

冠心病患者血清 apoA5 水平的临床价值

朱立岳 胡雷光 惠志强 王昕蕾

作者单位:200040 上海市,上海市静安区中心医院复旦大学附属华山医院静安分院检验科

通讯作者:胡雷光,E-mail:huleiguang@126.com

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2013.02.013

载脂蛋白 A5 (apolipoprotein A5, apoA5) 是由两个独立的研究小组于 2001 年通过比较小鼠与人的基因组 DNA 同时发现的一种新的载脂蛋白^[1,2]。近年来国内外学者对人类 apoA5 基因的多态性进行了广泛的研究,相继报道了 16 个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP)^[3]。Pennacchio 等^[4]又根据与甘油三酯 (triglyceride, TG) 代谢相关的 5 个 SNP 定义了 3 个单倍体型。其中 apoA5 * 2 单倍体 (-1131 T/C, -3A/G, IVS+467G/A, 1259T/C)、apoA5 * 3 单倍体 (56C/G) 与 apoA5 * 1 (常见等位基因纯合子) 相比,血浆 TG 水平明显增高。近期相继有文献^[5-7]报道血清 apoA5 水平与 TG 水平的相关性,证实了其血清水平对脂质代谢的重要意义。本文通过分析冠心病 (coronary heart disease, CHD) 患者血清 apoA5 水平及其与血清脂质之间的关系,并观察 apoA5 基因多态性与其血清水平的关系,探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集 2007-2010 年我院健康体检者和住院 CHD 患者共 142 例。CHD 组 61 例,其中男 30 例,女 31 例,平均年龄 (70±7.4) 岁,符合美国心脏病学会/美国心脏协会不稳定型心绞痛和非 ST 段抬高心肌梗死治疗指南 (2007 年修订版) 的诊断标准;对照组 81 例,其中男 44 例,女 37 例,平均年龄 (66±4.6) 岁,排除 CHD、糖尿病、恶性肿瘤等慢性疾病史。

1.2 仪器与试剂 血清脂质由日立 7170s 全自动生化仪测定,所用试剂由上海申索试剂有限公司生产;apoA5 检测试剂购自湖南远泰生物科技有限公司;单倍体型抽提采用 Axygen 公司 AxyPrep 全血基因组 DNA 小量提取试剂。

1.3 方法

1.3.1 血清脂质及载脂蛋白分析 所有研究对象均空腹取静脉血 5 ml。自然凝固后以离心半径 10 cm, 3000 r/min 离心 10 min 分离血清,采用全自动生化分析仪对 TG、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、载脂蛋白 AI (apolipoprotein AI, apoAI) 和载脂蛋白 B (apolipoprotein B,

apoB) 进行测定。剩余血清 -20℃ 冻存,一个月内使用 ELISA 法测定 apoA5,试验操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 单倍体型分析 所有研究对象均空腹采集静脉血 2 ml,置 EDTA 抗凝试管,-20℃ 冻存,4 w 内完成抽提。以 apoA5 -3A/G 和 56C/G SNP (SNP 序列号 rs651821, rs3135506) 作为 apoA5 * 2 单倍体、apoA5 * 3 单倍体型的标志。SNP 分析参考文献^[5]进行。

1.4 统计学处理 采用 SAS 8.02 统计软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;多组间均数比较采用方差分析,参数间相关性采用直线相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 apoA5 浓度的比较 CHD 组患者血清 apoA5 水平与对照组比较显著降低,差异有统计学意义 [(166.5±83.4) ng/mL vs (198.2±94.79) ng/mL, $t = 2.076$, $P = 0.041$]。

2.2 血清 apoA5 浓度与血脂指标的相关性 对照组血清 apoA5 水平与 TG 呈负相关 ($r = -0.24$, $P = 0.014$),与 HDL-C ($r = 0.29$, $P = 0.015$)、apoAI ($r = 0.39$, $P = 0.015$) 呈正相关。CHD 组却呈现 apoA5 浓度与 TG ($r = 0.23$, $P = 0.044$)、HDL-C ($r = 0.28$, $P = 0.027$)、apoAI ($r = 0.23$, $P = 0.009$) 均呈正相关。血清 apoA5 水平与 TC、LDL-C、apoB 之间无相关性。

2.3 两组患者各基因型 apoA5 及 TG 水平比较 -3A/G 的 SNP G 等位基因频率为 27%,对照组和 CHD 组携带罕见等位基因 G 的人群 TG 水平均较常见等位基因纯合子人群升高,且差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05)。而两组研究对象 -3A/G 各基因型之间 apoA5 浓度的差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。56C/G 所有研究对象均为 CC 基因型,未见 SNP。见表 1。

3 讨论

对 apoA5 的研究起始于 2001 年。对小鼠的研究显示转基因鼠血浆 TG 水平下降 1/3,而基因敲除鼠的 TG 水平增高 4 倍^[4]。随后的研究^[8,9]相继证明了基因的 SNP 和血浆 TG 之间的重要的关系,稀有等位基因是导致血浆 TG 水平增高的主要原因。

表 1 两组间各基因型 apoA5 及 TG 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别		-3A/G			F 值	P 值	56C/G		
		AA	AG	GG			CC	CG	GG
对照组	例数	43	32	6			81	0	0
	TG(mmol/L)	1.43±0.81	1.85±0.93*	2.40±0.50*	4.71	0.012	1.79±1.01	-	-
	apoA5(ng/mL)	204.30±75.80	182.20±81.40	194.30±89.60	0.72	0.491	198.20±94.79	-	-
CHD 组	例数	33	22	6			61	0	0
	TG(mmol/L)	1.39±0.67	1.88±0.99 [△]	2.13±0.78 [△]	3.64	0.032	1.91±0.92	-	-
	apoA5(ng/mL)	176.20±84.10	152.70±81.20	166.40±98.40	0.51	0.602	166.50±83.40	-	-

注: *与 AA 组比较, $q_1=3.0129, q_2=3.7277, P<0.05$; [△]与 AA 组比较, $q_1=3.1109, q_2=2.9136, P<0.05$

apoA5 主要存在于富含 TG 的极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 和 HDL-C 颗粒中。近期研究^[10]发现虽然其血清浓度较低,但对血浆脂蛋白的代谢起着决定性的作用,还对动脉粥样硬化的发生和发展也有很大的影响。本文研究发现 CHD 组 apoA5 水平较对照组显著降低,证实了 apoA5 是动脉粥样硬化的保护因素之一。

相关研究^[11,12]表明 apoA5 可能通过两方面实现对 TG 的调节,一是作为脂蛋白脂肪酶激活剂,二是抑制 VLDL 的合成。本文研究发现对照人群的 apoA5 水平与 TG 水平呈负相关,这与以往的相关报道^[13]相似,提示 apoA5 在调节 TG 的代谢,降低 TG 水平方面有一定作用。但本文研究中 CHD 人群的血清 apoA5 水平却与 TG 水平成正相关。以往也有研究^[14]称高 TG 人群的 apoA5 水平较正常 TG 人群高。Alborn 等^[15]在对糖尿病患者研究中也发现血清 apoA5 水平与 TG 水平成正相关。综合以上情况,推测 apoA5 作为 VLDL 的结构蛋白,VLDL 增高的患者 apoA5 也就增高。其次可能由于各种病理因素的影响,使 TG 持续升高,引起 apoA5 代偿性升高。这些情况说明 apoA5 对脂质代谢的作用机制十分复杂,其临床应用还有待进一步研究。Qu 等^[16]研究指出,apoA5 能促使胆固醇从 VLDL 中分配到 HDL 中,促使 HDL 颗粒的成熟。这与本文研究中 apoA5 水平与 HDL-C 呈正相关一致。总之,apoA5 对血浆脂蛋白的代谢起着决定性的作用,对动脉粥样硬化的发生发展也有很大的影响。

本文通过对对照组研究发现,-3A/G SNP G 等位基因频率为 27%,携带 G 等位基因的人群 TG 水平较 A 等位基因纯合子显著增高,未发现 56C/G 的 SNP,这些情况与国内相关报道^[17,18]相似。而值得注意的是,不管是对照组还是 CHD 组,携带罕见等位基因的 AG 组和 GG 组与常见等位基因纯合子 AA 组血清 apoA5 的水平差异并无统计学意义。显示-3A/G SNP 与 apoA5 的浓度之间并无直接的联系,故推测 apoA5 基因可能不是通过调节血浆 apoA5 水平来实现影响 TG 代谢的作用。

综上所述,apoA5 对降低 TG,升高 HDL 起着重要的作用,对 CHD 患者动脉粥样硬化有保护性作用。但 apoA5 -3A/

G 基因多态性与血清浓度之间并无直接的联系。

4 参考文献

- Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk*, 1996, 3: 213-219.
- Pennacchio LA, Rubin EM. Genomic strategies to identify mammalian regulatory sequences. *Nat Rev Genet*, 2001, 2: 100-109.
- 李溪, 姚成立. 载脂蛋白 A5 基因的研究进展. *宁夏医学杂志*, 2008, 30: 380-381.
- Pennacchio LA, Olivier M, Hubacek JA, et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. *Science*, 2001, 294: 169-173.
- 胡雷光, 朱立岳, 陈坚, 等. 载脂蛋白 A5 基因-3A/G 多态性对血脂代谢及其相关疾病的关系探讨. *检验医学*, 2011, 26: 593-597.
- Yin RX, Li YY, Wu JZ, et al. Interactions between the apolipoprotein a1/c3/a5 haplotypes and alcohol consumption on serum lipid levels. *Alcohol Clin Exp Res*, 2013, 37: 234-243.
- Yin RX, Li YY, Lai CQ. Apolipoprotein A1/C3/A5 haplotypes and serum lipid levels. *Lipids Health Dis*, 2011, 10: 140.
- Guardiola M, Ribalta J, Gómez-Coronado D, et al. The apolipoprotein A5 (APOA5) gene predisposes Caucasian children to elevated triglycerides and vitamin E (Four Provinces Study). *Atherosclerosis*, 2010, 212: 543-547.
- Kim JY, Kim OY, Paik JK, et al. Association of apolipoprotein A-V concentration with apolipoprotein A5 gene -1131T>C polymorphism and fasting triglyceride levels. *J Clin Lipidol*, 2013, 7: 94-101.
- Sharma V, Forte TM, Ryan RO. Influence of apolipoprotein A-V on the metabolic fate of triacylglycerol. *Curr Opin Lipidol*, 2013, 24: 153-159.
- Fruchart-Najib J, Bauge E, Niculescu LS. Mechanism of triglyceride lowering in mice expressing human apolipoprotein A5. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 319: 397-404.
- Zhao SP, Hu S, Li J, et al. Association of human

(下接第 127 页)

整个临床思维亦随之结束。

4 病例教学最终应回顾病例的整个诊断、分析、治疗过程,梳理临床思维的主线,从而加深理论印象,提高教学效果

病例教学涉及实验室全面质量控制、基础医学、检验技术、以及临床医学各方面的理论和知识,贴近工作实际,较抽象的课堂书本教学更易于理解和接受。教学应注意选择完整病例,能涵盖病史、检测、诊断、分析、治疗的全过程。教学前准备贴近实际工作、简单明晰的课件,如仿真图示、耗材实物,甚或机旁教学。教学思路由临床到实验室,再由实验室到临床,过程中紧紧抓住主要矛盾,抛却与临床问题关系不大的细枝末节,形成鲜明的理论主线。在此病例中,还存在其他问题,如 Fib 和 D-D 的逐渐增高也是需要我们思考的,但这不是临床提出的问题,可暂时抛开,教学只围绕着临床问题进行,才能收到预期效果。在病例教学的最后,可留下相关思考题,更进一步地培养对教学内容举一反三的思维能力。

整个病例教学实际上是由实践到理论,再由理论到实践的数次的循环过程,每一次循环,都是对知识掌握的一次进步,都是理论指导实践的一个良好例证。以此培养检验医师开阔、全面、条理清晰的综合、分析、判断的思维能力,以及对临床问题的积极态度。

5 参考文献

- 1 张曼,申子瑜,尚红,主编.国际临床检验医师的教育、培训和准入体系.北京:人民卫生出版社,2007,5-91.
- 2 彭黎明,邓承祺,主编.现代血栓与止血的实验室检测及其应用.北京:人民卫生出版社,2004,19-22,138-141.
- 3 Jenny NS, Mann KG. Coagulation cascade: an overview. In: Loscalzo J and Schafer AL. Thrombosis and hemorrhage. Lippincott Williams Wilkins, 2002, 1-21.

- 4 Plebani M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? Clin Chem Lab Med, 2006, 44: 750-759.
- 5 Donald S Young, 主编.李艳,王传新,欧启水等,主译.分析前因素对临床检验结果影响.人民军医出版社,2009, 871-978.
- 6 Lawrence JB. Preanalytical variables in the coagulation laboratory. Lab Med, 2003, 34: 1-9.
- 7 CLSI Document H21-A5: "Collection, transport, and processing of blood specimens for testing plasma-based coagulation assays and molecular hemostasis assays; approved guideline". Fifth edition, 2008, 28, 5.
- 8 Lothar Thomas, 主编.吕元,朱汉民等,主译.临床实验诊断学.上海科学技术出版社,2004, 569-570.
- 9 NCCLS AH21-A3 Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Coagulation Testing and General Performance of Coagulation Assays; Approved Guideline-Third Edition(1998).
- 10 NCCLS AH47-A One-Stage Prothrombin Time (PT) test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) test; Approved Guideline (1996).
- 11 Sidelmann JJ, Gram J, Jespersen J, et al. Fibrin clot formation and lysis: basic mechanisms. Semin Thromb Hemost, 2000, 26: 605-618.
- 12 McGlasson DL. A comparison of INRs after local calibration of thromboplastin international sensitivity indexes. Clin Lab Sci, 2002, 15: 91-95.
- 13 谢兆霞,贺石林,主编.老年血液病的诊断与治疗.中南大学出版社,2007, 148-149.
- 14 王振义,李家增,阮长耿等,主编.血栓与止血基础理论与临床(第三版).上海科学技术出版社,2004, 384-389.

(收稿日期:2013-03-01)

(本文编辑:李霏)

(上接第 113 页)

- serum apolipoprotein A5 with lipid profiles affected by gender. Clin Chim Acta, 2007, 376: 68-71.
- 13 Hyun YJ, Jang Y, Chae JS, et al. Association of apolipoprotein A5 concentration with serum insulin and triglyceride levels and coronary artery disease in Korean man. Atherosclerosis, 2009, 205: 568-573.
 - 14 Schaap FG, Nierman MC, Berbée JF, et al. Evidence for a complex relationship between apoA-V and apoC-III in patients with severe hypertriglyceridemia. J Lipid Res, 2006, 47: 2333-2339.
 - 15 Alborn WE, Prince MJ, Konrad RJ. Relationship of apolipoprotein A5 and apolipoprotein C3 levels to serum triglycerides in patients with

type 2 diabetes. Clin Chim Acta, 2007, 378: 154-158.

- 16 Qu S, Perdomo G, Su D, et al. Effects of apoA-V on HDL and VLDL metabolism in APOC3 transgenic mice. J Lipid Res, 2007, 48: 1476-1487.
- 17 汤轶波,顾丽萍,孙屏,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.中国动脉硬化杂志, 2005, 13: 785-788.
- 18 刘合,王春婷,张思仲,等. APOA5 基因单核苷酸多态性与冠心病相关性研究.中华医学遗传学杂志, 2004, 21: 335-338.

(收稿日期:2012-08-13)

(本文编辑:李霏)