

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

國人血脂異常相關之基因研究 - 高三酸甘油酯血症、遺傳性結合高脂血症及劣質脂蛋白血症之分子基因研究

Molecular Genetics of Hypertriglyceridemia, Combined Hyperlipidemia and Dysbetalipoproteinemia

計畫編號：NSC 88-2314-B-002-092-M40

執行期間：87年8月1日至88年7月31日

主持人：高照村 台大醫學院醫事技術學系

一. 中文摘要

高三酸甘油酯血症在人類中是一種很普遍的代謝失調症。嚴重的高三酸甘油酯血症是腹痛及胰臟炎之危險因子。高三酸甘油酯血症中特別是遺傳性結合高脂血症及劣質脂蛋白血症有說是冠心症之潛伏的危險因子。在國外已有許多報告，而在台灣也可能有為數不少的人帶有遺傳性結合高脂血症及劣質脂蛋白血症的遺傳趨勢。本研究今年將繼續對高三酸甘油酯血症、遺傳性結合高脂血症及劣質脂蛋白血症者作脂蛋白元 AII 基因多型性變化之分析，希望能找出這些疾病之關聯性。在 109 位高三酸甘油酯血症之病人中其總膽固醇、三酸甘油酯、低密度脂蛋白膽固醇、脂蛋白元 AI 及脂蛋白元 B 之濃度皆高於 125 位正常者，而高密度脂蛋白膽固醇及脂蛋白(a)之濃度則低於正常者。其對偶基因分佈之頻率在病人和對照組中分別是

MspI(+).0.706, MspI(-).0.294 及 MspI(+).0.684, MspI(-).0.316, (p=0.167); MvaI(+).0.748, MvaI(-).0.252 及 MvaI(+).0.84, MvaI(-).0.16, (p=0.018)。在病人組中

MvaI(-/-)基因型出現之頻率高於正常者(p<0.001)。因此 MvaI(-)對偶基因在國人似乎與高三酸甘油酯血症有關聯。

關鍵詞：高三酸甘油酯血症、脂蛋白元 AII、限制片段長度多型性

Abstract

Hypertriglyceridemia is a common metabolic disorder in the general population. Severe hypertriglyceridemia is a risk factor for abdominal pain and pancreatitis. Hypertriglyceridemia, especially familial combined hyperlipidemia and dysbetalipoproteinemia, have been theorized to be a potential risk factor for coronary heart disease. It may exist that a relatively large number of individuals have a genetic tendency to hypertriglyceridemia, combined hyperlipidemia and dysbetalipoproteinemia in Taiwan. In this study, we continued to determine the association and the genetic variation in AII gene and in hypertriglyceridemia, combined hyperlipidemia and dysbetalipoproteinemia. The levels of total cholesterol, triglyceride, LDL-C and Apo AI & B were higher in 109

hypertriglyceridemia than those in 125 normal controls. The allelic frequencies for cases and controls were MspI(+)0.706, MspI(-)0.294 及 MspI(+)0.684, MspI(-)0.316, (p=0.167); MvaI(+)0.748, MvaI(-)0.252 及 MvaI(+)0.84, MvaI(-)0.16, (p=0.018). The frequency of MvaI (-/-) genotype was higher in patients (p<0.001). It seemed that MvaI (-) allele was associated with hypertriglyceridemia in Taiwanese.

Keywords: Hypertriglyceridemia, Apolipoprotein AII, Restriction Fragment Length Polymorphism

二、計畫緣由與目的

高三酸血症在人類中是一種很普遍的代謝失調症。雖然其引起之原因有許多因素，包括飲食習慣，飲酒，活動性，藥物及不同之疾病等(Mancini et al 1991)，但很明顯的是有許多人是有遺傳之傾向的。許多人顯示其脂蛋白解脂酵素基因有變異(Santamarian-fojo 1992)，另有些人是脂蛋白元 CII 基因之缺陷。然而大部分高三酸甘油酯血症之病人其基因之缺陷仍未知。脂蛋白元 E 基因之變異會導至乳糜微粒及極低密度脂蛋白殘餘物清除之障礙。目前脂蛋白元 E 存在有三種常見之對偶基因分別是 E2, E3 及 E4。脂蛋白元 E2 對 B,E 接受器之結合力有缺陷 (Mahley et al 1990)，因此帶有脂蛋白元 E2 者其血漿中上述之殘餘物濃度會升高。在劣質脂蛋白血症之病人中 90% 是屬於同質性的脂蛋白元 E2 攜帶者。劣質脂蛋白血症之病人易罹患冠狀動脈及週邊動

脈之疾病。其他脂蛋白元 E 之變異也因為其結合力之缺陷而會和高脂血症及動脈粥狀硬化有關係 (Wenham et al 1993)。我們發現正常國人同質性脂蛋白元 E2 之攜帶者佔 1.3% (Kao et al 1995)。可能也會有劣質脂蛋白血症之存在，值得去探討。研究持續高三酸甘油酯血症之家族顯示約有 30% 的人患有稱為家族性結合高脂血症之遺傳疾病。但其何種基因缺陷目前則尚未知。此種疾病在白種人口中約佔 1% 但在六十歲以下患有冠心症之男性卻佔 12% (Goldstein et al 1973)。在脂蛋白元 AI-CIII 基因中有 XmnI 及 SstI 切割點出現之頻率在家族性結合高脂血症之病人高於正常人或其他高脂血症者 (Hayden et al 1987)。Wojciechowski 等人也証實家族性結合高脂血症與在脂蛋白元 AI-CIII-AIV 基因群中 XmnI 限制片段長度多型性有所關聯(Wojciechowski et al 1991)。雖然 Patsch 等人發現在血脂正常者、高膽固醇血症者、高三酸甘油酯血症者及高膽固醇高三酸甘油酯血症者中其 XmnI 限制片段長度多型性並無差異，但是 XmnI 限制片段長度多型性與頸動脈中層厚度和血中膽固醇及三酸甘油酯之濃度有關聯(Patsch et al 1994)。雖然脂蛋白元 AI 基因上的 SstI 限制片段長度多型性與高三酸甘油酯血症有關聯，但在正常日本人與高脂血症者其出現之頻率卻無差異 (Rees et al 1985)。然而在高三酸甘油酯血症者其 S1-M2 出現之頻率卻較高(Rees et al 1986)。這些都顯

示 DNA 多型性在不同之種族之間是有所不同，而脂蛋白元 AI-CIII-AIV 基因群結構之變化可能會影響脂蛋白的新陳代謝，由此而增加冠心症之危險。在代謝症候群中常伴隨著高三酸甘油酯，小顆粒低密度脂蛋白及低濃度的高密度脂蛋白膽固醇(Grundty SM 1997)。雖然有報告說脂蛋白元 AII 之多型性與三酸甘油酯之濃度無關(Rajput-Williams et al 1989; Dupuy-Gorce et al 1996)，但是在高三酸甘油酯血症之韓國人其 MspI(-)出現之頻率卻高於正常者(Hong et al 1998)。目前在國人高三酸甘油酯血症，結合高脂血症及劣質脂蛋白血症其基因之變異仍未知，因此本研究針對高三酸甘油酯血症者繼續分析其脂蛋白元 AII 基因上限制片段長度多型性。

三、結果與討論

在 109 位高三酸甘油酯血症之病人中其總膽固醇、三酸甘油酯、低密度脂蛋白膽固醇 脂蛋白元 AI 及 B 之濃度皆高於 125 位正常者 ($p < 0.05$)，而高密度脂蛋白膽固醇及脂蛋白(a)之濃度則低於正常者 ($p < 0.001$)如表一所示。一般三酸甘油酯濃度上升時其高密度脂蛋白膽固醇會下降，本研究之結果也符合此現象。至於脂蛋白(a)之濃度則不一定。而對偶基因分佈之頻率在病人和對照組中列於表二。其中以 MvaI 之基因型及其對偶基因在兩組中有不同的分佈且其差異有統計學上之意義。在病人組中 MvaI(-/-)基因型出現

之頻率高於正常者($p < 0.001$)。而正常者 MvaI(-)及 MspI(-)對偶基因出現之頻率高於國外之報告。同時此兩種多型性具有負相關之現象($r = - 0.223$; $p = 0.006$)。表三顯示帶有 MvaI(-/-)基因者其三酸甘油酯濃度較高 ($p = 0.023$)，此結果與(Dupuy-Gorce et al 1996)之報告不相似，但帶有 MspI(+/-)者其脂蛋白元 AI 濃度則較高($p = 0.043$)，此亦異於前者，但與 Saha 等人之報告卻相同(Saha et al 1992)。雖然類似國外之報告，MspI 多型性與高三酸甘油酯血症不相關，但 MvaI(-)對偶基因在國人似乎與高三酸甘油酯血症有關聯。此與國外之報告不太相同，可能是種族方面之差異引起的。

四、計畫成果自評

本研究已達到原來之預期目標，同時參與之工作人員也學到了 DNA 的抽取，聚合酶鏈反應，電泳，限制酶之切割等技術。所得的結果具有學術參考之價值。

五、參考文獻

- [1] Dupuy-Gorce AM, Desmarais E, Vigneron S, et al. DNA polymorphisms in linkage disequilibrium at the 3' end of the human apo AII gene: relationships with lipids, apolipoproteins and coronary heart disease. Clin genet 1996;50:191-198.
- [2] Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR et al..

- Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1973;52:1544-68.
- [3] Grundy SM. Small LDL, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Circulation* 1997;95:1-4.
- [4] Hayden MR, Kirk H, Clark C et al. DNA polymorphisms in and around the apo AI-CIII genes and genetic hyperlipidemias. *Am J Hum Genet* 1987;40:421-430.
- [5] Hong SH, Kang BY, Park WH, et al. Association between apolipoprotein A2 MspI polymorphism and hypertriglyceridemia in Koreans. *Hum Biol* 1998;70:41-46.
- [6] Kao JT, Tsai KS, Chang CJ et al. The effects of apolipoprotein E polymorphism on the distribution of lipids and lipoproteins in the Chinese population. *Atherosclerosis* 1995;114:55-59.
- [7] Ko YL, Ko YS, et al. Interaction between obesity and genetic polymorphisms in the apolipoprotein CIII gene and lipoprotein lipase gene on the risk of hypertriglyceridemia in Chinese. *Hum Genet* 1997;100:327-333.
- [8] Mahley RW, Innerarity TL, Rall JSC et al. Apolipoprotein E: Genetic variants provide insights into its structure and function. *Curr Opin in lipidol* 1990;1:87-95.
- [9] Mancini M, Steiner G, Betteridge DJ, Pometta D. Acquired (secondary) forms of hypertriglyceridemia. *Am J Cardiol* 1991;68:17A-21A
- [10] Patsch W, Sharrett AR, Chen IY et al. Associations of allelic differences at the AI/CIII/AIV gene cluster with carotid artery intima-media thickness and plasma lipid transport in hypercholesterolemic-hypertriglyceridemic humans. *Arterioscler Thromb* 1994;14:874-883.
- [11] Rajput-Williams J, Eyre J, Nanjee MN, et al. Plasma lipoprotein lipids in relation to the MspI polymorphism of the apolipoprotein AII gene in Caucasian men. Lack of association with plasma triglyceride concentration. *Atherosclerosis* 1989;77:31-36.
- [12] Rees A, Stocks J, Sharpe CR et al. Deoxyribonucleic acid polymorphism in the apolipoprotein AI-CIII gene cluster. *J Clin Invest* 1985;76:1090-1095.
- [13] Saha N, Tan JA, Tay JS. MspI polymorphism of the apolipoprotein A-II gene, serum lipids and apolipoproteins in

- Chinese from Singapore. *Human Heredity* 1992;42:293-297.
- [14] Santmarina-Fojo S. Genetic dyslipoproteinemias: Role of lipoprotein lipase and apolipoprotein CII. *Curr Opin Lipidol* 1992;3:186-195.
- [15] Wenham PR, McDowell IFW, Hodges VM et al. Rare apolipoprotein E variant identified in a patient with type III hyperlipidaemia. *Atherosclerosis* 1993;99:261-271.
- [16] Wojciechowski AP, Farrall M, Cullen P et al. Familial combined hyperlipidaemia linked to the apolipoprotein AI-CIII-AIV gene cluster on chromosome 11q23-q24. *Nature* 1991;349:161-164.

TABLE 1. Clinical Details of Control and Patient Subjects ^a

	Controls	Hypertriglyceridemic patients	p
N	125	109	
M/F	71/54	67/42	0.507
Age	52.9±1.1	53.5±1.0	0.707
T chol	176±2.7	234±4.8	0.000
TG	104±3.7	385±16.1	0.000
HDL-C	51±1.0	43±1.1	0.000
LDL-C	107±2.0	119±4.1	0.007
ApoAI	134±3.2	143±3.0	0.043
Apo B	82±1.8	94±2.6	0.000
Lp(a)	17.0±1.5	9.5±1.4	0.000

a: Mean±SEM; Age(years); T chol, TG, HDL-C, LDL-C Apo AI, Apo B and Lp(a) are in mg/dL unit.

TABLE 2. Frequencies of MvaI and MspI Genotype at Apo AII Gene in Control and Hypertriglyceridemic Subjects ^a

	Controls	Patients	p
MvaI -/-	3 (2.4)	23 (21.1)	0.000
MvaI +/-	34 (27.2)	9 (8.3)	
MvaI +/+	88 (70.4)	77 (70.6)	
MspI -/-	11 (8.8)	15 (13.8)	0.066
MspI +/-	57 (45.6)	34 (31.2)	
MspI +/+	57 (45.6)	60 (55.0)	
MvaI + allele	210 (84.0)	163 (74.8)	0.018
MvaI - allele	40 (16.0)	55 (25.2)	
MspI + allele	171 (68.4)	154 (70.6)	0.167
MspI - allele	79 (31.6)	64 (29.4)	

a: the parenthesis indicates %.

TABLE 3. Correlation Coefficient of Apo AII Polymorphisms on Lipid Levels ^a

	MvaI	MspI
T chol	-0.068 (0.152)	-0.014 (0.419)
Triglyceride	-0.131 (0.023)	-0.039 (0.275)
HDL-C	0.096 (0.074)	0.037 (0.286)
LDL-C	0.029 (0.330)	-0.034 (0.306)
Apo AI	-0.043 (0.264)	0.117 (0.043)
Apo B	-0.041 (0.273)	-0.086 (0.105)
Lp(a)	-0.038 (0.290)	-0.015 (0.414)

a: the parenthesis indicates probability.