

## 血浆低密度脂蛋白和高密度脂蛋白亚组分的 临床意义及检测研究进展

米春芳, 刘庆平

(辽宁省糖脂代谢研究重点实验室 大连大学生命科学与技术学院, 辽宁省大连市 116622)

[关键词] 低密度脂蛋白; 高密度脂蛋白; 亚组分; 脂代谢异常; 心血管疾病

[摘要] 血浆低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)是临床心血管疾病(CVD)的重要生物化学指标。一些脂代谢异常疾病如肥胖、糖尿病、高血压和高脂血症尤其是动脉粥样硬化等都是CVD的危险因素,许多新的研究证明这些疾病患者的血浆LDL和HDL亚组分存在异常,其临床意义大于LDL和HDL总体异常。血浆LDL和HDL异常亚组分作为CVD临床检测指标已引起了广泛研究与关注。本文旨在对血浆LDL和HDL亚组分的临床意义及检测研究进展加以论述。

[中图分类号] Q513.5

[文献标识码] A

### Advances in clinical significance and detection research of plasma low density lipoprotein and high density lipoprotein subunits

MI Chun-Fang, LIU Qing-Ping

(Key Laboratory of Carbohydrate and Lipid Metabolism Research of Liaoning Province & College of Life Science and Technology, Dalian University, Dalian, Liaoning 116622, China)

[KEY WORDS] Low density lipoprotein; High density lipoprotein; Subunit; Abnormal lipid metabolism; Cardiovascular disease

[ABSTRACT] Plasma low density lipoprotein (LDL) and high density lipoprotein (HDL) are important biochemical indicators of clinical cardiovascular disease (CVD). Some disorders of lipid metabolism, such as obesity, diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidemia, especially atherosclerosis, are risk factors for CVD. Many new studies have demonstrated abnormalities of plasma LDL and HDL subunits in patients with these diseases, and their clinical significance is greater than the overall abnormalities of LDL and HDL. Abnormal subunits of plasma LDL and HDL have been extensively studied and paid attention to as a clinical indicator of CVD. The purpose of this paper is to discuss the advances in clinical significance and detection research of plasma LDL and HDL subunits.

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)是危害人类健康的一类重大疾病。大量流行病学资料表明,脂类代谢异常尤其是血浆脂蛋白异常是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)、冠心病(coronary artery disease, CAD)等CVD的重要危险因素。血浆脂蛋白包括低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)和乳糜微粒,而血液低密度脂蛋白胆固醇

(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)和高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)的浓度高低强烈关乎到CAD等CVD的发生发展,脂质代谢异常患者血液高浓度LDLC和极低浓度HDLC成为引发CVD的重要危险因素。

然而,以往的临床试验表明,单独或联合使用他汀类降脂药物治疗、强化提升HDLC浓度、降低LDLC浓度,并没有延缓As的进展或降低心血管事件的发病率<sup>[1]</sup>,因此近年来在心血管精准检测与治

[收稿日期] 2016-11-21

[修回日期] 2017-03-02

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81270361, 81673494)

[作者简介] 米春芳, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病, E-mail 为 1204906253@qq.com。通讯作者刘庆平, 博士, 教授, 研究方向为心血管疾病, E-mail 为 qingpingliu40@126.com。

疗领域,除降低血清 LDLC 和/或提高 HDLC 水平之外,对于引发 CVD 的脂蛋白精细亚组分表现出一个极大的兴趣。这个兴趣的产生可能和一个事实有关:抗 As 的 HDL 颗粒是由一组异质亚组分组成,不仅大小和密度不同,而且化学成分和生理功能也不同。因此,仅通过测定 HDL 颗粒携带的胆固醇,可能无法完全捕获 HDL 亚组分与 CVD 相关的风险。此外,致 As 的 LDL 颗粒的潜能不仅与它们的浓度有关,而且与其异质性如粒子大小、密度和脂质组成也相关。以往的研究表明,冠状动脉狭窄的改善与小而密 LDL (small and dense LDL, SD-LDL) 胆固醇颗粒的减少显著相关。因此,能否将血浆 LDL 和 HDL 的某些亚组分作为 CAD 等 CVD 进一步的预测因子引起了广泛关注。这些研究进展必将为临床 CVD 的预防检测和精准靶标治疗带来新的思路和治疗策略。

## 1 LDL 及其亚组分

### 1.1 低密度脂蛋白

血浆 LDL 是健康人血清脂蛋白的重要组成部分,其直径为 22 nm,分子量为  $2.5 \times 10^6$  Da,密度为  $1.019 \sim 1.063$  kg/L,由胆固醇酯(40%~44%)、游离胆固醇(9%~10%)、磷脂(20%~24%)、甘油三酯(3%~5%)和蛋白质(21%~26%)组成。LDL 的亲脂性内核由中性脂质、胆固醇酯和甘油三酯组成,亲水性外壳由单层的磷脂和游离胆固醇组成,包埋在 LDL 最外层的是单层的载脂蛋白 B (apolipoprotein B, ApoB) 分子。LDL 主要负责把胆固醇从肝脏运送到全身外周组织细胞,是血液中胆固醇的主要载体蛋白,主要通过其外周蛋白

ApoB100 和脂类形成的配体结构被靶细胞 LDL 受体识别、利用。LDL 在体内极易被氧化成氧化低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL), 当 LDL 尤其是氧化修饰的 ox-LDL 在血液中长期过量积累时,它携带的胆固醇便积存在动脉壁上,致使血液单核细胞分化而成的巨噬细胞泡沫化,形成脂质蓄积的疏松样 As 巢,启动 As 炎症和血栓的发生发展。因此 LDL 被俗称为“坏的胆固醇”。

### 1.2 LDL 亚组分

根据 LDL 颗粒的大小和密度存在着不均一性,提出了“LDL 亚组分”概念。这种不均一性称之为“多分散性”,有别于以前认为的 LDL 存在的单分散性。虽然学者们报道了多种划分 LDL 亚组分的方法,但多数采用梯度凝胶电泳与密度梯度超速离心 (density gradient ultracentrifugation, DGUC) 2 种方法。前者多采用 2%~16% 连续凝胶,而后的条件较不统一,因而所得结果差异较大。有学者用密度梯度凝胶电泳法根据 LDL 颗粒直径将血浆 LDL 分成 2 种类型:A 型(以大颗粒为主,主峰颗粒直径  $\geq 25.5$  nm)、B 型(以小颗粒为主,主峰颗粒直径  $< 25.5$  nm)。Griffin 等通过 DGUC,根据 LDL 颗粒密度不同而分为 3 个亚组分:LDL1 ( $1.020 \sim 1.035$  kg/L)、LDL2 ( $1.035 \sim 1.045$  kg/L)、LDL3 ( $1.045 \sim 1.060$  kg/L)。Gardner 等用 DGUC、变性梯度凝胶电泳和亲和层析法将 LDL 按密度和颗粒大小分为 2~15 个亚组分。鉴于方法学上的不统一,导致了研究结论的不一致。在国际上血浆 LDL 分类主要依据 LDL 颗粒的大小和密度不均一性,而 LDL 颗粒大小则取决于脂类的含量,当脂类含量少时,ApoB100 蛋白增加,LDL 颗粒变小,密度增高。根据颗粒大小 LDL 可分为 A 和 B 型<sup>[2]</sup>(表 1)。

表 1. LDL 亚组分

Table 1. The subunits of LDL

项 目	大而轻 LDL(A 型)		小而密 LDL(B 型)				
	LDL1	LDL2	LDL3	LDL4	LDL5	LDL6	LDL7
密度 (kg/L)	1.019~1.023	1.023~1.028	1.028~1.034	1.034~1.041	1.041~1.044	1.044~1.051	1.051~1.06
直径 (Å)	272~285	265~272	256~265	247~256	242~247	233~242	220~233
蛋白 (%)	18	19	21	22	24	26	29
胆固醇酯 (%)	43	45	45	46	44	42	40
游离胆固醇 (%)	9	10	9	8	7	7	7
甘油三酯 (%)	7	4	3	3	3	5	6
磷脂 (%)	22	23	22	21	21	19	18
总脂 (%)	81	82	79	78	75	73	71

具体以  $265\text{Å}$  为分类标准,当 LDL 颗粒大于  $265\text{Å}$  称为大而轻 LDL (large and buoyant LDL, L-

LDL), 小于  $265\text{Å}$  时称为 SD-LDL。最新 Lipoprint LDL 分析系统 (Quantimetrix), 把 LDL 分为 7 个亚组

分<sup>[3]</sup>;LDL1为大LDL(large LDL,L-LDL),LDL2为中LDL(intermediate LDL,I-LDL),LDL3~7为小LDL(small LDL,S-LDL)。从表1中可见,随着蛋白总量的递增,总脂含量递减,LDL颗粒变小,密度变大。最近大量的研究证实SD-LDL的增加与CVD的风险呈正相关<sup>[4]</sup>;评估LDL亚组分和LDL颗粒直径已成为量化致As脂蛋白亚组分的一个更为可靠的方法<sup>[5]</sup>。

## 2 HDL及其亚组分

### 2.1 高密度脂蛋白

HDL在血液中密度为1.063~1.210 kg/L,直径为5~12 nm,主要在肝脏合成,是密度最大、体积最小的血浆脂蛋白。初生的HDL为盘状,成熟的HDL成球状,循环中主要以球状颗粒为主。球状HDL分为两层:内层是低电子密度的核心,主要包含非极

性、疏水性的甘油三酯和胆固醇酯;外层包裹的是高电子密度的外壳,主要为亲水性的、含有极性基团的载脂蛋白、非酯化的胆固醇磷脂、磷脂单体(主要为磷脂酰胆碱、磷脂酰肌醇和鞘磷脂等)、血浆因子如卵磷脂胆固醇酰基转移酶和对氧磷脂酶等<sup>[6]</sup>。即HDL包含脂质部分、蛋白质部分和microRNA<sup>[7-9]</sup>,其中蛋白质部分主要以ApoA I为主,占HDL结构蛋白中的60%<sup>[6]</sup>。流行病学及临床研究证明HDL与CAD、As等疾病的发生机率呈负相关;HDL是一种抗As的血浆脂蛋白,是CAD的保护因子,俗称“血管清道夫”。

### 2.2 HDL亚组分

血浆HDL也是多向分散体系。HDL是一种异质性脂蛋白,基于其颗粒大小、形状、水化密度、电荷和抗原性均有很大差异,运用不同的技术方法可将HDL分为不同的亚组分<sup>[6,10]</sup>(表2)。

表2. HDL亚组分

Table 2. The subunits of HDL

分离方法	HDL亚组分		
超速离心	HDL2(1.063~1.125 kg/L)		HDL3(1.125~1.210 kg/L)
DGUC	HDL2b(1.063~1.090 kg/L)		HDL2a(1.090~1.120 kg/L)
	HDL3a(1.120~1.150 kg/L)	HDL3b(1.150~1.180 kg/L)	HDL3c(1.180~1.210 kg/L)
琼脂糖凝胶电泳	前β-HDL		α-HDL
PGGE	HDL2b(9.7~12 nm)		HDL2a(8.8~9.7 nm)
	HDL3a(8.2~8.8 nm)	HDL3b(7.8~8.2 nm)	HDL3c(7.2~7.8 nm)
双向凝胶电泳	前β1-HDL	前β2-HDL	前β3-HDL
	HDL2a、HDL2b	HDL3a、HDL3b	HDL3c
NMR	L-HDL-P(9.4~14 nm)	M-HDL-P(8.2~9.4 nm)	S-HDL-P(7.3~8.2 nm)
载脂蛋白组成	HDLC(LPA I)		HDLC(LPA I/A II)
	HDLC(LPA IV)		HDLC(LPA I/A IV)
Lipoprint系统	L-HDL(1~3)	M-HDL(4~7)	S-HDL(8~10)

目前比较常用的方法有超速离心法、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)、非变性梯度凝胶电泳以及线性聚丙烯酰胺凝胶电泳等。根据HDL密度大小的不同,运用超速离心法可以将HDL分为两大类:即体积大、疏松而富含脂质的HDL2(密度为1.063~1.125 kg/L)和体积小、密集而富含蛋白的HDL3(密度为1.125~1.21 kg/L)。常用的超速离心法有连续DGUC、速率区带离心和差速离心等,目前应用最多的为连续DGUC,即在离心力的作用下将HDL的各种亚组分分配到梯度液中,形成各自的区带,最终分离出各亚组分<sup>[6]</sup>。采用琼脂糖及非变性聚丙烯酰胺梯度凝胶(polyacrylamide gradient gel electrophoresis, PGGE)双向电泳、免疫印

迹和斑点扫描分析建立了双向凝胶电泳-免疫印迹法检测血清HDL亚组分<sup>[11]</sup>。在第一向电泳中将HDL分为前β-HDL和α-HDL两种类型,再经第二向电泳将前β-HDL分为前β1-HDL、前β2-HDL和前β3-HDL三种亚组分,α-HDL又分为HDL2a、HDL2b、HDL3a、HDL3b及HDL3c等亚组分,该分类方法主要是根据HDL颗粒中ApoA I的量来计算各亚组分的量。NMR是另一种根据HDL颗粒直径大小进行分类的方法,通过采集HDL结构中的磷脂、胆固醇酯等脂质甲基的信号,可将HDL分为大HDL(large HDL particle, L-HDL-P)、中HDL(medium HDL particle, M-HDL-P)及小HDL(small HDL particle, S-HDL-P)三类<sup>[12]</sup>。基于构成HDL载脂蛋白的

不同, HDL 又可以分为 4 类: HDLC(LPA I)(仅有 ApoA I)、HDLC(LPA I/A II)(既有 ApoA I 又有 ApoA II)、HDLC(LPA IV)(仅有 ApoA IV)和 HDLC(LPA I/AIV)(既有 ApoA I 又有 ApoA IV)。此外, 按 Lipoprint 脂蛋白分类系统的线性聚丙烯酰胺管凝胶电泳分离法, 可以把 HDL 颗粒分成大颗粒 HDL (large HDL, L-HDL)、中等颗粒 HDL (intermediate HDL, I-HDL)、小颗粒 HDL (small HDL, S-HDL) 三大类。每个大类再细分成若干小类, 共 10 个亚组分<sup>[13]</sup>, 此方法是 HDL 颗粒经电泳分离后依据 HDLC 的浓度来分类的。

### 3 LDL 和 HDL 亚组分与疾病的关系

LDL 亚组分的精准分类对脂质代谢紊乱疾病以及 CVD 的发病危险因素和临床精准辅助诊断奠定了基础。LDL 亚组分中包括了强烈致 As 的小而密 LDL(LDL3~7)<sup>[14]</sup>。然而, LDL1 亚组分却被认为可以发挥抗 As 功能。根据一项日本研究, 小而密 LDL 浓度的升高和较小的 LDL 颗粒直径可预测稳定的 CAD 患者未来心血管事件的发生概率<sup>[15]</sup>。最近研究证明, 在相同的 LDL 水平, LDL 颗粒的个体间差异在 CAD 的发展中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。因此, 具有相同 LDL 水平、不同性状 LDL 颗粒的 CAD 患者在心血管方面的风险绝对不同。评估 LDL 亚组分和 LDL 颗粒直径已成为一个量化 As 脂蛋白亚组分更可靠的方法。

与低水平的血浆 HDLC 相比, HDL 亚组分分布异常可能直接影响 As 的发生和发展, HDL 亚组分的精准分类对于阐述 CAD 发病机制和预测分析 CAD 患者的危险分层有着重要意义。HDL 亚组分中包括了抗 As 的大 HDL 亚组分 L-HDL1~3、具有保护性的中 HDL 亚组分 I-HDL4~7 和致 As 的小 HDL 亚组分 S-HDL8~10。尽管 HDLC 的降低是未来预测心血管事件最重要的指标之一<sup>[17-18]</sup>, 但是, 可能作为最直接预测 CAD 危险因素的 HDL 亚组分特征一直没有被清楚的阐述。新观点认为 HDL 颗粒的质量也许比 HDL 的数量更重要<sup>[19-20]</sup>。一些研究结果显示, 大 HDL 亚组分与 CAD 呈负相关, 而小 HDL 亚组分水平与心血管事件的发生有显著的正相关<sup>[21]</sup>。Goliasch 等<sup>[22]</sup>使用 Lipoprint 体系在 302 例(包括 102 例心肌梗死患者和 200 例年龄、性别匹配的对照组)澳大利亚人中研究 LDL 和 HDL 亚组分, 发现大 HDL 亚组分与早发的 CAD 呈负相关, 而中、小 HDL 亚组分与早发的 CAD 呈正相关。

### 4 LDL 和 HDL 亚组分在临床检测中的研究与应用

近年来发现 LDL 和 HDL 亚组分与 As 和 CVD 的风险因素呈显著相关性。血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2 (lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2) 是一种血管炎症和 As 新的高度特异性独立生物标记物, 一项在 CAD 患者评估 Lp-PLA2 和脂蛋白亚组分之间的相关性研究结果显示, Lp-PLA2 浓度与每个 LDL 亚组分、中 HDL 亚组分以及小 HDL 亚组分的胆固醇浓度有显著正相关性, 同时在 CAD 组与 LDL 颗粒直径和大 HDL 胆固醇浓度有显著负相关性。还有学者研究发现全身炎症标志物的浓度与小 LDL 胆固醇和 LDL 的分数呈正相关, 而与平均 LDL 颗粒大小和大 HDL 胆固醇呈负相关<sup>[23]</sup>。此外, 在 LDL 亚组分中, SD-LDL 的增加与 CVD 的风险呈正相关。在肥胖人群的体内, 胰岛素抵抗的发生与 LDL 水平升高的相关性并不显著, 但是胰岛素敏感性降低和肥胖的增加与 SD-LDL 水平的升高和大 LDL 浓度降低显著相关<sup>[24]</sup>。高脂血症是一类血脂、脂蛋白、载脂蛋白及相关酶水平异常的疾病, 血清中总胆固醇和(或)甘油三酯升高可引起一系列的脂代谢紊乱, 进而导致 As 和 CAD。在不同类型的高脂血症中 LDL、HDL 各亚组分的分布、含量都存在差异。在过去的几十年中, 对于 CAD 的易感性研究中, 高血压与 LDL 亚组分、特别是与 SD-LDL 之间的关系, 有过多次的临床研究报道。近年来, 高血压与 HDL 亚组分之间相互关系的研究报道也越来越多。表 3 列出了近年的一些研究结果, 这些研究结果显示了疾病的发生、发展与 SD-LDL 表现出显著正相关性, 而与 L-HDL 则表现出显著负相关性。根据 LDL、HDL 亚组分的分布变化来判断相关药物的治疗效果及药物对疾病的控制更为科学。

目前, 用于分离 LDL、HDL 亚组分共同的方法主要包括超速离心、凝胶电泳和 NMR。超速离心法作为测定脂蛋白亚组分的经典方法, 根据各脂蛋白(脂类和蛋白质含量)密度不同而使其漂浮或沉降的原理将脂蛋白在一定梯度介质中进行离心沉降或沉降平衡, 在一定离心力下把不同的脂蛋白亚组分颗粒分配到梯度液中某些特定位置上, 形成不同区带, 从而将脂蛋白各亚组分互相分离; 该法的优点是: 具有很好的分辨率, 准确度高, 分离效果好, 可一次获得较纯颗粒, 颗粒不会积压变形, 能保持颗粒活性, 并防止已形成的区带由于对流而引起混

表 3. 脂蛋白亚组分在疾病发生、发展与治疗过程的检测

Table 3. Detection of lipoprotein subunits in disease occurrence, development and treatment

研究对象	检测方法	研究结果
CAD( $n=337$ )	Lipoprint 系统	SD-LDL $\uparrow$ , L-HDL $\downarrow$ , S-HDL $\uparrow$ ( $P<0.001$ ) <sup>[25]</sup>
高血压( $n=953$ )	Lipoprint 系统	SD-LDL $\uparrow$ , L-HDL $\downarrow$ , S-HDL $\uparrow$ (均 $P<0.05$ )
CAD( $n=520$ )	Lipoprint 系统	炎症标记物浓度 $\uparrow$ , 与 VLDLC、SD-LDL 和 LDL 呈正相关, 与平均 LDL 颗粒直径或 L-HDL 呈负相关性(均 $P<0.05$ ) <sup>[23]</sup>
CAD( $n=324$ )	Lipoprint 系统	Lp-PLA2 $\uparrow$ , Lp-PLA2 浓度与所有 LDL 亚组分和小 HDL 亚组分呈正相关( $P$ 均 $<0.05$ )
CAD( $n=413$ )	Lipoprint 系统	大 HDLC $\downarrow$ , 大 HDL 亚组分百分比 $\downarrow$ , 平均 LDL 颗粒大小 $\downarrow$ , 小 HDLC $\uparrow$ , 小 HDL 亚组分百分比 $\uparrow$ , 中间 LDLC $\uparrow$ , 中间 LDL 亚组分百分比 $\uparrow$ <sup>[26]</sup>
2 型糖尿病( $n=24$ )	Lipoprint 系统	胰岛素治疗后平均血糖 $\downarrow$ , 总胆固醇 $\downarrow$ , 甘油三酯 $\downarrow$ , VLDLC $\downarrow$ , HDLC $\uparrow$ , LDL1 $\downarrow$ , LDL3 $\downarrow$ , LDL4 $\downarrow$ , 大 HDL $\uparrow$ , 中 HDL $\uparrow$ , 小 HDL $\downarrow$ <sup>[27]</sup>
久坐不动健康志愿者( $n=10$ )	Lipoprint 系统	运动 4 天后空腹和餐后总胆固醇 $\downarrow$ , 甘油三酯 $\downarrow$ , VLDL $\downarrow$ , 小 HDL $\downarrow$ (均 $P<0.05$ ); 餐后中间 LDL $\downarrow$ ( $P<0.001$ ), 大 IDL $\downarrow$ 和大 LDL $\downarrow$ (均 $P<0.05$ ) <sup>[28]</sup>
高胆固醇血症( $n=80$ )	Lipoprint 系统	佛手柑治疗 6 个月后, 总胆固醇 $\downarrow$ ( $P<0.0001$ ), 甘油三酯 $\downarrow$ ( $P=0.002$ ), LDLC $\downarrow$ ( $P<0.0001$ ), HDLC $\uparrow$ ( $P=0.0007$ ), LDL1 $\uparrow$ ( $P<0.0001$ ), LDL3 $\downarrow$ ( $P<0.0001$ ), LDL4 $\downarrow$ ( $P=0.0053$ ), LDL5 $\downarrow$ ( $P=0.0133$ ), C-IMT $\downarrow$ ( $P<0.0001$ )
糖尿病( $n=317$ )	NMR 光谱	二甲双胍治疗 24 h 和 4 个月后 LDLC $\downarrow$ ( $P=0.01$ ), 大 LDL $\downarrow$ 和 LDL 颗粒尺寸 $\downarrow$ ( $P<0.001$ ); 预测较高 LVEF 时, 小 HDL $\uparrow$ ( $P=0.005$ ), 同时预测较小梗死面积时, 中型 VLDL 颗粒大小 $\uparrow$ ( $P<0.001$ )
健康工作男性( $n=265$ )	DGUC	SD-LDL 胆固醇、磷脂和 ApoB 浓度分别与 HDL2 胆固醇、ApoA I 呈负相关 ( $P<0.001$ ); 年龄与 SD-LDL 呈正相关, 体育锻炼和酒精摄入量与 SD-LDL 呈负相关, 与 HDL2 呈正相关 <sup>[29]</sup>

$\uparrow$  为升高,  $\downarrow$  为降低。C-IMT: 颈动脉内膜中膜厚度(carotid intima-media thickness); LVEF: 左心室射血分数(left ventricular ejection fraction)。

合; 缺点为: 所用仪器昂贵, 耗费时间长, 技术要求高, 需要制备梯度液, 操作严格及不宜掌握。凝胶电泳是根据脂蛋白亚组分颗粒大小和所带电荷的多少进行分类, 从而分离出脂蛋白亚组分, 它涵盖了大量使用凝胶电泳的方法; 此法的不足之处为: 不同研究人员采用各自准备的凝胶和个人独特的方法, 使用不同分布的凝胶密度得出结果, 在进行分析时难以实现标准化, 而且上述方法均属时间和资源密集型, 能否在临床实验室普及尚未确定。值得一提的是, Lipoprint 脂蛋白亚组分快速分析系统是目前唯一由美国 FDA 认证的用于脂蛋白亚组分分类检测的诊断设备, 并以其高效、快速、低实验消耗等优点, 成为近年来发展最快的分析方法之一。NMR 是基于血浆中不同大小脂蛋白其脂质所带甲基有特异的 NMR 信号的原理, 根据相关脂蛋白直径及其内容物的设定标准, 通过记录血浆中脂蛋白颗粒中脂质甲基的信号得出 NMR 数据, 从而计算出脂蛋白各亚组分的浓度、数目及大小。NMR 方法已经应用于许多大规模的人群研究<sup>[30]</sup>, 其主要优势在于能够同时快速测定 LDL 颗粒大小及亚组分浓度。但由于需要特殊的实验设备, NMR 还没有被普

遍推广使用。检测 LDL 亚组分的其他方法还包括高效液相色谱法、毛细管等速电泳、微流控芯片电泳法、改良的沉淀法、体积排阻色谱法、推算法、电子显微镜技术及动态光散射法等。检测 HDL 亚组分的其他方法有: 化学沉淀法(利用硫酸葡萄糖和聚乙二醇等作为沉淀剂, 调整溶液浓度和 pH 值, 将 HDL2 和 HDL3 分离, 通过测定其胆固醇含量进行定量)等。遗憾的是, 上述这些不同方法之间没有采用标准化, 因此检测结果的可比性不可推测。

## 5 小结与展望

临床上对脂代谢异常疾病的认识与血浆脂蛋白、载脂蛋白、脂质检测方法的发展密不可分。近几年脂蛋白亚组分对脂代谢紊乱的作用已经得到相关专家与学者的广泛关注。LDL、HDL 的异质性决定了其生物效应的复杂性, 目前许多研究表明, 在正常及疾病状态下其组成成分不同、颗粒大小不同, 抗 As 及 CAD 的作用也有明显差异。过去, 我们通过降低 LDLC 大大减少了心血管事件的发生, 未来将可能涌现出许多针对脂蛋白亚组分的新的治

疗措施,包括降低 SD-LDL 和小 HDL,提升大 HDL 水平,从而阻止甚至逆转 As,进一步降低 CVD 的发生和发展几率。因此,仅检测 LDLC、HDL 在血清中的含量已经明显不足。目前,尽管有许多科研工作者分离测定脂蛋白亚组分并对其各自功能进行研究,但是在生理和病理情况下脂蛋白亚组分的作用机制尚未完全明确。我们仍需努力明确其切实的作用机制,为指导心血管及脂代谢疾病的临床精准诊治、转归打下良好的基础。

随着科技的进步,脂蛋白亚组分的分离检测方法也在不断改进。但由于测定脂蛋白亚组分的各种分离方法及检测方法缺乏统一标准和可比性,在一定程度上造成相关研究结果及结论的不一致,对探索脂蛋白亚组分与相关疾病的关系产生了消极影响。目前血浆脂蛋白亚组分分析仅用于临床科研,而且标准不一、费用不低,在临床上推广应用任重道远。因此,我们仍需要在分离检测方法、检测指标标准化和规范化方面作出努力,寻找一种花费较少、准确度较高、便于临床实验室操作并且具有国际标准的分离检测方法,为探索脂蛋白亚组分功能及评价 CAD 等疾病风险及预后提供帮助。

#### [参考文献]

- [1] Group HTC. HPS2-THRIVE randomized placebo-controlled trial in 25673 high-risk patients of ER niacin/laropiprant: trial design, pre-specified muscle and liver outcomes, and reasons for stopping study treatment [J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(17): 1 279-291.
- [2] Nikolic D, Katsiki N, Montalto G, et al. Lipoprotein subfractions in metabolic syndrome and obesity: Clinical significance and therapeutic approaches[J]. *Nutrients*, 2013, 5(3): 928-948.
- [3] Hoefner DM, Hodel SD, O'Brien JF, et al. Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System [J]. *Clin Chem*, 2001, 47(2): 266-274.
- [4] Kwon SW, Yoon SJ, Kang TS, et al. Significance of small dense low-density lipoprotein as a risk factor for coronary artery disease and acute coronary syndrome [J]. *Yonsei Med J*, 2006, 47(3): 405-414.
- [5] Harchaoui KE, Steeg WA, Stroes ESG, et al. Value of low-density lipoprotein particle number and size as predictors of coronary artery disease in apparently healthy men and women: The EPIC-Norfolk prospective population study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49(5): 547-553.
- [6] Rizzo M, Otvos J, Nikolic D, et al. Subfractions and subpopulations of HDL: an update [J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(25): 2 881-891.
- [7] Martin SS, Jones SR, Toth PP. High-density lipoprotein subfractions: current views and clinical practice applications [J]. *Trends Endocrin Met*, 2014, 25(7): 329-336.
- [8] Ouimet M, Moore KJ. A big role for small RNAs in HDL homeostasis [J]. *J Lipid Res*, 2013, 54(5): 1 161-167.
- [9] Rayner KJ, Moore KJ. MicroRNA control of high-density lipoprotein metabolism and function [J]. *Circ Res*, 2014, 114(1): 183-192.
- [10] Martínez-Beamonte R, Lou-Bonafonte JM, Martínez-Gracia MV, et al. Sphingomyelin in high-density lipoproteins: structural role and biological function [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(4): 7 716-741.
- [11] Tian L, Fu M. The relationship between high density lipoprotein subclass profile and plasma lipids concentrations [J]. *J Endocrinol Invest*, 2011, 9(6): 461-472.
- [12] Calabresi L, Gomaschi M, Franceschini G. High-density lipoprotein quantity or quality for cardiovascular prevention [J]. *Curr Pharm Design*, 2010, 16(13): 1 494-503.
- [13] Lagos KG, Filippatos TD, Tsimihodimos V, et al. Alterations in the high density lipoprotein phenotype and HDL-associated enzymes in subjects with metabolic syndrome [J]. *Lipids*, 2009, 44(1): 9-16.
- [14] Muchová J, Andrežlová L, Oravec S, et al. High density lipoprotein subfractions and paraoxonase 1 in children [J]. *Acta Biochim Pol*, 2016, 63(3): 555-563.
- [15] Nishikura T, Koba S, Yokota Y, et al. Elevated small dense low-density lipoprotein cholesterol as a predictor for future cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease [J]. *J Biobased Mater Bio*, 2014, 21(8): 755-767.
- [16] Irving BA, Nair KS, Srinivasan M. Effects of insulin sensitivity, body composition, and fitness on lipoprotein particle sizes and concentrations determined by nuclear magnetic resonance [J]. *J Clin Endocr Metab*, 2011, 96(4): 713-718.
- [17] Martin SS, Blaha MJ, Blankstein R, et al. Dyslipidemia, coronary artery calcium, and incident atherosclerotic cardiovascular disease clinical perspective [J]. *Circulation*, 2014, 129(1): 77-86.
- [18] Li JJ, Yang P, Liu J, et al. Impact of 10 mg rosuvastatin daily or alternate-day on lipid profile and inflammatory markers [J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(1-2): 139-142.
- [19] Baryliski M, Toth PP, Nikolic D, et al. Emerging therapies for raising high-density lipoprotein cholesterol (HDL) and augmenting HDL particle functionality [J]. *Best Pract Res Clin En*, 2014, 28(3): 453-461.

- [20] Kypreos KE, Gkizas S, Rallidis LS, et al. HDL particle functionality as a primary pharmacological target for HDL-based therapies [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(11): 1 575-578.
- [21] Hoogeveen RC, Gaubatz JW, Sun W, et al. Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study [J]. *Arterioscl Throm Vas*, 2014, 34(5): 1 069-077.
- [22] Goliasch G, Oravec S, Blessberger H, et al. Relative importance of different lipid risk factors for the development of myocardial infarction at a very young age ( $\leq 40$  years of age) [J]. *Eur J Clin Invest*, 2012, 42(6): 631-636.
- [23] Zhang Y, Li S, Xu RX, et al. Systemic Inflammatory markers are closely associated with atherogenic lipoprotein subfractions in patients undergoing coronary angiography [J]. *Mediat Inflamm*, 2015, 2015(7): 1-9.
- [24] Rizzo M, Rini GB, Berneis K. The clinical relevance of LDL size and subclasses modulation in patients with type-2 diabetes [J]. *Exp Clin Endocr Diab*, 2007, 115(8): 477-482.
- [25] Gao F, Ren YJ, Shen XY, et al. Correlation between the high density lipoprotein and its subtypes in coronary heart disease [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38(5): 1 906-914.
- [26] Xu RX, Zhang Y, Ye P, et al. Analysis of lipoprotein subfractions in Chinese Han patients with stable coronary artery disease [J]. *Heart Lung Circ*, 2015, 24(12): 1 203-210.
- [27] Aslan I, Kucuksayan E, Aslan M. Effect of insulin analog initiation therapy on LDL/HDL subfraction profile and HDL associated enzymes in type 2 diabetic patients [J]. *Lipids Health Dis*, 2013, 12(1): 1-11.
- [28] Sabaka P, Kruzliak P, Balaz D, et al. Effect of short term aerobic exercise on fasting and postprandial lipoprotein subfractions in healthy sedentary men [J]. *Lipids Health Dis*, 2015, 14(1): 151-159.
- [29] Parlesak A, Eckoldt J, Winkler K, et al. Intercorrelations of lipoprotein subfractions and their covariation with lifestyle factors in healthy men [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2014, 54(3): 174-180.
- [30] Mora S, Otvos JD, Rifai N, et al. Lipoprotein particle profiles by nuclear magnetic resonance compared with standard lipids and apolipoproteins in predicting incident cardiovascular disease in women [J]. *Circulation*, 2011, 119(7): 931-939.

(此文编辑 曾学清)