

可溶性 CD40 配体与急性冠状动脉综合征的关系

彭道泉, 赵水平, 李江, 周宏年

(中南大学湘雅医学院附属第二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[主题词] CD40 配体; 急性冠状动脉综合征; 脂蛋白

[摘要] 观察急性冠状动脉综合征、稳定型冠心病患者可溶性 CD40 配体变化及其与血脂水平的关系, 采用酶联免疫吸附法测定血清可溶性 CD40 配体浓度。结果发现急性冠状动脉综合征患者可溶性 CD40 配体水平 ($3.17 \pm 2.84 \mu\text{g/L}$) 显著高于正常对照者 ($1.19 \pm 1.05 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$) 和稳定型冠心病患者 ($1.61 \pm 1.46 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$)。可溶性 CD40 配体水平受甘油三酯 ($r = 0.23$, $P < 0.05$)、载脂蛋白 B ($r = 0.248$, $P < 0.05$) 及高密度脂蛋白胆固醇等因素的影响 ($r = -0.253$, $P < 0.05$)。以上提示可溶性 CD40 配体水平的升高可能与急性冠状动脉综合征的发生有关, 是动脉粥样硬化斑块不稳定的标志。

[中图分类号] R589.2

[文献标识码] A

The Relation of Soluble Serum CD40 Ligand Level and Acute Coronary Syndrome

PENG Dao-Quan, ZHAO Shu-Ping, LI Jiang, and ZHOU Hong-Nian

(Department of Cardiology, the Second Xiang-Ya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China)

[MeSH] CD40 Ligand; Acute Coronary Syndrome; Lipoproteins

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the sCD40L levels in acute coronary syndrome and stable coronary heart disease and its relationship with serum lipids. **Methods** Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) was used to measure the serum soluble CD40 ligand (sCD40L). **Results** sCD40L level was significantly higher in patients with acute coronary syndrome ($3.17 \pm 2.84 \mu\text{g/L}$) than in control ($1.19 \pm 1.05 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$) and in stable coronary heart disease patients ($1.61 \pm 1.46 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$). Soluble CD40L level was significantly related to TG ($r = 0.23$, $P < 0.05$), apoB ($r = 0.248$, $P < 0.05$), and HDLC ($r = -0.253$, $P < 0.05$). **Conclusions** This study showed that sCD40L level was elevated in ACS, suggesting the possible relation of CD40L to the pathogenesis of ACS and it may save as a potential marker of plaque stability.

近年研究提示动脉粥样硬化是一种慢性炎症疾病^[1], 作为重要的炎症信号通路, CD40-CD40 配体 (CD40 ligand, CD40L) 相互作用参与动脉粥样硬化斑块内主要细胞成分的炎症反应调节^[2]。在 CD40 信号途径中, CD40L 是激活这一途径的主要配体, 它与 CD40 受体结合产生一系列的炎症反应, 包括促进粘附分子^[3]、细胞因子、金属蛋白酶^[4,5]、组织因子等物质的产生^[6]。然而, 有关急性冠状动脉综合征患者血清可溶性 CD40L (soluble CD40L, sCD40L) 水平变化的研究较少, 本文对此进行了研究。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择 1999 年 7 月至 2000 年 3 月在我院住院的冠心病患者和正常体检者共 80 例, 其中男性 54 例, 女性 26 例, 平均年龄 57.7 ± 12.1 岁。分为冠心病

组 50 例和正常对照组 30 例。冠心病组又分为 2 个亚组, 即急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 组和稳定型冠心病组。ACS 组共 27 例, 包括急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 15 例和典型不稳定型心绞痛 (unstable angina pectoris, UAP) 12 例。稳定型冠心病 (stable coronary heart disease, SCHD) 组 23 例, 为陈旧型心肌梗死和典型稳定型心绞痛患者。

各病例均根据 WHO 标准确诊。正常对照组与实验组性别、年龄匹配, 且无心血管疾病史, 心电图、胸片及肝肾功能、生物化学常规检查无异常, 部分冠状动脉造影结果正常。

1.2 标本处理

空腹 12 h 后, 于清晨采取肘静脉血 5~6 mL, 注入离心管, 10 mL 肝素抗凝, 摇匀, 3 500 r/min 离心 3 min, 取上清液 -70℃ 冷冻待测。

1.3 血清可溶性 CD40 配体测定

采用酶联免疫吸附法测定 sCD40L, 试剂盒由 Bender MedSystems 提供, 其检测灵敏度为 $0.095 \mu\text{g/L}$ 。本研究标本测定的批内和批间误差分别为 6.

[收稿日期] 2001-10-11 [修回日期] 2002-03-02

[作者简介] 彭道泉, 男, 36 岁, 博士, 副教授, 心血管内科专业, 研究方向为炎症与动脉粥样硬化。赵水平, 男, 46 岁, 教授, 湘雅二院心血管内科主任, 博士研究生导师, 研究方向为血脂与动脉粥样硬化。

2% 及 9.6%。

1.4 血脂生物化学测定

同时采静脉血测定血常规、肝功能和血脂。采用酶法测定血清总胆固醇(total cholesterol, TC)和甘油三酯(triglyceride, TG);用磷钨沉淀法测定高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC),低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)采用 Friedewald 公式计算,圆周免疫测定法测定载脂蛋白 A 和载脂蛋白 B100。批间、批内变异系数控制在 8% 及 5% 以内。

1.5 统计分析

应用 SPSS 软件包进行统计分析,指标均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用直线相关分析法分析相关指标间相关性,为了控制各因素间的相互影响,采用偏相关分析。3 组间比较采用 Oneway ANOVA 检验,用 Bonferoni 方法进行两两比较。双侧 $P < 0.05$ 为统计学显著性差异。

2 结果

2.1 一般资料

3 组研究对象基本资料见表 1(Table 1)。冠心病组年龄、血压、体质指数、TG 和 TC 等略高于对照组,而 HDLC 低于对照组,但均无统计学差异。稳定型冠心病组和急性冠状动脉综合征组以上指标基本相似,无统计学差异。

表 1. 3 组研究对象的一般临床资料($\bar{x} \pm s$)。

Table 1. Clinical characteristics of three groups.

Index	Normal (n= 30)	CHD	
		SCHD (n= 23)	ACS(n= 27)
Age(years)	51.3 ±15.6	61.0 ±7.1	62.0 ±8.19
Sex(M/F)	20/10	17/6	19/8
BMI(kg/m ²)	22.49 ±2.14	23.66 ±2.14	24.07 ±2.52
TG(mmol/L)	1.21 ±0.35	1.68 ±1.17	1.56 ±0.80
TC(mmol/L)	4.39 ±0.98	4.69 ±0.85	4.53 ±1.10
HDLC(mmol/L)	1.28 ±0.51	1.16 ±0.27	1.15 ±0.30
LDLC(mmol/L)	2.56 ±0.97	2.78 ±0.80	2.66 ±0.89
ApoA1(g/L)	1.31 ±0.26	1.32 ±0.20	1.16 ±0.16
ApoB(g/L)	1.03 ±0.45	1.04 ±0.28	1.36 ±0.43
BUN(mmol/L)	6.89 ±6.34	5.16 ±1.51	6.43 ±2.28
Cr(μmol/L)	109 ±24	106 ±27	121 ±37
UA(μmol/L)	358 ±101	345 ±97	409 ±132

2.2 冠心病患者血浆可溶性 CD40 配体水平的变化

急性冠状动脉综合征患者血浆 sCD40L 水平为 $3.17 \pm 2.84 \mu\text{g/L}$, 显著高于正常对照组 $1.19 \pm 1.05 \mu\text{g/L}$ ($P < 0.05$), 同时也高于稳定型冠心病组 ($1.61 \pm 1.46 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$), 而稳定型冠心病组 sCD40L 略高于正常对照, 差异无显著性 (图 1, Figure 1)。急性心肌梗死 (15 例) 与不稳定型心绞痛患者 (12 例) 之间 sCD40L 水平无差异 ($3.35 \pm 2.92 \mu\text{g/L}$ 比 $2.77 \pm 2.97 \mu\text{g/L}$, $P > 0.05$)。

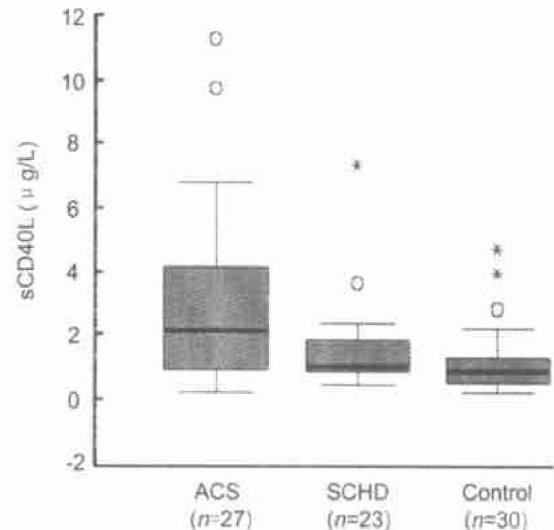


图 1. 可溶性 CD40 配体在 3 组人群中分布的箱图。图中线条从上到下分别代表 75 百分位数、中位数和 25 百分位数。“*”和“O”代表极值和界外值。

Figure 1. Boxplots of sCD40L distribution in three groups.

The lines from top to bottom represented 75th percentile, median and 25th percentile respectively, *: extreme value, O: outlying vlaue.

2.3 CD40 配体与血脂的相关性分析

线性相关分析结果表明, sCD40L 主要与 HDLC 呈负相关, 与载脂蛋白 B 及 TG 呈正相关, 而与其它因素相关不显著 (表 2, Table 2)。为了解 sCD40L 与 TG 的独立相关性, 采用偏相关分析控制 HDLC 的作用, 结果发现其与 TG 的相关性消失, 提示其与 TG 的相关关系可能是由 HDLC 混杂引起。

表 2. 可溶性 CD40 配体与血脂水平的相关性。

Table 2. Linear relation between sCD40L and lipids.

	TG	TC	LDL	HDL	APOA1	APOB
sCD40L	0.230 ^a	0.001	0.005	- 0.253 ^a	- 0.110	0.248 ^a
TG		0.374 ^b	0.116	- 0.214	0.192	0.365 ^b
TC			0.788 ^b	0.155	0.335 ^b	0.396 ^b
LDL				- 0.024	0.207	0.170
HDL					0.396 ^b	- .094

a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$.

3 讨论

本研究结果发现,急性冠状动脉综合征患者可溶性 CD40 配体水平显著高于稳定型冠心病患者及正常对照组,而在急性冠状动脉综合征两个亚组(急性心肌梗死与不稳定型心绞痛)之间无显著性差异,提示 sCD40L 可能参与急性冠状动脉综合征的发生,这一结果与最近的研究结果一致^[7-9]。

CD40L 是肿瘤坏死因子超基因家族的一种,早期的研究认为,其只由激活的 T 淋巴细胞产生,是 T 细胞依赖性 B 细胞激活、增殖和分化的介质。但近年研究发现 CD40L 的表达和功能已扩展到更广的领域,是各种免疫与炎症调节的重要通路,包括调节动脉粥样硬化的演变。已有研究证实在动脉粥样硬化斑块内、血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞以及循环中的血小板均可出现 CD40L 的表达^[2]。循环中出现的可溶性 CD40L 可能主要来源于血小板及 T 淋巴细胞^[7,8]。

CD40L 在急性冠状动脉综合征中的作用与其产生的生物学效应有关。有研究发现 CD40L 可刺激血管内皮细胞、巨噬细胞及血管平滑肌细胞产生与动脉粥样硬化有关的生物活性因子,如 E-选择素、血管粘附分子^[3]和细胞因子^[2]。CD40L 还可通过调节粥样斑块的金属蛋白酶表达影响斑块的稳定性^[4,5]。此外,动物实验证实,实验小鼠内注射抗 CD40L 抗体可减少其动脉粥样斑块的形成并可使进展期的斑块稳定^[10]。

尽管已知粥样斑块相关细胞均能表达 CD40L,但影响 CD40L 表达的因素尚不清,其与动脉粥样硬化其它危险因素如血脂、血压、体质指数和吸烟的关系如何亦无报道。将 sCD40L 水平与冠心病传统危险因素进行相关分析发现,sCD40L 水平与 HDLC 呈负相关,与 TG 及载脂蛋白 B 呈正相关。HDL 的抗动脉粥样硬化机制主要与胆固醇逆转运有关,但可能存在其它机制,如抑制血管内皮细胞的炎症反应。Cockerill 等^[11]发现 HDL 可抑制细胞因子诱导的血管内皮细胞表达细胞粘附分子。动物实验进一步证实注射不同剂量的 HDL 可明显抑制白细胞介素 6 诱导的 E-选择素的表达^[12]。已有研究证实 LDL 及脂蛋白(a)与动脉粥样硬化炎症有关,氧化型 LDL 或脂蛋白(a)具有诱导血管内皮细胞产生细胞因子和粘附分子的作用^[13],我们实验室研究也曾观察到氧化型脂蛋白(a)能增加血管内皮细胞 P-选择素的表达^[14]。本研究未观察到 sCD40L 与 LDLC 的相关

性,但显示了 sCD40L 与载脂蛋白 B 呈正相关,提示载脂蛋白 B 可能参与 CD40L 的调节。

CD40L 作为重要的炎症信号通路的配体,在动脉粥样硬化发生发展中起重要作用。本研究结果发现急性冠状动脉综合征患者外周血可溶性 CD40L 水平明显升高,提示其可能与急性冠状动脉综合征的形成有关,是动脉粥样硬化斑块不稳定的标志,对于冠心病患者的病情判断或预后估计有一定意义。CD40L 水平受血清 HDLC 及载脂蛋白 B 的影响。由于本研究属于断面研究,外周血 sCD40L 水平测定的临床意义还有待于前瞻性观察研究评价,其影响因素还需体外实验的直接证据。

[参考文献]

- [1] Ross R. Atherosclerosis-An inflammatory disease. *N Eng J Med*, 1999, **340**: 115-126
- [2] Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, et al. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: Implication for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 1 931-936
- [3] Kotowicz K, Dixon GL, Klein NJ, et al. Biological function of CD40 on human endothelial cells: costimulation with CD40 ligand and interleukin-4 selectively induces expression of vascular cell adhesion molecule-1 and P-selectin resulting in preferential adhesion of lymphocyte. *Immunology*, 2000, **100**: 441-448
- [4] Mach F, Schonbeck U, Fabunmi RP, et al. T lymphocytes induce endothelial cell matrix metalloproteinase expression by a CD40L-dependent mechanism: implications for tubule formation. *Am J Pathol*, 1999, **154** (1): 229-238
- [5] Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, et al. Expression of stromelysin-3 in atherosclerotic lesions: regulation via CD40-CD40 ligand signaling in vitro and in vivo. *J Exp Med*, 1999, **189** (5): 843-853
- [6] Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, et al. CD40 ligation induces tissue factor expression in human vascular smooth muscle cells. *Am J Pathol*, 2000, **156** (1): 7-14
- [7] Lee Y, Lee WH, Lee SC, et al. CD40L activation in circulating platelets in patients with acute coronary syndrome. *Cardiology*, 1999, **92**: 11-16
- [8] Aukrust P, Muller F, Ueland T, et al. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina: possible reflection of T lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndrome. *Circulation*, 1999, **100**: 614-620
- [9] 严金川, 吴宗贵, 张玲珍, 等. CD40 配体高表达与不稳定型心绞痛之间的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (5): 409-412
- [10] Lutgens E, Cleutjens KBM, Heeneman S, et al. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**: 7 464-469
- [11] Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, et al. High density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**: 1 987-994
- [12] Cockerill GW, Huehns TY, Weerasinghe A, et al. Elevation of plasma high density lipoprotein concentration reduces interleukin-1-induced expression of E-selectin in an In Vivo model of acute inflammation. *Circulation*, 2001, **103**: 108-112
- [13] Niemann JA, Dimayuga P, Jovinge S, et al. Accumulation of LDL in rat arteries is associated with activation of tumor necrosis factor- α expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 2 205-211
- [14] Zhao SP, Xue DY. Oxidized lipoprotein (a) enhanced the expression of P-selectin in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Thromb Re*, 2000, **100**: 501-510

(此文编辑 朱雯霞)