

[文章编号] 1007-3949(2011)19-06-0521-04

• 临床研究 •

冠心病患者血清可溶性低密度脂蛋白受体、髓系相关蛋白 8/14 复合物及嗜酸性粒细胞阳离子蛋白水平变化及临床意义

夏国莲, 黄兆铨

(浙江中医药大学附属第一医院心内科, 浙江省杭州市 310006)

[关键词] 急性冠状动脉综合征; 动脉粥样硬化; 可溶性低密度脂蛋白受体; 髓系相关蛋白 8/14 复合物; 嗜酸性粒细胞阳离子蛋白; 生物标志物

[摘要] 目的 观察冠心病患者血清可溶性低密度脂蛋白受体 (sLR11)、髓系相关蛋白 8/14 复合物 (MRP8/14) 及嗜酸性粒细胞阳离子蛋白 (ECP) 水平的变化, 探讨其与冠状动脉病变程度及斑块稳定性的关系。方法 采用酶联免疫吸附法检测 71 例急性冠状动脉综合征患者、51 例稳定型心绞痛患者及 53 例健康对照者血清 sLR11、MRP8/14 及 ECP 的水平。所有入组者均行冠状动脉造影, 计数冠状动脉病变 Gensini 积分及冠状动脉病变支数, 并与血清 sLR11、MRP8/14 及 ECP 水平进行相关分析。结果 急性冠状动脉综合征组、稳定型心绞痛组 sLR11、MRP8/14 及 ECP 水平显著高于对照组 ($P < 0.01$); 急性冠状动脉综合征组 sLR11 (30.50 ± 10.48 ng/L 比 22.13 ± 6.33 ng/L)、MRP8/14 水平 (40.30 ± 12.59 ng/L 比 29.12 ± 10.27 ng/L) 明显高于稳定型心绞痛组 (均 $P < 0.05$), ECP 水平略高于稳定型心绞痛组, 但差异无显著性 (29.47 ± 7.16 μ g/L 比 23.73 ± 5.67 μ g/L, $P > 0.05$)。冠状动脉 3 支病变组血清 sLR11、ECP 水平明显高于 2 支病变组和单支病变组 (均 $P < 0.05$), 而 2 支病变组与单支病变组差异无显著性 ($P > 0.05$)。sLR11、ECP 水平与冠状动脉病变 Gensini 积分呈正相关, 而 MRP8/14 水平与冠状动脉病变支数、冠状动脉病变 Gensini 积分无显著相关 ($P > 0.05$)。结论 冠心病患者血清 sLR11、ECP 水平与冠状动脉病变支数及狭窄程度相关, ECP 与斑块的生长稳定有关, MRP8/14 水平的提高可能提示动脉粥样硬化斑块的不稳定性, 可预测急性冠状动脉事件的发生。冠心病患者 sLR11、MRP8/14 及 ECP 水平明显升高, 对判断冠心病的类型及病情演变有重要意义, 有望成为冠心病患者新的生物标志物。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Clinical Significance of Circulating Levels of Soluble Low-Density Lipoprotein Receptor, Myeloid-Related Protein-8/14 and Eosinophil Cationic Protein of Atherosclerosis

XIA Guo-Lian and HUANG Zhao-Quan

(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Traditional Chinese Medical University, Hangzhou, Zhejiang 310006 China)

[KEY WORDS] Acute Coronary Syndrome; Soluble Low Density Lipoprotein Receptor; Myeloid-Related Protein-8/14; Eosinophil Cationic Protein; Biomarkers

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the levels of soluble low density lipoprotein receptor (sLR11), myeloid-related protein-8/14 (MRP8/14) and eosinophil cationic protein (ECP) in coronary heart disease and their relationships with coronary artery disease. **Methods** The levels of serum sLR11, MRP8/14 and ECP were measured by enzyme-linked immunosorbent assay in 71 patients with acute coronary syndrome (ACS), 51 patients with stable angina pectoris (SAP), and 53 controls. All subjects were underwent coronary angiography. The numbers of impaired coronary arteries, Gensini scoring of coronary stenosis and the levels of serum sLR11, MRP8/14 and ECP were compared respectively. **Results** The levels of sLR11, MRP8/14 and ECP in ACS group and SAP group were significantly higher than those in the controls ($P < 0.01$), the levels of sLR11, MRP8/14 in ACS group were significantly higher than those in SAP group (30.50 ± 10.48 ng/L vs 22.13 ± 6.33 ng/L and 40.30 ± 12.59 ng/L vs 29.12 ± 10.27 ng/L, $P < 0.05$). The ECP levels of ACS

[收稿日期] 2010-12-30

[作者简介] 夏国莲, 硕士, 研究方向为心血管疾病的发病机制及诊治进展, Email 为 xialian3700728@163.com。通讯作者黄兆铨, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管病的研究, Email 为 zq_Huang2008@yahoo.com.cn。

group were slightly higher than SAP group but there were no significant difference ($29.47 \pm 7.16 \mu\text{g/L}$ vs $23.73 \pm 5.67 \mu\text{g/L}$, $P > 0.05$). The serum levels of sLR11 and ECP were significantly higher in three impaired coronary arteries than two vessels and one vessel impaired group ($P < 0.01$), but there were no significant difference between 2-vessels and 1-vessel impaired group ($P > 0.05$). There were obvious positive correlations in the levels of serum sLR11, ECP with Gensini score ($P < 0.01$), however there were no correlations in the levels of serum MRP8/14 with them ($P > 0.05$).

Conclusions There were correlations in the levels of serum sLR11, ECP levels with impaired coronary arteries and coronary stenosis. ECP played a key role in plaque growth, predicting atherosclerosis burden. MRP8/14 may suggest atherosclerosis plaque instability, predictability of acute coronary events. The serum levels of sLR11, MRP8/14 and ECP were significantly increased in coronary heart disease patients, improving the classification performance of cardiovascular risk factors which were expected to become the new circulating biomarkers of coronary atherosclerosis.

冠心病有慢性炎症反应过程及粥样斑块不稳定的急性发作阶段,不同的血清生物化学标志物及其水平的高低能反应冠心病发展的不同阶段。国外有文献报道,可溶性低密度脂蛋白受体 (soluble low density lipoprotein receptor, sLR11) 的循环浓度可反映内膜 VSMC 的病理生理情况,而 VSMC 功能障碍将加速动脉粥样硬化的形成^[1]。髓系相关蛋白 8/14 复合物 (myeloid-related protein-8/14, MRP8/14) 最早由 T·moky^[2]于 1980 年从中性粒细胞分离发现,具有钙、锌和花生四烯酸结合结构域。MRP8/14 异源二聚体水平的升高预示着心血管事件的初发和再发^[3],能对血管损伤处进行白细胞富集以助于生物学反应,从而广泛调节血管炎症。嗜酸性粒细胞阳离子蛋白 (eosinophil cationic protein, ECP) 即活化嗜酸性粒细胞所释放的强碱性颗粒蛋白^[4],是嗜酸性粒细胞的特异性标志,反映了嗜酸性粒细胞的活化程度,具有很强的细胞毒性作用,能通过损伤细胞膜导致某些疾病的病理学改变,刺激效应细胞释放炎症介质,加剧炎症过程。而动脉粥样硬化也是一炎症过程,检测血清炎症物质的浓度来判断不稳定斑块,预测急性冠状动脉事件的发生是当今研究的热点。本研究观察 sLR11、MRP8/14 及 ECP 在冠心病患者血清的表达水平,探讨其与冠状动脉病变程度及斑块稳定性的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择本院心内科 2010 年 1 月至 7 月住院并接受冠状动脉造影患者 175 例,其中对照组 53 例,男性 34 例,女性 19 例,年龄 61.3 ± 9.4 岁,因胸部不适等入院,经心电图、心脏超声及冠状动脉造影等检查排除冠心病及其他心脏疾患,既往有高血压 23 例,糖尿病 19 例,有 30 例服用阿司匹林,25 例服用他汀类药物;冠心病组 122 例,冠状动脉造影显示至少

1 支以上主要冠状动脉狭窄大于 50%,结合临床情况分为急性冠状动脉综合征 (ACS) 组和稳定型心绞痛 (SAP) 组。ACS 组 71 例,男性 47 例,女性 24 例,年龄 60.4 ± 11.7 岁,其中急性心肌梗死 (AMI) 26 例,不稳定型心绞痛 (UAP) 45 例,ACS 组既往有高血压 52 例,糖尿病 32 例,服用阿司匹林 60 例,服用他汀类药物 55 例;SAP 组 51 例,男性 28 例,女性 23 例,年龄 62.1 ± 8.3 岁,既往有高血压 38 例,糖尿病 27 例,服用阿司匹林 33 例,服用他汀类药物 30 例。以上 3 组均排除各种原因引起的肺动脉高压、肺源性心脏病、严重的肝肾功能不全、血液病、恶性肿瘤、严重感染及既往心肌梗死或心功能不全病史等影响测定指标的患者。各组间性别、年龄、吸烟、服用药物等具有可比性。所有受试者均自愿参加并签署知情同意书。

1.2 标本的采集和处理

AMI 患者入院即刻取血,余患者清晨空腹肘静脉取血 3~5 mL,不抗凝。以 3000 r/min 离心 10 min 后取血清, -80°C 保存待测。

1.3 可溶性低密度脂蛋白受体的检测

用 ELISA 法检测血清 sLR11 (试剂盒购自美国 R&D 公司),严格按照试剂盒说明书操作,在 96 孔板中依次加入待测样品及标准品、Tris 缓冲液、反应底物, 37°C 水浴 30 min 后加入终止液及显色液,室温孵育 10 min,再于波长 450 nm 处读取数据,根据吸光度值换算成浓度,检测符合实验室质控标准。

1.4 髓系相关蛋白 8/14 复合物的检测

用 ELISA 法严格按照说明书进行测定 (试剂盒为美国 R&D 公司产品)。

1.5 嗜酸性粒细胞阳离子蛋白的检测

利用瑞典 Pharmacia 公司 UniCAP100 全自动荧光检测系统及试剂盒,采用真空 SST 管,取静脉血 2 mL,轻轻倒转试管 5 次,室温下 ($20 \sim 25^{\circ}\text{C}$) 凝血 60 ~ 120 min,分离血清,然后转至另一试管中,加入试

剂, UnCAP自动检测血清 ECP值。

1.6 冠状动脉病变程度的评定

采用标准 Judkins法对每一血管至少 3个以上的多体位投照。由 2名或 2名以上富有经验的医师对冠状动脉病变狭窄程度进行定量评定,从累及支数、病变狭窄程度积分 2个方面来评估冠状动脉病变程度。以直径狭窄 $\geq 50\%$ 为有意义病变计数累及支数。按狭窄所累及的血管支数分为单支病变、2支病变和 3支病变。采用 Gensini积分系统^[5]对每支冠状动脉病变狭窄程度进行定量评定,各病变支得分总和即为患者冠状动脉病变狭窄程度总积分,积分越高,提示斑块不稳定,破裂风险大,冠状动脉病变程度重。

1.7 统计学分析

对资料先行正态性检验,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。正态分布资料两组间均数的比较采用成组 *t* 验,多组间均数比较采用方差分析并进一步行各组间均数的两两比较 (LSD法)。符合正态分布资料的相关分析采用 Pearson直线相关,非正态分布资料的相关分析采用 Spearman秩相关。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 冠心病患者 sLR11、MRP8/14及 ECP水平变化

ACS组和 SAP组 sLR11、MRP8/14及 ECP水平显著高于对照组 ($P < 0.01$); ACS组 sLR11和 MRP8/14水平明显高于 SAP组 ($P < 0.05$), ECP水平略高于 SAP组,但差异无显著性 ($P > 0.05$ 表 1)。

表 1. 冠心病患者血清 sLR11、MRP8/14及 ECP水平变化

Table 1. The levels of sLR11, MRP8/14 and ECP in different groups

分 组	n	sLR11(ng/L)	MRP8/14(ng/L)	ECP(μ g/L)
对照组	53	14.10 \pm 3.20	18.92 \pm 4.23	7.53 \pm 3.73
SAP组	51	22.13 \pm 6.33 ^a	29.12 \pm 10.27 ^a	23.73 \pm 5.67 ^a
ACS组	71	30.5 \pm 10.48 ^{bc}	40.3 \pm 12.59 ^{bd}	29.47 \pm 7.16 ^b

a为 $P < 0.05$ b为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c为 $P < 0.05$ d为 $P < 0.01$, 与 SAP组比较。

2.2 冠状动脉病变支数对血清 sLR11、MRP8/14及 ECP水平的影响

冠状动脉 3支病变组 sLR11及 ECP水平显著高于单支病变组和 2支病变组 ($P < 0.01$), 而单支病变组与 2支病变组间差异无显著性 ($P >$

0.05); MRP8/14水平在单支病变组、2支病变组和 3支病变组之间差异无显著性 ($P > 0.05$ 表 2)。

表 2. 冠状动脉病变支数对血清 sLR11、MRP8/14及 ECP水平的影响

Table 2. The levels of sLR11, MRP8/14 and ECP in different groups according to the number of $\geq 50\%$ stenotic vessels

病变支数	n	sLR11(ng/L)	MRP8/14(ng/L)	ECP(μ g/L)
单支病变	32	21.3 \pm 4.23	30.4 \pm 5.54	20.4 \pm 3.28
2支病变	47	23.7 \pm 5.37	35.5 \pm 7.17	22.1 \pm 4.33
3支病变	43	31.8 \pm 7.87 ^{bc}	39.11 \pm 9.52	30. \pm 6.59 ^{ac}

a为 $P < 0.05$ b为 $P < 0.01$, 与单支病变组比较; c为 $P < 0.05$ 与 2支病变组比较。

2.3 冠心病患者血清 sLR11、MRP8/14及 ECP水平与 Gensini积分的关系

在 ACS组, sLR11及 ECP水平与 Gensini积分呈正相关 ($r = 0.736$ 和 0.672 $P < 0.01$); 在 SAP组, sLR11及 ECP水平亦与 Gensini积分呈正相关 ($r = 0.572$ 和 0.546 $P < 0.01$); 而 MRP8/14水平在 ACS组 ($r = 0.276$) 和 SAP组 ($r = 0.231$) 与 Gensini积分均无明显相关性 ($P > 0.05$)。

3 讨 论

近来有研究发现,循环中的 sLR11是颈动脉粥样硬化新的循环标志物,在内皮损伤的动脉壁上 sLR11表达明显增加,其致动脉粥样硬化与其它危险因素相比,其相关性是独立的^[6]。本研究显示 ACS组、SAP组血清 sLR11的水平明显高于对照组,随着冠状动脉病变支数的增加,血清 sLR11也逐渐增高, Gensini积分越高, sLR11水平也越高,表明 sLR11与冠状动脉病变程度呈正相关。这与 sLR11在动脉粥样硬化形成过程中有关, VSMC 从中膜迁移到内膜,之后内膜增厚,增生的 VSMC、基质成分及脂质池构成了粥样硬化斑块, sLR11是内膜 VSMC产生的^[7], 是内膜增厚的标志物。血管紧张素 ① 刺激 VSMC 的迁移依赖于 sLR11 的表达, sLR11的高表达提高了 VSMC 的迁移,加速了脂质巨噬细胞的形成^[8], 这表明循环中 sLR11水平影响冠状动脉内膜平滑肌细胞数量,提示 sLR11与冠状动脉狭窄病变程度密切相关,对冠心病的危险分层具有重要意义。

MRP8/14是钙调节蛋白 S100家族成员^[9], 调

节髓系细胞的功能及血管炎症并促进各种生物学反应,包括血管增生性反应,动脉介入后再狭窄及动脉粥样硬化的形成^[3,10]。人颈动脉粥样硬化斑块中包含 MRP8/14^[10,11],已有研究证实 MRP8/14 调节单核细胞、巨噬细胞依赖的动脉粥样硬化病变的形成。本实验 MRP8/14 在冠心病患者血清水平明显高于对照组,且 ACS 组与 SAP 组差异也有显著性,MRP8/14 水平和冠状动脉病变支数与病变积分间无显著相关,提示冠心病患者 MRP8/14 水平与动脉粥样硬化斑块的不稳定性有关,MRP8/14 水平越高,斑块越不稳定,而与冠状动脉狭窄程度无关,MRP8/14 尚不能作为判断冠状动脉狭窄程度的指标,亦证实了冠心病冠状动脉病变支数与狭窄程度不是 ACS 的决定因素,而易损斑块导致炎症反应及心肌缺血程度才是 ACS 的决定因素^[12]。

ECP 是含锌结构的高阳离子蛋白,在人类 BEAS-2B 细胞中^[13],ECP 可促进肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的表达而诱导细胞凋亡,在冠状动脉造影显示冠心病患者相对于非冠心病患者有高水平的嗜酸性粒细胞活化趋化因子 (eotaxin),在人类粥样硬化斑块也发现 Eotaxin mRNA 和蛋白表达增加。Emanuele 等^[14]已观察到冠状动脉病变支数与 Eotaxin 循环水平有关,表明嗜酸性粒细胞决定了粥样硬化斑块的负荷。有研究报道 C 反应蛋白 (CRP) 与粥样硬化斑块的不稳定性有关,而 ECP 与 CRP 不同,不能反映斑块的不稳定性^[15,16]。本研究冠心病组 ECP 水平明显高于对照组,3 支病变组明显高于单支及 2 支病变组,而后两组差异无显著性,且 ECP 水平与 Gensini 评分呈正相关,ACS 组 ECP 水平与 SAP 组差异无显著性。再次证实 ECP 是嗜酸性粒细胞活化的标志,与斑块的生长有关,而与斑块的不稳定性无关,不能提示冠心病的急性发展过程。

综上所述,sLR11、MRP8/14 及 ECP 三个血清生物化学指标在冠心病患者血清中表达水平均明显增高,对冠心病的危险因素分层具有重要意义。sLR11 水平可反映冠状动脉内膜血管平滑肌的病理生理状况,促进 VSMC 的迁移,加速动脉粥样硬化斑块的形成,与冠状动脉狭窄程度相关;MRP8/14 反映了粥样硬化斑块的不稳定性,可发展为新的易损斑块的标志物,作为 ACS 的早期预测指标;ECP 是冠状动脉狭窄严重程度的指标,与冠状动脉病变范围及斑块的生长稳定有关,反映了脂质斑块的负荷程度。因此,sLR11、MRP8/14 及 ECP 有望成为冠心病新的生物标志物,并且联合检测能提高其在冠心病

病诊断、病情演变及预后评估的临床应用价值。

[参考文献]

- [1] Matsuo M, Ebinuma H, Fukunachi I, et al. Development of an immunoassay for quantification of soluble LR11, a circulating marker of atherosclerosis [J]. Clin Chem, 2009, 55: 1794-800.
- [2] Tsimikas A. Detection of cystic fibrosis [J]. J R Soc Med, 1980, 73(1): 73-74.
- [3] Croce K, Gao H, Wang Y, et al. Myeloid-related protein-8/14 is critical for the biological response to vascular injury [J]. Circulation, 2009, 120(5): 427-436.
- [4] Venge P, Byström J, Carlsson M, et al. Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease [J]. Clin Exp Allergy, 1999, 29: 1172-1186.
- [5] Gensini MD, Goffredo G. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease [J]. Am J Cardiol, 1983, 51(3): 606-607.
- [6] Ohwaki K, Bujo H, Jiang M, et al. A secreted soluble form of LR11, specifically expressed in intimal smooth muscle cells, accelerates formation of lipid-laden macrophages [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(5): 1050-1056.
- [7] Takahashi M, Bujo H, Jiang M, et al. Enhanced circulating soluble LR11 in patients with coronary organic stenosis [J]. Atherosclerosis, 2010, 210(2): 581-584.
- [8] Jiang M, Bujo H, Ohwaki K, et al. Ang II-stimulated migration of vascular smooth muscle cells is dependent on LR11 in mice [J]. J Clin Invest, 2008, 118(8): 2733-2746.
- [9] Perera C, McNeil HP, Geczy CL. S100 calgranulins in inflammatory arthritis [J]. Immunol Cell Biol, 2010, 88(1): 41-49.
- [10] McCormick MM, Rahini F, Bobryshev YV, et al. S100A8 and S100A9 in human arterial wall: implications for atherogenesis [J]. J Biol Chem, 2005, 280(50): 41521-41529.
- [11] Ionita MG, Vink A, Dijk JE, et al. High levels of myeloid-related protein 14 in human atherosclerotic plaques correlate with the characteristics of rupture-prone lesions [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29(8): 1220-227.
- [12] 李建军. 炎症与动脉粥样硬化 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(S1): 65.
- [13] Chang KC, Lo CW, Fan TC, et al. TNF- α mediates eosinophil cationic protein-induced apoptosis in BEAS-2B cells [J]. BMC Cell Biol, 2010, 11: 6.
- [14] Emanuele E, Falcone C, D'Angelo A, et al. Association of plasma eotaxin levels with the presence and extent of angiographic coronary artery disease [J]. Atherosclerosis, 2006, 186: 140-145.
- [15] 胡文志, 孙烈, 杨季明, 等. 联合检测肌钙蛋白 T、高敏 C 反应蛋白和 B 型钠尿肽对非 ST 段抬高的急性冠状动脉综合征预后诊断的价值 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2007, 15(1): 61-63.
- [16] Giampaolo Niccolia, Giuseppe Ferrantea, Nicola Cosentinoa, et al. Eosinophil cationic protein: a new biomarker of coronary atherosclerosis [J]. Atherosclerosis, 2010, 211(2): 606-611.

(此文编辑 许雪梅)