

内源性高甘油三酯血症患者载脂蛋白 E 多态性及血脂、载脂蛋白的含量

范平 刘宇 张祖辉 刘秉文 顾华强^①

(华西医科大学基础医学院载脂蛋白研究室, 成都 610041)

主题词 高甘油三酯血症; 载脂蛋白 E; 基因型; 表型; 多态性; 甘油三酯; 胆固醇; 载脂蛋白; 等电聚焦免疫印迹分析法

摘要 为探讨内源性高甘油三酯血症患者载脂蛋白 E 多态性及其与血脂和载脂蛋白水平的关系, 采用等电聚焦免疫印迹分析法、酶法及单向免疫扩散法, 分别对内源性高甘油三酯血症患者及健康受试者的载脂蛋白 E 基因型、表型、空腹血脂及载脂蛋白 AI、B100、CII、CIII 进行了全面分析。结果发现, 与对照组比较, 内源性高甘油三酯血症患者空腹血清甘油三酯、总胆固醇、载脂蛋白 B100、CII、CIII、E 水平明显升高 ($P < 0.001$), 载脂蛋白 AI 明显降低 ($P < 0.001$); 对照组与内源性高甘油三酯血症组载脂蛋白 E 表型及等位基因频率分布以 E3/3 和 $\epsilon 3$ 最高, 对照组载脂蛋白 E2 亚组血清甘油三酯及载脂蛋白 B100 水平较载脂蛋白 E3 或 E4 亚组降低 ($P < 0.05$), 载脂蛋白 E 水平升高 ($P < 0.05$); 而在内源性高甘油三酯血症组并未发现类似改变 ($P > 0.05$)。以上提示, 在正常对照组中, $\epsilon 2$ 可引起低总胆固醇及高载脂蛋白 E 水平, 从而发挥抗动脉粥样硬化的作用, 而内源性高甘油三酯血症患者该保护作用明显下降或消失。

Apolipoprotein E Polymorphism, Plasma Lipids and Apolipoproteins in Chinese Endogenous Hypertriglyceridemia

FAN Ping, LIU Yu, ZHANG Zu-Hui, LIU Bing-Wen and GU Hua-Qiang^①

(Apolipoprotein Research Unit School of Basic Medical Sciences, ^①Clinical Biochemistry Lab of the Fourth Affiliated Hospital, West China University of Medical Sciences, Chengdu 610041, China)

MeSH Hypertriglyceridemia; Apolipoprotein E; Allele; Phenotype; Polymorphism; Triglyceride; Cholesterol; Apolipoproteins; Isoelectric focusing

ABSTRACT **Aim** To study apolipoprotein (apo) E polymorphism and its relationship with plasma lipids and apolipoproteins in Chinese patients with endogenous hypertriglyceridemia (HTG). **Methods** ApoE phenotype was assayed by isoelectric focusing (IEF) and immunoblotting, serum lipids were determined by enzyme method and apolipoproteins were measured by radial immunodiffusion assay in 93 endogenous HTG patients whose fasting serum TG levels were ≥ 2.26 mmol/L, TC < 6.21 mmol/L and 288 healthy subjects whose fasting serum TG levels were < 1.82 mmol/L, TC < 6.21 mmol/L. **Results** The fasting serum TG, TC, apoB100, CII, CIII and E levels were significantly higher and apoAI level was lower in the endogenous HTG group than those in the control group ($P < 0.001$). ApoE phenotype and allele frequency distribution of the endogenous HTG group (E3/3 68.82%, E2/3 17.20%, E3/4 9.68%, E2/4 4.30%, E4/4 0.00%, E2/2 0.00%, $\epsilon 3$ 0.8226, $\epsilon 2$ 0.1075, $\epsilon 4$ 0.0699) was similar to that of the control group (E3/3 72.92%, E2/3 13.54%, E3/4 10.76%, E2/4 1.04%, E4/4 1.74%, E2/2 0.00%, $\epsilon 3$ 0.8507, $\epsilon 2$ 0.0729, $\epsilon 4$ 0.0764). Compared with apoE3 (E3/3) or apoE4 (E3/4 + E4/4) subgroup, apoE2 (E2/3 + E2/2) was associated with lower serum TC and apoB100 levels ($P < 0.05$) and higher apoE level ($P < 0.05$) in the control group, but no significant difference was observed in endogenous HTG group. **Conclusion** The apoE phenotype and allele frequency distribution of the endogenous HTG group was similar to that of the control group. ApoE2 was associated with lower serum TC and apoB100 levels and higher apoE level in the control group.

内源性高甘油三酯血症 (hypertriglyceridemia, HTG) 是我国最常见的高脂血症 [1,2]。它是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 发生的独立危险因素 [3]。近年研究发现, 载脂蛋白 E4 是 As 及老年性痴呆

(Alzheimer 病) 的危险因子, 而载脂蛋白 E2/2 与 III 型高脂血症有关 [4,5]。但载脂蛋白 E 多态性是否与内源性 HTG 有关尚未见报道。因此我们对内源性 HTG 患者及健康受试者的载脂蛋白 E 多态性及其与血脂和载脂蛋白水平的关系进行了全面分析。

本文为卫生部科研基金 (91102009) 部分资助

^①华西医科大学附属第四医院检验科, 成都 610041

1 对象与方法

1.1 对象

内源性高甘油三酯血症组:以空腹 12~14 h 血清甘油三酯 (triglyceride, TG) ≥ 2.26 mmol/L, 总胆固醇 (total cholesterol, TC) < 6.21 mmol/L 为标准, 从成都市体检成人中选择高脂血症 93 例, 男性 82 例, 女性 11 例, 年龄 22~66 岁 (平均 52.5 ± 9.2 岁), 职业多为工人、干部及教师。对照组:288 例健康体检者, 男性 206 例, 女性 82 例, 年龄 21~70 (平均 42.5 ± 12.0 岁)。经询问病史和体检, 排除心、肺、肝、肾及内分泌疾病。空腹血清 TG < 1.82 mmol/L, TC < 6.21 mmol/L, 均为成都市工人、干部及教师。

1.2 血标本收集

抽取空腹 12~14 h 静脉血, 常规分离血清, 置 -70℃ 保存备用。

1.3 载脂蛋白 E 表型测定

按我室建立的微量血清等电聚焦免疫印迹分析法^[6]测定载脂蛋白 E 水平。

1.4 血脂及载脂蛋白测定

血清 TG 和 TC 采用酶法 (北京中生生物技术公司试剂盒) 测定, 载脂蛋白 AI、B100、C II、C III 和 E 按本室研制的单向免疫扩散试剂盒测定。

1.5 统计方法

内源性 HTG 组与对照组载脂蛋白 E 表型及等位基因频率比较采用卡方检验, 血脂和载脂蛋白水平的比较采用 *t* 检验; 两组中不同载脂蛋白 E 表型亚组的血脂与载脂蛋白水平比较采用方差分析; $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 血脂与载脂蛋白水平

从表 1 (Table 1) 可见, 内源性 HTG 组空腹血清 TG、TC、载脂蛋白 B100、C II、C III 及 E 与对照组比较明显升高, 载脂蛋白 AI 明显降低 ($P < 0.001$)。

2.2 载脂蛋白 E 表型和等位基因频率分布

由表 2 (Table 2) 可见, 内源性 HTG 组与对照组均以载脂蛋白 E3/3 和 $\epsilon 3$ 等位基因频率为主, 载脂蛋白 E2/3 和载脂蛋白 E3/4 次之; 内源性 HTG 组载脂蛋白 E2/3、E2/4 以及 $\epsilon 2$ 等位基因频率与对照组比较有增加的趋势, 但无统计学意义。

2.3 不同载脂蛋白 E 表型间血脂与载脂蛋白水平的比较

在对照组, 载脂蛋白 E2 亚组血清 TC 及载脂蛋白 B100 水平较载脂蛋白 E3 或 E4 亚组降低, 载脂蛋白 E 水平明显升高; 而在内源性 HTG 组, 各亚组间

血清 TC、载脂蛋白 B100 及载脂蛋白 E 水平无统计学差异。同时, 不管是对照组还是 HTG 组, 各亚组间血清 TG、载脂蛋白 AI、C II、C III 水平均无统计学差异 (表 3, Table 3)。

表 1. 内源性高甘油三酯血症患者血脂与载脂蛋白水平

Table 1. Plasma lipid and apolipoprotein levels in patients with endogenous hypertriglyceridemia ($\bar{x} \pm s$)

Index	Control (n = 288)	HTG (n = 93)
TG (mmol/L)	1.09 \pm 0.35	4.06 \pm 2.18 ^a
TC (mmol/L)	4.35 \pm 0.79	4.97 \pm 0.74 ^a
apo AI (mg/L)	1256.20 \pm 199.3	1076.90 \pm 164.7 ^a
apo B100 (mg/L)	730.70 \pm 194.3	1112.10 \pm 257.0 ^a
apo C II (mg/L)	38.10 \pm 10.9	71.80 \pm 24.1 ^a
apo C III (mg/L)	102.50 \pm 22.5	199.80 \pm 54.7 ^a
apo E (mg/L)	39.50 \pm 9.40	63.10 \pm 23.8 ^a

a: $P < 0.001$, compared with control group

表 2. 对照组及内源性高甘油三酯血症组载脂蛋白 E 表型及等位基因频率分布

Table 2. Frequency distribution of apoE phenotypes and alleles in endogenous HTG and control groups

Phenotypes	Control		HTG	
	cases	frequency (%)	cases	frequency (%)
E2/2	0	0.00	0	0.00
E2/3	39	13.54	16	17.20
E3/3	210	72.92	64	68.82
E3/4	31	10.76	9	9.68
E4/4	5	1.74	0	0.00
E2/4	3	1.04	4	4.30
total	288	100.00	93	100.00
Allele				
$\epsilon 2$		0.0729		0.1075
$\epsilon 3$		0.8507		0.8226
$\epsilon 4$		0.0764		0.0699
total		1.0000		1.0000

Chi-Square analysis: $P > 0.05$

3 讨论

本研究结果显示, 内源性 HTG 患者空腹血 TG、TC、载脂蛋白 B100、C II、C III 及 E 明显高于对照组, 载脂蛋白 AI 明显降低。内源性 HTG 组与对照组比较, 载脂蛋白 E 表型及等位基因频率总体上相类似, 但内源性 HTG 组载脂蛋白 E2/3 和 E2/4 表型以及 $\epsilon 2$ 等位基因频率较对照组有增加的趋势 ($P > 0.05$)。文献 [4, 5, 7, 8] 报道, 与载脂蛋白 E3 或 E4 相比, 载脂蛋白 E2 对低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 受体和载脂蛋白 E 受体的亲和力更低, 易于使含载脂蛋白 E2 的富含甘油三酯脂蛋白的

表 3. 对照组和内源性高甘油三酯血症组不同载脂蛋白 E 表型间血脂与载脂蛋白水平的比较

Table 3. Serum Lipid or apolipoprotein levels in different apoE phenotype subjects with or without endogenous HTG ($\bar{x} \pm s$)

	Control			HTG		
	E3/ E3/3)	E2/ E2/3)	E4 E3/4 + E4/4)	E3/ E3/3)	E2 E2/3)	E4 E3/4 + E4/4)
n	210	39	36	64	16	9
age (years)	41.9 ± 12.0	43.6 ± 10.5	43.9 ± 12.9	51.5 ± 9.9	56.4 ± 6.0	51.0 ± 9.0
TG (mmol/L)	1.08 ± 0.34	1.09 ± 0.36	1.14 ± 0.39	4.04 ± 2.29	4.27 ± 1.92	4.20 ± 2.46
TC (mmol/L)	4.41 ± 0.80	4.08 ± 0.76 ^a	4.60 ± 0.72	5.01 ± 0.75	4.83 ± 0.70	4.97 ± 0.81
apo AI (mg/L)	1256 ± 200	1256 ± 199	1258 ± 202	1076 ± 159	1139 ± 153	1001 ± 126
apo B100 (mg/L)	738 ± 197	638 ± 164 ^a	785 ± 180	1116 ± 262	1095 ± 230	1108 ± 329
apo C II (mg/L)	37 ± 11	38 ± 11	39 ± 10	68 ± 23	73 ± 23	65 ± 30
apo C III (mg/L)	102 ± 23	104 ± 21	104 ± 24	191 ± 60	201 ± 38	170 ± 49
apo E (mg/L)	38 ± 9	46 ± 11 ^a	38 ± 10	61 ± 22	75 ± 31	62 ± 25

a: $P < 0.05$, compared with E3 or E4 subgroup in control group

个体血中 TG 增加,这可能是某些内源性 HTG 发生的原因之一。Satio 等^[9]体外研究发现,从 III 型或 IV 型高脂血症载脂蛋白 E2/3 个体来源的富含甘油三酯脂蛋白,有明显促进培养人巨噬细胞合成胆固醇酯的作用,从载脂蛋白 E3/3 HTG 患者来源的富含甘油三酯脂蛋白也有类似作用,但作用仅为前者的 1/2,说明载脂蛋白 E2/3 HTG 患者比载脂蛋白 E3/3 HTG 患者患 As 的危险性更大。Kameda 等^[10]与 Haffner 等^[11]报道,载脂蛋白 E2/3 和载脂蛋白 E2/4 的高脂血症患者更易患冠心病。这些结果从不同角度提示,具有 $\epsilon 2$ 等位基因的个体在伴有高脂血症时,载脂蛋白 E2 可能是致 As 作用的危险因子之一。

文献 [4,5]报道,载脂蛋白 E2 有降低血清 TC 及低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 的作用,载脂蛋白 E4 则可升高血清 TC 和 LDLC。本研究结果发现,在对照组,与载脂蛋白 E3 或载脂蛋白 E4 亚组比较,载脂蛋白 E2 亚组血清 TC 及载脂蛋白 B100 降低,载脂蛋白 E 水平明显升高,但在内源性 HTG 组未观察到类似变化。Menzel 等^[12]曾提出 $\epsilon 2$ 等位基因由于降低血清 TC 和 LDLC,因而具有抗 As 作用。作者推测只有在正常血脂者, $\epsilon 2$ 才有这样的作用,一旦 $\epsilon 2$ 携带者伴有高脂血症时, $\epsilon 2$ 对机体的保护作用可能会明显下降或消失,甚至变为致 As 因子,当然,这还需进一步的实验来证实。另外,在本研究中,HTG 组及对照组,均未观察到载脂蛋白 E4 明显升高 TC 及载脂蛋白 B100 的作用,这与文献 [4]报道相异,作者认为这可能有两方面的原因:其一是与 E3 比较,E2 降血清 TC 的幅度一般是 E4 升高血清 TC 幅度的 2~3 倍,即 E2 对 TC 的影响大于 E4^[4]。其二是与欧美国家的人不同,中国人相对低脂高糖膳食,使 E4 升高血清 TC 和 LDLC 的作用减弱。

参考文献

- 1 付明德,刘秉文,吴兆丰,等. 成都地区中年男性高脂血症患者血脂、载脂蛋白含量研究. 华西医科大学学报, 1997, **28** (1): 10-13
- 2 范萍,刘秉文. 内源性高甘油三酯血症患者血浆 VLDL、LDL 及 HDL 脂质与载脂蛋白组成的研究. 华西医科大学学报, 1995, **26** (1): 6-10
- 3 Castelli WP. Lipid, risk factors and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis*, 1996, **124** (Suppl): S1-S9
- 4 Siest G, Thierry P, Anne RB, et al. Apolipoprotein E: An important gene and protein to follow in laboratory medicine. *Clin Chem*, 1995, **41** (8): 1068-1086
- 5 王克勤 (主编). 脂蛋白与动脉粥样硬化. 北京:人民卫生出版社, 1995: 137-168
- 6 张祖辉,范萍,刘秉文,等. 人血清 apoE 表型等点聚焦免疫印迹分析法. 华西医科大学学报, 1998, **29** (1): 102-104
- 7 Sijbrands EJJ, Westendorp RGJ, Hoffer MJV, et al. Effect of apolipoprotein E and insulin resistance on VLDL particles in combined hyperlipidemic patients. *Atherosclerosis*, 1996, **126**: 197-205
- 8 Bohnet K, Thierry P, Sophie V, et al. Apolipoprotein E genotype and apoE concentration determine binding of normal very low density lipoproteins to HepG2 cell surface receptors. *J Lipid Res*, 1996, **37**: 1316-324
- 9 Satio M, Masaaki E, Isao M. Triglyceride-rich lipoproteins from apolipoprotein E3/2 subjects with hypertriglyceridemia enhance cholesteryl ester synthesis in human macrophages. *Atherosclerosis*, 1997, **129**: 73-77
- 10 Kameda K, Matsuzawa Y, Kubo M, et al. Increased frequency of lipoprotein disorders similar to type III hyperlipoproteinemia in survivor myocardial infarction in Japan. *Atherosclerosis*, 1984, **51**: 241
- 11 Haffner SM, Kushwaha RS, Hazzard WR. Metabolism of apolipoprotein B in members of a family with accelerated atherosclerosis: influence of apolipoprotein E3/E2 pattern. *Metabolism*, 1992, **41**: 241
- 12 Menzel HJ, Kladeltsky RG, Assmann G. Apolipoprotein E polymorphism and coronary artery disease. *Arteriosclerosis*, 1983, **3**: 310-315

此文 1998-10-27 收到, 1999-05-07 修回)

此文编辑 朱雯霞)