

## 脑卒中患者 B 族 I 型清道夫受体基因 G4A 多态性与血脂水平的关系

莫丹衡, 许宏伟, 邓景贵, 刘佳, 肖波, 杨晓苏, 杨期东

(中南大学附属湘雅医院神经内科, 湖南省长沙市 410001)

[关键词] 神经病学; B 族 I 型清道夫受体; 脑卒中; 基因多态性; 血脂

[摘要] 目的 探讨 B 族 I 型清道夫受体基因 G4A 多态性与脑卒中患者血脂水平的关系。方法 采用聚合酶链反应限制片段多态性技术检测 149 例动脉粥样硬化性脑梗死患者、141 例脑出血患者和 120 例健康对照者 B 族 I 型清道夫受体基因 G4A 多态的分布, 并测定三组研究对象的血脂水平。结果 动脉粥样硬化性脑梗死组和脑出血组 B 族 I 型清道夫受体 G4A GA+ AA 基因型亚组高密度脂蛋白胆固醇水平显著高于同组 GG 基因型亚组 ( $P < 0.05$ ), 低密度脂蛋白胆固醇水平显著低于同组 GG 基因型亚组 ( $P < 0.05$ )。对照组 B 族 I 型清道夫受体 G4A GA+ AA 基因型亚组高密度脂蛋白胆固醇水平显著高于 GG 基因型亚组, 而低密度脂蛋白胆固醇和总胆固醇水平显著低于同组 GG 基因型亚组 ( $P < 0.05$ )。男性动脉粥样硬化性脑梗死组和男性脑出血组 GA+ AA 基因型亚组高密度脂蛋白胆固醇水平显著高于同组 GG 基因型亚组, 低密度脂蛋白胆固醇水平显著低于同组 GG 基因型亚组。女性动脉粥样硬化性脑梗死组和女性脑出血组不同基因型亚组体质指数和血脂水平差异无显著性。结论 B 族 I 型清道夫受体基因 G4A 位点 A 等位基因可能与男性高密度脂蛋白和低密度脂蛋白代谢有关。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

### The Relationship of Scavenger Receptor Class B Type I G4A Polymorphism and Serum Lipid Level in Stroke

MO Dang-Heng, XU Hong-Wei, DENG Jing-Gui, LIU Jia, XIAO Bo, YANG Xiao-Su, and YANG Qi-Dong

(Department of Neuroscience, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410001, China)

[KEY WORDS] Scavenger Receptor Class B Type I; Stroke; Gene Polymorphism; Serum Lipids

[ABSTRACT] Aim To study the effect of G4A polymorphism on serum lipid level of Han population in Hunan province.

**Methods** G4A Polymorphisms of the scavenger receptor class B type I (SR-BI) gene were detected by polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) in atherosclerotic cerebral infarction (ACI) patients, cerebral hemorrhage (CH) patients and healthy controls. **Results** The serum level of high density lipoprotein cholesterol (HDL) in SR-BI G4A GA+ AA genotype subgroup was markedly higher than that in GG genotype subgroup of the same group in ACI group ( $P < 0.05$ ), and it was the same with CH group. The serum level of low density lipoprotein cholesterol (LDL) in SR-BI G4A GA+ AA genotype subgroup was evidently lower than that in GG genotype subgroup of the same group in ACI group ( $P < 0.05$ ), and it was the same with CH group. The serum level of HDL in SR-BI G4A GA+ AA genotype subgroup was obviously higher than that in GG genotype subgroup of the same group in control group ( $P < 0.05$ ). The serum levels of LDL and total cholesterol (TC) in SR-BI G4A GA+ AA genotype subgroup was significantly higher than those in GG genotype subgroup of the same group in control group ( $P < 0.05$ ). The serum level of HDL in male ACI group and GA+ AA genotype subgroup of CH group was markedly higher while LDL was markedly lower than that in GG genotype subgroup of the same group. There was no significant difference of body mass indexes and serum level in different genotype subgroups of female ACI group and CH group.

**Conclusions** A allele of SR-BI G4A is possibly associated with the metabolism of HDL and LDL.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是目前公认的脑卒中独立危险因素之一,它的发生与血脂代谢有着极为密切的联系。高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL)的抗 As 作用已得

到普遍的认可,被认为是“好胆固醇”。B 族 I 型清道夫受体(scavenger receptor class B type I, SR-BI)是第一个在分子水平上得到确证的高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)受体,作为 HDL 的受体,SR-BI 与 HDL 高亲和性结合,介导 HDL 的选择性摄取,参与胆固醇的逆向转运过程<sup>[1-3]</sup>。本研究系初步探讨 SR-BI 基因多态性与中国湖南地区汉族人群脑卒中患者血脂水平的关系。

[收稿日期] 2007-11-07 [修回日期] 2008-04-05

[基金项目] 国家自然科学基金(30600199)

[作者简介] 莫丹衡, 硕士, 研究方向为脑血管病, E-mail 为 Danmoli@sina.com。通讯作者许宏伟, 博士, 副教授, 研究方向为脑血管病, E-mail 为 xhw-xiangya@sina.com。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

脑卒中患者 290 例, 包括动脉粥样硬化性脑梗死(atherosclerotic cerebral infarction, ACI) 组( $n=149$ )和脑出血组( $n=141$  例), ACI 组中男 94 例, 女 55 例, 年龄  $59.63 \pm 9.27$  岁; 脑出血患者中男 87 例, 女 54 例, 年龄  $57.35 \pm 12.56$  岁。所有病例均符合 1995 年全国第四次脑血管疾病学术会议修订的诊断标准<sup>[4]</sup>, 经头颅 CT 及(或)MRI 确诊, 不包括心源性、动脉炎、外伤、血液病、药物、肿瘤、脑血管畸形或动脉瘤所引起的脑卒中; 排除梗塞后出血、肝肾疾病、自身免疫性疾病、妊娠者、半年内有降脂治疗者及确诊为冠心病者。正常对照者 120 例, 男 54 例, 女 66 例, 年龄  $59.00 \pm 6.93$  岁。所有入选对象均为无血缘关系的湖南地区汉族人, 三组年龄、性别相匹配。

### 1.2 血脂测定和 DNA 制备

氧化酶法测定甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC); 测定 HDLC 先用沉淀剂沉淀, 再用酶法测定上清液中的胆固醇; 低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)由公式  $LDLC = TC - HDLC - TG/5$  求出; 免疫比浊法测定载脂蛋白 AI 及载脂蛋白 B。采用常规酚/氯仿抽提法提取基因组 DNA。

### 1.3 聚合酶链反应

采用 Primer3 软件设计 SR-BI 基因 G4A 多态位点引物, 上游为 5'-CGA TGG GGC ATA AAA CCA C-

3', 下游为 5'-GGA CCT GCT GCT TGA TGA G-3'。PCR 反应体系总体积为 25  $\mu$ L, 反应条件为 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min 后, 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s  $\rightarrow$  58  $^{\circ}$ C 退火 30 s  $\rightarrow$  72  $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 30 个循环, 最后 72  $^{\circ}$ C 充分延伸 10 min。

### 1.4 基因型分析

采用限制片长多态性分析, 酶切体系: 8  $\mu$ L PCR 产物, 限制性内切酶 AluI 1  $\mu$ L, 10  $\times$  buffer 2  $\mu$ L 和 9  $\mu$ L 双蒸水, 37  $^{\circ}$ C 恒温箱酶切过夜(约 12 h)。

### 1.5 统计学分析

应用 SPSS11.5 统计软件作统计学处理。按 Hardy-Weinberg 平衡法检测样本的群体代表性。以基因计数法计算脑卒中组和对照组的基因型和等位基因频率。计数资料比较采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法。计量资料两组比较采用  $t$  检验, 两组以上比较采用方差分析。 $P < 0.05$  为有显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 健康人群 B 族 I 型清道夫受体 G4A 不同基因型亚组血脂水平比较

对照组中, GA+ AA 基因型亚组与 GG 基因型亚组相比具有较高水平的 HDLC 和较低水平的 LDLC 和 TC( $P < 0.05$ )。男性对照组 GA+ AA 基因型亚组 HDLC 水平显著高于 GG 基因型亚组, TC 和 LDLC 水平显著低于 GG 基因型亚组( $P < 0.05$ ), 不同基因型亚组 BMI 差异无显著性。女性对照组不同基因型亚组 BMI、血脂水平差异无显著性(表 1)。

表 1. 健康人群 SR-BI G4A 不同基因型亚组血脂水平比较

指标	男性( $n=54$ )		女性( $n=66$ )		合计	
	GG( $n=40$ )	GA+ AA( $n=14$ )	GG( $n=51$ )	GA+ AA( $n=15$ )	GG	GA+ AA
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$23.65 \pm 2.68$	$24.61 \pm 2.47$	$21.14 \pm 2.52$	$20.50 \pm 1.41$	$22.24 \pm 2.87$	$22.48 \pm 2.86$
TC( $\text{mmol}/\text{L}$ )	$4.86 \pm 1.16$	$3.94 \pm 0.87^b$	$4.73 \pm 1.12$	$4.48 \pm 1.01$	$4.79 \pm 1.13$	$4.22 \pm 0.97^a$
TG( $\text{mmol}/\text{L}$ )	$1.58 \pm 0.44$	$1.59 \pm 0.55$	$1.42 \pm 0.80$	$1.33 \pm 0.53$	$1.48 \pm 0.66$	$1.45 \pm 0.54$
LDLC( $\text{mmol}/\text{L}$ )	$2.32 \pm 0.67$	$2.08 \pm 0.47^b$	$2.47 \pm 0.63$	$2.23 \pm 0.50$	$2.42 \pm 0.62$	$2.16 \pm 0.48^a$
HDLC( $\text{mmol}/\text{L}$ )	$1.34 \pm 0.34$	$1.61 \pm 0.46^b$	$1.52 \pm 0.37$	$1.62 \pm 0.19$	$1.44 \pm 0.37$	$1.62 \pm 0.35^a$

a 为  $P < 0.05$ , 与 GG 基因型亚组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与男性 GG 基因型亚组比较。

### 2.2 动脉粥样硬化性脑梗死组 SR-BI G4A 不同基因型亚组血脂水平比较

ACI 组中, GA+ AA 基因型亚组与 GG 基因型亚组相比具有较高水平的 HDLC 和较低水平的 LDLC( $P < 0.05$ ), 不同基因型亚组 BMI 差异无显著性。男性 ACI 组 GA+ AA 基因型亚组 HDLC 水平显著高于 GG 基因型亚组, LDLC 水平显著低于 GG 基因型

亚组( $P < 0.05$ ), 不同基因型亚组 BMI 差异无显著性。女性 ACI 组中不同基因型亚组 BMI、血脂和脂蛋白水平差异无显著性(表 2)。

### 2.3 脑出血组 SR-BI G4A 多态不同基因型亚组血脂比较

脑出血组中, GA+ AA 基因型亚组与 GG 基因型亚组相比具有较高水平的 HDLC 和较低水平的 LD-

LC( $P < 0.05$ ), 不同基因型亚组 BMI 差异无显著性。男性脑出血组 GA+ AA 基因型亚组 HDLC 水平显著高于 GG 基因型亚组, LDLC 水平显著低于 GG 基因

型亚组( $P < 0.05$ ), 不同基因型亚组 BMI 差异无显著性。女性脑出血组不同基因型亚组 BMI、血脂和脂蛋白水平比较无显著性(表 3)。

表 2. ACI 组 SR-BI G4A 多态不同基因型亚组体质指数血脂和脂蛋白水平比较

指 标	男 性		女 性		合 计	
	GG	GA+ AA	GG	GA+ AA	GG	GA+ AA
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	23.53 $\pm$ 2.16	23.30 $\pm$ 1.56	22.27 $\pm$ 2.15	22.98 $\pm$ 2.29	23.07 $\pm$ 2.24	23.17 $\pm$ 1.74
TC( $\text{mmol}/\text{L}$ )	4.62 $\pm$ 1.06	4.66 $\pm$ 0.99	4.94 $\pm$ 1.39	4.54 $\pm$ 0.78	4.74 $\pm$ 1.20	4.63 $\pm$ 0.91
TG( $\text{mmol}/\text{L}$ )	1.80 $\pm$ 1.28	1.51 $\pm$ 0.84	1.73 $\pm$ 1.12	1.81 $\pm$ 0.80	1.78 $\pm$ 1.22	1.60 $\pm$ 0.80
LDLC( $\text{mmol}/\text{L}$ )	2.81 $\pm$ 0.85	2.22 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	2.99 $\pm$ 1.15	2.64 $\pm$ 0.48	3.07 $\pm$ 0.83	2.46 $\pm$ 0.70 <sup>a</sup>
HDLC( $\text{mmol}/\text{L}$ )	1.18 $\pm$ 0.34	1.44 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>	1.38 $\pm$ 0.53	1.18 $\pm$ 0.23	1.23 $\pm$ 0.35	1.39 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>
ApoAI( $\text{mmol}/\text{L}$ )	1.25 $\pm$ 0.25	1.37 $\pm$ 0.20	3.44 $\pm$ 14.13	1.32 $\pm$ 0.20		
ApoB( $\text{mmol}/\text{L}$ )	9.06 $\pm$ 7.19	1.08 $\pm$ 0.21	2.64 $\pm$ 10.67	1.23 $\pm$ 0.14		

a 为  $P < 0.05$ , 与 GG 基因型亚组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与男性 GG 基因型亚组比较。

表 3. 男性脑出血组 SR-BI G4A 多态不同基因型亚组体质指数、血脂和脂蛋白水平比较

指 标	男 性		女 性		合 计	
	GG	GA+ AA	GG	GA+ AA	GG	GA+ AA
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	22.65 $\pm$ 2.47	23.25 $\pm$ 2.34	22.35 $\pm$ 2.45	22.35 $\pm$ 3.58	22.55 $\pm$ 2.46	22.96 $\pm$ 2.75
TC( $\text{mmol}/\text{L}$ )	4.40 $\pm$ 0.96	4.33 $\pm$ 0.75	4.77 $\pm$ 1.05	5.09 $\pm$ 1.07	4.51 $\pm$ 1.00	4.57 $\pm$ 0.91
TG( $\text{mmol}/\text{L}$ )	1.71 $\pm$ 1.02	2.00 $\pm$ 1.33	1.88 $\pm$ 1.21	2.49 $\pm$ 1.46	1.76 $\pm$ 1.08	2.15 $\pm$ 1.36
LDLC( $\text{mmol}/\text{L}$ )	2.57 $\pm$ 0.75	2.13 $\pm$ 0.56 <sup>b</sup>	2.71 $\pm$ 0.81	2.11 $\pm$ 1.07	2.62 $\pm$ 0.77	2.12 $\pm$ 0.73 <sup>a</sup>
HDLC( $\text{mmol}/\text{L}$ )	1.20 $\pm$ 0.36	1.44 $\pm$ 0.55 <sup>b</sup>	1.40 $\pm$ 0.33	1.44 $\pm$ 0.37	1.26 $\pm$ 0.36	1.44 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>
ApoAI( $\text{mmol}/\text{L}$ )	1.04 $\pm$ 0.25	1.02 $\pm$ 0.24	1.05 $\pm$ 0.22	1.16 $\pm$ 0.24		
ApoB( $\text{mmol}/\text{L}$ )	2.84 $\pm$ 14.63	1.14 $\pm$ 0.24	1.39 $\pm$ 0.28	1.38 $\pm$ 0.33		

a 为  $P < 0.05$ , 与 GG 基因型亚组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与男性 GG 基因型亚组比较。

### 3 讨论

SR-BI 作为清道夫受体家族的一员, 具有多配体结合特性, 除了能高亲和力结合 HDL 参与 HDL 代谢外, SR-BI 还能与其他多种配体结合, 包括 LDL、乙酰化 LDL(ac-LDL)、氧化型 LDL(ox-LDL) 等<sup>[5,6]</sup>。SR-BI 能以高亲和力结合 ox-LDL, 将之内吞并降解, 同样, SR-BI 也可以作为 LDL 的受体, 但是与介导 HDLC 选择性摄取不同, 它介导 LDL 颗粒以囊泡的形式内吞, 起部分补偿 LDL 受体缺陷的作用, 提示 SR-BI 在 LDL 和 ox-LDL 代谢中的作用。体内外研究早已证实 SR-BI 参与血浆脂蛋白的代谢, 包括 HDL 和非 HDL 代谢。Acton 等对南欧白人 SR-BI 基因单核苷酸多态的研究发现 SR-BI 基因与血脂代谢有关联, SR-BI G4A 突变与男性 HDLC 增高和 LDLC 降低有关<sup>[7]</sup>。Perez-Martinez 对健康人群加以饮食上的干预后, 再检测不同基因型对饮食干预的反应, 结果发

现 SR-BI G4A GA 基因型与餐后低血脂反应有关, 提示 A 等位基因可能与肝内 SR-BI 基因表达增加有关, 能加快富含 TG 的小颗粒清除<sup>[8]</sup>。国内廖丽娅用 PCR-RFLP 方法检测了 150 例 2 型糖尿病患者和 120 例糖耐量正常者 SR-BI 基因外显子 1 G4A 变异的基因型, 发现两组中携带 A 等位基因的个体与 GG 基因型相比有着较低的 LDLC 浓度, 糖尿病组中携带 A 等位基因的患者有着较低的 HDLC 浓度<sup>[9]</sup>。

本研究中, ACI 组、脑出血组和对照组 GA+ AA 基因型亚组 HDLC 水平显著高于 GG 基因型亚组, LDLC 水平显著低于 GG 基因型亚组, 对照组中 GA+ AA 基因型亚组 TC 水平显著低于 GG 基因型亚组。推测健康人群、ACI 患者以及脑出血患者 A 等位基因可能均与 HDLC 水平增高和 LDLC 降低有关。ACI 组和脑出血组中 GA+ AA 基因型亚组 HDLC 水平显著高于 GG 基因型亚组, LDLC 水平显著低于 GG 基因型亚组, 但是却造成与疾病不同的关联, 其

中 SR-BI 基因 G4A 多态与 ACI 有关,而与脑出血无关。分析原因可能是 ACI 和脑出血的发生均与血压、动脉粥样硬化、环境等综合因素有关,脑出血的发生可能与血压等因素关系更密切,而 ACI 的发生与血脂代谢紊乱等病因关系更密切,这与临床上分析 ACI 最常见病因是动脉粥样硬化,而脑出血最常见病因是高血压这一现象是相吻合的。除 ACI 组与对照组等位基因频率存在显著性差异外,合并高血压病的 ACI 组和合并糖尿病的 ACI 组 GA+AA 基因型频率和 A 等位基因频率也显著低于对照组。考虑脑卒中的发病是由遗传和环境等多因素综合所致,而高血压和糖尿病等危险因素增加了其发病的机率。

Acton 等<sup>[7]</sup>研究显示,SR-BI 外显子 1 基因突变与男性 HDLC 升高和 LDLC 降低有关,而在女性人群中无此现象;外显子 8 基因突变则与女性 LDLC 降低有关;女性中有内含子 5 基因突变者有着偏高身高的 BMI,内含子 5 基因突变且与男性血浆 TG 浓度有关。我们的研究结果显示中国湖南地区汉族人群 SR-BI G4A 突变以后的血脂效应在男女性别中也表现出了差异,其中男性 ACI 组和男性脑出血组 GA+AA 基因型亚组 HDLC 水平均显著高于 GG 基因型亚组,LDLC 水平均显著低于 GG 基因型亚组,该两组不同基因型间 BMI 和其他血脂、脂蛋白水平差异无显著性。而女性 ACI 组和女性脑出血组不同基因型间 BMI、血脂和脂蛋白水平差异均无显著性。推测中国湖南地区汉族人群 SR-BI G4A 突变后的血脂效应存在性别差异。这与 Acton 等的研究结果一致。这种性别上的差异很难用遗传学解释,可能与以下几点有关: 研究样本量太小,由于性别构成比的不同而产生的一种偶然现象;④该多态位点本身就是一种“性别依赖”多态位点,性别或雌激素可通过免疫反应影响 As 的形成;④雌激素对 SR-BI 基因表达具有调控作用<sup>[10,11]</sup>。Acton 等研究证实了 SR-BI

基因多个位点均有性别差异,而大量的体内外实验也已证实雌激素对 SR-BI 基因表达具有调控作用,因此,我们推测 SR-BI G4A 多态位点血脂效应的性别差异是由于雌激素对 SR-BI 基因表达的调控作用所致。A 等位基因与男性 HDLC 水平增高和 LDLC 水平降低有关。

#### [参考文献]

- [1] Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, et al. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor [J]. *Science*, 1996, **271** (5248): 518-520.
- [2] Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis [J]. *Science*, 1986, **232** (4746): 34-47.
- [3] Liu B, Krieger M. High purified scavenger receptor class B, Type I reconstituted into phosphatidylcholine/cholesterol liposomes mediates high affinity high density lipoprotein binding and selective lipid uptake [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277** (37): 34 125-135.
- [4] 王新德. 各类脑血管病诊断要点[J]. *中华神经科杂志*, 1996, **29** (6): 379-380.
- [5] Arai T, Wang N, Bezouevski M, et al. Decreased atherosclerosis in heterozygous low density lipoprotein receptor-deficient mice expressing the scavenger receptor BI transgene [J]. *J Biol Chem*, 1999, **274** (4): 2 366-371.
- [6] Trigatti B, Rigotti A, Krieger M. The role of the high-density lipoprotein receptor SR-BI in cholesterol metabolism [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2000, **11** (2): 123-131.
- [7] Acton S, Osgood D, Donoghue M, et al. Association of polymorphism at the SR-BI gene locus with plasma lipid levels and body mass index in a white population [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19** (7): 1 734-743.
- [8] Perez-Martinez P, Perez-Jimenez F, Bellido C, et al. A polymorphism exon 1 variant at the locus of the scavenger receptor class B type I (SCARB1) gene is associated with differences in insulin sensitivity in healthy people during the consumption of an olive oil-rich diet [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, **90** (4): 2 297-300.
- [9] 廖丽娅, 徐焱成. SR-BI 基因 Gly4Ser 多态性对 2 型糖尿病血脂的影响 [J]. *医学新知杂志*, 2005, **15** (1): 27-29.
- [10] Ng DS, Francone QL, Forte TM, et al. Disruption of the murine lecithin: cholesterol acyltransferase gene causes impairment of adrenal lipid delivery and upregulation of scavenger receptor class B type I [J]. *J Biol Chem*, 1997, **272** (25): 15 777-781.
- [11] Wang N, Weng W, Breslow JL, et al. Scavenger receptor BI (SR-BI) is up-regulated in adrenal gland in apolipoprotein A-I and hepatic lipase knock-out mice as a response to depletion of cholesterol stores. In vivo evidence that SR-BI is a functional high density lipoprotein receptor under feedback control [J]. *J Biol Chem*, 1996, **271** (35): 21 001-004.

(此文编辑 陈临溪,文玉珊)