

# 胆固醇酯转运蛋白在动脉粥样硬化中的作用

汪俊军, 张春妮, 庄一义

(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] 生物化学; 胆固醇酯转运蛋白; 脂蛋白; 动脉粥样硬化; 基因突变

[摘要] 胆固醇酯转运蛋白介导血浆高密度脂蛋白、低密度脂蛋白和极低密度脂蛋白之间胆固醇酯、磷脂和甘油三酯的转运, 直接关联各种脂蛋白分子的组成、大小和浓度, 在胆固醇的逆向转运中起关键作用, 与动脉粥样硬化的发生发展密切相关。胆固醇酯转运蛋白基因有多种突变, 基因突变者胆固醇酯转运蛋白浓度和活性发生改变, 并伴有高密度脂蛋白胆固醇水平升高等显著的脂代谢异常。雌激素对胆固醇酯转运蛋白水平也有调节作用。胆固醇酯转运蛋白在小颗粒致密的 B 型低密度脂蛋白形成中起重要作用, 大而轻的 A 型低密度脂蛋白在高甘油三酯的条件下, 经胆固醇酯转运蛋白介导极低密度脂蛋白中甘油三酯与低密度脂蛋白中胆固醇酯交换, 导致典型的 A 型低密度脂蛋白变成强致病性的 B 型低密度脂蛋白。

[中图分类号] Q5

[文献标识码] A

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)性心脑血管疾病是危害人类健康最严重的疾病之一, 而脂质异常是 As 最危险的致病因素。流行病学研究表明血清高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)水平降低, 低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)尤其是小颗粒致密 LDL 水平升高与 As 性心脑血管疾病发生的危险性增高密切相关。临床上常见冠心病患者 LDL 胆固醇(LDL cholesterol, LDLC)水平正常, 而甘油三酯(triglyceride, TG)水平升高; 部分患者 HDL 水平异常升高, 在机理上解释不清, 也给防治带来困难, 实际上是由于 LDL、HDL 组成、大小等物理化学特性发生了改变, 其质的异常与 As 的关系更为密切。胆固醇酯转运蛋白(cholesteryl ester transfer protein, CETP)介导血浆 HDL、LDL 和极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)之间胆固醇酯(cholesterol ester, CE)、磷脂和 TG 的转运, 直接关联各种脂蛋白分子的组成、大小和浓度, 在胆固醇的逆向转运中起关键作用; As 性心脑血管疾病、CETP 基因突变等患者均存在 CETP 浓度和活性、各种脂蛋白质和量的异常, 与 As 的发生发展密切相关<sup>[1,2]</sup>。因此, 系统地研究 CETP 在 As 发生发展中的作用, 对提高脂蛋白研究水平和 As 性心脑血管疾病的预测和防治具有十分重要意义。本文将本研究所近年来对 CETP 的相关研究作一综述。

## 1 胆固醇酯转运蛋白的纯化、单克隆抗体的制备及其浓度和活性的检测

本研究所建立了 CETP 的分离纯化方法并自行制备了 CETP 单克隆抗体, 同时建立了人血清 CETP 的酶联免疫吸附

测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 对中国人血清 CETP 的参考值进行了调查。

### 1.1 胆固醇酯转运蛋白的纯化和单克隆抗体的制备

经超速离心和 Butyl-Sepharise、CM-Sepharose、Sephacry-S200 层析从血清中提取、纯化 CETP<sup>[3]</sup>, 并用杂交瘤技术制备出特异的 CETP 单克隆抗体<sup>[4]</sup>。

### 1.2 胆固醇酯转运蛋白浓度和活性的检测

分别采用自制的单克隆抗体建立了人血清 CETP 浓度的 ELISA 测定法, 用<sup>[14]C</sup>标记的胆固醇酯合成 HDL 样颗粒作为胆固醇酯供体, 以 LDL 为受体建立 CETP 活性测定法<sup>[5]</sup>。两法均特异、灵敏、简便, 适于推广。

## 2 胆固醇酯转运蛋白的参考值调查

通过调查 1 128 名中国健康人血清 CETP 水平, 确定了中国人血清 CETP 参考值为  $1.84 \pm 1.55$  mg/L, 并分析了不同年龄、性别 CETP 水平, 发现女性明显高于男性, 在女性中 CETP 浓度与年龄负相关(表 1)<sup>[6]</sup>。

表 1. 1 128 名不同年龄、性别健康人血清胆固醇酯转运蛋白水平 ( $\bar{x} \pm s$ , mg/L)

年龄(岁)	男性		女性	
	n	CETP	n	CETP
20~	76	$1.64 \pm 1.40^a$	123	$2.73 \pm 1.62$
30~	106	$1.73 \pm 1.43^a$	70	$2.64 \pm 1.72$
40~	168	$1.47 \pm 1.31^a$	86	$2.26 \pm 1.59$
50~	123	$1.35 \pm 1.17^a$	80	$2.02 \pm 1.64$
60~	166	$1.48 \pm 1.52^a$	42	$2.07 \pm 1.57$
70~ 84	46	$1.78 \pm 1.24$	42	$2.00 \pm 1.53$
20~ 84	685	$1.49 \pm 1.37^a$	443	$2.40 \pm 1.65$

a 为  $P < 0.01$ , 与女性比较。

[收稿日期] 2007-03-27

[修回日期] 2007-06-02

[作者简介] 汪俊军, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事脂蛋白与动脉粥样硬化发病的关系研究, E-mail 为 wangjj6@jlonline.com。张春妮, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事脂蛋白与动脉粥样硬化发病的关系研究。庄一义, 教授, 主要从事脂蛋白与动脉粥样硬化发病的关系研究。

3 多民族人群胆固醇酯转运蛋白基因突变调查

聚合酶链反应—限制片长多态性分析法检测 CETP D442G 和 I14A 基因突变。调查了中国汉族、蒙古族、回族、东乡族、维吾尔族和傣族六个民族居民 CETP 水平、D442G 和 I14A 基因突变的频率及其与血脂水平的关系,发现不同民族间 CETP 水平、基因突变的频率均相似,但伴有其他脂质水平不同<sup>[7]</sup>。

4 胆固醇酯转运蛋白的临床研究

分析了心脑血管病、糖尿病、肾病患者和肥胖儿童 CETP 水平、CETP 基因突变和血脂异常的特征<sup>[8-14]</sup>。心肌梗死组、脑卒中组 CETP 水平和活性均较对照组明显升高(表 2)<sup>[8]</sup>。心肌梗死组、脑卒中组 D442G 和 I14A 两种 CETP 基因突变频率与健康人无明显差别。基因突变者 CETP 浓度和活性仅为非基因突变者的 1/3,并伴有高 HDL 胆固醇等显著的脂代谢异常(表 3)<sup>[9]</sup>。

高脂血症中 CETP 水平升高,增强了脂蛋白间脂质转运,导致 HDL 胆固醇下降,形成强致病性 LDL,体内氧化 LDL 水平亦升高,共同促进了 As 的发生发展<sup>[10]</sup>。

表 2. 心肌梗死组、脑卒中组和对照组胆固醇酯转运蛋白和血脂水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

指 标	心肌梗死组 (n= 94)	脑卒中组 (n= 110)	对照组 (n= 335)
CETP (mg/L)	1.98±1.68 <sup>b</sup>	1.73±1.45 <sup>b</sup>	1.40±1.37
总胆固醇 (mmol/L)	5.55±1.09 <sup>b</sup>	5.34±1.31 <sup>a</sup>	5.07±0.84
TG (mmol/L)	1.86±1.25	1.83±1.06	1.80±1.20
HDL 胆固醇 (mmol/L)	1.03±0.20 <sup>b</sup>	1.05±0.31 <sup>b</sup>	1.37±0.34
LDL 胆固醇 (mmol/L)	3.49±0.90 <sup>b</sup>	3.38±1.75 <sup>b</sup>	2.88±0.82
载脂蛋白 A1 (g/L)	1.10±0.19 <sup>b</sup>	1.24±0.24 <sup>b</sup>	1.40±0.26
载脂蛋白 B (g/L)	1.12±0.29 <sup>b</sup>	1.12±0.27 <sup>b</sup>	0.96±0.22
脂蛋白(a) (mg/L)	256±201 <sup>b</sup>	220±147 <sup>b</sup>	152±106

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

表 3. 胆固醇酯转运蛋白基因缺陷患者胆固醇酯转运蛋白和血脂水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

指 标	D442G 纯合子 (n= 1)	D442G 杂合子 (n= 11)	I14A 杂合子 (n= 3)	基因缺陷患者 (n= 15)	非基因缺陷者 (n= 14)
CETP (mg/L)	0.57	0.60±0.32	0.62±0.37	0.60±0.28 <sup>a</sup>	1.68±1.49
总胆固醇 (mmol/L)	7.46	5.28±0.81	5.10±0.33	5.40±0.94	5.03±0.81
TG (mmol/L)	0.37	1.24±0.42	1.51±0.53	1.31±0.43 <sup>a</sup>	1.78±0.96
HDL 胆固醇 (mmol/L)	2.97	1.52±1.15	1.66±0.12	1.64±0.41 <sup>a</sup>	1.36±0.32
LDL 胆固醇 (mmol/L)	3.98	0.83±3.11	2.74±0.64	3.11±0.83	2.84±0.82
载脂蛋白 A1 (g/L)	2.76	0.15±1.55	1.35±0.21	1.55±0.37 <sup>a</sup>	1.37±0.24
载脂蛋白 B (g/L)	1.20	0.18±1.08	1.02±0.22	1.08±0.18	0.98±0.22
脂蛋白(a) (mg/L)	160	268±128	87±62	231±136	156±158

a 为  $P < 0.01$ , 与非基因缺陷组比较。

5 胆固醇酯转运蛋白水平与激素的关系

对 196 例女性血清 CETP 水平与激素的关系进行分析,发现绝经期女性 CETP 明显低于绝经前和围绝经期女性; CETP 与雌二醇水平高度正相关,与促黄体生成素呈负相关,证实了雌激素对 CETP 水平的调节作用<sup>[15-17]</sup>。

6 胆固醇酯转运蛋白在小颗粒致密的 B 型低密度

脂蛋白形成中的作用

6.1 体外实验模拟体内脂蛋白代谢途径

大而轻的 A 型 LDL 在高 TG 的条件下,经 CETP 介导 VLDL 中 TG 与 LDL 中胆固醇交换,LDL 中胆固醇水平下降, TG 升高;再经脂蛋白酯酶水解 LDL 中部分 TG,LDL 颗粒变小,密度增加,导致典型的 A 型 LDL 变成强致病性的 B 型 LDL(图 1)<sup>[18]</sup>。

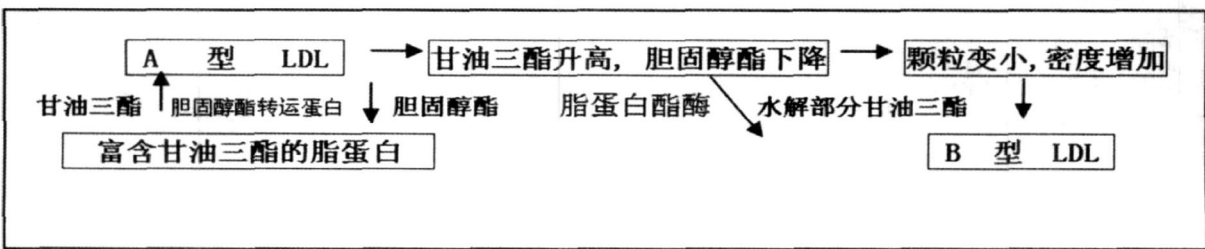


图 1. B 型低密度脂蛋白形成机制

## 6.2 基因突变患者低密度脂蛋白颗粒大小改变

基因突变患者血清 CETP 水平显著降低, LDL 颗粒直径显著大于非突变患者, 突变组 LDL 亚组分均为 A 型; 非突变组 A 型占 52.5%, B 型占 47.5%。突变患者同时伴有其他脂代谢异常<sup>[19]</sup>。

## 7 结 语

上述研究较系统地揭示了 CETP 的部分特性及功能, 测定了 CETP 的浓度和活性, 并制定了中国人群 CETP 水平的参考值; 研究了 CETP 基因的突变, 基因突变者 CETP 浓度和活性发生改变, 并伴有 HDL 和 LDL 质和量的异常代谢; 雌激素对 CETP 水平有调节作用; 体内 CETP 在小颗粒致密的 B 型 LDL 形成中起重要作用。CETP 在脂代谢过程中起着重要作用, 与 As 的发生和发展密切相关, 可能成为治疗的一个潜在的新靶标, 对其抑制剂的研发具有广阔的应用前景。

## [参考文献]

- [1] 庄一义. 胆固醇酯转运蛋白与动脉粥样硬化[J]. 中华医学检验杂志, 1999, 22: 179-181.
- [2] 汪俊军, 张春妮. 胆固醇酯转运蛋白基因变异与血脂和动脉粥样硬化性心血管病的关系[J]. 医学研究生学报, 2007, 20 (1): 76-79.
- [3] 庄一义, 汪俊军, 李勇. 胆固醇酯转运蛋白的提纯和鉴定[J]. 中华医学检验杂志, 1999, 22: 101-104.
- [4] 汪俊军, 庄一义, 刘小传. 抗胆固醇酯转运蛋白单克隆抗体的制备及其应用[J]. 临床检验杂志, 2001, 19: 200-202.
- [5] 楼正青, 庄一义. 人工合成高密度脂蛋白样颗粒测定胆固醇酯转运蛋白活性[J]. 临床检验杂志, 2001, 19: 88-90.
- [6] 庄一义, 汪俊军, 刘小传, 李勇, 强红娟, 李露言, 等. 中国健康人血清胆固醇酯转运蛋白水平[J]. 中国动脉硬化杂志, 2000, 8 (4): 289-291.
- [7] 强红娟, 庄一义, 汪俊军, 黄承荣, 徐丕模, 路西春, 等. 中国汉、蒙古、回、东乡、维吾尔、傣族六个民族居民胆固醇酯转运蛋白 D442G 和 H4A 基因突变调查[J]. 中国动脉硬化杂志, 2001, 9 (4): 235-238.
- [8] Zhuang YY, Wang JJ, Qiang HJ, Li Y, Liu XC, Li LY, et al. Serum cholesteryl ester transfer protein concentrations in healthy Chinese subjects and cardiovascular disease patients [J]. *Clin Chim Acta*, 2001, 305: 19-25.
- [9] Zhuang YY, Wang JJ, Qiang HJ, Li Y, Liu XC, Li LY, et al. Cholesteryl ester transfer protein levels and gene deficiency in Chinese patients with cardiovascular diseases [J]. *J Chinese Med*, 2002, 115: 371-374.
- [10] 汪俊军, 顾勤花, 张春妮. 高脂血症人群血清胆固醇酯转运蛋白水平[J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 12: 1 038-040.
- [11] 楼正青, 庄一义. 心脑血管疾病患者胆固醇酯转运蛋白活性测定[J]. 医学研究生学报, 2001, 14: 42-44.
- [12] 强红娟, 黄承荣, 李建军. 肥胖儿童血浆胆固醇酯转运蛋白与血脂相关性[J]. 医学研究生学报, 2001, 14: 15-17.
- [13] 王云增, 汪俊军, 庄一义. 慢性肾衰患者胆固醇酯转运蛋白及血脂变化[J]. 上海医学检验杂志, 2000, 15: 39-41.
- [14] 许国荣, 庄一义. ②糖尿病患者血清胆固醇酯转运蛋白浓度升高[J]. 临床检验杂志, 2000, 18: 295.
- [15] Zhang CN, Zhuang YY, Qiang HJ, Liu XC, Xu RJ, Wu YZ. Relationship between endogenous concentrations and serum cholesteryl ester transfer protein concentrations in Chinese women [J]. *Clin Chim Acta*, 2001, 314: 77-83.
- [16] Zhang CN, Zhuang YY, Liu XC, Cheng DN, Wang GH, Liu Q, et al. Changes in cholesteryl ester transfer protein concentration during normal gestation [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2006, 108: 730-734.
- [17] 强红娟, 张春妮, 庄一义, 梁元娇, 许瑞吉. 绝经期妇女雌激素的缺乏与胆固醇酯转运蛋白水平变化的关系研究[J]. 临床检验杂志, 2002, 20: 367-369.
- [18] 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.
- [19] Wang JJ, Qiang HJ, Chen DN, Zhang CN, Zhuang YY. CETP gene mutation (D442G) increases low-density lipoprotein particle size in patients with coronary heart disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2002, 322: 85-90.

(此文编辑 文玉珊)