

肺炎衣原体与动脉粥样硬化

金俊飞^① 综述

杨永宗 审阅

(衡阳医学院心血管病研究所, 衡阳 421001)

摘要 近年来发现肺炎衣原体与心血管疾病有关, 尤其是与动脉粥样硬化密切相关。人群中肺炎衣原体感染很普遍, 其抗体检出率为 40%~60%; 在成年人中, 男性肺炎衣原体抗体的阳性率高于女性, 这与男性易患动脉粥样硬化的结论相一致。动脉粥样硬化患者肺炎衣原体抗体的阳性率明显高于对应的正常人群, 在动脉粥样硬化病变中尤其是斑块中可以找到肺炎衣原体原体。经鼻接种肺炎衣原体的新西兰白兔喂正常饲料可以形成动脉粥样硬化病变。本文从诸多方面综合近五年的研究成果, 讨论二者相关的证据并在此基础上推测肺炎衣原体致动脉粥样硬化可能的机制。

关键词 动脉粥样硬化; 肺炎衣原体

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)所致的心脑血管疾病是严重危害人民生命健康的疾病之一, 其发病率和死亡率均居各种疾病前列。As 病因未明, 其公认的危险因子有高血脂、高血压、吸烟及糖尿病。近年来, “感染学说”受到大家的关注, 认为 As 是一种特殊的慢性炎症^[1], As 的发生和发展与人体内某些微生物反复持久的感染有关, 这些微生物包括肺炎衣原体(chlamydia pneumoniae, Cpn)和巨细胞病毒等, 尤其是 Cpn 的慢性感染与动脉粥样硬化的关系引起了研究者们广泛的兴趣。

1 肺炎衣原体的特性及血清流行病学研究

肺炎衣原体有多种亚型, 其代表株是 TW-183 和 AR-39。第一个分离株是 TW-183, 于 1965 年自我国台湾的一个儿童眼部分离出^[2], AR-39 于 1983 年从美国一患咽炎的大学生咽部分离得到, 所以肺炎衣原体又称为 TWAR。Grayston 等^[3]在 1989 年根据 TWAR 株原体的超微结构, DNA 分析和血清学反应的研究结果将其定为衣原体属的一个新种, 命名为肺炎衣原体。目前 Cpn 组的成员已有 10 多株, 如 AR-59、AR-458、LR-

65 等^[4]。但是 Cpn 组却只有一个血清型, 98 kDa 蛋白为其特异性抗原。Cpn 可引起呼吸性疾病、心内膜炎、脑膜炎、结节性红斑等。Saikku 等^[5]在 1988 年首次提出 Cpn 感染可能是 As 的一个致病因子, 自那以后血清流行病学研究证明, 肺炎衣原体与动脉粥样硬化密切相关。

Saikku 等^[5]在 1988 年比较 40 例急性心肌梗死和 30 例慢性冠心病病人与 41 例对照者的血清抗肺炎衣原体及其属特异性 LPS 抗体表明, 肺炎衣原体 IgG 和 IgA 抗体阳性率分别为 68%、50%和 17%, 其差异具有显著性。后来, 芬兰和美国学者也有类似的报道。最近, Mendall 等^[6]首次在英国发现冠心病患者 Cpn 抗体不仅检测率高而且滴度也高。人群中肺炎衣原体感染很普遍, 在北半球 40%~55%的人群中可检测出 Cpn 抗体, 在不发达国家甚至超过 60%^[7]。在成年人中, 男性 Cpn 抗体的阳性率高于女性, 这与男性易患 As 的结论相一致。

近两年内, 在肺炎衣原体与 As 引起的多种疾病之间, 学者们作了大量的流行病学研究。Wimmer 等^[8]研究了肺炎衣原体感染与脑血管疾病之间的关系, 他们采用微量免疫荧光(microimmunofluorescence, MIF)试验检测病人血清中 Cpn 特异性抗体, 结果 58 例病人中有 27 例, 52 例对照中有 12 例 IgA 滴度 $\geq 1:16$ 。差异明显; 74.1%的患者和 77%的对照 IgG $\geq 1:32$, 没有明显差别; 通过分离循环免疫复合物中的特异性抗体, 24.1%的病人和 7.7%的对照其滴度 $\geq 1:8$, 具有显著性差异。通过多元回归分析认为 Cpn 慢性感染与中风等脑血管疾病有关。同样, Blasi 等^[9]采用 MIF 方法检测了 51 例腹主动脉瘤患者的 Cpn 抗体, 41 例阳性, 其中 32 例 IgG $<1:512$, IgA $<1:256$, 提示过去感染过 Cpn; 9 例 IgG $\geq 1:512$, 表示近期感染过 Cpn。Grayston 等^[10]认为颈动脉壁明显增厚的患者比颈动脉正常的病人更易检测出 Cpn 特异性抗体。Dahlen 等研究表明冠心病患者 Cpn 抗体 IgG $<1:32$, 与对照组出现率相比, $P<0.05$, 有显著性差异; 并且脂蛋白(a) <120 mg/L 的男性患者 IgG $<1:256$ 的出现率与对照

^① 研究生, 现在南京铁道医学院病理生理学教研室, 南京 210009

组相比,差异更明显。

2 肺炎衣原体与动脉粥样硬化密切相关的实验室证据

肺炎衣原体感染能转为慢性,并导致单核细胞的集中浸润,通过纤维化最终导致组织瘢痕,Cpn 感染很普遍,男性比女性有更高的检出率,这些特点均支持 Cpn 与 As 有关的结论。

Jackson 等^[11]采用 PCR 和免疫细胞化学(immunocytochemistry, ICC)方法检测 38 例尸检病人的心血管组织、非心血管组织和 33 例肉芽肿活检标本。前者在冠状动脉中检测到 Cpn 13 例(34%)、肺中 5 例(13%)、肝中 4 例(10%)、脾中 2 例(5%),冠状动脉阳性检出率远高于其它任一组织($P < 0.05$),有显著性差异,这表明在同一病人心血管组织 Cpn 阳性检测率大大高于非心血管组织。后者 33 例仅 3 例检测阳性。这些结果表明在 As 病变组织比其它组织更易检测到 Cpn。

许多学者作了更为详细的研究。Juvonen 等^[12]采用免疫组织化学处理来自腹主动脉瘤的标本,分别在 12 h 和 8 h 观察到 Cpn 脂多糖抗原和 Cpn 特异性抗原;经 PCR 在 6 例动脉瘤中全部检测到 Cpn 的 DNA;采用透射电镜在 4 例动脉瘤标本中发现 Cpn 原体。而作为对照组的正常人主动脉组织 PCR 全部阴性,没有一例检测到 Cpn 抗原。同样,Blasi 等^[9]检测了 51 例来自腹主动脉瘤的斑块样品,26 例检测到 Cpn 的 DNA,并经血清学证明 23 例过去感染过 Cpn,2 例重新急性感染,1 例阴性。

冠状动脉斑块中也是如此。Ramirez^[13]从一例严重冠状动脉疾病的 As 斑块中培养出 Cpn,并经 PCR、ICC、透射电镜和原位杂交等各种方法都证明斑块中存在 Cpn。并用这些方法研究了 12 例心脏移植患者,其中 8 例至少有一种方法证明 Cpn 阳性。Muhlestein 等^[14]采用直接免疫荧光染色方法观察了 90 例有冠心病症状的病人冠状动脉切出标本和 24 例正常冠状动脉标本,前者 Cpn 明确阳性者 66 例(73%),可疑阳性 5 例(6%),后者只有一例阳性(4%), $P < 0.001$ 。在 3/5 的阳性标本中经透射电镜观察到 Cpn 的存在。Kuo 等^[15]采用 ICC 和 PCR 研究 49 例年轻人(15~34 岁)的尸检标本,这些标本取自冠状动脉左前降支,7 例有粥样斑块,11 例内膜增厚,31 例没有病变。Cpn 阳性者粥样斑块有 6 例(86%),内膜增厚 2 例(18%)。31 例正常动脉组织没有一例阳性。

其他人的研究结果也与上面类似。Ong 等^[16]经 PCR 和 ICC 研究来自 38 例病人(32 例腹主动脉瘤修

补术后病人,6 例肝移植供体)的 43 根血管组织。Cpn 阳性者,在 25 例主动脉中有 11 例(44%),9 例髂动脉中有 5 例(40%),2 例髂静脉中有 1 例。Grayston 等^[10]采用同样的研究方法观察晚期颈动脉 As 患者的颈动脉内膜切出标本。颈动脉内膜新鲜冰冻切片,ICC 检测全阳性,PCR 检测 3/5 阳性;来自三家医院的 56 例病理切片,32 例 ICC 阳性;取自 6 位病人的 13 例正常颈动脉组织,ICC 全阴性。

3 在动物模型上研究肺炎衣原体与动脉粥样硬化的关系

为研究 Cpn 与 As 的关系,建立适当的动物模型具有重要意义。缺载脂蛋白 E 基因小鼠能自发地形成 As, C57BL/6J 小鼠只有在喂高脂饲料的情况下才能形成 As 病变。Moazed^[17]给缺载脂蛋白 E 基因小鼠单次和多次鼻接种 Cpn,25 周后,其中 25%~100%的缺载脂蛋白 E 基因小鼠在肺、主动脉及脾中检测到 Cpn,并且即使在主动脉,也只有在 As 病变处才能检测到 Cpn。正常饲料喂养的 C57BL/6J 小鼠单纯经鼻接种 Cpn,两周后只有 8%的小鼠在主动脉中检测到 Cpn。综合实验结果,他们认为,在 As 粥样瘤中易检出 Cpn, Cpn 有嗜 As 病变的特性。Fong 等^[18]在新西兰白兔身上研究了二者的关系。11 只经鼻接种 Cpn(AR1310, $1.0 \times 10^7 \sim 5.0 \times 10^7$ CFU),5 只接种缓冲液作为对照。前者 10 只出现急性感染的血清学证据,IgG 抗体为 1:8~1:16,7 天反应最弱,28 天反应最强。经组织学研究发现 2 只白兔有 As 早期及中间期病变,其中一只是在 7 天后处死的,主动脉弓出现脂纹,有泡沫细胞的积聚;另一只是在 14 天后处死的,出现 As 中间期病变,有梭形平滑肌细胞的增殖。经 ICC 法在肺有 2 例、肝 3 例、脾 5 例、主动脉 2 例发现 Cpn 原体。从 2 例肺组织、2 例肝组织、2 例脾组织及 1 例主动脉弓组织中培养出 Cpn。而在 5 例对照中,经所有方法检测 Cpn 全为阴性。因此认为 Cpn 感染的新西兰白兔有助于研究 Cpn 与 As 的关系。

4 肺炎衣原体致动脉粥样硬化的机制探讨

从上面这些资料可以看出 As 与 Cpn 有相关性,但 Cpn 感染在 As 的发生发展中到底起什么作用尚不甚明了。C 反应蛋白与冠心病紧密相连,其浓度与血清纤维蛋白原、唾液酸、总胆固醇、甘油三酯及载脂蛋白 B 水平的升高有关,与低密度脂蛋白呈弱正相关,与高密度脂蛋白及载脂蛋白 AI 水平无关。Mendall^[19]等研究表明 Cpn 会引起 C 反应蛋白浓度的升高,由此设想,人

体感染 Cpn 后,产生炎症反应,导致 C 反应蛋白浓度的升高从而影响 As 的进程。

血管壁细胞(内皮细胞、平滑肌细胞)在 As 形成中有着举足轻重的作用。Fryer 等^[20]发现衣原体(包括 Cpn、沙眼衣原体 H 型和 L2/434/BU 型)能够感染培养的人脐静脉内皮细胞,并且组织因子表达增加 4 倍,在感染后 18 h 达高峰,这提示衣原体刺激组织因子的合成。当衣原体感染内皮细胞后,血小板粘附力明显增强。Moazed 等^[21]给新西兰白兔一次性接种 AR-39 后,分别在第 3 天和第 21 天外周血单核细胞检测到 Cpn。Godzik 等^[22]发现内皮细胞、平滑肌细胞及源于人外周血单核细胞的巨噬细胞在体外都能支持 Cpn 的生长。Kaukoranta 等^[23]也得到类似的结果,三种 Cpn 株(Ka-jaani 6、Helsinki 12 和 TW-183)能在体外培养的人脐静脉内皮细胞及内皮细胞株 EA hy 926 中生长,维持达 2 个月之久。

免疫反应在 As 发生发展中也起着重要作用。Perez 等^[24]从 Cpn 分离出一 76 kDa 的蛋白质,含有 Cpn 种特异性抗原决定簇,推测其在 Cpn 致病机理中可能起着重要作用,并且可以将其作为一种有用的诊断工具。Capron 等^[25]研究认为 Cpn 感染可以通过直接损伤血管壁或通过诱导自身免疫反应间接损伤血管壁导致后续事件发生及 As 的形成。

有关 Cpn 致 As 的研究报道较多,但比较零散,尚无法阐明 Cpn 致 As 机理。根据 Cpn 特性及近几年研究成果推测 Cpn 感染引起 As 的机制可能与以下几个方面有关:①肺是 Cpn 最易感染部位,肺泡巨噬细胞将其吞噬,Cpn 在其中生长,并破坏巨噬细胞。入血后 Cpn 原体从受损的巨噬细胞中释放出来,原体具感染性,可重新感染血管内皮细胞、平滑肌细胞及血中单核细胞并在其内增殖,引起血管壁细胞损伤,导致血管壁功能减退。血管壁细胞受损后,可释放氧化物质及衣原体 LPS 等毒性成分,改变血管壁通透性,促进血栓形成。另外,在血管壁细胞中生长的 Cpn 可在表面表达新的抗原,通过免疫应答反应导致血管内膜损伤。②衣原体 LPS,种特异性蛋白成分(如 98 kDa 蛋白等)能与血清中已有的抗体结合,形成免疫复合物,在受损的血管壁局部沉积,通过激活补体等途径进一步损伤血管内膜。此外,衣原体 LPS 可与低密度脂蛋白结合,修饰脂蛋白,成为内皮细胞的免疫原或毒性物质。修饰过的低密度脂蛋白,与抗体结合的低密度脂蛋白在体外能导致泡沫细胞的形成。③肺炎衣原体作为感染因子,可引起机体释放多种炎症介质(如干扰素、白细胞介素-1、白细胞介素-6 和肿瘤坏死因子、C 反应蛋白等)参与炎症反

应,其中白细胞介素-1 可引起胶原酶激活和胶原产生,刺激成纤维细胞和平滑肌细胞增殖。肿瘤坏死因子能抑制脂蛋白酯酶活性,引起血中甘油三酯大量堆积,导致 As 形成。已如前述,C 反应蛋白可引起甘油三酯、低密度脂蛋白的升高,有助于 As 发生发展。

综上所述,无论从血清流行病学、组织形态学还是从免疫组织化学以及分子生物学等方面的研究成果来看,Cpn 与 As 是密切相关的,Cpn 在 As 发生发展中到底扮演什么角色有待更深入的研究。我们相信随着实验方法和技术的提高,尤其是分子生物学的介入,Cpn 致 As 机制将逐步得到阐明,为 As 预防及治疗提供新的线索。

参考文献

- 1 Wissler RW. Update on the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Med*, 1991, **91**(Suppl 113): 113~135.
- 2 Kuo CC. Characterization of TWAR strains, a new group of chlamidia psittaci. Cambridge University Press, 1987; 321~324.
- 3 Grayston JT, Kuo CC, Campbell LA, et al. Chlamydia pneumoniae sp. nov. for chlamydia sp. Strain TWAR. *Int Syst Bacteriol*, 1989, **39**: 88~90.
- 4 Thirkell D, Myles AD, Russell WC, et al. Serotype 8- and serocluster-specific surface-expressed antigens of ureaplasma urealyticum. *Infect Immun*, 1989, **57**(6): 1 697~701.
- 5 Peeling RW, Brunham RC. Chlamydiae as pathogens: new species and new issues. *Emerg Infect Dis*, 1996, **2**(4): 307~319.
- 6 Mendall MA, Carrington D, Strachan D, et al. Chlamydia pneumoniae: risk factors for seropositivity and association with coronary heart disease. *J Infect*, 1995, **30**(2): 121~128.
- 7 Cook PJ, Honeybourne D. Clinical aspects of chlamydia pneumoniae infection. *Pres Med*, 1995, **24**(5): 278~282.
- 8 Wimmer ML, Sandmann S R, Saikku P, et al. Association of chlamydiae infection with cerebrovascular disease. *Stroke*, 1996, **27**(12): 2 207~210.
- 9 Blasi F, Denti F, Erba M, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae but not Helicobacter pylori in atherosclerotic plaques of aortic aneurysms. *J Clin Microbiol*, 1996, **34**(11): 2 766~769.
- 10 Grayston JT, Kuo CC, Coulson AS, et al. Chlamydia pneumoniae (TWAR) in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation*, 1995, **92**(12): 3 397~400.

- 11 Jackson LA, Campbell LA, Schmidt RA, et al. Specificity of detection of chlamydia pneumoniae in cardiovascular atheroma; evaluation of the innocent bystander hypothesis. *Am J Pathol*, 1997, **150**(5): 1 785~790.
- 12 Huvonen J, Juvonen T, Laurila A, et al. Demonstration of chlamydia pneumoniae in the walls of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 1997, **25**(3): 499~505.
- 13 Ramirez JA. Isolation of chlamydia pneumoniae from the coronary artery of a patient with coronary atherosclerosis. The chlamydia pneumoniae/atherosclerosis study group. *Ann Intern Med*, 1996, **125**(12): 979~982.
- 14 Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, et al. Increased incidence of chlamydia species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*, 1996, **27**(7): 1 555~561.
- 15 Kuo CC, Grayston JT, Campbell LA, et al. Chlamydia pneumoniae (TWAR) in coronary arteries of young adults (15~34 years old). *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**(15): 6 911~914.
- 16 Ong G, Thomas BJ, Mansfield AO, et al. Detection and widespread distribution of chlamydia pneumoniae in the vascular system and its possible implications. *J Clin Pathol*, 1996, **49**(2): 102~106.
- 17 Moazed TC, Kuo C, Grayston JT, et al. Murine models of chlamydiae infection and atherosclerosis. *J Infect Dis*, 1997, **175**(4): 883~890.
- 18 Fong IW, Chiu B, Viira E, et al. Rabbit model for chlamydia pneumoniae infection. *J Clin Microbiol*, 1997, **35**(1): 48~52.
- 19 Mendall MA, Patel P, Ballam L, et al. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors; a population based cross sectional study. *Br Med J*, 1996, **312**(7 038): 1 061~065.
- 20 Fryer RH, Schwobe EP, Woods ML, et al. Chlamydia species infect human vascular endothelial cells and induce procoagulant activity. *J Invest Med*, 1997, **45**(4): 168~174.
- 21 Moazed TC, Kuo C, Patton DL, et al. Experimental rabbit models of chlamydia pneumoniae infection. *Am J Pathol*, 1996, **148**(2): 667~676.
- 22 Godzik KL, O'Brien ER, Wang SK, et al. In vitro susceptibility of human vascular wall cells to infection with chlamydia pneumoniae. *J Clin Microbiol*, 1995, **33**(9): 2 411~414.
- 23 Kaukoranta-Tolvanen SS, Laitinen K, Sikku P, et al. Chlamydia pneumoniae multiplies in human endothelial cells in vitro. *Microbiol Pathol*, 1994, **16**(4): 313~319.
- 24 Perez MM, Kuo CC, Campbell LA. Isolation and characterization of a gene encoding a chlamydia pneumoniae 76-kilodalton protein containing a species-specific epitope. *Infect Immun*, 1994, **62**(3): 880~886.
- 25 Capron L, Loire R. The past, present and future of arterial infection. *Rev Prat*, 1994, **44**(7): 906~910.

(1997-10-27 收稿, 1998-06-29 修回. 编辑: 朱雯霞)