

新疆血脂异常患者 ABCB1 C3435T 与 ABCB1 T2677G 基因多态性分析

王婷婷¹ 徐莉² 冯杰¹ 赵婷¹ 李红健¹ 于鲁海¹ 孙力¹

摘要 目的 分析 ATP 结合盒转运蛋白 B1 (ABCB1) C3435T 与 T2677G 位点基因型和等位基因在新疆维吾尔族、汉族及回族血脂异常患者中的分布特征。方法 采用荧光染色原位杂交方法检测 311 例维吾尔族、409 例汉族及 53 例回族血脂异常患者的 ABCB1 C3435T 与 ABCB1 T2677G 基因多态性,分析不同民族间基因型频率和等位基因频率是否存在差异性。结果 维吾尔族与汉族血脂异常患者 ABCB1 C3435T 基因型频率及等位基因频率差异有统计学意义 ($P < 0.05$) 维吾尔族与回族血脂异常患者 ABCB1 C3435T 等位基因频率差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 维吾尔族与汉族血脂异常患者 ABCB1 T2677G 基因型频率差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 新疆不同民族血脂异常患者 ABCB1 基因多态性分布具有差异性。在研究 ABCB1 与他汀类药物疗效相关的机制时,民族差异是不容忽视的重要因素。

关键词 维吾尔族; 汉族; 回族; 血脂异常; ATP 结合盒转运蛋白 B1

中图分类号 R 589.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)03-0454-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.03.023

血脂异常是一类较常见的疾病,主要包括胆固醇 (total cholesterol, TC)、三酰甘油 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 水平升高或高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平降低等。血脂异常是导致动脉粥样硬化的重要因素之一,动脉粥样硬化性心血管疾病 (atherosclerotic cardiovascular disease, ASCVD) 已经占全球总死亡率的 31%^[1],目前中国成人血脂异常总体患病率高达 40.40%^[2],临床上首选他汀类药物防治心血管疾病^[3]。他汀类药物是 ATP 结合盒

转运蛋白 B1 (ATP-binding cassette transporter B1, ABCB1) 的特异性转运底物,ABCB1 可影响其药代动力学过程,从而导致不同患者间产生调脂疗效的个体差异^[4],其中 ABCB1 T2677G、ABCB1 C3435T 是与他汀类药物的疗效相关性较强的基因^[5-6]。新疆维吾尔族成人血脂异常患病率高达 49.4%^[7],高于我国成人平均水平。该研究分析 ABCB1 C3435T 与 T2677G 在新疆维吾尔族、汉族及回族血脂异常患者中的分布情况,可为新疆不同民族血脂异常患者制定他汀类药物个体化调脂治疗方案提供依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料 2017 年 3 月—2020 年 1 月,就诊于新疆维吾尔自治区人民医院,经临床诊断为血脂异常的患者共 773 例,其中维吾尔族患者 311 例,汉族患者 409 例,回族患者 53 例,年龄 30~65 (50.17 ± 11.65) 岁。本研究经新疆维吾尔自治区人民医院伦理委员会批准,所有受试者均签署知情同意书。

1.1.1 入选标准 病例入选标准如下。① 年龄: ≥30 周岁且 ≤65 周岁。② 患者血脂是否异常指标依据《2016 版中国成人血脂异常防治指南》^[8],若患者清晨空腹血脂水平满足以下任何一项标准便可确诊高脂血症 (血脂异常): 血清 TC ≥ 5.72 mmol/L (240 mg/dl); 血清 TG ≥ 2.3 mmol/L (200 mg/dl); 血清 LDL-C ≥ 4.1 mmol/L (160 mg/dl); 血清 HDL-C 1.0 mmol/L (40 mg/dl)。③ 服用治疗剂量的阿托伐他汀 (40 mg, 每日一次) 进行调脂治疗; ④ 患者间无亲缘关系; ⑤ 服药前 4 周内未服用过他汀类或贝特类、烟酸类等其他类型调脂药物; ⑥ 服药前 4 周内未服用过影响他汀类药物代谢、转运的药物,如维拉帕米、胺碘酮、地高辛、红霉素、克拉霉素、酮康唑、伊曲康唑、环孢素、他克莫司、三环类抗抑郁药、西咪替丁、苯妥英钠、利福平等。

1.1.2 排除标准 病例排除标准如下: ① 不符合上述纳入标准患者; ② 对阿托伐他汀过敏或不能耐受患者; ③ 半年内曾患急性心肌梗塞、脑血管意外、

2020-08-03 接收

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (编号: 2018D01C108);

乌鲁木齐市天山区科学技术计划项目 (编号: T2017-07)

作者单位: 新疆维吾尔自治区人民医院¹ 新疆维吾尔自治区临床药理学研究所、² 心内科, 乌鲁木齐 830001

作者简介: 王婷婷,女,硕士,主管药师;

孙力,女,硕士,主任药师,责任作者, E-mail: 1161553769

@qq.com

严重创伤或重大手术患者; ④ 合并肝、肾和造血系统等原发性疾病患者; ⑤ 孕妇或哺乳期妇女、酗酒或药物滥用者、恶性肿瘤、精神病患者等; ⑥ 继发性血脂异常者。

1.2 方法

1.2.1 样本的收集 取外周静脉血 2 ml 置于 ED-TA 抗凝管中, 1~2 h 内送检备用。

1.2.2 仪器与试剂 TL998A 型荧光检测仪(西安天隆科技有限公司); 荧光染色原位杂交及染色体核型分析系统(北京华夏时代基因科技发展有限公司); XW-3 微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器有限公司); Centrifuge 5430R 低温离心机(德国 Eppendorf 公司); 血液样本预处理溶液、核酸纯化试剂、测序反应试剂盒(北京华夏时代基因科技发展有限公司)。

1.2.3 检测方法 精密量取灭菌注射用水 900 μl 与预处理溶液 100 μl 混合于 1.5 ml 离心管中, 加入 EDTA 抗凝管中全血标本 200 μl, 涡旋混合, 静置 5 min 后, 以 3 500 r/min 离心 5 min, 去上清液, 保留底部富集的白细胞沉淀; 加入核酸纯化试剂 50 μl, 反复吹打混匀, 室温静置 20~40 min, 获得白细胞混悬液; 吸取上述白细胞混悬液 2.0 μl 分别加至 ABCB1 C3435T 与 T2677G 位点测序反应试剂中, 充分混匀, 置于荧光检测仪中, 采用荧光原位杂交技术进行检测, 经荧光染色原位杂交及染色体核型分析系统直接读取基因分型结果。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行分析, 用 Hardy-Weinberg 平衡检验样本的群体代表性, 基因型频率和等位基因频率采用基因计数法计算, 计数资料以百分率(%)表示, 各组间基因型频率和等

位基因频率的比较用 Fisher 精确检验及 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡检验 维吾尔族、汉族及回族血脂异常患者 ABCB1 C3435T 与 T2677G 基因型频率和等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律($P > 0.05$), 说明本研究研究对象具有群体代表性。

2.2 ABCB1 C3435T 基因在新疆维吾尔族、汉族及回族血脂异常患者中的分布 3 个民族血脂异常患者 ABCB1 C3435T 基因型频率及等位基因频率差异有统计学意义($P < 0.05$), 其中维吾尔族与汉族血脂异常患者 ABCB1 C3435T 基因型频率及等位基因频率差异有统计学意义($P < 0.05$), 维吾尔族与回族血脂异常患者 ABCB1 C3435T 等位基因频率差异有统计学意义($P < 0.05$), 但汉族与回族血脂异常患者 ABCB1 C3435T 基因型频率及等位基因频率差异无统计学意义, 见表 1。

2.3 ABCB1 T2677G 基因在新疆维吾尔族、汉族及回族血脂异常患者中的分布 3 个民族血脂异常患者 ABCB1 T2677G 基因型频率差异有统计学意义($P < 0.05$), 等位基因频率差异无统计学意义。其中维吾尔族与汉族血脂异常患者 ABCB1 T2677G 基因型频率差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

3 讨论

近年来, 心脑血管疾病的发病率和病死率呈现逐年上升的趋势。大量的流行病学调查^[9-10]显示血脂异常是多种心脑血管疾病重要的危险因素。血

表 1 汉族、维吾尔族血脂异常患者 ABCB1 C3435T 基因型、等位基因频数和频率分布比较 [n (%)]

民族	n	ABCB1 C3435T 基因型			χ^2 值	P 值	等位基因		χ^2 值	P 值
		CC	CT	TT			C	T		
维吾尔族	311	74(23.8)	161(51.8)	76(24.4)			309(49.7)	313(50.3)		
汉族	409	136(33.2)*	208(50.9)*	65(15.9)*	13.724	0.008	480(58.7)*	338(41.3)*	12.821	0.002
回族	53	20(37.7)	24(45.3)	9(17.0)			64(60.4)*	42(39.6)*		

与维吾尔族比较: * $P < 0.05$

表 2 汉族、维吾尔族血脂异常患者 ABCB1 T2677G 基因型、等位基因频数和频率分布比较 [n (%)]

民族	n	ABCB1 T2677G 基因型			χ^2 值	P 值	等位基因		χ^2 值	P 值
		GG	GT	TT			G	T		
维吾尔族	311	79(25.4)	150(48.2)	82(26.4)			308(49.5)	314(50.5)		
汉族	409	123(30.1)*	155(37.9)*	131(32.0)*	10.139	0.038	401(49.0)	417(51.0)	2.763	0.251
回族	53	19(35.8)	23(43.4)	11(20.8)			61(57.6)	45(42.4)		

与维吾尔族比较: * $P < 0.05$

脂水平不仅与年龄、性别、职业、文化程度、经济条件以及不同地域的人群的生活饮食习惯等诸多环境因素密切相关,还与个体的遗传因素有关。新疆位于祖国西北,地处中亚腹地,是多民族聚居的地区,饮食结构中动物性脂肪、甜食及盐分摄入量较高,其独特的饮食习惯导致新疆维吾尔族成人血脂异常患病率高于全国平均水平^[7]。且新疆维吾尔族人群肥胖的程度较新疆汉族人群的值稍高,高血压的检出率也高于汉族人群,随着体质指数的增加,总胆固醇、低密度脂蛋白异常的检出水平也高于汉族人群^[11-12]。

因新疆血脂异常患者众多,临床上常选用他汀类药物进行调脂治疗,且部分患者为新疆偏远地区农牧民,经济状况较差,因此提高他汀类药物调脂疗效、降低患者用药负担尤为重要。Su et al^[6]通过Meta分析研究发现,他汀类药物降低LDL-C和TC水平疗效与ABCB1 C3435T基因多态性相关,检测ABCB1 C3435T基因型可以对患者使用他汀类药物的疗效起到很好的预测作用^[5]。当ABCB1 T2677G位点等位基因T突变为G时,改变编码蛋白质的氨基酸序列,使丝氨酸变为丙氨酸,对药物的转运及代谢产生影响,因此会影响他汀类药物的疗效。

他汀类药物的调脂疗效具有种族间与个体间差异^[13-14],而基因多态性是造成这种差异的主要原因。本次研究着重分析他汀类药物疗效相关基因ABCB1 C3435T、ABCB1 T2677G在新疆维吾尔族、汉族及回族血脂异常患者中的基因多态性分布特征,结果表明3个民族血脂异常患者ABCB1 C3435T基因型频率及等位基因频率差异有统计学意义($P < 0.05$),其中维吾尔族与汉族血脂异常患者ABCB1 C3435T基因型频率及等位基因频率差异有统计学意义($P < 0.05$),维吾尔族与回族血脂异常患者ABCB1 C3435T等位基因频率差异有统计学意义($P < 0.05$);维吾尔族与汉族血脂异常患者ABCB1 T2677G基因型频率差异有统计学意义($P < 0.05$)。

通过测定血脂异常患者ABCB1 C3435T、ABCB1 T2677G基因型,可以提高患者选择使用他汀类药物的针对性,减轻患者用药负担,指导临床安全、有效地合理用药。新疆维吾尔族与汉族血脂异常患者ABCB1 C3435T基因型频率及等位基因频率具有差异性,维吾尔族与回族血脂异常患者ABCB1 C3435T等位基因频率具有差异性;维吾尔族与汉族血脂异常患者ABCB1 T2677G基因型频率具有差异性。因此,在ABCB1基因与他汀类药物疗效的相关

研究机制中,民族差异是不容忽视的重要因素。为不同民族血脂异常患者调脂治疗提供最佳的个体化治疗方案,使血脂异常临床用药更具针对性、高效性和安全性。

参考文献

- [1] Benjamin E J, Muntner P, Alonso A, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: a report from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2019, 139(10): e56-28.
- [2] 丁文清, 董虹亭, 米杰. 中国儿童青少年血脂异常流行现状 meta 分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2015, 36(1): 71-7.
- [3] 中国成人血脂异常防治指南修订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版) [J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(10): 937-53.
- [4] Choi H Y, Bae K S, Cho S H, et al. Impact of CYP2D6, CYP3A5, CYP2C19, CYP2A6, SLC01B1, ABCB1, and ABCG2 gene polymorphisms on the pharmacokinetics of simvastatin and simvastatin acid [J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2015, 25(12): 595-608.
- [5] Björkhem-Bergman L, Bergström H, Johansson M, et al. Atorvastatin treatment induces uptake and efflux transporters in human liver [J]. *Drug Metab Dispos*, 2013, 41(9): 1610-5.
- [6] Su J, Xu H, Yang J, et al. ABCB1 C3435T polymorphism and the lipid-lowering response in hypercholesterolemic patients on statins: a meta-analysis [J]. *Lipids Health Dis*, 2015, 14: 122.
- [7] 赵力敏, 王燕, 韩莉, 等. 新疆维吾尔族成人血脂流行特点分析 [J]. *医药论坛杂志*, 2014, 4(7): 16-8.
- [8] 中国成人血脂异常防治指南修订联合委员会. 2016版中国成人血脂异常防治指南 [J]. *中国循环杂志*, 2016, 31(10): 937-53.
- [9] Shabana, Shahid S U, Sarwar S. The abnormal lipid profile in obesity and coronary heart disease (CHD) in Pakistani subjects [J]. *Lipids Health Dis*, 2020, 19(1): 73.
- [10] Liu F, Du G L, Song N, et al. Hyperuricemia and its association with adiposity and dyslipidemia in Northwest China: results from cardiovascular risk survey in Xinjiang (CRS 2008-2012) [J]. *Lipids Health Dis*, 2020, 19(1): 58.
- [11] 邓峰, 唐斌, 何芳, 等. 新疆汉、维吾尔族体质指数与高血压及血脂的相关性研究 [J]. *石河子大学学报*, 2009, 27(3): 321-3.
- [12] 哈晓丹, 王翠喆, 李伟, 等. 新疆地区汉族、维吾尔族和哈萨克族脂代谢异常检出率分析 [J]. *石河子大学学报*, 2016, 34(1): 63-8.
- [13] Lee H H, Ho R H. Interindividual and interethnic variability in drug disposition: polymorphisms in organic anion transporting polypeptide 1B1 (OATP1B1; SLC01B1) [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2017, 83(6): 1176-84.
- [14] Agapakis D, Panderi A, Gbandi E, et al. The ABCB1 2677G > T/A polymorphism is associated with baseline blood HDL-cholesterol levels in newly diagnosed hyperlipidemic patients [J]. *Hellenic J Cardiol*, 2018, 59(2): 122-6.

Research of ABCB1 C3435T and ABCB1 T2677G gene polymorphism in patients with dyslipidemia of Xinjiang

Wang Tingting¹, Xu Li², Feng Jie¹, et al

(¹Institute of Clinical Pharmacy of Xinjiang Uygur Autonomous Region;

²Dept of Cardiology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001)

Abstract *Objective* To study the distribution of genotype and allele frequencies of ABCB1 C3435T and ABCB1 T2677G in Uygur, Han and Hui patients with dyslipidemia. *Methods* The ABCB1 C3435T and ABCB1 T2677G genotypes were detected by fluorescence in-situ hybridization in 311 Uygur, 409 Han and 53 Hui patients with dyslipidemia. The genotypes were compared with people of different races and then analyzed the difference in frequencies of genotypes and alleles. *Results* The difference of ABCB1 C3435T genotype frequency and allele frequency of Uighur and Han patients with dyslipidemia was statistically significant ($P < 0.05$), and the difference of ABCB1 C3435T allele frequency of Uighur and Hui patients with dyslipidemia was statistically significant ($P < 0.05$). The difference of ABCB1 T2677G genotype frequency in Uyghur and Han patients with dyslipidemia was statistically significant ($P < 0.05$). *Conclusion* The distribution of ABCB1 gene polymorphism in patients with dyslipidemia in different ethnicities of Xinjiang is different. Ethnic difference is important factors in studying the mechanism of ABCB1 and statin efficacy.

Key words Uygur; Han; Hui; dyslipidemia; ATP-binding cassette transporter B1

(上接第 453 页)

serum creatinine and urea nitrogen. HE staining was used to detect the degree of pathological damage. The contents of iNOS and IL-10 in peripheral blood and kidney tissues were detected by ELISA. The content of SOD and GSH was detected by the kit. Western blot was used to detect the expression levels of Caspase-3, Caspase-9, Bax, Bcl-2, Nrf2, p-Nrf2 and HO-1. *Results* The results showed that, compared with the Control group, the levels of proteinuria, serum creatinine and urea nitrogen in the RIRI group significantly increased ($P < 0.05$), presenting significant renal ischemia-reperfusion injury, the cleaved Caspase-3/Caspase-3, cleaved Caspase-9/Caspase-9, and Bax/Bcl-2 ratios significantly increased ($P < 0.05$), and the levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and interleukin-10 (IL-10) in the peripheral blood and renal tissues significantly increased ($P < 0.05$). The contents of superoxide dismutase (SOD) and glutathione (GSH) significantly reduced ($P < 0.05$), and the p-Nrf2/Nrf2 ratio and HO-1 protein level significantly reduced ($P < 0.05$). Compared with the RIRI group, the levels of proteinuria, serum creatinine and urea nitrogen in the RIRI + icariin 50 and 100mg/kg groups significantly reduced ($P < 0.05$), and the degree of pathological damage was significantly improved. The ratios of cleaved Caspase-3/Caspase-3, cleaved Caspase-9/Caspase-9 and Bax/Bcl-2 significantly reduced ($P < 0.05$), the iNOS content significantly reduced ($P < 0.05$), and the IL-10 content significantly increased ($P < 0.05$). The contents of SOD and GSH significantly increased ($P < 0.05$). The p-Nrf2/Nrf2 ratio and HO-1 protein level significantly increased ($P < 0.05$). *Conclusion* Icariin alleviates renal ischemia reperfusion injury and oxidative stress in rats by mediating Nrf2/HO-1 signaling pathway.

Key words renal ischemia reperfusion; icariin; oxidative stress; Nrf2/HO-1 signaling pathway