

[文章编号] 1007-3949(2009)17-06-0473-04

· 临床研究 ·

可溶性 OX40 配体与颈动脉内膜中膜厚度的关系

彭道泉, 黄珊, 赵水平

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 冠心病; 可溶性 OX40 配体; 颈动脉内膜中膜厚度

[摘要] 目的 观察冠心病稳定型心绞痛患者及高危因素患者血浆中可溶性 OX40 配体水平, 同时测定颈动脉内膜中膜厚度, 分析两者的相关性, 进一步探讨可溶性 OX40 配体与冠心病的关系。方法 采用酶联免疫吸附法测定 35 例稳定型心绞痛患者、30 例高危因素者及 20 例正常对照者血浆中可溶性 OX40 配体浓度, 同时利用彩色超声仪测量颈动脉内膜中膜厚度。结果 稳定型心绞痛患者血浆可溶性 OX40 配体水平 (24.95 ± 15.60 ng/L) 高于正常对照者 (16.44 ± 11.31 ng/L; $P < 0.05$); 稳定型心绞痛患者和高危因素者的颈动脉内膜中膜厚度高于正常对照者 ($P < 0.05$), 且与血浆可溶性 OX40 配体显著正相关 ($r = 0.376, P = 0.001$)。多因素回归分析显示, 在控制年龄、血脂及血压影响后, 可溶性 OX40 配体水平对内膜中膜厚度有独立的贡献 ($P = 0.019$)。结论 冠心病患者可溶性 OX40 配体水平显著增高, 且与颈动脉内膜中膜厚度独立相关, 提示可溶性 OX40 配体可作为判断冠心病及动脉粥样硬化新的炎症指标。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Association of Soluble OX40 Ligand Level and Carotid Intima-Media Thickness in Coronary Heart Disease

PENG Dao-Quan, HUANG Shan, and ZHAO Shui-Ping

(the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease; Soluble OX40 Ligand; Carotid Intima-Media Thickness

[ABSTRACT] Aim To measure the plasma soluble OX40 ligand (sOX40L) levels and carotid intima-media thickness (IMT) in patients with coronary heart disease and age-, sex-matched controls, trying to investigate the relationship between sOX40L and coronary heart disease. Methods Enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure plasma sOX40L in 35 patients with stable angina pectoris, 30 individuals with high risk factors of coronary heart disease, and 20 age-, sex-matched healthy controls. Carotid IMT was measured with carotid ultrasonography. Results The levels of sOX40L (24.95 ± 15.60 ng/L) was significantly higher in patients with stable angina pectoris compared with control group (16.44 ± 11.31 ng/L; $P < 0.05$). Patients with stable angina pectoris and risk factors had higher values of carotid IMT than controls. Multiple regression analysis indicated that sOX40L level was an independent contributor to carotid IMT ($P = 0.019$) after controlling age, lipid levels, and blood pressure. Conclusion sOX40L level is an independent contributor to carotid IMT, and suggests the potential diagnostic significance of sOX40L in atherosclerosis.

目前研究表明动脉粥样硬化是一种慢性炎症疾病, 炎症和免疫激活作用是动脉粥样硬化性心血管疾病发病机制的关键^[1]。OX40 及其配体 (OX40L) 是激活 T 细胞的重要信号通路, 近期的研究证实 OX40L 基因与动脉粥样硬化的关系密切^[2,3]。我们以往的临床研究也发现急性冠状动脉综合征和稳定型心绞痛患者血浆中可溶性 OX40L (sOX40L) 水平显著高于正常人群, 且与冠心病重要炎症指标 hs-CRP 显著相关, 提示 sOX40L 可作为判断冠心病新的生化指标, 并可能对动脉粥样硬化斑

块稳定性的判断有一定的意义^[4]。颈动脉内膜中膜厚度 (IMT) 已经成为反映全身动脉粥样硬化的常用替代指标之一。颈动脉 IMT 增厚是心血管患病率和病死率的独立危险因素^[5]。国内外已有大量关于颈动脉 IMT 与炎症因子及危险因素的研究, 作为反映冠心病炎症的一个新指标。本研究旨在观察冠心病稳定型心绞痛患者、冠心病高危因素患者及正常对照者血浆 sOX40L 和颈动脉 IMT 的变化, 以进一步阐明 sOX40L 与冠心病的关系。

1 对象和方法

1.1 研究对象

收集冠心病稳定型心绞痛患者 35 例, 冠心病高危因素者 30 例及正常对照者 20 例。根据 WHO 诊

[收稿日期] 2009-02-18 [修回日期] 2009-05-31

[作者简介] 彭道泉, 博士, 教授, 研究方向为血脂、炎症与动脉粥样硬化, E-mail 为 pengdq@hotmail.com。黄珊, 硕士研究生, 现工作单位为海南医学院附属医院心内科。赵水平, 博士, 教授, 研究方向为血脂与动脉粥样硬化。

断标准入选,稳定型心绞痛诊断标准:劳力性心绞痛持续3个月以上或者运动试验阳性,其他如陈旧性心肌梗死(>1月且无胸痛发作)和心电图有缺血表现且冠状动脉造影确定有病变的患者归入稳定型冠心病组;高危因素者诊断标准(同时具有下述任两项或以上者):高血压为收缩压 ≥ 140 mmHg或舒张压 ≥ 90 mmHg;高脂血症为低密度脂蛋白胆固醇(LDL C) ≥ 3.37 mmol/L或高密度脂蛋白胆固醇(HDL C) < 1.04 mmol/L;糖尿病为正在接受降糖药物治疗,或空腹血糖 ≥ 7 mmol/L,或糖尿病症状+任意时间血糖 ≥ 11.1 mmol/L,或口服葡萄糖耐量实验(OGTT)2 h血糖 ≥ 11.1 mmol/L;肥胖为体质指数(BMI) ≥ 25 kg/m²;目前吸烟或有吸烟史 ≥ 10 年包。凡有以下情况者予以剔除:合并急性心肌梗死,合并感染、高热者,严重肝肾功能不全,合并脑卒中者,合并自身免疫疾病者,哮喘,肿瘤,HIV病毒感染者,入院前2周服用抗生素,非甾体类消炎药者。

1.2 标本处理

取清晨空腹肘静脉血约2 mL加入EDTA抗凝管中,摇匀,3000 r/min离心10 min,分离血清血浆待测。同时采静脉血测定血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、HDL C、LDL C、血红蛋白、白细胞、血小板计数、肝肾功能、C反应蛋白(CRP)等生化指标。

1.3 可溶性OX40配体测定

采用酶联免疫吸附法测定血浆sOX40L,试剂盒购自R&D公司,其检测灵敏度为3.56 ng/L。

1.4 颈动脉内膜中膜厚度检测

采用7.5 MHz的高频B型超声波探头测量(Titan彩色超声, Sonosite公司,美国)。被检查者取仰卧位,颈后薄枕,放松,头部偏向检查区对侧,先从锁骨内侧端横向检查颈总动脉,然后将探头沿其走行方向向头部移动。平卧静息状态下,冻结颈动脉窦以下1 cm处(无斑块部位)的图像,分别测量双侧颈总动脉共5个心动周期IMT,取平均值。

1.5 血脂测定

TC和TG采用酶法测定,LDL C及HDL C采用化学遮蔽法测定。

1.6 统计学方法

采用SPSS15.0统计软件包进行统计学分析。正态分布数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,偏态分布以中位数及四分位数表示,在进行统计之前先转化为对数。组间计量单位比较采用One-way ANOVA检验,非正态分布数据采用非参数检验,正态分布数据相关性分析采用Pearson检验。颈动脉IMT与各生化指标的相关分析采用Spearman检验。各种因素的独立作用

采用多因素回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较

稳定型心绞痛组收缩压较正常对照组高,HDL C较正常对照组低($P < 0.05$);高危因素组收缩压、白细胞计数、TC、LDL C及空腹血糖较正常对照组稍高,其他指标差异均无统计学意义(表1)。

表1. 一般资料比较

指标	稳定型心绞痛组 (n=35)	高危因素组 (n=30)	正常对照组 (n=20)
年龄(岁)	60.17 \pm 7.40	58.13 \pm 9.35	59.30 \pm 7.63
男/女(例)	23/12	17/13	13/7
BMI(kg/m ²)	23.15 \pm 3.13	23.18 \pm 4.31	21.37 \pm 2.38
吸烟(例)	20	11	5
收缩压(mmHg)	138.86 \pm 28.69	141.87 \pm 22.86	122.20 \pm 14.69
舒张压(mmHg)	74.34 \pm 25.15	85.27 \pm 14.65	75.80 \pm 8.51
白细胞($\times 10^9/L$)	6.78 \pm 1.91	7.43 \pm 2.17	5.89 \pm 1.34
TG(mmol/L)	1.60 \pm 0.91	2.17 \pm 1.66	1.85 \pm 2.69
TC(mmol/L)	4.33 \pm 1.01	4.69 \pm 0.87	3.90 \pm 0.67
HDL C(mmol/L)	1.06 \pm 0.21	1.10 \pm 0.20	1.22 \pm 0.25
LDL C(mmol/L)	2.51 \pm 0.85	2.85 \pm 0.74	2.23 \pm 0.57
脂蛋白(a)(mmol/L)	268.68 \pm 133.62	266.80 \pm 112.12	240.01 \pm 75.81
空腹血糖(mmol/L)	5.94 \pm 1.26	6.29 \pm 1.76	5.00 \pm 0.77
尿素氮(mmol/L)	4.86 \pm 1.30	5.48 \pm 1.57	4.80 \pm 1.16
肌酐(μ mol/L)	76.00 \pm 17.75	75.87 \pm 23.96	68.78 \pm 22.55
ALT(mmol/L)	23.28 \pm 11.86	29.32 \pm 19.31	24.48 \pm 15.47

2.2 颈动脉内膜中膜厚度、可溶性OX40配体及C反应蛋白水平

稳定型心绞痛组和高危因素组颈动脉IMT显著高于正常对照组($P < 0.05$),稳定型心绞痛组略高于高危因素组($P > 0.05$);稳定型心绞痛组血浆sOX40L和CRP水平显著高于正常对照组($P < 0.05$),略高于高危因素组($P > 0.05$;表2)。

表2. 颈动脉IMT、sOX40L和CRP水平比较

指标	稳定型心绞痛组 (n=35)	高危因素组 (n=30)	正常对照组 (n=20)
IMT(mm)	0.958 \pm 0.287 ^a	0.830 \pm 0.238 ^a	0.605 \pm 0.126
sOX40L(ng/L)	24.95 \pm 15.60 ^a	19.99 \pm 9.35	16.44 \pm 11.31
CRP(mg/L)	1.95(1.22-3.57) ^a	1.79(1.26-2.23)	1.06(0.68-1.63)

^a为 $P < 0.05$,与对照组比较。

2.3 不同颈动脉 IMT 分级与 sOX40L 及危险因素的分析

将颈总动脉 IMT 按 $IMT \leq 0.6$ mm、 $0.61 \sim 0.89$ mm 及 ≥ 0.9 mm 分为三组, $IMT \geq 0.9$ mm 组 sOX40L 水平显著高于前两组, $IMT \geq 0.9$ mm 组在年龄、收缩压、HDLc、LDLc、TG 及 CRP 与 $IMT \leq 0.6$ mm 组显著差异(表 3)。

表 3. 不同颈动脉 IMT 分级的各种危险因素比较

指 标	≤ 0.6 mm (n=26)	0.61~0.89 mm (n=28)	≥ 0.9 mm (n=31)
sOX40L(ng/L)	17.25 ± 10.00	18.18 ± 9.30	27.30 ± 14.21 ^{ab}
CRP (mg/L)	0.96(0.60~1.82)	1.47(1.23~2.13) ^a	2.05(1.12~3.09) ^a
TG(mmol/L)	1.45 ± 0.64	1.66 ± 0.80	2.17 ± 1.67 ^{ab}
TC (mmol/L)	4.17 ± 0.79	4.29 ± 0.76	4.59 ± 1.13
HDLc(mmol/L)	1.19 ± 0.22	1.14 ± 0.23	1.03 ± 0.20 ^{ab}
LDLc(mmol/L)	2.28 ± 0.68	2.58 ± 0.61	2.79 ± 0.94 ^a
年龄(岁)	56.31 ± 7.13	60.71 ± 8.65 ^a	61.00 ± 8.05 ^a
收缩压(mmHg)	127.00 ± 18.36	138.07 ± 28.86	141.68 ± 24.62 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与 ≤ 0.6 mm 组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 $0.61 \sim 0.89$ mm 组比较。

2.4 颈动脉 IMT 与 sOX40L、CRP 及危险因素的相关性分析

颈动脉 IMT 与 sOX40L 及 CRP 之间呈显著正相关, 冠心病的危险因素包括年龄、收缩压、TC、TG、LDLc 与颈动脉 IMT 均呈明显正相关, 而 HDLc 则与颈动脉 IMT 明显负相关(表 4)。

表 4. 相关性分析

指标	r	P
sOX40L	0.376	<0.01
CRP	0.333	<0.01
TC	0.281	<0.01
TC	0.235	<0.05
HDLc	-0.323	<0.01
LDLc	0.273	<0.05
年龄	0.261	<0.05
收缩压	0.278	<0.01

2.5 颈动脉 IMT 的多因素回归分析

多因素回归分析发现, sOX40L、年龄、LDLc、HDLc 及收缩压对颈动脉 IMT 具有显著影响($r = 0.607$, $R^2 = 0.368$), 回归方程为 $IMT = 0.053 + 0.005 \times sOX40L + 0.008 \times \text{年龄} - 0.24 \times HDLc + 0.091 \times LDLc + 0.002 \times \text{收缩压}$, 其中 sOX40L、LD-

LC、HDLc 及年龄对颈动脉 IMT 具有独立贡献(表 5)。

表 5. 多因素回归分析

指 标	回归系数	标准化回归系数	P
sOX40L	0.005	0.239	0.019
年龄	0.008	0.228	0.014
HDLc	-0.240	-0.199	0.045
LDLc	0.091	0.262	0.006
收缩压	0.002	0.166	0.077

3 讨论

T 细胞的激活是动脉粥样硬化重要的炎性致病因素之一^[6]。OX40/OX40L 作为 T 细胞免疫应答过程中的重要的协同刺激分子, 在动脉粥样硬化中的作用开始受到重视。基础研究通过定点基因敲除和转基因技术从两方面证实 OX40L 基因在动脉粥样硬化中起重要作用^[2]。此外, 人群中的基因多态性研究也表明 OX40L 与急性心肌梗死和冠心病相关^[3]。因此, OX40L 基因在动物和人体实验中均提示 sOX40L 与动脉粥样硬化和冠心病密切相关。我们早期的临床研究发现急性冠状动脉综合征和稳定型心绞痛患者血浆中 OX40L 水平显著高于正常人群, 并与冠心病重要炎症指标 hs-CRP 显著相关, 支持 OX40L 参与动脉粥样斑块炎症反应^[4], 最近 Liu 等^[7]的研究也发现急性冠状动脉综合症患者 sOX40L 水平升高, 进一步提示 OX40L 与冠心病的关系。

本研究中, sOX40L 水平在冠心病患者中显著高于正常对照者, 支持 sOX40L 在冠心病中的作用。高危因素组 sOX40L 水平高于正常对照组。大量研究表明动脉粥样硬化是多项危险因素共同参与的慢性炎症疾病, 其中内皮细胞损伤是动脉粥样硬化发生的启动步骤^[8]。即使没有出现冠心病的临床表现, 在高危因素的作用下, 内皮细胞易受损伤, 与早期动脉粥样硬化病变有关的一系列炎症反应已启动, 亚临床动脉粥样硬化已出现。早期的研究发现 OX40 在炎症组织中的表达明显高于正常组织^[9], 而 Wang 等^[2]在动脉粥样硬化脂质斑块病变部位的所有细胞中均可检测到 OX40L 表达, 提示 OX40/OX40L 信号参与调节和介导动脉粥样斑块中多种细胞之间的炎性反应。本研究发现, 与正常对照组比较, 冠心病高危因素组血浆 sOX40L 水平有增高

趋势(未达到统计显著性可能与样本例数较少有关),提示 OX40L 在动脉粥样硬化的发生发展中起重要作用,这种作用可能与其参与介导 T 细胞与内皮细胞的粘附,并通过上调 CC 类趋化因子的表达^[10]来影响其它细胞因子的生成,从而介导炎症细胞向炎症部位的浸润有关。

本研究入选人群分为稳定型冠心病、冠心病高危因素人群和正常人三组,其入选的主要依据是临床症状,但动脉粥样硬化是连续过程,因此根据临床症状分类可能存在三组间的相互混杂,不能准确反映体内动脉粥样硬化程度。而颈动脉 IMT 作为评价体内动脉粥样硬化程度的无创指标更客观,因此本研究主要观察了颈动脉 IMT 与 sOX40L 的关系。结果发现,颈动脉 IMT 最高组 sOX40L 显著高于其它两组,且 sOX40L 与颈动脉 IMT 显著正相关,在控制其它动脉粥样硬化危险因素后,sOX40L 仍然对颈动脉 IMT 有独立影响。目前超声测量颈动脉 IMT 已成为检测早期动脉粥样硬化的无创方法。动脉 IMT 能反映血管壁增厚情况,且动脉粥样硬化时 IMT 的改变早于斑块的发生,因此,IMT 增厚是全身动脉粥样硬化的早期征象。临床研究已证实颈动脉 IMT 增厚是心血管患病率和病死率的独立危险因素^[5]。本研究发现,冠心病组和高危因素组颈动脉 IMT 显著高于正常组,并且动脉粥样硬化的危险因素(如年龄、脂质代谢紊乱、高血压等)显著相关,与以往研究报道相符。本研究还观察到颈动脉 IMT 的增厚与血浆中 CRP 显著相关,与 Ahmad 等^[11]的研究一致。而血浆 sOX40L 与颈动脉 IMT 显著相关,进一步提示 OX40L 参与动脉粥样硬化的形成,并可能对动脉粥样硬化的进展有预测价值。同时,我们对与 IMT 相关的各种可能的相关因素进行多元回归分析后发现,在控制 LDLC、HDLc、年龄、血

压等因素的影响后,sOX40L 对颈动脉 IMT 具有显著影响,提示 sOX40L 是颈动脉 IMT 的一个独立危险因素。

综上所述,我们的结果发现外周血 sOX40L 水平在稳定型冠心病患者中显著升高,而且与颈动脉 IMT 独立相关,提示 OX40L 可能对早期发现及诊断动脉粥样硬化有一定的意义。

[参考文献]

- [1] Galkina E, Kadl A, Sanders J, et al. Lymphocyte recruitment into the aortic wall before and during development of atherosclerosis is partially L-selectin dependent [J]. *J Exp Med*, 2006, 203: 273-282.
- [2] Wang X, Massimiliano R, Peter MK, et al. Positional identification of TNFSF4, encoding OX40 ligand, as a gene that influences atherosclerosis susceptibility [J]. *Nat Genet*, 2005, 4: 365-372.
- [3] Ria M, Eriksson P, Boquist S, et al. Human genetic evidence that OX40 is implicated in myocardial infarction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 339: 1 001-006.
- [4] 王燃燃,彭道泉,赵水平. OX40L: 新的冠心病相关炎症指标[J]. *中华心血管病杂志*, 2006, 34: 1 110-112.
- [5] O'leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340: 14-22.
- [6] Boer OJ, Becker A. T lymphocytes in atherogenesis functional aspects and antigenic repertoire [J]. *Cardiovasc Res*, 2003, 60: 78-86.
- [7] Liu DM, Yan JC, Wang CP, et al. The clinical implications of increased OX40 ligand expression in patients with acute coronary syndrome [J]. *Clin Chim Acta*, 2008, 397: 22-26.
- [8] Prasad A, Zhu J, Halcox JP, et al. Predisposition to atherosclerosis by infections; role of endothelial dysfunction [J]. *Circulation*, 2002, 106: 184-190.
- [9] Wehberg AD. OX40; targeted immunotherapy-implications for tempering autoimmunity and enhance vaccines [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23: 102-109.
- [10] Kotani A, Hori T, Matsumura Y, et al. Signaling of gp34 (OX40 ligand) induces vascular endothelial cells to produce a CC chemokine RANTES/CCL5 [J]. *Immunol Lett*, 2002, 84: 1-7.
- [11] Ahmad J, Ahmed F, et al. Inflammatory markers, insulin resistance and carotid intima-media thickness in North-Indian type2 diabetic subjects [J]. *J Assoc Physicians India*, 2007, 55: 693-699.

(此文编辑 文玉珊)