

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.15.013

文章编号: 1005-8982(2016)15-0069-07

论著

载脂蛋白 E 基因、TOMM40 基因多态性与海南省百岁老人长寿的关联性

刘正旺¹, 张明¹, 杨华¹, 云美玲², 蔡望伟², 张云霞²

(1. 海南省中医院 心内科, 海南 海口 570102; 2. 海南医学院 生物化学和分子生物学教研室, 海南 海口 571199)

摘要:目的 探讨载脂蛋白 E 基因、线粒体外膜转位酶同工酶 40 的 rs2075650 多态性与海南省百岁老人长寿的关联性。**方法** 用聚合酶链反应法分析百岁老人组($n=259$)和对照组($n=529$)载脂蛋白 E 基因、线粒体外膜转位酶同工酶 40 的 rs2075650 的基因型和等位基因频率。**结果** ①载脂蛋白 E $\epsilon 2\epsilon 3$ 、 $\epsilon 2\epsilon 4$ 基因型频率百岁老人组低于对照组; $\epsilon 2$ 等位基因频率对照组高于百岁老人组。②百岁老人组线粒体外膜转位酶同工酶 40 型频率 AA 基因型频率高于对照组; 等位基因频率分布差异无统计学意义。按载脂蛋白 E 基因分为携带 $\epsilon 4$ 和非携带 $\epsilon 4$ 等位基因进行分层分析: 携带 $\epsilon 4$ 的 AA 基因型频率百岁老人组高于对照组; A 等位基因频率百岁老人组高于对照组。非携带 $\epsilon 4$ 的 GA、AA 基因型频率百岁老人组高于对照组。等位基因 A 在非携带 $\epsilon 4$ 等位基因频率百岁老人组高于对照组。**结论** 载脂蛋白 E 和线粒体外膜转位酶同工酶 40 连锁分析显示, 线粒体外膜转位酶同工酶 40 的 rs2075650 位点 AA 基因型与携带 $\epsilon 4$ 与百岁老人长寿相关。等位基因 A 与携带 $\epsilon 4$ 百岁老人长寿有关。

关键词: 长寿; 载脂蛋白 E 基因; 线粒体外膜转位酶同工酶 40; 基因多态性

中图分类号: R394

文献标识码: A

Relationship of polymorphisms of APOE and TOMM40 genes with longevity of Hainan centenarians

Zheng-wang Liu¹, Ming Zhang¹, Hua Yang¹, Mei-ling Yun², Wang-wei Cai², Yun-xia Zhang²

(1. Cardiovascular Department, Traditional Chinese Medicine Hospital of Hainan Province, Haikou, Hainan 570102, China; 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Hainan Medical College, Haikou, Hainan 571199, China)

Abstract: Objective To study the relationship of polymorphisms of apolipoprotein E (APOE) gene and translocase of outer mitochondrial membrane 40 (TOMM40) gene with longevity of Hainan centenarians. **Methods** Genotype and variation of allele frequencies of APOE gene and TOMM40 gene rs2075650 were analyzed in 259 cases of centenarian group and 529 cases of control group by polymerase chain reaction. **Results** The frequency of APOE $\epsilon 2\epsilon 3$ and $\epsilon 2\epsilon 4$ genotypes in the centenarian group was lower than that of the control group. The $\epsilon 2$ allele frequency of the control group was higher than that of the centenarian group. The frequency of AA genotype of TOMM40 gene in the centenarian group was higher than that of the control group, but there was no statistically significant difference in the allele frequency distribution. Stratification analysis was carried out based on carrying $\epsilon 4$ allele of APOE gene or not. In the people who carried $\epsilon 4$, the frequency of AA genotype of the centenarian group was higher than that of the control group, and the frequency of A allele of the centenarian group was also higher than that of the control group. In the people who did not carry $\epsilon 4$, the frequency of GA and AA genotypes of the control group was lower than that of

收稿日期: 2015-10-21

the centenarian group, and the same with the frequency of A allele. **Conclusions** Linkage analysis of *APOE* and *TOMM40* genes showed that *TOMM40* gene rs2075650 AA genotype and *APOE* ϵ 4 are linked with longevity. Allele A may also be associated with longevity of the centenarians carrying *APOE* ϵ 4.

Keywords: longevity; apolipoprotein E gene; translocase of outer mitochondrial membrane 40 gene; gene polymorphism

目前,长寿的遗传学背景研究是各国的热点。有研究表明,基因对寿命的影响在 60 岁之前表现并不明显,而在 60 岁之后明显,这证明了基因影响人类寿命的论据,而且这种现象在高龄人群中更突出^[1]。其中载脂蛋白 E(Apolipoprotein E, APOE)基因为目前学术界公认的与长寿有关的基因。线粒体外膜转位酶同工酶 40 (the translocase of the mitochondrial outer membrane 40, TOMM40)是一种在线粒体外膜控制各种酶进入线粒体发挥作用的关键通道,对线粒体发挥正常作用有直接影响。其由核基因表达。有研究认为其与阿尔茨海默等慢性病、长寿有关,且和 APOE 基因有连锁可能。

本课题对 259 例海南百岁老人和 529 例健康人 APOE 基因和 TOMM40 基因 rs2075650 多态性进行基因连锁研究,探讨其与长寿的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

百岁老人组 259 例。男性 71 例,女性 188 例;平均年龄(103.32 ± 2.15)岁。纳入标准:严格按照长寿老人年龄界定五步法确定长寿老人^[2],取年龄 ≥ 100 岁的长寿老人作为研究对象。对照组 529 例。男性 145 例,女性 384 例;平均年龄(49.78 ± 6.52)岁。纳入标准:海南地区同一民族没有血缘关系,无长寿家族史,家族中至少 2 代无 90 岁的健康人群,所有对象经调查组逐一核实筛选,验证确切无误者确定为研究对象。根据中华人民共和国国务院《医疗机构管理条例》规定^[3],本研究经本院伦理委员会伦理审核通过,在实验前将实验方案和风险告知受试者及家属,所有受试者或亲属签署了知情同意书。

1.2 材料与试剂

DNA Marker I、DNA Marker II、脱氧核糖核苷三磷酸(deoxy-ribonucleotide triphosphate, dNTP)、Taq 酶、琼脂糖、DNA 提取试剂盒等购自 Tiangen 公司,引物合成由上海生物技术有限公司完成。

1.3 仪器与设备

电泳仪(JY600C,上海京工实业有限公司),微

量移液器(德国 Eppendorf 公司),高速台式离心机(H1650-W,湖南平凡仪器仪表有限公司),分析天平(上海升隆电子科技有限公司),超微量核酸蛋白测定仪(Nanodrop 2000/2000C,美国 Thermo 公司),聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪(德国 Biometra 公司),凝胶成像分析系统(Gel Doc 2000,美国 Bio-Rad 公司),微波炉(MM721AAU-PW,中国美的公司),水浴箱(HH-W420,上海双旭电子有限公司),通风橱(北京欧世佳实验室家具有限公司),摇匀器(WH-986,上海双旭电子有限公司)。

1.4 试验方法

1.4.1 DNA 的提取 所有入组者取 5 ml 静脉血,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,置入 -80°C 冰箱冷冻保存,标本收集完成后,用改良酚-氯仿法^[4]提取 DNA,低温下备用。

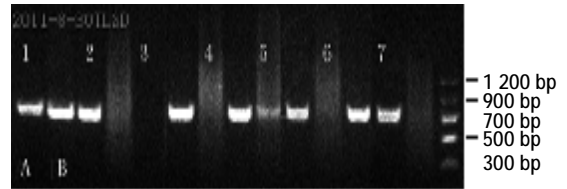
1.4.2 PCR 扩增 APOE 基因片段 APOE 基因引物一参照文献[5],N1:5'-ATGCCGATGACCTGCAGATT-3';N2:5'-ATGCCGATGACCTGCAGAAATC-3';N3:5'-CGCGGACATGGAGGACGTTT-3';N4:5'-CGCGGACATGGAGGACGTTT-3';N5:5'-GTTTCAGTATTGTCGCTGGGCA-3'。反应体系:总体积 $25\mu\text{l}$, $10\times$ PCR Buffer $2.5\mu\text{l}$, 10mmol dNTP $2.5\mu\text{l}$, N1/N2 $1\mu\text{l}$, N3/N4 $1\mu\text{l}$, N5 $1\mu\text{l}$, 模板 DNA $5\mu\text{l}$, TaqDNA 聚合酶 $1\mu\text{l}$, ddH₂O $11\mu\text{l}$ 。分 A、B 管进行 PCR 扩增, A 管引物为 N1、N3、N5, B 管为 N2、N4、N5。94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 7 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 55 s, 59 $^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 共循环 30 次, 72 $^{\circ}\text{C}$ 再延伸 7 min。取 $5\mu\text{l}$ PCR 反应产物与 $1\mu\text{l}$ 的 $6\times$ 加样缓冲液混匀后,加样于 $0.5\times$ Tris-硼酸缓冲液(以下简称 TBE 缓冲液)配制的含溴化乙锭 1.7% 的琼脂糖凝胶中,在 $0.5\times$ TBE 缓冲液以 90 V 电压电泳约 30 min,紫外灯下观察扩增结果并照相。见图 1。

采用 Oligo 6.0 软件设计 APOE 基因引物:P1 为 5'-TCCAAGGAGCTGCAGGCGGCG-3';P2:5'-CCCGGCCTGGTACTACTGCCAGG-3'。取 100 份标本用 P1/P2 引物扩增 APOE 基因目的条带。反应体系 $10\times$ PCR Buffer $2.5\mu\text{l}$, 10mmol dNTP $2.5\mu\text{l}$, P1/P2 各

1 μl, 模版 DNA 1 μl, Taq 聚合酶 1 μl, 双蒸水 16 μl, 总体积 25 μl。PCR 反应条件:94℃预变性 7 min, 94℃变性 55 s, 59℃退火 45 s, 72℃延伸 1 min, 共循环 30 次, 72℃再延伸 10 min。PCR 产物经琼脂糖电泳证实为特异性条带, 经超微量核酸蛋白测定仪检测质量在 60 ng/μl 以上, OD260/280 在(1.91 ± 0.06) 之间。每份标本各取 80 μl 由北京 TIANGEN 公司测序, 基因型与多重 PCR 所得出的结果吻合, 提示多重 PCR 结果可靠, 可以作为本次实验 APOE 分型使用。见图 2。

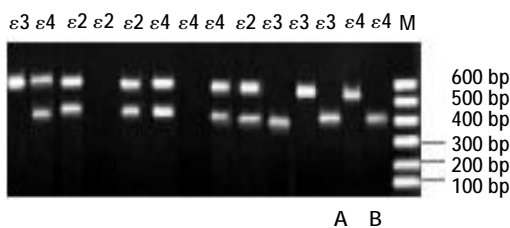
1.4.3 PCR 扩增 TOMM40 基因片段 采用 Oligo 6.0 软件设计 TOMM40 基因引物:R1 为 5'-GAGAAG AGAAACGCTGTCACACTCCACT-3';R2:5'-GAGAAG AGAAACGCTGTCACACTCCACC-3';R3:5'-GCACA TTCGAGGAGTGCCACCGGAAGT-3'。反应体系:10× PCR Buffer 10 μl, 10 mmol dNTP 2.5 μl, Primer R1/R2 1 μl, Primer R3 1 μl, 模板 DNA 1 μl, Taq DNA 酶 1 μl, ddH₂O 17.5 μl, 总体积 25 μl。PCR 反应条件:94℃预变性 7 min, 94℃变性 55 s, 59℃退火 45 s, 72℃延伸 1 min, 共循环 30 次, 72℃再延伸 10 min。A、B 管进行 PCR 扩增, A 管引物 R1/R3, B 管引物 R2/R3 取 5 μl PCR 反应产物与 1 μl 的 6× 加样缓冲液混匀后, 加样于 0.5× TBE 缓冲液配制的含溴化乙锭 1.7% 的琼脂糖凝胶中, 在 0.5× TBE 缓冲液以 90 V 电压电泳约 30 min, 紫外灯下观察扩增结果

并照相。PCR 扩增结果按 5% 比例进行复检, 要求复检和初检的符合率达到 100%。见图 3。



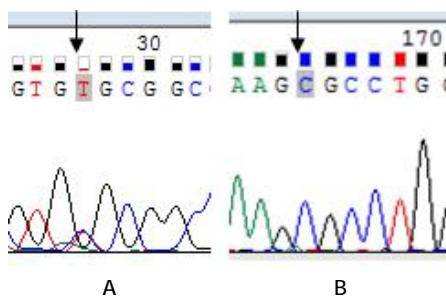
A 管:引物 R1/R3; B 管:引物 R2/R3; 1 和 5 为 GA 基因型; 2 和 7 为 AA 基因型; 3, 4 和 6 为 GG 基因型

图 3 7 份标本 TOMM40 基因 PCR 目的条带



ε3ε3 有重复。A 管引物: N1、N3 和 N5; B 管: N2、N4 和 N5

图 1 PCR 扩增 APOE 的 6 种基因型



A: 112 位氨基酸的 TT 变成 TC; B: 158 位氨基酸的 CC 不变

图 2 ε3ε4 基因型测序结果

1.5 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计软件进行数据分析, Hardy-Weinberg 平衡用拟合优度 χ^2 检验。基因型与等位基因频率均以百分率(%)表示, 组间比较用 χ^2 检验和 Fisher 检验, 同时计算比值比(odds ratio, OR) 和 95% 可信区间(confidence interval, CI), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 APOE 基因多态性

2.1.1 经吻合度检验 对照组 APOE 基因型符合 Hardy-Weinberg 平衡定律 ($\chi^2 < 3.84, P > 0.05$)。见表 1。

2.1.2 APOE 基因各基因型及等位基因分布 经吻合度检验, 百岁老人组、对照组 APOE 基因型符合 Hardy-Weinberg 平衡定律 ($\chi^2 = 1.84, P = 0.062$), 百岁老人组和对照组的基因型分布频率经 χ^2 检验 ($\chi^2 = 5.867, P = 0.042$), 差异有统计学意义, 等位基因分布频率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 20.512, P = 0.003$)。见表 2。

2.1.3 百岁老人组、对照组 APOE 基因与长寿的关联性 百岁老人组、对照组 $\epsilon 2 \epsilon 2$ 、 $\epsilon 4 \epsilon 4$ 、 $\epsilon 3 \epsilon 4$ 基因型频率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而对照组 $\epsilon 2 \epsilon 3$ 、 $\epsilon 2 \epsilon 4$ 基因型频率高于百岁老人组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.2 TOMM40 基因多态性

2.2.1 TOMM40 基因多态性 Hardy-Weinberg 平衡 表 1 百岁老人组和对照组的 APOE 基因型构成比例 (%)

组别	APOE 基因型					
	$\epsilon 2 \epsilon 2$	$\epsilon 3 \epsilon 3$	$\epsilon 4 \epsilon 4$	$\epsilon 2 \epsilon 3$	$\epsilon 2 \epsilon 4$	$\epsilon 3 \epsilon 4$
百岁老人组 (n=259)	10(3.9)	137(52.9)	4(1.5)	48(18.5)	10(3.9)	50(19.3)
对照组 (n=529)	25(4.7)	230(43.5)	9(1.7)	150(28.4)	37(7.0)	78(14.7)

对照组基因型符合 Hardy-Weinberg 平衡,能够代表群体的基因分布。见表 4。

2.2.2 TOMM40 基因各基因型及等位基因分布频率 TOMM40 基因各基因型及等位基因分布中,百岁老人组和对照组的基因型分布频率差异有统计学意义($\chi^2=12.027, P=0.002$),等位基因分布频率差异无统计学意义($\chi^2=2.798, P=0.094$)。见表 5。

2.2.3 TOMM40 基因型、等位基因频率与长寿的相

关性 按是否携带 APOE $\epsilon 4$ 等位基因将百岁老人组和对照组分为携带 $\epsilon 4$ 组与非携带 $\epsilon 4$ 组,对 TOMM40 基因型、等位基因频率与长寿的相关性进行分析。结果表明,非携带 APOE $\epsilon 4$ 等位基因 TOMM40 基因型在百岁老人组和对照组间比较,差异有统计学意义($\chi^2=249.658, P=0.000$)。百岁老人组 GG 型的频率为 53.9%,GA 型的频率为 33.3%,对照组 GG 型的频率为 63.0%,GA 型的频率为 29.6%,

表 2 百岁老人组、对照组 APOE 基因型、等位基因频率分布 例(%)

组别	APOE 基因型						等位基因		
	$\epsilon 2 \epsilon 2$	$\epsilon 3 \epsilon 3$	$\epsilon 4 \epsilon 4$	$\epsilon 2 \epsilon 3$	$\epsilon 2 \epsilon 4$	$\epsilon 3 \epsilon 4$	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$
百岁老人组(n=259)	10(3.9)	137(52.9)	4(1.5)	48(18.5)	10(3.9)	50(19.3)	78(15.1)	372(71.8)	68(13.1)
对照组(n=529)	25(4.7)	230(43.5)	9(1.7)	150(28.4)	37(7.0)	78(14.7)	237(22.4)	688(65.0)	133(12.6)

表 3 百岁老人组、对照组 APOE 基因与长寿的关联性 例(%)

组别	$\epsilon 3 \epsilon 3$	$\epsilon 2 \epsilon 2$	$\epsilon 4 \epsilon 4$	$\epsilon 2 \epsilon 3$	$\epsilon 2 \epsilon 4$	$\epsilon 3 \epsilon 4$	不含 $\epsilon 4$	含 $\epsilon 4$	$\epsilon 3$	$\epsilon 2$	$\epsilon 4$
百岁老人组	137(52.9)	10(3.9)	4(1.5)	48(18.5)	10(3.9)	50(19.3)	195(75.3)	64(24.7)	372(71.8)	78(15.1)	68(13.1)
对照组	230(43.5)	25(4.7)	9(1.7)	150(28.4)	37(7.0)	78(14.7)	405(76.6)	124(23.4)	688(65.0)	237(22.4)	133(12.6)
OR	1	0.672	0.746	0.537	0.454	1.076	1	1.072	1	0.609	0.946
95%CI											
下限		0.313	0.225	0.365	0.219	0.712		0.758		0.459	0.688
上限		1.441	2.469	0.792	0.941	1.627		1.516		0.810	1.300
χ^2 值		1.057	0.232	10.003	4.689	0.121		0.154		11.775	0.119
P 值		0.304	0.630	0.002	0.030	0.728		0.694		0.001	0.73

表 4 TOMM40 基因多态性 Hardy-Weinberg 平衡 例(%)

组别	实际基因型			预期基因型			χ^2 值	P 值
	GG	GA	AA	GA	GG	AA		
百岁老人组	152(58.7)	69(26.6)	38(14.7)	71(27.4)	163(62.9)	25(9.7)	3.095	0.213
对照组	345(65.2)	147(27.8)	37(7.0)	145(27.4)	334(63.1)	50(9.5)	2.134	0.344

两组间比较差异有统计学意义($\hat{OR}=0.172, 95\%CI: 0.165, 0.180, \chi^2=2.028, P=0.028$), 百岁老人组 GG 型的频率低于对照组,GA 型的频率高于对照组。百岁老人组 AA 型的频率为 12.8%, 对照组为 7.4%, 两组比较差异有统计学意义($\hat{OR}=0.018, 95\%CI: 0.015, 0.020, \chi^2=5.884, P=0.000$), 百岁老人组高于对照组。百岁老人组等位基因 G 的频率为 70.5%, 等位基因 A 为 29.5%, 对照组等位基因 G 的频率为 77.8%, 等位基因 A 为 22.2%, 两组间比较差异有统计学意义($\hat{OR}=0.007, 95\%CI: 0.005, 0.008, \chi^2=7.494, P=0.000$)。百岁老人组等位基因 G 型的频率低于对照组, 等位基因 A 高于对照组。见表 6。

携带 APOE $\epsilon 4$ 等位基因 TOMM40 基因型频率 百岁老人组与对照组比较,差异有统计学意义($\chi^2=12.343, P=0.002$)。GA 型与 GG 型比较差异无统计学意义($P=0.010$);AA 型与 GG 型比较, 差异有统计学意义($P=0.007$)。等位基因 A 与 G 比较差异有统

表 5 百岁老人组和对照组 TOMM40 基因型、等位基因频率分布 例(%)

组别	基因型			等位基因	
	GG	GA	AA	G	A
百岁老人组	152(58.7)	69(26.6)	38(14.7)	373(72.0)	145(28.0)
对照组	345(65.2)	147(27.8)	37(7.0)	837(79.1)	221(20.9)

计学意义($P=0.027$)。见表 7。

表 6 非携带 $\epsilon 4$ 等位基因的 TOMM40 基因型、等位基因与长寿的相关性 例(%)

组别	GG	GA	AA	G	A
百岁老人组	105(53.9)	65(33.3)	25(12.8)	275(70.5)	115(29.5)
对照组	255(63.0)	120(29.6)	30(7.4)	630(77.8)	180(22.0)
OR	1	0.172	0.018	1	0.007
95%CI					
下限		0.165	0.015		0.005
上限		0.180	0.020		0.008
χ^2 值		2.028	5.884		7.494
P 值		0.028	0.000		0.000

表 7 携带 $\epsilon 4$ 基因型的 TOMM40 基因型、等位基因与长寿的相关性 例(%)

基因型	GG	GA	AA	G	A
百岁老人组	47(73.4)	4(6.3)	13(20.3)	98(76.6)	30(23.4)
对照组	90(72.6)	27(21.8)	7(5.6)	207(83.5)	41(16.5)
OR	1	0.030	0.010	1	1.584
95%CI					
下限		0.026	0.008		1.053
上限		0.033	0.012		2.384
χ^2 值		5.478	6.963		4.903
P 值		0.010	0.007		0.027

3 讨论

人类基因组计划的研究结果表明,不同个体对疾病和环境有害因素的易感性是由细微的基因差异造成的^[9]。细微的基因差异主要表现在基因多态性上,而单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与疾病及其他生命现象的相关性成为分子生物学及遗传学研究的热点之一。除外显子外,内含子多态性与基因功能的关系也越来越受到人们的关注,其内藏的可读框架可以表达为成熟酶、逆转录酶和核酸内切酶,对基因的表达和调控产生影响^[6]。表观遗传学最新研究表明,核外分子构成一个功能强大的信息缓冲区,内含子被剪切后是该信息缓冲区中的分子来源之一。随着研究的深入,内含子基因多态性与长寿的关系将会得到进一步明确。

APOE 基因位于人类第 19 号染色体长臂 13 区 2 带(19q13.2)上,包含 3 个内含子,4 个外显子。基因的最终产物 299 个氨基酸残基组成成熟蛋白^[7]。其中外显子 4 编码 112 位半胱氨酸和 158 位精氨酸

的 DNA 序列存在多态性,根据这 2 个位点的多态性,可将 APOE 分为 3 种等位基因,即 $\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 和 $\epsilon 4$ 。这 3 种等位基因又可构成 6 种不同的基因型,即 3 种纯合型 ($\epsilon 2/\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4/\epsilon 4$) 和 3 种杂合型 ($\epsilon 3/\epsilon 4$ 、 $\epsilon 2/\epsilon 3$ 、 $\epsilon 2/\epsilon 4$)。

早期研究发现,载脂蛋白 E 与特异的脂蛋白受体作用而改变血循环中胆固醇的水平^[8]。进一步研究发现,APOE 基因与影响人类健康长寿的多种疾病有关,其中与 LOAD 的研究是近几年较多。有研究^[9]发现,APOE $\epsilon 4$ 是患阿尔茨海默病和心血管疾病的高危因素。全基因组相关性研究发现,众多阿尔茨海默病易感基因和等位基因,证实 APOE 基因和阿尔茨海默病易感性有关^[10-11]。APOE $\epsilon 4$ 等位基因携带者阿尔茨海默病发病较早且存在更为广泛的弥漫性老年斑,这与 APOE $\epsilon 4$ 等位基因数目有关。APOE $\epsilon 2$ 等位基因则导致阿尔茨海默病发病风险下降和病理严重程度的减轻。SERIPA 等^[12]对意大利 86 例诊断为痴呆渐进性失语的患者和 99 例健康人作比较分析,发现 APOE $\epsilon 3 \epsilon 4$ 、 $\epsilon 4 \epsilon 4$ 基因型与痴呆,尤其原发性失语显著相关($P < 0.01$)。糖尿病合并外周动脉粥样硬化的患者如果携带 $\epsilon 4$ 等位基因更易出现认知上的障碍^[13]。胡才友等^[14]研究表明,广西巴马地区老人 APOE 基因多态性与其认知功能改变相关,认为 APOE $\epsilon 4$ 等位基因是长寿老人认知功能障碍发病的危险因子。

JACOBSEN 等^[15]对丹麦百岁老人进行分析,认为 APOE $\epsilon 4$ 等位基因与百岁老人的生存期有很大联系。携带 $\epsilon 4$ 等位基因者心血管疾病发生率高,寿命明显缩短,非携带 $\epsilon 4$ 等位基因者,生存期延长。MATERA^[16]对 2 124 例老人进行 APOE 基因分析和 5 年的生命质量追踪随访,发现女性 $\epsilon 2 \epsilon 2$ 基因型差异明显($P < 0.01$),女性老人 $\epsilon 2 \epsilon 2$ 基因型频率明显增多。APOE $\epsilon 4$ 等位基因与其中观察的 671 例老人死亡有关。相反,APOE $\epsilon 2$ 等位基因降低总死亡率。MCKAY 等^[17]通过对 10 623 例欧洲老年性黄斑变性患者和对照组 10 年的观察,得出结论——APOE $\epsilon 4$ 等位基因对寿命是不利的尤其是 APOE $\epsilon 4 \epsilon 4$ 基因型。随着年龄增加,检测 APOE 基因显示 $\epsilon 4 \epsilon 4$ 基因型明显减少,各个基因型无性别差异,这与 MATERA^[16]的研究结论不同。我国广西巴马地区、新疆长寿老人 APOE 基因多态性与长寿现象的关联研究发现,APOE 基因多态性与长寿相关^[18-19],长寿相关基因为 APOE $\epsilon 2/\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 基

因型。

笔者在该实验研究中发现,海南百岁老人组显示 $\epsilon 3 \epsilon 3$ 基因型与百岁老人长寿有关联,但与 $\epsilon 2 / \epsilon 2$ 基因型不相关。

TOMM40 是一种在线粒体外膜控制各种酶进入线粒体发挥作用的关键通道,对线粒体发挥正常作用有直接影响。其由核基因表达。*TOMM40* 基因位于染色体上位于 19 号染色体 45312338-45422606 区域,包含 10 个外显子和 9 个内含子。在第 2 内含子基因位点 45395619(rs2075650)存在 G/A 多态性。

DEELEN 等^[20]通过对欧洲多个研究中心的荟萃分析发现,rs2075650 与长寿有关,主要表现在:与 *APOE* 连锁分析时,发现 *TOMM40* 的 AA 基因型与 *APOE* 的 $\epsilon 4$ 相关。MARSZAK 等^[21]通过对 414 例 LOAD 患者、173 位百岁老人、305 位其他神经系统疾病的患者的 *TOMM40* 和 *APOE* 基因进行关联性分析认为,*TOMM40* AA 基因型在迟发型阿尔茨海默病中更有意义。POTKIN 等^[22]在对 381 例临床诊断阿尔茨海默病患者进行全基因关联性分析发现,*TOMM40* 基因的 rs2075650 多态性位点检测率高出正常对照组 2 倍,认为其能用来预测 AD 的发生。ELCOROARISTIZABAL 等^[23]对 90 岁以上老人 SNP 位点进行分析,认为 AD 与 *TOMM40* 基因和 *APOE* 基因多态性有关联性。*TOMM40* 基因与阿尔茨海默病易感性之间的联系可能由于该基因与 *APOE* 连锁失衡所致^[24-26]。

笔者对 *TOMM40* 基因的研究发现,百岁老人 AA 分布频率高于对照组;等位基因 A 频率在百岁老人组明显高于对照组。对 *APOE* 基因和 rs2075650 连锁分析发现,*APOE* $\epsilon 4$ 携带者中 AA 基因型与百岁老人长寿有关。A 等位基因与百岁老人长寿有关。这与 DEELEN 等^[19-20,24-25]的报道一致。提示 *APOE* 基因与 *TOMM40* 基因连锁对长寿产生影响,尤其在 *APOE* $\epsilon 4$ 携带者中差异有统计学意义($P < 0.01$),提示其可能对 $\epsilon 4$ 等位基因表达蛋白质的功能产生积极效应,限制 $\epsilon 4$ 对机体的损害,具体机制有待深入研究。

参 考 文 献:

- [1] FORNEY K, DOBRIBAN E, GARAGNANI P, et al. Genome-wide scan informed by age-related disease identifies loci for exceptional human longevity [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11 (12). DOI: 10.1371/journal.pgen.1005728.
- [2] 国家统计局人口统计司. 中国人口统计年鉴[R]. 北京: 中国统计出版社, 1993: 52.
- [3] 中华人民共和国国务院. 医疗机构管理条例[Z]. 1994.
- [4] 刘正旺, 云美玲, 钟江华, 等. 提取陈旧血标本中 DNA 的三种方法比较[J]. *中国热带医学*, 2012, 12(3): 321-323.
- [5] WANG E. MicroRNA, the putative molecular control for midlife decline[J]. *Ageing Res Rev*, 2007, 6(1): 1-11.
- [6] FICHOY Y, GEHANNIN P, CORRE M, et al. Extensive functional analyses of RHD splice site variants: Insights into the potential role of splicing in the physiology of Rh[J]. *Transfusion*, 2015, 55(6 Pt 2): 1432-1443.
- [7] HAYASHI T, KAMADA H, JIN G, et al. Different expression of low density lipoprotein receptor and APOE between young adult and old ratbrains after ischemia[J]. *Neurol Res*, 2006, 28(8): 822-825.
- [8] ACAR ÇINLETI B, YARDIMCI N, AYTÜRK Z, et al. The effects and interactions of APOE and APH-1A polymorphisms in Alzheimer disease[J]. *Turk J Med Sci*, 2015, 45(5): 1098-1105.
- [9] LABATROBERT J, ROBERT L. Longevity and aging. Role of free radicals and xanthine oxidase. A review [J]. *Pathol Biol*, 2014, 62(2): 61-66.
- [10] BERTRAM L. Alzheimer's disease genetics current status and future perspectives[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2009, 8(4): 167-184.
- [11] BERTRAM L, TANZI R E. Genome-wide association studies in Alzheimer's disease[J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(2): 137-145.
- [12] SERIPA D, BIZZARRO A, PANZA F, et al. The APOE gene locus in frontotemporal dementia and primary progressive aphasia[J]. *Arch Neurol*, 2011, 68(5): 622-628.
- [13] SAVINOVA O V, FILLAUS K, HARRIS W S, et al. Effects of niacin and omega-3 fatty acids on the apolipoproteins in overweight patients with elevated triglycerides and reduced HDL cholesterol[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 240(2): 520-525.
- [14] 胡才友, 杨泽, 郑陈光, 等. 广西巴马地区老人 APOE 基因多态性与认知功能的关系[J]. *中国心理卫生杂志*, 2005, 19(6): 383-386.
- [15] JACOBSEN R, JACOBSEN R, MARTINUSSEN T, et al. Increased effect of the APOE gene on survival at advanced age in healthy and long-lived Danes: two nation wide cohort studies [J]. *Ageing Cell*, 2010, 9(6): 1004-1009.
- [16] MATERA M G, SANCARLO D, PANZA F, et al. Apolipoprotein E-related all-cause mortality in hospitalized elderly patients [J]. *Age (Dordr)*, 2010, 32(3): 411-420.
- [17] MCKAY G J, SILVESTRI G, CHAKRAVARTHY U, et al. Variations in apolipoprotein E frequency with age in a pooled analysis of a large group of older people [J]. *Am J Epidemiol*, 2011, 173(12): 1357-1364.
- [18] 宗小芬, 胡茂林, 唐劲松, 等. 载脂蛋白 E 基因多态性与老年期抑郁症的关联性 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2015, 24(4): 319-322.
- [19] CAPRI M, SANTORO A, GARAGNANI P, et al. Genes of human longevity: an endless quest [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2014, 12(5): 707-717.
- [20] DEELEN J, BEEKMAN M, UH H W, et al. Genome-wide as-

- sociation study identifies a single major locus contributing to survival into old age[J]. *Aging Cell*, 2011, 10(4): 686-698.
- [21] MARUSZAK A, PEŁOŃSKA B, SAFRANOW K, et al. TOMM40 rs10524523 polymorphism's role in late-onset Alzheimer's disease and in longevity[J]. *J Alzheimers Dis*, 2012, 28(2): 309-322.
- [22] POTKIN S G, GUFFANTI G, LAKATOS A, et al. Hippocampal atrophy as a quantitative trait in a genome-wide association study identifying novel susceptibility genes for Alzheimer's disease[J]. *PLoS One*, 2009, 4(8). DOI: 10.1371/journal.pone.0006501.
- [23] ELCOROARISTIZABAL M X, GÓMEZ B F, ARTAZA A I, et al. Genetic profiles of longevity and healthy cognitive aging in nonagenarians from the basque country [J]. *Rev Esp Geriatr Gerontol*, 2011, 46(4): 217-222.
- [24] YU C E, SELTMAN H, PESKIND E R, et al. Comprehensive analysis of APOE and selected proximate markers for late-onset Alzheimer's disease: patterns of linkage disequilibrium and disease marker association[J]. *Genomics*, 2007, 89(6): 655-665.
- [25] LAMBERT J C, HEATH S, EVEN G, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associate associated with Alzheimer's disease[J]. *Nat Genet*, 2009, 41(10): 1094-1099.
- [26] IKEDA T, YAMADA M. Risk factors for Alzheimer's disease[J]. *Brain Nerve*, 2010, 62(7): 679-690.

(申海菊 编辑)