

## 肥胖者高密度脂蛋白亚类组成与脂蛋白酯酶基因多态性的关系

龙石银<sup>1,2</sup>, 张蓉<sup>1</sup>, 田英<sup>2</sup>, 徐燕华<sup>3</sup>, 傅明德<sup>1</sup>

(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. 南华大学生命科学与技术学院生物化学与分子生物学教研室, 湖南省衡阳市 421001; 3. 华神集团博士后研究工作站, 四川省成都市 610075)

[关键词] 医学生物化学; 高密度脂蛋白亚类组成与脂蛋白酯酶基因多态性; 双向电泳免疫印迹检测法; 高密度脂蛋白亚类; 脂蛋白酯酶; 基因多态性; 肥胖

[摘要] 目的 探讨肥胖者高密度脂蛋白亚类组成与脂蛋白酯酶基因内含子 8 Hind<sup>Ⅳ</sup>酶切位点多态性的关系。方法 采用聚合酶链反应限制性片长多态性和双向电泳免疫印迹检测法, 分析 95 例肥胖者和 144 例体质指数正常者的脂蛋白酯酶基因内含子 8 Hind<sup>Ⅳ</sup>多态性、高密度脂蛋白亚类组成及相对百分含量。结果 肥胖组和对照组均以 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 基因型为主。肥胖组血浆甘油三酯、载脂蛋白 B100、C<sup>Ⅲ</sup>、C<sup>Ⅳ</sup>E、前β<sub>1</sub> 高密度脂蛋白水平及甘油三酯/高密度脂蛋白胆固醇较对照组增加, 而高密度脂蛋白胆固醇、载脂蛋白 AI、高密度脂蛋白 2b 水平及载脂蛋白 E/C<sup>Ⅳ</sup> 明显降低 ( $P < 0.05$ )。肥胖组 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 基因型者与 H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 者比较, 血清甘油三酯、载脂蛋白 B100、前β<sub>1</sub> 高密度脂蛋白、高密度脂蛋白 3b 含量显著升高, 而载脂蛋白 E/载脂蛋白 C<sup>Ⅳ</sup> 高密度脂蛋白 2a 和高密度脂蛋白 2b 显著降低; 肥胖组 H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> 基因型者与 H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 者比较, 载脂蛋白 B100、前β<sub>1</sub> 高密度脂蛋白和高密度脂蛋白 3b 含量显著升高, 而载脂蛋白 E/C<sup>Ⅳ</sup> 和高密度脂蛋白 2a 显著降低 ( $P < 0.05$ )。对照组 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 及 H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> 基因型者血清载脂蛋白 C<sup>Ⅲ</sup>、载脂蛋白 C<sup>Ⅳ</sup> 和高密度脂蛋白 3a 含量均较 H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 者显著升高, 而载脂蛋白 E/载脂蛋白 C<sup>Ⅳ</sup> 高密度脂蛋白 2a、高密度脂蛋白 2b 显著降低 ( $P < 0.05$ )。结论 脂蛋白酯酶基因 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 基因型与肥胖者增高的甘油三酯水平有关。中国人脂蛋白酯酶基因 Hind<sup>Ⅳ</sup>酶切位点多态性与高密度脂蛋白亚类的组成和分布相关, H<sup>+</sup> 等位基因携带者高密度脂蛋白颗粒有变小的趋势, 且肥胖者更为明显, 表明 H<sup>+</sup> 等位基因携带者高密度脂蛋白成熟代谢障碍。

[中图分类号] R

[文献标识码] A

### Relationship between High Density Lipoprotein Subclasses Distribution and Lipoprotein Lipase Gene Hind<sup>Ⅳ</sup> Polymorphism in Obese Subjects

LONG Shi-Yin<sup>1,2</sup>, ZHANG Rong<sup>1</sup>, TIAN Ying<sup>2</sup>, XU Yan-Hua<sup>3</sup>, and FU Ming-De<sup>2</sup>

(1. Department of Biochemistry, West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 61004; 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nanhua University, Hengyang 421001; 3. Hoist Group Postdoctoral Work Station, Chengdu 610075, China)

[KEY WORDS] High Density Lipoprotein Subclasses; Lipoprotein Lipase; Gene Polymorphism; Obesity; Body Mass Index; Lipoprotein Lipase Hind<sup>Ⅳ</sup> Polymorphism

[ABSTRACT] **Aim** To elucidate the relationship between lipoprotein lipase (LPL) gene Hind<sup>Ⅳ</sup> polymorphism and plasma lipid profiles and HDL subclasses in obesity. **Methods** LPL gene Hind<sup>Ⅳ</sup> polymorphism was assayed by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The subclasses of serum HDL in 95 obese subjects and 144 nonobese subjects were determined by two dimensional gel electrophoresis conjunction with immunodetection method. **Results**

Both in obese group and control group, the H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> homozygote and H<sup>+</sup> allele were the major allelotype. There was no statistically significant difference in frequencies of genotypes or alleles between two groups. Obese group had higher plasma triglycerides, apoB100, apoC<sup>Ⅲ</sup>, apoC<sup>Ⅳ</sup> apoE, preβ<sub>1</sub>-HDL levels and TG/HDLC, but lower HDLC, apoAI, HDL2b, apoE/C<sup>Ⅳ</sup> compared with control group ( $P < 0.05$ ). In obese group, Hind<sup>Ⅳ</sup>H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> had higher plasma triglycerides than H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> genotype. Compared with H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> genotype, the subjects with H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> and H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> genotypes had higher apoB100, preβ<sub>1</sub>-HDL, HDL3b levels but lower apoE/C<sup>Ⅳ</sup>, HDL2a, HDL2b. In control group, the genotypes of H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> and H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> showed higher apoC<sup>Ⅲ</sup>, apoC<sup>Ⅳ</sup> HDL3b levels, but lower apoE/C<sup>Ⅳ</sup> HDL2a, HDL2b levels compared with the genotype of H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions** H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> genotype was associated with higher plasma TG levels of obesity. LPL gene polymorphism was associated with plasma levels as well as associated with changes of HDL subclasses distribution in Chinese population. And the

[收稿日期] 2005-05-07 [修回日期] 2006-02-03

[基金项目] 纽约中华医学基金会(CMB)资助(编号 82-412)

[作者简介] 龙石银, 博士研究生, 讲师, E-mail 为 longshiyin@163.com。张蓉, 教授, 硕士研究生导师。通讯作者傅明德, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为载脂蛋白与动脉粥样硬化关系, 联系电话为 028-85502510, E-mail 为 fumingde@126.com。

particle size of HDL tended to be smaller in H<sup>+</sup> allele carrier<sup>7</sup> subjects, furthermore, the tendency was more obvious in obese group, which indicated that HDL maturation might be abnormal in subjects with H<sup>+</sup> allele.

肥胖是一种与遗传性因素、代谢及行为因素等相关的多因素疾病。肥胖对机体的危害主要是发生肥胖并发症,可引起一系列激素和脂质代谢紊乱,与高脂血症(hyperlipemia, HL)、糖尿病、动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)和冠心病(coronary heart disease, CHD)等密切相关。高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)主要功能是促进胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT),可将外周组织胆固醇转运至肝脏代谢并清除而具有抗 As 的作用。HDL 各亚类在胆固醇逆向转运中分别发挥不同作用,近年研究发现 HDL 亚类组成和颗粒大小与 HL、As 及冠心病发生相关<sup>[1-5]</sup>,可作为评价 As、冠心病危险性及其严重程度的一个指标,但其机理尚未阐明。脂蛋白酯酶(lipoprotein lipase, LPL)是乳糜微粒(chylomicrons, CM)和极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)降解的关键酶,在甘油三酯(triglyceride, TG)水解过程中起着关键作用,同时还参与 VLDL 和 HDL 之间的载脂蛋白和磷脂的转换。LPL 基因位于 8P22,长约 35 kb,由 10 个外显子和 9 个内含子组成,编码 475 个氨基酸的蛋白质。已报道 LPL 基因的突变有近百种<sup>[6]</sup>,LPL 基因缺陷与脂质代谢紊乱、肥胖及冠心病等均有关系<sup>[7-9]</sup>。迄今肥胖者 LPL 基因内含子 8 Hind<sup>Ⅲ</sup>位点多态性与 HDL 亚类颗粒变化之间的关系未见报道。本研究分析肥胖者 LPL 基因多态性及其 HDL 亚类组成和相对百分含量,探讨中国人肥胖者 LPL 基因多态性与 HDL 亚类变化的规律,对进一步阐明肥胖者发生 As 及冠心病的发病机制具有重要意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

研究对象为四川大学、四川师范大学和南华大学的教职工,少部分为体检者,共 239 例。按体质指数(body mass index, BMI)将研究对象分为 2 组。肥胖组 BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>,共 95 例,其中男性 64 例,女性 31 例,年龄 33~78 岁,平均 50.9 $\pm$ 11.6 岁。对照组 BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>,共 144 例,其中男性 89 例,女性 55 例,年龄 34~75 岁,平均 51.1 $\pm$ 10.9 岁。所有受试者近 1 个月内未服用过调脂药物,均经询问病史和体检,排除心、肺、肝、肾、内分泌及其它脂代谢相关疾病。

### 1.2 体质指数计算

所有受试者均测量身高、体重,并计算 BMI, BMI = 体重(kg)/身高的平方(m<sup>2</sup>)。

### 1.3 血基因组 DNA 分离

取空腹 12~14 h 静脉血,EDTA 抗凝,按微量全血提取法提取基因组 DNA, -20℃保存备用。

### 1.4 聚合酶链反应扩增

聚合酶链反应引物按张秋萍等<sup>[10]</sup>方法设计,为 5'-GAT GTC ACC TGG ATA ATC AAA G-3'; 5'-CTT CAG CTA GAC ATT GCT AGT GT-3',其扩增产物为 365 bp。聚合酶链反应总体积 25  $\mu$ L,包括 0.6  $\mu$ g 的基因组 DNA、50  $\mu$ mol/L 引物、10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.3)、50 mmol/L KCl、0.01% 明胶、200  $\mu$ mol/L dNTP、1.5 U Taq 酶和 20 mmol/L MgCl。聚合酶链反应参数为变性 94℃ 1 min,退火 56℃ 1 min,延伸 72℃ 1 min,35 个循环后,72℃ 延伸 10 min。取 10  $\mu$ L 聚合酶链反应产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,在紫外光下呈现 365 bp 特异扩增产物。

### 1.5 限制性片长多态性分析

取聚合酶链反应扩增产物 10  $\mu$ L,加入 2 U 限制性内切酶 Hind<sup>Ⅲ</sup>酶解反应缓冲液 2  $\mu$ L,37℃ 消化过夜。取消化液在 2% 琼脂糖凝胶板上于 1 $\times$ TAE 缓冲液 150 V 电泳 2 h,溴乙锭染色后在紫外灯下显示 DNA 带并拍照。

### 1.6 血脂及载脂蛋白含量的测定

血清 TG、总胆固醇(total cholesterol, TC)及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 AI、B100、C<sup>Ⅲ</sup>、C<sup>Ⅳ</sup>及 E 含量均采用本室研制的单向免疫扩散试剂盒测定。低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)按 Friedwald 公式(TG < 4.52 mmol/L 者)计算<sup>[11]</sup>。

### 1.7 高密度脂蛋白亚类免疫印迹试验

按本室建立的人血清 HDL 亚类免疫印迹法进行测定<sup>[12]</sup>。

### 1.8 统计学处理

采用 SPSS11.0 统计软件,肥胖组与对照组基因型频率采用基因计数法,以 Hardy-Weinberg 平衡检验确认样本的群体代表性,等位基因频率的比较用  $\chi^2$  检验;两组间血脂、载脂蛋白水平及 HDL 亚类的比较用 *t* 检验;不同基因型间的差异用 ANOVA 分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果

### 2.1 脂蛋白酯酶基因 Hind III 酶切位点多态性

脂蛋白酯酶基因内含子 8 聚合酶链反应扩增产物为 365 bp, 经限制性核酸内切酶 Hind III 消化后, LPL 基因内含子 8 Hind III 基因型有 3 种: H<sup>+</sup> H<sup>+</sup> 基因型(205 bp、160 bp)、H<sup>+</sup> H<sup>-</sup> 基因型(365 bp、205 bp 和

160 bp) 和 H<sup>-</sup> H<sup>-</sup> 基因型(365 bp, 无 Hind III 酶切位点)。肥胖组和对照组经 Hardy-Weinberg 平衡分析, 具有群体代表性。

### 2.2 脂蛋白酯酶基因 Hind III 酶切位点基因型和等位基因频率分布

两组均以 H<sup>+</sup> H<sup>+</sup> 基因型为主, 等位基因以 H<sup>+</sup> 为主, 两组基因型分布和等位基因频率差异均无显著性(表 1)。

表 1. 肥胖组与对照组脂蛋白酯酶 Hind III 酶切位点基因型分布的比较

分 组	n	脂蛋白酯酶基因型			等位基因频率	
		H <sup>+</sup> H <sup>+</sup>	H <sup>+</sup> H <sup>-</sup>	H <sup>-</sup> H <sup>-</sup>	H <sup>+</sup>	H <sup>-</sup>
肥胖组	95	66(69.5%)	23(24.2%)	6(6.3%)	77.5(81.6%)	17.5(18.4%)
对照组	144	97(67.4%)	39(27.1%)	8(5.6%)	116.5(80.9%)	27.5(19.1%)

卡方检验: 肥胖组与对照组比较, P > 0.05。

### 2.3 血脂、载脂蛋白水平及高密度脂蛋白亚类相对含量

肥胖组体重、体质指数、血浆 TG、载脂蛋白 B100、C Ⅲ、C Ⅳ、E 和前 β<sub>1</sub>-HDL 水平及 TG/HDLC 较对照组增加, 而 HDLC、载脂蛋白 AI、HDL2b 水平及载脂蛋白 E/C Ⅳ较对照组降低, 其差异有显著性(P < 0.05)(表 2)。

### 2.4 脂蛋白酯酶基因 Hind III 酶切位点不同基因型亚组血脂、载脂蛋白水平及高密度脂蛋白亚类相对含量的比较

肥胖组 H<sup>+</sup> H<sup>+</sup> 基因型者与 H<sup>-</sup> H<sup>-</sup> 基因型者比较, 血清 TG、载脂蛋白 B100、前 β<sub>1</sub>-HDL、HDL3b 含量显著升高, 而载脂蛋白 E/载脂蛋白 C Ⅳ、HDL2a、HDL2b 显著降低; 肥胖组 H<sup>+</sup> H<sup>-</sup> 基因型者与 H<sup>-</sup> H<sup>-</sup> 基因型者比较, 载脂蛋白 B100、前 β<sub>1</sub>-HDL、HDL3b 含量显著升高, 而载脂蛋白 E/载脂蛋白 C Ⅳ、HDL2a 显著降低, 其差异有显著性(P < 0.05)。对照组 H<sup>+</sup> H<sup>+</sup> 及 H<sup>+</sup> H<sup>-</sup> 基因型者血清载脂蛋白 C Ⅲ、载脂蛋白 C Ⅳ、HDL3a 含量均较 H<sup>-</sup> H<sup>-</sup> 者显著升高, 而载脂蛋白 E/载脂蛋白 C Ⅳ、HDL2a、HDL2b 显著降低, 其差异有显著性(P < 0.05)(表 3)。

## 3 讨论

随着生活水平的不断提高, 肥胖的发生率日益增加。LPL 基因是肥胖发生的一个重要候选基因, 其内含子 8 区的 Hind III 位点多态性与体内血脂水平和 BMI 等密切相关<sup>[7, 13]</sup>。我们分析了 95 例肥胖者

表 2. 肥胖组与对照组血脂和载脂蛋白含量的比较( $\bar{x} \pm s$ )

项 目	对照组(n= 144)	肥胖组(n= 95)
年龄(岁)	51.1 ± 11.6	50.9 ± 11.6
体重(kg)	59.2 ± 6.7	74.1 ± 10.0 <sup>b</sup>
体质指数(kg/m <sup>2</sup> )	22.2 ± 1.9	27.1 ± 2.0 <sup>b</sup>
甘油三脂(mmol/L)	1.91 ± 0.74	3.19 ± 1.08 <sup>b</sup>
总胆固醇(mmol/L)	5.47 ± 1.01	5.51 ± 0.84
HDLC(mmol/L)	1.26 ± 0.42	1.04 ± 0.25 <sup>b</sup>
LDLC(mmol/L)	3.24 ± 0.95	3.18 ± 0.74
载脂蛋白 AI(mg/L)	1267.2 ± 194.2	1185.1 ± 181.8 <sup>b</sup>
载脂蛋白 A Ⅲ(mg/L)	289.6 ± 7.06	278.2 ± 6.14
载脂蛋白 B100(mg/L)	881.0 ± 226.0	957.6 ± 196.4 <sup>b</sup>
载脂蛋白 C Ⅲ(mg/L)	68.5 ± 38.8	85.1 ± 37.8 <sup>b</sup>
载脂蛋白 C Ⅳ(mg/L)	156.8 ± 72.7	189.0 ± 79.7 <sup>b</sup>
载脂蛋白 E(mg/L)	52.5 ± 23.6	58.7 ± 19.9 <sup>a</sup>
TG/HDLC	1.56 ± 1.29	3.38 ± 2.28 <sup>b</sup>
载脂蛋白 E/C Ⅳ	0.36 ± 0.13	0.33 ± 0.10 <sup>a</sup>
preβ <sub>1</sub> -HDL	8.5% ± 3.4%	10.2% ± 3.8% <sup>b</sup>
preβ <sub>2</sub> -HDL	4.6% ± 1.5%	4.8% ± 1.4%
HDL3c	6.0% ± 2.2%	5.7% ± 2.2%
HDL3b	11.8% ± 3.8%	11.9% ± 3.8%
HDL3a	23.5% ± 5.9%	24.0% ± 6.2%
HDL2a	20.0% ± 4.7%	20.3% ± 5.0%
HDL2b	25.5% ± 8.0%	23.2% ± 8.0% <sup>a</sup>

a 为 P < 0.05, b 为 P < 0.01, 与对照组比较。

表 3. 脂蛋白酯酶基因 Hind Ⅲ酶切位点不同基因型亚组血脂、载脂蛋白水平及高密度脂蛋白亚类相对含量的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

指 标	对照组			肥胖组		
	H <sup>+</sup> H <sup>+</sup>	H <sup>+</sup> H <sup>-</sup>	H <sup>-</sup> H <sup>-</sup>	H <sup>+</sup> H <sup>+</sup>	H <sup>+</sup> H <sup>-</sup>	H <sup>-</sup> H <sup>-</sup>
<i>n</i>	97	39	8	66	23	6
体质指数 (kg/m <sup>2</sup> )	22.2 ± 1.8	22.2 ± 1.9	21.9 ± 2.4	27.3 ± 2.1	26.7 ± 1.6	26.5 ± 2.1
甘油三酯 (mmol/L)	2.01 ± 0.86	1.81 ± 0.63	1.38 ± 0.42	3.39 ± 1.77 <sup>a</sup>	3.04 ± 2.08	2.15 ± 1.00
总胆固醇 (mmol/L)	5.45 ± 1.12	5.54 ± 0.67	5.36 ± 0.94	5.56 ± 0.87	5.55 ± 0.76	5.00 ± 0.67
HDLc (mmol/L)	1.24 ± 0.43	1.27 ± 0.43	1.39 ± 0.19	1.05 ± 0.26	1.03 ± 0.23	1.06 ± 0.14
LDLc (mmol/L)	3.18 ± 1.00	3.39 ± 0.78	3.34 ± 1.02	3.15 ± 0.81	3.36 ± 0.53	2.97 ± 0.66
载脂蛋白 A iv (mg/L)	1 267 ± 313	1 325 ± 177	1 228 ± 271	1 179 ± 173	1 181 ± 163	1 242 ± 281
载脂蛋白 A Ⅰ (mg/L)	290 ± 78	287 ± 36	294 ± 44	280 ± 54	271 ± 54	284 ± 120
载脂蛋白 B100 (mg/L)	886 ± 231	889 ± 229	756 ± 36	965 ± 191 <sup>a</sup>	991 ± 199 <sup>a</sup>	827 ± 196
载脂蛋白 C Ⅰ (mg/L)	70 ± 41 <sup>a</sup>	69 ± 33 <sup>a</sup>	42 ± 17	87 ± 37	86 ± 42	71 ± 34
载脂蛋白 C Ⅱ (mg/L)	160 ± 76 <sup>a</sup>	157 ± 63 <sup>a</sup>	107 ± 43	196 ± 79	186 ± 89	146 ± 47
载脂蛋白 E (mg/L)	53 ± 25	52 ± 20	44 ± 13	60 ± 20	55 ± 20	57 ± 23
TG/HDLc	1.62 ± 1.12	1.24 ± 1.05	1.03 ± 0.39	3.56 ± 2.20	3.35 ± 2.74	2.09 ± 1.24
载脂蛋白 E/C Ⅱ	0.36 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.36 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.26	0.33 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.13
pre $\beta$ -HDL	8.7% ± 3.5%	8.4% ± 3.3%	7.1% ± 2.4%	10.5% ± 3.8% <sup>b</sup>	9.7% ± 3.6% <sup>a</sup>	6.4% ± 1.8%
pre $\beta$ 2-HDL	4.6% ± 1.6%	4.6% ± 1.5%	4.2% ± 1.1%	4.9% ± 1.4%	5.0% ± 1.5%	4.0% ± 1.0%
HDL3c	6.1% ± 2.2%	6.0% ± 2.0%	5.0% ± 2.1%	5.7% ± 2.2%	5.9% ± 2.2%	5.0% ± 1.6%
HDL3b	11.7% ± 3.7%	12.4% ± 3.8%	10.3% ± 4.5%	12.3% ± 3.8% <sup>a</sup>	11.6% ± 4.0% <sup>a</sup>	9.0% ± 1.6%
HDL3a	23.8% ± 5.9% <sup>a</sup>	23.5% ± 6.2% <sup>a</sup>	18.6% ± 3.4%	24.5% ± 6.0%	23.3% ± 6.9%	22.0% ± 5.1%
HDL2a	19.9% ± 4.6% <sup>b</sup>	19.7% ± 4.7% <sup>b</sup>	24.1% ± 4.9%	19.9% ± 5.2% <sup>a</sup>	19.7% ± 4.3% <sup>a</sup>	24.4% ± 3.4%
HDL2b	25.2% ± 8.0% <sup>a</sup>	25.3% ± 7.9% <sup>a</sup>	30.7% ± 6.2%	22.0% ± 7.9% <sup>a</sup>	24.4% ± 8.7%	29.2% ± 3.3%

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 基因型与同一组中 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 和 H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> 基因型比较。

和 144 例对照者 LPL 基因 Hind Ⅲ酶切位点多态性结果表明, 两组均以 H<sup>+</sup> 等位基因及 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 基因型为主, 但两组基因型分布和等位基因频率差异均无显著性, 与国内外的报道一致<sup>[9, 14]</sup>。

肥胖组 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 基因型者与 H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 者比较, 血浆 TG 明显升高, 与 Jemaa 等<sup>[8]</sup>报道一致, 表明肥胖人群 Hind Ⅲ基因型对血浆 TG 代谢存在影响; H<sup>+</sup>H<sup>+</sup>、H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> 基因型者与 H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 者比较, 载脂蛋白 B100 含量显著升高, 而载脂蛋白 E/载脂蛋白 C Ⅱ显著降低 ( $P < 0.05$ )。对照组 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 及 H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> 基因型者血清载脂蛋白 C Ⅰ、载脂蛋白 C Ⅱ含量均较 H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 者明显升高, 而载脂蛋白 E/载脂蛋白 C Ⅱ显著降低, 其差异有显著性。表明中国人 LPL 基因 Hind Ⅲ位点 H<sup>+</sup> 等位基因与血脂异常有一定的关系。

高密度脂蛋白分子极不均一, 分为前  $\beta$ -HDL (前  $\beta$ 1-HDL、前  $\beta$ 2-HDL) 和  $\alpha$ -HDL (HDL3c、3b、3a、2a、2b) 两大类。肝脏合成缺脂的盘状小颗粒 HDL 接受周围组织过剩的胆固醇, 经前  $\beta$ 1-HDL  $\rightarrow$  前  $\beta$ 2-HDL  $\rightarrow$  HDL3  $\rightarrow$  HDL 递变代谢过程而成熟。HDL 代谢过程

紊乱, 亚类的组成和分布异常与动脉粥样硬化性疾病密切相关。血清 HDL 亚类相对含量分析显示, 肥胖组 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 基因型者与 H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 者比较, 前  $\beta$ 1-HDL 和 HDL3b 含量显著升高, 而 HDL2a 和 HDL2b 显著降低; H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> 基因型者与 H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 者比较, 前  $\beta$ 1-HDL、HDL3b 含量显著升高, 而 HDL2a 显著降低 ( $P < 0.05$ )。对照组 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 及 H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> 基因型者血清 HDL3a 含量均较 H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> 者明显升高, 而 HDL2a、HDL2b 显著降低, 其差异有显著性。表明中国人 LPL 基因 Hind Ⅲ位点 H<sup>+</sup> 等位基因其小颗粒的前  $\beta$ 1-HDL 含量明显增加, 而大颗粒 HDL2b 含量显著减少, HDL 成熟代谢受阻。我们进一步比较 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 型 HDL2b/前  $\beta$ 1-HDL 的比值, 肥胖组为 2.1, 而对照组为 2.9, 说明肥胖组 H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> 型 HDL 亚类大颗粒减少更加明显。此结果与 Sasahara 等<sup>[15]</sup>及我们以往的研究结果<sup>[16]</sup>基本一致, 这可能与肥胖者血浆 TG 水平升高有关<sup>[17]</sup>。研究发现当血浆 TG 水平升高时, 肝脂酶 (HTGL) 及胆固醇酯转运蛋白 (CETP) 活性增加, 卵磷脂胆固醇酰基转移酶 (LCAT) 和 LPL 活性降低。这些酶活性

改变必然引起 HDL 成熟代谢过程障碍,造成血清小颗粒 pre $\beta$ -HDL 和 HDL3 水平的升高,大颗粒 HDL 减少<sup>[1]</sup>。另外,研究发现肥胖者由于胰岛素抵抗产生的高胰岛素血症引起 HTGL 活性增强,LPL 活性降低以及血清 TG 水平升高,也协同使肥胖者 HDL 颗粒有变小的趋势<sup>[16,17]</sup>。脂蛋白酯酶主要催化 CM 和 VLDL 中的 TG 分解。LPL 介导的脂解作用还可促进脂蛋白间的脂质交换,使 CM 和 VLDL 中磷脂和载脂蛋白(如载脂蛋白 AI、A II、AIV、C)转移到 HDL 颗粒上,HDL3 最终转变成为颗粒相对较大的 HDL<sup>[18]</sup>。因此,LPL 在 HDL 成熟过程中也发挥重要的作用。 $H^+$  等位基因引起高 TG 水平及载脂蛋白异常的原因尚未明确。LPL 基因 Hind III 酶切位点多态性发生在内含子 8 区,该位点的变异并不直接影响 LPL 氨基酸序列及酶蛋白的结构与功能,因此,多数学者认为 LPL 基因 Hind III 多态性可能是与 LPL 基因的某些功能基因或其他基因的突变发生连锁不平衡,从而影响这个基因产物的结构与功能;或者是引起基因侧翼序列的核苷酸的改变而影响基因表达的调节,间接使邻近基因发生突变而导致 LPL 活性降低,从而使 VLDL、CM 中的 TG 分解代谢缓慢,引起血浆 TG 水平升高及 HDL3 向 HDL 的转变减少等改变<sup>[7,19,20]</sup>。Ukkola 等<sup>[21]</sup>报道,肝素化后, $H^+ H^- / H^+ H^+$  基因型者 LPL 活性增加而  $H^+ H^+$  基因型者其活性下降。由于 LPL 活性降低,对 TG 的水解作用减弱,进而影响 CM 表面的载脂蛋白和游离胆固醇转移至 HDL 颗粒,使 HDL3 转变为 HDL 的过程障碍。Rinninger 等<sup>[22]</sup>报道,LPL 促进 BHK 细胞(Baby hamster kidney cells)对 HDL3 的选择性摄取,而此过程不依赖 SR-BI 和脂肪水解。因此,肝脏和固醇类合成组织如肾上腺、卵巢等对 HDL3 选择性摄取降低也可能导致血浆小颗粒 HDL 增多。因此, $H^+$  等位基因携带者 HDL 颗粒变小的趋势更加明显,其 HDL 成熟代谢障碍更为严重。

本研究结果表明,LPL 基因  $H^+ H^+$  基因型与肥胖者增高的 TG 水平有关。中国人脂蛋白酯酶基因 Hind III 酶切位点多态性与 HDL 亚类的组成和分布相关, $H^+$  等位基因携带者 HDL 颗粒有变小的趋势,且肥胖者更为明显,表明  $H^+$  等位基因携带者 HDL 成熟代谢障碍。

#### [参考文献]

- [1] Xu Y, Fu M. Alterations of HDL subclasses in hyperlipidemia[J]. *Clin Chim Acta*, 2003, **332** (1): 95-102
- [2] Asztalos BF, Schaefer EJ. High density lipoprotein subpopulations in pathologic conditions[J]. *Am J Cardiol*, 2003, **91** (7A): 12E-17E
- [3] Asztalos BF, Roheim PS, Milani R, Lefevre M, McNamara JR, Horvath KV, et al. Distribution of apoA1-containing HDL subpopulations in patients with coronary heart disease[J]. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (25): 2 670-676
- [4] Asztalos BF, Cupples LA, Demissie S, Horvath KV, Cox CE, Batista MC, et al. High density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the Framingham Offspring Study[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (11): 2 181-187
- [5] Ashavaid TF, Todur SP, Nair KG. Apolipoprotein E polymorphism and coronary heart disease[J]. *J Assoc Physicians India*, 2003, **51**: 784-788
- [6] Murthy V, Julien P, Gagne C. Molecular pathobiology of the human lipoprotein lipase gene[J]. *Pharmacol Ther*, 1996, **70**: 101-135
- [7] Vohl MC, Lamarche B, Moorjani S, Prud'homme D, Nadeau A, Bouchard C, et al. The lipoprotein lipase Hind III polymorphism modulates plasma triglyceride levels in visceral obesity[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15** (5): 714-720
- [8] Jemaa R, Tuzet S, Portos C, Betoulle D, Apfelbaum M, Fumeron F. Lipoprotein lipase gene polymorphisms: associations with hypertriglyceridemia and body mass index in obese people[J]. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1995, **19** (4): 270-274
- [9] Ahn YI, Kamboh MI, Hamman RF, Cole SA, Ferrell RE. Two DNA polymorphisms in the lipoprotein lipase gene and their associations with factors related to cardiovascular disease[J]. *J Lipid Res*, 1993, **34** (3): 421-428
- [10] 张秋萍,刘秉文,刘宇,张蓉,张荣爵,江渝,等. 中国人内源性高甘油三酯血症患者脂蛋白酯酶及肝酯酶常见基因变异的研究[J]. *中华医学遗传学杂志*, 1997, **14** (5): 289-293
- [11] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge[J]. *Clin Chem*, 1972, **18**: 499-502
- [12] 吴新伟,傅明德,刘秉文,邓萍. 人血清 HDL 亚类免疫印迹检测法[J]. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (3): 253-255
- [13] Kern PA. Potential role of TNF $\alpha$  and lipoprotein lipase as candidate genes for obesity[J]. *J Nutr*, 1997, **127** (9): 1 917S-922S
- [14] 李蓉,李启富,郭立新,汪恕萍. 单纯性肥胖患者脂蛋白酯酶基因多态性[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2003, **19** (3): 225-227
- [15] Sasahara T, Yamashita T, Sviridov D, Fidge N, Nestel P. Altered properties of high density lipoprotein subfractions in obese subjects[J]. *J Lipid Res*, 1997, **38** (3): 600-611
- [16] 徐燕华,傅明德,徐勇霞,刘秉文. 肥胖者血清高密度脂蛋白亚类组成的研究[J]. *华西医科大学学报*, 2001, **32** (4): 509-512
- [17] Guendouz K, Jaspard B, Barbaras R. Biochemical and physical properties of remnant-HDL2 and of free beta1-HDL produced by hepatic lipase[J]. *Biochemistry*, 1999, **38** (9): 2 762-768
- [18] Goldberg IJ. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis[J]. *J Lipid Res*, 1996, **37** (4): 693-707
- [19] Chamberlain JC, Thorn JA, Oka K, Galton DJ, Stocks J. DNA polymorphism at lipoprotein lipase gene: Associations in normal and hypertriglyceridaemia subjects[J]. *Atherosclerosis*, 1989, **79** (1): 85-91
- [20] Heizmann C, Kirchgessner T, Kwiterovich PO, Ladias JA, Derby C, Arronarakis SE, et al. DNA polymorphism haplotypes of the lipoprotein lipase gene: possible association with high density lipoprotein levels[J]. *Human Genetic*, 1991, **86**: 578-584
- [21] Ukkola O, Tremblay A, Bouchard C. Lipoprotein lipase polymorphisms and responses to long-term overfeeding[J]. *J Intern Med*, 2002, **251** (5): 429-436
- [22] Rinninger F, Brundert M, Brosch I, Donarski N, Budzinski RM, Gretten H. Lipoprotein lipase mediates an increase in selective uptake of HDL-associated cholesteryl esters by cells in culture independent of scavenger receptor BI[J]. *J Lipid Res*, 2001, **42** (11): 1 740-751

(此文编辑 朱雯霞)