

血脂异常患者 ApoE 基因型对他汀类药物降脂疗效的影响^{*}

何思颖¹, 杜鹏辉³, 张磊¹, 杨娜², 郑芳^{2△}

(1. 武汉大学中南医院基因诊断中心, 湖北武汉 430071; 2. 武汉大学中南医院检验科, 湖北武汉 430071;
3. 中国地质大学(武汉)医院, 湖北武汉 430071)

摘要:目的 探讨载脂蛋白 E(ApoE)基因型对他汀类药物调脂效果的影响。方法 收集 2016 年 9 月至 2017 年 4 月于武汉大学中南医院就诊的血脂异常伴他汀类用药记录患者 223 例, 收集其全血、血清样本和临床资料。Sanger 测序确定 ApoE 基因型, 用药前后分别检测血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和脂蛋白 a[Lp(a)]水平。将受试者归为 E2(e2/e2&e2/e3), E3(e3/e3&e2/e4), E4(e3/e4&e4/e4) 3 个表型组, 方差分析比较各组“血脂变化率”, 并联合药物分类及吸烟饮酒状况分析。结果 表型组分析显示 3 组在 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 的血脂变化率有差异且差异具有统计学意义($P < 0.05$), Lp(a)变化差异无统计学意义($P > 0.05$)。各表型对不同种类他汀药物敏感性存在差异趋势, 但各表型用药者 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 水平均有改善, 改善程度 E2 型 $>$ E3 型 $>$ E4 型。吸烟饮酒对 TC 降脂效果存在影响, 其变化率在表型组间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 ApoE 基因型影响他汀类药物调脂能力, 吸烟饮酒对 ApoE2 型患者的他汀药物降 TC 效果影响显著。

关键词:载脂蛋白 E; 基因多态性; 他汀类药物; 降脂疗效

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.11.014

中图法分类号:R589.2

文章编号:1673-4130(2019)11-1337-05

文献标识码:A

Study on the effect of ApoE genotype on lipid-lowering effect of statins in patients with dyslipidemia^{*}

HE Siying¹, DU Penghui³, ZHANG Lei¹, YANG Na², ZHENG Fang^{2△}

(1. Center for Gene Diagnosis, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071, China;
2. Department of Clinical Laboratory, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071, China; 3. China University of Geosciences Wuhan Hospital, Wuhan, Hubei 430071, China)

Abstract: Objective To discuss the role of apolipoproteins E (ApoE) gene polymorphism on efficacy of statins in lowering blood lipid and its clinical significance. **Methods** A total of 223 patients with diagnosed dyslipidemia was recruited between September 2016 to April 2017 in Zhongnan Hospital and all of them have been treated with statins for more than 4 weeks. The subjects were genotyped by using Sanger sequencing and the serum lipid tests were given before and after treatment with statins. Total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and lipoprotein a [Lp(a)] were determined. All patients were divided into three groups: E2(e2/e2 and e2/e3), E3(e3/e3 and e2/e4) and E4 phenotype group(e3/e4 and e4/e4), and the lipid change rate was calculated and compared among different groups with variance analysis, combined with drug classification and analysis of smoking and drinking. **Results** The lipid change of TC, TG, HDL-C and LDL-C among these three groups had statistical difference ($P < 0.05$), while the difference of lipid change rate of Lp(a) was not statistically significant ($P > 0.05$). Different phenotypes had different sensitivities to different types of statins, and the lipid change rate of TC, TG, HDL-C and LDL-C were significantly elevated from E4, E3 to E2. Smoking and drinking had an effect on TC's lipid-lowering effect, and the change rate had significant difference among phenotype groups ($P < 0.05$). **Conclusion** ApoE polymorphism shows a significant effect on the lipid response to statins. Smoking and drinking have a significant effect on the TC-lowering effect of statin in ApoE2 patients.

Key words: apolipoproteins E; polymorphisms; statins; lipid-lowering effect

^{*} 基金项目: 武汉大学中南医院院内基金项目(WJ2018H0013)。

作者简介: 何思颖, 女, 硕士研究生, 主要从事基因诊断研究。△ 通信作者, E-mail: zhengfang@whu.edu.cn。

本文引用格式: 何思颖, 杜鹏辉, 张磊, 等. 血脂异常患者 ApoE 基因型对他汀类药物降脂疗效的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(11): 1337-1341.

血脂水平过高可引起一系列严重疾病,如动脉硬化、冠心病、慢性肾功能衰竭等^[1-2]。目前常见降脂药主要有他汀类、叶酸类以及抗氧化剂类等^[3-5],其中他汀类药物应用广泛。他汀类为 3-羟-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶的选择性抑制剂,能减少内源性胆固醇的合成,同时反馈刺激肝细胞膜外低密度脂蛋白受体数量增加、活性升高,从而达到降脂目的^[6]。

研究表明,ApoE 常见基因多态性与他汀类药物降脂疗效相关,e2 等位基因携带者使用他汀类药物的降脂效果比其他等位基因携带者更为明显^[7]。2017 年中国人群的研究表明,ApoE 基因型 e3/e3 的患者经阿托伐他汀治疗后血脂水平的下降程度高于 e3/e4 型患者^[8]。总结现有研究,携带 Apoe2 的个体降脂效果好于携带 Apoe3 的个体,携带 Apoe4 的个体则相反。基于 e2 和 e4 等位基因携带不同,将 ApoE 基因分 3 个表型组,即 E2(e2/e2, e2/e3)、E3(e3/e3, e2/e4)和 E4(e3/e4, e4/e4),国外研究建议按不同表型进行药物敏感型分析^[9],但这种按等位基因携带进行分组的模式在临床应用中适用吗?同时携带 e2 和 e4 基因的个体调脂疗效如何?此外,他汀类药物因人种和用药剂量不同^[10],按照 ApoE 基因表型进行个体化用药在国际上仍存在争议,国外有关他汀类药物分层分析^[11]的结果在中国人群中是否适用,仍有待数据验证,特别是吸烟、饮酒等生活习惯是否会影响 ApoE 基因型个体药物的疗效,国内外鲜有报道。

基于上述分析,本文应用 Sanger 测序技术对 ApoE 基因进行分型,通过观察血脂变化率,研究 ApoE 基因多态性对两种他汀类药物疗效的影响,比较吸烟、饮酒对他汀类药物疗效的影响,给临床医师提供精准的个体化治疗方案。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2016 年 9 月 1 日至 2017 年 4 月 30 日在武汉大学中南医院使用他汀类药物降脂治疗超过 4 周的血脂异常患者 223 例,其中男 166 例,女 57 例,平均年龄 65 岁。血脂异常的纳入标准为:(1)血清总胆固醇(TC)>5.18 mmol/L,(2)三酰甘油(TG)>1.7 mmol/L,(3)高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)<1.04 mmol/L,(4)低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)>3.63 mmol/L,(5)脂蛋白 a[Lp(a)]>300 mg/L,只要满足上述条件中任意一条,即作为血脂异常患者。查询血脂异常患者临床资料,将有他汀类药物用药记录的患者纳入研究,并排除在第 1 次查脂前已有降脂类药物用药史的患者和联合使用多种降脂药的患者。223 例患者平均 TC 水平为(5.60±0.97) mmol/L,TG 水平为(2.83±1.51) mmol/L,HDL-C 水平为(1.17±0.32) mmol/L,LDL-C 水平为(3.11±0.99) mmol/L,Lp(a)水平为(206.66±217.93) mg/L。

患者应用目前国内临床上使用最为广泛的两种他汀类药物进行治疗,阿托伐他汀用量 20 mg/d(立普妥 20 mg * 7,辉瑞制药有限公司,国药准字 H20051408),瑞舒伐他汀用量 10 mg/d(瑞舒伐他汀钙片 5 mg * 14,IPR Pharmaceuticals,INCORPORATED,国药准字 J201700008),持续用药至少 4 周。查询患者吸烟饮酒史,根据患者主诉,将吸烟或饮酒长达 1 年及以上且延续至今,或戒断不足 6 个月的患者(排除偶尔且极少量吸烟、饮酒者,即每周 1~2 根的吸烟者及低度数少量,每周 1~2 次的饮酒者),编入“吸烟饮酒组”,没有吸烟或饮酒史,或偶尔极少量摄入,或戒断超过半年的患者编入“无吸烟饮酒组”。实验中所有对象均已知情同意。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 ApoE 目的片段的扩增使用杭州柏恒科技有限公司的 GT9612 型基因扩增仪,基因分型采用 Sanger 测序检测,所用仪器为 ABI 公司的 3730XL DNA 测序仪。血脂指标采用奥林巴斯 AU5400 进行检测。

1.2.2 试剂 血液基因组 DNA 提取试剂盒盒 PCR 相关试剂为天根生化科技(北京)有限公司产品,PCR 所用引物均由武汉天一辉远生物科技有限公司合成。总胆固醇试剂盒(酶法)、三酰甘油试剂盒(GPO-POD 法)为贝克曼库尔特实验系统有限公司产品。高、低密度脂蛋白胆固醇试剂盒(直接法)、脂蛋白 a 试剂盒(胶乳凝集比浊法)为北京积水医疗科技(中国)有限公司产品。

1.3 方法

1.3.1 ApoE 基因分型 空腹 12 h 后于次日早晨抽取全血(EDTA-K₂ 抗凝)2 mL,提取全血细胞 DNA,对 ApoE 样基因片段进行 PCR 扩增,扩增片段长度 292 bp,上游引物 5'-AAC AAC TGA CCC CGG TGG CG-3',下游引物 5'-ATG GCG CTG AGG CCG CTC GG-3',PCR 扩增反应参数如下:95 °C 12 min,94 °C 1 min,72 °C 3 min,1 个循环;95 °C 1 min,64.8 °C 1 min,72 °C 1 min,30 个循环;72 °C 10 min,1 个循环。扩增产物送上海生工生物工程有限公司进行 Sanger 法测序,223 例患者样本均通过测序判断 ApoE 基因分型情况,依据 rs429358(ApoE 蛋白 112 位氨基酸,测序图上 70 位左右碱基)和 rs7412(ApoE 蛋白 158 位氨基酸,测序图上 210 位左右碱基)的碱基种类不同分 6 种基因型(图 1):(1)二者均为 T 纯合:e2/e2;(2)rs429358 处 T 纯合,rs7412 处 T 和 C 杂合:e2/e3;(3)rs429358 处 T 纯合,rs7412 处 C 纯合:e3/e3;(4)rs429358 处 T 和 C 杂合,rs7412 处 C 纯合:e3/e4;(5)二者均为 C 纯合:e4/e4;(6)二者均为 T 和 C 杂合:e2/e4。

续表 1 ApoE 不同 ApoE2, E3, E4 表型患者他汀类药物治疗前后血脂变化情况比较 (n=223)

血脂	表型			F	P	P(q 检验后)		
	E2 型	E3 型	E4 型			E2 与 E3	E3 与 E4	E2 与 E4
治疗前	1.10±0.23	1.16±0.30	1.22±0.24	1.486	0.229			
治疗后	1.22±0.24	1.20±0.25	1.22±0.22	0.268	0.765			
变化率(%)	-10.86±10.68	-5.03±14.43	-1.57±11.67	4.821	0.009	0.027	0.188	<0.001
LDL-C(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)								
治疗前	2.78±0.72	3.15±1.09	3.39±0.86	3.641	0.028			
治疗后	1.88±0.42	2.29±0.74	2.66±0.59	13.642	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
变化率(%)	31.11±12.22	25.32±13.20	20.07±10.27	7.861	0.001	0.019	0.032	<0.001
Lp(a)(mg/L, $\bar{x}\pm s$)								
治疗前	189.77±222.49	224.52±223.31	206.11±183.74	0.412	0.663			
治疗后	170.62±237.28	192.12±192.48	167.52±129.55	0.507	0.603			
变化率(%)	16.60±28.10	8.36±31.33	6.75±34.10	1.134	0.324			

2.4 吸烟饮酒影响他汀类药物降血脂效果 他汀类药物降低 E2 表型中吸烟饮酒者 TC 变化率的效果明显弱于无吸烟饮酒者, 差异有统计学意义 (P<0.05)。其他二型中吸烟饮酒不利于他汀类药物调节机体 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C, 但差异无统计学意义 (P>0.05)。见图 3。

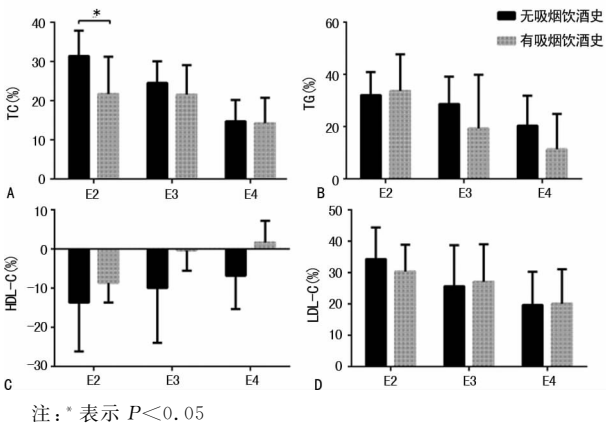


图 3 吸烟饮酒状况对不同 ApoE 分型患者降脂疗效的影响

3 讨论

他汀类药物在参与血脂调节的过程中, 有大量基因编码的蛋白参与调脂, 其中 ApoE 既能和存在于肝脏的低密度脂蛋白受体 (LDL-R) 和极低密度脂蛋白受体 (VLDL-R) 结合, 又能和遍及全身组织的脂蛋白结合, 可通过多种代谢途径参与机体的脂质代谢, 成为影响机体血脂水平的重要内在因素^[12]。ApoE 基因 DNA 链上存在碱基突变, 相应的 112 位和 158 位氨基酸改变, 野生型 e3 的 112 位上为精氨酸, 158 位上为赖氨酸, 两种氨基酸的交换决定了异构体的种类^[13]。不同等位基因型的 ApoE 蛋白对极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL-C) 的代谢能力不同, 其中 ApoE4 型由于与脂蛋白的结合能力强, 代谢快, 细胞反馈性减少 LDL 的摄入, 血中 LDL-C 水平升高^[14], 所以可以将 6 种 ApoE 基因型的个体基于等位基因

的不同而归为 3 种表型。不同的 ApoE 表型不仅影响未干预状态下的血脂水平, 还影响降脂药物的治疗效果, 因此有学者认为应该根据 ApoE 的基因型选取不同的降脂疗法, 而 ApoE 多态性与药物敏感性的相关分析也成为研究的热点^[15]。本研究引用血脂变化率这一指标, 对治疗前血脂水平不同的患者群体进行比较。研究发现, 在降低 TC、TG 和 LDL-C 水平方面中, E2 型对他汀类药物的治疗最为敏感, 血脂下降最为显著, E3 型次之, E4 型的疗效较差, 而在降低 HDL-C 水平方面, E2 型仍是对他汀药物敏感性最高的一型, 而 E3 和 E4 型之间的差异并不明显。TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 4 种血脂指标平行比较显示, LDL-C 对他汀类药物的敏感性最高, 而 HDL-C 的变化率明显小于 TC、TG 和 LDL-C, 说明他汀类药物调节 HDL-C 的能力较低。在降低 Lp(a) 方面, 表型与药物敏感型之间存在相关趋势, 但这种相关性是否存在统计学差异, 以及 ApoE 分型对他汀类药物调节 HDL-C 的影响仍需扩大数据收集, 做进一步分析。

研究发现, 他汀类药物种类对不同血脂指标变化率的影响也存在一定差异, 3 个表型组均显示阿托伐他汀对 TC 的调节能力优于瑞舒伐他汀。E2 型和 E3 型 TG 高者对阿托伐他汀更敏感, E4 型 TG 高者对瑞舒伐他汀更敏感。针对 E2 型和 E4 型 HDL-C 低者, 阿托伐他汀疗效优于瑞舒伐他汀, 而 E3 型 HDL-C 低者则相反, 但差异均无统计学意义 (P>0.05)。各表型受药物不同影响而产生的疗效差异无统计学意义 (P>0.05)。但这种药物不同引起的降脂疗效差异与基因分型是否相关, 也需要扩大实验数据进一步统计分析。研究还发现, 以吸烟、饮酒为代表的生活习惯同样可对他汀类药物的疗效产生影响。从总体上看, 不吸烟、饮酒的生活方式有利于他汀类药物发挥疗效, 尤其见于对 TC、TG 和 HDL-C 的调节, 其中又以 TC 降低率受吸烟饮酒情况影响最为明显。观察 4 个血

脂指标下 3 个表型组发现, E2 型受吸烟饮酒生活习惯的影响最为显著, 而对 E4 组治疗效果的影响不明显。调节生活习惯有助于药物疗效发挥, 这将有利于临床的针对性用药, 然而对于这种关系的确认和探索同样需要进一步扩大数据收集。

总结上述研究结果对临床血脂异常患者提出他汀类药物用药建议: (1) 在稳定安全剂量的前提下, 可以适当加大 E3 型和 E4 型患者的每日用药剂量, 或者联合其他降脂药物使用; (2) 针对 HDL-C 为唯一异常指标的血脂异常患者, 可以换用其他非他汀类降脂药; (3) TC 水平高者三型均推荐使用阿托伐他汀, TG 含量高者中 E2、E3 表型患者推荐使用阿托伐他汀, E4 表型患者推荐使用瑞舒伐他汀; (4) 在 E2 型血脂异常患者的治疗中强调对生活习惯的纠正治疗, 在维持血脂水平的前提下, 改善生活习惯, 适当减少用药量, 以减少对肝、肾、肌肉等组织器官的损害^[16]; (5) E4 表型个体, 其 LDL-C 治疗后均值既无法达到 2016 年血脂异常防治指南中针对动脉硬化性心血管疾病 (ASCVD) 一级预防的理想 LDL-C 值 (2.60 mmol/L), 也无法达到对危者调脂治疗设定的目标值 (2.60 mmol/L), 血脂变化率也低于目标变化量 30%^[17]。因此建议临床上对 E4 表型且具有危险因素 (高血压, 糖尿病、吸烟或 BMI ≥ 28 kg/m² 等) 的个体进行关注, 对这部分患者建议加大药物剂量。

4 结 论

本研究证实了中国人群中他汀类药物可改善 ApoE 表型 E2、E3、E4 型患者的 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 水平, 其降脂疗效逐渐降低, 即改善程度有 E2 > E3 > E4。此外还发现, 阿托伐他汀与瑞舒伐他汀的降脂疗效与 ApoE 基因分型无明显关系, 吸烟饮酒影响他汀类药物降脂疗效, 并显著见于 E2 型血脂异常患者。

参考文献

- [1] LAURENT L, CHRISTOPHE A, JACQUELINE B, et al. Association of APOE gene polymorphism with lipid profile and coronary artery disease in AfroCaribbeans [J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0181620.
- [2] ERTUNC M E, HOTAMISLIGIL G S. Lipid signaling and lipotoxicity in metaflammation: indications for metabolic disease pathogenesis and treatment [J]. J Lipid Res, 2016, 57(12): 2099-2114.
- [3] WIERZBICKI A S, HARDMAN T C, VILJOEN A. New lipid-lowering drugs: an update [J]. Int J Clin Pract, 2012, 66(3): 270-280.
- [4] DIERKES J, LULEY C, WESTPHAL S. Effect of lipid-lowering and anti-hypertensive drugs on plasma homocysteine levels [J]. Vasc Health Risk Manag, 2007, 3(1): 99-108.

- [5] ANDROULAKIS E, ZACHARIA E, PAPAGEORGIOU N, et al. High-density lipoprotein and low-density lipoprotein therapeutic approaches in acute coronary syndromes [J]. Curr Cardiol Rev, 2017, 13(3): 168-182.
- [6] ABDELMAKSOU A A, GIRERD P H, GARCIA E M, et al. Association between statin use, the vaginal microbiome, and Gardnerella vaginalis vaginolysin-mediated cytotoxicity [J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183765.
- [7] LEUSINK M, MAITLAND-VAN DER ZEE A H, DING BO, et al. A genetic risk score is associated with statin-induced low-density lipoprotein cholesterol lowering [J]. Pharmacogenomics, 2016, 17(6): 583-591.
- [8] 张宇, 魏丹丹, 元荣荣, 等. ApoE 基因多态性对阿托伐他汀治疗高脂血症疗效的影响 [J]. 中华医学杂志, 2017, 97(4): 291-294.
- [9] DOSE J, HUEBBE P, NEBEL A, et al. APOE genotype and stress response-a mini review [J]. Lipids Health Dis, 2016, 15: 121-136.
- [10] SMITH M A, COX E D, BARTELL J M. Overprescribing of lipid lowering agents [J]. Qual Saf Health Care, 2006, 15(4): 251-257.
- [11] CHRISTOU T, HESHAM R O, DIMITROV R. Periodic rosuvastatin or atorvastatin dosing arrays (PRADA): Patient-Centered practice [J]. Drugs R D, 2014, 14(4): 221-225.
- [12] PATHTHINIGE C S, SIRISENA N D, DISSANAYAKE V. Genetic determinants of inherited susceptibility to hypercholesterolemia-a comprehensive literature review [J]. Lipids Health Dis, 2017, 16(1): 103-127.
- [13] LANE-DONOVAN C, WONG W M, DURAKOGLUGIL M S, et al. Genetic restoration of plasma ApoE improves cognition and partially restores synaptic defects in ApoE-Deficient mice [J]. J Neur, 2016, 36(39): 10141-10150.
- [14] CHOUINARD-WATKINS R, PLOURDE M. Fatty acid metabolism in carriers of apolipoprotein E epsilon 4 allele: is it contributing to higher risk of cognitive decline and coronary heart disease? [J]. Nutrients, 2014, 6(10): 4452-4471.
- [15] MAARTEN L, MAITLAND-VAN H Z, BO D, et al. A genetic risk score is associated with statins-induced low-density lipoprotein cholesterol lowering [J]. Pharmacogenomics, 2016, 17(6): 583-591.
- [16] 中国成人血脂异常防治指南修订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南 (2016 年修订版) [J]. 中华心血管病杂志, 2016, 44(10): 833-853.
- [17] MOSSHAMMER D, SCHAEFFELER E, SCHWAB M, et al. Mechanisms and assessment of statin-related muscular adverse effects [J]. Br J Clin Pharmacol, 2014, 78(3): 454-466.