

冠心病患者血清抗氧化型低密度脂蛋白 抗体水平与临床表现的关系

王磊, 吴宗贵, 黄佐, 樊民, 孙仲安

(中国人民解放军第二军医大学附属长征医院心内科, 上海市 200003)

[关键词] 内科学; 动脉粥样硬化; 氧化型低密度脂蛋白; 自身抗体; 急性冠状动脉综合征; 经皮冠状动脉造影术; 酶联免疫吸附测定法

[摘要] 目的 探讨冠心病患者外周血抗氧化型低密度脂蛋白抗体水平的临床意义。方法 研究对象按照临床表现分为稳定型心绞痛组、不稳定型心绞痛组、急性心肌梗死组和对照组。酶联免疫吸附法测定血清中 IgG 型抗氧化型低密度脂蛋白抗体水平。Gemini 评分对患者的冠状动脉狭窄程度进行定量测定。结果 冠心病患者抗氧化型低密度脂蛋白抗体水平显著高于对照组, 以急性冠状动脉综合征患者尤为显著, 抗氧化型低密度脂蛋白抗体升高具有延迟效应, 以入院后 7~10 天的水平最高, 各组之间的差异明显。冠心病患者冠状动脉狭窄程度在各组之间差异无显著性。抗氧化型低密度脂蛋白抗体水平与冠状动脉狭窄程度之间无显著相关性。结论 抗氧化型低密度脂蛋白抗体水平在不同冠心病临床类型之间存在显著差异, 提示自身免疫在动脉粥样硬化疾病的转归中发挥重要作用。抗氧化型低密度脂蛋白抗体有望成为独立于冠状动脉狭窄程度外的评估动脉粥样硬化风险的指标。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Relationship between the Titer of Antibodies to Oxidized Low Density and the Clinic Manifestation in Atherosclerosis Patients

WANG Lei, WU Zong-Gui, HUANG Zuo, FAN Min, and SUN Zong-An

(Department of Cardiology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

[KEY WORDS] Oxidized Low Density Lipoprotein; Autoantibodies; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; Acute Coronary Symptom; Atherosclerosis; Enzyme Linked Immunosorbent Assay

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the clinic significance of antibodies to oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) in the patients of coronary artery disease (CHD). **Method** The target population was divided into four groups by his clinic syndrome: stable angina pectoris (SAP); unstable angina pectoris (UAP); acute myocardium infarction (AMI); normal control group (CON). Antibodies to ox-LDL in serum of the patients was measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The stenosis degree of coronary artery was quantitative assayed by Gemini marker. **Results** The titre of antibodies to ox-LDL in the patients of CHD was obviously higher, especially in the ACS, than that in CON. The titre increased in hysteretic mode, which was highest 7~10 days after hospitalization and was most obviously different between groups. There was no statistical dependence between the titer of antibodies and the stenosis degree of coronary artery. **Conclusions** There is a positive correlation between the titer of antibodies to ox-LDL and the clinical manifestation of CHD, which reveals that autoimmunity may play an important role in the origin, progress of atherosclerosis (As). And the titer of antibodies to ox-LDL is hoped to be an important marker to evaluate the risk of As.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)过程中, 当低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)进入动脉壁内膜发生过氧化反应时, 其主要构成物质如蛋白质及脂质都可能因与自由基如氧自由基等反应形成各

种不同的脂蛋白修饰产物, 在此过程中 LDL 会发生结构改变, 产生新的表位并具有免疫原性。研究发现 As 斑块内存在抗氧化型 LDL(oxidized LDL, ox-LDL)抗体以及包含 ox-LDL 的免疫复合物^[1,2], 此外国外研究发现外周血中也存在着抗 ox-LDL 抗体, 且与 As 的临床事件发生乃至预后密切相关。国内相关研究尚少, 因此我们对该问题进行了研究。

[收稿日期] 2006-02-23

[修回日期] 2006-09-20

[作者简介] 王磊, 博士研究生, 主治医师, 研究方向为炎症与动脉粥样硬化, 联系电话为 025-81785275, E-mail 为 wangleyes@sina.com.cn。通讯作者吴宗贵, 硕士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为炎症与动脉粥样硬化, 联系电话为 021-63610109 转 73201, E-mail 为 zgwu@medmail.com.cn。黄佐, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病与精神应激, 联系电话为 021-63610109 转 73212, E-mail 为 huangzuo@yahoo.com.cn。

1 对象和方法

1.1 主要试剂及设备

人 LDL(Calbiochem 公司); 人 Cu²⁺ 氧化的 ox-

LDL(Biomedical 公司);羊抗人 IgG 抗体(华美公司);TMB-过氧化氢尿素溶液(Chemicon 公司);96 孔酶标板(Hyclone 公司);酶标仪(上海第三分析仪器厂);DSA 造影及摄像系统(德国 Siemens 公司)。

1.2 对象及分组

共有效观察了 51 名患者,分为 2 组。冠心病组共 38 例,男 26 例,女 12 例;其中稳定型心绞痛(stable angina pectoris, SAP)7 例、不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UAP)13 例、急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)18 例,均经临床表现(或心电图、心肌酶学)及冠状动脉造影(coronary angiography, CAG)诊断明确,其中急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)者均为首诊患者或者首次住院行冠状动脉介入诊治者。对照组共 13 人,均为在我院心内科住院的电生理射频治疗患者(无心脑血管病证据)、冠状动脉造影检查正常者及门诊体检人员,其年龄及性别构成与冠心病组有可比性。所有研究对象均无恶性肿瘤、肝脏病变、肾功能不全、血液性疾病、感染性疾病和自身免疫性疾病,近半年内无重大外伤、手术史。

1.3 标本收集以及血糖、血脂和尿酸的测定

患者分别于入院后 3 h 内、入院后 24~48 h 及入院后 7~10 天抽取静脉血,对照组分别抽取空腹静脉血,加入非抗凝管中室温下静置 4 h 后,3 000 r/min 离心 20 min,吸取血清后-20℃分装保存备用。

空腹血糖、血脂和尿酸等生物化学指标均为入院后次日晨空腹血标本统一送医院临床实验中心经由全自动生物化学仪测定。

1.4 酶联免疫吸附测定法

酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测自身抗体^[3]。96 孔板包被抗原(10 mg/L 的 ox-LDL 或 LDL 溶液)4℃孵育 24 h,以 5%脱脂奶粉溶液 4℃孵育过夜封闭。洗涤后以 1:20 稀释样本双孔加样,37℃孵育 1 h 后再次洗涤,添加辣根过氧化物酶标记的羊抗人 IgG 抗体 37℃孵育 1 h,经第 3 次洗涤后加入显色底物过氧化氢尿素溶液,显色 20 min 后加入中止液(0.5 mol/L H₂SO₄)中止反应,立即送酶标仪检测 OD₆₅₀值。

1.5 冠状动脉造影评分(Gensini 评分)

手术方法均为股动脉 Seldinger 穿刺。造影时导管下注射硝酸甘油或者地尔硫卓以解除冠状动脉痉挛导致的非固定狭窄^[4],由图像处理系统测量血管狭窄程度。狭窄程度为 25%、50%、75%、90%、99%和 100%的评分分别为 1、2、4、8、16 和 32 分。评分系数分别为左冠状动脉主干×5;前降支近段×2.5、

中段×1.5、心尖支×1、第一对角支×1、第二对角支×0.5;回旋支近段×2.5、钝缘支×1、远端×1、后降支×1、后侧支×0.5;右冠状动脉近段×1、中段×1、远端×1、后降支×1。以病变部位狭窄评分乘以系数即为最终评分。

1.6 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单向方差分析(one-way ANOVA)和 SNK-*q* 检验,率的差异采用卡方检验。外周血 LDL、抗 ox-LDL 抗体水平及冠状动脉狭窄程度进行线性相关分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者基本情况比较

体质指数、高血压发生率、血压和血浆 HDL 水平等在冠心病组和对照组之间存在着统计学差异($P < 0.01$, $P < 0.05$)(表 1)。

表 1. 各组患者基本情况及生理指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组	SAP 组	UAP 组	AMI 组
年龄(岁)	62.08±9.85	64.57±10.20	62.62±11.55	60.65±9.93
性别(男/女)	10/3	5/2	8/5	13/5
体质指数(kg/m ²)	21.66±3.25	26.47±1.69 ^a	26.89±2.11 ^a	25.85±0.89 ^a
吸烟率	4/13	2/7	7/13	11/18
吸烟量(年支)	238±138	1 150±354 ^a	457±264 ^a	509±281 ^a
高血压发生率	2/13	4/7 ^b	10/13 ^b	14/18 ^b
收缩压(mmHg)	125±16	144±22 ^b	151±16 ^b	149±17 ^b
舒张压(mmHg)	74±13	79±14	88±9 ^b	89±10 ^b
血糖(mmol/L)	4.67±0.49	8.09±4.63 ^b	7.00±3.11 ^b	6.98±2.52 ^b
尿酸(μmol/L)	296±48	336±90	374±112	335±106
甘油三酯(mmol/L)	1.09±0.46	1.88±1.07	2.42±1.63	3.76±5.75
总胆固醇(mmol/L)	4.73±1.00	4.16±0.98	4.78±1.42	5.09±2.22
HDL(mmol/L)g	1.09±0.28	0.80±0.14 ^a	0.83±0.25 ^a	0.81±0.21 ^a
LDL(mmol/L)	3.24±0.99	2.50±0.88	2.76±1.22	3.29±1.72
脂蛋白(a)(mmol/L)	274±97	258±106	325±308	257±150

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 各组血清抗氧化型低密度脂蛋白抗体水平的比较

小于 3 h 和 24~48 h 时,AMI 组与 UAP 组抗氧化型低密度脂蛋白抗体水平(即 ACS 患者)无差异,均显著高于 SAP 组和对照组,而 SAP 组又显著高于对照组;7~10 天时,AMI 和 UAP 组抗氧化型低密度脂蛋白抗体水平无差异,均显著高于 SAP 组和对照组,而 SAP 组与对照组无差异。

对照组和 SAP 组组内在 3 个采样点的抗体水平

差异无显著性, UAP 组 3 个采样点抗体滴度从高到底依次为 7~10 天、< 3 h 和 24~48 h, 各组之间差异均有显著性。AMI 组 3 个采样点抗体滴度从高到

底依次为 7~10 天、< 3 h 和 24~48 h, 其中 < 3 h 组和 24~48 h 组之间差异无显著性, 而 7~10 天组和另两组之间差异均有统计学意义(表 2)。

表 2. 各组血清抗氧化型低密度脂蛋白抗体水平和冠状动脉评分的比较 ($\bar{x} \pm s$)

		对照组	SAP 组	AMI 组	UAP 组
抗 ox-LDL 抗体滴度	< 3 h	0.914 \pm 0.032	0.958 \pm 0.150 ^a	1.006 \pm 0.363 ^{ab}	0.995 \pm 0.280 ^{abc}
	24~48 h	0.918 \pm 0.315	0.957 \pm 0.144 ^a	0.985 \pm 0.105 ^{ab}	0.987 \pm 0.109 ^{abc}
	7~10 天	0.916 \pm 0.028	0.956 \pm 0.013	1.072 \pm 0.896 ^{abc}	1.031 \pm 0.597 ^{abc}
冠状动脉 Gensini 积分		—	34.61 \pm 40.88	42.33 \pm 34.71	47.45 \pm 20.56

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较, b 为 $P < 0.05$, 与 SAP 组比较, c 为 $P < 0.05$, 组内不同时间段间相互比较。

2.3 各组患者冠状动脉评分的比较

方差分析 $F = 0.394$, $P = 0.698$, 各组之间差异无显著性, SNK 各组两两比较差异无显著性(表 2)。

2.4 抗体水平和冠状动脉积分的相关性分析

Spearman 相关系数为 $r = 0.049$, $N = 35$, $P = 0.78$ (双侧), 大于 0.05, 无显著相关性。

3 讨论

本研究结果表明冠心病患者的体质指数、血压水平及吸烟年支数均显著高于对照组。而作为冠心病保护因子, 高密度脂蛋白水平对照组显著高于冠心病组, 其他血脂指标如总胆固醇、LDL 和甘油三酯差异虽无统计学差异, 但是可以看出与循证医学相符合的趋势, 这可能与研究样本量相对较小有关。

本研究发现抗 ox-LDL 抗体水平在 ACS 组中要显著高于对照组和 SAP 组, 尤其是 AMI 亚组, 而 SAP 亚组抗体水平虽然高于正常对照, 但没有如此显著, 因此抗体滴度水平高低基本与临床分型的凶险程度相一致。分析其机制可能与斑块的特性有关: 急性冠状动脉综合症的发病机理包括了冠状动脉痉挛、斑块破裂、斑块内出血及更活跃的炎症反应等动态变化, 而稳定型心绞痛的发病机制更多是由于冠状动脉固定狭窄导致心肌血供相对不足, 某种程度上讲冠状动脉病变的动态变化将更有利于斑块内抗原暴露到外周血中, 引发瀑布式的二次免疫效应, 直至机化及再次内皮化形成新的纤维帽后随着刺激抗原释放的减少, 抗体生成也逐步减少并被免疫细胞清除, 滴度逐步降低。但是由于生成比较完整的内膜的过程一般需 2 周左右, 而已经生成抗体的清除期大约为 2 周, 因此在发病后较长的一段时间内, 外周血中可以保持相对高的抗体滴度, 有研究表明临床事件后抗体水平甚至可以持续升高数月^[5]。而稳定型心绞痛对应的稳定性斑块纤维帽较厚而脂质核心

成分较少, 炎症反应相对较轻, 因此不利于抗原释放和抗体的生成。

在抗体升高的患者中, 抗体反应曲线尚存在明显的延迟效应, 抗体水平最高的是在入院后 7~10 天时(由于冠状动脉介入人为地导致 As 斑块的破裂, 引起外周血中的抗体水平升高^[6], 因此我们最晚采样时间选在术前穿刺时), 而在入院后 24~48 h 阶段, 外周血中的抗体滴度甚至一度下降。分析其原因可能和以下几点有关: 较大量的抗原 ox-LDL 释放到外周循环中, 与自身抗体结合形成免疫复合物, 在加速清除 ox-LDL 的同时, 消耗了大量的抗 ox-LDL 抗体; 与此同时, 再次免疫虽然较初次免疫生成抗体量大且特异性高, 但是仍然存在着短暂窗口期, 约为 2~5 天, 因此当较大量抗原暴露后, 一般要到一周后才会发现特异性抗体水平的显著升高; 随着冠心病治疗观念的进步, 患者入院后立即行正规的抗炎、稳定斑块及调脂治疗, 可以显著减轻炎症反应, 而新近研究发现他汀类药物还具有免疫调节作用, 可以缓解免疫反应^[7]。因此当斑块不稳定导致急性冠状动脉事件后, 在抗体高峰出现前的潜伏期内, 可能出现如本研究中发生的抗体滴度下降的现象。

为了进一步明确抗 ox-LDL 抗体是否直接能够反映冠状动脉内斑块的狭窄程度, 我们进行了抗体滴度与冠状动脉造影积分之间的相关分析, 结果发现两者之间没有线性相关。结合抗 ox-LDL 抗体在急性冠状动脉综合征患者中的高滴度水平, 提示抗 ox-LDL 抗体可能更多的反映了斑块的稳定性或斑块的炎症反映程度^[8], 而与其绝对对狭窄程度无关。已有研究表明抗 ox-LDL 抗体水平可能与冠心病患者预后、冠状动脉内介入治疗后再狭窄有关^[9,10]。因此抗 ox-LDL 抗体具有预测冠心病预后的潜在价值, 且其评价作用与冠状动脉狭窄程度无关。

当然, 由于目前各个研究单位在方法学上仍然缺乏统一的计算方法和标准试剂, 抗 ox-LDL 抗体的

参考值也存在很大差异,加之免疫反应受个体免疫遗传差异影响较大,在目前缺乏大样本研究的情况下,距离大规模的实际应用尚有一定距离。

[参考文献]

- [1] Shaw PX, Horkko S, Chang MK, Curtiss LK, Palinski W, Silverman GJ, et al. Natural antibodies with the T15 idiotype may act in atherosclerosis, apoptotic clearance, and protective immunity[J]. *J Clin Invest*, 2000, **105** (12): 1 731-740
- [2] George J, Afek A, Gilburd B, Harats D, Shoenfeld Y. Autoimmunity in atherosclerosis: lessons from experimental models[J]. *Lupus*, 2000, **9** (3): 223-227
- [3] 李金明. 《临床酶免疫测定技术》[M]. 北京: 人民军医出版社, 2005; 15-17
- [4] 钱学贤. 现代心血管病学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1997; 331
- [5] Salonen JT, Yla-Herttuala S, Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R, et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis

[J]. *Lancet*, 1992, **339** (8798): 883-887

- [6] Tsimikas S, Lau HK, Han KR, Shortal B, Miller ER, Segev A, et al. Percutaneous coronary intervention results in acute increases in oxidized phospholipids and lipoprotein(a): short-term and long-term immunologic responses to oxidized low-density lipoprotein[J]. *Circulation*, 2004, **109** (25): 3 164-170
- [7] Wenke K, Meiser B, Thiery J, Nagel D, von-Scheidt W, Steinbeck G, et al. Simvastatin reduces graft vessel disease and mortality after heart transplantation: a four-year randomized trial[J]. *Circulation*, 1997, **96** (5): 1 398-402
- [8] 张清潭, 石斗飞, 李忠清, 曹庆梅. 急性冠状动脉综合征患者血浆氧化型低密度脂蛋白及其抗体的临床意义[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (6): 732
- [9] Wu R, Nityanand S, Berglund L, Lithell H, Holm G, Lefvert AK. Antibodies against cardiolipin and oxidatively modified LDL in 50-year-old men predict myocardial infarction[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 3 159-163
- [10] George J, Harats D, Bakshi E, Adler Y, Levy Y, Gilburd B, et al. Anti-oxidized low density lipoprotein antibody determination as a predictor of restenosis following percutaneous transluminal coronary angioplasty[J]. *Immunol Lett*, 1999, **68**: 263-266

(此文编辑 朱雯霞)

•读者•作者•编者•

我刊报道的疾病和诊治方法

- | | |
|-----------------|-----------------|
| 1 肥胖症 | 11.4 急性动脉栓塞 |
| 2 小儿肥胖病 | 11.5 肢端动脉痉挛病 |
| 3 原发性高脂蛋白血症 | 12 伯格氏病 |
| 4 高脂血症 | 13 短暂性脑缺血发作 |
| 4.1 高胆固醇血症 | 13.1 黑朦 |
| 4.2 高甘油三酯血症 | 13.2 视野异常 |
| 4.3 混合型高脂血症 | 14 脑梗死 |
| 5 原发性肺动脉高压症 | 14.1 脑血栓形成 |
| 6 早老症 | 14.2 脑血管栓塞 |
| 6.1 弥漫性动脉粥样硬化 | 14.3 腔隙性脑梗死 |
| 6.2 冠状动脉栓塞 | 14.4 多发梗死性痴呆 |
| 7 冠状动脉粥样硬化性心脏病 | 15 脑动脉硬化症 |
| 7.1 原发性心跳骤停 | 16 动脉硬化性精神病 |
| 7.2 心绞痛 | 17 其他缺血性脑血管疾病 |
| 7.3 心肌梗死 | 18 粥样栓塞性肾病 |
| 7.4 冠状动脉性心力衰竭 | 19 肾动脉血栓形成或栓塞 |
| 7.5 缺血性心律失常 | 20 糖尿病合并心血管疾病 |
| 8 急性冠状动脉综合征 | 20.1 糖尿病并发冠心病 |
| 9 动脉硬化症 | 20.2 糖尿病性心肌梗死 |
| 9.1 颈动脉硬化症 | 20.3 糖尿病并发血管病变 |
| 9.2 肾动脉硬化 | 21 代谢综合征 |
| 9.3 动脉硬化性主动脉瘤 | 22 血管疾病的影像学诊断 |
| 9.4 动脉硬化性闭塞症 | 23 血管疾病的手术疗法 |
| 9.5 动脉硬化性周围动脉缺血 | 23.1 动脉旁路移植术 |
| 10 高血压病 | 23.2 动脉内膜切除术 |
| 11 周围血管疾病 | 23.3 激光心肌内血管重建术 |
| 11.1 血栓闭塞性脉管炎 | 23.4 经皮腔内血管成形术 |
| 11.2 雷诺综合征 | 23.5 其它血管手术 |
| 11.3 手足紫绀症 | 24 血管疾病的基因疗法 |

(胡必利编写)