

Ⅴ型高脂血症患者血清高密度脂蛋白亚类组成及含量

勾蓝图¹, 傅明德¹, 徐燕华², 杨鲁川¹, 刘宇¹

(1. 四川大学华西基础医学与法医学院生物化学与分子生物学教研室,
四川省成都市 610041; 2. 华神集团博士后研究工作站)

[关键词] 分子生物学; 高密度脂蛋白亚类; 双向电泳-免疫印迹检测法; Ⅴ型高脂血症; 甘油三酯; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 探讨 Ⅴ型高脂血症患者血清高密度脂蛋白亚类含量及分布特征。方法 采用双向电泳-免疫印迹检测法分析 132 例 Ⅴ型高脂血症患者和 163 例正常对照者血清高密度脂蛋白亚类的组成及含量。结果 与血脂正常组比较, Ⅴ型高脂血症患者血清前 β_1 -高密度脂蛋白、高密度脂蛋白 3a 含量显著升高 ($P < 0.01$), 而高密度脂蛋白 2a、高密度脂蛋白 2b 含量显著降低 ($P < 0.01$)。无论是血脂正常者还是 Ⅴ型高脂血症患者, 女性前 β_1 高密度脂蛋白、高密度脂蛋白 3b 含量均显著低于男性 ($P < 0.05$), 而高密度脂蛋白 2b 则显著高于男性 ($P < 0.01$)。相关分析发现, Ⅴ型高脂血症患者血清甘油三酯、甘油三酯/高密度脂蛋白胆固醇比值与前 β_1 -高密度脂蛋白、高密度脂蛋白 3a 含量显著正相关 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 与高密度脂蛋白 2b、高密度脂蛋白 2a 含量显著负相关 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论 Ⅴ型高脂血症患者血清小颗粒高密度脂蛋白含量明显增加而大颗粒高密度脂蛋白含量明显减少, 表明高密度脂蛋白成熟代谢过程受阻, 胆固醇逆向转运作用减弱; 此外, 与男性相比, 无论是血脂正常者还是 Ⅴ型高脂血症患者, 女性小颗粒高密度脂蛋白含量较少而大颗粒高密度脂蛋白含量较多。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

Distributions and Contents of High Density Lipoprotein Subspecies in Type Ⅴ Hyperlipidemic Patients

GOU Lan-Tu¹, FU Ming-De¹, XU Yan-Hua², YANG Lu-Chuan¹, and LIU Yu¹

(1. Biochemistry and Molecular Biology Laboratory, West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041;
2. Hoist Group Postdoctoral Work Station, China)

[KEY WORDS] Type Ⅴ Hyperlipidemia; Triglyceride; Atherosclerosis; High Density Lipoprotein; Subspecies; Two-Dimensional Gel Electrophoresis-Immunodetection

[ABSTRACT] **Aim** To study distributions and contents of high density lipoprotein (HDL) subspecies in type Ⅴ hyperlipidemic patients. **Methods** Apolipoprotein (apo) A IV contents of serum HDL subspecies in 132 type Ⅴ hyperlipidemic (Ⅴ HLP) patients and 163 normal controls were determined by two-dimensional gel electrophoresis associated with immunodetection method. **Results** Compared with normal controls, the contents of small-sized pre- β_1 -HDL, HDL_{3a} were significantly higher ($P < 0.01$), but those of large-sized HDL_{2a}, HDL_{2b} were significantly lower ($P < 0.01$). In addition, males had significantly higher small-sized pre- β_1 -HDL, HDL_{3b} ($P < 0.05$), but lower large-sized HDL_{2b} ($P < 0.01$) than females in both normal controls and Ⅴ HLP patients. Correlation between HDL subspecies and lipids in Ⅴ HLP patients showed that triglyceride (TG) and TG/HDL-C ratio were positively correlated with pre- β_1 -HDL, HDL_{3a} ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), but negatively correlated with HDL_{2b}, HDL_{2a} ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusions** The particle size of HDL shifted towards smaller sizes, which, in turn, indicates that reverse cholesterol transport might be weakened and HDL maturation might be abnormal. Moreover, males probably have higher pre- β_1 -HDL, HDL_{3b}, but lower HDL_{2b} than females in general population.

高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 是颗粒大小、密度、组成及功能极不均一的一类脂蛋白, 可分为前 β_1 -HDL、前 β_2 -HDL、HDL_{3C}、HDL_{3b}、HDL_{3a}、HDL_{2a}、HDL_{2b} 等亚类, 通过前 β -HDL \rightarrow HDL₃ \rightarrow

HDL₂ 的递变代谢过程而逐渐成熟。HDL 代谢紊乱造成其亚类的组成和分布异常, 最终导致细胞胆固醇流出、酯化、转运及清除障碍, 促使动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 和冠心病 (coronary heart disease, CHD) 的发生^[1]。研究证实 Ⅴ型高脂血症 (type Ⅴ hyperlipidemia, ⅤHL) 与 As 和冠心病高度相关^[2], 因此发现 ⅤHL 患者血清 HDL 亚类的分布特征, 特别是性别对 HDL 亚类组成分布的影响, 对防治 As 和冠心病具有重要意义。本研究分析了 132 例 ⅤHL

[收稿日期] 2004-07-22 [修回日期] 2005-05-15

[基金项目] 纽约中华医学基金 (CMB 82-412) 资助

[作者简介] 勾蓝图, 硕士研究生, 研究方向为脂蛋白与动脉粥样硬化, E-mail 为 glantu@163.com。通讯作者傅明德, 教授, 博士研究生导师, E-mail 为 fumingde@126.com。徐燕华, 博士, 现在华神集团从事博士后研究工作。

患者和 163 例正常对照者血清 HDL 亚类的组成、含量及其分布特征,为阐明 HDL 亚类组成与 I^{a} HL 和 As 发生机制提供重要的依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象及分组

所有对象均为我室作血脂及载脂蛋白含量测试的本校及四川师范大学的教职工。受试者血清样品以 2001 年 5 月美国国家胆固醇教育计划(the national cholesterol education program, NCEP)成人治疗专家组(adult treatment panel, ATP)颁布的第三版文件(ATP- III)为标准^[3],分为血脂正常组和 I^{a} 型高脂血症(I^{a} HL)组,并分别按性别分层。血脂正常组 163 例(总胆固醇 < 6.21 mmol/L,甘油三酯 < 2.26 mmol/L),其中男性 98 例,女性 65 例; I^{a} HL 组 132 例(总胆固醇 < 6.21 mmol/L,甘油三酯 \geq 2.26 mmol/L)其中男性 79 例,女性 53 例。

1.2 血清样品

受试者空腹 12~14 h,取血,分离血清,并将血清样品分为两份,一份用于血脂及载脂蛋白含量的测定,另一份-70℃冻存,用于 HDL 亚类的检测。

1.3 血脂及载脂蛋白含量的测定

血清甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density

lipoprotein cholesterol, HDLC)含量采用酶法试剂盒(北京中生生物工程高技术公司)测定;血清载脂蛋白 A_{iv}、B100、C II 、C III 及 E 含量均采用本室研制的单向免疫扩散试剂盒测定。

1.4 高密度脂蛋白亚类免疫印迹试验

按本室建立的人血清 HDL 亚类免疫印迹检测法^[4]进行测定,将测得的 HDL 各亚类的相对百分含量与样品中载脂蛋白含量相乘,即为 HDL 各亚类的含量(以载脂蛋白 A_{iv}计)。

1.5 统计学处理

采用 SPSS12.0 软件进行统计学处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异比较采用方差分析。

2 结果

2.1 I^{a} 型高脂血症患者血脂及载脂蛋白含量

与血脂正常组比较, I^{a} HL 患者体质指数、TG、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、TC/HDLC、TG/HDLC、载脂蛋白 B100、载脂蛋白 C II 、载脂蛋白 C III 、载脂蛋白 E 水平均显著升高,而载脂蛋白 A_{iv}、HDLC 水平显著降低。血脂正常组中女性 TG、LDLC、TC/HDLC、TG/HDLC 水平较男性显著降低,而 HDLC 水平显著升高; I^{a} HL 患者中女性和男性血脂及载脂蛋白含量无显著差异(表 1, Table 1)。

表 1. I^{a} 型高脂血症患者血脂及载脂蛋白含量

Table 1. Concentrations of serum lipids and apolipoproteins in I^{a} HL patients

	正常对照者			I^{a} 型高脂血症患者		
	总体	男性	女性	总体	男性	女性
样本例数	163	98	65	132	79	53
年龄(年)	55.5 \pm 10.5	55.8 \pm 10.8	55.2 \pm 10.0	56.4 \pm 9.5	55.6 \pm 9.4	57.8 \pm 9.6
体质指数(kg/m ²)	22.7 \pm 2.9	22.8 \pm 3.1	22.3 \pm 2.3	24.6 \pm 2.9 ^c	24.7 \pm 3.1 ^c	24.6 \pm 2.7 ^c
TG (mmol/L)	1.2 \pm 0.3	1.3 \pm 0.3	1.1 \pm 0.2 ^a	3.6 \pm 1.7 ^d	3.6 \pm 1.7 ^d	3.5 \pm 1.7 ^d
TC (mmol/L)	5.1 \pm 0.6	5.2 \pm 0.6	5.0 \pm 0.5	5.1 \pm 0.6	5.1 \pm 0.6	5.2 \pm 0.6
HDLC (mmol/L)	1.4 \pm 0.4	1.3 \pm 0.3	1.6 \pm 0.4 ^b	0.9 \pm 0.2 ^d	0.9 \pm 0.2 ^d	1.0 \pm 0.2 ^d
TG/HDLC	0.9 \pm 0.3	1.0 \pm 0.3	0.7 \pm 0.2 ^b	3.8 \pm 2.2 ^d	4.0 \pm 2.3 ^d	3.5 \pm 2.1 ^d
TC/HDLC	3.6 \pm 0.5	4.0 \pm 0.6	3.1 \pm 0.5 ^b	5.5 \pm 1.1 ^d	5.6 \pm 1.1 ^d	5.2 \pm 1.1 ^d
载脂蛋白 A _{iv} (mg/L)	1257.1 \pm 191.1	1250.4 \pm 192.4	1269.8 \pm 189.5	1190.1 \pm 184.2 ^c	1174.5 \pm 182.4 ^c	1205.6 \pm 188.4 ^c
载脂蛋白 B100 (mg/L)	778.1 \pm 146.7	781.6 \pm 146.3	768.6 \pm 148.8	965.9 \pm 195.9 ^d	984.7 \pm 185.5 ^d	938.1 \pm 211.6 ^d
载脂蛋白 C II (mg/L)	44.6 \pm 14.5	45.3 \pm 15.44	2.5 \pm 13.1	91.6 \pm 51.7 ^d	90.7 \pm 50.3 ^d	94.1 \pm 53.8 ^d
载脂蛋白 C III (mg/L)	111.6 \pm 26.6	112.6 \pm 30.7	108.9 \pm 26.4	207.1 \pm 74.8 ^d	219.3 \pm 78.0 ^d	189.0 \pm 70.1 ^d
载脂蛋白 E (mg/L)	41.6 \pm 11.4	42.3 \pm 11.8	41.0 \pm 10.9	63.5 \pm 25.3 ^d	61.8 \pm 24.6 ^d	65.9 \pm 27.7 ^d

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与同组男性比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与正常对照者比较。

2.2 Ⅱ型高脂血症患者血清高密度脂蛋白亚类的含量

与血脂正常组比较, ⅡHL 患者前 β_1 -HDL、HDL_{3a} 含量显著升高, 而 HDL_{2a}、HDL_{2b} 含量显著降低。无论是血脂正常者还是 ⅡHL 患者, 女性前 β_1 -HDL、HDL_{3b} 含量均显著低于男性, 而 HDL_{2b} 则显著高于男

性(表 2, Table 2)。

2.3 Ⅱ型高脂血症患者血脂与血清高密度脂蛋白亚类含量的相关性

ⅡHL 患者血清 TG、TG/HDLC 与前 β_1 -HDL、HDL_{3a} 含量显著正相关, 与 HDL_{2b}、HDL_{2a} 含量显著负相关。此外 TC/HDLC 与 HDL_{2b} 含量也呈显著负相关(表 3, Table 3)。

表 2. Ⅱ型高脂血症患者血清高密度脂蛋白亚类含量

Table 2. The apolipoprotein A iv contents of HDL subspecies in ⅡHL patients

	正常对照者			Ⅱ型高脂血症患者		
	总体	男性	女性	总体	男性	女性
样本例数	163	118	45	132	72	60
前 β_1 -HDL (mg/L)	79.0 ± 19.4	81.3 ± 21.9	72.8 ± 18.8 ^a	130.2 ± 34.9 ^d	135.4 ± 33.8 ^d	116.7 ± 30.7 ^{ad}
前 β_2 -HDL (mg/L)	55.6 ± 16.1	54.7 ± 15.8	57.8 ± 17.0	61.3 ± 19.3	59.8 ± 18.5	63.2 ± 18.8
HDL _{3c} (mg/L)	69.6 ± 22.7	70.6 ± 24.9	67.0 ± 21.1	73.4 ± 23.6	72.7 ± 23.2	74.6 ± 24.6
HDL _{3b} (mg/L)	142.2 ± 43.5	149.6 ± 46.1	122.9 ± 40.7 ^a	139.0 ± 45.1	146.3 ± 43.1	125.2 ± 38.4 ^a
HDL _{3a} (mg/L)	265.2 ± 74.5	269.1 ± 75.9	255.3 ± 70.6	319.8 ± 96.2 ^d	326.5 ± 88.5 ^d	307.8 ± 87.8 ^d
HDL _{2a} (mg/L)	274.8 ± 75.9	273.7 ± 79.1	277.5 ± 67.8	222.6 ± 63.6 ^d	215.2 ± 60.8 ^d	231.8 ± 52.4 ^d
HDL _{2b} (mg/L)	369.6 ± 94.9	351.1 ± 98.6	416.3 ± 87.5 ^b	245.2 ± 79.2 ^d	218.8 ± 64.2 ^d	287.6 ± 85.4 ^{bd}

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与同组男性比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与正常对照者比较。

表 3. Ⅱ型高脂血症患者血脂与血清高密度脂蛋白亚类含量的相关性分析

Table 3. Correlation coefficients between contents of serum HDL subspecies and serum lipids in ⅡHL patients

指 标	前 β_1 -HDL	前 β_2 -HDL	HDL _{3c}	HDL _{3b}	HDL _{3a}	HDL _{2a}	HDL _{2b}
TG	0.436 ^b	-0.087	0.121	0.108	0.311 ^a	-0.306 ^a	-0.387 ^b
TC	0.121	0.115	0.061	-0.046	0.201	-0.022	-0.169
HDLC	-0.078	0.105	0.164	0.103	0.181	0.141	0.361 ^b
TG/HDLC	0.473 ^b	-0.159	-0.134	0.138	0.243 ^a	-0.358 ^a	-0.464 ^b
TC/HDLC	0.218	-0.098	-0.102	0.083	-0.021	-0.184	-0.316 ^a

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$ 。

3 讨论

根据 Fredrickson 高脂蛋白血症分型法, ⅡHL 主要表现为患者血浆 TG 水平明显升高, 而 TC 水平则可正常, 患者多由于高热量、高糖膳食而诱发, 多伴有肥胖、糖耐量异常^[5]。ⅡHL 是我国发生率最高的一类高脂血症, 占高脂血症患者总数的 50% 以上, 研究 ⅡHL 患者 HDL 亚类代谢特点对阐明 ⅡHL 患者 As 的发生机理具有重要意义。

ⅡHL 患者 HDL 亚类含量的结果显示, ⅡHL 患者较血脂正常者血清小颗粒前 β_1 -HDL、HDL_{3a} 含量显著升高, 而大颗粒 HDL_{2a}、HDL_{2b} 含量显著降低, 表明 HDL 颗粒呈变小趋势, HDL 成熟代谢过程受阻。HDL 亚类出现的这些变化可能与血清中调节

脂质代谢的酶及某些蛋白因子的活性有关。研究发现, 当血清 TG 水平升高时, 胆固醇酯转运蛋白 (cholesterol ester transfer protein, CETP) 的活性明显增强而脂蛋白脂酶 (lipoprotein lipase, LPL) 活性明显降低^[6]。由于 CETP 可将 HDL₂ 中的 CE 转移至乳糜微粒 (chylomicron, CM)、极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 和低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL), 并将 VLDL 和 LDL 中的 TG 转运至 HDL₂, 与此同时 HDL₂ 中的 TG 被肝脂酶 (hepatic lipase, HL) 和内皮细胞脂酶 (endothelial-derived lipase, EL) 水解并释放出载脂蛋白 A iv 和磷脂, HDL 便由大颗粒的 HDL₂ 转变为颗粒较小的 HDL₃, 造成 HDL₂ 含量减少, 而 HDL₃ 则堆积。从 HDL₂ 释放出的载脂蛋白 A iv、磷脂与血浆中的游离胆固醇结合而形成新

生的前 β_1 -HDL, 因此前 β_1 -HDL 含量也有所增加。LPL 活性降低, 富含 TG 的 VLDL 和 CM 代谢缓慢, 其分解产物载脂蛋白 A iv 和 A Ⅴ及磷脂等减少, 致使 HDL₂ 合成减少^[7]。本研究还发现, ⅢHL 患者血清载脂蛋白 A iv 含量较血脂正常者明显减少, 而载脂蛋白 A iv 是卵磷脂—胆固醇脂酰转移酶 (lecithin: cholesterol acyl transferase, LCAT) 的激活剂^[8], 其主要作用是催化 HDL 中游离胆固醇酯化, 使 HDL 经前 β -HDL \rightarrow HDL₃ \rightarrow HDL₂ 的递变代谢过程而逐渐成熟。因此血清载脂蛋白 A iv 含量减少, 必将造成 LCAT 活性降低, 最终导致小颗粒的前 β_1 -HDL、HDL_{3a} 含量明显增加, 而大颗粒的 HDL₂ 含量明显减少^[9]。

本研究发现, 无论是血脂正常者还是 ⅢHL 患者, 女性前 β_1 -HDL、HDL_{3b} 含量显著低于男性, 而 HDL_{2b} 则显著高于男性, 这可能是由于男女血清中 HL 活性不同所造成的。研究证实, 激素水平可影响 HL 的活性, 雄激素可增强 HL 的活性, 相反雌激素可抑制 HL 的活性, 有报道称男性 HL 活性较女性高 1.2 倍^[10]。HL 在 HDL 亚类的代谢中起重要作用, 它可以选择性地水解 HDL₂ 中的 TG, 使 HDL₂ 转变为 HDL₃, 并释放出载脂蛋白 A iv 和磷脂, 导致 HDL₂ 含量减少而 HDL₃ 堆积^[11]。从 HDL₂ 释放出的载脂蛋白 A iv、磷脂与血浆中的游离胆固醇结合而形成新生的前 β_1 -HDL, 因此前 β_1 -HDL 含量的也有所增加。雌激素抑制 HL 的机制尚不十分清楚, 可能是抑制 HL 的 mRNA 表达, 或是与 HL 结合使 HL 构象改变, 导致 HL 活性降低^[12]。

此外, ⅢHL 患者 HDL 亚类与血脂含量相关性分析的结果表明, 血清 TG 含量, 特别是 TG/HDLC 比值与前 β_1 -HDL、HDL_{3a} 呈显著正相关 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 而与 HDL_{2a}、HDL_{2b} 呈显著负相关 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 表明血清 TG 及 TG/HDLC 比值是

影响 ⅢHL 患者 HDL 亚类分布变化的重要因素。

ⅢHL 患者血清 TG 含量及 TG/HDLC 比值显著升高, HDL 颗粒明显变小, 表明前 β -HDL \rightarrow HDL₃ \rightarrow HDL₂ 的成熟代谢过程受阻, HDL 胆固醇逆向转运作用减弱, 血管内皮细胞过剩胆固醇堆积, 加速泡沫细胞的形成, 最终可导致 As 性心血管疾病的发生。

[参考文献]

- [1] 刘秉文, 曾成林. 高密度脂蛋白抗动脉硬化作用. 中国动脉硬化杂志, 1994, 2 (1): 44-50
- [2] Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*, 1998, 81 (4A): 7B-12B
- [3] Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP), Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, Adult Treatment Panel III. *JAMA*, 2001, 285 (19): 2486-97
- [4] 吴新伟, 傅明德, 刘秉文, 邓萍. 人血清 HDL 亚类免疫印迹检测法. 中国动脉硬化杂志, 1999, 7 (3): 253-255
- [5] Fried SK, Rao SP. Sugars, hypertriglyceridemia, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 2003, 78 (4): 873S-880S
- [6] Lee M, Kim JQ, Kim JZ. Studies on the plasma lipid profiles, and LCAT and CETP activities according to hyperlipoproteinemia phenotypes (HLP). *Atherosclerosis*, 2001, 159 (2): 381-389
- [7] Saidi Y, Sich D, Camproux A, Egloff M, Federspiel MC, Gautier V, et al. Interrelationships between postprandial lipoprotein B: C Ⅴ particle changes and high-density lipoprotein subpopulation profiles in mixed hyperlipoproteinemia. *Metabolism*, 1999, 48 (1): 60-67
- [8] Wong L, Curtiss LK, Huang J, Mann CJ, Maldonado B, Roheim PS. Altered epitope expression of human interstitial fluid apolipoprotein A iv reduces its ability to activate lecithin cholesterol acyl transferase. *J Clin Invest*, 1992, 90 (12): 2370-375
- [9] Xu YH, Fu MD. Alterations of HDL subclasses in hyperlipidemia. *Clinica Chimica Acta*, 2003, 332 (1): 95-102
- [10] Carr MC, Hokanson JE, Zambon A, Deeb SS, Barrett PH, Purnell JQ, et al. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86 (6): 2831-837
- [11] Thuren T. Hepatic lipase and HDL metabolism. *Curr Opin Lipidol*, 2000, 11 (3): 277-283
- [12] Perret B, Mabile L, Martinez L, Terce F, Barbaras R, Collet X. Hepatic lipase: structure/ function relationship, synthesis, and regulation. *J Lipid Res*, 2002, 43 (8): 1163-169

(此文编辑 文玉珊)