

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.16.008

载脂蛋白 E 等位基因多态性对徐州地区高血压患者的影响*

李 磊¹,孔倩倩²,钮 威²,王 丽²,牛璐璐²,余汉忠^{2△}

1. 江苏省徐州市第三人民医院检验科,江苏徐州 221000;2. 中国矿业大学/
江苏省徐州市第一人民医院检验科,江苏徐州 221009

摘 要:目的 探讨载脂蛋白 E(ApoE)等位基因多态性对徐州地区高血压患者的影响。方法 选取徐州地区临床确诊的高血压患者 97 例作为高血压组,另选取 106 例非高血压患者作为对照组。应用 PCR-荧光探针法对 2 组 ApoE 基因型分别进行检测并统计分析检测结果。结果 ApoE 表型和 ApoE 等位基因频率在 2 组患者中的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。在高血压人群中, $\epsilon 4$ 等位基因携带者的收缩压较其他等位基因携带者高($P<0.05$),而 ApoE 基因多态性对舒张压影响不大($P>0.05$)。结论 徐州地区 ApoE 表型和 ApoE 等位基因频率与高血压疾病无关,ApoE 等位基因 $\epsilon 4$ 可能是高血压发生、发展的危险因素。

关键词:载脂蛋白 E; 基因频率; 表型; 高血压

中图法分类号:R544.1 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2021)16-2332-03

Effect of apolipoprotein E allele polymorphism on hypertension patients in Xuzhou area*

LI Lei¹,KONG Qianqian²,NIU Wei²,WANG Li²,NIU Lulu²,YU Hanzhong^{2△}

1. Department of Clinica Laboratory,the Third People's Hospital of Xuzhou,Xuzhou,Jiangsu 221000,China;2. Department of Clinica Laboratory,China University of Mining/Xuzhou First People's Hospital,Xuzhou,Jiangsu 221009,China

Abstract: Objective To explore apolipoprotein E(ApoE) allele polymorphism and its relationship in patients with hypertension. **Methods** Totally 97 patients with hypertension in Xuzhou were selected as hypertension group,and 106 patients without hypertension were selected as control group. The genotypes of ApoE in the two groups were detected by PCR fluorescence probe method,and the results were analyzed statistically. **Results** There was no significant difference in the expression of ApoE phenotype and allele frequency between the two groups ($P>0.05$). In people with high blood pressure,the systolic blood pressure of the $\epsilon 4$ allele carriers was higher than that of the other alleles ($P<0.05$),but the ApoE gene polymorphism had little effect on diastolic blood pressure ($P>0.05$). **Conclusion** The phenotype and allele frequency of ApoE are not associated with hypertension in Xuzhou area,ApoE allele $\epsilon 4$ may be a risk factor for the occurrence and development of hypertension.

Key words:apolipoprotein E; gene frequency; phenotype; hypertension

高血压是引起各种心脑血管意外的最主要危险因素^[1]。现阶段我国迫切需要改善人们对高血压的认知,提升全民对高血压的防治意识^[2]。应根据血压测量值和不同危险因素的评估来制订高血压治疗方案。医生根据患者的具体情况判断患者最适合维持的血压水平,采取针对性的预防和治疗措施,从而降低心脑血管事件的发生概率^[3]。

载脂蛋白 E(ApoE)是一种由单链多肽聚合而形成的糖蛋白,它含有 299 个氨基酸,基因定位于人类 19 号染色体的长臂上(13q13.2)。ApoE 的 3 种主要

异构体 E2、E3、E4 分别由 3 种共显性等位基因 $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$ 所编码。3 种异构体间的单个氨基酸替换及它们与 4 种受体亲和程度的差异,决定了 ApoE 结构基因的遗传多态性^[4]。人群中 3 种等位基因的表达方式不同,可以形成 6 种不同的 ApoE 表型:3 种纯合子 E2/2、E3/3、E4/4,3 种杂合子 E2/3、E2/4、E3/4,它们对应的基因型分别为 $\epsilon 2/\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4/\epsilon 4$ 、 $\epsilon 2/\epsilon 3$ 、 $\epsilon 2/\epsilon 4$ 、 $\epsilon 3/\epsilon 4$ 。ApoE 基因多态性与血脂代谢异常密切相关,近年来,关于 ApoE 基因多态性与糖尿病肾病、脑梗死、阿尔茨海默病等多种疾病之间的关系被广泛

* 基金项目:江苏省徐州市科技计划项目(KC18169);2020 年中国矿业大学青年科技基金(第二批)项目(2020QN92)。
作者简介:李磊,女,副主任技师,主要从事分子生物学研究。△ 通信作者,E-mail:xiaoyuer0610@126.com。
本文引用格式:李磊,孔倩倩,钮威,等.载脂蛋白 E 等位基因多态性对徐州地区高血压患者的影响[J].检验医学与临床,2021,18(16): 2332-2334.

报道^[5-7]。但对于 ApoE 基因多态性能否影响高血压患者的血压水平,以及 ApoE 等位基因频率在高血压人群中的分布尚不十分清楚。本研究选取徐州地区临床收治的确诊高血压患者为研究对象,了解 ApoE 等位基因在高血压人群中的分布情况。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取徐州市第一人民医院 2017 年 1 月至 2018 年 1 月收治的临床确诊高血压患者 97 例作为高血压组,选取同期非高血压住院患者 106 例作为对照组。高血压组:男性 58 例,女性 39 例;平均年龄(58.61±12.15)岁;对照组:男性 66 例,女性 40 例;平均年龄(54.29±11.92)岁。2 组患者年龄和性别差异无统计学意义($P>0.05$)。高血压诊断标准:所有人组患者均符合 1978 年 WHO 建议的高血压诊断标准^[8],即收缩压 ≥ 160 mm Hg 和(或)舒张压 ≥ 90 mm Hg。排除冠心病,糖尿病,脑、肝、肾疾病,血脂异常及服用降压药物的患者。等位基因频率计算方法:ε2、ε3、ε4 3 种等位基因出现的频次分别与这 3 种等位基因在每组中出现的总频次的百分比。

1.2 仪器与试剂 全血基因 DNA 提取试剂盒(离心柱型,产品批号 Q5906)购自根生化科技(北京)有限公司,人类 ApoE 和 SLCO1B1 基因检测试剂盒(产品批号 17111506)购自武汉友芝友生物科技有限公司。无水乙醇、杭州博日全自动荧光检测 PCR 扩增仪、各种加样器、加样吸头等。

1.3 方法

1.3.1 全血基因 DNA 提取 (1)采集患者乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝静脉全血 2 mL,充分混匀后吸取 200 μL 全血加入 1.5 mL EP 离心管中,再加入 20 μL 蛋白酶 K 溶液。(2)在上述试管中加入 200 μL GB 缓冲液,充分混匀,置 56 ℃ 10 min,其间颠倒混匀数次。(3)试管中再加入 200 μL 无水乙醇,充分混匀。(4)将上一步所得混合溶液全部转移到吸附柱 CB3 中(吸附柱提前放入收集管中),12 000

r/min 离心 30 s,弃去收集管中的废液。(5)向上述吸附柱 CB3 中再加入 500 μL GD 缓冲液,12 000 r/min 离心 30 s,弃去收集管中的废液。(6)再向吸附柱 CB3 中加入 600 μL 的 PW 缓冲液,12 000 r/min 离心 30 s,弃去收集管中的废液。(7)重复第 6 步操作。(8)12 000 r/min 离心 2 min 后将吸附柱 CB3 置室温开盖放置 5 min,使乙醇充分挥发。(9)将处理后的吸附柱 CB3 转入一个新的 1.5 mL 离心管中,将 100 μL TB 洗脱缓冲液悬空滴加于吸附膜中间位置,于室温放置 4 min,12 000 r/min 离心 2 min,收集离心后的液体,-80 ℃冻存备用。

1.3.2 APOE 基因型检测 (1)取出人类 ApoE 和 SLCO1B1 基因检测试剂盒,室温平衡解冻 30 min,每个反应管中分别加入 23 μL E2 和 E4 反应液。(2)将提取后的待测样本基因组 DNA、弱阳性对照和空白对照各 2 μL 分别加入上述反应管中。(3)盖紧 PCR 反应管盖,于杭州博日全自动荧光检测 PCR 扩增仪上检测。(4)杭州博日全自动荧光检测 PCR 扩增仪 APOE2 526C-FAM 通道、APOE2 526T-VIC 通道、APOE4 388T-FAM 通道、APOE4 388C-FAM 通道、内标基因-ROX 通道分别采集荧光信号。(5)PCR 反应条件:37 ℃ 10 min,1 次循环→95 ℃ 5 min,1 次循环,95 ℃ 15 s→60 ℃ 60 s,共 40 次循环,每次循环结束读取荧光信号。

1.4 统计学处理 使用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,2 组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK- q 检验;计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组患者 ApoE 表型比较 ApoE 表型分布在高血压组与对照组差异无统计学意义($P>0.05$),2 组患者都以 ε3/ε3 表型最为常见,高血压组和对对照组 ε3/ε3 表型分别占 80.41%和 75.47%。见表 1。

表 1 2 组患者 ApoE 表型比较[n(%)]

组别	<i>n</i>	ε2/ε2	ε2/ε3	ε2/ε4	ε3/ε3	ε3/ε4	ε4/ε4
高血压组	97	1(1.03)	6(6.19)	2(2.06)	78(80.41)	9(9.28)	1(1.03)
对照组	106	1(0.94)	12(11.32)	3(2.83)	80(75.47)	10(9.43)	0(0.00)

2.2 2 组患者 ApoE 等位基因频率比较 高血压组与对照组的 ApoE 等位基因频率分布差异无统计学意义($P>0.05$),2 组 ε3 等位基因检出频率最高。见表 2。

表 2 2 组患者 ApoE 等位基因频率比较[n(%)]

组别	ε2	ε3	ε4	合计
高血压组	10(5.15)	171(88.14)	13(6.71)	194(100.00)
对照组	17(8.02)	182(85.85)	13(6.13)	212(100.00)

2.3 不同 ApoE 表型患者收缩压及舒张压水平比较 对照组 ApoE E2、E3、E4 表型患者收缩压及舒张压水平差异均有统计学意义($P<0.05$),E4 表型患者(ε4 等位基因携带者)收缩压及舒张压较其他等位基因携带者高。高血压组 ApoE E2、E3、E4 表型患者收缩压水平差异有统计学意义($P<0.05$),E4 表型患者(ε4 等位基因携带者)收缩压较其他等位基因携带者高。见表 3。

表 3 ApoE E2、E3、E4 表型患者收缩压及舒张压水平比较($\bar{x}\pm s$, mm Hg)

组别	n	收缩压					舒张压				
		E2	E3	E4	F	P	E2	E3	E4	F	P
高血压组	97	155.77±11.21	161.70±22.83	165.85±22.74	3.166 2	0.039 8	96.23±7.11	99.11±10.34	93.21±11.95	1.152 0	0.275 1
对照组	106	125.89±17.55	122.35±15.51	127.92±15.51	3.251 5	0.037 8	75.37±8.87	76.55±8.93	83.87±10.11	5.561 3	0.003 9

3 讨 论

ApoE 在不同人群中的表型不一致,存在基因多态性。人群中 ApoE 等位基因频率最常见的是 ε3,本研究结果与此相同。而 ε2、ε4 可能是天然进化过程中某一核苷酸突变形成的,在人群中占比较少。有研究表明,ApoE 等位基因频率在不同国家有所不同,在各种疾病中,ApoE 等位基因频率的分布亦有所不同^[9-11]。血脂水平受 ApoE 基因多态性的调控,进而决定和影响动脉粥样硬化病变的发生和发展,ApoE 基因多态性还存在种族差异,但结论尚不完全统一^[12-14]。本研究主要探讨徐州地区 ApoE 等位基因多态性对高血压患者的影响,结果显示,对照组与高血压组患者 ApoE 表型分布差异无统计学意义($P>0.05$),且都以 ε3/ε3 表型最为常见。ApoE 等位基因频率在高血压组与对照组差异无统计学意义($P>0.05$),ε3 等位基因频率检出率在 2 组均最高。不同 ApoE 表型在对照组间收缩压及舒张压水平差异有统计学意义($P<0.05$),E4 表型患者(ε4 等位基因携带者)收缩压及舒张压较其他等位基因携带者高。高血压组患者中,ApoE E2、E3、E4 表型患者收缩压水平差异有统计学意义($P<0.05$),E4 表型患者(ε4 等位基因携带者)收缩压较其他等位基因携带者高,而 ApoE 基因多态性与舒张压差异无统计学意义($P>0.05$)。

本研究结果显示,ApoE 等位基因 ε4 可能是高血压病发生、发展的危险因素之一。若能在无其他危险因素存在的高血压人群中进行 ApoE 等位基因频率的分析,并采用分子生物学技术对 ApoE 结构和功能进行深入分析,进一步揭示其对其高血压或其他疾病的机制,有望在高血压的早期预防和干预方面有所突破。由于本研究采纳的数据基数太小,且不同地区和人群 ApoE 等位基因分布也会有差异,下一步将扩大研究范围,为 ApoE 等位基因多态性对高血压患者的影响提供更详实的依据。

参考文献

[1] 刘力生. 中国高血压防治指南 2010[J]. 中华高血压杂志, 2011,19(8):701-708.

[2] 顾东风,吴锡桂,甘文奇,等. 中国成年人高血压患病率、知晓率、治疗和控制状况[J]. 中华预防医学杂志,2003, 37(2):84-89.

[3] 徐嘉纯,常进,宫海滨. 动脉粥样硬化性心血管疾病风险评估对中国高血压防治的启示[J]. 中国心血管病研究, 2019,17(3):207-210.

[4] TAI L M, THOMAS R, MAROTTOLI F M, et al. The role of APOE in cerebrovascular dysfunction[J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(5):709-723.

[5] JIANG Y W, MA L, HAN C W, et al. Effects of apolipoprotein E isoforms in diabetic nephropathy of Chinese type 2 diabetic patients[J]. J Diabetes Res, 2017, 2017:1-6.

[6] 王艳梅,王思轩,武曦嵩,等. 2 型糖尿病周围神经病变与载脂蛋白 E 基因多态性的相关性研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2018,26(1):14-17.

[7] MOOYAART A L, VALK E, VAN ES L A, et al. Genetic associations in diabetic nephropathy: a meta-analysis[J]. Diabetologia, 2011, 54(3):544-553.

[8] 刘坤申,刘超. 高血压的诊断标准及心血管危险性分层[J]. 中国实用内科杂志, 2001,21(8):506-507.

[9] 于雪莹,王娜,李江,等. 载脂蛋白 E 基因多态性与 2 型糖尿病患者发生脑梗死的相关性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2020,43(2):160-164.

[10] 乔亚男,王磊,邵文,等. 脑微出血 β 淀粉样蛋白阳性患者载脂蛋白 E 基因型及认知特点[J]. 中华老年医学杂志, 2020,39(5):489-492.

[11] 顾牛范,冯国鄞. 中国汉族人群 APOE 等位基因频率的初步研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 1996,13(1):8-10.

[12] 罗风,冯磊. 载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病相关性研究进展[J]. 医学综述, 2018,13(6):1047-1051.

[13] KHAN T A, SHAH T, PRIETO D, et al. Apolipoprotein E genotype, cardiovascular biomarkers and risk of stroke: systematic review and meta-analysis of 14 015 stroke cases and pooled analysis of primary biomarker data from up to 60 883 individuals[J]. Int J Epidemiol, 2013, 42(2): 475-492.

[14] GU L, SU L, CHEN Q, et al. Association between the apolipoprotein E gene polymorphism and ischemic stroke in Chinese populations: new data and meta-analysis[J]. Exp Ther Med, 2013, 5(3):853-859.