

# PPAR $\gamma$ 2 基因多态性与散发性阿尔茨海默病相关性研究

何雯 薛素芳 贾建平

**【摘要】目的** 研究过氧化物酶增殖物激活受体 $\gamma$ 2(PPAR $\gamma$ 2)基因 rs1801282 位点单核苷酸 Pro12Ala 多态性(CCA $\rightarrow$ GCA)与散发性阿尔茨海默病发病的相关性。**方法** 采用病例对照研究方法随机采集散发性阿尔茨海默病患者和正常对照者血液 DNA 标本,聚合酶链反应扩增 PPAR $\gamma$ 2 基因外显子 B,直接测序法筛查突变位点;根据聚合酶链反应-限制性片段长度多态性对 310 例中国汉族散发性阿尔茨海默病患者和 289 例正常对照者 PPAR $\gamma$ 2 基因外显子 B 多态性进行分型。**结果** PPAR $\gamma$ 2 基因外显子 B 突变位点筛查发现 rs1801282 位点单核苷酸 Pro12Ala 多态性,两组受试者基因型和等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,差异无统计学意义( $P = 0.647, 0.501$ )。在  $\geq 75$  岁和携带 ApoE $\epsilon$ 4 等位基因的人群中,阿尔茨海默病组患者 Pro/Ala 基因型频率、Ala 等位基因频率均高于对照组,但差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ );经 Logistic 回归模型校正性别、年龄、ApoE $\epsilon$ 4 等位基因携带状态等影响因素后,未发现多态性位点与散发性阿尔茨海默病的发病具有相关性( $OR = 1.100, 95\%CI: 0.580 \sim 2.090; P = 0.767$ )。**结论** 在中国汉族人群中,PPAR $\gamma$ 2 基因 rs1801282 位点单核苷酸 Pro12Ala 多态性可能与散发性阿尔茨海默病的发病无相关性。

**【关键词】** 阿尔茨海默病; 过氧化物酶体增殖物激活受体; 多态性,单核苷酸; 基因型; 等位基因; 病例对照研究

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2010.02.012

**Association study on peroxisome proliferator - activated receptor  $\gamma$  2 gene polymorphism and sporadic Alzheimer's disease** HE Wen, XUE Su-fang, JIA Jian-ping. Department of Neurology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

Corresponding author: JIA Jian-ping (Email: jiaxuanwu@126.com)

**【Abstract】Objective** To study the association between peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  2 (PPAR  $\gamma$  2) gene polymorphism and the onset of sporadic Alzheimer's disease (SAD). **Methods** According to the method of case-control study, DNA blood specimens were randomly collected in SAD patients and controls. Polymerase chain reaction (PCR) was performed to proliferate PPAR $\gamma$ 2 gene exon B, and sequential method was used to scan the mutational site. Polymorphism in exon B of PPAR $\gamma$ 2 gene of 310 SAD patients (AD group) and 289 healthy controls (control group) in Chinese Han population were genotyped by PCR - restriction fragment length polymorphism (RFLP). All subjects were genotyped for apolipoprotein E (ApoE) by the methods previously described. Allelic and genotypic distributions in AD group and control group were compared to study the association between the polymorphism and the risk for SAD by Chi-square test. **Results** Pro12Ala (rs1801282) polymorphism in exon B of PPAR $\gamma$ 2 gene was detected in the Chinese Han population by direct sequencing. The distribution of the genotype and allelic frequencies of rs1801282 all coincided with Hardy-Weinberg equilibrium in SAD patients and controls. There were no significant differences of genotype or allelic frequencies in SAD patients between those in controls ( $P = 0.647, 0.501$ , respectively). Among those  $\geq 75$  years old and ApoE $\epsilon$ 4 allelic gene carrier, the Pro/Ala gene frequency and Ala allelic gene frequency in AD group were all higher than those in control group, but the differences were not significant ( $P > 0.05$ , for all). There was no association between Pro12Ala polymorphism and SAD after gender, age and ApoE adjustment by Logistic regression ( $OR = 1.100, 95\% CI: 0.580-2.090; P = 0.767$ ). **Conclusion** This study does not support the association of Pro12Ala polymorphism with SAD in Chinese Han population.

**【Key words】** Alzheimer disease; Peroxisome proliferator - activated receptors; Polymorphism, single nucleotide; Genotype; Alleles; Case-control studies

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:30830045)

作者单位:100053 北京,首都医科大学宣武医院神经科

通信作者:贾建平(Email:jiaxuanwu@126.com)

阿尔茨海默病(AD)是以进行性痴呆、语言、记忆力、视空间能力、情绪或人格、认知功能等异常为主要表现的神经系统变性疾病。目前对于阿尔茨海默病的发病机制尚未阐明,确定与阿尔茨海默病相关的 4 种基因类型分别为 $\beta$ -淀粉样蛋白前体(APP)基因、早老素-1(PS-1)基因、早老素-2(PS-2)基因和载脂蛋白E(ApoE)基因。前 3 种基因与家族性阿尔茨海默病(FAD)关系密切,ApoE 是目前唯一公认的与散发性阿尔茨海默病(SAD)关系密切的基因,但也只能解释 12%~18% 患者的发病原因<sup>[1]</sup>,因此,可能还存在与阿尔茨海默病相关的其他基因。经研究发现,过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR)可能参与了阿尔茨海默病的相关病理过程,如 $\beta$ 分泌酶[又称淀粉样蛋白前体 $\beta$ 位点剪切酶-1(BACE-1)]的转录、炎性反应、动脉粥样硬化等<sup>[2]</sup>。近年来,有学者将 PPAR $\gamma$  基因作为阿尔茨海默病的候选基因进行研究,国外已有 PPAR $\gamma$  基因多态性与阿尔茨海默病相关性的研究,国内目前尚未见相关报道。为此,我们采用病例对照研究的方法,探讨中国汉族人群 PPAR $\gamma$ 2 基因 rs1801282 位点单核苷酸多态性与散发性阿尔茨海默病发病的相关性。

## 对象与方法

### 一、纳入与排除标准

1. 阿尔茨海默病组 (1)简易智能状态检查量表(MMSE)评分文盲 $\leq 17$ 分,小学 $\leq 20$ 分,中学或以上 $\leq 24$ 分。(2)临床痴呆评价量表(CDR)评分 $\geq 1$ 分。(3)日常生活活动能力问卷(ADL)评分75岁以上 $\geq 25$ 分,75岁以下 $\geq 23$ 分。(4)汉密尔顿抑郁量表(HAMD)评分 $< 8$ 分。(5)Hachinski 缺血评分(HIS) $\leq 4$ 分。(6)阿尔茨海默病诊断标准为美国国立神经病学、语言障碍和卒中研究所-阿尔茨海默病及相关疾病协会(NINCDS-ADRDA)制订的诊断标准中的“很可能阿尔茨海默病(probable AD)”<sup>[3]</sup>。(7)排除其他中枢神经系统和其他系统性疾病导致的痴呆,具备至少一名神经科专家或具有3年以上工作经验的神经科医师的临床诊断证明。(8)无阿尔茨海默病家族史的中国汉族人。(9)患者或其监护人签署知情同意书。

2. 正常对照组 (1)MMSE 评分文盲 $> 17$ 分,小学 $> 20$ 分,中学或以上 $> 24$ 分。(2)CDR 评分为零分,并经门诊体格检查证实身体健康。(3)排除以下疾病:严重心脏、肺、肝脏、肾脏及其他全身性系统

性疾病;精神系统疾病;手术史、外伤史和其他重大疾病史;认知障碍;高血压、糖尿病、焦虑、抑郁等身心疾病;神经系统等疾病。(4)中国汉族人。(5)须签署知情同意书。

### 二、研究对象

1. 阿尔茨海默病组 选择 2000 年 1 月-2006 年 12 月首都医科大学宣武医院、北京市老年病医院,以及北京市 10 余所老人院、河北省秦皇岛市海港区社区及重庆市精神卫生中心符合纳入与排除标准的中国汉族阿尔茨海默病患者共 310 例,男 127 例,女 183 例;年龄 51~93 岁,平均(74.27 $\pm$ 9.61)岁,平均发病年龄(69.07 $\pm$ 8.71)岁。彼此均无血缘关系。

2. 正常对照组 选择 2000 年 1 月-2006 年 12 月首都医科大学宣武医院门诊及河北省秦皇岛市海港区社区退休体格检查健康的中国汉族志愿者共 289 例,男 124 例,女 165 例;年龄 47~84 岁,平均(71.23 $\pm$ 8.58)岁。均无痴呆家族史。

两组受试者性别和年龄比较,差异无统计学意义(均 $P>0.05$ ,表 1),具有可比性。

表 1 阿尔茨海默病组与正常对照组受试者基线特征的比较

组别	样本例数	性别 例(%)		年龄 ( $\bar{x}\pm s$ ,岁)
		男	女	
正常对照组	289	124(42.91)	165(57.09)	71.23 $\pm$ 8.58
阿尔茨海默病组	310	127(40.97)	183(59.03)	74.27 $\pm$ 9.61
$\chi^2$ 或 $t$ 值			0.158	0.842
$P$ 值			0.691	0.397

### 三、研究方法

1. 提取基因组 DNA 于清晨空腹抽取受试者肘静脉血 5 ml,置乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管中,加入 2 倍体积的红细胞裂解液,混匀、静置 20 min;离心半径 85 mm、转速 3000 r/min 离心 10 min,弃上清液;加入白细胞裂解液 3 ml、十二烷基磺酸钠(SDS)200  $\mu$ l 和蛋白酶 K 200  $\mu$ l,55  $^{\circ}$ C 过夜;加入饱和氯化钠 1 ml,振荡器摇匀;离心半径 85 mm、转速 3000 r/min 离心 15 min,吸出上清液,加入 2 倍无水乙醇,轻摇,析出的白色絮状物即为 DNA,筛选 DNA 后加入质量分数为 75%乙醇 1 ml,清洗,55  $^{\circ}$ C 烘干;加入 TE 溶液 500  $\mu$ l 溶解 DNA,获得 DNA 溶液。

2. PPAR $\gamma$ 2 基因目的片段扩增 随机选取 10 例散发性阿尔茨海默病患者和 10 例正常对照者血液

DNA 标本,以基因组 DNA 为模板,聚合酶链反应(PCR)扩增 *PPARγ2* 基因外显子 B(exon B)<sup>[4]</sup>,采用直接测序法筛查突变位点,DNA 测序由北京诺赛基因组研究中心有限公司完成。针对所筛查出的突变位点,采用 Primer Premier 5.0 计算机软件(美国 PREMIER Biosoft International 公司)自行设计引物,由上海生工生物技术有限公司合成,上游引物序列:5'-TCTGGGAGATTCTCCTATTGGC-3';下游引物序列:5'-CTGGAAGACAACACTACAAGAG-3',扩增片段长度为 154 bp。由于 rs1801282 位点本身无酶切位点,于上游引物中引入 G 错配碱基使之有酶切位点。PCR 反应体系:25.00 μl,其中 ddH<sub>2</sub>O 19.25 μl,10×PCR Buffer 2.50 μl(氯化镁 15 mmol/L),基因组 DNA 1.00 μl,dNTP 混合物(50 mmol/L)1.00 μl,TaqDNA 聚合酶(5 U/μl)为 0.25 μl,上、下游引物(10 pmol/μl)各 0.50 μl。PCR 扩增条件:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 15 s,共扩增 30 个循环;终末 72 °C 延伸 10 min。取 1 μl 扩增产物加样于质量分数为 2.00% 琼脂糖凝胶电泳 40 min,紫外光下拍照。

3. *PPARγ2* 基因 rs1801282 位点基因型分析 取 PCR 扩增产物 10 μl,加入 10×Buffer Tango 2 μl,ddH<sub>2</sub>O 17 μl,限制性内切酶 Hha I(深圳中晶生物技术有限公司)1.00 μl,37 °C 反应 10 h。取酶切产物 20.00 μl,以质量分数为 3.00% 琼脂糖凝胶电泳进行分离,Fluchemistry-8900 型凝胶电泳成像系统(美国 Alpha 公司)分析、拍照。由于 *PPARγ2* 基因胞嘧啶-胞嘧啶-腺嘌呤(CCA)→鸟嘌呤-胞嘧啶-腺嘌呤(GCA)变异结合引物引入 G 错配碱基会形成一 Hha I 酶切位点,其 PCR 扩增产物(154 bp)可被 Hha I 酶切产生 2 个基因片段,分别为 132 bp 和 22 bp,故于凝胶电泳成像系统可观察到的 *Pro/Pro* 纯合子(PP)为 154 bp,*Ala/Ala* 纯合子(AA)132 bp 和 22 bp,*Pro/Ala* 杂合子(PA)为 154 bp、132 bp 和 22 bp,共计 3 个基因片段;而 22 bp 在凝胶电泳条带上未显示。同时随机抽取 20 份 PCR 扩增样本,每样本取 20 μl 直接进行 DNA 测序,以验证酶切结果的准确性。

4. *ApoE* 基因多态性分型 对所有标本进行 *ApoE* 基因分型,上下游引物序列设计参考文献[5]方法进行,分别为:5'-AGACGCGGGCACGGCTGTCCAAGGA-3';5'-CCCTCGCGGGCCCCGGCCTGGTACAC-3',扩增 *ApoE* 基因片段长度为 246 bp,经内切酶 Hha I 酶切,

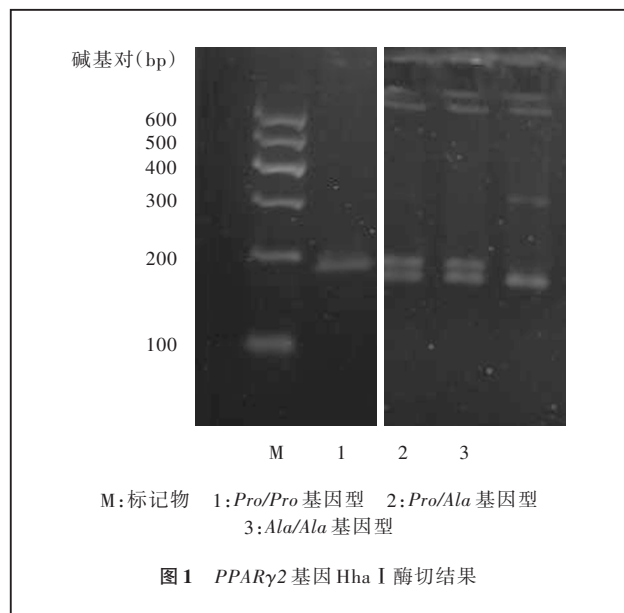
37 °C 水浴过夜,质量分数为 20% 聚丙烯酰胺凝胶电泳(电压 120 V)分离 8 h 消化产物,溴化乙锭(EB)染色,紫外光下拍照、分型。PCR 反应体系:25.00 μl,其中 ddH<sub>2</sub>O 17.45 μl,10×PCR Buffer 2.50 μl,二甲亚砜(DMSO)2.50 μl,基因组 DNA 1.00 μl,dNTP 混合物(50 mmol/L)0.40 μl,TaqRNA 聚合酶(5 U/μl)0.15 μl,上、下游引物(10 pmol/μl)各 0.50 μl。PCR 扩增条件:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,61 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,共扩增 30 个循环;终末 72 °C 延伸 7 min。酶切体系为 20 μl:PCR 扩增产物 6 μl,滴加 10×BufferM 2 μl,ddH<sub>2</sub>O 10 μl,限制性内切酶 Hha I 2 μl,37 °C 反应 8 h。

5. 统计分析方法 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。基因计数法计算两样本组基因型和等位基因频率;Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验样本的群体代表性。计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,行 *t* 检验;计数资料以率(%)或相对数构成比(%)表示,行  $\chi^2$  检验或 Fisher 精确概率法;多因素 Logistic 回归分析校正性别、年龄和 *ApoE* 基因多态性的影响。以  $P \leq 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、*PPARγ2* 基因 rs1801282 位点基因型及等位基因频率分布的比较

根据 *PPARγ2* 基因酶切结果进行基因分型,分别获得 *Pro/Pro* 纯合子型、*Pro/Ala* 杂合子型、*Ala/Ala* 纯合子型 *PPARγ2* 基因(图 1)。两组受试者 *Pro* 和



**表 2** 阿尔茨海默病组与正常对照组受试者 Pro12Ala 基因型及等位基因频率分布的比较 例(%)

组别	样本例数	基因型			等位基因		ApoE 基因分型	
		Pro/Pro	Pro/Ala	Ala/Ala	Pro	Ala	ε2 和 ε3	ε4
正常对照组	289	256(88.58)	32(11.07)	1(0.35)	544(94.12)	34(5.88)	266(92.04)	23(7.96)
阿尔茨海默病组	310	279(90.00)	31(10.00)	0(0.00)	589(95.00)	31(5.00)	188(60.65)	122(39.35)
统计量值		—			0.454		78.654	
P 值		0.647			0.501		0.000	

注: 两组受试者基因型的比较行 Fisher 精确概率法; 等位基因和 ApoE 基因分型的比较行  $\chi^2$  检验

**表 3** 阿尔茨海默病组与正常对照组受试者 Pro12Ala 基因型及等位基因频率分布的比较(根据年龄分层) 例(%)

组别	样本例数	基因型(≥75 岁)			等位基因(≥75 岁)		基因型(<75 岁)		等位基因(<75 岁)	
		Pro/Pro	Pro/Ala	Ala/Ala	Pro	Ala	Pro/Pro	Pro/Ala	Pro	Ala
正常对照组	289	33(89.19)	3(8.11)	1(2.70)	69(93.24)	5(6.76)	223(88.49)	29(11.51)	475(94.25)	29(5.75)
阿尔茨海默病组	310	164(90.11)	18(9.89)	0(0.00)	346(95.05)	18(4.95)	115(89.84)	13(10.16)	243(94.92)	13(5.08)
统计量值		—			0.123		0.158		0.149	
P 值		0.238			0.726		0.691		0.700	

注: ≥75 岁受试者基因型的比较行 Fisher 精确概率法; 其余行  $\chi^2$  检验

**表 4** 阿尔茨海默病组与正常对照组受试者 Pro12Ala 基因型及等位基因频率分布的比较(根据携带 ApoEε4 等位基因分层) 例(%)

组别	样本例数	基因型[ApoEε4(+)]		等位基因[ApoEε4(+)]		基因型[ApoEε4(-)]			等位基因[ApoEε4(-)]	
		Pro/Pro	Pro/Ala	Pro	Ala	Pro/Pro	Pro/Ala	Ala/Ala	Pro	Ala
正常对照组	289	22(95.65)	1(4.35)	45(97.83)	1(2.17)	234(87.97)	31(11.65)	1(0.38)	499(93.80)	33(6.20)
阿尔茨海默病组	310	110(90.16)	12(9.84)	232(95.08)	12(4.92)	169(89.89)	19(10.11)	0(0.00)	357(94.95)	19(5.05)
统计量值		—		0.191		—			0.539	
P 值		0.693		0.662		0.787			0.463	

注: 两组受试者基因型的比较行 Fisher 精确概率法; 等位基因的比较行  $\chi^2$  检验

Ala 等位基因频率分布, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); Pro/Pro 纯合子型、Pro/Ala 杂合子型及 Ala/Ala 纯合子型 3 种基因型频率分布, 差异亦无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。两组受试者 ApoEε4 等位基因频率分布差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ , 表 2), 计算结果显示 Ala 等位基因频率为 5.40%。

## 二、按照年龄和携带 ApoEε4 等位基因分层后基因型及等位基因频率分布的比较

1. 按照年龄分层 以 75 岁为界限分为 ≥75 岁和 <75 岁两个亚组, 以比较两组受试者 PPARγ2 基因 rs1801282 位点基因型及等位基因频率的分布, 结果显示, 无论 ≥75 岁还是 <75 岁, 阿尔茨海默病组与正常对照组受试者之间的基因型及等位基因频率分布, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 表 3)。

2. 按照携带 ApoEε4 等位基因分层 根据是否携带 ApoEε4 等位基因进行分层, 以比较阿尔茨海默病组与正常对照组受试者 PPARγ2 基因 rs1801282

位点基因型及等位基因频率分布情况, 结果显示, 无论是否携带 ApoEε4 等位基因, 阿尔茨海默病组与正常对照组受试者之间的基因型及等位基因频率分布, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 表 4)。

## 三、多因素分析

应用 Logistic 回归分析校正性别、年龄和 ApoE 基因多态性因素对 PPARγ2 基因 rs1801282 位点及阿尔茨海默病发病的影响, 其结果仍显示, PPARγ2 基因 rs1801282 位点多态性与阿尔茨海默病发病无相关性 ( $OR = 1.100, 95\% CI: 0.580 \sim 2.090; P = 0.767$ ); 而 ApoEε4 等位基因与阿尔茨海默病发病呈高度相关 ( $OR = 10.380, 95\% CI: 5.930 \sim 18.161; P = 0.000$ ; 表 5)。

## 讨 论

过氧化物酶增殖物激活受体属于核激素受体, 是配体激活的转录因子, 可调节体内多个脂肪细胞

表 5 阿尔茨海默病相关影响因素的 Logistic 回归分析

变 量	B	SE	Wald $\chi^2$ 值	P 值	粗 OR 值	粗 95%CI	调整 OR 值	调整 95%CI
基因型:Pro/Ala vs Pro/Pro	0.097	0.328	0.088	0.767	0.860	0.510 ~ 1.450	1.100	0.580 ~ 2.090
ApoE 基因分型: $\epsilon 4$ vs $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 2$	2.340	0.285	67.240	0.000	7.510	4.630 ~ 12.170	10.380	5.930 ~ 18.161

注:本组资料的自由度(df)均为 594

特异性基因的转录<sup>[6]</sup>。包括 3 种不同的异构体,分别为 PPAR $\alpha$ 、PPAR $\beta$ (PPAR $\delta$ )和 PPAR $\gamma$ ,其中定位于 3p25 的 PPAR $\gamma$ 是最为重要的亚型。PPAR $\gamma$ 基因含有 4 个启动子,根据 5'端启动子和拼接方式的不同可产生 4 种亚型,即 PPAR $\gamma 1$ 、PPAR $\gamma 2$ 、PPAR $\gamma 3$ 和 PPAR $\gamma 4$ ,其中 PPAR $\gamma 2$ 基因含有一个特殊的外显子 B,它在氨基端形成 28 个氨基酸,进而编码形成 PPAR $\gamma 2$ <sup>[7]</sup>。PPAR $\gamma 2$ 氨基端的 28 个氨基酸残基在鼠、猪、牛和人类具有高度的保守性,表明该区域具有重要功能。PPAR $\gamma 2$ 基因存在多种突变,最常见的是外显子 B 的第 12 位密码子突变(CCA $\rightarrow$ GCA),造成脯氨酸转变为丙氨酸,即 Pro12Ala 多态性<sup>[8]</sup>。Pro12Ala 定位于 PPAR $\gamma 2$ 的氨基端,可引起蛋白质构象发生改变,从而影响 PPAR $\gamma 2$ 转录激活功能。近 10 年来,有大量研究结果显示,Pro12Ala 多态性与糖尿病、胰岛素抵抗、肥胖、肿瘤以及心脏病等疾病相关<sup>[6,9-15]</sup>。

目前研究认为,阿尔茨海默病的关键致病原因即脑组织 $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )过度生成或沉积。A $\beta$ 是由 $\beta$ -淀粉样蛋白前体(APP)经 $\beta$ 和 $\gamma$ 分泌酶依次水解而生成<sup>[16]</sup>,其中 $\beta$ 分泌酶为生成 A $\beta$ 的限速酶。美国的 Sastre 等<sup>[17]</sup>通过实验研究证实,PPAR $\gamma$ 的损耗可以通过增强 BACE-1 基因启动子活性来升高 BACE-1 mRNA 水平,相反,PPAR $\gamma$ 水平升高可于 BACE-1 基因启动子区通过过氧化物酶增殖物激活受体反应元件(PPRE)降低 BACE-1 水平,由此而显著降低 A $\beta$ 表达水平。另有研究表明,布洛芬等非甾体抗炎药(NSAIDs)可显著降低阿尔茨海默病的发病风险,延缓发病时间,这是由于非甾体抗炎药物是 PPAR $\gamma$ 的有效激活剂<sup>[18-21]</sup>。此外,Camacho 等<sup>[22]</sup>的动物实验研究显示,无论是神经元还是非神经元 PPAR $\gamma$ 过度表达或活性增强均可使 A $\beta$ 表达水平显著降低,他们认为,PPAR $\gamma$ 不会影响 A $\beta$ 的产生过程,但是可以诱导快速清除 A $\beta$ 的机制。由此可见,PPAR $\gamma$ 表达水平异常或功能变化可能与阿尔茨海默病的发病存在关联性。

近年来,国外文献相继报道了 Pro12Ala 多态性与阿尔茨海默病之间相关性的研究结果。来自英国和意大利人群的研究提示,PPAR $\gamma 2$ 基因多态性与阿尔茨海默病发病有一定相关性<sup>[23,24]</sup>。为了进一步证实其相关性,在本研究中,我们选择 310 例中国汉族散发性阿尔茨海默病患者及 289 例正常对照者,进行 PPAR $\gamma 2$ 基因 rs1801282 位点 Pro12Ala 多态性与阿尔茨海默病的相关性研究,结果表明,本组受试者 PPAR $\gamma 2$ 基因 rs1801282 位点基因型及等位基因频率分布与以往文献报道相符,Pro/Pro 纯合子型、Pro/Ala 杂合子型和 Ala/Ala 纯合子型 3 种基因型频率及 Pro 和 Ala 等位基因频率在阿尔茨海默病与正常对照者中的分布,差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。按照年龄( $\geq 75$  岁、 $< 75$  岁)和是否携带 ApoE $\epsilon 4$  等位基因进一步对所有研究对象进行分层分析,均未发现 PPAR $\gamma 2$ 基因 rs1801282 位点 Pro12Ala 多态性与阿尔茨海默病发病存在相关性。芬兰和德国的研究获得了与我们相似的结论,同样认为 PPAR $\gamma 2$ 基因 rs1801282 位点 Pro12Ala 多态性与阿尔茨海默病发病风险无相关性<sup>[2,25]</sup>。不同的研究小组得出的结论不尽相同,分析其原因可能与样本量较小、不同种族之间的遗传异质性、基因与环境因素之间的相互关系,以及样本内部年龄等因素的不均一性有关。本研究获得的 Ala 等位基因频率为 5.40%,与国内其他研究所得结果基本一致<sup>[26,27]</sup>,与日本学者报道的 4.20%相近<sup>[28]</sup>。说明本研究所选择的样本代表性良好,但 Ala 等位基因频率较低可能与样本量较小有关。亚洲人种 Ala 等位基因频率显著低于欧美等国的白种人,芬兰为 13.00%,丹麦为 14.00%,美国白种人约 11.00%<sup>[11,29,30]</sup>,提示,PPAR $\gamma 2$ 基因 rs1801282 位点 Pro12Ala 多态性基因型及等位基因频率分布存在种族差异。说明种族差异依然是基因频率分布差异的一项重要因素,因此,在不同的种族中验证基因多态性与疾病的相关性显得尤为重要。

我们的研究结果表明,PPAR $\gamma 2$ 基因 rs1801282

位点 Pro12Ala 多态性与中国汉族人群阿尔茨海默病患病可能无关联性。但是,阿尔茨海默病为一复杂的多基因疾病,对于 PPAR $\gamma$ 2 基因是否与其他基因交互作用而参与阿尔茨海默病的发病,尚需进行大样本及更为深入的研究。

### 参 考 文 献

- [1] Daw EW, Payami H, Nemens EJ, et al. The number of trait loci in late-onset Alzheimer disease. *Am J Hum Genet*, 2000, 66:196-204.
- [2] Koivisto AM, Helisalml S, Pihlajamaki J, et al. Association analysis of peroxisome proliferator - activated receptor gamma polymorphisms and late onset Alzheimer's disease in the Finnish population. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2006, 22(5/6): 449-453.
- [3] 贾建平. 神经病学. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 286-287.
- [4] Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, 1990, 347:645-650.
- [5] Ossowski L, Clunie G, Masucci MT, et al. In vivo paracrine interaction between urokinase and its receptor: effect on tumor cell invasion. *J Cell Biol*, 1991, 115:1107-1112.
- [6] Nuclear Receptor Nomenclature Committee. A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily. *Cell*, 1999, 97:161.
- [7] Meirhaeghe A, Amouyel P. Impact of genetic variation of PPARgamma in humans. *Mol Genet Metab*, 2004, 83(1/2):93-102.
- [8] Yen CJ, Beamer BA, Negri C, et al. Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPARgamma) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPARgamma2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 241:270-274.
- [9] Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, et al. The common PPARgamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*, 2000, 26:76-80.
- [10] Mori H, Ikegami H, Kawaguchi Y, et al. The Pro12 $\rightarrow$ Ala substitution in PPAR - gamma is associated with resistance to development of diabetes in the general population: possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes*, 2001, 50:891-894.
- [11] Buzzetti R, Petrone A, Caiazzo AM, et al. PPAR - gamma2 Pro12Ala variant is associated with greater insulin sensitivity in childhood obesity. *Pediatr Res*, 2005, 57:138-140.
- [12] Valve R, Sivenius K, Miettinen R, et al. Two polymorphisms in the peroxisome proliferators -activated receptor-gamma gene are associated with severe overweight among obese women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, 84:3708-3712.
- [13] Zhao X, Ou Z, Grotta JC, et al. Peroxisome - proliferator - activated receptor - gamma (PPARgamma) activation protects neurons from NMDA excitotoxicity. *Brain Res*, 2006, 1073-1074:460-469.
- [14] Sundararajan S, Jiang Q, Heneka M, et al. PPARgamma as a therapeutic target in central nervous system diseases. *Neurochem Int*, 2006, 49:136-144.
- [15] Luo Y, Yin W, Signore AP, et al. Neuroprotection against focal ischemic brain injury by the peroxisome proliferator-activated receptor - gamma agonist rosiglitazone. *J Neurochem*, 2006, 97: 435-438.
- [16] Neugroschl J, Davis KL. Biological markers in Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2002, 10:660-677.
- [17] Sastre M, Dewachter I, Rossner S, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs repress beta - secretase gene promoter activity by the activation of PPARgamma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103:443-448.
- [18] Lehmann JM, Lenhard JM, Oliver BB, et al. Peroxisome proliferator - activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non - steroidal anti - inflammatory drugs. *J Biol Chem*, 1997, 272:3406-3410.
- [19] in t' Veld BA, Ruitenberg A, Hofman A, et al. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and the risk of Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 2001, 345:1515-1521.
- [20] Sastre M, Dewachter I, Landreth GE, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and peroxisome proliferators activated receptor agonists modulate immunostimulated processing of amyloid precursor protein through regulation of  $\beta$  - secretase. *Neuroscience*, 2003, 23:9796-9804.
- [21] Heneka MT, Sastre M, Dumitrescu - Ozimek L, et al. Acute treatment with the PPARgamma agonist pioglitazone and ibuprofen reduces glial inflammation and Abetal-42 levels in APPV7171 transgenic mice. *Brain*, 2005, 128(Pt 6):1442-1453.
- [22] Camacho IE, Serneels L, Spittaels K, et al. Peroxisome proliferator - activated receptor gamma induces a clearance mechanism for the amyloid- beta peptide. *J Neurosci*, 2004, 24: 10908-10917.
- [23] Hamilton G, Proitsi P, Jehu L, et al. Candidate gene association study of insulin signaling genes and Alzheimer's disease: evidence for SOS2, PCK1, and PPARgamma as susceptibility loci. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2007, 144B:508-516.
- [24] Scacchi R, Pinto A, Gambina G, et al. The peroxisome proliferator - activated receptor gamma (PPAR - gamma2) Pro12Ala polymorphism is associated with higher risk for Alzheimer's disease in octogenarians. *Brain Res*, 2007, 1139:1-5.
- [25] Sauder S, Kölsch H, Lütjohann D, et al. Influence of peroxisome proliferator - activated receptor gamma gene polymorphism on 24S-hydroxycholesterol levels in Alzheimer's patients. *J Neural Transm*, 2005, 112:1381-1389.
- [26] 王国英, 李琼芳, 邓正照, 等. PPAR $\gamma$ 2 基因多态性与 2 型糖尿病相关性研究. *中国糖尿病杂志*, 2002, 10:74-76.
- [27] 牛丹, 白玉杰, 阎小君. PPAR- $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性与 2 型糖尿病的关联性. *第四军医大学学报*, 2004, 25:1506-1509.
- [28] Hara K, Okada T, Tube K, et al. The Pro12Ala polymorphism in PPAR $\gamma$ 2 may confer resistance of type2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 27:212-216.
- [29] EK J, Urhammer SA, Sorensen TI, et al. Homozygosity of the Pro12Ala variant of the peroxisome proliferators - activated receptor - gamma2 (PPARgamma2): divergent modulating effects on body mass index in obese and lean Caucasian men. *Diabetologia*, 1999, 42:892-895.
- [30] Beamer BA, Yen CJ, Andersen RE, et al. Association of the Pro12Ala variant in the peroxisome proliferators - activated receptor - gamma2 gene with obesity in two Caucasian populations. *Diabetes*, 1998, 47:1806-1808.

(收稿日期:2010-02-16)