

长爪沙鼠 ApoE 基因 SNPs 的遗传多态性

刘月环^{1,2}, 王志远¹, 杜江涛¹, 余 强¹, 余陈欢¹, 吴旧生², 应华忠¹

(1. 浙江省医学科学院, 杭州 310013; 2. 浙江大学动物科学学院, 杭州 310029)

【摘要】 目的 评价 ApoE 基因在 Z:ZCLA 长爪沙鼠封闭群中的遗传多样性。方法 利用 PCR-SSCP 技术对前期已筛选到的三个 SNP (single nucleotide polymorphism) 位点在普通环境和生物净化后、屏障环境饲养的两个封闭群共 444 只动物中进行了 ApoE 等位基因的基因频率、基因型频率、杂合度、多态信息量等参数进行了检测与计算。结果 检测结果表明 97、781 和 1774 三个 SNP 位点平均等位基因为 2 个, 遗传方式基本符合孟德尔定律; 期望杂合度分别是 0.063、0.501、0.499, 全群平均为 0.354; PIC 分别是 0.061、0.375、0.374, 全群平均 0.270。结论 ApoE 基因频率和基因型分布可能与长爪沙鼠的长期封闭和选种方式造成一定程度的遗传漂变相关。

【关键词】 长爪沙鼠; 高脂血症; ApoE 基因; SNPs; 遗传多态性

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 04-0013-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.004.004

Evaluation of genetic polymorphisms of ApoE gene in Mongolian gerbils based on single nucleotide polymorphisms

LIU Yue-huan^{1,2}, WANG Zhi-yuan¹, DU Jiang-tao¹, YU Qiang¹, YU Chen-huan¹, WU Jiu-sheng², YING Hua-zhong¹

(1. Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China;

2. College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058)

【Abstract】 Objective To evaluate the genetic diversity of ApoE gene in Z: ZCLA gerbil closed colony. **Methods** PCR-SSCP technique was employed to calculate the gene frequency, genotype frequency, heterozygosity, polymorphism information content of three SNPs of ApoE gene, which were reported in our previous work, in a total of 444 ordinary and clean Mongolian gerbils. **Results** The average allele of 3 SNP site 97, 981 and 1774 was 2. The inheritance pattern was in accordance with Mendel's law. Expected heterozygosities were 0.063, 0.501, and 0.499, and the average expected heterozygosity of whole group was 0.354. PIC were 0.061, 0.375, and 0.374, with an average PIC of 0.270. **Conclusion** The ApoE gene frequency and genotype distribution in Mongolian gerbils may be to a certain degree associated with the genetic drift caused by long-term closed and selected breeding.

【Key words】 Mongolian gerbil; Hyperlipidemia; apolipoprotein E (ApoE) gene; Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

高脂血症及脂肪肝是较常见的疾病,主要是由脂代谢紊乱引起,是导致心脑血管疾病重要的危险

因子之一^[1]。随着人们生活水平的提高及西方饮食文化的渗入,目前该病的发病率在我国发达地区

【基金项目】 浙江省自然科学基金 (Y3080126), 浙江省医药卫生优秀青年人才基金 (2007QN001), 浙江省级公益性技术应用研究计划 (2011C37096), 省医药卫生平台重点研究计划 (2011ZDA002), 浙江省公共科技服务计划项目 (2012F30026)。

【作者简介】 刘月环 (1974 -), 女, 副研究员, 博士, 研究方向: 生物技术与实验动物育种 Email: yuehuanliu@163.com。

【通讯作者】 吴旧生 (1969 -), 男, 副教授, 博士, 研究方向: 实验动物医学, Email: wjosh@zju.edu.cn。

有时高达 50%^[2-3],因此研究该病的发生机制,寻找高效的防治靶点,筛选药物,培育和建立具有自主知识产权的特色动物模型,成为生物医药及实验动物行业一个意义重大的科学课题。

现已知除少数高脂血症(继发性高脂血症)是由于全身性疾病所致外,绝大多数原发性高脂血症是因遗传基因缺陷(或与环境因素相互作用)引起。随着分子生物学技术的发展,发现部分高脂血症患者存在单一或多个基因的缺陷,多具有家族聚集性,有明显的遗传倾向,临床上称为家族性高脂血症:家族性高胆固醇血症,如家族性载脂蛋白 B100 缺陷症;家族性混合型高脂血症;家族性异常 β -脂蛋白血症等^[4]。现有的研究表明,存在一种或数种基因能决定个体是否发生高脂血症。其次,某些基因可能影响个体对高脂血症的易感性。这些基因可能先天遗传获得,也可能是后天与环境因素的相互作用中由基因突变而形成^[5]。最近的研究认为,由于饮食作为一种环境因素与遗传易感性相互作用,在与脂蛋白代谢异常和心血管疾病发生的关键蛋白中,ApoE 的影响最大^[6]。ApoE 蛋白可能对脂蛋白代谢起双向调节作用,其结构变异或 ApoE 基因多态性可能导致脂蛋白代谢异常^[7]。

自上个世纪六十年代以来,国内外学者就高脂饲料诱发的长爪沙鼠高脂血症的研究结果表明,该动物以其成模时间短(只需要四周)、性状典型(与人类高脂血症极为相似)、饲料配方简便(如不需要甲状腺抑制药物)而著称^[8-9]。长爪沙鼠高脂血症的表型与人类较为相似,但遗传基础不清。笔者为弄清该表型的遗传原因,从筛选主基因和单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)标记,培育高脂血症的新品系出发,通过几年的努力,克隆到了沙鼠的 ApoE 基因^[10],探明诱发模型组,正常组及 8 月龄以上自发

型性高脂血症组等三类动物该基因 CDS 区均存在 97 位(C→T),781 位(G→T),1774 位(A→T)等 3 个变异位点,这些突变还导致了蛋白质序列中产生了 11 位(信号肽区)丙氨酸(Ala)到缬氨酸(Val)的突变,65 位亮氨酸(leu)到亮氨酸(leu)的突变,256 位赖氨酸(Lys)到蛋氨酸(Met)的突变。本研究为验证这三个 SNP 在两个级别 Z:ZCLA 封闭群中的分布情况,在对全群遗传概貌进行评价的同时,也评价其作为遗传标记的可行性。

1 材料和方法

1.1 实验动物与试剂

实验用长爪沙鼠由浙江省医学科学院实验动物中心提供并饲养(实验动物使用许可证:SCXK(浙)2008-0034,SYXK(浙)2008-0114,商品化饲料参照 GB14923-2010 生产)。PCR 试剂 rTaq 酶及 marker 全套试剂购自 Takara 公司,PCR 产物送上海华津和上海英俊公司测序,电泳试剂皆国产分析纯。

1.2 引物设计

长爪沙鼠 ApoE 基因的全序列已由笔者获得并注册(EU834053),为了验证这些变异,我们依据覆盖 CDS 区的原则设计了 5 对分段引物(上海生工合成),从 Z:ZCLA 屏障与普通两种环境饲养的两个群体共抽取三个世代总量为 444 只动物,这些动物分别是 3~5 月龄普通环境 142 只(♂ 62 只,♀ 82 只),6 月龄普通环境 32 只(♂ 12 只,♀ 20 只),7 月龄普通环境 27 只(♂ 10 只,♀ 17 只),8 月龄屏障环境 96 只(♂ 81 只,♀ 15 只),12 月龄普通环境 35 只(♂ 20 只,♀ 15 只),14 月龄屏障环境 56 只(♂ 29 只,♀ 27 只),18~26 月龄屏障环境 56 只(♂ 46 只,♀ 10 只),对扩增突变的区域进行 PCR-SSCP 检测,引物序列见表 1。

表 1 筛选 SNP 所用引物表
Tab.1 The primer pairs used to screen the SNP

名称 Name	扩增位置 Site	引物序列 Sequence(5'—3')	扩增长度 Size
P1	92—501	F1:GGTCGCGTTGTTGCGAGGTA; R1:ATAGGACAGAGCTGAGACCA	410
P2	750—1198	F2:AGACGCTGTCTGACCAGGTC R2:AGGGCCTAGACAGAAGGGCC	449
P3	1701—1975	F3:CTGGAGCTGATGGGCAACCA R3:GGGGTGGAGAGGGATCTTCA	275
P4	7—231	F4:CCCCCGAAGGCTAAGGTTTT R4:ATAAAAAAGCTGCTCGGGGC	225
P5	1701—2047	F5:CTGGAGCTGATGGGCAACCA R5:AAGTAAGGGCCACCAGAGGG	347

1.3 PCR-SSCP 反应条件和程序

五对引物的扩增都采用 15 μ L 反应体系,包括: 0.4 μ L DNA 模板,镁离子浓度为 0.9 mmol ((P1); 1.5 mmol (P2, P5); 1.2 mmol (P3, P4), 1.2 μ L dNTPs (10 mmol/mL), 上下游引物各 0.6 μ L (10 mM), 0.075 μ L (5U/ μ L) Taq 酶。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 然后循环 30 次, 每一循环包括: 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 59 $^{\circ}$ C (P1, P2, P4, P5) 或 60 $^{\circ}$ C (P3) 解链 30 s, 然后 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 循环结束后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 最后 4 $^{\circ}$ C 结束反应。扩增后 2.5% 的琼脂糖凝胶 (含 EB 染色液) 电泳观察并拍照。然后用非变性聚丙烯酰胺凝胶 SSCP 检测, 电泳取 5 μ L PCR 产物与 5 μ L 6 $\times$ 变性上样缓冲液 (98% 甲酰胺、0.025% 溴酚蓝、10 mmol/L EDTA (pH8.0), 10% 甘油) 混匀。置 PCR 仪中 95 $^{\circ}$ C 变性 5 min, 迅速放入冰浴中 20 min, 冷却后点样。采用 8% ~ 12% (P1 为 10%, P2 为 8%, P3 - 5 为 12%) 非变性聚丙烯酰胺凝胶 (丙烯酰胺: 甲叉丙烯酰胺 = 99:1), 电泳缓冲液为 0.5 $\times$ TBE, 180 V 电泳 1 h 15 min。电泳结束后, 取下胶标记方向后放在摇床染槽里进行染色。步骤是: 在含 9.6% 的乙醇和 0.5% 的冰醋酸的固定液中固定 10 min, 去离子水清洗 2 min, 0.1% 的硝酸银中染色 10 min, 然后去离子水中清洗 10 min, 在含有 1.5% NaOH 和 0.4% 甲醛的显色液中显色, 直至条带清晰为止, 采用 BIO-RAD 凝胶成像系统照相保存。

1.4 数据统计处理

根据经典的数量遗传学和群体遗传学公式计算如下指标:

等位基因频率 (allele frequency) 与基因型频率

(genotypic frequency)。按 Nei 和 Roychoudhury (1974)^[11] 方法计算位点的杂合度 (heterozygosity,

h) ($h = 1 - \sum_{i=1}^m P_i^2$, $H = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r h_i$, 其中 H 为平均位

点杂合度, P_i 为第 i 个等位基因的频率, r 为 SNP 位点数, m 为等位基因数)。按 Bostein 等 (1980)^[12] 方法计算多态信息量 (polymorphism information

content, PIC) $PIC = 1 - \sum_{i=1}^m P_i^2 - \sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m P_i^2 P_j^2$, $\overline{PIC}$

$= \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r PIC_i$, PIC 为位点平均多态信息量, r 为

SNP 位点数, P_i, P_j 分别为第 i 个、第 j 个等位基因的

频率, m 为等位基因数)。计算有效等位基因数 (effective number of allele, N_e), $N_e = \frac{1}{\sum_{i=1}^m P_i^2}$, $\overline{N_e} =$

$\frac{1}{r} \sum_{i=1}^r N_{ei}$, 其中 P_i 为第 i 个等位基因的频率, N_e 为

平均有效等位基因, r, m 同上。以每个个体纯合位点占总检测座位的比率来计算基因纯合度 (individual gene homogeneity)。

2 结果

2.1 突变基因频率、基因型频率分布

利用 5 对 PCR-SSCP 引物对 ApoE 基因的进行了多态性扫描, 结果显示 P1、P2 和 P5 的 PCR 产物具有多态性, 分别是 97 位 (C $\rightarrow$ T)、781 位 (G $\rightarrow$ T)、1774 位 (A $\rightarrow$ T) (图 1)。其中 P1 发现三种基因型 (CT、CC、TT); P2 发现三种基因型 (GG、GT、TT), P5 只有二种基因型 (AT、AA), 在检测的群体中没有发现 TT 基因型个体。对于 PCR 条带及 SSCP 聚丙烯

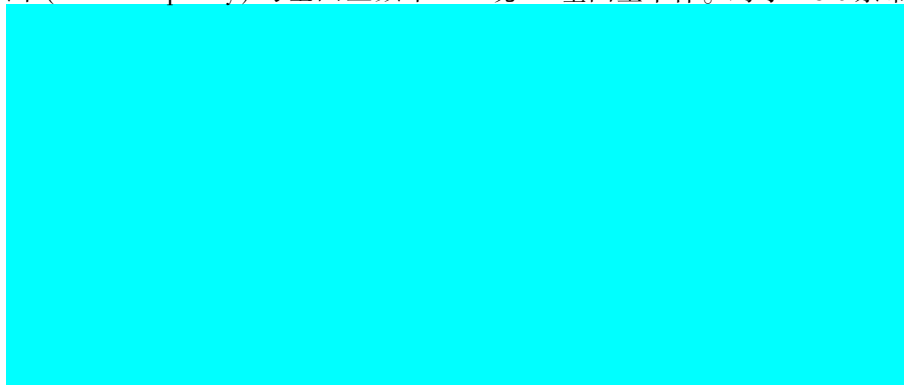


图 1 781 位点基因型的 PCR-SSCP 图谱 781 位 (G $\rightarrow$ T), 泳道 4、9 为 GG 型; 泳道 1、5、7、8、10 为 GT 型; 泳道 2、3、6 为 TT 型。

Fig. 1 Genotypes of 781 loci analyzed by PCR-SSCP. Site 781 (G $\rightarrow$ T), Genotype: lane 4, 9 are GG; lane 1, 5, 7, 8, 10 are GT; lane 2, 3, 6 are TT.

酰胺电泳结果不佳者予以剔除,结果列于表 2。ApoE 基因三个 SNP 的六个等位基因在两个级别的群体中分布都不平衡,其中群体内发生 97 位(C→T)的突变,等位基因 C 的在世代间、微生物控制级别间、性别间及年龄间的频率均达 0.95 以上,占绝对优势,而杂合子仅在普通环境饲养的 49 代雌鼠中存在 5 只,屏障环境中未发现;而在 781 位(G→T)和 1774 位(A→T)的突变则相对均衡,主要原因是杂合子占有相当数量,但 1774 突变中没有 TT 型纯合子,781 位的杂合子占了绝大多数,相对平衡。

2.2 杂合度、多态信息量、纯合度多态性分析

在本研究群体中,通过考察不同微生物控制级别的两个群体、不同世代、不同性别、不同年龄,我们得到了 97 位点、781 位点和 1774 位点的平均等位基因为 2 个(表 3),遗传方式基本符合孟德尔定律;期望杂合度分别是 0.063、0.501、0.499,全群平均为 0.354;PIC 分别是 0.061、0.375、0.374,全群平均 0.270,表明在 C97T 上属于低度多态,在 G781T, A1774T 上属于中度多态。

3 讨论

载脂蛋白基因启动子区的 SNPs 单倍型与血浆

TG 水平、TC 水平相关已有较多报道^[13],ApoC3 上游区 -482T/C 多态性、ApoA5 上游区 -1131T/C、-3A/G 多态性与 TG 水平强相关^[14-5];Pullinger 等^[16]证实了 ApoA5 基因 553G>T(rs2075291)对美国的血统和非中国血统的人种血浆 TG 代谢的影响。Chien 等^[17]发现 ApoA1 -75G>A、ApoA1 83C>T、ApoC3 3175C>G、ApoC3 3206G>T、ApoA4 127A>G 和 ApoA5 553G>T 与高 TG 的关系发现,在中国人群中,这些多态性位点及其单倍型与 HTG/HDL 的比值有关系。Ribalta 等^[18]发现 ApoC3 基因第 3 外显子 -1100-T/A 多态位点与家族性混合型高脂血症患者 VLDL 和 IDL 颗粒的数目的增多有关。

ApoE 蛋白在人上已发现了三种变异体,分别与人高脂血症及动脉粥样硬化易感性相关^[19],已在各国各人种上有相当多的报道^[20-21],国内也有多个民族多个地区的报道^[22-23]。关于该基因的 SNP 报道也有在内含子区发现有调节基因表达的序列^[24],ApoE 基因型与 ApoC3 基因 -482C>T、-455T>C 和 3238C>G 多态性及与血浆脂类的参数的关联关系^[25]。而在猪上也已发现了 7 个 SNP^[26],启动子

表 2 三个 SNP 的基因型频率和等位基因频率
Tab.2 Genotypes and allele frequencies of the 3 SNPs

		SNPC97T				SNPG782T				SNPA1774T		
		CC	CT	TT		GG	GT	TT		AA	AT	
		N	N	N	C%	N	N	N	G%	N	N	A%
世代 Generation	45	46	0	2	0.9583	7	36	5	0.5208	3	50	0.5283
	46	54	0	1	0.9818	2	49	0	0.5196	0	33	0.5
	47	73	0	3	0.9605	1	83	1	0.5	2	63	0.5154
	49	169	5	3	0.9689	4	197	2	0.5049	13	192	0.5317
等级 Level	开放系统	169	5	3	0.9689	4	197	2	0.5049	13	192	0.5317
	屏障系统	173	0	6	0.9665	10	168	6	0.5109	5	146	0.516
性别 Gender	♀	200	5	3	0.9736	8	219	4	0.5087	9	220	0.5197
	♂	142	0	6	0.9595	6	146	4	0.5064	9	118	0.5354
性别 Age	<8 month	214	5	4	0.9709	4	249	1	0.5059	13	222	0.5277
	9-17 month	82	0	3	0.9647	3	80	2	0.5059	2	66	0.5147
	18-26month	46	0	2	0.9583	7	36	5	0.5208	3	50	0.5283

表 3 两种饲养环境下长爪沙鼠群体在三个 SNP 位点上的杂合度和 PIC
Tab.3 The expected heterozygosity and PIC of 3 SNPs in the Mongolian gerbils

SNP 位点	N	杂合子 Heterozygote	纯合子 Homozygote	期望纯合度 Expected homozygosity	期望杂合度 Expected heterozygosity	PIC	HW
C97T	356	5	351	0.014	0.063	0.061	NA
G781T	387	365	22	0.943	0.501	0.375	**
A1774T	356	338	18	0.949	0.499	0.374	**

χ²是检测哈迪温伯格平衡,*表示 P<0.05,**表示 P<0.01,表示两个位点上全群都未达哈迪温伯格平衡。
Chi-square was used to detect Hardy-Weinberg balance,** presented that the Chi-square was significant at 0.01 level.

区也发现了一个可以调节 ApoE 基因起始转录的 SNP^[27],但其多态性和碱基突变与编码蛋白构象及功能的关系,除了人外,大小鼠尚无报道。

P1, 2 和 5 的 PCR 产物具有多态性,其中 P1 发现三种基因型 (CT、CC、TT); P2 发现三种基因型 (GG、GT、TT), P5 只有二种基因型 (AT、AA), 这些突变导致了蛋白质序列中产生了 11 位 (信号肽区) 丙氨酸 (Ala) 到缬氨酸 (Val) 的突变, 65 位亮氨酸 (leu) 到亮氨酸 (leu) 的突变, 256 位赖氨酸 (Lys) 到蛋氨酸 (Met) 的突变, 三个突变并未导致氨基酸极性的改变, 由此认为, 突变后的氨基酸对编码蛋白可能无影响, 但需要进一步验证。

Z:ZCLA 长爪沙鼠 ApoE 基因在群体内发生 97 位 (C→T) 突变, 等位基因 C 的在世代间、微生物控制级别间、性别间及年龄间的频率均达 0.95 以上, 占绝对优势, 主要原因是杂合子过少, 而杂合子仅在普通环境饲养的 49 代雌鼠中存在 5 只, 屏障环境中未发现; 而在 781 位 (G→T), 1774 位 (A→T) 的突变则相对均衡, 主要原因是杂合子占有相当数量, 但 1774 突变中没有 TT 型纯合子, 笔者以为可能是纯合致死或检测的群体有效含量不够大, 781 位的杂合子占了绝大多数, 导致 ApoE 基因频率和基因型分布不平衡, 这些是否跟保种的选择及生活适应能力的大小有关, 有待于进一步研究。根据 ApoE 基因各等位基因在全群中的分布频率及 PIC 值得出全群目前在中度多态, 这或许与该群体封闭繁育了 30 多年有关。根据三个 SNP 在各个世代中的分布情况推断, 这三个 SNP 遗传符合孟德尔定律, 具备作为遗传标记的基础, 进一步对其进行遗传力的评估后决定是否可用于选种。

参考文献:

- [1] World Health Organization. The Global Burden of Disease; 2004 update (2008). http://www.who.int/topics/global_burden_of_disease/en/.
- [2] Fan JG, Zhu J, Li XJ, et al. Prevalence of and risk factors for fat liver in a general population of Shanghai, China [J]. J Hepatol, 2005, 43(3):508-514.
- [3] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南 [J]. 中华肝病杂志, 2006, 14(3):161-163.
- [4] Jahanzad I, Amouei S, Attaranzadeh A. Familial lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency [J]. Arch Iran Med. 2009, 12(2):179-181.
- [5] 中国成人血脂异常防治指南 (2007). http://www.360doc.com/content/10/1104/20/4395812_66649120.shtml.

- [6] Vincent S, Planells R, Defoort C, et al. Genetic polymorphisms and lipoprotein responses to diets [J]. Proc Nutr Soc. 2002, 61(4):427-434.
- [7] Stengard JH, Kardia SL, Hamon SC, et al. Contribution of regulatory and structural variations in ApoE to predicting dyslipidemia [J]. J Lipid Res, 2006, 47(2):318-328.
- [8] Hegster DM. Dietary fat and cholesterol in the gerbil [J]. Lipid Res, 1967, 8:210-214.
- [9] 钟民涛, 王迎, 卢静, 等. 长爪沙鼠的高脂血症与动脉粥样硬化相关性分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(6):321-324.
- [10] Liu Y, Wu J. Meriones unguiculatus apolipoprotein E gene, complete CDS. 2013. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/317185633>.
- [11] Nei M, Roychoudhury AK. Sampling variance of heterozygosity and genetic distance [J]. Genetics, 1974, 76:379-390.
- [12] Botstein D. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism [J]. Am J Human Genet, 1980, 32:314-331.
- [13] Hubacek JA, Bohuslavova R, Skodova Z, et al. Polymorphisms in the APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and cholesterol responsiveness to dietary change. [J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(3):316-320.
- [14] 毕楠, 鄢盛恺, 李国平, 等. 冠心病患者载脂蛋白 A5 和载脂蛋白 C3 基因多态性的研究 [J]. 中华心血管病杂志, 2005, 33(2):116-121 Chinese.
- [15] Chen CH, Cao YL, Hu WC. Apolipoprotein C-II promoter T→A substitution at position-190 affects on the transcription of the gene and its relationship to hyperlipemia [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 354(1):62-65.
- [16] Pullinger CR, Aouizerat BE, Movsesyan I, et al. An apolipoprotein A-V gene SNP is associated with marked hypertriglyceridemia among Asian-American patients [J]. J Lipid Res, 2008, 49(8):1846-1854.
- [17] Chien KL, Chen MF, Hsu HC, et al. Genetic association study of APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and haplotypes on triglyceride and HDL cholesterol in a community-based population [J]. Clin Chim Acta, 2008, 388(1):78-83.
- [18] Ribalba J, Laville AE, Vallve JC, et al. A variation in the apolipoprotein C-III gene is associated with an increased number of circulating VLDL and IDL particles in familiar combined hyperlipidemia [J]. J Lipid Res, 1997, 38(6):1061-1069.
- [19] de Andrade M, Thandi I, Brown S, et al. Relationship of the apolipoprotein E polymorphism with carotid artery atherosclerosis [J]. Am J Hum Gene, 1995, 56:1379-1390.
- [20] Gamboa R, Hernandez-Pacheco G, Hesiquio R, et al. Apolipoprotein E polymorphism in the Indian and Mestizo population of Mexico [J]. Hum Biol, 2000, 72:975-981.
- [21] 郭启燕, 龙思方, 范平, 等. 中国毛南族人群载脂蛋白 E 基因多态性的研究 [J]. 现代预防医学, 2011, 38(2):324-326, 337.
- [22] 陈峰, 薛雅丽, 黄承滨, 等. 载脂蛋白 E 基因多态性在中国 4

- 个民族中的分布 [J]. 人类学学报, 1999, 18:311-315.
- [23] 唐慧, 严新民, 华映坤, 等. 载脂蛋白 E 基因多态性在云南省德宏州傣族人群的分布 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2005, 22(2):224-226.
- [24] Muis, Briggs M, Chung H, et al. A newly identified polymorphism in the apolipoprotein E enhancer gene region is associated with Alzheimer's disease and strongly with the ϵ^4 allele [J]. Neurology, 1996, 47:196-201.
- [25] Fiegenbaum M, De Andrade FM, Hutz MH. Association between plasma lipid parameters and APOC3 genotypes in Brazilian subjects: effect of gender, smoking and APOE genotypes [J]. Clin Chim Acta, 2007, 380(1):175-181.
- [26] Ramsoondar JJ, Rucker EB, Vasquez JC, et al. Isolation and genetic characterization of the porcine apolipoprotein E gene [J]. Animal Genet, 1998, 29:43-47.
- [27] Li SX, Zhang H, Gao P, et al. A functional mutation at position -155 in porcine APOE promoter affects gene expression [J]. BMC Genet, 2011, 12:40.
- [修回日期]2014-02-18

(上接第 12 页)

- [2] 肖祥. 糖尿病肾病模型及研究新进展 [J]. 实用医院临床杂志. 2013, 10(3):159-162.
- [3] Yang Y, Mauldin PD, Ebeling M, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. N Engl J Med. 2010, 362:1090-1101.
- [4] 2012 Annual Data Report [EB/OL]. <http://www.usrds.org/adr.aspx>. 2013-01-24.
- [5] 李志杰, 张悦. 糖尿病肾病动物模型研究进展 [J]. 生命科学, 2011, 23(1):90-95.
- [6] Sun H, Ge N, Shao M, et al. Lumbrokinase attenuates diabetic nephropathy through regulating extracellular matrix degradation in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2013, 100(1):85-95.
- [7] Ozcan F, Ozmen A, Akkaya B, et al. Beneficial effect of myricetin on renal functions in streptozotocin-induced diabetes [J]. Clin Exp Med, 2012, 12(4):265-272.
- [8] 张洋, 马坤岭. 糖尿病肾病动物模型研究进展 [J]. 东南大学学报(医学版), 2012, 31(3):351-355.
- [9] 张丽芬, 黄文政, 朱小棣, 等. 阿霉素肾病肾小球硬化动物模型的研究 [J]. 中国中西医结合肾病杂志. 2005, 6(4):195-199.
- [10] 朱华, 刘颖, 黄澜, 等. 尿微量白蛋白、尿 β_2 -微球蛋白、转铁蛋白、糖化血红蛋白联合检测在糖尿病动物模型中的应用 [J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(6):20-25.
- [11] 钱立荣. 糖尿病肾病. 见王海燕主编. 肾脏病学(第 2 版) [M]. 北京:人民卫生出版社:1996. 949-967.
- [修回日期]2013-12-12