

究[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(11): 3056-3057.

[16] WU Q, HUANG H, SUN X, et al. Telbivudine prevents vertical transmission of hepatitis B virus from women high viral loads; a prospective long-term study[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2015, 13(6): 1170-1176.

[17] YU M M, JIANG Q, JI Y, et al. Comparison of telbivudine versus lamivudine in interrupting perinatal transmission of hepatitis B virus[J]. J Clin Virol, 2014, 61(1): 55-60.

[18] HAN G R, JIANG H X, YUE X, et al. Efficacy and safety of telbivudine treatment; an open-label, prospective study in pregnant women for the prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus infection[J]. J Viral Hepatol, 2015, 22(9): 754-762.

(收稿日期: 2017-07-15 修回日期: 2017-09-26)

• 短篇论著 •

## 脂蛋白相关磷脂酶 A2 酶活性及其基因 R92H 多态性与冠心病的相关性研究\*

张光辉<sup>1</sup>, 周金敬<sup>2</sup>, 陈爱保<sup>1</sup>

(1. 深圳恒生医院检验科, 广东深圳 518102; 2. 深圳市孙逸仙心血管医院检验科, 广东深圳 518101)

**摘要:**目的 探讨脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 酶活性及其基因 R92H 多态性与冠心病的相关关系。方法 选取深圳恒生医院及深圳市孙逸仙心血管医院经冠状动脉造影确诊为冠心病的患者 120 例纳入观察组。根据累及支数定义为单支病变、多支病变, 并作 Gensini 评分。另取同期深圳恒生医院 120 例健康体检者纳入对照组。分别检测受试者 Lp-PLA2 水平及其基因 R92H 多态性情况, 并进行对比分析。结果 观察组血清 Lp-PLA2 水平明显高于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而观察组患者随着病变程度及 Gensini 积分的不断增加, Lp-PLA2 水平也呈逐渐上升趋势, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。观察组 RR 基因型人数所占比例明显低于对照组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。在观察组中, RR 基因型患者的多支病变人数所占比例及 Gensini 积分明显低于 RH+HH 基因型患者, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 Lp-PLA2 水平及其基因 R92H 多态性与冠心病存在密切相关性。

**关键词:**脂蛋白相关磷脂酶 A2 基因; 多态性; 冠心病; 冠状动脉造影

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.04.035

**中图法分类号:**R541.4

**文章编号:**1673-4130(2018)04-0498-03

**文献标识码:**B

冠心病属于临床上较为常见的内科疾病之一, 该病患者主要临床表现为心慌、憋气、胸痛等, 病情严重患者甚至会出现濒死感<sup>[1]</sup>。其主要发病机制是由于冠状动脉粥样硬化引起管腔狭窄、血栓形成, 最终导致心肌缺血<sup>[2]</sup>。近年来有不少研究表明, 炎症在冠状动脉粥样硬化过程中起着至关重要的作用, 其主要参与了粥样斑块形成、进展和最终破裂的过程<sup>[3]</sup>。目前, 炎性反应细胞与其所释放的产物均被认为是促进动脉粥样硬化的主要因素<sup>[4-5]</sup>。因此, 通过研究新的炎性反应介质和冠心病的关系, 对提高冠心病的诊断和防治水平均有重要意义<sup>[6]</sup>。鉴于此, 本研究通过分析脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 活性及其基因 R92H 多态性与冠心病的相关关系, 旨在为临床治疗提供数据支持, 现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取深圳恒生医院及深圳市孙逸仙心血管医院经冠状动脉造影检测确诊为冠心病的患

者 120 例纳入观察组, 其中男 84 例, 女 36 例, 年龄 42~78 岁, 平均  $(61.2 \pm 5.2)$  岁。所有患者均符合 1979 年世界卫生组织制定的缺血性心脏病诊断标准, 即以冠状动脉造影各主要分支存在  $\geq 50\%$  狭窄记为有意义病变。另取同期深圳恒生医院 120 例健康体检者纳入对照组, 纳入标准: (1) 经临床及实验室检查确定为非冠心病、高血压及糖尿病患者; (2) 无肿瘤疾病; (3) 不伴有肝、肾等脏器功能障碍者; (4) 无炎症、风湿免疫疾病者, 其中男 81 例, 女 39 例, 年龄 43~79 岁, 平均  $(61.3 \pm 5.3)$  岁。两组研究对象性别、年龄等资料比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。本研究所有研究对象均签署了知情同意书, 且经医院伦理委员会批准。

**1.2 检测方法** (1) Lp-PLA2 检测: 所有研究对象均在接受冠状动脉造影前抽取空腹静脉血 3 mL, 采用酶联免疫吸附法测定 Lp-PLA2 水平, 具体操作严格按照试剂盒说明书进行, 试剂盒购自美国 ADL 公司。

\* 基金项目: 深圳市科技研发资金资助项目 (JCYJ20150402115458642)。

本文引用格式: 张光辉, 周金敬, 陈爱保. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 酶活性及其基因 R92H 多态性与冠心病的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(4): 498-500.

采用 BioTek Elx808 全自动酶标仪读取各孔的 Lp-PLA2 值。(2)Lp-PLA2 基因 R92H 位点的基因型检测:首先采用 Primer5.0 引物设计软件设计引物与探针,其中引物序列为上游 5'-GTG AAC ACA GAG GTA TTT GAG TCC CCA C-3',下游 5'-TAA CCT GCT ATT CTC ACC ACG GTA TTG C -3',引物由北京六合华大基因科技有限公司进行合成及修饰。随后利用单荧光标记探针技术检测单核苷酸多态性,其中 PCR 总反应体系为 25  $\mu$ L,DNA 模板为 2  $\mu$ L,10 $\times$ Buffer 缓冲液 25  $\mu$ L,2.5  $\mu$ L 浓度为 25 mmol/L 的 MgCl<sub>2</sub>,4  $\times$  dNTP 0.5  $\mu$ L,0.1  $\mu$ L 浓度为 100  $\mu$ mol/L 的引物,0.2  $\mu$ L 浓度为 100  $\mu$ mol/L 的探针,5 000 ku/L 的 TaqDNA 聚合酶 0.25  $\mu$ L 及蒸馏水 16.85  $\mu$ L。循环参数为 95  $^{\circ}$ C 变性 1 min,95  $^{\circ}$ C 退火 10 s,65  $^{\circ}$ C 延伸 40 s,共 40 个循环,随后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。最后进行基因测序,选取 PCR 扩增良好的产物实施 DNA 的测序分析(由北京六合华大基因科技有限公司操作)。Lp-PLA2 基因 R92H 的多态性位点包括 RR 型、RH 型及 HH 型等 3 种基因型。

**1.3 观察指标** 分别比较观察组及对照组的血清 Lp-PLA2 水平及其基因型分布情况,同时对比分析 Lp-PLA2 及其基因型多态性与患者病变程度、Gensini 积分的关系。其中 Gensini 积分判定方法如下:(1)狭窄程度 $\leq$ 25%记为 1 分;(2)狭窄程度为 26%~50%记为 2 分;(3)狭窄程度为 51%~75%记为 4 分;(4)狭窄程度为 76%~90%记为 8 分;(5)狭窄程度 91%~99%记为 16 分;(6)狭窄程度为 100%记为 32 分;对于不同节段狭窄评分需乘以对应系数,最后所得值即为 Gensini 评分。其中左主干系数为 5;左前降支与回旋支段为 2.5;左前降支中段为 1.5;左前降支远端、回旋支中段、右冠状动脉及后降支均为 1;其他阶段为 0.5。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS21.0 软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布的计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,组间比较采用  $t$  检验,计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 两组研究对象血清 Lp-PLA2 水平分析** 观察组血清 Lp-PLA2 水平较对照组明显升高,差异有统计学意义( $t=7.442,P=0.000$ );且观察组患者随着病变程度及 Gensini 积分的不断增加,患者 Lp-PLA2 水平也呈逐渐上升趋势,差异均有统计学意义( $F=5.093,P=0.000;F=6.732,P=0.000$ )。见表 1。

**2.2 两组研究对象 R92H 基因型分布情况分析** 对照组 RR 与 RR+HH 基因型分别为 96 例(80.00%)、24 例(20.00%),观察组 RR 与 RR+HH 基因型分别为 39 例(32.5%)、81 例(67.5%),观察组 RR 基因型人数所占比例明显低于对照组,差异有统

计学意义( $P<0.05$ )。在观察组中,RR 基因型患者的多支病变人数所占比例及 Gensini 积分明显低于 RH+HH 基因型患者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 1 两组研究对象血清 Lp-PLA2 水平分析( $\bar{x}\pm s$ ,ng/mL)		
组别	<i>n</i>	Lp-PLA2
对照组	120	154.2 $\pm$ 63.4
观察组	120	
冠状动脉病变程度		
单支病变	39	209.4 $\pm$ 46.7
多支病变	81	258.9 $\pm$ 51.3
冠状动脉 Gensini 积分(分)		
0~<20	35	204.5 $\pm$ 47.2
20~<40	45	241.7 $\pm$ 38.1
$\geq$ 40	40	286.2 $\pm$ 49.2

表 2 观察组不同基因型与病变程度、Gensini 积分的关系分析			
基因型	冠状动脉病变程度[ <i>n</i> (%)]		冠状动脉 Gensini 积分( $\bar{x}\pm s$ ,分)
	单支病变	多支病变	
RR	33(40.74)	48(59.26)	31.2 $\pm$ 13.4
RH+HH	6(15.38)	33(84.62)	48.2 $\pm$ 16.4
$\chi^2/t$	7.715		6.043
<i>P</i>	0.005		0.000

3 讨 论

冠心病主要因为患者冠状动脉功能性改变或器质性病变导致冠脉血流和心肌需求之间的平衡被打破,最终引发了心肌损伤<sup>[7-8]</sup>。其确切病因至今尚未完全明确。近年来,研究结果表明遗传因素在心血管疾病中具有极其重要的作用<sup>[9]</sup>,而随着心血管疾病相关基因的定位与识别,现普遍认为 Lp-PLA2 基因多态性与冠心病传统危险因子协同增加了患冠心病的风险,Lp-PLA2 基因也被列入了冠心病研究的备选基因之一。Lp-PLA2 属于一种新型的炎性反应介质,其主要作用机制是促进冠状动脉粥样硬化,直接参与了粥样斑块形成的发生、发展、不稳定性及破裂的过程<sup>[10]</sup>,其作为一种新的炎性反应介质在评估冠心病风险方面受到人们的广泛关注,是一个独立的冠心病危险预测因子。

本研究发现观察组血清 Lp-PLA2 水平明显高于对照组,与燕蒲娟等<sup>[11]</sup>和郑冠群等<sup>[12]</sup>的研究报道一致,进一步证实 Lp-PLA2 参与了冠心病的发生、发展。同时,本研究结果显示,随着病变程度及 Gensini 积分的不断增加,患者 Lp-PLA2 水平也呈逐渐上升趋势,表明 Lp-PLA2 可用于冠心病的病情判断。Lp-PLA2 参与冠心病的主要机制可能是 Lp-PLA2 首先

和 LDL 相结合,随后通过血液循环运送至遭受损害的动脉壁,并通过将动脉内膜低密度脂蛋白最外层上的磷脂进行水解,从而形成溶血卵磷脂及游离的氧化脂肪酸<sup>[13]</sup>,二者均属于促炎介质,可在一定程度上刺激单核细胞趋化因子及促动脉粥样硬化因子等黏附因子和细胞因子的产生,从而对内皮内的 CO 形成抑制作用,并使单核细胞自管腔朝内膜不断聚集,而单核细胞则在内膜聚集后逐渐衍生为巨噬细胞,进而对氧低密度脂蛋白实施吞噬氧化,使其成为凋亡的泡沫细胞。这些具有活化的巨噬细胞及泡沫细胞会生成大量的 Lp-PLA2 重返于血液循环中,并重复上述过程。而凋亡的泡沫细胞不断聚集会成为动脉粥样硬化斑块,从而释放出一定量的细胞因子和蛋白酶,针对纤维帽的有关平滑肌细胞和胶原基质产生降解作用,进一步导致斑块变得脆弱、破裂,最终诱发动脉粥样硬化的发生和发展,导致血栓形成及心血管事件的发生。

此外,观察组 RR 基因型人数所占比例明显低于对照组,而 RR+HH 基因型人数所占比例明显高于对照组,且本研究结果还显示了 RR 基因型患者的多支病变人数所占比例及 Gensini 积分明显低于基因型 RH+HH 患者,这提示 Lp-PLA2 基因多态性可能与冠心病密切相关。Lp-PLA2 作为一种炎症因子,其编码基因 Lp-PLA2 的多态性位点与冠心病发病有一定联系,其中 R92H 属于 LP-PLA2 基因第 4 外显子 rs1805017 位置上编码的精氨酸转变为组氨酸,由于受编码氨基酸不同的影响从而形成了 92R 与 92H 这 2 个等位基因。而王贤进等<sup>[14]</sup>和马莎<sup>[15]</sup>的研究也显示了冠心病患者 R92H 基因位点上的 H 等位基因频率明显多于对照组,说明 R92H 基因多态性可能与冠心病密切相关。作者认为 Lp-PLA2 基因多态性位点可能和 R92H 或其他基因功能区多态位点或影响该基因表达功能结构区侧翼核苷酸片段出现连锁不平衡,从而共同作用,影响转录和调控,且在机体受外界致病因素的影响状态下,上述基因发生变化,进一步导致冠心病的发生。

综上所述,Lp-PLA2 水平能有效反映冠心病患者的严重程度,而 Lp-PLA2 基因 R92H 多态性与冠心病遗传易感性独立相关。

## 参考文献

[1] GOGLIN S E, FARZANEH-FAR R, EPEL S, et al. Correction: change in leukocyte telomere length predicts mortality in patients with stable coronary heart disease from the heart and soul study[J]. PLoS One, 2016, 11(12): 168868-168869.

[2] PIZZI C, XHYHERI B, COSTA G M, et al. Nonobstructive versus obstructive coronary artery disease in acute coronary syndrome: a Meta-analysis[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(12): 4185-4186.

[3] 潘晨亮, 彭瑜, 张征. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠心病的相关性研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(1): 90-94.

[4] 梁家志, 陈志勇, 张志广, 等. 冠心病合并糖尿病患者 HbA1c、Lp-PLA2、Hcy 水平分析[J]. 中国现代药物应用, 2016, 10(16): 10-11.

[5] EDMUND ANSTEY D, LI S, THOMAS L, et al. Race and sex differences in management and outcomes of patients after st-elevation and non-st-elevation myocardial infarct: results from the NCDR[J]. Clin Cardiol, 2016, 39(10): 585-595.

[6] HATA R, KADOTA K, HYODO Y, et al. TCT-243 Second generation drug-eluting stents or coronary bypass surgery in patients with three-vessel coronary disease[J]. J Am Coll Cardiol, 2016, 68(18S): B99.

[7] KIM J W, SIM H T, YOO J S, et al. Results of protocol-based perioperative management in off-pump coronary artery bypass grafting for patients with non-dialysis-dependent chronic kidney disease[J]. Korean J Thorac Cardiovasc Surg, 2016, 49(6): 427-434.

[8] 杜文涛, 石雪, 乔艳, 等. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠脉斑块严重程度的关系及不同剂量瑞舒伐他汀对其浓度的影响[J]. 中国药师, 2016, 19(6): 1126-1129.

[9] 梁家志, 陈志勇, 张志广, 等. HbA1c、Lp-PLA2、Hcy 水平与冠心病合并糖尿病患者 PCI 术后不良事件的相关性研究[J]. 中国实用医药, 2016, 11(29): 72-73.

[10] 岳志红, 营广敏, 贾玫, 等. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 酶活性水平及其 I198T 基因多态性与冠心病的相关性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(2): 156-160.

[11] 燕蒲娟, 来春林, 王继荣, 等. 高血压合并冠心病病人脂蛋白相关磷脂酶 A2、类胰蛋白酶水平变化的相关研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(13): 1445-1448.

[12] 郑冠群, 盛晓东, 周建龙, 等. 高敏 C 反应蛋白、同型半胱氨酸、白细胞介素 2 和脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠心病的相关性研究[J]. 中国心血管杂志, 2016, 21(3): 50-54.

[13] 李琳, 李芳, 肖婷, 等. 冠心病患者血清活化 T 细胞趋化因子水平变化及与髓过氧化物酶、脂蛋白磷脂酶 A2 水平和全球急性冠状动脉事件注册评分的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(3): 585-587.

[14] 王贤进, 赵艳芳. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠心病的相关性研究进展[J]. 医学综述, 2016, 22(17): 3363-3366.

[15] 马莎. Lp-PLA2 基因多态性与冠心病关联研究[J]. 重庆医学, 2013, 42(14): 1657-1659.

(收稿日期: 2017-07-27 修回日期: 2017-10-26)