

# ABCA1 基因启动子区 -477C/T 单核苷酸多态性在中国汉族正常人群中的分布及对血脂的影响

刘胜林,郭志刚,赖文岩,屠燕,陈建庭(第一军医大学南方医院心内科,广东广州 510515)

**摘要:**目的 研究 ATP 结合盒转运子 A1(ABCA1)基因启动子区 -477C/T 单核苷酸多态性(SNP)在中国汉族正常人群中的分布及其对血脂的影响。方法 用聚合酶链反应-限制性酶切片长度多态性分析法(PCR-RFLP)检测 113 例中国汉族正常人 ABCA1 基因启动子区 -477C/T SNP 三种基因型在正常人群中的分布及其与临床指标的关系。结果 ABCA1 基因启动子区 -477C/T SNP 存在于中国汉族正常人群中;其基因型分布为:CC 基因型 37.2%(42 例),CT 基因型 46.9%(53 例),TT 基因型 15.9%(18 例)。三种基因型间比较,TT 基因型血高密度脂蛋白水平明显低于 CC 基因型( $P<0.05$ ),而总胆固醇、甘油三脂、低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白、体重指数等指标在三种基因型间差异无显著性( $P>0.05$ )。结论 在中国汉族正常人群中,TT 基因型可明显影响血浆高密度脂蛋白水平。

**关键词:**ATP 结合盒转运子 A1;单核苷酸多态性;血脂

中图分类号:R392.13;R394.5 文献标识码:A 文章编号:1000-2588(2004)06-0650-03

## Distribution of -477C/T single nucleotide polymorphism in the promoter region of ABCA1 gene and its significance for plasma lipids levels in normal Chinese Han population

LIU Sheng-lin, GUO Zhi-gang, LAI Wen-yan, TU Yan, CHEN Jian-ting

Department of Cardiology, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

**Abstract: Objective** To investigate the distribution of -477C/T single nucleotide polymorphisms (SNP) in the promoter region of ATP binding cassette transporter (ABCA1) gene and its relation to plasma lipid levels in normal Chinese Han population. **Methods** The three genotypes of -477C/T polymorphisms in the promoter region of the ABCA1 gene were detected using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) in 113 normal Chinese Han subjects. **Results** -477C/T SNP was present in normal Chinese Han population, and 37.2% (42) of the examined subjects belonged to the genotype of CC, 46.9% (53) belonged to CT and 15.9% (18) to TT. The individuals with the TT genotype had a lower plasma high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) level than those with the CC genotype ( $P<0.05$ ). No association was found between the genotypes and plasma levels of total cholesterol, triglyceride, low-density lipoprotein, very low-density lipoprotein and body mass index. **Conclusion** The TT genotype significantly influences the plasma levels of HDL-C in normal Chinese Han individuals.

**Key words:** ATP-binding cassette transporter A1; single nucleotide polymorphism; plasma lipids

1999 年 Bodzioch 等<sup>[1,2]</sup>首次明确 ATP 结合盒转运子 A1 (ABCA1) 基因突变是 Tangier 病的病因。ABCA1 不仅在 Tangier 病人中起重要作用,而且在正常细胞,细胞膜上的 ABCA1 转运细胞内的游离胆固醇、磷脂至细胞外并与载脂蛋白 A-I (apoA-I) 结合,形成扁平高密度脂蛋白(HDL),后者再接受游离胆固醇和磷脂形成成熟 HDL,它是调节细胞内游离胆固醇、磷脂外流的限速基因<sup>[3]</sup>。此后,人们发现在冠心病病人存在 ABCA1 基因单核苷酸多态性(SNP),部分编码区 SNP 与冠心病病人血浆 HDL、apoA-I 水平、

冠心病事件及冠脉病变程度等存在相关性<sup>[4,5]</sup>。在普通人群中,不同种族、不同地域,特定的 SNP 并不一定都存在,其所占的比率也不尽相同,但大约有 85% 是共同的<sup>[6]</sup>。2001 年 Lutucuta 等<sup>[7]</sup>研究表明:在美国冠心病人群中,存在 3 个新的变异位点:-477C/T、-419A/C 和 -320G/C;-477C/T 基因多态性与冠状动脉狭窄相关,但 HDL-C 及 apoA-I 水平仅表现为轻度减低。还有研究表明:ABCA1 基因启动子区 -14C>T 的 SNP 对新加坡健康华人 HDL-C 也有明显影响<sup>[8]</sup>。因此,我们分析中国汉族正常人群是否存在 ABCA1 基因启动子区 -477C/T SNP,并研究其分布及对血脂的影响。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

113 例均中国汉族正常人,其中男 70 例、女 43 例,年龄(53.45±10.87)岁。经询问病史、体检、实验室

收稿日期:2003-12-15

基金项目:国家自然科学基金(30171028);广东省自然科学基金(010616)

Supported by National Natural Science Foundation of China (30171028) and by Natural Science Foundation of Guangdong Province(010616)

作者简介:刘胜林(1964-),男,第一军医大学在读硕士研究生,主治医师,讲师

通讯作者:郭志刚,E-mail:guodoctor@hotmail.com

检查(血、尿、便常规、血脂、血糖、肝、肾功能)、心电图检查排除冠心病、肿瘤、严重肝肾等疾病。为进一步分析,按年龄分为两组:(1)年龄大于或等于 60 岁为老年人组;(2)年龄小于 60 岁为中青年组。按性别分为两组:(1)男性组;(2)女性组。

### 1.2 方法

基因组 DNA 的提取:外周静脉血 5 ml,ACD 抗凝,用酚-氯仿法提取基因组 DNA。*ABCA1* 基因启动子区 -477C/T 基因型用聚合酶链反应-限制性酶切片长度多态性分析法(PCR-RFLP)分析。引物由上海生物工程有限公司合成,上游:5'-CTC GGG TCC TCT GAG GGA CCT-3',下游:5'-CCG CAG ACT CTC TAG TCC AC-3'。PCR 反应体系 50  $\mu$ l,含提取 DNA 2  $\mu$ l、10 $\times$ Buffer 5  $\mu$ l、25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 3  $\mu$ l、Taq 酶 2.5 U、2.5 mmol/L dNTP 4  $\mu$ l、10  $\mu$ mol/L 引物各 2  $\mu$ l(Buffer、MgCl<sub>2</sub>、Taq 酶、dNTP 由大连宝生物有限公司提供)。PCR 反应条件:95  $^{\circ}$ C 预变性 120 s;94  $^{\circ}$ C 变性 30 s、60  $^{\circ}$ C 退火 60 s、72  $^{\circ}$ C 延伸 60 s,共 35 个循环;72  $^{\circ}$ C 终末延伸 10 min。PCR 产物用特异性限制性内切酶 *ACIL* 消化,37  $^{\circ}$ C 过夜。2%琼脂糖凝胶电泳分析结果。临床指标测定:体重指数(BMI)=体重/身高<sup>2</sup>;空腹血糖、甘油三脂(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、极低密度脂蛋白(VLDL-C)、肝肾功能均由自动生化分析仪测量。

### 1.3 统计学处理

用 SPSS10.0 统计软件分析,不同基因型与临床相关指标的比较用方差分析,基因型与分组的比较采用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

### 2.1 *ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 在中国正常人群中的分布

*ABCA1* 基因启动子区 PCR 扩增产物长度为 351 bp。凝胶分析(图 1)显示为一条 351 bp 的 DNA 条带。经 *ACIL* 酶切后为 3 种基因型,分别是 CC、CT、TT 基因型。CC 基因型有 148、130、73 bp 三个片段,其中 148、130 bp 两条带因为相对分子质量接近而显示为一条带,故显示为两条带;CT 基因型含 278、148、130、73 bp 四个片段,显示为三条带;TT 基因型含 278、73 bp 两个片段,显示为两条带。*ABCA1* 基因 -477C/T SNP 在中国正常人群中的分布为:CC 基因型 37.2%(42 例),CT 基因型 46.9%(53 例),TT 基因型 15.9%(18 例)。

### 2.2 *ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 与临床指标的关系

结果(表 1)显示:TT 基因型与 CC 基因型相比,血浆 HDL-C 水平明显降低( $P < 0.05$ ),但 TT 基因型

与 CT 基因型、CT 基因型与 CC 基因型相比差异无显著性( $P > 0.05$ )。三种基因型间 TC、TG、LDL、VLDL 及 BMI 差异无显著性( $P > 0.05$ )。

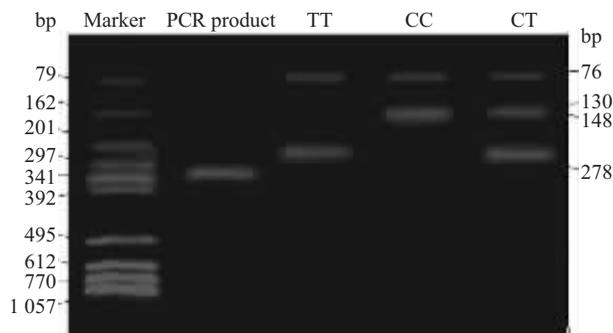


图 1 PCR 产物及 *ACIL* 限制性内切酶酶切产物 2%琼脂糖电泳图

Fig.1 2% agarose gel electrophoretogram of the PCR and *ACIL* restriction endonuclease digestion products

表 1 *ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 与临床指标的关系  
Tab.1 Relation between the clinical indexes and -477C/T single nucleotide polymorphism (SNP) in the promoter region of ATP-binding cassette transporter 1 gene

Index	Genotype		
	CC	CT	TT
TC (mmol/L)	4.59 $\pm$ 0.79	4.66 $\pm$ 0.86	4.54 $\pm$ 0.77
TG (mmol/L)	1.39 $\pm$ 0.47	1.45 $\pm$ 0.68	1.41 $\pm$ 0.71
HDL-C (mmol/L)	1.32 $\pm$ 0.34	1.28 $\pm$ 0.24	1.13 $\pm$ 0.23*
LDL (mmol/L)	2.39 $\pm$ 0.58	2.48 $\pm$ 0.64	2.33 $\pm$ 0.49
VLDL (mmol/L)	1.02 $\pm$ 0.28	1.01 $\pm$ 0.26	0.99 $\pm$ 0.21
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.94 $\pm$ 2.01	23.46 $\pm$ 2.67	23.86 $\pm$ 2.77

\* $P < 0.05$  vs CC. TC: Total cholesterol; TG: Triglyceride; HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol; LDL: Low-density lipoprotein; VLDL: Very low-density lipoprotein; BMI: Body mass index

### 2.3 *ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 与年龄的关系

结果(表 2)显示:*ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 在两个年龄组的分布差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。

表 2 *ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 在不同年龄组中的分布频率

Tab.2 Distribution frequency of the -477C/T SNP in the promoter region of ATP-binding cassette transporter 1 gene in different age groups

Group	Genotype		
	CC	CT	TT
Age $\geq$ 60 years	13 (36.1%)	17 (47.2%)	6 (16.7%)
Age < 60 years	29 (37.6%)	36 (46.8%)	12 (15.6%)

### 2.4 *ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 与性别的关系

结果(表 3)显示:*ABCA1* 基因启动子区 -477C/T

SNP 在不同性别组的分布差异无显著性意义 ( $P>0.05$ )。

表 3 *ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 在不同性别组中的分布频率

Tab.3 Distribution frequency of the -477C/T SNP in the promoter region of ATP-binding cassette transporter 1 gene in relation to sex

Group	Genotype		
	CC	CT	TT
Male	25 (35.7%)	32 (45.7%)	13 (18.6%)
Female	17 (39.5%)	21 (48.9%)	5 (11.6%)

### 3 讨论

过去的多项研究证实:TC、HDL-C 与冠心病相关,HDL-C 是预测冠心病的可靠指标,TC/HDL 预测老年冠心病危险性更有效<sup>[9-11]</sup>。HDL 具有抗动脉粥样硬化的作用,其机制之一是 HDL 及其载脂蛋白的胆固醇逆转运功能。周围组织细胞中胆固醇外流是胆固醇逆转运的关键的第一步,而 *ABCA1* 基因是转运细胞内胆固醇外流、启动胆固醇逆转运的关键基因。*ABCA1* 基因的研究源于 Tangier 病。Tangier 病是一种罕见的常染色体隐性遗传病,表现为血 HDL-C 极度减少、肝脾肿大、周围神经病变、早发冠心病,现已证实 *ABCA1* 基因突变是 Tangier 病的原因。在普通人群中,最常见的遗传变异是 SNP。已报道的常见 *ABCA1* 基因 SNP 如 I/M823 可显著改变血 HDL-C 水平<sup>[12]</sup>。因此,人们越来越关注在普通人群中 *ABCA1* 基因 SNP 与血脂水平和冠心病的关系。已有多项研究表明,在普通人群中 *ABCA1* 基因的 SNP 所表现出的作用截然不同:有的增加冠心病的危险,但对 HDL-C、载脂蛋白 A1 血浆浓度无明显影响;有的可降低甘油三酯、增加 HDL-C、对冠心病具有保护作用;有的仅对血脂有影响,但与冠心病无明显关联<sup>[13-16]</sup>。在现代社会中,冠心病的发病率日益上升,其对人们健康的危害也愈来愈大。因此,发现普通人群中对血脂有明显影响、与冠心病相关的基因变异,对冠心病的预防和治疗具有十分重要的意义。

本研究结果发现,*ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 存在于中国汉族正常人群中,与 Lutucuta 等<sup>[7]</sup>的研究结果比较,TT 基因型略低,而 CC 基因型略高,CT 基因型近似。三种基因型在年龄及性别上的分布频率差异无显著性。此外,三种基因型 TC、TG、LDL、VLDL 及 BMI 差异无显著性。值得注意的是 TT 基因型 HDL-C 水平较 CC 基因型明显减低 ( $P<0.05$ )。上述研究显示,*ABCA1* 基因启动子区 -477C/T SNP 是影响中国汉族正常人群血浆 HDL 水平的一个因素,但这是否表明 TT 基因型携带者是冠心病潜在的高发人群,目前还不能确定,尚须进一步研究。

### 参考文献:

- [1] Bodzioch M, Orso E, Klucken J, *et al.* The gene coding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease [J]. *Nat Genet*, 1999, 22(4): 347-51.
- [2] Rust S, Rosier M, Funke H, *et al.* Tangier disease is caused by mutations in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 [J]. *Nat Genet*, 1999, 22(4): 352-5.
- [3] Young SG, Fielding CJ. The ABCs of cholesterol efflux [J]. *Nat Genet*, 1999, 22(4): 316-8.
- [4] Brousseau ME, Bodzioch M, Schaefer EJ, *et al.* Common variants in the gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 in men with low HDL cholesterol levels and coronary heart disease [J]. *Atherosclerosis*, 2001, 154(3): 607-11.
- [5] Evans D, Beil FU. The association of the R219K polymorphism in the ATP-binding cassette transporter 1 (*ABCA1*) gene with coronary heart disease and hyperlipidaemia [J]. *J Mol Med*, 2003, 81 (4): 264-70.
- [6] Barbujani G, Magagni A, Minch E, *et al.* An apportionment of human DNA diversity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(9): 4516-9.
- [7] Lutucuta S, Ballantyne CM, Elghannam H, *et al.* Novel polymorphism in promoter region of ATP binding cassette transporter gene and plasma lipids, severity, progression, and regression of coronary atherosclerosis and response to therapy [J]. *Circ Res*, 2001, 88(9): 969-73.
- [8] Tan JH, Low PS, Tan YS, *et al.* *ABCA1* gene polymorphism and their associations with coronary disease and plasma lipids in males from three ethnic populations in Singapore [J]. *Hum Genet*, 2003, 113(2): 106-17.
- [9] Wilson PW, Abbott RD, Castelli WP, *et al.* High density lipoprotein cholesterol and mortality. The framingham heart study [J]. *Arteriosclerosis*, 1988, 8(6): 737-41.
- [10] Goldbourt U, Yaari S, Medalie JH, *et al.* Isolated low HDL as a risk of factor for coronary heart disease mortality: a 21 year follow-up of 8000 men [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17(1): 107-13.
- [11] 李俊, 李小敏, 杨俊, 等. 老年冠心病冠脉造影结果与中医证型、血脂及脂蛋白亚组胆固醇含量关系的研究 [J]. 第一军医大学学报 (J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao), 1999, 19(4): 35-6.
- [12] Wang J, Burnett JR, Near S, *et al.* Common and rare *ABCA1* variants affecting plasma HDL cholesterol [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(8): 1983-9.
- [13] Harada T, Imai Y, Nojiri T, *et al.* A common Ile 823Met variant of ATP-binding cassette transporter A1 gene (*ABCA1*) alters high density lipoprotein cholesterol level in Japanese population [J]. *Atherosclerosis*, 2003, 169(1): 105-12.
- [14] Clee SM, Zwinderman AH, Engert JC, *et al.* Common genetic variation in *ABCA1* is associated with altered lipoprotein level and a modified risk for coronary artery disease [J]. *Circulation*, 2001, 103 (9): 1198-205.
- [15] Zwarts KY, Clee SM, Zwinderman AH, *et al.* *ABCA1* regulatory variants influence coronary artery disease independent of effects on plasma lipid levels [J]. *Clin Genet*, 2002, 61(2): 115-25.
- [16] Srinivasan SR, Li S, Chen W, *et al.* R219K polymorphism of the *ABCA1* gene and its modulation of the variations in serum high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides related to age and adiposity in white versus black young adults [J]. *Metabolism*, 2003, 52(7): 930-4.