

# 新疆不同民族冠心病患者载脂蛋白 E 基因多态性分析

郭世燕, 唐志爱

(新疆 474 医院, 新疆 乌鲁木齐 830000)

**摘要:** **目的** 探究分析新疆不同民族冠心病患者载脂蛋白 E 基因多态性, 为人类基因组与疾病遗传学研究提供参考, 为指导新疆不同民族冠心病患者的防治提供依据。 **方法** 选取自 2021 年 7 月起新疆乌鲁木齐地区汉族、维族、哈萨克族、回族等四个民族人群各 26 例, 共计 104 例, 其中冠心病组 50 例, 另外非冠心病患者或正常人群作为对照组, 共 54 例。采用酚氯仿抽提核酸法提取两组研究对象的基因组 DNA, 通过聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 方法开展载脂蛋白 E 基因多态性 Hha I 酶切研究, 载脂蛋白 E 基因主要包括了由  $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  所介导的 E2/2、E3/3、E4/4、E4/2、E4/3、E3/2。 **结果** (1) 从不同民族载脂蛋白 E 的  $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  等位基因频率结果看出, 维族、哈萨克族、回族  $\epsilon 2$  相比于汉族出现显著的升高 ( $P < 0.05$ ); 而  $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  相比于汉族有一定下降, 但相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。 (2) 从不同组别载脂蛋白 E 的  $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  等位基因频率结果看出, 冠心病组  $\epsilon 2$  相比于对照组出现显著地下降 ( $P < 0.05$ ); 其中以维族、哈萨克族、回族更加的明显; 而  $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  相比于对照组有一定升高, 但相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。 **结论** 新疆不同民族冠心病患者中, 维族、哈萨克族、回族与汉族人群载脂蛋白 E 基因型分布存在着明显区别, 维族、哈萨克族、回族人群中  $\epsilon 2$  等位基因频率相比于对照组要明显更高。同时冠心病患者载脂蛋白 E 基因的  $\epsilon 2$  等位基因频率大幅下降, 以维族、哈萨克族、回族更为显著。

**关键词:** 新疆; 不同民族; 冠心病; 载脂蛋白 E; 基因多态性

**中图分类号:** R541.1

**文献标识码:** B

**DOI:** 10.3969/j.issn.1671-3141.2022.93.061

## 0 引言

脂质代谢紊乱与动脉粥样硬化的发生有着紧密联系<sup>[1-2]</sup>。临床大量研究报道了载脂蛋白基因和血脂紊乱以及动脉粥样硬化之间的关联性<sup>[3]</sup>。冠心病主要是由外部环境及遗传等多种因素相互交织而引起的心脏病症, 除高血压、高血脂、糖尿病、吸烟史等常规风险因素外, 近些年包括同型半胱氨酸、促凝血因子以及基因多态性等新型冠状病毒风险因素受到了更多人关注<sup>[4]</sup>。研究发现, 脂质蛋白基因多态性和血脂紊乱以及冠心病之间密切相关, 并且在不同民族和群体之中有一定差异<sup>[5]</sup>。现阶段关于新疆不同民族冠心病患者载脂蛋白 E 基因多态性的研究并不多见<sup>[6]</sup>。为此, 本文主要分析新疆乌鲁木齐地区汉族、维族、

哈萨克族、回族冠心病患者载脂蛋白 E 基因多态性, 为指导新疆不同民族冠心病患者的防治提供依据, 报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取自 2021 年 7 月起新疆乌鲁木齐地区汉族、维族、哈萨克族、回族等四个民族人群各 26 例, 共计 104 例。将其中 50 例冠心病患者全部归在冠心病组内, 所有冠心病患者均通过冠状动脉造影检查得到明确证实, 即至少处在一支冠脉狭窄在 50% 及以上。从民族分布情况看出, 汉族、维族、哈萨克族、回族分别有 12 例、12 例、13 例、13 例; 从性别分布情况看出, 男性 28 例, 女性 22 例; 从年龄分布情况可知, 最小年龄 43 岁, 最大

项目编号: 2021jz bj1002。



75岁,平均(58.48±7.27)岁;从冠心病类型分布看出,31例为心肌梗死,10例为不稳定型心绞痛,9例为稳定型心绞痛;9例合并糖尿病史,14例合并高血压史,29例合并吸烟史;平均体质指数(25.38±1.25) kg/m<sup>2</sup>。将另外非冠心病患者或正常人群作为对照组,共54例。本组研究对象通过本院病史、健康体检、心电图、心脏彩超等综合检查排除了相关冠心病表现,即不存在狭窄或者狭窄在25%以下。从民族分布情况看出,汉族、维族、哈萨克族、回族分别有14例、14例、13例、13例;从性别分布情况看出,男性30例,女性24例;从年龄分布情况可知,最小年龄42岁,最大77岁,平均(58.72±7.11)岁;10例合并糖尿病史,16例合并高血压史,30例合并吸烟史;平均体质指数(25.19±1.34) kg/m<sup>2</sup>。本次研究的开展得到本院伦理委员会批准同意。

纳入标准:(1)冠心病患者均符合世界卫生组织发布的缺血性心脏病诊断标准;(2)非冠心病或正常人群通过本院健康体检得到证实;(3)具有完整的病史资料;(4)年龄40~80岁;(5)文字及语言表达不存在障碍;(6)本次研究细节和目的患者均知情,并且签字确认。

排除标准:(1)合并其他心脏疾病,例如心律失常、心力衰竭、心肌炎等;(2)患有原发性恶性肿瘤、肝肾器官功能衰竭、全身感染、自身免疫性疾病、血液系统病症等;(3)合并严重精神障碍性病症,认知功能异常;(4)不配合检查中途失访。

## 1.2 方法

### 1.2.1 DNA提取

从参与研究的两组受检者外周血凝块白细胞内进行基因组DNA提取,所提取的方式为酚氯仿抽提核酸法。

### 1.2.2 PCR扩增

通过聚合酶链式反应(PCR)这一方法对载脂蛋白E基因内224-bp片段进行扩增,引物(Primer)设计方法如下:F4(5'-ACA GAA TTC GCC CCG GCC TGG TAC AC-

3')和F6(5'TTA GCT TGG CAC GGC TGTC CA AGG A-3')。反应体系的总体积控制在30 μL,在这之中包括DNA共有200 ng(含有DNA模板2 μL),1.5 M MgCl<sub>2</sub>(25 mM MgCl<sub>2</sub> 1.8 μL),60 μM dNTP(25 mM 4 × dNTP 2.4 μL),0.75 Taq酶(3 U/μL Taq酶0.25 μL),P1 10 pmol(10 pmol/μL Primer F4 1 μL),P2 10 pmol(10 pmol/μL Primer F6 1 μL),二甲基亚砜(DMSO)一共有3 μL,10 × 缓冲液(buffer)一共有3 μL,水(H<sub>2</sub>O)一共有15.55 μL。扩增过程中所使用的仪器为DNA ThermalCycler 480 PCR仪,购置于美国PERKIN ELMER公司,从5 min开始扩增,温度设置为94 °C,然后94 °C变性45 s,降低到62 °C复性45 s,提高到72 °C延伸1 min,一共进行30次循环,再通过72 °C延伸7 min。

### 1.2.3 酶切消化(RFLP)

将总体积为10 μL含有5 μg HhaI(10 U/μL HhaI 0.5 μL, Promega),2 μg BSA(10 mg/mL BSA 0.2 μL, Promega)的反应体系中加入PCR产物8 μL(DNA 244bp 400 ng),温度调整至37 °C,时间控制在4 h。

### 1.2.4 电泳分析

通过8%聚丙烯酰胺凝胶(Polyacrylamide Gel, 1.5 mm厚×25 cm长, Promega)对消化产物进行电泳处理,电流调整至45 mA,时间一共3 h。随后继续通过溴化乙啶(0.2 mg/L)染色半小时,使用Image Master R VDS仪器完成观察,设备购于瑞士Pharmacia Biotech公司。通过观察可能会存在91、81、72、48、38、33 bp一共六种可见片段。将pGEM-7zf(+)作为对照标记(marke)。

### 1.2.5 血脂测定

在清晨采集所有研究对象外周静脉血样本

一共4 mL, 在采血之间需要经过12 h的禁食。对于相关指标的检测均借助全生化自动分析仪 (Beckman Synchron CX7 Clinical Systems) 完成检测。总胆固醇 (TC) 水平的测定主要通过CHOD-PAP法; 甘油三酯 (TG) 水平的测定主要通过GPO -PAP法; 低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平的测定主要通过Friedewald公式计算得出; 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平的测定方法如下: 通过磷钨酸镁 (PTA-Mg<sup>2+</sup>) 对样本进行处理, 使样本内ApoB的脂蛋白 (LDL-C及VLDL-C) 得到充分沉淀, 获得上清液; 上清液内则只存在HDL-C, 通过CHOD PAP法进一步来测定上清液内的HDL-C水平。使用免疫透射比浊法来对ApoAI及ApoB以及脂蛋白(a)[Lp(a)]水平完成测定。

### 1.3 统计学方法

采用统计学软件SPSS 21.0对于试验数据进行统计学分析, 组间比较采用卡方检验或四格表确切概率法, 等级资料比较采用Wilcoxon秩和检验, 组内比较采用单因素方差分析, 两两比较采用LSD法, 组间符合正态分布采用配对 $t$

检验, 非正态或方差不齐采用Wilcoxon秩和检验,  $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 冠心病组及对照组内载脂蛋白E基因型分布情况

从不同组别人群中载脂蛋白E基因型分布情况看出, 冠心病组E3/3、E3/4基因型分布要明显的多于对照组 ( $P < 0.05$ ); 而在E2/3基因型方面, 观察组要较对照组明显更低 ( $P < 0.05$ ); 另外在E2/2、E2/4、E4/4基因型分布方面, 对照组及观察组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表1。

### 2.2 冠心病组及对照组内 $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$ 等位基因频率情况

从不同组别人群中载脂蛋白E的  $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  等位基因频率结果看出, 冠心病组  $\epsilon 2$  相比于对照组出现显著地下降 ( $P < 0.05$ ); 而  $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  相比于对照组有一定升高, 但相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表2。

表1 冠心病组及对照组内载脂蛋白E基因型分布情况 [n(%)]

组别	E2/2	E2/3	E2/4	E3/3	E3/4	E4/4
对照组 (n=54)	3 (5.56)	9 (16.67)	5 (9.26)	28 (51.85)	9 (16.67)	0 (0)
冠心病组 (n=50)	1 (2.00)	3 (6.00)*	1 (2.00)	31 (62.00)*	13 (26.00)*	1 (2.00)

注: 和对照组对比, \* $P < 0.05$ 。

表2 冠心病组及对照组内  $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  等位基因频率情况 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$
对照组 (n=54)	0.19 $\pm$ 0.06	0.69 $\pm$ 0.16	0.13 $\pm$ 0.04
冠心病组 (n=50)	0.07 $\pm$ 0.02*	0.77 $\pm$ 0.21	0.15 $\pm$ 0.05

注: 和对照组对比, \* $P < 0.05$ 。

### 2.3 不同民族载脂蛋白E基因型分布情况

从不同民族人群中载脂蛋白E基因型分布情况看出, 维族、哈萨克族、回族E2/2基因型分布要明显的多于汉族 ( $P < 0.05$ ); 而在E3/3基因型方面, 维族、哈萨克族、回族要较汉族明显更低 ( $P < 0.05$ ); 另外在E2/3、E2/4、E3/4、E4/4基因型分布方面, 不同民族之间差

异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表3。

### 2.4 不同民族人群中 $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$ 等位基因频率情况

从不同民族人群中载脂蛋白E的  $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  等位基因频率结果看出, 维族、哈萨克族、回族  $\epsilon 2$  相比于汉族出现显著的升高 ( $P < 0.05$ ); 而  $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$  相比于汉族有一定下降, 但相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表4。

## 3 讨论

载脂蛋白E基因多态性主要是受到染色体基

表 3 不同民族载脂蛋白 E 基因型分布情况 [n(%)]

民族	组别	E2/2	E2/3	E2/4	E3/3	E3/4	E4/4
维族	对照组 (n=14)	3 (21.43)	4 (28.57)	1 (7.14)	5 (35.71)	1 (7.14)	0 (0)
	冠心病组 (n=12)	1 (8.33)	0 (0)	0 (0)	7 (58.33)	4 (33.33)	0 (0)
哈萨克族	对照组 (n=14)	3 (21.43)	3 (21.43)	3 (21.43)	3 (21.43)	2 (14.29)	0 (0)
	冠心病组 (n=12)	1 (8.33)	0 (0)	0 (0)	6 (50.00)	5 (41.67)	0 (0)
回族	对照组 (n=13)	3 (23.08)	3 (23.08)	3 (23.08)	3 (23.08)	0 (0)	1 (7.69)
	冠心病组 (n=13)	1 (7.69)	1 (7.69)	0 (0)	7 (53.85)	3 (23.08)	1 (7.69)
汉族	对照组 (n=13)	0 (0)	2 (15.38)	1 (7.69)	7 (53.85)	3 (23.08)	0 (0)
	冠心病组 (n=13)	0 (0)	1 (7.69)	0 (0)	8 (61.54)	3 (23.08)	1 (7.69)

表 4 不同民族人群中 ε 2、ε 3、ε 4 等位基因频率情况 ( $\bar{x} \pm s$ )

民族	组别	ε 2	ε 3	ε 4
维族	对照组 (n=14)	0.37 ± 0.03	0.57 ± 0.11	0.09 ± 0.02
	冠心病组 (n=12)	0.11 ± 0.03*	0.71 ± 0.23	0.18 ± 0.04
哈萨克族	对照组 (n=14)	0.39 ± 0.11	0.59 ± 0.10	0.10 ± 0.03
	冠心病组 (n=12)	0.13 ± 0.01*	0.70 ± 0.24	0.19 ± 0.05
回族	对照组 (n=13)	0.38 ± 0.10	0.58 ± 0.12	0.11 ± 0.01
	冠心病组 (n=13)	0.12 ± 0.02*	0.73 ± 0.20	0.17 ± 0.04
汉族	对照组 (n=13)	0.12 ± 0.03	0.73 ± 0.13	0.15 ± 0.02
	冠心病组 (n=13)	0.07 ± 0.02	0.79 ± 0.21	0.14 ± 0.03

注：和汉族对比，\*P<0.05。

因位点上几种等位基因所决定，常见地为 ε 2、ε 3、ε 4。上述等位基因又决定了几种基因型，即E2/2、E3/3、E4/4、E4/2、E4/3、E3/2一共六种<sup>[7-8]</sup>。LDL代谢和载脂蛋白E多态性有着密切联系，在LDL内有16%左右的基因变异是因为载脂蛋白E基因位点的等位基因差异而导致<sup>[9-10]</sup>。鉴于LDL代谢和动脉粥样硬化产生之间的紧密关系，由此可以认为载脂蛋白E基因型对于动脉粥样硬化也有明显的易感性<sup>[11-12]</sup>。

从本次研究结果可以发现，维族、哈萨克族、回族与汉族人群的载脂蛋白E基因型分布有着较为明显的区别，维族、哈萨克族、回族 ε 2相比于汉族出现显著的升高 (P<0.05)；同

时冠心病组 ε 2相比于对照组出现显著地下降 (P<0.05)，其中又以维族、哈萨克族、回族冠心病患者更加显著，ε 3、ε 4相比于对照组有一定升高，但相比差异无统计学意义 (P>0.05)。有研究指出，ε 2等位基因在冠心病的进展中发挥了相应保护作用。但也有研究指出，包括心肌梗死等心血管病人在存活后的血管造影结果可知，存在动脉粥样硬化的患者中 ε 4等位基因频率大幅上升<sup>[13-14]</sup>。这可能和研究人群的差异性有关。

载脂蛋白 ε 4由于自身所具备的特殊功能以及人群分布差异，临床也将其称为thrifty等位基因<sup>[15]</sup>。在现阶段人们寿命不断延长以及饮食结构巨大调整的背景下，载脂蛋白 ε 4的暴露也被大多数人认为是冠心病和Alzheimer (AD) 的易感等位基因<sup>[16-17]</sup>。相关研究发现，在亚撒哈拉沙漠非洲人群中冠心病和AD与载脂蛋白 ε 4不存在联系，但与生活在非洲的美洲人有一定关系，这也支持了以上假设<sup>[18-19]</sup>。近些年人们愈发关注到载脂蛋白E基因型的种族变异性，也就是在各个群体之间具有明显的变异，在欧洲这一区域从南方到北方载脂蛋白 ε 4等位基因频率呈逐渐下降趋势，而在非洲黑人以及巴布亚岛新几内亚人群中载脂蛋白 ε 4等位基因频率呈现出逐渐上升的趋势，但亚洲人群中是最低的存在<sup>[20]</sup>。除此之外，还有临床研究指出载脂蛋白E基因存在抑制动脉粥样硬化的作用，并认为可将载脂蛋白E作为判断心血管病风险的重要指标。相关研究发现，意大利人群中载脂蛋白 ε 4等位基因属于冠心病的危险因子之一。本

研究发现,新疆乌鲁木齐地区维族、哈萨克族、回族与汉族人群载脂蛋白E基因型分布存在着明显区别,维族、哈萨克族、回族人群的 $\epsilon 2$ 等位基因频率相比汉族明显升高。但是维族、哈萨克族、回族和汉族人群中冠心病患病率没有较大区别,提示可能存在其他基因的影响和作用。同时研究发现冠心病患者 $\epsilon 2$ 等位基因频率有着显著下降,尤其维族、哈萨克族、回族冠心病患者更加明显。由此可见的是,载脂蛋白E基因多态性和冠心病的发生有一定关系,这也是新疆地区不同民族和环境因素综合影响下的结果。

综上所述,新疆乌鲁木齐地区不同民族冠心病患者载脂蛋白E基因多态性地分布有着明显的差别,鉴于冠心病是一种包含了基因、环境等因素在内的复杂病理过程,结合所分析的基因型信息,对于更加精确的评估冠心病风险,提高新疆地区不同民族冠心病预防水平有着积极作用。

#### 参考文献

- [1] 许璐,白春英,陈士萍,等.早发冠心病患者载脂蛋白E基因多态性分析及其与冠状动脉病变严重程度关系研究[J].陕西医学杂志,2022,51(9):1090-1093.
- [2] 武乐,刘利艳.非缺血性心肌病继发慢性心力衰竭患者载脂蛋白E- $\epsilon$ 基因多态性与曲美他嗪治疗预后的相关性[J].临床内科杂志,2018,35(7):476-480.
- [3] 边素艳,王艳丽,刘宏斌.动脉粥样硬化性心血管病危险分层患者SLCO1B1和载脂蛋白E基因多态性与血脂的关系[J].中华老年心脑血管病杂志,2018,20(7):676-680.
- [4] 黄健中,吴强,陈冬萍,等.早发冠心病、非早发冠心病与载脂蛋白E基因多态性的相关性[J].岭南急诊医学杂志,2019,24(2):141-143,146.
- [5] Mahoney SL, Belaidi AA, Bush AI, et al. The complex role of apolipoprotein E in alzheimer's disease: An overview and update[J].J Mol Neurosci,2016,60(3):325-335.
- [6] 杨立,陈葳.载脂蛋白E基因多态性对冠心病患者血脂水平的影响研究[J].现代医药卫生,2021,37(21):3649-3651.
- [7] 温祥,张静,黄陆尧,等.安徽地区冠心病人群冠状动脉病变特征与载脂蛋白E基因多态性的研究[J].中国心血管病研究,2022,20(1):3-7.
- [8] 杜文婷,顾耘,孙卫华.肾精亏虚型颈动脉粥样硬化患者载脂蛋白E基因多态性的临床分析[J].中国中医药现代远程教育,2022,20(18):68-70.
- [9] 韩瑞玲,万自成,孙思,等.武汉地区大动脉粥样硬化型缺血性脑卒中患者载脂蛋白E基因多态性分析[J].神经损伤与功能重建,2018,13(10):492-494,533.
- [10] 杨春梅,刘圆圆.载脂蛋白E基因多态性与初发急性缺血性脑卒中的相关性及其对近期预后的影响[J].武警医学,2019,30(6):518-520,523.
- [11] Yilmaz A, Duman H, Citci S, et al. Relation of apolipoprotein E gene polymorphism with the severity of coronary artery disease in patients with stable ischemic heart disease[J].Annals of Medical Research,2021,28(2):261.
- [12] 柏建峰,于亮,隋强波.不同年龄段脑出血患者的载脂蛋白E基因多态性及其与血脂水平的关系[J].中国基层医药,2020,27(9):1085-1089.
- [13] 国希云,王曙霞,邓娴,等.载脂蛋白E基因多态性与心脑血管疾病患者C反应蛋白水平相关性分析[J].中国临床保健杂志,2019,22(3):304-307.
- [14] 黄杰,黄华玲,王鹏,等.基于倾向性评分匹配探讨载脂蛋白E水平及其基因多态性与脑血栓形成的相关性分析[J].国际检验医学杂志,2022,43(20):2501-2505.
- [15] Malko M, Orem A, Kural BV. Relationship between apolipoprotein E gene polymorphism and lipid parameters in patients with behet's disease[J].Future Visions Journal,2019,3(1):35-40.
- [16] 吴庆和,杨昌河.急性ST段抬高型心肌梗死患者载脂蛋白E基因多态性与痰瘀证候相关性研究[J].广州中医药大学学报,2021,38(10):2062-2067.
- [17] 何娴,叶晓冰,陈家扬,等.脑卒中患者载脂蛋白E基因多态性与血小板水平相关性研究[J].黑龙江医药,2018,31(1):118-120.
- [18] 王娟,杨柳,权乾坤,等.老年人载脂蛋白E基因多态性和血脂代谢与心脑血管病的相关性研究[J].中华老年医学杂志,2020,39(8):883-886.
- [19] 刘淑静,常欣魁,陈柯霖,等.载脂蛋白E基因多态性与脑梗患者年龄和血脂的相关性研究[J].标记免疫分析与临床,2018,25(11):1595-1598.
- [20] 李婷,杨兰辉,穆剑强,等.心脑血管疾病患者的载脂蛋白E基因多态性与血脂水平相关性[J].心血管病防治知识:学术版,2014,4(6):51-53.