

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

(III) 金山社區居民A-I元脂蛋白及高密度脂蛋白與動脈硬化危險因子家族遺傳研究計劃

(III) Genetic Correlations Between Apo A-I and HDL-C and the Other Atherosclerotic Risk Factors Among Inhabitants in Chin-Shan Community

計畫編號：NSC 88-2314 -B002-097-M40

執行期限：1998年08月01日至1999年07月31日

主持人：李源德

執行機構及單位名稱：國立臺灣大學附設醫院內科部

一、中文摘要

動脈粥狀硬化及其相關之疾病隨我國社會經濟進步，有急遽增加之勢。動脈粥狀硬化與血脂異常高度相關；血脂異常深受遺傳及環境因素之交互影響，唯此項研究在我國獨付闕如。本計畫是第一個有關本土高脂血家族相關因子的研究，先就金山社區研究全部世代的 3602 鄉民中找出血脂異常患者作為指標個案 (proband)，以此家族現存資料搜尋配偶組，親子組，兄弟姐妹組，及祖孫組，延伸現有資料人群到他們的兒女親戚，研究其血中脂肪值的家族聚集情形。結果共有三家族的研究對象 113 人 (男 51 人，女 62 人)，平均年齡 35.6 歲，顯示以高脂血作為指標個案所找到的三個家族成員其年齡雖然年輕很多，但其高脂血的分佈情形確實比原世代的分佈來得高。以家族內血脂肪濃度作相關研究得知：配偶的相關係數在 LDL-C 值為負相關，在 ApoA1 值為正相關，親子代之間的相關係數在 HDL 為正相關，顯示環境及飲食習慣的影響在血脂肪濃度有很強的影響。

關鍵詞：A-I 元脂蛋白、高密度脂蛋白、動脈硬化危險因子、家族遺傳研究

Abstract

Atherosclerosis and its related diseases have been remarkably increased with the advancement of socioeconomy in this country. It is generally agreed to that there are highly correlation between

dyslipoproteinemia and atherosclerosis. Dyslipoproteinemia has recognized to be affected by heritable and environmental factors. No data yet in Taiwan could provide this information in clinical, educational and academic uses. The purpose of this study will emphasize on the study of dyslipoproteinemia proband in Chin-Shan community.

We had recruited 3 families of the proband with comprehensive 4 generation pedigrees, having 133 subjects (male 68 and female 65) with its age, mean at 33.5 ± 17.1 and range from 3 to 81. We invited those participants in CCCC Study and encourage their children below age of 35 to attend our Chin-Shan clinic for detailed history taking, physical examinations, physiological tests and blood sampling for lipid and biochemical variables. The study groups were much younger than original cohort population, but with higher triglyceride levels and similar levels of cholesterol and Apo B levels. The familial correlation coefficient were calculated by the FCOR program implemented in SAGE software. We found that among marital relationships, there were positive ApoA1 correlation. Among the parental-offspring relationships, there was a moderate positive correlation in HDL-C level ($r=0.34$); and apparently no correlation between siblings.

Reports have demonstrated an inverse relationship between plasma levels of HDL-C and apolipoprotein A-I (Apo A-I) and the incidence of coronary heart disease. A common *MspI* polymorphism (G/A) in the promoter site of ApoA1 gene (-75 bp) has been shown to be associated with plasma HDL-C and Apo A-I levels. Another *MspI* polymorphism site (+/-) in the 5' region of ApoA1 gene (+83 bp) has also been proven to relate with HDL metabolism. In our study, the difference of atherosclerotic risks factors and lipid levels were not significant among G/A and (+/-) polymorphism. The disease pattern of hypertension, diabetes and dyslipidemia were also not different among G/A and (+/-) polymorphism.

Keyword: Apo A-I, HDL-C, Atherosclerosis, Genetic study, ApoA1 gene polymorphism

二、緣由與目的

動脈粥狀硬化及其相關之疾病隨我國社會經濟進步，有急遽增加之勢。動脈粥狀硬化與血脂異常有高度相關；血脂異常則深受遺傳及環境因素之交互影響。早在80年代在美國幾個大規模的社區研究中，均對各種血脂值家族作相關研究，例如Morrison等人或Rao等人針對高脂血症患者的家屬的研究，顯示不管在一般社區或高脂血症患者，均有明顯的家族聚集現象。但如同Rao所言，不同的族群人口存在有異質性，不僅在不同年齡層，在不同種族也有不同的分佈。這類家族聚集的研究在我國獨付闕如。我們在1990年建立的金山地區居民世代的基線資料，顯示胰島素抵抗性是國人的血管疾病重要的危險因子，而高脂血症也是該社區內成年人口盛行的現象。本計畫利用第一階段篩選出來具高脂

血三大家族鄉民為指標個案(proband)，收集其家族成員的血脂濃度資料研究其相關性。

三、材料與方法

就金山社區研究全部世代 3602 鄉民中找出血脂異常患者作為proband，其條件為—LDL-C ≥ 220 mg/dl, Triglyceride ≥ 400 mg/dl 及合併 2 個以上心臟危險因子的三個四代家族譜，可供研究對象 113 人(男 51 人，女 62 人)，平均年齡 35.6 ± 17.1 歲。吾人以此三家族現存資料搜尋配偶組(Marital)，親子組(Parent-Offspring)，兄弟姐妹組(Siblings)，及祖孫組(Grandparent and grandchild)，延伸現有資料人群，到他們的兒女親戚，形成第一、二及第三代之親子組及兄弟姐妹組於1997-1998間，分次門診、訪視檢查及採血，進行血脂檢測及心血管病診斷。

背景及目的：

Apo A-I 是HDL中最重要的結構蛋白質，主要在LCAT酵素的Cofactor，因此在膽固醇代謝過程中扮演重要的角色，因而對於血液中HDL-C及Apo A-I的濃度研究是了解冠狀動脈心臟病重要的因子。

在大規模流行病學研究證實Apo A-I及HDL-C對心血管有保護作用，在Apo A-I-CIII-AIV基因簇附近的DNA系列的變異被報告與HDL-C及Apo A-I的濃度有關，其中一個是在Apo A-I基因前第75 base pair由G變成A的突變，因而造成M_{sp}I的多型性。目前為止，此住址上的多型性被報告與Apo A-I及HDL-C濃度有關。最近在Apo A-I基因M_{sp}I多型性位置也發現另一intron的突變，在+83 base pair由C變成T的變化也產生對Apo A-I濃度的影響，因此本研究即是以在M_{sp}I -75 bp及+83 bp的家族研究，針對原先金山地區三大高脂血症家族中此兩

種多型性的變化進而了解ApoA-I基因與HDL-C、Apo A-I及其他血脂質之間的關係。

(二) 資料分析先定出每個個人之間的親屬關係，利用SAGE軟體的FCOR程式，計算其家族聚集係數，同時利用Fisher方法檢定此相關係數是否有統計上的意義。

在研究 HDL-C 與其他動脈硬化危險因子的家族研究方面，我們利用家族相關係數的估計方面，了解在不同的家族配對關係之下，如親子代、手足之間、配偶的配對其 HDL-C 的相關係數(within-trait)，並且了解 HDL-C 與 ApoA1 及 ApoB 之間的相關係數(cross-trait)，進一步釐清 HDL-C 與血脂蛋白之間的關係。同時利用其手足及配對之間的相關係數進而估計其遺傳率的大小。

四、結果與結論：

(一) 描述性資料：做為家族研究的三大家庭一共有113位居民，其平均年齡均比原來的研究人口來得年輕，(35.6 vs. 62.4歲)。雖然study groups比cohort年紀輕，經由年紀及性別調整過的血脂值可顯示cholesterol、triglyceride比原世代來得高，而HDL、LDL、ApoA1, ApoB 值則比原世代來得低，表示以高脂血作為指標個案所找到的家族成員其年齡雖然年輕很多，但其高脂血的某些分佈情形確實有比原先世代之中的分佈來得高。

(二) 統合三大家族之內的家族親屬關係，一共可列出主要親緣關係、配對關係，再根據各種親屬關係，進一步利用SAGE的FCOR(familial correlation)程式對血脂肪濃度作相關研究，測得家族內的相關係數，由表三結果可得知：

(1) 配偶的相關係數在LDL值為負相關(-0.56)，在ApoA1值為正相關，

(2) 親子代之間的相關係數在HDL及ApoB為正相關，且HDL係數接近統計上有意義的程度。

(3) 兄弟姐妹手足之間的各種血脂肪值相關係數上並無明顯的相關性

(4) 祖孫之間的相關值在各種血脂肪值均呈負相關的關係其中的膽固醇、三酸甘油酯，ApoB值呈統計上有明顯相關。表示在隔代的血脂肪分佈有明顯相反的變化，此結果顯示環境及飲食習慣的影響在血脂肪濃度有很強的影響，同時祖孫不同年代呈現有意義的不同。

(三)再以Parent-Offspring的相關係數比較可看出：母親與女兒的相關性在HDL-C值較明顯；母親與兒子以cholesterol、ApoB較相關，但不顯著；而父親與子女的膽固醇並不相關，而三酸甘油酯及ApoB有不同方向的影響。在三酸甘油酯方面父女之間呈明顯的正相關，而父子之間為負相關。此結果表示可能有環境飲食的影響存在，上述關係均強過於配偶之間的關係，表示共同環境的因素之外，遺傳因素也佔有重要的角色。

在 ApoA1 基因型的多型性方面，我們利用MSP-I酵素針對ApoA1基因型上-83及+47 base pair 的基因突變作其族群相關研究。在收集的三大家族共 86 人之中，其在-75位置上由 G→A 突變的多型性研究之中，我們發現 GG, GA 及 AA 三種基因型的分佈為 47%, 35%, 18%，在男女之間並無明顯的差異但在 G, A Allele 頻率方面女性由 G→A 的頻率較男性高。同時在不同的三個基因型上，其動脈硬化指標的危險因子，例如除了身高外，體重、體質比(BMI)，血壓值及血脂肪上並無明顯的差別，同時其疾病上的分佈，例如高血壓、肥胖及血脂異常等值並無明顯的差異，而在-83 位置

上 *MSPI* 的突變，只有 heterozygosity 而無 homozygosity，因此也估計在 Hardy-Weiberg equilibrium 平衡定律之下，其突變對偶(-)基因(allele)頻率為 2.5%，而其(++)及(+-)的基因型分佈頻率為 95%，5%。在男女之間並無明顯的差異。同時在不同的三個基因型上，其動脈硬化指標的危險因子，例如體重、體質比(BMI)，血壓值及血脂脂肪上並無明顯的差別，同時其疾病上的分佈，例如高血壓、肥胖及血脂異常等值並無明顯的差異，但可看到在 (+-) 群中三酸甘油脂較 (++) 為高。

五、成果自評

本研究是第一個國人血脂家族聚集研究，主要根據高血脂症指標個案的家族的分析高脂血症家族聚集的情形。利用家族相關研究可以得到初步的結果，藉由血脂肪濃度值不同的配對關係可以了解可能的遺傳比重。並且可提供進一步的遺傳分析做作參考。

六、參考文獻

Morrison, J.A., Kelly, K., Horvitz, R., Khoury, P., Laskarzewski, P.M., Mellies, M.J. and Glueck, C.J. (1982) Parent-offspring and sibling lipid and lipoprotein associations during and after sharing of household environments: the Princeton school district family study. *Metabolism*. 31, 158-166.

Morrison, J.A., Khoury, P., Laskarzewski, P.M., Mellies, M.J., Kelly, K. and Glueck, C.J. (1982) Intrafamilial associations of lipids and lipoproteins in kindreds with hypertriglyceridemic probands: the Princeton School family Study. *Circulation* 66, 67-76.

Rao, D.C., Laskarzewski, P.M., Morrison, J.A., Khoury, P., Kelly, K., Wette, R., Russell, J. and Glueck, C.J. (1982) The Cincinnati Lipid Research

Clinic family study: cultural and biological determinants of lipids and lipoprotein concentrations. *Am.J.Hum.Genet.* 34, 888-903.

S.A.G.E. (1997) *Statistical analysis for genetic epidemiology, Release 3.1*. Computer program package available from the Department of Epidemiology and Biostatistics, Rammelkamp Center for Education and Research, MetroHealth Campus, Case Western Reserve University, Cleveland.

Appendix

Table 1: Distribution of Apo A-I gene *MspI* polymorphism, by gender

-75bp, G→A	男 (n=38)	女 (n=41)	p-value
GG	21 (56.8)	16 (43.2)	0.194
GA	13 (46.4)	15 (53.6)	
AA	4 (28.6)	10 (71.4)	

Table 2: Allele frequency of Apo A-I gene *MspI* polymorphism, by gender

-75bp, G→A	男 (n=76)	女 (n=82)	p-value
G allele	55 (53.9)	47 (46.1)	0.048 *
A allele	21 (37.5)	35 (62.5)	

* p-value<0.05

Table 3: Basic anthropometric, blood pressure, lipid levels, stratified by Apo A-I gene *MspI* polymorphism

Variables	GG (n=37)	GA (n=28)	AA (n=14)	p-value
Age (years)	37.1±16.6	47.4±18.5	33.5±13.6	0.0180 *
BH (cm)	163.4±8.4	160.8±8.8	155.4±10.2	0.0204 *
BW (kg)	62.1±10.8	63.5±13.9	55.8±13.6	0.1610
BMI (kg/m ²)	23.2±3.1	24.4±4.0	22.8±4.2	0.2785
SBP (mmHg)	120.9±15.1	123.8±17.0	111.2±12.8	0.0585
DBP (mmHg)	76.6±11.2	78.4±9.8	70.5±7.6	0.0761
T-CHOL (mg/dl)	192.1±43.5	198.2±36.2	196.4±47.1	0.8392
TG (mg/dl)	125.6±69.2	153.9±95.4	94.1±50.2	0.0594
HDL (mg/dl)	44.8±10.8	43.9±14.1	53.6±14.6	0.0522
LDL (mg/dl)	112.9±42.0	116.8±37.9	113.7±49.4	0.9317
Apo A1 (mg/dl)	120.5±19.6	120.3±27.8	132.2±29.4	0.2710
Apo B (mg/dl)	58.7±16.6	62.8±16.0	55.9±21.7	0.4378
Insulin (μu/ml)	5.93±4.23	5.35±4.66	4.69±2.44	0.6147
Glucose (mg/dl)	109.5±30.8	116.9±32.8	103.6±6.1	0.3422

* p-value<0.05

Table 4: Disease patterns in Apo A-I gene *MspI* polymorphism

Disease entity	GG (n=37)	GA (n=28)	AA (n=14)	p-value
BMI ≥ 27 kg/m ²	4 (10.8)	6 (22.2)	2 (14.3)	0.454
T-CHOL ≥ 240 mg/dl	6 (16.2)	3 (10.7)	2 (14.3)	0.817
TG ≥ 200 mg/dl	5 (13.5)	6 (21.4)	0 (0.0)	0.166
HDL ≤ 35 mg/dl	8 (21.6)	10 (35.7)	1 (7.1)	0.111
LDL ≥ 160 mg/dl	4 (10.8)	4 (14.3)	2 (14.3)	0.898

Table 5: Distribution of Apo-I gene *MspI* polymorphism, by gender

+83 bp (+,-)	男 (n=38)	女 (n=40)	p-value
++	36 (48.6)	38 (51.4)	0.958
+-	2 (50.0)	2 (50.0)	

Table 6: Allele frequency of Apo A-I gene *MspI* polymorphism, by gender

+83 bp (+,-)	男 (n=76)	女 (n=80)	p-value
+ allele	74 (48.7)	78 (51.3)	0.959
- allele	2 (50.0)	2 (50.0)	

Table 7: Basic anthropometric, blood pressure, lipid levels, stratified by Apo AI *MspI* polymorphism

Variables	++ (n=74)	+- (n=4)	p-value
Age (years)	40.3±17.9	36.0±12.9	0.6416
BH (cm)	161.0±9.5	162.5±4.0	0.7492
BW (kg)	61.7±13.0	58.6±3.6	0.6451
BMI (kg/m ²)	23.6±3.7	22.2±1.8	0.4596
SBP (mmHg)	120.8±16.0	109.8±11.3	0.1797
DBP (mmHg)	76.8±10.5	68.0±4.3	0.1031
T-CHOL (mg/dl)	195.1±42.3	197.3±28.1	0.9222
TG (mg/dl)	134.6±79.5	63.8±9.3	0.0001 ***
HDL (mg/dl)	45.5±12.7	53.0±19.7	0.2653
LDL (mg/dl)	114.1±42.1	129.0±29.3	0.4893
Apo A1 (mg/dl)	122.4±25.2	122.3±20.6	0.9879
Apo B (mg/dl)	60.2±17.6	56.3±7.6	0.6607
Insulin (μu/ml)	5.70±4.17	2.40±1.78	0.1220
Glucose (mg/dl)	111.5±29.8	105.8±13.3	0.7032

*** p-value<0.001

Table 8: Disease patterns in Apo A-I *MspI* genotype polymorphism

Variables	++ (n=74)	+- (n=4)	p-value
BMI ≥ 27 kg/m ²	12 (16.4)	0 (0.0)	0.377
T-CHOL ≥ 240 mg/dl	11 (14.9)	0 (0.0)	0.405
TG ≥ 200 mg/dl	11 (14.9)	0 (0.0)	0.405
HDL ≤ 35 mg/dl	18 (24.3)	1 (25.0)	0.976
LDL ≥ 160 mg/dl	10 (13.5)	0 (0.0)	0.431

表一：三家族與金山研究世代基本資料及血脂肪值的分佈情形

	Family 1 Mean±SD n=36	family 2 mean±SD n=47	Family 3 mean±SD N=30	study groups n=113	金山研究世代 n=3602	p value
男：女	16：20	23：24	12：18	51：62	1703：1899	-
age(years)	32.1±15.9	36.8±16.2	37.8±19.9	35.6±17.1	62.4±12.2	-
Cholesterol(mg/dl)	169.0±34.0	210.5±38.7	206.6±40.3	*206.2±5.3	*197.8±0.7	0.116
Triglyceride(mg/dl)	129.5±75.5	124.3±63.7	132.1±114.8	*131.6±11.4	*125.9±1.6	0.618
HDL-C(mg/dl)	46.5±9.2	45.9±15.0	46.1±13.9	*45.6±1.5	*47.5±0.2	0.216
LDL-C(mg/dl)	86.0±39.6	130.1±37.1	127.9±35.4	*125.5±5.2	*137.6±0.7	0.020
ApoA1(mg/dl)	115.5±22.0	126.1±28.6	119.5±19.8	*119.7±3.0	*127.7±0.5	0.008
ApoB(mg/dl)	49.2±20.5	64.5±13.9	63.9±17.5	*63.4±3.6	*93.9±0.6	0.001

*adjusted by sex & age (parameter estimate ±standard error)