

胆固醇酯转运蛋白限制片长多态性与冠心病

李虎综述, 赵水平 审校

(湖南医科大学附属第二医院心内科, 长沙 410011)

[主题词] 胆固醇酯转运蛋白; 基因表达; 多态性, 限制片长; 冠状动脉疾病

[摘要] 胆固醇酯转运蛋白促进脂蛋白中各种中性脂质的转运和交换, 调节高密度脂蛋白代谢, 在胆固醇逆向转运中起关键作用。胆固醇酯转运蛋白基因在第 1 内含子上具有限制片长多态性, 其等位基因为 B1 和 B2。等位基因 B1 与血浆胆固醇酯转运蛋白水平升高, 活性增强, 高密度脂蛋白水平降低密切相关, 在冠心病的发生发展过程中具有重要意义。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

胆固醇酯转运蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)的主要生理功能是介导血浆脂蛋白中各种中性脂质的转运和交换, 特别是促进高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)中的胆固醇酯向极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, vLDL)和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)转运, 在胆固醇逆向转运中发挥重要作用。CETP 调节各种脂蛋白代谢, 关系到各种脂蛋白颗粒大小和脂质组成, 与动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生和发展密切相关。自 80 年代初, Koizumi 等^[1]首先报道 CETP 基因变异可引起高 α 脂蛋白血症后, 对 CETP 基因变异的研究日趋深入, 特别是其与 HDL 代谢及冠心病的相关研究更是众多研究者关注的热点领域。

1 胆固醇酯转运蛋白基因限制片长多态性

胆固醇酯转运蛋白(CETP)为疏水性糖蛋白, 分子质量约为 70 000, 等电点 4.6~5.4, 其完整的一级结构为一 17 个氨基酸组成的信号肽和 476 个氨基酸组成的单条多肽链^[2]。正常人群中男性血浆 CETP 水平为 1.50 ± 0.26 mg/L, 女性为 1.92 ± 0.52 mg/L。人类 CETP 基因定位于 16 号染色体长臂, 基因长度约为 25 kb, 包含 16 个外显子和 15 个内含子, 主要在肝、脾、脂肪组织、小肠和肾上腺等表达。CETP 基因在多个位点上有多态性, 目前研究较多的是 CETP 基因第 1 内含子限制片长多态性(restriction fragment length polymorphisms, RFLP)^[3], 其等位基因为 B1 和 B2。等位基因 B1 具有限制内

切酶 TaqI 的作用位点, 而等位基因 B2 缺乏该位点。通过聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR), 在 TaqI 限制酶作用下, 等位基因 B1 分解为 174 bp 和 361 bp 的两个片段, 等位基因 B2 由于缺乏作用位点, 不能分解。

研究证实, CETP 基因限制片长多态性是一普遍存在于白种人群中的遗传学变异, 该变异定位于 CETP 基因第 1 内含子, 根据是否有 TaqI 作用位点划分等位基因 B1 和 B2, 由此测定 3 种 CETP 基因型 B1B1、B1B2 和 B2B2^[4]。在 1 411 例男性和 1 505 例女性的白种人群中, 男性与女性等位基因 B2 分布频率分别为 0.444 和 0.433^[5]; 在北爱尔兰及法国人群中, 等位基因 B2 分布频率约为 0.40~0.41^[6]; 犹太人群为 0.435^[7]。白种人群等位基因 B2 分布频率相近的趋势提示 CETP 基因限制片长多态性标记可能起源于古代。目前还缺乏有关其他种族等位基因 B1 和 B2 分布频率的研究报道, 因此 CETP 基因限制片长多态性是否有种族差异及性别差异尚不清楚。

研究表明, 等位基因 B1 与血浆 CETP 水平升高及活性增强密切相关^[8]。Kark 等^[7]报道, 测定 662 例犹太人的血浆 CETP 水平及限制片长多态性, 发现在三组基因型中, 基因型 B1B1 血浆 CETP 水平最高, B2B2 型最低, 三组之间有显著性差异($P < 0.001$), 且这种差异不受性别因素影响($P = 0.14$)。在 807 例冠状动脉单支狭窄 $> 50\%$ 的患者中, 三组基因型 B1B1、B1B2 和 B2B2 的血浆 CETP 水平分别为 2.29 ± 0.62 mg/L、 2.01 ± 0.51 mg/L 和 1.76 ± 0.51 mg/L($P < 0.001$), 证实等位基因 B1 与高 CETP 水平有显著相关性^[4]。与基因型 B1B1 比较, 等位基因 B2 携带者血浆 CETP 活性显著降低($P < 0.01$)^[5]。也有研究报道, 等位基因 B1 与餐后 6 h CETP 水平及活性升高显著相关($P < 0.001$)^[9]。尽管有观点认为, CETP 基因限制片长多态性与 CETP 水平的关系受到吸烟、饮酒、肥胖等诸多因素影响^[10], 但目前尚无确切资料表明等位基因 B1 与高 CETP 水平的相关性受到吸烟、体重指数等环境因素影响^[7]。限制片长多态性是非功能性变异, 不影响基因编码, 因而可能是功能性变异单倍型的一个标志^[4]。也有观点认为位于内含子的限制片长多态性不可能是功能性变异, 最

[作者简介] 李虎, 男, 1977 年 11 月出生, 湖南衡阳人, 心血管内科博士研究生, 研究方向为血脂与心血管疾病。联系电话: 0731-4305111; E-mail: tigerfox2000@163.net。赵水平, 男, 1954 年 10 月出生, 湖南湘潭人; 主任医师, 教授, 博士研究生导师。1976 年毕业于湖南医学院医疗系, 1993 年 4 月在荷兰莱顿大学医学院获医学博士学位。现任中南大学湘雅医学院附属第二医院心血管内科主任, 湖南省心血管研究所心内科研究室主任, 心血管研究湖南重点实验室副主任。

可能的解释是限制片长多态性与某个不为我们所知的功能性基因变异之间有不完全连锁性^[5], 详细机理还有待进一步的研究阐明。

等位基因 B1 与低 HDL 水平密切相关。Ordovas 等^[5]研究发现, 在 1 414 例男性中, 基因型 B1B1、B1B2 和 B2B2 的 HDL 水平分别为 1.07 ± 0.27 mmol/L、 1.14 ± 0.28 mmol/L 和 1.18 ± 0.34 mmol/L, 三组之间有显著性差异 ($P < 0.001$)。在 1 505 例女性中, 三种基因型的 HDL 水平分别为 1.40 ± 0.38 mmol/L、 1.46 ± 0.39 mmol/L 和 1.53 ± 0.40 mmol/L, 三组之间同样有显著性差异 ($P < 0.001$)。等位基因 B1 与低 HDL 水平的密切关系同样为其它研究证实。与之相反, 等位基因 B2 不但与高 HDL 水平密切相关, 还可以导致 HDL 颗粒增大, 半衰期延长。等位基因 B2 携带者血浆 CETP 水平降低, 活性减弱, 导致 HDL 内胆固醇酯向 vLDL、LDL 转运受阻, 胆固醇酯在 HDL 颗粒内积累, HDL 颗粒膨大, 血浆 HDL 水平升高。同理, 等位基因 B1 携带者血浆 CETP 水平升高, 活性增强, 加速 HDL 的胆固醇酯转运, 导致血浆 HDL 水平降低。人体试验及转基因鼠试验表明, 环境因素在调节 CETP 基因表达中发挥重要作用^[11]。大量的人群研究表明环境因素与 CETP 基因限制片长多态性对血浆 HDL 水平的作用有一定关系。有研究认为 CETP 基因限制片长多态性与 HDL 水平之间的密切关系仅见于不吸烟者^[12]。加拿大人群的相关报道也认为等位基因 B1 与低 HDL 水平的密切关系仅见于女性^[13]。肥胖和/或伴有胰岛素抵抗的人群^[14], 肾移植术后人群^[15], CETP 基因限制片长多态性与 HDL 水平关系也不明显。然而, 大规模人群资料显示, 吸烟、饮酒、性别对 CETP 基因限制片长多态性与 HDL 水平关系的影响不具有统计学意义, CETP 基因限制片长多态性是 HDL 水平的独立影响因素^[5]。如前所述, 等位基因 B1 和 B2 通过影响血浆 CETP 水平及活性对 HDL 代谢进行调节, 但在剔除 CETP 水平这一干扰因素后进行的统计学分析仍然显示等位基因 B1 与低 HDL 水平密切相关, 由此推测 CETP 基因限制片长多态性是独立于 CETP 水平之外的影响 HDL 水平的因素, 在等位基因 B1 和 B2 与 HDL 水平之间可能存在不为我们所知的作用机制^[16]。

有研究表明, 高甘油三酯水平人群中, 等位基因 B2 与高载脂蛋白 A-1 水平也有密切关系^[17]。等位基因 B2 还与 LDL 颗粒亚组分有关。等位基因 B2 携带者血浆中致 As 作用较强的小 LDL 颗粒水平降低, 致 As 作用较弱的大 LDL 颗粒水平升高, 但这种 LDL 颗粒亚组分变化在女性不明显^[18, 19]。CETP 基因限制片长多态性与其他脂蛋白的关系, 目前尚无充分证据。

2 胆固醇酯转运蛋白基因限制片长多态性与冠状动脉疾病

胆固醇酯转运蛋白 (CETP) 介导 HDL 中的胆固醇酯与 vLDL 和 LDL 中的甘油三酯等量交换, CETP 水平升高、活性增强, 加速脂质交换, 导致 HDL 水平降低, 富含胆固醇酯的 vLDL 和 LDL 水平升高。HDL 水平降低是冠心病的独立危险因素, 而富含胆固醇酯的 LDL 在肝内结合力较低, 可流入周

围细胞, 因而认为 CETP 有致 As 作用。另一方面, CETP 介导胆固醇逆向转运, 从而保证机体能及时清除多余的胆固醇, 阻止胆固醇动脉内膜蓄积, 由此认为 CETP 有抗 As 作用。因此解释 CETP 与动脉粥样硬化关系时必须要有整体观念, 不能片面强调某一方面的作用。同理 CETP 等位基因 B1 一方面与高 CETP 水平及高 CETP 活性相关, 从而影响 As 的发生发展; 另一方面与低 HDL 水平、LDL 颗粒致 As 亚组分增多相关, 从而有致 As 作用。所以其与冠心病的关系较为复杂, 目前尚难明确。

Ordovas 等^[5]研究发现, 男性冠心病患者纯合子 B1B1 的分布频率, 比 B2 基因携带者 (B1B2, B2B2) 显著降低 (70.6% 比 58.7%, $P = 0.035$)。经年龄、体重指数、收缩压、糖尿病、吸烟、饮酒因素校正后, Odds 值为 0.700 (95% 可信区间 0.46 ~ 1.05), 再经过是否使用 β 受体阻滞剂、降脂药物、总胆固醇水平、HDL 水平等因素校正后, Odds 值为 0.735 (95% 可信区间 0.46 ~ 1.162)。在接受降脂治疗组也发现等位基因 B2 分布频率显著低于等位基因 B1 ($P < 0.05$)。等位基因 B2 与高 HDL 水平密切相关, 而 HDL 水平与冠状动脉粥样硬化发生的危险性呈负相关, 这已为大量研究所证实。但女性患者中没有发现等位基因 B2 与冠心病有关系。文献 [20] 观察到 CETP 基因限制片长多态性与冠心病的关系受性别因素影响, 认为与绝经后女性缺乏雌激素的血管保护机制有关。近年来, 几项大规模研究表明其他 CETP 基因变异, 在导致高 HDL 水平的同时, 也伴随冠心病发生的风险性上升, 认为这与 HDL 质量的变化以及胆固醇逆转运受阻, 脂质蓄积有关^[21, 22]。因此, 等位基因 B2 在导致高 HDL 水平的同时, 是否也伴随冠心病风险性上升, 目前还缺乏相关报道。

在 807 例冠心病患者人群调查中发现 CETP 基因型与冠状动脉粥样硬化有剂量依赖性关系 (dose-dependent relation)。三组基因型 B1B1、B1B2 和 B2B2 的冠状动脉狭窄程度在安慰剂治疗组分别为最高、中等、最低, 而在普伐他汀治疗组正好相反, 分别为最低、中等、最高。接受普伐他汀治疗后, B1B1 基因型冠状动脉狭窄程度明显改善, 而 B2B2 基因型几乎没有改善。普伐他汀治疗组, CETP 水平下降 16%^[4]。所以认为与高 CETP 水平相关的 B1B1 型接受降脂治疗后, CETP 水平下降, 致 As 作用减弱, 冠状动脉狭窄明显改善。3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂能够降低血浆 CETP 水平^[23, 24]。因此有人推测 CETP 等位基因 B1 和 B2 可用于预测冠心病患者接受降脂治疗是否有助于改善冠状动脉狭窄。然而 Mark 等^[25]认为以上观点没有考虑环境因素的影响, 尚且处于试验阶段, 用于指导临床工作还为时过早。

综上所述, CETP 基因限制片长多态性普遍存在于白种人群, 其等位基因 B1 和 B2 与血浆 CETP 水平及活性、HDL 水平和 LDL 颗粒亚组分密切相关, 在冠心病的发生发展过程中具有重要意义, 但其相关联的机制尚未彻底阐明。CETP 基因限制片长多态性是一非功能性基因变异, 如何影响 CETP 基因表达, 是否与其他未知的功能性基因变异有不完全连锁性? 等位基因 B2 与冠心病发生风险性降低的相关性为什么仅见于男性? 等位基因 B1 和 B2 能否用于预测冠心病患者

降脂治疗后冠状动脉狭窄改善程度? 这都是有待今后深入研究的方向。国内对 CETP 基因限制片段多态性的研究正在起步, 还缺乏大规模中国人等位基因 B1 和 B2 分布频率, CETP 水平, HDL 水平及冠心病相关性的资料, 有待进一步研究, 为冠状动脉粥样硬化的防治提供新的方法。

参考文献

- [1] Koizumi J, Mabuchi H, Yoshimura A, et al. Deficiency of serum cholesteryl ester transfer activity in patients with familial hyperalphalipoproteinemia [J]. *Atherosclerosis*, 1985, **58**: 175-177
- [2] Drayna D, Jarnagin AS, Mclean J, et al. Cloning and sequencing of human cholesteryl ester transfer protein cDNA [J]. *Nature*, 1987, **327**: 632-634
- [3] Drayna D, Lawn R. Multiple RFLPs at the human cholesteryl ester transfer protein (CETP) locus [J]. *Nucleic Acids Res*, 1987, **15**: 4698-702
- [4] Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwindeman AH, et al. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis [J]. *N Engl J Med*, 1998, **338**: 86-93
- [5] Ordoas JM, Cupples LA, Corella D, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein Taq IB polymorphism with variations in lipoprotein subclasses and coronary heart disease risk [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 1323-329
- [6] Fumeron F, Betoulle D, Luc G, et al. Alcohol intake modulates the effect of a polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein gene on plasma high density lipoprotein and the risk of myocardial infarction [J]. *J Clin Invest*, 1995, **96**: 1664-671
- [7] Kark JD, Sinnreich R, Leitersdorf E, et al. TaqIB CETP polymorphism, plasma CETP, lipoproteins, apolipoproteins and sex difference in a Jewish population sample characterized by low HDL cholesterol [J]. *Atherosclerosis*, 2000, **151**: 509-518
- [8] Kuivenhoven JA, De Kniff P, Boer JM, et al. Heterogeneity at the CETP gene locus. Influence on plasma CETP concentrations and HDL cholesterol levels [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 560-568
- [9] Noone E, Boche HM, Black I, et al. Effect of postprandial lipaemia and Taq IB polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene on CETP mass, activity, Associated lipoproteins and plasma lipids [J]. *Br J Nutr*, 2000, **84**: 203-209
- [10] Haunukse ML, Liinamaa MJ, Kesaniemi YA, et al. Relation of polymorphisms in the cholesteryl ester transfer protein gene to transfer protein activity and plasma lipoprotein levels in alcohol drinkers [J]. *Atherosclerosis*, 1994, **110**: 35-44
- [11] Jiang XC, Agellon LB, Walsh A, et al. Dietary cholesterol increases transcription of the human cholesteryl ester transfer protein gene in transgenic mice: dependence on natural flanking sequences [J]. *J Clin Invest*, 1992, **90**: 1290-295
- [12] Kondo I, Berg K, Drayna DT, et al. DNA polymorphism at the locus with high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein levels [J]. *Clin Genet*, 1989, **35**: 49-56
- [13] Zhong S, Sharp PS, Grove JS, et al. Increased coronary heart disease with mutation in the cholesteryl ester transfer protein despite HDL levels [J]. *J Clin Invest*, 1996, **97**: 2917-920
- [14] Meguro S, Takei I, Murata M, et al. Cholesteryl ester transfer protein polymorphism associated with macroangiopathy in Japanese patients with type 2 diabetes [J]. *Atherosclerosis*, 2001, **156**: 151-156
- [15] Radean T, Vohl ML, Houde I, et al. HDL cholesterol and TaqIB cholesteryl ester transfer protein gene polymorphism in renal transplant recipients [J]. *Nephron*, 2000, **84**: 333-341
- [16] Bernard S, Moulin P, Lagrost L, et al. Association between plasma HDL cholesterol concentration and TaqIB CETP gene polymorphism in non-insulin dependent diabetes mellitus [J]. *J Lipid Res*, 1998, **39**: 59-65
- [17] Benoist F, Nicodeme E, Grand T. Microsomal triacylglycerol transfer protein prevents presecretory degradation of apolipoprotein [J]. *Eur J Biochem*, 1996, **240**: 713-720
- [18] Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, et al. A prospective study of triglycerides, low density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction [J]. *JAMA*, 1996, **276**: 882-888
- [19] Gardner CD, Fortmann SP, Rauss RM, et al. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women [J]. *JAMA*, 1996, **276**: 875-881
- [20] Durlach A, Clavel C, Girard-Globa A, et al. Sex-dependent association of a genetic polymorphism of cholesteryl ester transfer protein with high density lipoprotein cholesterol and macrovascular pathology in type 2 diabetic patients [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1999, **84** (10): 3656-659
- [21] Birgit AL, Nordestgaard BG, Stettenson R, et al. Elevated HDL cholesterol is a risk factor for ischemic heart disease in white women when caused by a risk factor for ischemic heart disease in white women when caused by a common mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene [J]. *Circulation*, 2000, **101**: 1907-912
- [22] Zhong S, Sharp DS, Grove JS, et al. Increased coronary heart disease in Japanese-American men with mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene despite increased HDL levels [J]. *J Clin Invest*, 1996, **97**: 2917-923
- [23] Bagdade JD, Lane JT, Stone N, et al. Persistent abnormalities in lipoprotein composition and cholesteryl ester transfer following lovastatin treatment [J]. *J Lipid Res*, 1990, **31**: 1263-269
- [24] Guewn M, Dolphin PJ, Talussot C, et al. Pravastatin modulates cholesteryl ester transfer from HDL to apo B-containing lipoproteins and lipoprotein subspecies profile in familial hypercholesterolemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**: 1359-368
- [25] Mark R, Robin RF, Arie V. Polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein gene [J]. *N Engl J Med*, 1998, **338**: 1624-625

(此文 2001-02-16 收到, 2001-09-24 修回)

(此文编辑 胡必利)