103-120.

[29] van den Berg YW, Osanto S, Reitsma PH, et al. The relationship between tissue factor and cancer progression: insights from bench and bedside[J]. *Blood*, 2012, 19(4): 924-932.

[30] Ribeiro FS, Sim? o TA, Amo?edo ND, et al. Evidence for increased

expression of tissue factor and protease-activated receptor-1 in human esophageal cancer[J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(6): 1599-1604.

(收稿日期: 2013-02-05)

• 综 述 •

低密度脂蛋白受体、脂蛋白脂酶基因多态性在缺血性脑血管病发病机制中作用的研究进展

苏 晓^{1,2}, 郑 伟²综述, 胡晓芳^{2△}审校

(1. 辽宁医学院研究生学院, 辽宁锦州 121000; 2. 沈阳军区总医院检验科, 沈阳 110016)

关键词: 低密度脂蛋白受体; 脂蛋白脂酶; 基因多态性; 缺血性脑血管病**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.036**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2013)20-2716-03

缺血性脑血管病(ICVD)是一种复杂得多因素疾病,高发病率和高病死率是其突出特征。有研究显示,高三酰甘油和胆固醇水平、高血压、糖尿病、吸烟、饮酒和药物滥用是临床上引发缺血性脑血管病的危险因素^[1,2]。有研究进一步显示,遗传背景和缺血性脑血管病的发生密切相关^[3]。

缺血性脑血管病主要包括短暂性脑缺血发作和脑梗死。脑梗死包括动脉粥样硬化性血栓性脑梗死、心源性脑栓塞和腔隙性脑梗死^[4]。因血脂异常与动脉粥样硬化密切相关,大脑内部或外部的血脂异常或代谢紊乱可能是缺血性脑血管病发生的始动因素,在缺血性脑血管病的发生中发挥关键作用^[5]。低密度脂蛋白受体(LDLR)的主要功能是参与低密度脂蛋白(LDL)的分解代谢,维持血浆胆固醇水平恒定。脂蛋白脂酶(LPL)催化乳糜微粒和极低密度脂蛋白(VLDL)中的三酰甘油水解,二者均是调控血脂代谢的关键效应分子,其基因多态性可能正是通过影响血脂代谢水平来参与缺血性脑血管病的发生。本文从基因水平,就低密度脂蛋白受体(LDLR)、脂蛋白脂酶(LPL)基因多态性在缺血性脑血管病发病机制中作用的研究进展综述如下。

1 LDLR 基因多态性与缺血性脑血管病的联系

1.1 LDLR 生物学功能 LDLR 是由 836 个氨基酸组成的 36 面体结构蛋白。LDL 有五大结构域:配体结合结构域,主要功能是通过 ApoB100、ApoE 两种配体结合富含胆固醇的脂蛋白,如 LDL、VLDL、 β -VLDL 等;EGF 前体结构域和含糖基结构域,对 LDLR 起支撑作用;跨膜结构域,富含疏水氨基酸残基,属于跨膜蛋白,起固系于细胞膜中的抛锚作用。

LDLR 广泛分布于肝,动脉壁平滑肌细胞、肾上腺皮质细胞、血管内皮细胞、淋巴细胞、单核细胞和巨噬细胞等处,以肝细胞的 LDLR 活性最大。其主要功能是参与 LDL 的分解代谢,维持血浆胆固醇水平恒定。LDLR 通过受体介导途径将体内 2/3 的 LDL 吸收入肝和肝外组织,经代谢而清除;LDLR 通过 ApoB100 识别 LDL 与其结合,LDL 颗粒被吞饮,然后进入溶酶体。在溶酶体内,LDL 水解释放出游离胆固醇供细胞利用,而 LDLR 则可再循环。通过此途径,LDLR 亦可将其其他含 ApoB100、E 的脂蛋白如 VLDL、 β -VLDL 内吞入细胞使其获得胆固醇,用于细胞增殖和类固醇激素及胆汁酸盐的合成。余下 1/3 的 LDL 通过一条“清扫者”通路被清除,在这一非受体通

路中,巨噬细胞与 LDL 结合,吸收 LDL 中的胆固醇,变成“泡沫”细胞。因此,LDL 能够进入动脉壁细胞,并带入胆固醇^[6]。

1.2 LDLR 的调控机制 LDLR 通过调控血脂相关成分代谢,来参与缺血性脑血管病的发生的作用机制。LDLR 数量、结构及功能异常或缺陷时,体内有功能的 LDLR 减少或缺乏,可导致血浆 LDL 和 VLDL 通过受体介导途径清除受阻,使血浆胆固醇水平成倍增加并在组织内过度淤积。同时非受体通路作用增强,更多的巨噬细胞与 LDL 结合形成“泡沫细胞”,当泡沫细胞坏死崩解后,形成糜粥样坏死物,粥样硬化斑块形成,当此过程发生在脑,将最终导致脑梗死。

LDLR 基因存在多种轻微变异的等位基因,这些轻微变异可能影响 DNA 序列中的酶切位点,使 LDLR 数量或蛋白结构发生改变,导致酶功能缺陷,不再能与 LDL 结合或阻止 LDL 进入细胞内,最终引起血浆胆固醇水平显著上升^[7]。已有报道指出 LDLR 等位基因的多态性和血胆固醇的水平相关联。限制性片段长度(RFLPs)研究结果显示,Pvu II (+)等位基因和较低的血胆固醇的水平相关联,Pvu II 的 RFLP 位于 LDLR 基因第 15 内含子中,此酶切位点(CAGCTG)是由于外显子 16 连接点 5'端约第 600 个碱基 CAGCCG 序列发生 C→T 转变产生。这样的序列改变可能在基因的启动子内影响转录速度,或改变了基因编码区的氨基酸,影响了受体和 ApoB 的亲合力,从而影响血胆固醇的水平。Ahny 等报告 Ava II (+)和 Nco I (+)位点 RFLP 与女性的高胆固醇及高 LDL-C 水平有关。雌激素对高密度脂蛋白(HDL)代谢和胆固醇逆向转运产生有利影响^[8]。由于胆固醇水平在 5.2 mmol/L 的基础上每增加 1%,冠状动脉疾病的危险性增加 2%,所以,LDLR 基因变异导致血浆胆固醇水平明显增高时,大大增加了脑动脉粥样硬化的风险,从而使脑梗死的发生率增加。

人们发现,LDLR 的 370T 纯合子的存在会使缺血性脑血管病风险增加 3 倍,此基因突变可能改变了蛋白质-蛋白质相互作用,如凝血因子或 Notch3 蛋白质的相互作用,导致大脑毛细血管血栓前状态或大脑动脉血管平滑肌细胞的过度增殖状态^[9]。研究发现,LDLR 与肺耐药蛋白一起调节体内血浆 FV III 水平:首先硫酸乙酰肝素蛋白多糖将循环 FV III 携带到细胞表面上,随后,肺耐药蛋白和 LDLR 将硫酸乙酰肝素蛋白多糖介导的大量的 FV III 在质膜内化。这双重受体系统基因缺陷

导致其表达异常, FVⅢ出现代谢障碍, 血浆 FVⅢ水平可增高 4.2 倍^[10-11]。高水平的 FVⅢ患者动脉和静脉血栓形成的风险增加^[12]。对动脉粥样硬化性血栓性脑梗死的风险的社区研究也显示, FVⅢ每增加 SD^[13], 缺血性脑血管病的风险增加 1.34 倍。

已有研究表明, rs688T 和 rs5925T 等位基因与冠状动脉疾病有联系^[14], 例如, rs688 从野生型的 TCAACG 到多态型的 TCAATG 改变, 会使缺血性脑血管病风险增加 65%。因为 rs688T 等位基因已经被报道与 FVⅢ水平增加^[15]和 LDLR 外显子 12 剪接效率降低有关^[16], 所以与 rs688 和 rs5925 相关的单体型等位基因 TC 可能也是与双重受体系统基因缺陷导致的 FVⅢ水平过量和血凝过快状态有关。因此, 抗血小板治疗可能不足以防止带有单体型等位基因 TC 的患者发生复发性脑卒中, 这些患者可能作为长期抗凝治疗的候选人。

以往的研究表明, 各种脑梗死的病理生理过程密切相关: 动脉粥样硬化形成斑块, 之后高风险斑块一旦破裂, 脂质核心和丰富的组织因子暴露到血液, 引发形成一个叠加的血栓, 导致血管阻塞和随后的末梢缺血症状。而斑块破裂和随后的血栓形成, 也可能导致腔隙性梗死的发病。然而, 最近 Calara 等^[17]显示Ⅲ失效小鼠通常不显示斑块破裂和血栓形成。这一发现暗示低密度脂蛋白受体的表达可能影响斑块破裂过程, 但其具体机制仍待进一步研究。可见, LDLR 基因变异与缺血性脑血管病显著相关。但由于遗传变异是多种类、多位点的, 不同种族、不同人群的变异位置和性质可能不同, 而使同一种 RFLP 的基因型频率在不同人群中不尽相同, 因此, 还需要在不同人群中进行更广泛的研究。

2 脂蛋白脂酶基因多态性与缺血性脑血管病的联系

2.1 脂蛋白脂酶的生物学功能 脂蛋白脂酶(LPL)是由 448 个氨基酸组成的蛋白质。LPL 在骨骼肌、心肌和脂肪组织合成率最高, 也可由巨噬细胞表达和分泌。LPL 通过葡糖胺聚糖附着于毛细血管和动脉内皮细胞的管腔面水解乳糜微粒和极低密度脂蛋白(VLDL)核心处的三酰甘油, 移除循环血中富含三酰甘油的脂蛋白^[18]。LPL 还能促进 VLDL 的载脂蛋白和磷脂向 HDL 转移, 形成高密度脂蛋白 2 (HDL2) 颗粒。HDL2 颗粒吸收组织胆固醇, 并且将它运输到肝脏排泄, 通过“胆固醇反向运输”降低血浆胆固醇水平。另外, 动脉壁内由巨噬细胞表达的 LPL 促进了泡沫细胞的形成。

2.2 LDL 的调控机制 LPL 通过调控血脂相关成分代谢, 来参与缺血性脑血管病的发生的作用机制 LPL 基因多态性影响血浆三酰甘油和 HDL 水平, 与动脉粥样硬化性脑梗死的发生有一定联系。LPL 基因突变可引起酶数量降低或活性改变, 发生三酰甘油代谢障碍和 VLDL 的载脂蛋白和磷脂向 HDL 转移受阻, 导致血浆中致动脉粥样硬化脂质参数三酰甘油显著增加, 保护性 HDL 水平显著降低, 增加动脉粥样硬化性脑梗死发生的风险。研究表明, 脂蛋白脂酶基因变异会影响脑梗死的风险^[19]。

Shimo-nakashumi 等^[20]的研究表明动脉粥样硬化性脑梗死与 HindⅢ(+ / +) 基因型和 HindⅢ + ve 等位基因显著相关, 这与脂蛋白脂酶功能缺陷导致了脂蛋白脂酶活性降低有关^[20]。研究发现, 在 HindⅢ(+ / +) 基因型的脑梗死患者中, 脂蛋白脂酶缺陷导致三酰甘油代谢障碍, VLDL 和 HDL 之间的载脂蛋白和磷脂的转换受阻, 血浆中三酰甘油显著增加, HDL 水平显著降低。不过, Xu 等^[21]在对中国人口进行的一项研究没有建立一个 HindⅢ多态性与动脉粥样硬化性脑梗死

的联系。相反地, Araújo 等^[22]报道 HindⅢ多态性与更低的三酰甘油水平和老年男性心血管疾病的危险的联系。这种矛盾可能与遗传和环境背景的差异有关。

降脂药物阿托伐他汀疗效与 LPL 基因变异之间关系的研究显示, HindⅢ(+ / +) 基因型与 LDL 和三酰甘油水平升高, HDL 水平降低和坏结果显著相关, 因此, 阿托伐他汀可能在预防 HindⅢ(- / -) 基因型个人脑血管事件在比 HindⅢ(+ / +) 基因型个人更有益。然而, 这个联系是由于血脂水平变化还是他汀类药物的其他多效性的作用, 仍需进一步研究。

研究表明, 有糖尿病史的脑梗死患者 Ser447TermG 等位基因频率明显高于无糖尿病史的脑梗死患者。在对暴露于其他 3 个脑梗死的危险因素(高血压、吸烟和高脂血症)的患者的观察中, 没有发现等位基因的联系。Ser447Term 多态性可能影响脂蛋白脂酶活性, 促进动脉粥样硬化的形成, 引起动脉粥样硬化性脑梗死^[18]。有糖尿病史的脑梗死患者 rs328-G 等位基因频率明显高于那些没有糖尿病史的脑梗死患者; 值得注意的是, rs328-G 等位基因似乎是与吸烟男性低缺血性脑血管病风险相关。脂蛋白脂酶基因多态性与糖尿病的组合效应可能有助于一个缺血性脑血管病的类型的发展。一个最近的研究发现 LPL 基因一个非同义单核苷酸多态性与同时患有 2 型糖尿病的心肌梗死患者有显著性关联^[23]。这一发现进一步为 LPL 基因多态性与糖尿病之间的相互作用可能在确定动脉粥样硬化的危险事件中发挥重要作用提供了依据。

3 结 语

综上所述, LDLR 基因多态性通过影响血浆胆固醇水平或改变蛋白质-蛋白质相互作用在 ICVD 中发挥作用; LPL 基因多态性通过影响血浆三酰甘油和 HDL 水平, 与 ICVD 发生相联系。随着分子生物学技术的不断发展和对遗传因素对疾病作用的研究的不断深入, LDLR 基因多态性和 LPL 基因多态性在 ICVD 发病机制中的作用将获得更广泛的发掘, 从而在临床个体化治疗、通过进行基因测序确定引发突变的基因型、提示健康人群存在某些疾病发病风险等方面提供遗传依据。

参考文献

- [1] Elias MF, Sullivan LM, D'Agostino RB, et al. Framingham stroke risk profile and lowered cognitive performance[J]. *Stroke*, 2004, 35(2):404-409.
- [2] Lipska K, Sylaja PN, Sarma PS, et al. Risk factors for acute ischaemic stroke in young adults in South India[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2007, 78(9):959-963.
- [3] Dichgans M. Genetics of ischaemic stroke[J]. *Lancet Neurol*, 2007, 6(2):149-161.
- [4] Markaki I, Franzén I, Talani C, et al. Long-term survival of ischemic cerebrovascular disease in the acute inflammatory stroke study, a hospital-based cohort described by TOAST and ASCO. [J]. *Cerebrovasc. Dis*, 2013, 35(3):213-219.
- [5] Lee JD, Lin YH, Huang YC, et al. Genetic polymorphisms of low density lipoprotein receptor can modify stroke presentation[J]. *Neurol Res*, 2010, 32(5):535-540.
- [6] Hu LH, Zhang T, Shao Q, et al. Atorvastatin suppresses oxidized LDL-induced dendritic cell-like differentiation of RAW264. 7 cells regulated by the p38 MAPK pathway [J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 371(1/2):105-113.
- [7] Chahil JK, Lye SH, Bagali PG, et al. A novel pathogenic variant of the LDLR gene in the Asian population and its clinical correlation with familial hypercholesterolemia[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(7):

7831-7838.

- [8] 刘爱萍,詹思延,李立明. 低密度脂蛋白受体基因多态性与血脂、肥胖及高血压的关系[J]. 中华流行病学杂志, 2000, 21(6): 60-62.
- [9] Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Schnohr P, et al. Single nucleotide polymorphism in the low-density lipoprotein receptor is associated with a threefold risk of stroke. A case-control and prospective study[J]. Eur Heart J, 2004, 25(11): 943-951.
- [10] Bovenschen N, Herz J, Grimbergen JM, et al. Elevated plasma factor VIII in a mouse model of low-density lipoprotein receptor-related protein deficiency[J]. Blood, 2003, 101(10): 3933-3939.
- [11] Bovenschen N, Mertens K, Hu L, et al. LDL receptor cooperates with LDL receptor-related protein in regulating plasma levels of coagulation factor VIII in vivo[J]. Blood, 2005, 106(3): 906-912.
- [12] Kamphuisen PW, Eikenboom JC, Bertina RM. Elevated factor VII levels and the risk of thrombosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21(5): 731-738.
- [13] Folsom AR, Rosamond WD, Shahar E, et al. Prospective study of markers of hemostatic function with risk of ischemic stroke. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators [J]. Circulation, 1999, 100(7): 736-742.
- [14] Martinelli N, Girelli D, Lunghi B, et al. Polymorphisms at LDLR locus may be associated with coronary artery disease through modulation of coagulation factor VIII activity and independently from lipid profile[J]. Blood, 2010, 116(25): 5688-5697.
- [15] Kamphuisen PW, Eikenboom JC, Bertina RM. Elevated factor VII levels and the risk of thrombosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21(5): 731-738.
- [16] Zhu H, Tucker HM, Grear KE, et al. A common polymorphism decreases low-density lipoprotein receptor exon 12 splicing effi-

ciency and associates with increased cholesterol[J]. Hum Mol Genet, 2007, 16(14): 1765-1772.

- [17] Calara F, Silvestre M, Casanada F, et al. Spontaneous plaque rupture and secondary thrombosis in apolipoprotein E-deficient and LDL receptor-deficient mice[J]. Pathol, 2001, 195(2): 257-263.
- [18] Munshi A, Babu MS, Kaul S, et al. Association of LPL gene variant and LDL, HDL, VLDL cholesterol and triglyceride levels with ischemic stroke and its subtypes[J]. Neurol Sci, 2012, 318(1-2): 51-54.
- [19] Shimo-Nakanishi Y, Urabe T, Hattori N, et al. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk of atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese[J]. Stroke, 2001, 32(7): 1481-1486.
- [20] Larson I, Hoffmann MM, Ordovas JM, et al. The lipoprotein lipase HindIII polymorphism; association with total cholesterol and LDL cholesterol, but not with HDL and triglycerides in 342 females[J]. Clin Chem, 1999, 45(7): 963-968.
- [21] Xu E, Li W, Zhan L, et al. Polymorphisms of the lipoprotein lipase gene are associated with atherosclerotic cerebral infarction in the Chinese[J]. Neuroscience, 2008, 155(2): 403-408.
- [22] Araújo LM, Cendoroglo MS, Gígek CO, et al. Association of lipase lipoprotein polymorphisms with high-density lipoprotein and triglycerides in elderly men[J]. Genet Mol Res, 2010, 9(1): 86-96.
- [23] Izar MC, Helfenstein T, Ihara SS, et al. Association of lipoprotein lipase D9N polymorphism with myocardial infarction in type 2 diabetes; the genetics, outcomes, and lipids in type 2 diabetes (GOLD) study[J]. Atherosclerosis, 2009, 204(1): 165-170.

(收稿日期: 2013-04-25)

• 综 述 •

D-二聚体的临床价值: 来自系统评价和 Meta 分析的结论

孙 黎, 胡志德 综述, 胡成进 审校

(济南军区总医院实验诊断科, 山东济南 250031)

关键词: D-二聚体; 系统评价; Meta 分析

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.037

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)20-2718-03

当凝血系统被某种病理或者生理因素激活后, 可以通过多种方式和途径激活凝血酶, 进而引起纤维蛋白铰链, 在出血部位形成血栓。铰链的纤维蛋白可以被随后激活的纤溶系统降解, 产生一系列纤维蛋白降解产物(FDP)。D-二聚体是一种临床常规检测的 FDP, 其增高往往说明体内有血栓形成, 且血栓正在被纤溶系统降解。长期以来, 人们对 D-二聚体的临床价值进行了深入的研究, 发现其在血栓性疾病的筛查、诊断、治疗监测和预后评估方面具有重要价值。然而, 已有的研究结论之间或多或少存在一些差异, 导致临床医师在应用这些研究结论指导临床工作时总感“难以取舍”, 这一现状极大地限制了临床研究成果向临床实践的转化。

循证医学是近年来兴起的一门医学科学, 其核心思想就是要求医疗实践应以具有科学依据的临床研究为基础, 结合丰富、正确的临床经验来实施, 以使患者能获得正确、高效、经济的治疗。宏观上讲, 在探讨一个具体的临床问题(比如 B 型钠

尿酸对心力衰竭的诊断价值), 循证医学的重要任务之一就是整合已有的研究结论, 定性或者定量地回答一个具体的临床问题, 确立目前针对该问题的证据级别和结论。在对已有的研究结论进行整合的过程中, 系统评价是主要用于定性地描述研究结果, Meta 分析则是最常用的定量数据整合手段。系统评价和 Meta 分析将多个研究的数据进行了汇总, 从而得到了扩大样本的目的, 研究结论也因而具有更强的“稳健性”。从循证医学证据等级的角度来讲, 系统评价和 Meta 分析是目前确立的最高证据等级, 因此在疾病指南的制定中占有更高的权重, 更容易影响临床实践。本文拟就 D-二聚体的临床意义, 特别是已有的来自系统评价和 Meta 分析的研究结论进行简要综述。

1 深静脉血栓形成

1.1 深静脉血栓形成的诊断 长期以来, 对于深静脉血栓形成的诊断一直依赖于影像学手段。对于内脏血栓形成(比如肺