

中国北方地区汉族人冠心病患者血清胆固醇酯转运蛋白的水平

鄢盛恺¹, 朱燕林², 程澍², 宋耀虹¹, 严晓伟², 朱文玲²

(中国医学科学院中国协和医科大学北京协和医院 1. 检验科; 2. 心内科, 北京市 100730)

[主题词] 胆固醇酯转运蛋白; 脂蛋白, 高密度, 胆固醇; 动脉粥样硬化; 冠状动脉疾病

[摘要] 为分析冠心病患者血清胆固醇酯转运蛋白的水平, 采用病例-对照研究胆固醇酯转运蛋白与血脂、脂蛋白和载脂蛋白水平的相关性。应用酶联免疫吸附试验测定 106 例冠心病患者和 64 例正常对照者血清胆固醇酯转运蛋白浓度, 结果分别为 2.15 ± 0.90 mg/L 和 2.31 ± 1.08 mg/L, 两者差异无显著性 ($P > 0.05$)。相关分析显示, 血清胆固醇酯转运蛋白浓度与其他血脂和脂蛋白水平无显著相关性 ($P > 0.05$)。以上提示, 血清胆固醇酯转运蛋白水平不是中国北方地区汉族人冠心病发生的主要危险因素。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

Serum Cholesteryl Ester Transfer Protein Levels in Patients with Coronary Heart Disease in Han Nationality from Northern China

YAN Sheng-Kai, ZHU Yan-Lin, PENG Shu, SONG Yao-Hong, YAN Xiao-Wei, and ZHU Wen-Ling

(Peking Union Medical College Hospital, CAMS & PUMC, Beijing 100730, China)

[MeSH] Cholesteryl Ester Transfer Protein; Lipoprotein, HDL, Cholesterol; Atherosclerosis; Coronary Heart Disease

[ABSTRACT] **Aim** To determine the serum cholesteryl ester transfer protein (CETP) level in patients with coronary heart disease (CHD) in Han nationality and explore its association with serum lipids, lipoproteins and apolipoproteins levels.

Methods To undertake a case-control study, we detected the serum CETP level in 64 unrelated healthy individuals and 106 patients with evidence of CHD by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results The results showed that there was not statistically different between patients and controls (2.15 ± 0.90 mg/L vs 2.31 ± 1.08 mg/L, $P > 0.05$). No significant correlation was found between CETP concentration and lipids and lipoproteins concentration ($P > 0.05$).

Conclusions There is no significant relation between serum CETP level and CHD in Han nationality from northern China.

胆固醇酯转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 是一种分子量约为 70kDa 的多肽糖蛋白, 其主要功能是促进血浆脂蛋白间胆固醇酯 (cholesterol ester, CE) 和甘油三酯 (triglyceride, TG) 的交换和平衡, 关系到高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 和低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 颗粒大小与脂质组成, 在胆固醇逆向转运中起关键作用。CETP 与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 和冠心病的发生发展关系密切, 但尚无明确结论^[1,2]。本文通过测定冠心病患者和正常人血清 CETP 浓度, 分析血清 CETP 与中国北方地区汉族人冠心病发生的关系及其与血脂和脂蛋白水平的相关性。

1 材料和方法

[收稿日期] 2002-04-28 [修回日期] 2002-08-30

[作者简介] 鄢盛恺, 男, 1969 年出生, 湖北人, 临床检验诊断学专业博士, 副研究员, 研究方向为临床生物化学与免疫方法学、血脂与动脉粥样硬化。

1.1 对象

冠心病组 106 例, 均为 2000 年 2 月~2001 年 6 月在北京协和医院心内科行冠状动脉造影阳性, 并根据 1979 年 WHO 的标准诊断为冠心病的患者。其中男性 81 例, 女性 25 例, 年龄 37~79 岁, 平均年龄 59.96 ± 9.42 岁, 以狭窄 $\geq 75\%$ 为有意义的狭窄。对照组 64 例, 为同期冠状动脉造影阴性, 经有关检查排除冠心病者, 其中男性 31 例, 女性 33 例, 年龄 36~75 岁, 平均年龄 56.95 ± 10.92 岁。上述实验对象均为我国北方地区汉族人, 无血缘关系, 除外糖尿病、肾病综合征、肾功能不全、肝脏疾病、甲状腺和肾上腺疾病等影响脂质代谢的疾病。

1.2 主要仪器与试剂

AU1000/2700 全自动生物化学分析仪系日本 OLYMPUS 公司产品; CliniBio128 型酶标仪系奥地利 ASYS-Hitech 公司产品; 血清总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和 TG 测定采用北京中生公司试剂; 血清高密度脂蛋白胆固醇 (HDL cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL cholesterol, LDLC)、载脂蛋白

(apolipoprotein, Apo) A iv、B、脂蛋白(a)和 CETP 测定采用日本第一化学药品株式会社试剂。其中 CETP 试剂盒内含: 96 孔微样板[抗 CETP 单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb) 3-11D 包被]; 稀释液(pH 5.5 枸橼酸缓冲液); 酶标抗体(辣根过氧化物酶标记 mAb14-8F); 洗液(pH 7.2 磷酸盐缓冲液); 底物(邻苯二胺溶液); 底物缓冲液(pH 5.0 枸橼酸缓冲液配制的 H₂O₂ 溶液)及人血清校准品。

1.3 标本采集

接受冠状动脉造影的研究对象禁食 12~14 h 后,于次日清晨用真空采血系统采外周静脉血,分离血清后-80℃保存待用。

1.4 生物化学测定

血清 TC 和 TG 测定采用酶法; HDLC 和 LDLC 测定采用匀相测定法(homogenous method); 载脂蛋白 A iv、载脂蛋白 B 和脂蛋白(a)均采用免疫透射比浊法(turbidimetric immunoassay, TIA)。以上测定均在 AU1000/2700 型自动生物化学分析仪上进行。

1.5 血清胆固醇酯转运蛋白浓度测定

采用酶联免疫吸附试验。主要步骤为: 抗 CETP mAb3-11D 包被的 96 孔微孔板内加入 1:80 稀释的血清样本 50 μL, 密封微样板, 室温下孵育 2 h, 弃抗原溶液, pH 7.2 磷酸盐缓冲液 350 μL 洗涤 3 次; ④加入酶标抗体 mAb14-8F 50 μL, 密封微孔板, 室温下孵育 1 h 后弃未结合抗体, pH 7.2 磷酸盐缓冲液 350 μL 洗涤 3 次; ④加入底物 50 μL, 室温下孵育 15 min; 加反应终止液硫酸 50 μL 终止反应, 492 nm 波长测定吸光度。将校准品复溶后按比例进行倍比稀释, 与标本同时进行测定, 制备校准曲线。

1.6 统计分析

采用 SPSS 10.0 软件进行统计分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 并进行正态性检验; 2 组间均数分析用非配对 *t* 检验; 3 组间结果比较用单因素方差分析和 *q* 检验; CETP 浓度与其他因素的相关性采用 Spearman 相关分析和多元回归分析。冠心病的危险因素采用 Logistic 回归分析。

2 结果

2.1 冠心病和正常对照组临床资料

冠心病组中吸烟人数明显多于对照组, 体重指数较对照组低($P < 0.05$)。两组男、女之间年龄接近, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。TG、HDLC、载脂蛋白 B 和脂蛋白(a)均为非正态分布, 进行自然对数转换后再进行比较, 冠心病组脂蛋白(a)明显高于对

照组, 而 HDLC 和载脂蛋白 A iv 明显低于对照组, 两组间差异有显著性($P < 0.05$)。见表 1(Table 1)。

表 1. 冠心病患者和正常对照组临床资料($\bar{x} \pm s$)。

Table 1. Characteristics of coronary heart disease and control groups.

Index	Control (n= 64)	CHD (n= 106)
Age (year)	56.95 ± 10.92	59.96 ± 9.42
BMI (kg/m ²)	26.28 ± 2.87	24.84 ± 3.35 ^a
Smoker (%)	25.00	57.55 ^a
Family history of CHD (%)	32.81	26.42
SBP (mm Hg)	130.3 ± 17.5	128.8 ± 20.4
DBP (mm Hg)	77.9 ± 11.1	76.8 ± 12.6
TC (mmol/L)	5.10 ± 1.14	5.05 ± 1.10
TG (mmol/L)	1.86 ± 1.27	1.73 ± 0.77
HDLC (mmol/L)	1.31 ± 0.34	1.21 ± 0.32 ^a
LDLC (mmol/L)	3.22 ± 1.03	3.40 ± 1.04
ApoA iv (g/L)	1.27 ± 0.22	1.13 ± 0.20 ^a
ApoB (g/L)	1.00 ± 0.59	0.95 ± 0.29
Lipoprotein (a) (mg/L)	234 ± 146	314 ± 233 ^a

a: $P < 0.05$, compared with control group.

2.2 冠心病患者血清胆固醇酯转运蛋白水平

冠心病患者与正常对照组血清 CETP 浓度经检验均为正态分布, 浓度分别为 2.15 ± 0.90 mg/L 和 2.31 ± 1.08 mg/L, 两组间差异无显著性($P > 0.05$)。对照组男性与女性血清 CETP 水平无明显差异($P > 0.05$), 而冠心病组女性血清 CETP 水平明显高于男性, 分别为 2.48 ± 0.93 mg/L 和 2.05 ± 0.87 mg/L ($P < 0.05$)。经方差分析发现, 不同冠状动脉病变程度如单支、2 支、3 支及以上组间血清 CETP 水平分别为 2.05 ± 0.80 mg/L ($n = 44$)、2.23 ± 1.06 mg/L ($n = 34$) 和 2.32 ± 0.95 mg/L ($n = 28$), 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 血清胆固醇酯转运蛋白与血脂和脂蛋白水平的关系

将血清 CETP 浓度与血脂水平进行 Spearman 相关和回归分析发现, CETP 浓度与其他血脂、脂蛋白和载脂蛋白水平均无明显相关性($P > 0.05$)。无论按性别或总体分析, CETP 浓度与 HDL 水平呈负向变化, 但无显著相关关系。考虑到年龄、体重指数、吸烟、家族史和血压等因素对 CETP 水平的影响, 进行调整后发现 CETP 浓度在冠心病患者和正常对照组中均表现为女性高于男性, 且在冠心病组有显著差异。将两组合并分析, 女性较男性高 14.3%。

2.4 Logistic 回归分析冠心病的危险因素

以是否患有冠心病作为因变量,以性别、年龄、体重指数、吸烟、家族史、高血压、TC、TG、HDLc、LDLc、载脂蛋白 A iv、载脂蛋白 B、脂蛋白(a)和 CETP 为自变量进行多元 Logistic 回归分析。结果显示,年龄、吸烟和脂蛋白(a)与本组研究人群冠心病发病相关关系显著($P < 0.05$),比数比(OR)分别为 1.409、4.073 和 7.498。CETP 不是冠心病发病的独立危险因素。

3 讨论

测定血清 CETP 浓度的方法主要有早期的放射免疫分析法和目前应用较多的酶联免疫分析法,多数研究应用一些专有多抗或单抗(如 TP-2、3-11D 和 14-8F 等)^[2-5],其中酶联免疫吸附试验因操作简便,无放射性核素污染而被越来越多实验室所采用。

目前国内外报道的不同地区和不同正常人群血清 CETP 浓度差别明显,平均值从高的 2.8 ± 0.6 mg/L 到低的 0.9 ± 0.4 mg/L,不同研究的加权平均值约为 1.8 mg/L^[2]。本研究显示,我国北方地区汉族人血清 CETP 浓度为 2.31 ± 1.08 mg/L,男、女间无明显差异,与庄一义等^[6]报道有一些差异。研究发现南方地区汉族人血清 CETP 浓度为 1.84 ± 1.55 mg/L,低于北方人群,女性明显高于男性(分别为 2.40 ± 1.65 mg/L 和 1.49 ± 1.37 mg/L, $P < 0.001$),且与年龄有关。造成此现象的原因可能与所用方法、抗体、标准品及所选择人群等因素有关。血清 CETP 浓度测定的标准化也是当前需要关注的一个问题。

近来研究显示,遗传因素在 CETP 水平和调节 HDL 代谢方面起重要作用,许多 CETP 基因位点的突变可导致 CETP 活性和水平的改变,从而影响 HDL 水平^[1,2]。Kuivenhoven 等^[7]认为 CETP 基因多态性(如 TaqIB)与血浆 CETP 浓度升高及高 α 脂蛋白血症在白种人中的发生率明显升高相关。国内庄一义等^[8]研究发现南方汉族人心肌梗死和脑卒中患者血清 CETP 水平明显高于正常健康人,CETP 基因 D442G 与 I14A 突变者有显著的脂蛋白异常。但本研究显示,虽然北方地区汉族人冠心病组血清 HDLc 和载脂蛋白 A iv 明显低于对照组,脂蛋白(a)

明显高于对照组,但冠心病患者血清 CETP 水平与对照组无显著性差异,不同冠状动脉病变程度间血清 CETP 水平无明显差异,CETP 水平不是我国北方地区汉族人冠心病发生的主要危险因素,与 Sasai 等^[5]报道也有一定差异。此外,我们还研究发现,冠心病患者 CETP 基因 TaqIB 和 MspI 突变频率与健康人无差别,但基因变异导致血脂和脂蛋白水平的变化,可解释部分血清 HDLc 水平的变异。

胆固醇酯转运蛋白与动脉粥样硬化的关系比较复杂,胆固醇酯转运蛋白具有致动脉粥样硬化或抗动脉粥样硬化两重功能。一方面在一些异常状态如异常 β 脂蛋白血症、家族性高胆固醇血症、混合性高脂蛋白血症、糖尿病、肾病综合征和动脉粥样硬化性心脑血管病等情况下,CETP 基因过度表达,导致 CE 由 HDL 转运至 LDL 和 VLDL 增多,HDLc 减少而非 HDLc 增加,促进动脉粥样硬化形成;而另一方面在其他因素功能正常时,CETP 介导的胆固醇逆向转运途径能正常进行,CETP 的主要作用有利于抗动脉粥样硬化。CETP 在汉族人群冠心病发生中所起作用尚需要从遗传因素和环境因素等方面更深入进行研究探讨。

[参考文献]

- [1] Yamashita S, Hirano K, Sakai N, et al. Molecular biology and pathophysiological aspects of plasma cholesteryl ester transfer protein. *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1** 529: 257-275
- [2] Fielding CJ. Determination and clinical significance of cholesteryl ester transfer protein. In: Rifai N eds. *Handbook of lipoprotein testing (2nd ed)*. Washington DC: AACCC Press, 2000; 499-507
- [3] Glenn KC, Melton MA. Quantification of cholesteryl ester transfer protein: activity and immunochemical assays. *Methods Enzymol*, 1996, **263**: 339-351
- [4] Guyard DV, Lagrost L, Gambert P, et al. Competitive enzyme linked immunosorbent assay of the cholesteryl ester transfer protein. *Clin Chim Acta*, 1995, **231**: 147-160
- [5] Sasai K, Okumura NK, Hibino T, et al. Human cholesteryl ester transfer protein measurement by enzyme-linked immunosorbent assay with monoclonal antibodies against rabbit cholesteryl ester transfer protein: plasma cholesteryl ester transfer protein and lipoproteins among Japanese hypercholesterolemic patients. *Clin Chem*, 1998, **44**: 1 466-473
- [6] 庄一义,汪俊军,刘小传,等. 中国健康人血清胆固醇酯转运蛋白水平. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8**: 289-291
- [7] Kuivenhoven JA, de Knijff P, Boer JM, et al. Heterogeneity at the CETP gene locus. Influence on plasma CETP concentrations and HDL cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 560-568
- [8] 庄一义,汪俊军,强红娟,等. 心脑血管疾病患者胆固醇酯转运蛋白及某些基因缺陷. *中华检验医学杂志*, 2001, **24**: 98-101

(此文编辑 朱文霞)