

## 修饰低密度脂蛋白自身抗体测定的临床意义

吴文娟 庄庆祺 梅美珍 吴满平

(上海医科大学药学院生物化学教研室, 上海 200032)

### Clinical Significance of Measuring of Serum Autoantibody against Modified Low Density Lipoprotein

WU Wen-Juan, ZHANG Qing-Qi, MEI Mei-Zhen and WU Man-Ping

(Department of Biochemistry, School of Pharmacy, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China)

**ABSTRACT** The serum autoantibody against malondialdehyde modified low density lipoprotein (MDA-LDL) was investigated in the healthy and hyperlipidemic patients of different age groups. Our results showed: ① The autoantibody concentration of MDA-LDL in the healthy increased with aging, and showed the remarkable increase in male over 45 years and female over 65 years. The autoantibody concentration of male was markedly higher than that of female in the group 45 years ~ 64 years. No difference between male and female was found in other age groups. ② The autoantibody concentration of MDA-LDL in the hypertriglyceremic and mixedly hyperlipidemic group was higher than that of the healthy group in all age groups. The autoantibody concentration of the hypercholesterolemia was much higher than that of the healthy in groups before 45 years. But in the groups over 45 years, no significant difference was seen between the hypercholesterolemic and the healthy. It was suggested that the serum concentration of autoantibody against MDA-LDL was affected by age and sex, and related to the level of the serum lipids.

**KEY WORDS** Autoantibody, low density lipoprotein; Aging; Hyperlipidemia; Coronary heart disease

**摘要** 本文对不同年龄组的健康人和高脂血症患者血清中丙二醛修饰低密度脂蛋白的自身抗体进行了测定和分析。结果发现: ① 健康人同性别中, 随着年龄的增加, 丙二醛修饰的低密度脂蛋白的自身抗体水平呈增长趋势, 其中男性 45 岁后, 女性 65 岁后显著增加; 同年龄组中, 45~64 岁年龄组男性明显高于女性, 其他年龄组男、女之间无显著差异; ② 高脂血症患者中, 高甘油三酯血症组和混和型高脂血症组所测年龄组的丙二醛修饰的低密度脂蛋白自身抗体水平都高于健康人, 而高胆固醇血症组, 35~44 岁年龄组丙二醛修饰的低密度脂蛋白自身抗体量高于健康人, 其他组与健康人相比无明显区别。以上结果提示血清中丙二醛修饰的低密度脂蛋白的自身抗体水平受性别、年龄的影响, 并与血脂水平之间存在一定的关系。

**关键词** 自身抗体, 低密度脂蛋白; 老化; 高脂血症; 冠状动脉疾病

随着对修饰低密度脂蛋白致动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)作用的深入研究, 在许多实验中都发现了修饰低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)的自身抗体, 如在实验诱导的 As 动物和 As 人中出现丙二醛修饰的低密度脂蛋白自身抗体, 在慢性动脉粥样硬化和冠心病病人血清中测出的氧化型 LDL 和紫褐质的自身抗体等。修饰 LDL 自身抗体的存在可促进泡沫细胞的形成是致 As 作用的又一个机理<sup>[1,2]</sup>。本文测定了不同年龄组的 167 例健康人和 213 例高脂血症病人血清中的丙二醛修饰的 LDL 自身抗体, 以其了解测定血清丙二醛修饰的 LDL 自身抗体的临床意义。

### 1 材料和方法

#### 1.1 观察对象

健康组共 167 例, 均为体检合格者, 血清总胆固醇

(total cholesterol, TC)  $\leq 2.2$  g/L, 血清甘油三酯(triglyceride, TG)  $\leq 2$  g/L。高胆固醇血症组 50 例, TC  $> 2$  g/L ( $\bar{x} \pm s$ :  $2.82 \pm 0.43$  g/L), TG 在正常范围; 高甘油三酯血症组 92 例, TG  $> 2$  g/L ( $3.25 \pm 0.82$  g/L), TC 在正常范围; 混合型高脂血症组 71 例, TC  $> 2.2$  g/L ( $2.5 \pm 0.23$  g/L), TG  $> 2$  g/L ( $2.84 \pm 0.55$  g/L)。

### 1.2 低密度脂蛋白的纯化

参照张林华等<sup>[1]</sup>一次性密度梯度超速离心分离人血清脂蛋白的方法纯化 LDL。所得 LDL ( $d = 1.02 \sim 1.063$  g/ml) 经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)和琼脂糖凝胶电泳均呈一条带。用 Lowry 氏法测定蛋白质含量。

### 1.3 低密度脂蛋白的丙二醛修饰及修饰程度鉴定

参考文献<sup>[4]</sup>, 用酸水解四乙氧基丙烷产生丙二醛, 将 LDL 置于丙二醛溶液中于 37°C 保温 3.5 h。以琼脂糖凝胶电泳鉴定丙二醛修饰程度<sup>[5]</sup>, 同时进行硫代巴比妥酸反应物质值的分析<sup>[6]</sup>。

### 1.4 丙二醛修饰的低密度脂蛋白自身抗体的酶联免疫吸附法测定

参考文献<sup>[7]</sup>的方法, 以 LDL 和丙二醛修饰的 LDL 包被, 一抗为待测血清, 二抗为羊抗人 HRP-IgG。以基质液加  $H_2SO_4$  调零, 读取 490 nm 处的光密度值。血清中丙二醛修饰的 LDL 的自身抗体量以结合丙二醛修饰的 LDL 与结合 LDL 的抗体的光密度值差值表示, 简称为丙二醛修饰的 LDL-LDL。

### 1.5 统计方法

数据差异的显著性意义采用  $t$  检验。

## 2 结果

### 2.1 低密度脂蛋白的丙二醛修饰程度鉴定

纯化的 LDL 经丙二醛修饰后, 其琼脂糖凝胶电泳迁移率大于未经修饰的 LDL (Figure)。丙二醛修饰的 LDL 的硫代巴比妥酸反应物质值分析, 参照四乙氧基丙烷标准曲线, 达到 96.88 mol/g, 而未修饰的 LDL 只有 1.79 mol/g。

### 2.2 血清中丙二醛修饰的低密度脂蛋白自身抗体的测定

以丙二醛修饰的低密度脂蛋白 LDL 为抗原, 利用酶联免疫吸附法测定了不同年龄健康人、高脂血症病人血清中丙二醛修饰的 LDL 的自身抗体。不同年龄组男、女健康人血清中

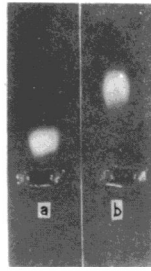


Figure 1. Agarose gel electrophoresis. a. Normal LDL. b. MDA-LDL. 0.5% agarose, 18 mA, 45 min, stained with oil red O.

丙二醛修饰的低密度脂蛋白的抗体水平比较见表 1。其中同性别中, 高龄组与 19~34 岁低龄组相比, 发现丙二醛修饰的低密度脂蛋白抗体量有随年龄增长趋势, 尤其男性 45 岁后, 女性 65 岁后增加非常显著; 在同年龄组中, 男性与女性相比, 45~64 岁年龄组中丙二醛修饰的 LDL 抗体量男性明显高于女性, 其他年龄组男、女间无显著差异。

不同年龄组健康人与高脂血症病人血清中丙二醛修饰的低密度脂蛋白抗体量测定结果比较见表 2。结果发现: 高甘油三酯血症组和混合型高脂血症组任何年龄组的丙二醛修饰的 LDL 低密度脂蛋白抗体水平都高于健康人; 而高胆固醇血症组, 只有 35~44 岁年龄组中的丙二醛修饰的低密度脂蛋白抗体量与健康组相比有区别, 其他年龄组中看不出差别。

Table 1. Serum anti-MDA-LDL level (MDA-LDL-LDL) in different age and sex of the healthy person.

Age	Male		Female	
	n	anti-MDA-LDL	n	anti-MDA-LDL
19~	44	0.25 $\pm$ 0.07	15	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
35~	26	0.36 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	23	0.34 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>
45~	18	0.41 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	17	0.35 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
65~	13	0.42 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	11	0.40 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>

Compared with male, a:  $P > 0.05$ ; b:  $P < 0.01$ . Compared with age 19~34 group in the same sex, c:  $P > 0.05$ ; d:  $P < 0.001$ .

Table 2. Serum anti-MDA-LDL level (MDA-LDL-LDL) in different age of the healthy and the hyperlipidemic person.

Age	Healthy		High TG		High TC		High TG+TC	
	n	anti-MDA-LDL	n	anti-MDA-LDL	n	anti-MDA-LDL	n	anti-MDA-LDL
35~	49	0.35±0.05	14	0.38±0.03 <sup>a</sup>	12	0.40±0.04 <sup>b</sup>	13	0.41±0.05 <sup>c</sup>
45~	35	0.39±0.06	61	0.42±0.06 <sup>a</sup>	28	0.42±0.05	49	0.44±0.06 <sup>c</sup>
65~	19	0.41±0.04	17	0.48±0.05 <sup>c</sup>	10	0.41±0.03	9	0.46±0.05 <sup>b</sup>

Compared with the healthy, a:  $P < 0.05$ ; b:  $P < 0.01$ ; c:  $P < 0.001$ .

### 3 讨论

实验发现:老年组 65~75 岁中的丙二醛修饰的 LDL 抗体量高于青年组 19~34,这与文献[8]报道的老年人 LDL 的丙二醛含量高于青年人的结果相符合,丙二醛是脂质过氧化的终产物,丙二醛修饰的 LDL 自身抗体的存在文明了体内发生脂质过氧化和 LDL 的氧化修饰。高龄组与低龄组相比,丙二醛修饰的 LDL 抗体量出现明显差异的男性要比女性提早一个年龄段,男 45 岁后、女性 65 岁后;在 45~64 岁年龄组中,男性抗体量明显大于女性,但 65~75 岁年龄组男、女之间又无区别。以上情况不仅表明血清中丙二醛修饰的 LDL 自身抗体水平受性别、年龄的影响较大,也表现出它与冠心病的发生率具有有趣的相似之处。冠心病是老年常见疾病,年龄老化是它的高危因素之一,男性的高发病率要比女性早十年,而女性绝经后发病率迅速上升,与男性一样成为老年死亡的主要原因。曾有文献报道与我们的一些实验结果都表明冠心病患者血清中的丙二醛修饰的 LDL 抗体量要比正常人高得多。这种存在于年龄老化、性别、冠心病和丙二醛修饰的 LDL 自身抗体之间的微妙关系提示到丙二醛修饰的 LDL 的自身抗体水平可能与年龄老化、高胆固醇等一样可作为冠心病的高危因素和临床诊断的生物化学指标。

脂质过氧化产生的丙二醛量与甘油三酯水平呈正相关,从实验结果看出,高甘油三酯血症组和混合型高脂血症组的丙二醛修饰的 LDL 抗体量都高于健康组,说明血清中的甘油三酯水平影响丙二醛修饰的 LDL 抗体的产生。据文献报道很多冠心病病人甘油三酯水平大于正常

人<sup>[9]</sup>,这可能是冠心病病人丙二醛修饰的 LDL 抗体量高的一个原因。

由于年龄在 45~64 岁组中的男、女健康人丙二醛修饰的 LDL 抗体量存在显著差异,对于此年龄组的高脂血症与健康人对比分析时,我们也做了男、女分组比较(结果未显示),发现女性高脂血症丙二醛修饰的 LDL 抗体量的增高幅度要比男性大,但男、女高脂血症间丙二醛修饰的 LDL 抗体值并无统计学差异,这意味着对血清中丙二醛修饰的 LDL 抗体量的测定在临床上辅助诊断高脂血症时女性可能比男性更敏感。

### 参考文献

- Orekhov AN, Tertton VV, Kabakov AE, et al. Autoantibodies against modified low density lipoprotein, nonlipid factor of blood plasma that stimulates foam cell formation. *Arterioscler Thromb*, 1991, **11**(2): 316~326.
- Parums V, Brown DL, Mitchinson MJ. Serum antibody to oxidized low density lipoprotein and ceroid in chronic periaortitis. *Arch Pathol Lab Med*, 1990, **114**: 383~388.
- 张林华, 刘秉文. 一次性密度梯度超速离心分离人血清脂蛋白. *生物化学与生物物理学报*, 1989, **21**: 257~260.
- Palinski W, Rosenfeld ME, Herttuala SY, et al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**: 1 372~376.
- 张龙翔. 生化实验方法和技术. 北京: 人们教育出版社, 1981: 90.
- Lamb DJ, Leake DS. The effect of EDTA on the oxidation of low density lipoprotein. *Atherosclerosis*, 1992, **94**: 35~42.
- Craig WY, Poulin SE, Nelson CP, et al. Elisa of IgG antibody to oxidized low density lipoprotein. *Clin Chem*, 1994, **40**: 882~888.
- 陈松鹤, 应赛亚, 张蔚卿, 等. 老年人过氧化修饰的低密

度脂蛋白与血小板的结合. 上海医科大学学报, 1992, 19  
(3): 222~223.

脂蛋白测定的临床意义. 中国动脉硬化杂志, 1993, 1  
(1): 64~66.

9 全智华, 丁翠芬, 腾 华, 等. 冠心病患者血脂、脂蛋白及载

(1996-08-03 收到, 1996-11-20 修回)