

冠心病患者血清载脂蛋白 A5 的变化及其与血脂和脂蛋白的关系

杨轶文, 陈焕芹, 常 静, 邱 蕾

(山东大学齐鲁医院干部保健科, 山东省济南市 250012)

[关键词] 内科学; 载脂蛋白 A5; 甘油三酯; 血脂代谢; 冠心病; 相关性; 酶联免疫吸附法

[摘要] 目的 探讨冠心病患者血清载脂蛋白 A5 的变化及其与血脂和脂蛋白的关系。方法 测定冠心病患者和健康对照者的血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、载脂蛋白 A1、载脂蛋白 B100 和血糖的水平, 同时采用酶联免疫吸附法测定血清载脂蛋白 A5 水平。按所测指标水平将冠心病患者又分为高值组和正常值组, 分析比较这些组间载脂蛋白 A5 的水平, 并将载脂蛋白 A5 水平与这些指标做相关性分析。结果 与正常对照组比较, 冠心病组载脂蛋白 A5 水平明显降低($P < 0.05$); 总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇水平均明显升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 而高密度脂蛋白胆固醇、载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B100 水平差异没有显著性($P > 0.05$)。高甘油三酯组和正常甘油三酯组载脂蛋白 A5 水平均明显低于对照组($P < 0.01$); 而高甘油三酯组载脂蛋白 A5 又明显低于正常甘油三酯组($P < 0.01$)。载脂蛋白 A5 水平与甘油三酯水平呈显著负相关($P < 0.01$); 载脂蛋白 A5 水平与胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和载脂蛋白 B100 水平有呈负相关的趋势, 与高密度脂蛋白胆固醇、载脂蛋白 A1 和血糖水平有呈正相关的趋势, 但均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 载脂蛋白 A5 水平降低可能是冠心病的危险因素。血清载脂蛋白 A5 水平与血清甘油三酯水平呈负相关, 载脂蛋白 A5 可能是甘油三酯代谢的重要调节因子之一。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Effect of Apolipoprotein A5 in Lipids Metabolism and Coronary Heart Disease

YANG Yi Wen, CHEN Huan Qin, CHANG Jing, and QIU Lei

(Department of Health Care, the Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China)

[KEY WORDS] Apolipoprotein A5; Triglyceride; Lipids Metabolism; Coronary Heart Disease; Correlation; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

[ABSTRACT] **Aim** To discuss the relation among apolipoprotein A5 (ApoA5) and lipid, coronary heart disease (CHD), try to find out the mechanism about ApoA5 regulating lipid levels and its function in coronary heart disease. **Methods** The level of serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), low density lipoprotein cholesterol (LDL), apolipoprotein A1 (ApoA1), apolipoprotein B100 (ApoB100) and glucose were examined in 67 patients with CHD and 107 healthy control subjects by biochemistry department; serum were extracted and put into speedVac system, and concentrated into 0.1 mL under 0 °C, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to determine ApoA5. **Results** Compared with control group, ApoA5 level of CHD groups was lower ($P < 0.05$), TC, TG and LDL were higher ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), the difference of HDL, ApoA1 and ApoB100 were no significant ($P > 0.05$). In the groups of CHD patients with high TG and CHD patients with normal TG, the serum ApoA5 concentrations is obviously lower than that in healthy control group ($P < 0.01$), and in the group of CHD patients with high TG the serum ApoA5 concentrations is lower than that in the group of CHD patients with normal TG ($P < 0.01$). The level of ApoA5 was negatively correlated with plasma TG level ($P < 0.01$). The level of ApoA5 has positive tendency with the plasma HDL cholesterol, ApoA1, and glucose levels and negative tendency with TC, LDL, ApoB100 levels, there were no significance ($P > 0.05$). **Conclusion** The decrease of ApoA5 may be a risk fact. The level of ApoA5 was negatively correlated with plasma TG level. ApoA5 may be an important regulating factor in TG metabolism.

载脂蛋白 A5 (apolipoprotein A5, ApoA5) 是新近

发现的一个载脂蛋白, 动物实验和人类研究均表明其对血浆甘油三酯 (triglyceride, TG) 代谢有明显的调节作用, 但载脂蛋白 A5 的确切生理功能, 它调节血脂代谢的作用机制尚未完全阐明。此外, 载脂蛋白 A5 血清水平与血脂和冠心病的关系如何, 目前国内外报道还较少。本研究通过检测冠心病患者的血清载脂蛋白 A5 和其他血脂、脂蛋白、载脂蛋白的

[收稿日期] 2006-07-25 [修回日期] 2006-12-01

[作者简介] 杨轶文, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病的防治, 联系电话为 0531-88380846, E-mail 为 yangyw_1015@sina.com。通讯作者陈焕芹, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事心血管疾病预防研究, 联系电话为 13791123101, E-mail 为 chenhuangqin@medmail.com.cn。常静, 主治医师, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病预防。

水平,旨在探讨血清载脂蛋白 A5 水平与血脂及冠心病的相关性,进一步探讨载脂蛋白 A5 调节血脂的机制及其在冠心病发病中的作用。

1 对象和方法

1.1 仪器及试剂

离心浓缩系统(speedVac system): Thermo Savant 生产,型号为 Radiant Cover RC110B;全自动酶标测定仪:深圳雷杜电子有限公司生产,型号为 RT-2100C; CO₂ 培养箱:德国 Heraeus 公司生产,型号为 BB5060UV;自动生物化学分析仪:日本 OLYMPUS 公司生产,型号为 AU1000/2700;载脂蛋白 A5 鼠抗人一抗,兔抗鼠二抗、阳性重组蛋白(浓度为 1 g/L)、10% BSA 母液、96 孔板、显色底物均购自湖南远泰生物科技有限公司;脂连素试剂盒,购自深圳依诺金生物科技有限公司;洗板液用 0.01 mmol/L TBS;终止液为 1 mmol/L H₂SO₄。

1.2 研究对象

冠心病组 67 例,男 43 例,女 24 例,72.6 ± 10.0 岁(44~89 岁),为 2005 年 3 月~10 月在山东大学齐鲁医院心内科和干部保健科住院的患者,均经冠状动脉造影证实(至少 1 支冠状动脉直径狭窄 ≥ 50%),并符合 1979 年 WHO 诊断标准。对照组 107 例,男 58 例,女 49 例,71.6 ± 9.3 岁(42~85 岁),为山东大学齐鲁医院干部保健门诊查体者,经询问病史、体格检查以及心电图、动态心电图、空腹血糖、餐后 2 h 血糖、糖耐量试验和肝肾功能检查等排除冠心病、糖尿病、高血压病和脑血管病。所有研究对象接受检查前 2 周内均未服用任何降脂药物,并且均除外炎症、风湿免疫病、肿瘤和肝、肾疾病。

所有研究对象均在清晨空腹自肘静脉采血 5 mL,加入普通玻璃试管,37℃放置 2 h,3 000 r/min 离心 5 min,留取血清。其中 1 mL 血清于 -80℃保存用于载脂蛋白 A5 的测定,其余血清于当日送检。

1.3 血脂异常的诊断标准

根据我国 1997 年制定的高脂血症诊断标准:血清总胆固醇(total cholesterol, TC)浓度 > 5.7 mmol/L 为高 TC 血症,≤ 5.7 mmol/L 为胆固醇正常;血清 TG 浓度 > 1.7 mmol/L 为高 TG 血症,0.56 mmol/L < TG ≤ 1.7 mmol/L 为 TG 正常;血清高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)水平 ≤ 0.91 mmol/L 为低 HDL 血症, > 0.91 mmol/L 为 HDL 正常;血清低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC) > 3.64 mmol/L 为高 LDL 血症, ≤

3.64 mmol/L 为 LDL 正常。

1.4 血清各项指标测定

用 AU1000/2700 型自动生物化学分析仪(日本 OLYMPUS)进行 TC、TG、HDLC、LDLC、载脂蛋白 A1、B100 和血糖(glucose, GLU)水平的检测。TC 和 TG 分别采用胆固醇氧化酶-过氧化酶-4-氨基安替比林和酚法与脂蛋白脂肪酶-甘油磷酸氧化酶-过氧化酶-4-氨基安替比林和酚法测定,HDLC 和 LDLC 采用直接匀相法测定。

1.5 酶联免疫吸附法测定载脂蛋白 A5 水平

离心浓缩系统浓缩血清,采用 ELISA 法测定载脂蛋白 A5(根据试剂盒说明书进行)。

1.6 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同组别不同性别之间比较采用 t 检验。载脂蛋白 A5 与各指标之间的关系用双变量相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血脂、脂蛋白水平和其它指标的比较

与对照组比较,冠心病组的血清载脂蛋白 A5 水平明显降低,差异有显著性($P < 0.05$);TC、TG 和 LDLC 均明显升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);而 HDLC、载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B100 水平差异无显著性($P > 0.05$)(表 1)。

将冠心病患者按照血清 TG 水平分为高 TG 组和正常 TG 组,两组血清载脂蛋白 A5 水平分别为 $84 \pm 24 \mu\text{g/L}$ 和 $106 \pm 23 \mu\text{g/L}$,均明显低于对照组载脂蛋白 A5 水平($123 \pm 34 \mu\text{g/L}$),差异有显著性($P < 0.01$),而高 TG 组血清载脂蛋白 A5 又明显低于正常 TG 组($P < 0.01$)。

表 1. 各组血脂、脂蛋白水平和其它指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组	冠心病组
n	107	67
TC (mmol/L)	4.32 ± 0.71	5.23 ± 0.78 ^a
TG (mmol/L)	1.26 ± 0.36	1.65 ± 0.78 ^b
HDLC (mmol/L)	1.44 ± 0.26	1.32 ± 0.25
LDLC (mmol/L)	2.03 ± 0.63	3.32 ± 0.56 ^a
载脂蛋白 A1 (g/L)	1.46 ± 0.42	1.33 ± 0.20
载脂蛋白 B100 (g/L)	1.02 ± 0.23	1.04 ± 0.25
载脂蛋白 A5 (μg/L)	123.00 ± 34.00	96.36 ± 25.39 ^a
血糖 (mmol/L)	4.93 ± 1.14	5.08 ± 0.56

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.2 载脂蛋白 A5 浓度在不同血脂水平之间的比较

将所有研究对象按 TC、TG、LDLC 和 HDLC 水平依次分为高值组和正常组, 比较同一血脂指标不同水平之间的载脂蛋白 A5 浓度(表 2)。

表 2. 载脂蛋白 A5 浓度在不同血脂水平之间的比较 ($\bar{x} \pm s$)

分 组		载脂蛋白 A5 ($\mu\text{g/L}$)
对照组		123 \pm 34
甘油三酯	正常组	106 \pm 23
	高值组	84 \pm 24 ^a
总胆固醇	正常组	97 \pm 41
	高值组	111 \pm 36
LDL	正常组	105 \pm 43
	高值组	102 \pm 49
HDL	正常组	104 \pm 38
	高值组	104 \pm 39

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.3 载脂蛋白 A5 与其余各项指标间的相关分析

将所有研究对象作为一个整体, 进行血清载脂蛋白 A5 水平与 TC、TG、HDL、LDLC、载脂蛋白 A1、载脂蛋白 B100 和血糖水平之间双变量相关分析。结果发现, 血清载脂蛋白 A5 水平与血清 TG 水平之间呈显著负相关($P < 0.01$); 血清载脂蛋白 A5 水平与血清 TC、LDLC 和载脂蛋白 B100 水平有负相关的趋势, 与 HDLC、载脂蛋白 A1 和血糖水平之间有正相关的趋势, 但均无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

载脂蛋白 A5 基因是新近发现的与甘油三酯代谢有关的基因, 是通过与小鼠基因组的一个序列比较找到的^[1], 其定位于 11q23 染色体上, 与载脂蛋白 A1/C3/A4 基因簇相距约 30 kb。研究发现在表达人类载脂蛋白 A5 转基因的小鼠的血浆中甘油三酯的浓度下降为对照鼠的 1/3, 而在该基因敲除的小鼠中却增加了 4 倍。Vliet 等^[2]研究发现载脂蛋白 A5 过表达的小鼠血浆 TG 显著下降(70%), 而且发现随着在 HDL 部分的最大团块的缩减, 胆固醇水平下降了 40%。这些发现暗示了载脂蛋白 A5 在调控循环中的甘油三酯和胆固醇水平中的重要地位。本研究结果发现, 血清载脂蛋白 A5 含量与 TG 浓度呈负相关, 与 CH、HDL、LDLC、载脂蛋白 A1、载脂蛋白 B100 浓度之间无明显的相关性。血清载脂蛋白 A5 水平与胆固醇浓度关系不大, 且本研究中载脂蛋白

A5 与 HDL 的相关系数 $r = 0.250$, $P = 0.076$, P 值较为接近有统计学意义, 之所以没有达到统计学意义可能与样本例数较少有关。这些结果与 Ishihara 等^[3]的研究相似, Ishihara 等^[3]发现血清载脂蛋白 A5 含量与 TG 浓度呈负相关, 而与 HDLC、载脂蛋白 A1、APOE 浓度呈正相关, 与后三项的相关系数和 P 值分别为 $r = 0.32$, $P < 0.0001$, $r = 0.27$, $P = 0.0001$ 和 $r = 0.18$, $P = 0.011$ 。但在 Vliet 等^[2]的研究中载脂蛋白 A5 对胆固醇也有了相当的影响, 推测可能是由于载脂蛋白 A5 基因过表达在此小鼠模型中获极高的水平所致, 而在一般情况下很难达到如此的高水平。所以, 载脂蛋白 A5 可能是调节血清 TG 浓度的一个重要因子, 但对胆固醇代谢影响尚需要更多的研究实验加以证实。

载脂蛋白 A5 基因表达的增加能降低血清 TG 的浓度, 但具体机制尚不十分清楚。Prieur 等^[4]发现胆汁酸和法尼酸 X 激活受体(farnesoid X-activated receptor, FXR)能活化载脂蛋白 A5 启动子的活性, 同时在表达载脂蛋白 A5 基因的人肝脏 Hep3B 细胞, 过氧化酶体增殖物激活受体- α (peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR- α) 转染特异性地增强了载脂蛋白 A5 启动子的活性。Jakel 等^[5]的研究则显示肝 X 受体(LXR)配体 T0901317 通过激活甾醇调节因子蛋白 1c(SREBP-1c)来下调载脂蛋白 A5 基因的表达。Ggenoux 等^[6]在人肝癌细胞 HepG2 与 HuH7 中利用瞬时共转染实验证实了 RORa1 与 RORa4 都能增加载脂蛋白 A5 启动子的转录活性且呈剂量相关性。研究还发现^[7], 三碘甲状腺原氨酸(T3)介导的甲状腺受体直接刺激载脂蛋白 A5 基因启动子的活性。发现鼠的载脂蛋白 A5 水平随着甲状腺激素的下降而下降, 给予 T3 后载脂蛋白 A5 可上升到正常水平, 提示载脂蛋白 A5 可能是 T3 的一个目标基因, 而甲状腺受体 β 配体可能是药理学靶点。载脂蛋白 A5 还可能具有脂质转运功能, 具有清除组织脂质和抗动脉粥样硬化的作用。

关于载脂蛋白 A5 与血脂和冠心病的相关性研究, 多为载脂蛋白 A5 单核苷酸多态性与血脂及其冠心病的研究。美国国家生物技术信息中心(NCBI)分子生物学数据库收录了载脂蛋白 A5 基因 16 个单核苷酸多态性位点, 研究最多的是-1131T> C 和 56C> G。近期不同的课题组采用不同的实验设计研究不同种族载脂蛋白 A5 多态性与 TG 的关系时得出的结论相似, 即在绝大多数种族人群中 1131T> C 和 56C> G 多态性的改变都会极大地影响人血浆 TG 的水平, 而对胆固醇的影响不同课题

组得出的结论不同。近期的几项基于中国人群的研究也存在争议。刘合焜等^[8]研究发现, T/C 单核苷酸多态性与冠心病存在相关性, CC 基因型的冠心病患者其血浆 HDLC 水平显著高于其他基因型患者, 提出 C 等位基因可能是冠心病发生的保护因素。而几项中国的冠心病患者的研究发现: CC 型等位基因的人比其它型等位基因的人血浆 HDLC 水平低^[9], CC 基因型者比 TT 型者的冠心病患病风险显著增加^[10, 11], 冠心病组 TG 水平 CC 纯合子 > TC 杂合子 > 而 TT 纯合子, 冠心病组-1131C 等位基因频率明显高于对照组^[11]。而在中国人群中 56C> G 位点突变频率小于 1%, 不能视为多态性位点^[11]。说明载脂蛋白 A5 基因 C 等位基因是中国人群中冠心病发病的危险因素之一, 且与血浆 TG 水平的变化密切相关。另有研究^[10, 12]健康人群中-1131C 等位基因与血 TG 水平增高有关, 在女性人群中更为明显。本研究结果发现, 与健康对照者比较, 冠心病患者血清 TC、TG 和 LDLC 水平均明显升高, 载脂蛋白 A5 水平明显降低, 而 HDLC、载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B100 水平差异没有显著性。按血脂水平分组分析后发现, 高 TG 血症患者血清载脂蛋白 A5 水平明显低。相关分析显示, 血清载脂蛋白 A5 水平与血清 TG 水平之间呈显著的负相关; 血清载脂蛋白 A5 的水平与血清 TC、LDLC、载脂蛋白 B100 水平有负相关的趋势, 与 HDLC、载脂蛋白 A1 水平之间有正相关的趋势, 但均未达到统计学差异。而将冠心病患者按照血清 TG 分为冠心病高 TG 组和冠心病正常 TG 组后, 两组血清载脂蛋白 A5 值分别为 ($84 \pm 24 \mu\text{g/L}$ 和 $106 \pm 23 \mu\text{g/L}$), 都明显低于对照组的血清载脂蛋白 A5 值 ($123 \pm 34 \mu\text{g/L}$); 而在冠心病高 TG 组血清载脂蛋白 A5 还明显低于冠心病正常 TG 组。结果支持除 TC、LDLC 外, 血清 TG 升高和载脂蛋白 A5 降低也是冠心病的危险因素, 载脂蛋白 A5 是 TG 代谢的一个重要决定因素。本研究通过直接测定血

清中载脂蛋白 A5 水平, 直观的看出载脂蛋白 A5 与血脂和冠心病的关系, 但是血清 TG 升高和载脂蛋白 A5 降低是否是由于冠心病患者载脂蛋白 A5 基因的 C 等位基因携带高所致, 还是由其他原因所致, 血清载脂蛋白 A5 降低是冠心病的因还是果, 还有待于进一步的实验验证。

[参考文献]

- [1] Pennacchio LA, Rubin EM. Genomic strategies to identify mammalian regulatory sequences [J]. *Nat Rev Genet*, 2001, **2** (2): 100-109
 - [2] Vander Vliet HN, Schaap FG, Levels JH, Ottenhoff R, Looije N, Wesseling JG, et al. Adenoviral overexpression of apolipoprotein A-V reduces serum levels of triglycerides and cholesterol in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **295** (5): 1 156-159
 - [3] Ishihara M, Kujiraoka T, Iwasaki T, Nagano M, Takano M, Ishii J, et al. A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human plasma apolipoprotein A-V concentration [J]. *J Lipid Res*, 2005, **46** (9): 2 015-022
 - [4] Prieur X, Coste H, Rodriguez JC. The human apolipoprotein AV gene is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor- α and contains a novel farnesoid X-activated receptor response element [J]. *J Biol Chem*, 2003, **278** (28): 25 468-480
 - [5] Jakel H, Nowak M, Moitrot E, Dehondt H, Hum DW, Pennacchio LA, et al. The liver X receptor ligand T0901317 down-regulates ApoA5 gene expression through activation of SREBP-1c [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (44): 45 462-469
 - [6] Genoux A, Dehondt H, Helleboit-Chapman A, Duhem C, Hum DW, Martin G, et al. Transcriptional regulation of apolipoprotein A5 gene expression by nuclear receptor ROR α [J]. *Arterioscler Thromb Vas Biol*, 2005, **25** (6): 1 097-099
 - [7] Prieur X, Huby T, Coste H, Schaap FG, Chapman MJ. Thyroid hormone regulates the hypotriglyceridemic gene ApoA5 [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (30): 27 533-543
 - [8] 刘合焜, 王春婷, 张思仲, 肖翠英, 李雪飞, 张克兰, 等. ApoA5 基因单核苷酸多态性与冠心病相关性研究 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2004, **21** (4): 335-338
 - [9] Liu H, Zhang S, Lin J, Li H, Huang A, Xiao C, et al. Association between DNA variant sites in the apolipoprotein A5 gene and coronary heart disease in Chinese [J]. *Metabolism*, 2005, **54** (5): 568-572
 - [10] 汤轶波, 顾丽萍, 孙屏, 郭冬平, 李晓宇, 陈琪, 等. 中国人内源性高甘油三酯血症与载脂蛋白 A5 基因-1131T> C 多态性、S19W 多态性的相关性 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (6): 785-788
 - [11] 毕楠, 鄢盛恺, 李国平, 尹志农, 薛红, 吴刚, 等. 冠心病患者载脂蛋白 A5 和载脂蛋白 C3 基因多态性的研究 [J]. *中华心血管病杂志*, 2005, **33** (2): 116-121
 - [12] 李向平, 赵水平, 聂赛, 彭道泉. 载脂蛋白 A5-1131T> C 基因多态性对血脂的影响 [J]. *医学临床研究*, 2004, **21** (11): 1 245-249
- (此文编辑 朱霞霞, 李小玲)