

- [6] 王傲立,宋关斌,罗庆. 骨桥蛋白对肿瘤细胞恶性行为影响的研究进展[J]. 华西医学,2017,32(12):1963-1966.
- [7] SUNG H,CHOI J Y,LEE S A,et al The association between the preoperative serum levels of lipocalin-2 and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and prognosis of breast cancer[J]. BMC Cancer,2012,12(1):193-201.
- [8] 付鹏,王超,李翔,等. PD-1/PD-L1 抗体与多西紫杉醇治疗晚期非小细胞肺癌的总体疗效及安全性 Meta 分析[J]. 肿瘤药学,2019,9(1):155-159.
- [9] 林莉,李玲,张旭东,等. 程序性死亡分子 1 免疫治疗在 B 细胞淋巴瘤中的研究进展[J]. 白血病·淋巴瘤,2016,25(1):45-48.
- [10] 王钰聪,徐英辉,李宏伟,等. PD1/PD-L1 免疫检查点抑制剂治疗非小细胞肺癌的研究进展[J]. 吉林大学学报(医学版),2019,45(4):965-970.
- [11] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2015 版)[J]. 中国癌症杂志,2015,191
- (9):62-124.
- [12] 吴凌,田晨,许雯,等. 嵌合抗原受体 T 淋巴细胞免疫疗法在血液肿瘤治疗中的研究进展[J]. 国际输血及血液学杂志,2016,39(5):405-409.
- [13] 张冰,马金国,吴刚,等. 普罗布考对心衰大鼠心肌 MMP-3、TIMP-3 及 OPN 表达的影响[J]. 哈尔滨医科大学学报,2015,21(2):115-120.
- [14] SHIRIAN J,ARKADASH V,COHEN I,et al. Converting a broad matrix metalloproteinase family inhibitor into a specific inhibitor of MMP-9 and MMP-14[J]. FEBS Lett,2018,592(7):1122-1134.
- [15] 冯婉雯,杜雪莲,王聪,等. 骨桥蛋白和基质金属蛋白酶-9 水平与中晚期宫颈癌放疗敏感性关联分析[J]. 中华肿瘤防治杂志,2018,25(10):717-724.
- (收稿日期:2020-11-12 修回日期:2021-04-25)
- 短篇论著 •

载脂蛋白 E 基因多态性对慢性肾脏病的诊断价值*

李 全,沈建江,杨 琳,李鹏飞[△]

南京中医药大学附属医院/江苏省中医院检验科,江苏南京 210029

摘要:目的 探讨载脂蛋白 E(ApoE)基因多态性在慢性肾脏病(CKD)辅助诊断及临床分期中的应用价值。方法 选取 2019 年 1—6 月于该院肾内科住院的 CKD 患者 122 例(CKD 组),根据改善全球肾脏病预后组织(KDIGO)对 CKD 的分期标准分为 CKD3 期 43 例,CKD4 期 41 例,CKD5 期 38 例,同时纳入 36 例健康体检者为健康对照组。检测所有研究对象血清 ApoE 水平,并通过 PCR 芯片杂交法对所有标本的 ApoE 基因进行分型,肾小球滤过率(eGFR)通过肌酐值计算得出。结果 E3 基因型在 CKD 组中所占比例明显高于健康对照组($P<0.05$),同时在 E3 基因型患者血清 ApoE 水平随着 CKD 病情进展呈逐渐升高趋势($P<0.05$),并与 eGFR 呈负相关($r=-0.35$, $P<0.05$)。结论 ApoE 的 E3 基因型在 CKD 的辅助诊断中具有一定的应用价值;同时,E3 基因型患者血清 ApoE 水平对判断 CKD 病情严重程度具有一定的临床意义。

关键词:慢性肾脏病; 肾小球滤过率; 载脂蛋白 E; 基因型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.15.026

中图法分类号:R446.69

文章编号:1673-4130(2021)15-1909-03

文献标志码:A

慢性肾脏病(CKD)在全球已成为一个严重威胁人类健康的问题,在我国 CKD 患病率高达 10.8%^[1]。CKD 发病率与肾衰竭早期观察到的肾小球滤过率(eGFR)下降程度有关^[2]。有研究表明,CKD 患者的载脂蛋白 E(ApoE)基因型对脂蛋白水平和分布的调控受到多种因素的干扰^[3]。ApoE 常见 3 种等位基因($\epsilon 2$ 、 $\epsilon 3$ 、 $\epsilon 4$)共有 6 种组合形式($\epsilon 2/\epsilon 2$ 、 $\epsilon 2/\epsilon 3$ 、 $\epsilon 2/\epsilon 4$ 、 $\epsilon 3/\epsilon 3$ 、 $\epsilon 3/\epsilon 4$ 和 $\epsilon 4/\epsilon 4$)^[4],根据文献[5]将其分为 3 种

基因型,包括 E2、E3 和 E4 型。

现有研究结果显示,由于 ApoE 异构体结构的差异,它们对脂蛋白具有不同的结合能力及结合偏好,因此会对脂蛋白代谢产生各种影响^[6]。ApoE 的基因多态性会对脂蛋白水平产生影响并对 CKD 的辅助诊断和临床分期具有临床意义^[7]。本研究以本院收治的 CKD 患者作为研究对象,采用 PCR 芯片杂交法对 ApoE 基因进行分型,评估 ApoE 基因多态性及 ApoE

* 基金项目:江苏省中医院高峰学术人才培养项目(k2018yrc38)。

[△] 通信作者,E-mail:lipengfei@163.com。

本文引用格式:李全,沈建江,杨琳,等. 载脂蛋白 E 基因多态性对慢性肾脏病的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2021,42(15):1909-1911.

水平在 CKD 辅助诊断及临床分期中的应用价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1—6 月就诊于本院肾内科的 122 例 CKD 患者纳入 CKD 组,其中男 68 例,女 54 例;年龄 22~76 岁,平均(52.5±13.4)岁;根据改善全球肾脏病预后组织(KDIGO)对 CKD 的分期标准,122 例 CKD 患者中 CKD3 期 43 例,CKD4 期 41 例,CKD5 期 38 例;所有检测病例原发病均为慢性肾小球肾炎。CKD 组病例纳入标准:CKD 病史超过 1 年,年龄超过 18 岁,能及时随访。选取同期本院 36 例健康体检者作为健康对照组,其中男 19 例,女 17 例;年龄 23~77 岁,平均(43.3±9.5)岁。健康对照组与 CKD 组的性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过本院伦理委员会审批,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 美国贝克曼 AU5800 全自动生化分析仪(Beckman 公司)。ABI7500 全自动 PCR 分析仪(Beckman 公司);血清 ApoE 测定使用四川迈克检验试剂盒(批号:20189);质控使用伯乐质控品(批号:24560);ApoE 基因检测试剂盒采购于珠海赛乐奇公司(批号:2021903)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集与处理 所有研究对象均空腹采集静脉血,分离胶促凝管采集血液 5 mL,3 500 r/min 离心 5 min 分离血清,检测 ApoE 水平,同时采集 2 mL EDTA-K₂ 抗凝血检测 ApoE 基因型。

1.3.2 ApoE 基因型检测 本研究 ApoE 基因型采用 PCR 芯片杂交法进行检测,提取 DNA,50 ℃ 2 min;95 ℃ 变性 15 min;94 ℃ 30 s,65 ℃ 45 s,45 个循环。然后将 PCR 扩增产物在 99 ℃ 加热裂解 5 min,迅速冰浴 5 min。取 20 μL 上述产物至 100 μL 杂交液中,混匀后加入基因芯片孔中。将基因芯片置于杂交仪上 55 ℃ 杂交 60 min,室温放置 5 min。再将芯片放入 50 ℃ 预热的洗涤液 A 中浸泡 2 min,然后将芯片取出离心,甩干芯片表面的水渍。最后用 BW 反应液 100 μL 加在芯片表面,35 ℃ 反应 15 min 后,将芯片洗涤 4 次,然后将显色液滴加在芯片表面,35 ℃ 避光孵育 10 min,最后冲洗芯片 2 次后晾干读片。

1.3.3 eGFR 检测 应用 AU5800 全自动生化分析仪测定血清肌酐水平,根据相关公式计算得到 eGFR。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验;ApoE 水平与 eGFR 的相关性采用 Pearson 相关进行分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ApoE 各基因型在 CKD 组及健康对照组中的分布差异 本研究共检测 122 例 CKD 患者及 36 例健康体检者的 ApoE 基因型,122 例 CKD 患者中 E2、E3 和 E4 基因型分别占 20.5%(25/122)、65.6%(80/122)和 13.9%(17/122),其中 CKD3 期、4 期和 5 期患者 E2 基因型占比分别为 23.3%(10/43)、19.5%(8/41)和 18.4%(7/38),E3 基因型分别为 60.5%(26/43)、68.3%(28/41)和 68.4%(26/38),E4 基因型分别为 16.3%(7/43)、12.2%(5/41)和 13.2%(5/38)。36 例健康体检者 E2、E3 和 E4 基因型分别占 22.2%(8/36)、36.1%(13/36)和 41.7%(15/36)。ApoE 各基因型在 CKD 组和健康对照组中的分布差异有统计学意义($\chi^2=14.695, P<0.05$),E3 基因型在 CKD 组中所占比例明显高于健康对照组($P<0.05$)。CKD 组 3、4、5 期患者的 ApoE 各基因型分别与健康对照者比较,差异有统计学意义($\chi^2=12.876、12.236、11.845, P<0.05$)。

2.2 不同基因型患者的 ApoE 水平在各 CKD 分期中比较 本次共检测 122 例 CKD 患者血清 ApoE 水平,经单因素方差分析发现 E3 基因型患者血清 ApoE 水平在 CKD 各期中差异有统计学意义($P<0.05$),其水平随着病情进展呈逐渐升高趋势,而在 E2 及 E4 基因型患者中未发现 ApoE 水平有升高或下降趋势。见表 1。

表 1 不同基因型患者的 ApoE 水平在各 CKD 分期中比较($\bar{x} \pm s, \text{mg/dL}$)

基因型	<i>n</i>	CKD3 期	CKD4 期	CKD5 期	<i>F</i>	<i>P</i>
E2	25	5.15±0.53	5.36±1.04	5.24±0.97	2.416	0.101
E3	80	5.04±0.45	5.32±0.76	5.64±1.23	12.388	<0.001
E4	17	5.12±1.02	5.02±1.26	5.28±0.95	2.245	0.113

2.3 ApoE 水平与 eGFR 的相关性分析 在不同基因型组间比较发现,E3 基因型患者中 ApoE 水平与 eGFR 呈负相关($r=-0.35, P<0.05$)。见图 1。

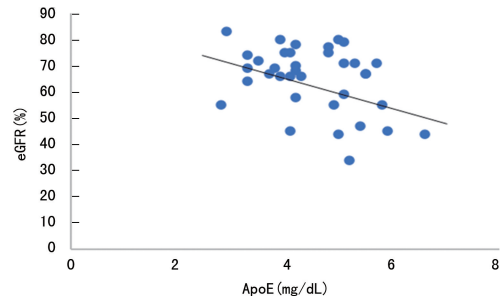


图 1 E3 基因型患者 ApoE 水平与 eGFR 的相关性

3 讨 论

CKD 是一种慢性进展性肾脏疾病,除肾脏移植外,暂无有效的治愈方法^[8]。在 CKD 患者病情进展

过程中只能靠透析以维持生命,患者晚期的各种并发症也严重影响其生存质量^[9]。因此,实现早期对 CKD 患者的病情评估及诊断有着重要意义。

ApoE 是一种参与脂质代谢和运输的糖蛋白^[10],而 CKD 患者常常会出现各类血脂代谢问题^[11],本研究针对 ApoE 基因多态性及水平在 CKD 各期患者中的变化特点,从而探讨其在 CKD 辅助诊断及临床分期中的应用价值。本研究共检测 122 例 CKD 患者,其中 E2、E3 和 E4 基因型分别占 20.5%(25/122)、65.6%(80/122)和 13.9%(17/122),在所有 CKD 患者中 E3 基因型占比高达 65.6%,明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),本研究结果与之前的一项研究结果一致^[12]。此外,本研究结果表明,在 E3 基因型患者中,血清 ApoE 水平随着 CKD 病情的进展而出现逐渐升高的趋势,差异有统计学意义($P < 0.05$)。可能原因是对于 E3 基因型的 CKD 患者,ApoE 水平对疾病的发生、发展起促进作用,随着疾病的进展而逐渐升高,是一种非保护性因子^[13-14]。在 E2 及 E4 基因型患者中血清 ApoE 水平未发现相关的变化趋势^[15]。后期将继续对 E3 基因型患者 ApoE 对疾病的影响机制进行进一步研究。

同时,本研究还发现 CKD 患者肾脏的滤过屏障损伤,肾小球滤过功能受损导致 eGFR 降低,这一结果与国内外诸多报道相符^[16-17]。本研究还增加 eGFR 与 ApoE 基因型的相关性分析,研究发现在 E3 基因型患者中 ApoE 水平与 eGFR 呈负相关^[18]。出现这一情况进一步说明 E3 基因型患者的 ApoE 可能参与肾脏损伤过程,ApoE 可能是一种非保护性因素,这与文献^[19]报道高 ApoE 水平是一种非保护机制相一致。

综上所述,CKD E3 基因型患者 ApoE 水平与 CKD 病情进展有一定的相关性,在 E3 基因型患者中,ApoE 水平越高越不利于保护肾脏。

参考文献

- [1] ZHANG L, WANG F, WANG L, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China; a cross-sectional survey [J]. *Lancet*, 2012, 379(9818): 815-822.
- [2] VISCONTI L, BENVENGA S, LACQUANITI A, et al. Lipid disorders in patients with renal failure; role in cardiovascular events and progression of chronic kidney disease [J]. *J Clin Transla Endocrinol*, 2016, 6: 8-14.
- [3] CWIKLINSKA A, CACKOWSKA M, WIECZOREK E, et al. Progression of chronic kidney disease affects HDL impact on lipoprotein lipase(LPL)-mediated VLDL lipolysis efficiency[J]. *Kidney Blood Press Res Switzerland*, 2018, 43(3): 970-978.
- [4] 中国成人血脂异常防治指南制定联合委员会. 中国成人

- 血脂异常防治指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2007, 35(5): 390-419.
- [5] TUDORACHE I F, TRUSCA V G, GAFENCU A V. Apolipoprotein E: a multifunctional protein with implications in various pathologies as a result of its structural features [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2017, 15: 359-365.
- [6] 张汉文, 张永军, 汤圣兴, 等. 中国人群载脂蛋白 E 基因多态性与冠心病易感性关系的 Meta 分析[J]. *右江民族医学院学报*, 2018, 40(5): 477-480.
- [7] LARIFLA L, ARMAND C, BANGOU J, et al. Association of ApoE gene polymorphism with lipid profile and coronary artery disease in Afro-Caribbeans [J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0181620.
- [8] MARROCOS M S, TEIXEIRA A A, QUINTO B M, et al. Apolipoprotein E polymorphism modulation of asymmetric dimethylarginine in hypertensive patients is determined by renal function[J]. *Lipids Health Dis*, 2016, 15(1): 14.
- [9] 傅倩晰, 周莉, 唐敏, 等. 男性人群中载脂蛋白 E 基因多态性与血脂水平的关联性分析[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2015, 41(4): 808-813.
- [10] 郭佳, 柯亭羽. 载脂蛋白 E 基因多态性与 2 型糖尿病肾病相关性的研究进展[J]. *医学综述*, 2018, 24(8): 1570-1574.
- [11] 徐继勋, 李晶, 徐维利. 载脂蛋白 E 及血脂水平联合检测对早期脑梗死的诊断价值[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2016, 19(13): 87-88.
- [12] 李爱丽, 赵欣, 赵丽丽, 等. 载脂蛋白 E 与脑梗死的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(17): 4961-4962.
- [13] 闫奇奇, 郝丽, 张森. 慢性肾脏病患者血清 FGF23 水平与钙磷代谢及临床相关性[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(5): 776-780.
- [14] 张云鹤, 何青. 中国血脂异常流行病学特点[J]. *中华保健医学杂志*, 2015, 17(3): 254-256.
- [15] PHILLIPS M C. Apolipoprotein E isoforms and lipoprotein metabolism[J]. *IUBMB Life*, 2014, 66(9): 616-623.
- [16] 王娟, 杨柳, 权乾坤, 等. 老年人载脂蛋白 E 基因多态性和血脂代谢与心脑血管病的相关性研究[J]. *中华老年医学杂志*, 2020, 39(8): 883-886.
- [17] WÜNSCH A, MULAC D, LANGER K. Lecithin coating as universal stabilization and functionalization strategy for nanosized drug carriers to overcome the blood - brain barrier[J]. *Int J Pharma*, 2020, 593: 120146.
- [18] 李汶嘉, 杨伟, 罗丹. 载脂蛋白 E 基因 526 C>T 多态性与氟伐他汀调脂作用的相关性分析[J]. *临床内科杂志*, 2020, 37(9): 642-645.
- [19] ZENG Y, HUANG X, ELKIN K, et al. Apolipoprotein E polymorphism carriers exhibit objective cognitive deficits: a single center trial[J]. *Neurol Res*, 2020, 42(8): 676-682.