

## 2型糖尿病患者低密度脂蛋白水平 及其受体基因表达水平研究\*

张阳东<sup>1a</sup>, 陈洁<sup>1b</sup>, 楚瑞雪<sup>2</sup>, 王利莹<sup>1a</sup>, 云洁<sup>1a</sup>, 安娟<sup>1a</sup>, 方靓<sup>1a</sup> (1. 第二炮兵总医院

a. 特勤医学科; b. 护理部, 北京 100088; 2. 第二炮兵礼士路门诊部, 北京 100820)

**摘要:**目的 观察低密度脂蛋白(LDL)水平和低密度脂蛋白受体(LDLR)基因表达水平与2型糖尿病(T2DM)的相关性。方法 提取2013年3月~7月就诊于第二炮兵总医院的95例T2DM患者和113例健康对照者外周血白细胞RNA, 应用荧光标记技术检测LDLR的基因表达水平;采用全自动生化分析仪及酶法检测血清低密度脂蛋白-胆固醇水平(LDL-C)。结果 T2DM组LDLR基因表达水平为 $1.988 \pm 1.158$ , 正常对照组为 $2.601 \pm 2.350$ , 差异有统计学意义( $P=0.016$ );T2DM组LDL-C为 $2.828 \pm 0.806$ , 正常对照组为 $2.889 \pm 0.820$ , 差异无统计学意义( $P=0.591$ ), 两组的LDLR基因表达和LDL-C水平间无相关性( $r=0.070$ ,  $P=0.503$ )。结论 受体途径可能不是T2DM患者LDL的主要代谢途径, LDLR基因表达水平可作为T2DM的诊断指标。

**关键词:** 2型糖尿病;低密度脂蛋白;低密度脂蛋白受体

**中图分类号:** R587.1; Q786 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2015)05-097-03

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.05.029

### Study on Low-density Lipoprotein Levels and It's Receptor Genes Expression Levels in Type 2 Diabetes Mellitus Patients

ZHANG Yang-dong<sup>1a</sup>, CHEN Jie<sup>1b</sup>, CHU Rui-xue<sup>2</sup>, WANG Li-ying<sup>1a</sup>, YUN Jie<sup>1a</sup>,

AN Juan<sup>1a</sup>, FANG Liang<sup>1a</sup> (1a. Special Service Medicine Department;

1b. Nursing Department, the General Hospital of the Second Artillery,

Beijing 100088, China; 2. Lishilu Clinic of the Second Artillery, Beijing 100820, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the association among low-density lipoprotein (LDL) levels and low-density lipoprotein receptor (LDLR) gene expression levels and type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** Extracted RNA samples of peripheral blood white cells of 95 patients with T2DM and 113 healthy individuals in March 2013 to July 2013 from the general hospital of the second artillery. LDLR gene expression levels were analysed with fluorescence labeled technology, and the levels of low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) in serum were detected by automatic biochemical modular system with enzyme. **Results** LDLR gene expression levels of T2DM group were  $1.988 \pm 1.158$ , and that of control group were  $2.601 \pm 2.350$ . It had statistical difference between the two groups ( $P=0.016$ ). The serum LDL-C levels of T2DM group were  $2.828 \pm 0.806$ , and that of control group were  $2.889 \pm 0.820$ . It had not statistical difference between the two groups ( $P=0.591$ ). The levels of LDLR gene expression of the two groups were not associated with LDL-C ( $r=0.07$ ,  $P>0.05$ ). **Conclusion** Receptor method may not be the main metabolic method of LDL in T2DM patients. LDLR gene expression level could be regarded as a diagnostic marker of T2DM.

**Keywords:** type 2 diabetes mellitus; low-density lipoprotein; low-density lipoprotein receptor

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者的主要致死因素是并发的心脑血管疾病,而低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)增高是T2DM患者心脑血管事件的首要病因。目前国内学者已日益重视LDL在T2DM和心脑血管等疾病患者中的作用,并对LDL进行了分级管理。低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)的作用是介导LDL的摄取和代谢。为了探讨T2DM患者血脂代谢紊乱的机理,我们对T2DM患者的低密度脂蛋白-胆固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)水平和LDLR基因表达水平进行了研究。

#### 1 材料和方法

1.1 研究对象 2013年3月~7月就诊于第二炮

兵总医院的T2DM组95例为研究对象,年龄32~77岁,平均年龄 $58.8 \pm 11.2$ 岁,其中男性57例,女性38例。对照组113例,年龄48~74岁,平均年龄 $61.2 \pm 5.2$ 岁,其中男性67例,女性46例。两组人员的年龄和性别差异无统计学意义,纳入标准见文献[1,2]。

1.2 研究方法 RNA标本的提取、参考基因SRP14和 $\beta$ -actin的扩增引物设计、合成、实验浓度、基因表达水平的检测方法及所用仪器和试剂见文献[3]。LDLR(基因序列号为:Nm000527)的RT引物:GTACGACTCACTATAGGGAGTTG-GCACTGAAAATGGCTT,浓度为500 nmol/L;PCR引物:AGGTGACACTATAGAATATG-GCATCACCTAGATCTCC。胆固醇(cholester-

\* 作者简介:张阳东(1970-),男,医学博士,主任技师,研究方向:临床生物化学与分子生物学诊断, Tel:13671041699, E-mail:zhangyd262@sohu.com。

ol, CHO)、三酰甘油(triglycerides, TG)、高密度脂蛋白-胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C), LDL-C应用美国 Roche 7600全自动生化分析仪及酶法配套试剂进行检测。

1.3 统计学分析 应用中华高智 CHISS 统计软件进行分析。各组数据进行正态性检验, 正态分布数据两组间差异比较采用  $t$  检验, 非正态分布数据两组间比较采用  $t'$  检验。两组 LDLR 和 LDL-C 间的相关性检验采用成对资料相关性分析。

2 结果 以参考基因 SRP14 和  $\beta$ -actin 的几何均值为标准化因子, LDLR 的基因表达水平见表 1。结果显示 T2DM 组的 LDLR 基因表达水平( $1.988 \pm 1.158$ )显著低于正常对照组( $2.601 \pm 2.350$ )( $P=0.016$ )。血脂的检测结果显示 T2DM 组的 TG( $1.749 \pm 1.091$ )显著高于正常对照组( $1.319 \pm 0.808$ )( $P=0.001$ ), 而 HDL-C 显著低于正常对照组( $1.127 \pm 0.311$  vs  $1.355 \pm 0.512$ )( $P=0.001$ )。LDL-C 和 CHO 两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。通过对两组的 LDLR 和 LDL-C 进行相关性分析, 未发现其存在相关性( $r=0.07$ ,  $P>0.05$ )。

表 1 T2DM 组和健康对照组血脂和 LDLR 基因表达水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目名称	对照组	T2DM 组	$t$ 值	$P$ 值
LDLR	$2.601 \pm 2.350$	$1.988 \pm 1.158$	2.317	0.016
LDL-C(mmole/L)	$2.889 \pm 0.820$	$2.828 \pm 0.806$	0.537	0.591
CHO(mmole/L)	$4.462 \pm 1.006$	$4.524 \pm 0.996$	0.446	0.656
TG(mmole/L)	$1.319 \pm 0.808$	$1.749 \pm 1.091$	3.263	0.001
HDL-C(mmole/L)	$1.355 \pm 0.512$	$1.127 \pm 0.311$	3.796	0.001

3 讨论 2 型糖尿病(T2DM)患者因胰岛素缺乏或抵抗, 体内过高的血糖不能进入正常的分解代谢, 使糖脂发生转化; 同时因糖分解受阻, 导致脂肪组织分解代谢增强, 使得血浆内游离脂肪酸水平明显升高, 产生血脂异常<sup>[4]</sup>。LDL 是血浆中 CHO 含量最多的一种脂蛋白, LDL 可直接损害内皮型一氧化氮合酶的活性, 降低一氧化氮的生物利用度, 从而增加动脉粥样硬化的风险。LDL 也可被氧化应激修饰成氧化型 LDL, 它被巨噬细胞吞噬后导致细胞内大量 CHO 堆积, 形成泡沫细胞。这种细胞的增多、融合, 构成了动脉粥样硬化斑块的脂质核心。氧化型 LDL 还可直接损伤肾小球内皮细胞引起糖尿病肾病; 损伤视网膜细胞引起糖尿病视网膜病变。

LDLR 基因位于人类 19 号染色体短臂末端, 包含 18 个外显子和 17 个内含子。LDLR 基因表达异常可影响 LDL 的清除。动物研究结果显示 T2DM 模型大鼠肝脏的 LDLR 基因表达显著降低<sup>[5]</sup>。胰岛素对 T2DM 大鼠不同组织的 LDLR 的作用不同, T2DM 大鼠的脂肪细胞 LDLR 基因和蛋白水平的下降可经胰岛素治疗后恢复正常; 而胰

岛素治疗对肝脏组织的 LDLR 蛋白和基因水平无影响<sup>[6]</sup>。阿托伐他汀降低血脂水平的机理之一就是提高 LDLR 的基因表达水平和蛋白表达水平<sup>[7]</sup>。Anothai 等<sup>[8]</sup>曾以  $\beta$ -actin 为参考基因, 发现高脂饮食可引起人体外周血中 LDLR 的基因表达水平下降。我们前期的研究结果表明, SRP14 和  $\beta$ -actin 可作为检测 T2DM 相关基因表达水平的内部参考基因, 以二者的几何均数作为标准化因子, 可降低因单个参考基因表达水平差异而引起的实验误差<sup>[9]</sup>。本研究以 SRP14 和  $\beta$ -actin 为内部参考基因, 结果显示 T2DM 患者外周血 LDLR 基因表达水平明显降低, 提示 LDLR 基因表达水平可作为 T2DM 的诊断指标, 但两组间 LDL-C 未见明显差异, LDLR 基因和 LDL-C 间也未见明显相关性, 提示受体途径可能不是 T2DM 患者 LDL 的主要代谢途径。LDL 的代谢除了 LDLR 途径, 还有非特异的、非受体依赖途径。高血糖下的 LDL 发生非酶促糖基化修饰后不能与天然 LDLR 结合, 使 LDL 无法进入受体代谢途径。因此 T2DM 患者 LDL-C 水平和 LDLR 基因表达水平是否与 LDLR 受体的蛋白表达水平及其他的非受体依赖代谢途径相关还有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 张阳东, 时磊, 于敏, 等. 中国汉族人群亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与 2 型糖尿病的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(1): 14-16.  
Zhang YD, Shi L, Yu M, et al. Correlation between single nucleotide polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase gene and type 2 diabetes mellitus in Chinese Han nationality[J]. J Mod Lab Med, 2009, 25(1): 14-16.
- [2] 张阳东, 时磊, 于敏, 等. 中国汉族人群 2 型糖尿病患者亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性与同型半胱氨酸水平的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(4): 13-14.  
Zhang YD, Shi L, Yu M, et al. Association study between single nucleotide polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase gene and homocysteine level in type 2 diabetes mellitus in Chinese Han nationality[J]. J Mod Lab Med, 2010, 25(4): 13-14.
- [3] 张阳东, 温新宇, 董矜, 等. 冠心病相关基因表达分析中管家基因表达水平比较[J]. 标记免疫分析与临床, 2010, 17(3): 154-157.  
Zhang YD, Wen XY, Dong J, et al. Comparison of housekeeping genes expression levels in analysis of coronary artery disease related genes[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2010, 17(3): 154-157.
- [4] 徐琳, 赵魁彦, 龚惠红, 等. 血脂异常与 2 型糖尿病视网膜病变的关系探讨[J]. 陕西医学杂志, 2012, 41(6): 691-692.  
Xu L, Zhao KY, Gong HH, et al. Relationship between dyslipidemia and diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus[J]. Shaanxi Med, 2012, 41(6): 691-692.
- [5] 刘小美, 宋菊敏, 刘丽琼, 等. 复方黄连降糖片对 2 型

- 糖尿病模型大鼠肝脏低密度脂蛋白受体基因表达的影响[J]. 山东中医杂志, 2006, 25(12): 838-841.
- Liu XM, Song JM, Liu LQ, et al. Action of fufang huanglian jiangtangpian on the gene expression of LDLR in type 2 diabetes mellitus rats[J]. Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine, 2006, 25(12): 838-841.
- [6] Swami S, Sztalryd C, Kraemer FB. Effects of streptozotocin-induced diabetes on low density lipoprotein receptor expression in rat adipose tissue[J]. J Lipid Res, 1996, 37(2): 229-236.
- [7] Sun H, Yuan Y, Sun ZL. Cholesterol contributes to diabetic nephropathy through SCAP-SREBP-2 pathway[J]. Int J Endocrinol, 2013(2013): 592576.
- [8] Anothai P, Roger RT, Ian J, et al. LDL-receptor mRNA expression in men is downregulated within an hour of an acute fat load and is influenced by genetic polymorphism[J]. J Nutr, 2007, 137(9): 2062-2067.
- [9] 张阳东, 楚瑞雪, 时磊, 等. 2型糖尿病患者外周血管管家基因表达水平比较[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(1): 9-10.
- Zhang YD, Chu RX, Shi L, et al. Comparison of housekeeping genes expression levels in peripheral blood of type 2 diabetes mellitus patients[J]. J Mod Lab Med, 2011, 26(1): 9-10.