

# 脑梗死患者血清抗 $\beta$ 2-糖蛋白 1 抗体水平变化与颈动脉粥样硬化的相关性

孙杨<sup>1</sup>, 刘志辉<sup>2</sup>, 汪明玉<sup>1</sup>, 杨同<sup>1</sup>, 王欣<sup>1</sup>

(1. 潍坊医学院临床学院神经精神病学教研室, 2. 潍坊医学院附属医院神经内科, 山东省潍坊市 261031)

[关键词] 血清抗  $\beta$ 2-糖蛋白 1 抗体; 颈动脉粥样硬化; 脑梗死; 危险因素

[摘要] **目的** 探讨脑梗死患者血清抗  $\beta$ 2-糖蛋白 1 ( $\beta$ 2-GPI) 抗体水平与颈动脉粥样硬化(CAS)斑块及其危险因素的相关性。**方法** 选取 303 例前循环脑梗死患者,应用血管多普勒超声仪进行颈部血管超声检测,根据有无 CAS 斑块及狭窄程度将患者分为三组,其中无斑块无狭窄组 79 例,有斑块无狭窄组 98 例,有斑块有狭窄组 126 例,有斑块有狭窄组中 1 级狭窄 41 例,2 级狭窄 34 例,3 级狭窄 30 例,4 级狭窄 21 例。采用 ELISA 检测患者血清抗  $\beta$ 2-GPI 抗体水平,用酶法测量血糖、甘油三酯及总胆固醇水平,用直接法测量血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平。**结果** 无斑块无狭窄组、有斑块无狭窄组、有斑块有狭窄组患者血清抗  $\beta$ 2-GPI 抗体水平分别为  $16.02 \pm 16.23$  kRU/L、 $21.43 \pm 16.15$  kRU/L、 $34.89 \pm 19.15$  kRU/L;有斑块无狭窄组、有斑块有狭窄组患者血清抗  $\beta$ 2-GPI 抗体水平明显高于无斑块无狭窄组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),有斑块有狭窄组患者血清抗  $\beta$ 2-GPI 抗体水平明显高于有斑块无狭窄组( $P < 0.01$ );血清抗  $\beta$ 2-GPI 抗体水平随 CAS 狭窄程度的增加而增高。Logistic 回归分析显示,抗  $\beta$ 2-GPI 抗体水平与 LDL-C 水平密切相关。**结论** 血清抗  $\beta$ 2-GPI 抗体参与动脉粥样硬化的形成、发展,LDL-C 是血清抗  $\beta$ 2-GPI 抗体增高的独立危险因素,血清抗  $\beta$ 2-GPI 抗体可作为 CAS 的血清生化指标之一。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## The Relationship Between Serum Level of Anti- $\beta$ 2-Glycoprotein 1 Antibody and Carotid Atherosclerosis in Patients with Cerebral Infarction

SUN Yang, LIU Zhi-Hui, WANG Ming-Yu, YANG Tong, and WANG Xin

(Department of Neurology and Psychiatry, Clinical Institute of Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261031, China)

[KEY WORDS] Serum Anti- $\beta$ 2-Glycoprotein 1 Antibody; Carotid Atherosclerosis; Cerebral Infarction; Risk Factors

[ABSTRACT] **Aim** To explore the relationship between serum levels of anti- $\beta$ 2-glycoprotein 1 (anti- $\beta$ 2-GPI) antibody and carotid atherosclerosis (CAS) and its risk factors in patients with cerebral infarction. **Methods** A total of 303 patients of anterior circulation cerebral infarction were recruited and carotid arteries were measured by vascular Doppler ultrasound instrument. According to the presence of carotid atherosclerotic plaque and the degree of carotid stenosis, the 303 patients were divided into three groups: no plaque and stenosis group (group A) with 79 cases, plaque but having no stenosis group (group B) with 98 cases, plaque and stenosis group (group C) with 126 cases. Among the 126 patients of carotid stenosis, case number of 1, 2, 3 and 4 grade of carotid stenosis was 41, 34, 30 and 21 respectively. The serum levels of anti- $\beta$ 2-GPI antibody were measured by ELISA, enzymatic was used to measure levels of blood sugar, triglyceride and total cholesterol, the direct method was used to measure the serum levels of low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C). **Results** The serum level of anti- $\beta$ 2-GPI antibody in patients of groups A, B, C was  $16.02 \pm 16.23$  kRU/L,  $21.43 \pm 16.15$  kRU/L,  $34.89 \pm 19.15$  kRU/L respectively. Serum level of anti- $\beta$ 2-GPI antibody between patients of group B and C was significantly higher than group A ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), serum level of anti- $\beta$ 2-GPI antibody was the highest in patients of group C. As carotid atherosclerosis stenosis pro-

[收稿日期] 2013-11-15

[作者简介] 孙杨, 硕士研究生, 研究方向为脑血管病, E-mail 为 sunyoung0532@126.com。通讯作者刘志辉, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为脑血管病, E-mail 为 wendaoshi@sohu.com。汪明玉, 硕士研究生, 研究方向为脑血管病。

gressed, serum level of anti- $\beta$ 2-GPI antibody increased. Serum level of anti- $\beta$ 2-GPI antibody was positively associated with LDLC. **Conclusions** Serum levels of anti- $\beta$ 2-GPI antibody play a role in the occurrence and development of carotid stenosis and LDLC was the independent risk factor of increased serum level anti- $\beta$ 2-GPI antibody. Serum anti- $\beta$ 2-GPI antibody may be used as one of the serum biochemical indexes of carotid artery atherosclerosis.

颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis, CAS)与脑梗死有着密切的关系,国内外已有大量研究报告<sup>[1]</sup>,至少60%以上的缺血性脑血管病患者伴有不同程度的CAS斑块,但因其发病机制尚未完全明确<sup>[2]</sup>,因而缺乏早期实验室诊断指标和有效的预防及治疗手段。近年来,有研究认为自身免疫应答参与动脉粥样硬化的发生、发展。越来越多的临床和实验室研究证实,不仅在抗磷脂综合症(antiphospholipid syndrome, APS)患者中,甚至在一般人群中,抗 $\beta$ 2-糖蛋白1( $\beta$ 2-glycoprotein 1,  $\beta$ 2-GPI)抗体与动脉粥样硬化形成密切相关<sup>[3-5]</sup>。本研究通过对303例前循环脑梗死患者血清抗 $\beta$ 2-GPI抗体水平及超声CAS检测,探讨血清抗 $\beta$ 2-GPI抗体水平与CAS斑块及相关危险因素之间的相关性。

## 1 对象和方法

### 1.1 一般资料

选取2012年6月至2013年6月我院神经内科住院的前循环脑梗死患者303例作为研究对象,其中男性164例,女性139例,年龄34~87岁,平均 $64.55 \pm 10.39$ 岁。判断标准:①前循环脑梗死诊断均符合2007年《中国脑血管病防治指南》<sup>[6]</sup>诊断标准,并经头部CT或MRI证实;②2型糖尿病:既往糖尿病,空腹血糖 $>7.0$  mmol/L,餐后2 h血糖 $>11.1$  mmol/L,急性脑梗死后血糖升高而既往无糖尿病史的患者不计入糖尿病组;③高血压病:收缩压 $\geq 140$  mmHg或舒张压 $\geq 90$  mmHg,或既往有高血压病史,正在使用降压药物的患者;④高脂血症:空腹总胆固醇(total cholesterol, TC) $>6.2$  mmol/L,甘油三酯(triglyceride, TG) $>1.71$  mmol/L,低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC) $>3.1$  mmol/L,高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC) $<1.2$  mmol/L,或正在使用降脂药物的高脂血症患者;⑤饮酒:每天至少1瓶啤酒或一两白酒,持续至少1年;⑥吸烟:每天至少1支,持续至少1年<sup>[7]</sup>。排除标准:有严重心、肝、肾功能不全者,有其他脑部器质性病变者,安装冠状动脉支架及心脏起搏器等金属植入物者,行磁共振检查及CT检查不合作者。

### 1.2 血清抗 $\beta$ 2-GPI抗体、血糖、血脂水平测定

所有患者均于住院次日清晨空腹采肘静脉血5 mL, 2 mL用于血清抗 $\beta$ 2-GPI检测,试剂盒购自德国欧蒙公司,采用ELISA测定,微孔板包被有 $\beta$ 2-GPI抗体,3种标准品抗体含量依次为2 kRU/L, 20 kRU/L, 200 kRU/L,严格按照说明书进行操作,样本用样本缓冲液1:201稀释,经过样本育温、清洗、酶结合物育温、清洗、底物育温后,滴加终止液,酶标仪于450/620 nm波长处测A值,并根据标准曲线换算成含量值。3 mL肘静脉血用于测定血糖与血脂,己糖激酶法测定血糖,直接法测定LDLC和HDLC,酶法测定TG和TC。血清抗 $\beta$ 2-GPI抗体判定标准:欧蒙实验室推荐以20 kRU/L作为正常上限,超过20 kRU/L为阳性,低于20 kRU/L为阴性。

### 1.3 颈动脉血管超声检测

使用西门子公司西门子2000血管超声多普勒,探头型号为9L4Multi-D,频率为9 MHz。检测指标:①颈动脉内膜中膜厚度(carotid intima-media thickness, IMT):颈总动脉距离分叉处1.5 cm处测量远场血管壁的内中膜厚度,颈内动脉IMT在颈总动脉分叉处1.0 cm远处测量远场血管壁的IMT厚度,测量3次,取其平均值;②斑块:颈动脉IMT不规则增厚 $>1.2$  mm均认为有斑块形成。根据超声结果将所有入组患者分为三组:无斑块无狭窄组、有斑块无狭窄组、有斑块有狭窄组。采用欧洲协作组制定标准测定狭窄程度:狭窄程度(%) =  $1 - \text{病变部位最窄端直径} / \text{狭窄远端正常动脉管径} \times 100\%$ , 0级:血管直径正常;1级:血管狭窄 $<50\%$ ;2级:血管狭窄 $50\% \sim 90\%$ ;3级:血管狭窄 $91\% \sim 99\%$ ;4级:血管闭塞。

### 1.4 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用 $t$ 检验,计数资料用 $\chi^2$ 检验,多组间比较用方差分析,相关性分析采用Logistic回归分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学显著性。

## 2 结果

### 2.1 血清抗 $\beta$ 2-GPI抗体水平比较

无斑块无狭窄组患者79例,有斑块无狭窄组患

者 98 例,有斑块有狭窄组患者 126 例,三组患者血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平分别为  $16.02 \pm 16.23$  kRU/L、 $21.43 \pm 16.15$  kRU/L、 $34.89 \pm 19.15$  kRU/L,有斑块无狭窄组、有斑块有狭窄组患者血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平明显高于无斑块无狭窄组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),有斑块有狭窄组患者血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平明显高于有斑块无狭窄组 ( $P < 0.01$ )。

## 2.2 血清抗 $\beta 2$ -GP1 抗体水平与 CAS 狭窄程度的关系

有 CAS 狭窄患者 126 例 (41.58%),无 CAS 狭窄患者 177 例 (58.42%),有 CAS 狭窄患者血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平为  $34.89 \pm 19.15$  kRU/L,明显高于无 CAS 狭窄患者 ( $19.02 \pm 16.37$  kRU/L,  $P < 0.01$ )。1 级狭窄患者 41 (13.53%) 例,2 级狭窄患者 34 (11.22%) 例,3 级狭窄患者 30 (9.90%) 例,4 级狭窄患者 21 (6.93%) 例。在 1~3 级 CAS 狭窄患者中,血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平有显著差异 ( $P < 0.05$ );但在 3~4 级 CAS 狭窄患者中,血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平无显著性差异 ( $P > 0.05$ ;表 1)。

表 1. 不同颈动脉狭窄患者血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平比较

Table 1. Comparison of serum levels of anti- $\beta 2$ -GP1 antibody in different CAS patients

| 狭窄分级 | 例数          | 血清抗 $\beta 2$ -GP1 抗体(kRU/L) |
|------|-------------|------------------------------|
| 1 级  | 41 (13.53%) | $24.85 \pm 16.34$            |
| 2 级  | 34 (11.22%) | $33.73 \pm 18.21^a$          |
| 3 级  | 30 (9.90%)  | $42.61 \pm 18.55^{ab}$       |
| 4 级  | 21 (6.93%)  | $45.66 \pm 16.68^{ab}$       |

a 为  $P < 0.05$ ,与 1 级比较; b 为  $P < 0.05$ ,与 2 级比较。

## 2.3 血清抗 $\beta 2$ -GP1 抗体水平与相关危险因素的关系

对 CAS 的各相关危险因素进行回归分析,发现血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体阳性与高血压病、糖尿病、TC、TG、性别、年龄、饮酒无明显相关 (均  $P > 0.05$ ),而与 LDLC、HDLc、吸烟明显相关 (均  $P < 0.05$ )。对其进行 Logistic 多因素回归分析,结果显示血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体阳性只与 LDLC 显著相关 (OR = 2.83,  $P = 0.001$ ,表 2),提示 LDLC 是患者发生抗  $\beta 2$ -GP1 抗体阳性的独立危险因素。

表 2. 血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平与相关危险因素的 Logistic 回归分析

Table 2. Logistic regression analysis of serum anti- $\beta 2$ -GP1 antibody level and the associated risk factors

| 项目   | 回归系数 ( $\beta$ ) | Wald   | OR 值  | P 值   | 95% CI |       |
|------|------------------|--------|-------|-------|--------|-------|
|      |                  |        |       |       | 下限     | 上限    |
| LDLC | 1.040            | 11.929 | 2.830 | 0.001 | 1.568  | 5.106 |
| HDLc | -0.263           | 0.580  | 0.769 | 0.446 | 0.391  | 1.512 |
| 吸烟   | -0.580           | 1.678  | 0.560 | 0.195 | 0.233  | 1.347 |

## 3 讨论

近年来国外研究认为,自身免疫因素与动脉粥样硬化的发病相关,Ames 等学者把 IgG 类 aCL (其中包括抗  $\beta 2$ -GP1) 作为颈动脉 IMT 独立的危险因素,包括先天免疫及后天获得性免疫,如感染性因素 (病毒或细菌)、炎症性因素<sup>[8]</sup> (致炎因子、细胞黏附分子等) 及免疫因子 (巨噬细胞、T 细胞、B 细胞、抗体等)。目前研究发现,抗  $\beta 2$ -GP1 可能从以下几个方面影响动脉粥样硬化斑块的形成<sup>[9-11]</sup>: ①促进巨噬细胞摄取氧化型低密度脂蛋白; ②引起局部免疫炎症反应,造成血管内皮损伤,在动脉粥样硬化形成中起重要作用; ③干扰活化的蛋白 C 灭活凝血因子 V,促进血栓形成; ④直接通过 PLT 表面受体激活途径,或通过活化内皮细胞、单核细胞等方式间接活化血小板,使其不断黏附聚集,最后形成血栓。

本研究通过对无斑块无狭窄、有斑块无狭窄和有斑块有狭窄三组患者血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平检测发现,血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平在有斑块有狭窄组患者中最高,在有斑块无狭窄组患者中次之,而在无斑块无狭窄组患者中水平最低。在 0~3 级的 CAS 狭窄患者中,血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平随着狭窄程度的增加而升高,提示抗  $\beta 2$ -GP1 抗体参与了动脉粥样硬化斑块的形成、发展,但在 3、4 级 CAS 狭窄患者中,血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平并无显著性差异,尚不能认为在 CAS 管腔狭窄  $> 91\%$  时,血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平对 CAS 狭窄程度有进一步的影响,但考虑 3~4 级颈动脉狭窄患者样本量较小,或存在统计学误差,需要更深入的临床研究。

本研究同时显示,在目前公认的众多与 CAS 相关的危险因素中<sup>[12]</sup>,LDLC 与血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平相关,是抗  $\beta 2$ -GP1 抗体阳性的独立危险因素,LDLC 每升高一个单位,则患者血清抗  $\beta 2$ -GP1 阳性的概率是之前的 2.83 倍。而高血压、血脂作为已知的动脉粥样硬化形成的重要因素之一<sup>[13]</sup>,与脑梗死患者血清抗  $\beta 2$ -GP1 并无明显相关性,与 Passam<sup>[14]</sup> 等专家研究一致,但同时, Frostegard、Chen<sup>[15]</sup> 等研究显示,血清抗  $\beta 2$ -GP1 抗体水平与血压呈正相关,人种差异、入组样本量及标准的不同,或许是其产生差异的原因之一。而目前国内相关的报道及研究较少,尚需更广泛的实验室和临床研究探索。

CAS 是脑梗死发生、发展的独立危险因素之一<sup>[16]</sup>,动脉粥样硬化的形成、发展与并发症的出现,都与血管内的炎症反应有关,其中免疫反应扮演了尤其重要的角色<sup>[17]</sup>。抗磷脂抗体综合征 (antiphospho-

pholipid syndrome, APS) 是一种非炎症性自身免疫性血栓性疾病。临床上以反复发作性动脉、静脉血栓形成、习惯性流产等为主要表现,其基本病理改变为血管内血栓形成,并导致相应脏器和系统的功能异常。在人类动脉粥样硬化病灶处及动物实验<sup>[18]</sup>中均检测到多种抗磷脂抗体(antiphospholipid antibody, APL),其中包括抗  $\beta 2$ -GPI 抗体。近年发现,抗磷脂抗体具有明显的异质性,不同亚群针对以  $\beta 2$ -GPI 为主的抗原的不同表位产生抗体,在抗磷脂抗体综合症的病理机制中发挥重要作用,而对部分无明显自身免疫性疾病背景的患者进行研究,结果显示抗磷脂抗体有可能导致动脉粥样硬化的亚临床状态,即高分辨率超声检测显示颈动脉 IMT 增厚。从中可以推测,在部分无明显高危因素的脑梗死患者中,血清抗  $\beta 2$ -GPI 抗体检测是提前预防及明确病因的方法之一。尽管血清抗  $\beta 2$ -GPI 在动脉粥样硬化发病机制中的确切作用仍有待于进一步研究,但从目前国内外研究成果看,抗  $\beta 2$ -GPI 参与了其发生发展的多个环节,通过检测血清抗  $\beta 2$ -GPI 抗体水平,不仅能为动脉粥样硬化提供辅助诊断依据,亦能更好地提前预防脑梗死的发生。

#### [参考文献]

- [1] 李召晨, 杜瑞艳, 王洪娟, 等. 颈动脉粥样硬化与急性脑梗死关系的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23 (6): 89-93.
- [2] 李爱松, 李婧. 动脉粥样硬化相关基因与缺血性卒中的相关性研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2011, 38 (5): 477-481.
- [3] Xie W, Zhang Y, Bu C, et al. Anti-coagulation effect of Fc fragment against anti- $\beta 2$ -GPI antibodies in mouse models with APS[J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11 (1): 136-140.
- [4] Mishra MN, Rohatgi S. Antiphospholipid antibodies in young Indian patients with stroke [J]. Postgrad Med, 2009, 55 (3): 161-164.
- [5] Tripodi A, de Groot PG, Pengo V. Antiphospholipid syndrome: laboratory detection, mechanisms of action and treatment[J]. Int Med, 2011, 270 (2): 110-122.
- [6] 卫生部疾病预防控制局和中华医学会神经病学分会.

中国脑血管病防治指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 47-48.

- [7] 李静乐, 周宇, 梁中书, 等. 吸烟对氨氯地平降压疗效及肱踝脉搏波传导速度的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20 (7): 616-618.
- [8] 刘立新, 魏广和, 张韶辉, 等. 内皮脂酶在动脉粥样硬化及冠心病中的研究进展[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2012, 32 (1): 59-63.
- [9] Ames PR, Alves JD, Lopez LR, et al. Antibodies against  $\beta 2$ -glycoprotein I complexed with an oxidized lipoprotein relate to intima thickening of carotid arteries in primary antiphospholipid syndrome[J]. Clin Dev Immunol, 2006, 13 (1): 1-9.
- [10] Jara LJ, Medina G, Vera-Lastra O. Systemic antiphospholipid syndrome and atherosclerosis[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2007, 32: 172-177.
- [11] Greco TP, Conti-Kelly AM, Greco TJr. Newer antiphospholipid antibodies predict adverse outcomes in patients with acute coronary syndrome[J]. Am J Clin Pathol, 2009, 132 (4): 613-620.
- [12] 李刚. 抗  $\beta 2$ -GPI/ $\beta 2$ -GPI 与 PLT 活化[J]. 检验医学, 2013, 5 (28): 448-451.
- [13] 周筱琼, 于小妹, 叶雄, 等. 高脂血症患者血浆致动脉粥样硬化指数与血栓形成危险因子的相关性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (10): 799-802.
- [14] Passam FH, Rahgozar S, Qi M, et al. Redox control of  $\beta 2$ GPI-von Willebrand factor interaction by thioredoxin-1 [J]. J Thromb Haemost, 2010, 8 (8): 1754-762.
- [15] Chen WH. Anti-beta2-Glycoprotein I antibody and hypertension in cerebral ischemia[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2004, 10 (1): 55-60.
- [16] 张金刚. 不稳定性颈动脉斑块的临床相关性研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2007, 7 (2): 262-265.
- [17] 刘俊, 李建军. 动脉粥样硬化中的免疫调节[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19 (11): 957-962.
- [18] Arad A, Proulle V, Furie RA, et al.  $\beta 2$ -Glycoprotein-1 autoantibodies from patients with antiphospholipid syndrome are sufficient to potentiate arterial thrombus formation in a mouse model[J]. Blood, 2011, 117 (12): 3453-459.

(此文编辑 文玉珊)