

胆固醇酯转运蛋白(CETP) TaqIB 基因多态性与散发性阿尔茨海默病相关性研究

陈卫蓉¹, 肖志杰², 王鹏², 曾候霖¹, 钱红艳¹

(1.湖南省长沙市妇幼保健院,湖南 长沙 410007;2.中南大学湘雅二医院神经内科,湖南 长沙 410011)

【摘要】 目的:研究散发性阿尔茨海默病(sporadic Alzheimer's disease, SAD)患者和正常老年人之间血清脂质水平、认知功能的差异;探讨胆固醇酯转运蛋白(CETP)-TaqIB 基因多态性与 SAD 的关系及其对认知功能的影响。方法:对 100 例散发性阿尔茨海默病患者和 102 例健康对照者进行简易精神状态量表(MMSE)、Hachinski 缺血指数量表(HIS)评分,其中 49 例轻-中度 AD 患者、61 例健康对照者接受韦氏记忆量表(WMS)及威斯康辛卡片分类测验(WCST)的测量;采用氯仿法抽提外周血白细胞基因组 DNA、多聚酶链式反应和限制性片段长度多态性法(PCR-RFLP)测定 CETP-TaqIB 基因型。结果:AD 组血清胆固醇水平高于对照组($P<0.05$);AD 组中 CETP-TaqIB 三种基因型频率分别为 B1B1 35%、B1B2 48%、B2B2 17%,CETP-TaqIB 基因型和等位基因频率分布在阿尔茨海默病组(AD)与对照组之间无显著性差异($P>0.05$);研究总人群中,CETP-TaqIB 三种基因型的 WMS 各分测验成绩差异无显著性($P>0.05$),而 B2 等位基因携带者长时记忆评分高于 B1B1 纯合子($P<0.05$);B1B1、B1B2 和 B2B2 基因型的 WCST 中完成分类数呈下降趋势,持续性反应呈上升趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:CETP-TaqIB 基因多态性与阿尔茨海默病无关,CETP-TaqIB 基因多态性可能与老年人长时记忆功能差异有关。

【关键词】 阿尔茨海默病; CETP-TaqIB; 胆固醇; 认知功能

中图分类号: R395.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-3611(2012)05-0619-04

Relationship Between Cholesteryl Ester Transfer Protein(CETP)-TaqIB Gene Polymorphism and Sporadic Alzheimer's Disease

CHEN Wei-rong, XIAO Zhi-jie, WANG Peng, ZENG Hou-lin, QIAN Hong-yan

Changsha Maternity and Child Care Centers, Changsha 410011, China

【Abstract】 Objective: To explore the difference in the cognition function and the level of blood profile between Alzheimer's disease patients and healthy aged controls. To investigate the association between the cholesteryl ester transfer protein (CETP) TaqIB polymorphism and Alzheimer's disease, and the patient's cognition function. **Methods:** 100 AD patients and 102 controls were assessed with mini-mental state examination(MMSE) and Hachinski ischemic score(HIS); at the same time, 49 mild-to-moderate patients with AD and 61 healthy controls were assessed with Wechsler Memory Scale (WMS) and Wisconsin card sorting test(WCST). Polymerase chain reaction-restricted fragments length polymorphism(PCR-RFLP) was used to determine CETP-TaqIB gene polymorphism. **Results:** The CETP-TaqIB genotype frequencies of AD patients were B1B1 35%、B1B2 48% and B2B2 17%. There was no significant association in CETP-TaqIB genotype and allele distribution between AD patients and the healthy controls ($P>0.05$). In the study population, there was no significant difference in the score of WMS among CETP-TaqIB B1B1 genotype, B1B2 genotype and B2B2 genotype, but B2 allele gene had higher score than B1B1 genotype($P<0.05$); Complete classification number was gradually reduced among the three genotypes. Sustained response was gradually increased, but there were no obvious differences. **Conclusion:** There was no obvious correlation between CETP-TaqIB gene polymorphism and Alzheimer's disease, CETP-TaqIB polymorphism might be associated with long-term memory in elder people.

【Key words】 Cholesterol; CETP-TaqIB; Alzheimer's disease; Cognition

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是老年人最常见疾病之一,表现为近记忆力下降,持续的认知功能衰退、运动能力丧失伴有人格改变,其主要病理特征为大脑皮质和海马老年斑沉积、神经元神经原纤维缠结和神经元丢失,其中淀粉样肽如 A β 40

和 A β 42 大量聚集构成老年斑核心,目前公认 ApoE ϵ 4 携带者是散发性 AD 的高危人群。胆固醇酯转运蛋白(cholesteryl ester transfer protein, CETP)催化高密度脂蛋白中胆固醇酯与低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白中甘油三酯交换,在胆固醇逆向转运中起到关键作用,有研究表明脑组织中胶质细胞可合成和分泌 CETP,在中枢神经系统脂质转运和再分

【基金项目】 湖南省科技厅计划项目(2009FJ3054)

通信作者:肖志杰

布中发挥作用^[1],而胆固醇能够通过调节分泌酶活性、影响细胞内分泌酶和 APP 转运等方式调控 APP 的处理,促进淀粉样肽形成^[2-4]。因此 CETP-TaqIB 基因多态性可能类似于 ApoEε4,通过调节脑内胆固醇代谢而影响 AD 发病。本研究比较血清胆固醇、高密度脂蛋白水平等在 AD 患者和正常人群之间的差异,观察 CETP-TaqIB 基因多态性在 AD 患者和正常对照人群中分布差异,探讨 CETP-TaqIB 基因多态性与认知功能之间的关系。

1 对象与方法

1.1 对象

病例来源于 2010 年 8 月~2011 年 01 月在湖南省长沙市第三社会福利院住院的散发性阿尔茨海默病患者共 100 例,其中男性 37 例,女性 63 例,平均年龄 77.5 ± 7.3 岁,病程从 1 年到 14 年不等,平均病程为 4.81 ± 2.97 年。均进行临床检查、简易精神状态量表筛查(MMSE),Hachinski 缺血指数量表 ≤ 4 分;汉米顿抑郁量表(17 项版本) < 7 分;并经过至少 1 名神经科医生诊断,符合美国国立神经病学、语言障碍和卒中-老年痴呆和相关疾病学会工作组(NINCDS-ADRAD)的“很可能是 AD”的诊断标准。所有患者无阳性家族史。

正常对照组部分为同期住院健康老年人,部分来源于湘雅二医院体检中心健康体检者共 102 例,男性 42 例,女性 60 例,年龄均大于 55 岁,平均年龄 77.0 ± 6.3 岁。MMSE 得分大于划界值。经详细询问病史及体格检查,排除抑郁、脑血管疾病及其他神经系统疾病;无严重肝肾功能不全、恶性肿瘤、血液病、感染疾病。全部被试均为中国湖南汉族人。

1.2 方法

1.2.1 认知功能测验 采用龚耀先修订^[5]的成人韦氏记忆量表(WMS)甲式选取其中部分项目,对 AD 组和对照组部分被试者进行记忆力测验量化评分。采用刘哲宁改良的威斯康星卡片分类测验(WCST)评估部分被试者的执行功能。

1.2.2 CETP-TaqIB 基因型测定 取静脉血按常规方法提取 DNA, CETP-TaqIB 基因型检测。引物序列^[6]:上游引物:5'-CAC TAG CCC AGA GAG AGG AGT GCC-3';下游引物:5'-CTG AGC CCA GCC GCA CAC TAA C-3'。扩增条件:预变性 94°C 3min,反应循环:变性 94°C 50 秒、退火 58°C 50 秒、延伸 72°C 1 分钟,循环 30 次;最后 72°C 延伸 10 分钟。使用内切酶 TaqI 在 65°C 恒温箱保温 2 小时。采用 2%

琼脂糖凝胶电泳分离酶切产物,凝胶成像系统下观察结果并照相记录。将 B1B1 和 B2B2 型聚合酶链(PCR)产物进行 DNA 测序。由测序图谱可以看出, CETP-TaqIB 的 PCR 产物 DNA 序列 B1B1 型中的碱基 C(图 1 A 中箭头所指)突变为 B2B2 型中的 T(图 1 B 中箭头所指)。

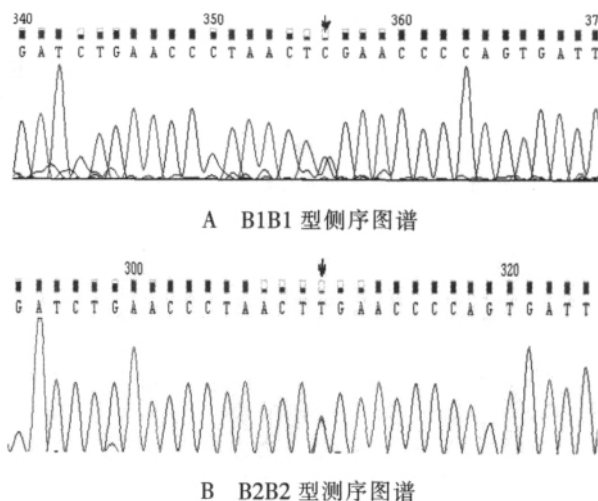


图 1 CETP-TaqIB 的 PCR 产物测序图谱

1.2.3 血脂测定 采集空腹静脉测定血清甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、空腹血糖(FPG)、载脂蛋白 A1(ApoA-1)、载脂蛋白 B(ApoB)及肝肾功能指标。

2 结果

2.1 阿尔茨海默病组与对照组的一般资料比较

阿尔茨海默病组与对照组在年龄、性别构成差异无显著($P > 0.05$),病例组中具有高脂血症的患者明显多于对照组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组组间一般临床资料比较

一般情况	对照组 (n=102)	病例组 (n=100)	P 值
年龄(岁)	77.0 ± 6.3	77.5 ± 7.3	0.635
性别(男/女)	42/60	37/63	0.567
SBP(mmHg)	134.1 ± 19.3	138.5 ± 20.1	0.122
DBP(mmHg)	76.0 ± 9.9	79.3 ± 8.8	0.130
高血压病史/%	23/22.5%	29/29%	0.360
糖尿病史/%	18/17.6%	18/18%	1.000
高脂血症史/%	20/19.6%	41/41%	0.001**
冠心病史/%	13/12.7%	22/22%	1.000
吸烟史/%	33/32.4%	28/28%	0.542
饮酒史/%	14/13.7%	9/9%	0.383

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,下同。

2.2 阿尔茨海默病组与对照组生化指标比较

病例组中胆固醇水平较对照组明显升高($P <$

0.05);甘油三酯(TG)水平虽高于对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 阿尔茨海默病组与对照组生化指标比较($\bar{x}\pm s$)

生化指标	对照组 (n=102)	病例组 (n=100)	P 值
TG (mmol/L)	1.30±0.71	1.34±0.619	0.655
TC (mmol/L)	4.13±1.10	4.47±0.91	0.019*
HDL-C (mmol/L)	1.15±0.33	1.10±0.37	0.570
LDL-C (mmol/L)	2.40±0.84	2.31±0.69	0.416
ApoA-I(g/L)	1.18±0.22	1.19±0.30	0.670
ApoB(g/L)	0.77±0.24	0.78±0.22	0.868
AST(mmol/L)	22.1±13.79	20.1±6.28	0.073
UA(mmol/L)	306.8±105.6	288.4±110.2	0.306
LogFPG	1.64±0.17	1.59±0.21	0.098

2.3 阿尔茨海默病组与对照组 CETP-TaqIB 基因型分布比较

研究总人群中 CETP-TaqIB 基因型的频率分布:B1B1 型 32.7%、B1B2 型 51%、B2B2 型 16.3%,在病例组和对照组中基因型均以 B1B2 型多见,B1B1 型次之,其中等位基因频率分布以 B1 等位基因为常见基因,B2 等位基因少见。阿尔茨海默病组与对照组 CETP-TaqIB 基因型及等位基因的分布差异无统计学意义($P=0.615$, $P=0.763$)。见表 3。

表 3 病例组与对照组 CETP-TaqIB 基因型分布比较

	总人群	对照组	病例组	P 值
基因型(%)				0.615
B1B1	66(32.7%)	31(30.4%)	35(35%)	
B1B2	103(51.0%)	55(53.9%)	48(48%)	
B2B2	33(16.3%)	16(15.6%)	17(17%)	
基因频率(%)				0.763
B1	235(58.2%)	117(57.4%)	118(59%)	
B2	169(41.8%)	87(42.6%)	82(41%)	

2.4 CETP-TaqIB 基因型与认知功能的关系

按照世界卫生组织《国际疾病分类》第 10 版(ICD-10)痴呆严重程度分级,对 49 例轻度和部分中度 AD 患者施测韦氏记忆量表(WMS)和威斯康星卡片分类测验(WCST)评分;对照组中依自愿原则有 61 例被试者接受上述两量表评分。TaqIB 基因中 B1B1 型、B1B2 型和 B2B2 型三者韦氏记忆量表中各项粗分无统计学差异,记忆商数(MQ)差异亦无统计学意义($P>0.05$);B2 等位基因携带者的长时记忆评分高于 B1B1 纯合子,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4、表 5。

威斯康星卡片分类测验的完成分类数在 B1B1 型、B1B2 型和 B2B2 型个体间得分呈下降趋势(3.14±2.91、2.54±2.17、2.14±2.41),但差异无统计学意义($P>0.05$);持续性反应在 B1B1 型、B1B2 型和 B2B2

型个体间评分呈上升趋势,但差异无统计学意义。进一步比较 B1B1 纯合子个体和 B2 等位基因携带者的威斯康星卡片分类测验成绩,各项成绩间差异未见统计学意义($P>0.05$)。见表 6、表 7。

表 4 CETP-TaqIB 基因型与韦氏记忆量表评分的关系

		B1B1 型	B1B2 型	B2B2 型	P 值
长时记忆	个人经历	3.53±1.84	4.23±1.41	4.14±1.46	0.33
	定向	3.00±2.00	4.13±1.55	3.43±1.81	0.10
	数字顺序	7.82±7.49	11.4±5.63	12.0±6.56	0.15
短时记忆	图片记忆	3.59±3.30	5.13±3.53	4.43±4.12	0.36
	视觉再认	4.41±4.57	4.67±4.18	6.57±5.00	0.53
	视觉再生	4.94±4.63	6.37±4.38	5.14±3.03	0.53
	联想学习	2.41±3.57	3.93±3.52	3.48±3.64	0.35
	理解记忆	4.59±2.29	5.60±2.34	5.57±2.99	0.37
	背数	5.12±4.17	6.43±3.48	7.14±4.22	0.37
记忆商数		47.29±32.50	61.43±29.79	60.43±32.35	0.31

表 5 CETP-TaqIB 基因型中 B2 等位基因与韦氏记忆量表评分的关系

	B1B1 型	B1B2 型+B2B2 型	P 值
长时记忆	14.35 ± 10.60	19.84 ± 7.910	0.039*
短时记忆	19.82 ± 16.97	25.70 ± 15.78	0.220

表 6 CETP-TaqIB 基因型与威斯康星卡片分类测验评分的关系

	B1B1 型	B1B2 型	B2B2 型	P 值
完成分类数	3.14 ± 2.91	2.54 ± 2.17	2.14 ± 2.41	0.48
正确数	25.7 ± 15.88	22.79 ± 11.57	19.57 ± 12.80	0.49
错误数	22.9 ± 15.88	25.20 ± 11.57	28.43 ± 12.80	0.49
持续反应	9.86 ± 11.58	10.83 ± 7.91	12.71 ± 11.77	0.72
持续错误	6.40 ± 4.34	10.83 ± 7.32	9.80 ± 7.82	0.23
非持续错误	17.7 ± 17.90	17.04 ± 13.62	17.95 ± 14.22	0.96

表 7 CETP-TaqIB B2 等位基因与威斯康星卡片分类测验评分的关系

	B1B1 型	B1B2 型+B2B2 型	P 值
完成分类数	3.14 ± 2.91	2.45 ± 2.19	0.482
正确数	25.7 ± 15.88	22.06 ± 11.72	0.490
持续性反应	9.86 ± 11.58	11.26 ± 8.74	0.720
持续错误	6.40 ± 4.34	10.61 ± 7.26	0.227
非持续错误	17.71 ± 17.90	18.00 ± 13.61	0.962

3 讨 论

阿尔茨海默病发病是多基因遗传和环境相互作用的结果,具体病因及发病机制尚不清楚。研究发现 AD 患者存在血脂代谢紊乱,伴随血浆中胆固醇水平升高和高密度脂蛋白水平下降^[7],参与脂质代谢的载脂蛋白 E(ApoE)ε4 已是公认的散发性 AD 危险因素之一。从本研究病例的一般资料看,AD 组具有高脂血症病史和血清总胆固醇水平增高与对照组有显著性差异,与多数研究的结果相一致。

目前针对不同 CETP 基因多态性与 AD 发病关系的研究有数个报道,但得到的结果存在分歧。Arias 等^[8]报道在校正 ApoE4 等位基因影响因素后,

与 II 和 IV 等位基因携带者相比,V 等位基因纯合子者 AD 发病风险增加了 1.67 倍,认为在非 ApoE4 等位基因携带者,CETP-I405V 基因多态性 V 等位基因纯合子可能通过影响中枢胆固醇代谢途径,增加 AD 发病风险。国内陈大伟对 CETP-TaqIB 和 ApoE 基因多态性进行检测后认为,无论是总样本还是进行 ApoE 分型,AD 组和对照组中 TaqIB 基因型和等位基因频率分布无统计学差异^[9]。在本研究中,AD 组与对照组 CETP-TaqIB 基因型和等位基因分布频率比较也无显著性差异。分析其原因:CETP 基因多态性较复杂,TaqIB 基因位点可能与其他位点存在连锁不平衡,共同影响 AD 发生及发展;本研究样本量偏小,调查人群年龄偏大。尚需进一步扩大样本量,应将 CETP 基因其他多态位点及与血脂相关的其他基因纳入研究对象。

Sanders 等^[6]对 CETP-I405V 基因多态性与记忆功能下降之间的关系进行研究,在 1994-2009 年对 593 名 70 岁以上非痴呆老年人跟踪调查其情景记忆、注意力、精神运动速度等认知功能,并检测其 I405V 基因型。结果显示与 I 等位基因纯合子者比较,V 等位基因携带者记忆力下降速度明显缓慢,AD 患病风险亦明显下降。在本研究中,对病例组患者和对照组均进行认知功能测定包括 MMSE、WMS 和 WCST 评分,并同时比较 TaqIB 三种基因型个体间记忆功能差异。发现 B2 等位基因携带者个体长时记忆评分显著高于 B1B1 纯合子个体,说明 CETP-TaqIB 基因中 B2 等位基因与老年人长时记忆功能差异有关。但在短时记忆如定向、视觉再认、理解记忆、背数等差异不显著,提示 CETP-TaqIB 基因多态性与老年人短时记忆功能无明显关系。这可能是参与长时记忆和短时记忆的脑区不完全相同所致。

Swanberg 等发现约 60% 的 AD 患者具有执行功能障碍,神经生物学及神经影像学研究证实,额叶是 AD 患者最易受累的脑区之一^[10]。分析 CETP-TaqIB 不同基因型间个体执行功能是否存在差异,发现本

组老年人中,与 B2 等位基因携带者相比,虽然 B1B1 纯合子个体 WCST 测验中完成分类数较多、持续性反应数少,但两者差异无明显,提示 CETP-TaqIB 基因多态性对老年人执行功能可能无影响。

参 考 文 献

- 1 Rodriguez E, Mateo I, Infante J, et al. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) polymorphism modifies the Alzheimer's disease risk associated with ApoE epsilon4 allele. *J Neurol*, 2006, 253(2): 181-185
- 2 Ehehalt R, Keller P, Haass C, et al. Amyloidogenic processing of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein depends on lipid rafts. *J Cell Biol*, 2006, 160(1): 113-123
- 3 Hur JY, Welander H, Behbahani H, et al. Active β -secretase is localized to detergent-resistant membranes in human brain. *FEBS Journal*, 2008; 275(6):
- 4 Osenkowski P, Ye W, Wang R, et al. Direct and potent regulation of β -secretase by its lipid microenvironment. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(33): 22529-22540
- 5 龚耀先. 修订韦氏记忆量表手册(WMS). 第 2 版. 长沙:湖南医科大学,1989. 10-19
- 6 Sanders AE, Wang C, Kaz M, et al. Association of a functional polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein gene with memory decline and incidence of dementia. *JAMA*, 2010, 303(2): 150-158
- 7 Anstey KJ, Lipnicki DM, Low LF. Cholesterol as a risk factor for dementia and cognitive decline: A systematic review of prospective studies with meta-analysis. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2008, 16(5): 343-354
- 8 Arias-Vásquez A, Isaacs A, Aulchenko YS, et al. The cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene and the risk of Alzheimer's disease. *Neurogenetics*, 2007, 8(3): 189-193
- 9 陈大伟,陈彪,杨静芳,等. 胆固醇酯转运蛋白基因多态性与阿尔茨海默病的关系. *中华神经科杂志*, 2006, 39: 814-817
- 10 Swanberg MM, Tractenberg RE, Mohs R, et al. Executive dysfunction in Alzheimer's disease. *Arch Neurol*, 2004, 61: 556-560

(收稿日期:2012-04-17)

(上接第 602 页)

- 5 Lent RW, Brown SD, Hackett, G. Contextual supports and barriers to career choice: A social cognitive analysis. *Journal of Counseling Psychology*, 2000, 47(1): 36-49
- 6 London M. Leadership development: Paths to self-insight and professional growth. Mahwah, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, Inc, 2001
- 7 Albert KA, Luzzo DA. The role of perceived barriers in career development: A social cognitive perspective. *Journal of*

Counseling and Development, 1999, 77(4): 431-436

- 8 钟宜玲. 大学生工作价值观、生涯阻隔、生涯成熟之相关因素研究. 台南师范学院硕士论文, 2003
- 9 Lipshits-Braziler Y, Tatar M. Perceived career barriers and coping among youth in Israel: Ethnic and gender differences. *Journal of Vocational Behavior*, 2012, 80: 545-554
- 10 吴淑琬. 大学生生涯适应力量表编制及其相关研究. 嘉义大学硕士论文, 2008

(收稿日期:2012-03-19)