

· 论 著 ·

# 华南地区汉族人群 SLCO1B1 和 ApoE 基因多态性分析

李 歆<sup>1</sup>, 徐韞健<sup>2</sup>, 罗 娥<sup>3</sup>

(1. 广州医科大学附属肿瘤医院检验科, 广州 510095; 2. 广州医科大学附属第一医院检验科, 广州 510120; 3. 广东通用医药有限公司, 广州 510000)

**摘要:**目的 了解 SLCO1B1 和载脂蛋白 E(ApoE) 基因单核苷酸多态性在华南地区汉族人群的分布情况。方法 采用聚合酶链反应(PCR)-荧光探针技术对 142 例心血管疾病患者和 42 例健康对照者的 SLCO1B1 和 ApoE 基因多态性进行检测, 并统计男女间及患者组与健康对照组间的基因型分布差异。结果 SLCO1B1 的 \*1a/\*1a+\*1a/\*1b+\*1b/\*1b 组合最多见, 占 73.2%(104/142), 各基因型组合在男女人群间的分布差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 患者组与健康对照组间的分布差异也无统计学意义( $P>0.05$ ); ApoE 以 E2/E4+E3/E3 组合最为多见, 占 78.9%(112/142), 各基因型组合在男女人群间的分布差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 但患者组与健康对照组间的分布差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 SLCO1B1 和 ApoE 的基因多态性分布与性别无关, 但 ApoE 的多态性在心血管疾病患者和健康人群中分布有差异。

**关键词:** SLCO1B1 基因; 载脂蛋白 E; 基因多态性

**DOI:** 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.06.011 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)06-0773-03

## Analysis on genetic polymorphism of SLCO1B1 and ApoE among Han population in south China area

LI Xin<sup>1</sup>, XU Yunjian<sup>2</sup>, LUO E<sup>3</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Tumor Hospital, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510095, China; 2. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 3. Guangdong General Pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 510000, China)

**Abstract: Objective** To understand the distribution situation of single nucleotide polymorphism of SLCO1B1 and ApoE genes among Han population in south China area. **Methods** The PCR fluorescence probe technique was adopted to detect SLCO1B1 and ApoE genetic polymorphisms in 142 patients with cardiovascular disease and 42 healthy controls. The differences of genotypes distribution between males and females and between the patients and healthy controls were statistically analyzed. **Results** The combinations of SLCO1B1 \*1a/\*1a+\*1a/\*1b+\*1b/\*1b were most common, accounting for 73.2%(104/142), the distribution of each genotype combination had no statistically significant difference between male and female populations( $P>0.05$ ), the distribution also had no statistically significant difference between the patients group and healthy control group( $P>0.05$ ); the combination of ApoE E2/E4+E3/E3 was most common, accounting for 78.9%(112/142). The distribution of each genotype combination had no statistically significant difference between male and female populations( $P>0.05$ ), but the distribution had statistically significant difference between the patients group and healthy control group( $P<0.05$ ). **Conclusion** SLCO1B1 and ApoE polymorphism distribution has no relation with gender, but ApoE polymorphism distribution has difference between the cardiovascular patients and healthy people.

**Key words:** SLCO1B1 gene; ApoE; genetic polymorphism

他汀类药物是临床使用最广泛的降脂药, 对抑制心血管疾病有显著作用。SLCO1B1 基因具有遗传多态性, SLCO1B1 \*1b 和 SLCO1B1 \*5 的基因型组合有 9 种, 突变型的 SLCO1B1 基因可引起他汀类药物血药水平上升, 增加横纹肌溶解症和肌病的风险<sup>[1]</sup>, 对该基因型携带患者需要降低他汀类药物的使用剂量。载脂蛋白 E(ApoE) 是影响机体血脂水平的重要内在因素, ApoE 多态性被认为是高脂蛋白血症及动脉粥样硬化的易感候选基因, 与他汀类药物的疗效、饮食、饮酒等相关。ApoE2 和 ApoE4 的基因型组合有 6 种, 他汀类药物对 ApoE4 携带患者疗效不佳或无疗效, 且可增加冠心病风险, 而对 ApoE2 携带患者降脂作用最强, 风险小。本文采用聚合酶链反应(PCR)-荧光探针法对华南地区心血管疾病患者和健康人群同时进行 SLCO1B1 和 ApoE 基因位点多态性分析, 从分子水平探讨 SLCO1B1 和 ApoE 基因遗传多态性在华南地区人

群中的分布, 为冠心病的预防和治疗提供理论基础。现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2016 年 1—6 月广州医科大学附属肿瘤医院住院和门诊心血管疾病患者 142 例纳入患者组, 年龄 42~83 岁, 男 77 例, 女 65 例。健康对照组 42 例, 年龄 25~45 岁。所有入选者均是籍贯为华南地区的汉族人, 均无血缘关系和异族通婚史。

**1.2 仪器与试剂** SLCO1B1 和 ApoE 基因多态性检测试剂盒(PCR-荧光探针法)购自武汉友芝友医疗科技有限公司, 血液基因组 DNA 提取试剂盒购自中山大学达安基因股份有限公司, 微量紫外分光光度计购自美国 Thermo fisher scientific 公司, Stratagene Mx3000P 荧光定量 PCR 仪购自安捷伦科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 基因组 DNA 提取 采集受检者静脉血 2 mL, 乙二胺四乙酸二钾抗凝, 采用血液基因组 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA, 按试剂盒说明书进行操作。所提 DNA 经微量紫外分光光度计检测, 确定其水平, DNA 的  $A_{260}/A_{280}$  在 1.8~2.0, 推荐水平为 5~15 ng/ $\mu$ L, 基因组 DNA -20 °C 保存。

1.3.2 PCR 反应体系和条件 SLCO1B1 和 ApoE 基因反应体系: 基因组 DNA 2  $\mu$ L, SLCO1B1 \* 1b 反应液、SLCO1B1 \* 5 反应液、ApoE2 反应液、ApoE4 反应液分别 23  $\mu$ L, 总体积 25  $\mu$ L, 共 4 管, 同时做弱阳性对照和空白对照。扩增条件: 37 °C 10 min, 95 °C 5 min; 95 °C 15 s, 60 °C 45 s, 40 个循环。荧光信号的收集定为 FAM (SLCO1B1 \* 1b 388A、SLCO1B1 \* 5 521T、ApoE2 526C、ApoE4 388T)、VIC (SLCO1B1 \* 1b 388G、SLCO1B1 \* 5 521C、ApoE2 526T、ApoE4 388C) 和 ROX (内

标), 数据的采集定在 60 °C。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析, 计数资料以例数表示, 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 SLCO1B1 基因多态性分布结果 SLCO1B1 的检测基点为 SLCO1B1 \* 1b 和 SLCO1B1 \* 5, 各基因型所占比例分别为 \* 1a / \* 1a 4.9%, \* 1a / \* 1b 33.1%, \* 1b / \* 1b 35.2%, \* 1a / \* 15 4.9%, \* 1b / \* 15 19.7%, \* 15 / \* 15 2.1%, 未检测到 \* 1a / \* 5、\* 5 / \* 5 和 \* 5 / \* 15 基因型。SLCO1B1 的 \* 1a / \* 1a + \* 1a / \* 1b + \* 1b / \* 1b 组合最多, 占 73.2% (104/142)。各基因型组合在男女人群间的分布比较, 差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 1.4812, P > 0.05$ ), 患者组与健康对照组间的分布比较, 差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.3409, P > 0.05$ ), 见表 1。

表 1 SLCO1B1 基因多态性分布结果 (n)

组别	n	* 1a / * 1a + * 1a / * 1b + * 1b / * 1b	* 1a / * 5 + * 1a / * 15 + * 1b / * 15	* 5 / * 5 + * 5 / * 15 + * 15 / * 15
患者组	141	104	35	3
男	77	53	22	2
女	65	51	13	1
健康对照组	42	29	12	1

2.2 ApoE 基因多态性分布结果 ApoE 的检测基点为 ApoE2 和 ApoE4, 各基因型所占比例分别为 E2/E2 0.2%, E2/E3 8.4%, E2/E4 2.8%, E3/E3 76.1%, E3/E4 12.0%, E4/E4 未检出。ApoE 以 E2/E4 + E3/E3 组合最多, 占 78.9% (112/142)。各基因型组合在男女人群间的分布比较, 差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 1.5041, P > 0.05$ ), 但患者组与健康对照组间的分布比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.6725, P < 0.05$ ), 见表 2。

表 2 ApoE 基因多态性分布情况 (n)

组别	n	E2/E2 + E2/E3	E2/E4 + E3/E3	E3/E4 + E4/E4
患者组	141	13	112	17
男	77	8	62	7
女	65	5	50	10
健康对照组	50	10	29	3

3 讨 论

他汀类药物问世以来就成为临床使用最为广泛的降脂药, 它是羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂, HMG-CoA 还原酶是胆固醇在体内合成过程中早期的限速酶, 他汀类药物通过对 HMG-CoA 还原酶的抵制达到降脂的作用, 已成为防治冠心病的一线处方<sup>[2-3]</sup>。但在临床中, 他汀类药物的降脂效果存在很大的个体差异, 服用他汀类药物后不同个体间低密度脂蛋白胆固醇水平下降的程度差异较大, 有很大一部分患者经过用药后均达不到降脂目标; 而且服用他汀类药物后出现的不良反应在不同个体间也有差异。这是由于他汀类药物的降脂效果与 SLCO1B1 和 ApoE 的基因多态性相关。

有机阴离子转运多肽 OATP1B1 参与多种药物的转运, 在他汀类药物代谢中负责将血液中的药物转移至肝脏中, 直接发挥药效或代谢转化为有活性的物质, 是具有基因多态性的跨膜

转运蛋白<sup>[4]</sup>, 由定位在 12 号染色体上的 SLCO1B1 基因编码。SLCO1B1 基因具有遗传多态性, 其中 388A > G, 521T > C 是两种常见的单核苷酸多态性, 可以形成 4 种单倍型 SLCO1B1 \* 1a (388A-521T)、SLCO1B1 \* 1b (388G-521T)、SLCO1B1 \* 5 (388A-521C) 和 SLCO1B1 \* 15 (388G-521C)。突变型 SLCO1B1 基因引起编码的 OATP1B1 转运蛋白活力减弱, 表现为肝脏摄取药物能力降低, 引起他汀类药物血药水平上升, 增加肝毒性, 加重横纹肌溶解症或肌病的发生危险<sup>[5]</sup>。临床药物基因组学实施联盟推荐应根据 SLCO1B1 基因型调整他汀类药物的剂量。

据文献<sup>[6]</sup>报道, 对原发性高脂血症人群 388G > A 与 521T > C 等位基因突变分布情况比较发现, 中国汉族男性健康人群 388G > A 等位基因突变频率为 73.4%, 显著高于白人 30.0% 的突变率, 但与黑人 (74.0%) 及日本人群 (62.9%) 之间差异无统计学意义; 而中国汉族男性健康人群 521T > C 等位基因突变率为 12.9%, 显著高于黑人 2.0% 的突变率, 与白人 (14.0%) 及日本人群 (15.8%) 之间差异无统计学意义。表明 388G > A 和 521T > C 突变率在不同种族间具有明显差异。在本研究中华南地区汉族心血管疾病患者中 SLCO1B1 基因的 388G > A 和 521T > C 突变比较常见, 其突变率与日本人群、中国汉族男性健康人群相近, 与白人和黑人分布频率有明显差异。提示其突变率可能与心血管疾病无关, 而与种族有关, 是遗传与环境因素等多因素相互作用的结果。

ApoE 是高密度脂蛋白、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白的载脂蛋白之一, 作为 ApoE 受体和 LDL 受体的配体, 对调节脂蛋白的代谢起重要作用。ApoE 通过多种途径参与机体的脂质代谢调节, 是影响机体血脂水平的重要内在因素。经过研究发现, 血脂及冠状动脉粥样硬化与 ApoE 之间存在着非常密切的关系, ApoE 是冠心病早发的预测因子, 可能作为一个遗传因素参与动脉粥样硬化的发生与发展<sup>[7]</sup>。人类 ApoE 基因定位于 19 号染色体上, 有 4 个外显子和 3 个内含

子,主要有两种单核苷酸多态性(526C>T 和 388T>C),可以形成 3 种单倍体分别是 ApoE3(388T-526C)、ApoE2(388T-526T)、ApoE4(388C-526C)。文献[8]报道,ApoE4 携带者患冠心病的风险高达 40%,并且他汀类药物对 ApoE4 携带者疗效往往不佳或无疗效,而对 ApoE2 携带者的降脂作用最强,冠心病患者中 E3/4 和 E4/4 基因型频率显著高于健康对照组。ApoE4 不仅增加血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平,同时也增加机体氧化应激反应和慢性炎症的易感性,是冠心病发生的遗传危险因素。

健康人群中 6 种 ApoE 表型或基因型分布不均匀,但有其共同特点:在一般人群中 E3/E3 分布频率最高,发生频率大多超过 60%。ApoE 基因频率不存在性别差异,但存在种族差异。亚洲人群中 E4 等位基因频率较低(日本 0.060,新加坡 0.096)<sup>[9]</sup>。本研究显示,E4 等位基因频率低,而 E3/E3 型个体所占比例较高,与以往国内外研究报告一致。一般认为,亚洲人群中 E4 等位基因的频率较欧美人群低,而在冠心病人群中 E4 等位基因的分布频率明显高于健康组,E2 则相反,提示 ApoE 的 E2、E4 等位基因可能是冠心病的遗传易感基因。这与本研究结果,ApoE 各基因型组合在男女人群间的分布差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但患者组与健康对照组间的分布差异有统计学意义( $P<0.05$ )是一致的。而在 ApoE 基因型与高脂血症患者年龄以及降脂疗效相关性的一项临床研究证实,ApoE4 与高脂血症临床发病年龄靠前相关,ApoE4 基因型携带者平均年龄为(44.2±14.7)岁,显著低于非 ApoE4 携带者[(50.6±13.8)岁];ApoE4 基因型携带者 LDL 降低率为(11.8±2.3)% ,降脂疗效低于非 ApoE4 基因型携带者[(19.98±2.3)%]<sup>[10]</sup>。从而表明 ApoE4 基因型携带者高脂血症发病年龄靠前,而且降脂疗效低于非 ApoE4 基因型携带者。

参考文献

[1] Canestaro WJ, Brooks DG, Chaplin D, et al. Statin pharmacogenomics: opportunities to improve patient outcomes and healthcare costs with genetic testing[J]. J Pers Med,

2012,2(4):158-174.

[2] 杨彦平,刘文慧.阿托伐他汀钙辅助冠心病 36 例疗效观察[J].临床合理用药杂志,2013,6(28):39-40.  
 [3] 许允,石联凤,江庆,等.阿托伐他汀对老年血脂正常冠心病患者治疗疗效及预后影响[J].临床医学工程,2013,20(3):310-311.  
 [4] Herfindal L, Krakstad C, Myhren L, et al. Introduction of aromatic ring-containing substituents in cyclic nucleotides is associated with inhibition of toxin uptake by the hepatocyte transporters OATP 1B1 and 1B3[J]. PLoS One, 2014,9(4):e94926.  
 [5] Larosa JC, Pedersen TR, Somaratne R, et al. Safety and effect of very low levels of low-density lipoprotein cholesterol on cardiovascular events[J]. Am J Cardiol, 2013, 111(8):1221-1229.  
 [6] 唐斌,黄丹,傅强.南昌地区汉族原发性高脂血症人群中 SLC01B1 基因的分布[J].中国现代医生,2014,52(34):1-3.  
 [7] 雷玉艳,张晨,汪幸思,等.新疆维、哈两民族载脂蛋白 E 等位基因多态性与冠心病关联性研究[J].中国免疫学杂志,2012,28(9):807-809.  
 [8] 郑文武,李正业,李翔,等.阿托伐他汀对不同 ApoE 基因型冠心病患者血脂调控影响的临床研究[J].检验医学与临床,2015,12(18):2671-2673.  
 [9] 刘金凤,马洪胜,李峰. ApoE 基因多态性与脂质代谢的相关性[J].中国老年学杂志,2012,32(9):1802-1804.  
 [10] Baptista R, Rebelo M, Decq-Mota J, et al. Apolipoprotein E epsilon-4 polymorphism is associated with younger age at referral to a lipidology clinic and a poorer response to lipid-lowering therapy[J]. Lipids Health Dis, 2011, 10(1):48-49.

(收稿日期:2016-08-17 修回日期:2016-11-09)

(上接第 772 页)

义( $P<0.05$ )。试验组护理满意度也明显优于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。本研究结果与相关报道一致<sup>[10-11]</sup>,表明综合护理干预既可以降低耳鼻喉科患者术后感染并发症的发生率,又能改善患者心理状态,提高护理满意度,值得临床应用。

参考文献

[1] 甘满芳.术前护理干预对耳鼻喉科手术患者的影响[J].护理实践与研究,2011,8(18):26-27.  
 [2] 刘宏锋.280 例耳鼻喉术后感染影响因素分析[J].中外医学研究,2014,12(24):131-133.  
 [3] 邵玉颜,黎庆莲,莫丽君,等.耳鼻喉门诊的医院感染护理管理[J].中国医药指南,2009,7(14):10-11.  
 [4] 张庆玲,李会琴.心理护理在减轻耳鼻喉部手术术后疼痛程度的应用体会[J].护士进修杂志,2013,28(6):537-538.

[5] 杨瑞.耳鼻喉科患者手术前的心理护理分析[J].中国社区医师,2014,30(5):117-118.  
 [6] 吴春平.舒适护理在耳鼻喉术后患者的临床应用分析[J].安徽医药,2015,18(12):2428-2429.  
 [7] 孙春菊.耳鼻喉门诊患者疾病分析及心理护理对策[J].齐齐哈尔医学院学报,2013,34(24):3720-3721.  
 [8] 李梦云.人性化护理在耳鼻喉手术患者中的临床应用分析[J].大家健康,2013,7(6):130-131.  
 [9] 杨晓.综合护理干预对耳鼻喉手术术后疼痛程度的影响[J].中国继续医学教育,2015,7(29):226-227.  
 [10] 高扬清,徐群,谢朝红,等.护理干预改善耳鼻喉部手术患者术后疼痛及康复效果评价[J].蚌埠医学院学报,2015,40(10):1426-1429.  
 [11] 王晓丹,应胜绿.护理安全管理在降低外科换药室内感染中的应用[J].新中医,2016,48(4):247-249.

(收稿日期:2016-08-15 修回日期:2016-11-07)