

## 高脂血症人群血清胆固醇酯转运蛋白的水平

汪俊军, 顾勤花, 张春妮

(中国人民解放军南京军区南京总医院全军临床检验医学研究所, 江苏省南京市 210002)

[关键词] 病理学与病理生理学; 胆固醇酯转运蛋白; 脂蛋白; 胆固醇酯; 甘油三酯; 高脂血症; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 分析不同高脂血症人群血清胆固醇酯转运蛋白水平及其对血浆各脂蛋白间脂质转运的调节作用。方法 脂蛋白电泳结合酶显色法分别检测血清各脂蛋白中的甘油三酯含量; 酶联免疫吸附试验测定血清胆固醇酯转运蛋白和氧化型低密度脂蛋白水平; 分析胆固醇酯转运蛋白与脂质水平间的相关性。结果 高甘油三酯组、高胆固醇组、混合组和对照组中胆固醇酯转运蛋白水平分别为  $1.89 \pm 1.32$ 、 $2.37 \pm 1.30$ 、 $2.33 \pm 1.73$  和  $1.58 \pm 1.00$  mg/L, 与对照组比较, 高甘油三酯组变化无显著性 ( $P > 0.05$ ), 高胆固醇组 ( $P < 0.01$ ) 和混合组均升高 ( $P < 0.05$ )。高脂血症人群高密度脂蛋白中胆固醇/甘油三酯比值降低; 高甘油三酯组和混合组低密度脂蛋白中甘油三酯/胆固醇比值升高, 高胆固醇组无差别, 其中高甘油三酯组变化程度最大, 混合组次之, 高胆固醇组最小; 且胆固醇酯转运蛋白水平与上述比值相关。高脂血症人群血清氧化型低密度脂蛋白水平升高, 与低密度脂蛋白中甘油三酯/胆固醇比值高度呈正相关。结论 高脂血症人群胆固醇酯转运蛋白水平升高, 促进了脂蛋白间脂质转运, 使高密度脂蛋白和低密度脂蛋白脂质组成发生变化, 促进了动脉粥样硬化的发生和发展。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

### Cholesteryl Ester Transfer Protein Concentrations in Subjects with Various Dyslipidaemias

WANG Jun Jun, GU Qin Hua, and ZHANG Chun Ni

(Institute of Laboratory Medicine Science of PLA, Nanjing General Army Hospital, Nanjing 210002, China)

[KEY WORDS] Cholesteryl Ester Transfer Protein; Lipoprotein; Cholesterol Ester; Triglycerides; Hyperlipidaemia; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the possible interaction of cholesteryl ester transfer protein (CETP) level with the lipid transport between the lipoproteins. **Methods** Triglyceride levels in lipoproteins were determined by agarose gel electrophoresis with enzyme colouration. plasma CETP and oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) levels were both determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The correlations between CETP and lipid levels were also studied. **Results** CETP levels in hypertriglyceridaemia, hypercholesterolaemia, complex hyperlipidaemia and control subjects were  $1.89 \pm 1.32$ ,  $2.37 \pm 1.30$ ,  $2.33 \pm 1.73$  and  $1.58 \pm 1.00$  mg/L, respectively, which didn't change significantly in hypertriglyceridaemia group ( $P > 0.05$ ), while increased in hypertriglyceridaemia ( $P < 0.01$ ) and hypertriglyceridaemia ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the ratios of cholesterol/triglyceride in high density lipoprotein (HDL) decreased in hyperlipidaemia subjects. The ratios of cholesterol/triglyceride in LDL increased both in hypertriglyceridaemia and complex hyperlipidaemia groups, while showed no difference in hypercholesterolaemia group. The two ratios in hypertriglyceridaemic subjects both exhibited the most significant change, while hypercholesterolaemic subjects the least. CETP level had positive correlation with the ratios above. Moreover, ox-LDL level was also found to have positive correlation with LDL-TG/LDL-C ratio. **Conclusions** The high CETP level in hyperlipidaemia subjects promoted the transport of lipids between lipoproteins, which changed the composition of HDL and LDL and was involved in the development of atherosclerosis.

高脂血症患者伴有严重的脂代谢异常, 是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 性心、脑血管疾病的强

危险因素。胆固醇酯转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 介导血浆各脂蛋白之间的脂质交换和转运, 特别是促进血浆胆固醇酯 (cholesterol ester, CE) 和甘油三酯 (triglycerides, TG) 在低密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 与低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 和极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 之间的转运, 在胆固醇逆向转运中发挥重要作用<sup>[1,2]</sup>。高脂血症患者 CETP 浓度和活性也发生显著改变, 对脂代谢起重要调节

[收稿日期] 2006-08-05 [修回日期] 2006-12-08

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30471649) 和江苏省自然科学基金青年科技创新人才项目 (BK2006529)

[作者简介] 汪俊军, 硕士, 副教授, 主要从事脂蛋白与动脉粥样硬化发病关系的研究, 联系电话为 025-80860181, E-mail 为 wangjj6@jlonline.com。顾勤花, 硕士研究生, 从事临床实验诊断学研究, 联系电话为 13913082364, E-mail 为 gqh\_njmu@yahoo.com.cn。张春妮, 博士, 副教授, 主要从事脂蛋白与动脉粥样硬化发病关系的研究, 联系电话为 025-80860181, E-mail 为 zchunni27@hotmail.com。

作用。文献[3-6]报道不同高脂血症人群 CETP 水平变化,以及 CETP 与 TG 和胆固醇(cholesterol, CH)的关系,但未涉及到 CETP 对各脂蛋白组分中 CE 和 TG 的可能调节机制,以及 LDL 脂质组成的改变对其氧化程度的影响。本文分析了不同高脂血症人群各脂蛋白组分中 CE 和 TG 含量、LDL 脂质组成及氧化程度的变化,探讨 CETP 对其调节作用和机制。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

150 例高脂血症者选自南京军区南京总医院健康体检者(部队干部),男 107 例,女 43 例。根据血脂水平不同分为 3 组:高甘油三酯组 50 例[TG > 2.20 mmol/L, 总胆固醇(total cholesterol, TC) < 6.0 mmol/L];高总胆固醇组 50 例(TG < 2.20 mmol/L, TC > 6.0 mmol/L);混合组 50 例(TG > 2.20 mmol/L, TC > 6.0 mmol/L)。对照组为南京军区南京总医院健康体检者 50 例,男女均为 25 例,血脂水平正常(TG ≤ 2.20 mmol/L, TC ≤ 6.0 mmol/L)。所有被检者临床和心电图检查均正常。血液标本采自禁食 12 h 以上静脉血,2 h 内分离血清, - 70℃ 保存。

### 1.2 脂蛋白电泳结合酶显色测定甘油三酯水平<sup>[7]</sup>

用 5 g/L 琼脂糖凝胶制一厚度为 1.5 mm 的凝胶板,在距阴极端 15 mm 处挖槽,加样 10 μL, 100~120 V 电压下电泳 35 min 左右。将显色剂(8 g/L 琼脂糖凝胶与 TG 酶试剂以 2:1 比例混合)立即铺于脂蛋白区带上,置 37℃ 15 min,自动扫描仪扫描;各脂蛋白区带中 TG 的相对浓度与血清总 TG 浓度相乘即得各脂蛋白组分中 TG 浓度。

### 1.3 酶联免疫吸附试验

采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定胆固醇酯转运蛋白和氧化型低密度脂蛋白水平。CETP 测定采用自制 CETP 单抗建立人血清 CETP ELISA,参考血清采用法国 Bocage 医院脂蛋白实验室 Lagrost 赠送的 CETP 定值血清,经 ELISA 多次标定<sup>[8]</sup>。氧化型低密度脂蛋白(oxidized LDL, ox-LDL)测定采用兔抗人抗 ox-LDL IgG 抗体建立的 ELISA 检测法<sup>[9]</sup>。

### 1.4 血脂测定

总胆固醇和 TG 测定用 Randox 公司试剂盒, BM 公司 cfas 校准物校准; HDLC 和 LDLC 测定采用日本第一化学试剂及脂蛋白校准品。测定仪器为 Hitachi 7600 生物化学分析仪。

### 1.5 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,数据处理采用 Statistics 软件。各变量间的差异用非参数 Mann-Whitney U-test 分析;变量间相关性采用非参数 Spearman rank coefficient test 分析。

## 2 结果

### 2.1 各组血清胆固醇酯转运蛋白和氧化型低密度脂蛋白水平及脂蛋白脂质组成的比较

各高脂血症组 CETP 和 ox-LDL 水平均高于对照组,除高甘油三酯组 CETP 水平变化无统计意义,其他组与对照组比较差异均有显著性( $P < 0.001$ ,  $P < 0.05$ , 表 1)。各高脂血症组血清 HDLC/HDL-TG 比值降低,而 LDL-TG/LDL 比值升高,其中高甘油三酯组变化程度最大,混合组次之,高胆固醇组最小。各高脂血症组血清 HDLC/nor-HDL 均显著下降( $P < 0.001$ )。

表 1. 高脂血症人群胆固醇酯转运蛋白和氧化型低密度脂蛋白水平及脂蛋白脂质组成 ( $\bar{x} \pm s$ )

分 组	CETP (mg/L)	ox-LDL (μg/L)	HDLC/HDL-TG	LDL-TG/LDL	HDLC/nor-HDL
对照组	1.58 ± 1.00	410 ± 177	13.75 ± 8.88	0.13 ± 0.06	0.56 ± 0.19
高甘油三酯组	1.89 ± 1.32	542 ± 263 <sup>b</sup>	2.48 ± 1.43 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.41 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.08 <sup>a</sup>
高胆固醇组	2.37 ± 1.30 <sup>a</sup>	592 ± 552 <sup>b</sup>	9.61 ± 7.01 <sup>b</sup>	0.12 ± 0.04	0.38 ± 0.12 <sup>a</sup>
混合组	2.33 ± 1.73 <sup>b</sup>	901 ± 709 <sup>a</sup>	3.25 ± 1.77 <sup>a</sup>	0.47 ± 0.47 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.09 <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.001$ , b 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

### 2.2 胆固醇酯转运蛋白水平与脂质参数的相关性分析

高脂血症(包括高甘油三酯血症、高胆固醇血症和混合性高脂血症)组中 CETP 分别与 HDLC、LDLC 和 HDLC/HDL-TG 呈正相关;与 TG 和 LDL-TG/LDL

呈负相关,其相关系数分别为 0.165, 0.165, - 0.192, 0.225, - 0.163, 均有统计学意义。

### 2.3 氧化型低密度脂蛋白水平与脂质参数的相关性分析

高脂血症组与对照组共同分析,发现 ox-LDL 分

别与 TG、LDL-TG 和 LDL-TG/LDL-C 呈正相关, 其相关系数分别为 0.218, 0.197, 0.153, 均有统计学意义; 且 ox-LDL/LDL-C 与 LDL-TG/LDL-C 呈高度正相关 ( $r=0.383, P<0.001$ )。

### 3 讨论

本组高脂血症人群脂质水平显著异常, 高胆固醇组、混合组 CETP 水平明显升高。为探讨 CETP 在脂质转运中的调节作用和机制, 作者进一步分析了高脂血症人群各脂蛋白中 CH、TG 的组成变化。高脂血症组 HDL-C/HDL-TG 比值降低, 而 LDL-TG/LDL-C 比值升高, 其中高甘油三酯组变化程度最大, 混合组次之, 高胆固醇组最小; 且各高脂血症组血清 HDL-C/nHDL-C 显著下降。

胆固醇酯转运蛋白对血浆脂蛋白之间 CE 和 TG 的交换和平衡起重要作用, 主要介导 HDL 中 CE 与含载脂蛋白 B 脂蛋白 (VLDL、LDL) 中 TG 之间交换<sup>[1]</sup>。HDL 中 CE 与 LDL、VLDL 中 TG 的交换, 导致 HDL 中 CE 降低, TG 升高, 因此, HDL-C/nHDL-C、HDL-C/HDL-TG 比值降低。高甘油三酯组人群血浆 TG 主要分布于 VLDL、LDL 中, 高浓度的 TG 增强了其与 HDL 中 CE 的交换, 故该组 HDL-C/HDL-TG 比值下降程度最大; 而高胆固醇组高浓度的 CH 主要集中在 LDL 中, LDL 与 HDL 中的 CE 含量梯度差则减小, 从 HDL 到 LDL 的 CE 转运也相对减少, 因此该比值降低幅度最小; 混合性高脂血症介于两者之间。LDL 中 TG 既可与 HDL 中的 CE 发生交换, 使 LDL-TG/LDL-C 比值降低; 同时 LDL 中 CE 也可在 CETP 介导下与 VLDL 中 TG 交换<sup>[10]</sup>, 导致 LDL-TG/LDL-C 升高, 上述两种途径共同决定 LDL-TG/LDL-C 最终比值的大小。如前所述各高脂血症组血脂分布特性, 高甘油三酯组中以 LDL 中 CE 与 VLDL 中 TG 的交换为主, 最终结果是该组 LDL-TG/LDL-C 比值升高最为显著; 而高胆固醇组中从 HDL 到 LDL 的 CE 转运相对减少, 因此比值升高幅度最小; 同样混合性高脂血症该比值介于两者之间。可见, CETP 参与了上述脂质转运过程, 且高浓度的 CETP 促进了脂蛋白间 CE 与 TG 的交换, 影响各脂蛋白的脂质组成。

高脂血症人群中 CETP 水平升高的机制一直不明确。本文资料显示在高脂血症人群中 CETP 水平与 HDL-C/HDL-TG 呈正相关, 提示 HDL 中高 CE、TG 含量梯度促进了体内 CETP 的合成。而 LDL 中高 TG、CE 含量梯度增加了与 HDL 间脂质交换, 但降低同 VLDL 间交换, 因此, CETP 水平与 LDL-TG/LDL-C

相关性可能更依赖于高脂血症的类型。本文资料亦显示高脂血症人群 CETP 与 HDL-C、LDL-C 呈正相关, 与 TG 呈负相关。CETP 与 LDL-C 的正相关性已见报道<sup>[6]</sup>, CETP 与 TG、HDL-C 相关性文献报道不一, 正、负及不相关均见报道<sup>[3-6]</sup>, 这种差异有待于进一步研究。易于氧化的致密 B 型 LDL 是 As 发生的强危险因素已得到确认, 在高 TG 条件下, CETP 介导的脂质转运促进了 B 型 LDL 的形成<sup>[11-14]</sup>。本文结果亦证实高脂血症组 ox-LDL 水平显著升高, 且 ox-LDL/LDL-C 与 LDL-TG/LDL-C 呈正相关。

综上所述, 高脂血症中 CETP 水平的升高增强了脂蛋白间脂质转运, 导致 HDL-C 下降, 形成强致病性 LDL, 共同促进了 As 的发生、发展。

### [参考文献]

- [1] de Grooth GJ, Klerks AHM, Stroes ESG, Stalenhoef AFH, Kastelein JJP, Kuivenhoven JA. A review of CETP and its relation to atherosclerosis [J]. *J Lipid Res*, 2004, **45** (11): 1967-974
- [2] Barter PJ, Kastelein JJ. Targeting cholesteryl ester transfer protein for the prevention and management of cardiovascular disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, **47** (3): 492-429
- [3] de Grooth GJ, Smilde TJ, Van Wissen S, Klerks AH, Zwinderman AH. The relationship between cholesteryl ester transfer protein levels and risk factor profile in patients with familial hypercholesterolemia [J]. *Atherosclerosis*, 2004, **173** (2): 261-267
- [4] Fusegawa Y, Kelley KL, Sawyer JK, Shah RN, Rudel LL. Influence of dietary fatty acid composition on the relationship between CETP activity and plasma lipoproteins in monkeys [J]. *J Lipid Res*, 2001, **42** (11): 1849-857
- [5] Foger B, Ritsch A, Doblinger A, Wessels H, Patsch JR. Relationship of plasma cholesteryl ester transfer protein to HDL cholesterol: studies in normotriglyceridemia and moderate hypertriglyceridemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16** (12): 1430-436
- [6] Talo F, Vega GL, Tall AR, Grundy SM. Relation between cholesterol ester transfer protein activities and lipoprotein cholesterol in patients with hypercholesterolemia and combined hyperlipidemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biology*, 1995, **15** (1): 112-120
- [7] 孙翠平, 汪俊军, 庄一义. 脂蛋白电泳结合酶显色测定血清各脂蛋白中甘油三酯及临床应用[J]. *临床检验杂志*, 1999, **17** (4): 203-205
- [8] Zhuang YY, Wang JJ, Oiang HJ, Li Y, Liu XZ. Serum CETP protein levels in healthy Chinese subjects and cardiovascular disease patients [J]. *Clin Chim Acta*, 2001, **305** (1): 19-25
- [9] Hu B, Wang JJ, Zhang CN, Cai H. Positive correlation between in vivo oxidized LDL and LDL immune complexes [J]. *Clin Biochem*, 2004, **37** (1): 72-75
- [10] 孙林, 汪俊军, 庄一义. 脂质转运和脂酶水解对低密度脂蛋白的修饰作用[J]. *基础医学与临床*, 1999, **19** (4): 51-55
- [11] 汪俊军, 陈大为, 张凌, 庄一义. 冠心病患者低密度脂蛋白亚组分颗粒大小的分析[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (2): 124-126
- [12] 汪俊军, 张春妮, 庄一义. 低密度脂蛋白亚组分不同特性在动脉粥样硬化中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (2): 227-229
- [13] Hogue JC, Lamarche B, Gaudet D, Lariviere M, Tremblay AJ, Bergeron J, et al. Relationship between cholesteryl ester transfer protein and LDL heterogeneity in familial hypercholesterolemia [J]. *J Lipid Res*, 2004, **45** (6): 1077-083
- [14] Wang JJ, Zhang YY, Liu XZ, Chen DN. The in vivo oxidized LDL to LDL-cholesterol ratio is correlated with lipid content of LDL [J]. *Atherosclerosis*, 2000, **149** (2): 217-218

(此文编辑 朱雯霞, 李小玲)