

CD40 配体、妊娠相关血浆蛋白 A 和丙二醛化低密度脂蛋白的变化与冠状动脉斑块破裂相关性

张志辉¹, 李旭平², 周胜华², 祁述善²

(1. 中南大学湘雅三医院心内科, 湖南省长沙市 410013; 2. 中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 内科学; 冠心病; CD40 配体; 妊娠相关血浆蛋白 A; 丙二醛化低密度脂蛋白; 氧化应激

[摘要] 目的 观察 CD40 配体、妊娠相关血浆蛋白 A 和丙二醛化低密度脂蛋白在冠状动脉造影显示为 ⊕ 型斑块的冠心病患者血浆中的变化与相关性。方法 收集冠状动脉造影为冠心病患者 85 例, 根据斑块形态, 将冠心病患者分为三组, 即 iv 型病变(表面光滑)组($n=31$), ⊕ 型病变(表面不规则)组($n=35$)及 ⊗ 型病变(长段不规则)组($n=19$), 冠状动脉造影正常的 25 例为对照组。检测各组血浆 CD40 配体、妊娠相关血浆蛋白 A、丙二醛化低密度脂蛋白、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白。结果 ⊕ 型病变组血浆 CD40 配体、妊娠相关血浆蛋白 A 和丙二醛化低密度脂蛋白显著高于对照组、iv 型病变组和 ⊗ 型病变组(P 均 < 0.01)。⊕ 型病变组血浆 CD40 配体与妊娠相关血浆蛋白 A 呈正相关($r=0.446$, $P<0.01$); 丙二醛化低密度脂蛋白与低密度脂蛋白和高密度脂蛋白无明显相关性(P 均 > 0.05), 但与妊娠相关血浆蛋白 A 呈正相关($r=0.630$, $P<0.01$)。结论 冠状动脉造影显示斑块破裂的冠心病患者血浆 CD40 配体、妊娠相关血浆蛋白 A 和丙二醛化低密度脂蛋白水平明显升高; CD40 配体与妊娠相关血浆蛋白 A 呈显著正相关, 提示 CD40 配体可能通过上调妊娠相关血浆蛋白 A 的表达促进斑块破裂; 丙二醛化低密度脂蛋白与妊娠相关血浆蛋白 A 呈正相关, 提示氧化应激和炎症反应加强均是导致斑块破裂的原因, 且氧化应激可能通过诱导、加剧炎症反应或与炎症因子交互作用发挥其致斑块破裂作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Relation of CD40 Ligand, Pregnancy-Associated Plasma Protein A and Malondialdehyde-Modified Low Density Lipoprotein to Angiographic Morphology of Coronary Lesions in Patients with Coronary Heart Disease

ZHANG Zhi-Hui¹, LI Xu-Ping², ZHOU Sheng-Hua², and QI Shu-Shan²

(1. Department of Cardiology, Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013; 2. Department of Cardiology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease; CD40 Ligands; Pregnancy-Associated Plasma Protein A; Malondialdehyde-Modified Low Density Lipoprotein; Oxidative Stress

[ABSTRACT] Aim To evaluate the role of CD40 ligands (CD40L), pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) and malondialdehyde-modified low density lipoprotein (MDA-LDL) in the development of plaque disruption. Methods Eighty-five patients with coronary heart disease (CHD) and twenty-five controls were collected in this study. All patients underwent coronary angiography. The angiographic morphology of plaques was analyzed. According to the morphologic types of plaque, the patients with CHD were divided into type iv (smooth borders) group ($n=31$) and type ⊕ (irregular lesions) group ($n=35$) and type ⊗ (long lesions) group ($n=19$). Plasma CD40L, PAPP-A and MDA-LDL were measured in all patients.

Results Plasma CD40L, PAPP-A and MDA-LDL in type ⊕ group were significantly higher than those in the control group, type iv group and type ⊗ group ($P<0.01$). The plasma levels of CD40L and PAPP-A had a significant positive correlation in the patients with type ⊕ CHD ($r=0.446$, $P<0.01$). The plasma levels of MDA-LDL didn't correlate to low density lipoprotein (LDL) and high density lipoprotein (HDL) in the patients with type ⊕ CHD ($P>0.05$). The plasma levels of MDA-LDL and PAPP-A had a significant positive correlation in the patients with type ⊕ CHD ($r=0.630$, $P<0.01$). Conclusions

Plasma levels of CD40L, PAPP-A and MDA-LDL increased in patients with coronary plaque rupture, CD40L and PAPP-A had a positive correlation, which indicated CD40L possibly facilitates the plaque rupture via upregulating the PAPP-A expression; MDA-LDL and PAPP-A had a positive correlation, which indicated the oxidative stress is likely to either induce or intensify inflammatory action, and may be co-effect with inflammation factors to cause or accelerate plaque rupture.

[收稿日期] 2006-09-30

[修回日期] 2007-01-03

[作者简介] 张志辉, 硕士, 主治医师, 主要从事介入心脏病学研究, E-mail 为 zhang0869@xy3yy.com。周胜华, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事介入心脏病学研究。祁述善, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事介入心脏病学研究。

急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)的发病大多是由于动脉粥样硬化斑块不稳定、破裂和继发血栓形成所致^[1]。大量研究表明炎症在动脉硬化损伤的发生发展中起重要作用^[2]。不稳定性斑块内有大量单核/巨噬细胞等炎症细胞浸润,这些炎症细胞均过度表达 CD40 配体(CD40 ligands, CD40L)和金属蛋白酶,CD40 与 CD40L 的相互作用,可产生一系列免疫性反应,包括促进金属蛋白酶等物质的产生^[3,4]。妊娠相关血浆蛋白 A (pregnancy-associated plasma protein A, PAPP-A)是新近发现的一种金属蛋白酶,在 ACS 中明显升高^[5]。文献[6]报道不稳定型心绞痛患者血浆丙二醛化低密度脂蛋白(malondialdehyde-modified low density lipoprotein, MDA-LDL)明显增高,MDA-LDL 作为低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)的氧化修饰产物可能提示不稳定性斑块的存在。本研究通过检测冠心病患者血浆 CD40L、PAPP-A 和 MDA-LDL 的变化及其与冠状动脉造影 ①型斑块的相关性,从临床角度探讨斑块破裂的原因。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集冠心病患者 85 例,均符合以下条件:①冠状动脉造影显示左主干、左前降支、回旋支及右冠状动脉 4 支血管中至少 1 支血管病变的狭窄程度 $\geq 50\%$ 并 $< 100\%$;②心肌梗死患者梗死距进入研究的时间 > 3 周;③无急、慢性感染证据,并排除肿瘤、近期手术和创伤、脑卒中、严重肝肾损害、慢性结缔组织病、瓣膜病及服用非固醇类消炎镇痛类药物等影响 CD40L、PAPP-A 和 MDA-LDL 水平的情况。正常对照组 25 例,入选标准为体格检查无阳性体征,心电图、胸片及肝肾功能、血生物化学常规检查无异常,冠状动脉造影结果正常。

1.2 冠状动脉造影及斑块形态学分型

所有患者均行选择性冠状动脉造影检查,采用 Judkin's 法,每一支血管至少 3 个以上的多体位投照。造影结果由两名有经验的医师分析完成,综合刘海波等^[7]的分型方法将病变分为 3 型:iv 型为表面光滑的向心或偏心,且基底较宽的病变;①型为基底部较窄或尖角状(两者表面光滑或不光滑)的病变,或龛影,或表面凹凸不平或火山口样的病变(向心或偏心);②型为长段不规则狭窄病变。冠心病组按冠状动脉斑块形态学表现分为 iv 型(31 例)、①型(35 例)和 ②型(19 例)病变组。

1.3 采血及实验室指标测定

患者空腹 8 h,冠状动脉造影时缓慢回抽出冠状动脉窦口动脉血 5 mL,置于 10 mL 肝素抗凝离心管,离心后取上清液血浆分装到 EP 管-70℃低温保存。同时进行肝、肾功能和血糖、血脂等生物化学指标检测(检验科专人质控检验)。采用酶联免疫吸附法测定血浆可溶性 CD40L,试剂盒由晶美公司提供,其检测灵敏度为 0.095 mg/L,研究标准测定的批内和批间误差分别是 5.8% 及 8.4%。采用酶联免疫吸附法测定血浆 PAPP-A,试剂盒由晶美公司提供,其检测灵敏度为 0.1 mu/L,本研究标本确定的批内和批间误差分别是 4.5% 及 6.4%。采用硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)法测定血浆 MDA-LDL 水平,试剂盒由南京生物建成研究所提供,检测灵敏度为 0.01 mol/L。

1.4 统计学处理

采用 SPSS10.0 统计软件包进行数据处理。计量资料数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多样本均数的比较采用方差分析,两两比较采用 LSD 及 Dunnett's *t* 检验。如果资料服从双变量正态分布,采用直线相关分析,如果资料不服从双变量正态分布,采用 Spearman 秩相关分析。以双侧 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 各组患者基线资料比较

四组患者之间年龄、血压、血糖、甘油三酯和总胆固醇等差异均无显著性。冠心病组年龄、血压、总胆固醇、甘油三酯和 LDL 略高于对照组,而高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)低于对照组,但差异均无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

2.2 血浆 CD40 配体、妊娠相关血浆蛋白 A 和丙二醛化低密度脂蛋白水平

冠心病 ①型病变组血浆 CD40L、PAPP-A 和 MDA-LDL 水平较对照组和冠心病 iv 型、②型病变组明显增高($P < 0.01$);而冠心病 iv 型和 ②型病变组较对照组增高,但无统计学差异($P > 0.05$,表 2)。

2.3 血浆 CD40 配体、妊娠相关血浆蛋白 A 和丙二醛化低密度脂蛋白相关性

对照组、冠心病 iv 型和 ②型病变组 CD40L、MDA-LDL 与 PAPP-A 无相关性(P 均 > 0.05)。冠心病 ①型病变组血浆 CD40L 与 PAPP-A 呈显著正相关($r = 0.446$, $P < 0.01$);MDA-LDL 与 LDL、HDL 无明显相关性(P 均 > 0.05),而与 PAPP-A 呈正相关($r = 0.630$, $P < 0.01$)。

表 1. 各组患者基线资料比较

项 目	对照组 (n= 25)	冠心病组		
		iv型病变组(n= 31)	㊟型病变组(n= 35)	㊿型病变组(n= 19)
年龄 (岁)	53.1 ±15.8	59.2 ±16.1	62.3 ±19.8	60.1 ±15.4
男/女 (例)	16/9	21/10	26/9	11/8
收缩压 (mmHg)	125.4 ±30.8	138.6 ±28.8	139.5 ±30.2	137.8 ±32.3
舒张压 (mmHg)	78.9 ±18.7	79.9 ±19.8	84.5 ±17.1	82.2 ±18.2
甘油三酯 (mmol/L)	1.24 ±0.30	1.59 ±1.51	1.60 ±1.42	1.58 ±1.49
总胆固醇 (mmol/L)	4.28 ±0.79	4.58 ±0.86	4.70 ±0.59	4.72 ±0.68
HDL (mmol/L)	1.31 ±0.58	1.21 ±0.59	1.18 ±0.62	1.23 ±0.47
LDL (mmol/L)	2.62 ±1.01	2.75 ±0.98	2.78 ±0.84	2.71 ±1.08
尿素氮 (mmol/L)	5.51 ±2.04	5.89 ±1.85	6.02 ±1.09	6.19 ±1.34
肌酐 (mmol/L)	113.4 ±28.6	109.5 ±30.2	125.1 ±31.5	112.3 ±31.9
尿酸 (μmol/L)	371.8 ±98.5	368.9 ±125.4	418.3 ±125.4	408.5 ±129.8
空腹血糖 (mmol/L)	5.0 ±0.8	4.9 ±0.9	5.2 ±0.9	5.1 ±0.7

表 2. CD40 配体、妊娠相关血浆蛋白 A、丙二醛化低密度脂蛋白、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白水平 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	例数	CD40L (mg/L)	PAPP-A (mu/L)	MDA-LDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)	HDL (mmol/L)
对照组	25	1.01 ±0.94	7.1 ±4.4	0.48 ±0.18	2.62 ±1.01	1.31 ±0.58
冠心病 iv型病变组	31	1.03 ±0.98	7.3 ±4.1	0.52 ±0.21	2.75 ±0.98	1.21 ±0.59
冠心病 ㊟型病变组	35	3.21 ±2.08 ^{abc}	16.8 ±7.2 ^{abc}	0.98 ±0.28 ^{abc}	2.78 ±0.84	1.18 ±0.62
冠心病 ㊿型病变组	19	1.23 ±0.88	8.9 ±4.9	0.54 ±0.25	2.71 ±1.08	1.23 ±0.47

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与冠心病 iv型病变组比较; c 为 $P < 0.01$, 与冠心病 ㊟型病变组比较。

3 讨论

Levin 等^[8]通过组织病理学方法研究发现,冠状动脉造影所示的 ㊟型斑块即表面不规则的斑块,尸检常代表斑块破裂伴有或不伴有局部血栓形成。Monroe 等^[9]报道不稳定型心绞痛患者 ㊟型斑块的发生率高达 71%。近年病理学、生物化学、冠状动脉造影及血管内窥镜等研究表明,斑块破裂及随之出现的血栓形成是 ACS 发病的主要病理生理机制^[11],但斑块破裂的原因始终缺乏足够的临床证据。因此本研究以冠状动脉造影所示的 ㊟型斑块代表斑块破裂或其表面继发血栓形成,以作为 ACS 发生的影像学证据。

CD40 配体(CD40L)是肿瘤坏死因子超基因家族的一员,实验证明 CD40L 可激活在动脉粥样硬化及斑块稳定中起关键作用的成分,如粘附分子、细胞因子、基质金属蛋白酶和组织因子等^[10,11]。严金川等^[12]发现不稳定型心绞痛组血单核细胞表达 CD40L 明显增加。本研究发现冠心病 ㊟型病变血浆 CD40L 显著高于 iv型病变、㊿型病变和对照组,且 iv

型、㊿型病变与对照组相比无明显变化,提示 CD40L 增高可能和 ACS 斑块不稳定相关。

妊娠相关血浆蛋白 A(PAPP-A)作为最近发现的一种新的锌和钙依赖性金属蛋白酶,能特异性裂解胰岛素样生长因子 4。最近 Bayes-Genis 等^[5]发现在 ACS 患者外周血和粥样斑块内 PAPP-A 含量明显增加,且在最易破裂的斑块“肩部”PAPP-A 表达最丰富,提示 PAPP-A 可能参与粥样斑块的破裂过程,但具体的机制尚不清楚。周胜华等^[13]研究证实 ACS 患者血浆 PAPP-A 水平显著增高。本研究也发现冠心病 ㊟型病变组血浆 PAPP-A 较 iv型病变组、㊿型病变组和对照组明显增高,提示 PAPP-A 增高与斑块破裂的发生可能相关。近年研究提示 CD40L 可通过上调粥样斑块的金属蛋白酶表达而影响斑块的稳定性,而最近的体外研究也发现粥样斑块中 CD40L 及金属蛋白酶同时表达^[14]。本研究观察了冠心病患者 CD40L 和 PAPP-A 的变化,直线相关分析发现 CD40L 水平与 PAPP-A 呈显著正相关,提示在 ㊟型病变组,斑块的破裂可能与 CD40L 水平升高从而刺激 PAPP-A 的表达有关,然而 PAPP-A 具体的

作用机制尚未完全清楚。

研究显示,氧化应激及其介导的脂质过氧化反应在冠心病的发生发展中可能扮演重要角色^[15]。LDL 代谢异常是动脉粥样硬化众多病因和机制中的一种。脂质过氧化过程中氧自由基与脂肪酸发生链式反应,所产生的较稳定终产物为 MDA-LDL,因此血浆 MDA-LDL 是反应氧化应激的可靠指标。ACS 患者血浆 MDA-LDL 水平增高,提示其可能反应斑块不稳定^[16]。本研究发现冠心病 ③型病变组血浆 MDA-LDL 较 iv 型病变组、④型病变组和对照组明显增高,提示 MDA-LDL 的增高可能和 ACS 斑块不稳定、斑块破裂的发生密切相关。

近年研究表明,细胞内氧化应激信号选择性诱导炎症相关基因表达可能是它们引发动脉粥样硬化斑块形成和发展共同的分子机制。一系列基础试验表明,氧化应激引起的细胞氧化还原状态的改变可激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号系统和核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、激活蛋白 1(activating protein 1, AP-1)、过氧化物增殖物激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR)的活性,从而引起一系列炎症基因表达^[17,18]。本研究发现 ③型病变组血浆 MDA-LDL 水平增高与 LDL、HDL 无相关性,说明氧化应激的增强与血脂水平无关,而 ③型病变组血浆 MDA-LDL 和 PAPP-A 均显著增高,二者存在正相关关系,提示氧化应激可能通过诱导、加剧炎症反应,或与 PAPP-A 等炎症因子交互作用而导致斑块破裂。但本研究未从分子水平进一步揭示氧化应激与炎症之间的关系,这尚待以后进一步研究证实。在今后研究预防和治疗冠心病尤其是 ACS 的新措施时,除了开发炎症因子抑制剂,调节炎症因子水平外,抗氧化治疗也应该占有重要的地位。

[参考文献]

- [1] Shah PK. New insights into the pathogenesis and prevention of acute coronary syndromes [J]. *Am J Cardiol*, 1997, **79** (2): 17-23.

- [2] Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, **340** (8): 115-126.
- [3] Laman JD, Desmet BJ, Schoneveld A, Arjen R. CD40-CD40L interactions in arteriosclerosis [J]. *Immunol Today*, 1997, **18** (9): 272-277.
- [4] Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, Sukhova, Murphy C, Bonnefoy JY. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes [J]. *Circ Res*, 1997, **81** (11): 448-454.
- [5] Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, Michael T, Overgaard, Kent R. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes [J]. *N Engl J Med*, 2001, **345** (12): 1 022-029.
- [6] Holvoet P, Vanhaecke J, Janssen St, Van de Werf F, Collen D. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease [J]. *Circulation*, 1998, **9** (4): 1 487-494.
- [7] 刘海波, 陈在嘉, 高润霖, 姚康宝, 陈纪林, 杨跃进. 冠状动脉造影斑块形态与冠状循环中血浆及血清血栓素 B2 及 6-酮-前列腺素 1a 的关系 [J]. *中华心血管病杂志*, 1996, **24** (3): 115-118.
- [8] Levin DC, Fallon JT. Significance of the angiographic morphology of localized coronary stenosis: histopathologic correlation [J]. *Circulation*, 1982, **66** (7): 316-341.
- [9] Monroe S, Parilak L, Kerensky R. Angiographic patterns and the natural history of the vulnerable plaque [J]. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 2002, **34** (7): 341-342.
- [10] Mach F, Schonbeck IL, Bonnefoy JY, Jordan S, Pober, Peter L. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40 [J]. *Circulation*, 1997, **96** (6): 2 396-399.
- [11] Henn V, Shupsky JS, Grafe M, Vanhaecke J. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction on endothelial cells [J]. *Nature*, 1998, **351** (11): 591-594.
- [12] 严金川, 吴宗贵, 张玲珍, 李莉, 仲人前, 孔宪涛. CD40 配体高表达与不稳定型心绞痛之间的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (5): 409-412.
- [13] 周胜华, 李旭平, 李江, 刘启明, 张志辉, 周宏年. 急性冠状动脉综合征患者血浆 CD40L 变化及其与妊娠相关蛋白酶-A 的关系 [J]. *中华心血管病杂志*, 2004, **32** (5): 458.
- [14] Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, Sukhova, Atkinson E, Levesque E. Expression of stromelysin-3 in atherosclerotic lesions: regulation via CD40-CD40L ligand signaling in vitro and in vivo [J]. *J Exp Med*, 1999, **189** (7): 843-853.
- [15] Alexander RW. Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress the mediation of arterial inflammatory response: a new perspective [J]. *Hypertension*, 1999, **25** (5): 155-161.
- [16] Araki T, Kanaya H, Shimizu M. Changes in serum malondialdehyde-modified low density lipoprotein in patients with acute myocardial infarction and stable angina pectoris treated by coronary angioplasty [J]. *J Cardiol*, 2002, **38** (2): 55-60.
- [17] Li D, Saldeen T, Romeo F, Jawahar L. Oxidized LDL upregulates angiotensin ③type iv receptor expression in cultured human coronary artery endothelial cells: the potential role of transcription factor NF- κ B [J]. *Circulation*, 2002, **102** (16): 970-976.
- [18] Law RE, Goetze S, Xi XP, Jackson S, Kawano Y, Demer L. Expression and function of PPAR- γ in rat and human vascular smooth muscle cells [J]. *Circulation*, 2003, **101** (11): 311-318.

(此文编辑 许雪梅)