ± 6.25	25.09 ± 3.26	4.96 ± 0.99	1.89 ± 0.90	4.19 ± 1.04 <sup>*</sup>	3.35 ± 0.67	1.32 ± 0.20 <sup>**</sup>	1.05 ± 0.21 <sup>**</sup>
$F$	—	1.29	0.94	2.30	0.36	3.29	2.25	6.16	15.94
$P$	—	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.01	<0.01
$MS_{组内}$	—	34.317	10.889	1.003	0.876	1.130	0.453	0.039	0.045

$q$  检验:与各性别 E2/X 比较 \* $P$ <0.05, \*\* $P$ <0.01;  $t$  检验:与相应的女性同一指标比较  $\Delta P$ <0.05,  $\Delta\Delta P$ <0.01;  $t'$  检验: # $P$ <0.05, ## $P$ <0.01

2.5 控制年龄后基因型、e4 基因携带与血脂之间的相关性 将年龄和性别进行控制后,对基因型与血浆脂质和脂蛋白进行偏相关分析发现在年龄不变的情况下,基因型与 HDL-C、LDL-C、ApoA 和 ApoB 均有相关关系( $P$ <0.05 ~  $P$ <0.01)(见表 5)。

表 5 控制年龄后基因型、携带基因 e4 与血脂之间的相关性

		TC	TG	HDL-C	LDL-C	ApoA	ApoB
基因型	$r$	0.049	0.007	-0.079	0.070	-0.120	0.181
	$P$	>0.05	>0.05	<0.01	<0.05	<0.01	<0.01
携带基因 e4	$r$	0.059	0.002	0.003	0.060	-0.018	0.079
	$P$	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05

### 3 讨论

由于遗传及环境因素的影响,不同人群对于某些疾病的易感性不同,通过对人类基因多态性的研究,可以了解各种基因在人群中的分布及其与疾病的关系,有助于我们从基因水平更深刻地认识各种疾病在不同人群中的不同易感性和不同发病率的内在机制。

血脂异常是心脑血管病最重要的且可调控的危险因素之一,而血脂异常的最主要人群是中老年人<sup>[2]</sup>。如若对血脂异常的特殊易感人群进行长期、早期检测和治疗,可显著降低老年疾病的发生率。

本次研究发现,在 55 岁以上的老年人群中,随着年龄的增加,HDL-C、ApoA 和葡萄糖值升高,而 BMI 与 TG 值显著降低,这些结果能更好地证实心脑血管疾病、高脂血症在 55 ~ 64 岁组高发的流行病学现象,因为高 HDL-C、ApoA 和低 BMI、TG 是高血脂症的保护性因素。

ApoE 是多种脂蛋白的结构蛋白,是影响机体血清脂质水平的重要遗传因素。人群中有 6 种 ApoE 表型,我们测定的 924 例研究对象中,以 ApoE3/3 基因型频率最高,ApoE 等位基因中也以  $\epsilon 3$  频率最高,占全体研究对象的 86.30%, $\epsilon 2$  次之为 7.83%, $\epsilon 4$  最低为 5.87%,与国内京、沪等地的调查结果<sup>[5-6]</sup>相比, $\epsilon 3$  频率较高,在 81% 以上, $\epsilon 4$  频率低于其他地区(6.3% ~ 7.5%), $\epsilon 2$  频率与其他地区相近。地区检测结果变化范围有差异,这可能与受检人群的年龄构成不尽一致有关。还有研究<sup>[4,7]</sup>表明,老年性痴呆病患者中, $\epsilon 4$  有较高的基因频率分布,而在健康老年人中则较低, $\epsilon 2$  基因具有防御作用并与长寿有关。此次研究中发现,ApoE 的基因型、等位基因和携带基因 E4 在各年龄组间均有显著性差异。E2 和  $\epsilon 3$  随着年龄的增加均有所下降,而 E4 频率升高,且携带基因 E4 频率在 75 岁以上组达 13.3% 远高于 55 ~ 64 岁组(5.4%)。这进一步提示 ApoE 等位基因频率和携带基因 E4 的分布与年龄存在相关性,且随着年龄的升高,E2 和 E4 向不利于健康的方向发展,若提前逆转 E2 和 E4 的发展,预计可促进老年人的健康。

以往研究发现,ApoE 基因多态性是影响机体血清脂质水平,特别是胆固醇水平的重要遗传因素。据推算与 E3 等位基因比较,E2 等位基因减少 TC,反之,E4 增加血清 TC<sup>[8-11]</sup>。本研究显示,与 E2、E3 携带者比较,E4 携带者有最高的血清 TC,这与以往研究保持一致,但本次研究结果未显示基因型与 TG 之间的相关性,这点与以往资料存在差异,是否是地区差异造成有待进一步比较。但在平衡年龄和性别因素后,基因型与 TC、TG 却无显著相关性( $P > 0.05$ ),如前所述,年龄与 TC、TG 有关,年龄与基因型分布也有关,说明年龄是基因型和 TC、TG 之间的一个混杂因素。本研究还显示,在控制年龄和性别前后,基因型与 HDL-C、LDL-C、ApoA 和 ApoB 均有相关性,且与 E2 相比,E4 型基因可增加 LDL-C 和 ApoB 含量,降低 HDL-C 和 ApoA 含量,这进一步说明 ApoE 基因多态性确实影响个体的血脂和脂蛋白水平,且 E4 等位基因是高血脂症的危险因素,而 E2

等位基因是保护性因素。

目前,关于 ApoE 表型调节体内血脂代谢的机制还不十分清楚,可能与各种 ApoE 异构体的受体结合活性及自身体内代谢速率的差异有关<sup>[12]</sup>。年龄对 ApoE 表型的影响是不可忽视的自然因素。血脂紊乱是动脉粥样硬化和心脑血管疾病的独立危险因素,因此,ApoE 基因型产生的血脂效应对预防老年疾病的发生发展具有重要指导意义。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] GRÖNROOS P, RAITAKARI OT, KÄHÖNEN M, *et al.* Influence of apolipoprotein E polymorphism on serum lipid and lipoprotein changes; a 21-year follow-up study from childhood to adulthood. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2007, 45(5): 592.
- [2] 肖志杰, 赵水平, 聂赛, 等. 载脂蛋白 E 基因多态性对血脂的影响 [J]. *中华流行病学杂志*, 2005, 26(7): 533.
- [3] WILSON PWF, MYERS RH, LARSON MG, *et al.* Apolipoprotein E alleles dyslipidemia, and coronary heart disease [J]. *JAMA*, 1994, 272: 1666.
- [4] LIBEROPOULOS E, MILTIADOUS G, HATZIVASSILIOU M, *et al.* Apolipoprotein E polymorphism in northwestern Greece: frequency and effect on lipid parameters [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2004, 34: 347.
- [5] 黎旭, 赵冬, 刘静, 等. 北京自然人群载脂蛋白 E 基因多态性频率分布及与血脂关系研究 [J]. *心肺血管病杂志*, 2002, 21(4): 193.
- [6] TAN CE, TAI ES, TAN CS, *et al.* ApoE polymorphism and lipid profile in three ethnic groups in Singapore population [J]. *Atherosclerosis*, 2003, 170(3): 253.
- [7] 关绍晨, 杨静芳, 汤哲, 等. 北京地区 55 岁及以上人群载脂蛋白 E 基因多态性分布特点及其与血脂的关系. [J]. *中国脑血管病杂志*, 2010, 7(12): 653.
- [8] MASEMOLA ML, ALBERTS M, URDAL P. Apolipoprotein E genotypes and their relation to lipid levels in a rural South African population [J]. *Scand J Public Health Suppl*, 2007, 69: 60.
- [9] JEMAA R, ELASMI M, NAOUALI C, *et al.* Apolipoprotein E polymorphism in the Tunisian population: Frequency and effect on lipid parameters [J]. *Clin Biochem*, 2006, 39(8): 816.
- [10] SOUZA DR, NAKACHIMA L, BIAGIONI RB, *et al.* Relevance of apolipoprotein E4 for the lipid profile of Brazilian patients with coronary artery disease [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2007, 40(2): 189.
- [11] LIBEROPOULOS E, MILTIADOUS G, HATZIVASSILIOU M, *et al.* Apolipoprotein E polymorphism in northwestern Greece: frequency and effect on lipid parameters [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2004, 34(3): 347.
- [12] 孙丽娜, 张波, 许颖, 等. 广州市 40 - 65 岁居民载脂蛋白 E 基因多态性与血脂水平的关系 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2008, 2(29): 181.