

• 论著 •

冠心病患者血清氧化型低密度脂蛋白 自身抗体与血脂相关

毛峥嵘 楼定安 单沁茵 张骅 魏克荣

(浙江医科大学病理学教研室, 杭州 310006)

Serum Autoantibody against Oxidized Low Density Lipoprotein Correlated with Serum Lipids in Patients with Coronary Heart Disease

MAO Zheng-Rong, LOU Ding-An, SHAN Zhi-Ying, ZHANG Hua and WEI Ke-Rong

(Department of Pathology, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT

Aim This study evaluated the relation between autoantibody against oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) and serum lipids in patients with coronary heart disease(CHD).

Methods The titre of autoantibodies against ox-LDL and lipid levels in samples of 92 CHD and 105 healthy controls were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay technique.

Results The experiment showed that patients with CHD had significant higher levels of autoantibodies than control subjects in regard to anti-ox-LDL IgG (0.45 ± 0.13 versus 0.35 ± 0.09 , $P < 0.01$), and the positive rate of autoantibodies was predominant in the subjects with hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia, higher LDL cholesterol, and elderly people (≥ 45), the differences were significant. The titre of autoantibodies against ox-LDL was correlated with total cholesterol (TC) and triglycerides (TG), Their correlation coefficients were 0.360 and 0.408, these were

also significantly different.

Conclusions The presence and increase in autoantibodies titers in patients with CHD could be considered a reliable sign of an increased LDL oxidation in vivo, and the titre of autoantibodies could be influenced by the degree of hypercholesterolemia or other factors which influence lipid peroxidation.

KEY WORDS Coronary heart disease; Lipoprotein, low density; Autoantibody

摘要 为探索血清中氧化型低密度脂蛋白(氧化型LDL)自身抗体与冠心病及血脂的关系,采用酶联免疫吸附试验,检测105名健康体检者和92例冠心病患者血清中氧化型LDL自身抗体的含量,并与不同血脂水平作相关性检验。结果发现,冠心病组血清氧化型LDL自身抗体的含量高于正常对照组($P < 0.01$),且高脂血症患者氧化型LDL自身抗体阳性率高于正常者;45岁以上者阳性率高于45岁以下者,自身抗体滴度与甘油三酯和总胆固醇水平呈正相关。自身抗体的检测反映了氧化型LDL在体内的氧化情况,其含量可能受胆固醇含量等影响脂质氧化因素的影响。

关键词 冠心病; 脂蛋白,低密度; 自身抗体

氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, 氧化型LDL)在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)发生发展中起重要作用,它在活体内的存在已经得到证实^[1,2]。近年来在As患者血清中检测到氧化型LDL自身抗体,并认为其在As疾病发生中起一定作用^[3~5],但也有差异无显著性的报道^[6]。为了更进一步研究在我国人群中氧化型LDL自身抗体与冠心病患者血脂的关系,本文采用酶联免疫反应对冠心病患者血清中氧化型LDL自身抗体的含

量进行检测。

1 对象和方法

1.1 对象及分组

根据 WHO 冠心病诊断标准,收集浙江医科大学附属第二医院及杭州市第三人民医院确诊的冠心病患者 92 例,其中男性 47 例,女性 45 例,平均年龄 64.4 岁;对照组为 105 例健康体检者(临床除外心脑血管及动脉粥样硬化疾病患者)。取隔夜空腹血清作血脂测定,其余血清冻存用以测定氧化型 LDL 自身抗体的含量。

1.2 低密度脂蛋白的分离及氧化

健康新鲜人体血浆(加 0.01% EDTA 抗氧化),以 KBr 调整密度后,用超速离心法分离出 LDL,以聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定其纯度。透析后的 LDL 以 Folin-Lowry's 法测定其蛋白质含量(1.74 g/L),再用 5 μ mol/L CuSO₄ 透析 24 h 后,以硫代巴比妥酸反应法(TBARS)测得过氧化脂质(LPO)的浓度为 87 mg/L。

1.3 氧化型低密度脂蛋白自身抗体含量检测

以 20 mg/L Cu²⁺-氧化型 LDL 100 μ L 包被于 96 孔板后,4℃过夜,以 0.05% Tween-PBS 清洗 3 遍;加血清(1:10) 100 μ L,37℃孵育 2 h 后 4℃过夜,同上法清洗 3 遍;加鼠抗人免疫球蛋白(1:1000 Sigma) 100 μ L 37℃ 1 h,清洗 3 遍;再加辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠免疫球蛋白(1:1000 Sigma) 100 μ L 37℃ 1 h,清洗 3 遍;加底物邻苯二胺(OPD)37℃ 30 min;最后以 2 mol/L H₂SO₄ 中止反应。用酶联检测仪(DG3022)在波长 490 nm 下读取每孔溶液光密度值。以 PBS 包被或不加血清为对照,以及血清经 Cu²⁺-氧化型 LDL 预先吸收后作对照。

1.4 血脂测定

血清总胆固醇(total cholesterol, TC)和甘油三酯(triglyceride, TG)含量用酶法测定,高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)用磷钨酸—镁沉淀,酶显色法,低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)则由 Friedewald 公式推算。

1.5 统计方法

采用 SPSS 3.0 软件包对冠心病及对照组血清氧化型 LDL 自身抗体、TC、TG、LDLC 和 HDLC 进行 *t* 检验,氧化型 LDL 自身抗体以超过正常对照组 OD 值 $\bar{x} \pm 2s$ 为阳性结果^[7],对不同年龄、TG、LDLC 及 TC 水平自身抗体的阳性率进行卡方检验,并对氧化型 LDL 自身抗体与不同 TC、TG 行相关性检验。

2 结果

2.1 血脂含量检测结果

从表 1(Table 1)可见,冠心病组血清 TC、TG 和 LDLC 含量均高于对照组,且差异非常显著($P < 0.01, P < 0.001$)。

Table 1. Serum lipoprotein levels in patients and control subjects ($\bar{x} \pm s$, mol/L).

Groups	n	TC	LDLC	HDLC	TG
Control	105	4.49 \pm 1.1	2.14 \pm 0.9	2.08 \pm 1.0	1.29 \pm 0.7
CHD	92	5.08 \pm 1.4 ^b	2.63 \pm 1.1 ^b	2.09 \pm 0.9	1.78 \pm 1.4 ^a

a : $P < 0.01$, b : $P < 0.001$, compared with control group.

2.2 氧化型低密度脂蛋白自身抗体测定结果

从表 2(Table 2)可见,冠心病患者血清氧化型 LDL 自身抗体含量(OD 值)高于对照组,且差异有显著性($P < 0.01$)。

Table 2. Serum autoantibodies levels in patients and control subjects.

Groups	n	Autoantibodies(OD)
Control	105	0.35 \pm 0.09
CHD	92	0.45 \pm 0.13 ^a

a : $P < 0.01$, compared with control group.

2.3 高脂血症与自身抗体阳性率的关系

从表 3(Table 3)可见,高 TG、高 TC 及高 HDLC 患者自身抗体阳性率均高于正常者($P < 0.01, P < 0.05$),45 岁以上者阳性率高于 45 岁以下者,差异有显著性。

Table 3. The positive rate of autoantibodies in subjects with different levels of lipids and ages($\bar{x} \pm s$).

Index	Total cases	Positive	
		n	rate
Hypertriglyceridemia	29	11 ^a	38%
Hypercholesterolemia	45	12 ^a	27%
High LDL cholesterol	22	7 ^b	32%

a : $P < 0.01$, b : $P < 0.05$, compared with the normal TG (TC,LDLC).

2.4 自身抗体与甘油三酯、总胆固醇的相关性

氧化型低密度脂蛋白自身抗体滴度与甘油三酯、总胆固醇的相关系数分别为 0.408 和 0.360, 有显著意义。

3 讨论

动脉粥样硬化是一种由多因素综合引起的疾病, 近来其免疫机制渐受重视。其中氧化型 LDL 由于结构和抗原性的改变, 刺激机体免疫系统产生自身抗体^[7,8]。氧化型 LDL 自身抗体与氧化型 LDL 形成免疫复合物后, 使巨噬细胞可通过清道夫受体、Fc 受体及非特异吞噬等多种途径摄取氧化型 LDL, 从而加强了巨噬细胞对氧化型 LDL 的吞噬作用, 更易使脂质在细胞内积聚和泡沫细胞形成。另一方面, 免疫复合物沉积在血管壁, 激活补体, 进一步损伤血管, 从而在 As 的发生发展中起一定作用^[7]。

我们研究发现冠心病患者血清氧化型 LDL 自身抗体含量高于健康者, 其差异有高度显著性, 这与 Bergmark 等^[4]研究周围血管病变和 Saloen 等^[5]研究颈动脉粥样硬化患者血清中氧化型 LDL 自身抗体得出的结论是一致的。我们还发现氧化型 LDL 自身抗体滴度与 TG 及 TC 浓度相关。高 TG、高 TC 及高 LDLC 患者自身抗体阳性率高于正常水平组, 实验已经证实高脂血症体外能促进 LDL 的氧化^[9,10]。体内也存在这一作用, 由于脂质代谢紊乱, 内源性抗氧化剂的减少, 使氧化型 LDL 浓度增加。抗原性加强, 从而使自身抗体滴度增加。另外, 氧化型 LDL 自身抗体在 45 岁以上者阳性率高于 45 岁以下者, 这可能随年龄增大, 机体内环境消除氧自由基能力下降, LDL 易被氧化修饰, 从而使血清自身抗体检出率增加。

总之, 自身抗体的检测一方面间接反映了机体内氧化型 LDL 的水平, 另一方面也反映了机体免疫系统对氧化型 LDL 的应答。另外, 自身抗体的滴度可能受胆固醇浓度或其它影响脂质氧化因素的影响, 它可能通过与氧化型 LDL 形成免疫复合物, 从而在 As 发生发展中起到一

定作用。

致谢 本文得到浙江医科大学附属第二医院心血管病研究室秦光明及杭州市第三人民医院蒋农的大力帮助。

参考文献

- 1 Jurgens G, Chen Q, Esterbauer H, et al. Immunostaining of human autopsy aortas with antibodies to modified apolipoprotein B and apolipoprotein (a). *Arterioscler Thromb*, 1993, **13** : 1 689~699.
- 2 毛峥嵘, 楼定安. 氧化修饰的低密度脂蛋白在动脉粥样硬化病变发展中的定位与定量研究. *中华病理学杂志*, 1996, **25** : 224~227.
- 3 Maggi E, Chiesa R, Melissano G, et al. LDL oxidation in patients with severe carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb*, 1994, **14** : 1 892~899.
- 4 Bergmark C, Wu R, de Faire U, et al. Patients with early-onset peripheral vascular disease have increased levels of autoantibodies against oxidized LDL. *Arterioscler Thromb*, 1995, **15** : 441~445.
- 5 Salonen JT, Yla-Herttuala S, Yamamoto R, et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet*, 1992, **339** : 883~887.
- 6 Virella G, Virella I, Laman RB, et al. Anti-oxidized low-density lipoprotein in patient with coronary heart disease and normal healthy volunteers. *Int J Clin Lab Res*, 1993, **23** : 95.
- 7 Hansson GK. Immune and inflammatory mechanisms in the development of atherosclerosis. *Br Heart J*, 1993, **69**(Supp 1) : S38~41.
- 8 Palinski W, Tangirala RK, Miller E, et al. Increased autoantibody titers against epitopes of oxidized LDL in LDL receptor-deficient mice with increased atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**(10) : 1 569~576.
- 9 Alexandra Lavy GJ, Brook GD, Ami BA, et al. Enhanced in vitro oxidation of plasma lipoproteins derived from hypercholesterolemic patients. *Metabolism*, 1991, **40** (8) : 794~799.
- 10 Domagala B, Hartwich J, Szczeklik A. Incidence of lipid peroxidation in patients with hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia. *Win Klin Wochenschr*, 1989, **101** : 425~428.

(1998-01-03 收到, 1998-04-30 修回)