



**POLYMORPHISMS AND MUTATIONS OF APOLIPOPROTEIN B AND
APOLIPOPROTEIN E GENES IN THAI SUBJECTS**

SAIPHON POLDEE

สำนักวิทยบริการ
จาก
ศาสตราจารย์พิเศษ อ. สมศักดิ์

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2000

ISBN 974-663-909-9

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
S157P
2000
C.2

44852 e.2

4037755 SIBC/M : MAJOR : BIOCHEMISTRY ; M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

KEY WORDS : APOLIPOPROTEIN B/ APOLIPOPROTEIN E/ POLYMORPHISMS

SAIPHON POLDEE: POLYMORPHISMS AND MUTATIONS OF APOLIPOPROTEIN B AND APOLIPOPROTEIN E GENE IN THAI SUBJECTS. THESIS ADVISORS: ATIP LIKIDLILID M.Sc., KLAI-UPSORN PONGRAPEEPORN Ph.D., NEDNAPIS TIRAWANCHAI Ph.D. 183 p. ISBN 974-663-909-9

To study the impact of apolipoprotein B and E polymorphisms and mutations on plasma lipid levels, the 171 subjects were obtained from Dyslipoproteinemia Clinic at Siriraj Hospital. The study of exon 1 in apolipoprotein (apo) B signal peptide insertion (I)/ deletion (D) polymorphism by PCR in 171 Thai population has shown that the allele frequencies of I and D were 0.78 and 0.22, respectively. The Thai population was subdivided into 103 hyperlipidemia, and 68 normolipidemia groups. The D allele frequencies in hyperlipidemia (I=0.74, D=0.26) was significantly higher than that in normalipidemia (I=0.83, D =0.17) ($p < 0.05$). Comparison of these allele frequencies with those reported for several other population samples showed that the Caucasian populations were significantly higher in D allele frequencies but similar in Asian populations. To detect point mutation in exon 26 of apo B-100 by PCR-RFLP in Thai population, the Arg3500Gln and Arg3531Cys were not identified in 171 Thai samples. However, the heterozygotes of Arg3611Gln were identified in 2 hyperlipidemic subjects which showed no significant reduction on lipid profiles after treatment with lipid-lowering drugs. The apo E polymorphisms were also studied by PCR-RFLP and found that the apo E2, E3, and E4 allele frequencies were 0.08, 0.80, and 0.12, respectively. Comparison of these allele frequencies between the hyperlipidemia (E2=0.08, E3=0.76, E4=0.16) and normolipidemia (E2=0.08, E3=0.85, E4= 0.07) showed that the E4 allele frequencies were significantly higher by an increase of 86% than that of normolipidemia ($p < 0.05$). We also compared these allele frequencies with those reported for several other population samples. The results showed that there were marked significant differences in Thai and other racial populations, e.g. Finnish, Sudanese, Swedish, Trinidadian and Greenlander ($p < 0.05$). These differences in apo E allele frequencies appeared to be mainly due to differences of an increased E4 allele frequencies in Finnish, Sudanese, and Swedish. The difference of Trinidadian from Thai populations was due to an increase in apo E2 allele frequency (60%) whereas there was a decrease (70%) in the Greenlander population. From the study of the relationship between apo B Ins/Del polymorphism and lipid profiles in plasma, the results showed that significant differences of these polymorphisms and lipid profiles were observed in only ID genotypes of hyperlipidaemia. These significant differences may be due to the influence of exacerbating factors which is particularly strong in old age. However, comparison between before and after treatment with lipid-lowering drugs for 3-5 years showed that II and ID genotypes significantly decreased TC and LDL-C after treatment. ($p < 0.001$). DD genotypes showed no decreased in plasma lipids. The association of apo E polymorphism and plasma lipid profiles showed that the E4 allele was associated with the higher levels of TC and LDL-C ($p < 0.05$) whereas E2 allele was associated with a higher level of TG ($p < 0.001$) as compared with the normal E3. We also compared the effects of lipid-lowering drugs before and after treatment on plasma lipid levels in individuals with various apo E polymorphisms. The results showed that only homozygous E3/E3 significantly reduced TC, LDL-C, and TG after treatment for 3-5 years, (TC, LDL-C; $p < 0.001$; TG; $p < 0.01$). The genotypes containing E4 allele showed significantly decreased TC and LDL-C levels ($p < 0.05$). The genotype containing E2 allele showed no significant differences of lipid levels before and after treatment.

4037755 SIBC/M : สาขาวิชา: ชีวเคมี; วท.ม. (ชีวเคมี)

สายฝน ผลดี : ความหลากหลายและการกลายพันธุ์ของยีน apolipoprotein B และ apolipoprotein E ในคนไทย (POLYMORPHISMS AND MUTATIONS OF APOLIPOPROTEIN B AND APOLIPOPROTEIN E GENE IN THAI SUBJECTS). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : อธิป ลิขิตลิขิต, M.sc., คล้ายอัปสร พงศ์พิพร, Ph.D., เนตรนภิส ธีระวัลย์ชัย, Ph.D. 183 หน้า ISBN 974-663-909-9

จากการศึกษาความหลากหลายของยีน apolipoprotein (apo) B ด้วยวิธี PCR ในคนไทย 171 คน พบว่าความถี่ของยีนใน exon I ชนิด insertion (I) และ deletion (D) เป็น 0.78 และ 0.22 ตามลำดับ และเมื่อแบ่งกลุ่มของคนไทยนี้ตามระดับไขมันพบว่ากลุ่มที่มีไขมันในเลือดปกติจะมี 68 คนและกลุ่มที่มีไขมันในเลือดสูงจะมี 103 คน เมื่อเปรียบเทียบความถี่ของยีนนี้ระหว่างกลุ่มไขมันปกติ ($I=0.83$, $D=0.17$) และกลุ่มไขมันในเลือดสูง ($I=0.74$, $D=0.26$) พบว่ากลุ่มที่มีไขมันสูงจะมี D สูงกว่ากลุ่มไขมันปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบความถี่นี้กับชาติอื่นพบว่า กลุ่มที่เป็น Caucasian เช่น ฟินแลนด์, ฝรั่งเศส, นอร์เวย์ และสหรัฐอเมริกาจะมีความถี่ของยีน D สูงกว่าในประชากรจากประเทศในแถบเอเชียเช่น ไทย, จีน, และอินเดียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สำหรับการศึกษาการกลายพันธุ์ของ ยีน apoB-100 ใน exon 26 ด้วยวิธี PCR-RFLP จะไม่พบการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งกรดอะมิโน Arg3,500Gln และ Arg3,531Cys ในประชากรไทยที่ศึกษา ขณะที่การกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งกรดอะมิโน Arg3,611Gln จะพบ 2 ราย ซึ่งเป็นชนิด heterozygotes และทั้งสองรายพบในกลุ่มไขมันในเลือดสูง การศึกษาความหลากหลายของยีน apo E ด้วยวิธี PCR-RFLP ในประชากรไทย 171 คนพบว่ามี ความถี่ของยีน E2, E3 และ E4 เป็น 0.08, 0.80 และ 0.12 ตามลำดับ เมื่อศึกษาความถี่ของยีนนี้ในกลุ่มที่มีไขมันในเลือดสูงพบว่าความถี่ของยีน $E2=0.08$, $E3=0.76$ และ $E4=0.16$ ส่วนกลุ่มไขมันในเลือดปกติจะมี $E2=0.08$, $E3=0.85$ และ $E4=0.07$ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของทั้งสองกลุ่มโดยใช้ค่า χ^2 ของความถี่แต่ละยีน เทียบกับค่า χ^2 รวม พบว่าความถี่ของยีนชนิด E4 ในกลุ่มที่มีไขมันในเลือดสูงจะสูงกว่า (86%) กลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) จากการเปรียบเทียบความถี่ของยีน apo E ในประชากรไทยกับกลุ่มประชากรของต่างประเทศพบว่า ความถี่ของยีน apo E ในคนไทย แตกต่างจากกลุ่มประชากรในประเทศฟินแลนด์, ซูดาน, สวีเดน, ทริเนแดด และ กรีนแลนด์ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และยังพบว่าในกลุ่มประชากรจากประเทศฟินแลนด์, ซูดาน, และสวีเดนนั้นมีความถี่ของยีน E4 สูงกว่าในคนไทย ในขณะที่ในกลุ่มประชากรจากประเทศทริเนแดด มีความถี่ของยีนของยีน E2 สูงกว่าในประชากรไทย แต่ในชาวกรีนแลนด์กลับพบว่ามีความถี่ของยีน E2 ต่ำกว่าในประชากรไทย จากการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่าง ยีน apoE และระดับไขมันในเลือดในคนไทย 171 คน จะพบความสัมพันธ์เฉพาะยีน ID ในกลุ่มที่มีระดับไขมันสูง แต่เมื่อเปรียบเทียบระดับไขมันในเลือดระหว่างก่อนการรักษาด้วยลดไขมันพร้อมด้วยการควบคุมอาหารกับหลังการรักษา เป็นเวลา 3-5 ปี ในกลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดสูงพบว่ากลุ่มที่มียีน apoE เป็น II และ ID จะมีระดับ TC และ LDL-C ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ในขณะที่กลุ่มที่มียีน apoE เป็น DD ระดับไขมันจะไม่ลดลงแต่ระดับของ HDL-C ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สำหรับความสัมพันธ์ของความถี่ยีน apo E กับระดับไขมัน พบว่าชนิด E4 มีระดับ TC และ LDL-C สูงกว่าชนิด E2 และ E3 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระดับไขมันก่อนและหลังรักษาพบว่า ยีน apoE ชนิด E3/E3 เท่านั้นที่พบว่ามีความถี่ของยีน TC, LDL-C, และ TG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (TC, LDL-C; $p < 0.001$, TG; $p < 0.01$) และยีน apoE ผสมที่มี E4 พบว่ามีระดับ TC และ LDL-C ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ขณะที่ยีน apoE ผสมที่มี E2 ไม่พบความแตกต่างของระดับไขมันก่อนและหลังการรักษา