

脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠心病的相关性研究进展

李文松¹ 张润峰^{1,2}

(1. 西南医科大学附属医院心血管内科, 四川 泸州 646000; 2. 绵阳市第三人民医院心血管内科, 四川 绵阳 621000)

【摘要】目前中国居民冠心病的发病率和死亡率逐年增高。研究发现动脉粥样硬化是一个血管炎症反应的过程, 传统的血清炎症标志物与冠心病的相关性缺乏特异性。新型血清炎症标志物血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠心病的相关性尚未得到证实。现就脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠心病的相关性研究进展做一综述。

【关键词】脂蛋白相关磷脂酶 A2; 冠心病; 炎症反应

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2020.01.023

Lipoprotein-associated Phospholipase A2 and Coronary Heart Disease

LI Wensong¹, ZHANG Runfeng^{1,2}

(1. Department of Cardiology, The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China; 2. Department of Cardiology, The Third Hospital of Mianyang, Mianyang 621000, Sichuan, China)

【Abstract】 At present, the morbidity and mortality of coronary heart disease in Chinese residents have increased year by year. Studies have found that atherosclerosis is a process of vascular inflammatory response, and the association between traditional serum inflammatory markers and coronary heart disease is lacking in specificity. The correlation of the novel serum inflammatory marker plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 with coronary heart disease has not been confirmed. This article reviews the research progress of the relationship between lipoprotein-associated phospholipase A2 and coronary heart disease.

【Key words】 Lipoprotein-associated phospholipase A2; Coronary heart disease; Inflammation

近年来,中国城乡居民冠心病患病率和死亡率逐年增加,据统计中国目前冠心病患病人数为 1 100 万^[1]。目前认为动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一个血管炎症反应的过程,血管内皮损伤致内皮细胞激活是炎症反应中的重要事件。传统的血清炎症标志物,如 C 反应蛋白、白介素和肿瘤坏死因子等,已被证实与冠心病的病变程度和预后等明确相关,但它们的检测值受感染和应激等多种疾病的影响而缺乏特异性。新型血清炎症标志物脂蛋白相关磷脂酶 A2 (lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2) 成为目前的研究热点,它反映 AS 斑块的稳定性和炎症的严重程度,具有早期识别、高度特异性和检测简便等特点。多项研究结果表明 Lp-PLA2 是冠心病的独立风险因素,但其与冠心病预后的相关性得出的结论不一致,将 Lp-PLA2 作为治疗靶点的相关研究亦得出阴性结果。现就 Lp-PLA2 的生物学特性、致 AS 的机

制、检测方法、基因多态性、与冠心病的相关性、治疗手段等研究进展做一综述。

1 Lp-PLA2 的生物学特性和 Lp-PLA2 致 AS 的机制

Lp-PLA2 是磷脂酶 A2 (PLA2) 超家族成员之一,由 441 个氨基酸组成,相对分子质量 4.5×10^4 的非 Ca^{2+} 依赖性蛋白质。Lp-PLA2 是 α/β 水解酶,由交替的 α -螺旋和 β -链组成,具有丝氨酸、天冬氨酸和组氨酸的催化三联体。Lp-PLA2 主要由巨噬细胞和 T 淋巴细胞等分泌^[2]。在血浆中, Lp-PLA2 主要与低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 和高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL) 相结合,以活性的形式在血液中循环。其中约 70% 的 Lp-PLA2 通过载脂蛋白 B 与 LDL 结合,随 LDL 运转到血管壁上易损区域, LDL 被氧化为氧化型 LDL, Lp-PLA2 将氧化型 LDL 水解为溶血卵磷脂和氧化型游离脂肪酸,后两者通过上调黏附分子的表达,激活白细胞并将巨噬细胞和单核

细胞募集到 AS 斑块中,而 AS 斑块中的上述炎症细胞随后产生更多的 Lp-PLA2,加快 AS 进程^[3]。另外 30% 的 Lp-PLA2 通过其他载脂蛋白与 HDL 和极低密度脂蛋白结合^[4]。

2 Lp-PLA2 的检测方法

目前,Lp-PLA2 的实验室检测方法主要有分光光度法、乳胶增强比浊法、放射免疫分析和酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),其中 ELISA 法最常用。分别通过测定酶活性和酶浓度两种方式测定 Lp-PLA2,其中酶浓度测定是通过抗原抗体结合形成沉淀测定的。研究发现 Lp-PLA2 与磷脂、LDL 等结合阻止抗体检测酶,影响浓度测试结果^[5],故活性测试相较浓度测试在评估循环 Lp-PLA2 的总水平方面更准确。而 Topbas 等^[6]发现通过液相色谱-串联质谱方法测量 Lp-PLA2 浓度和活性可提高 Lp-PLA2 的血清浓度与该酶活性的一致性。当前国内外各个检测平台分别采用不同的方式测定 LP-PLA2,所得结果的可比性受到质疑。

ELISA 法一个主要的缺点是因异质系统中抗原对表面锚定抗体的捕获不足而导致检测灵敏度较低^[7]。再者,ELISA 法的多个步骤需人工处理,故检测时间长达数小时至数天,不能避免人工误差。Chen 等^[8]开发了一种通过与化学发光结合的磁分离检测 Lp-PLA2 的新方法,该方法使用自动化仪器处理和测量样品,通过一次性混合抗体标记的磁珠、抗原和抗体,能在 17 min 内出结果,减少了人为误差,同时测试了 122 个临床样品与 ELISA 法保持了良好的相关性。该方法为 Lp-PLA2 的检测提供了一个更准确、快捷和简便的方案。

3 Lp-PLA2 的基因多态性与冠心病

编码 Lp-PLA2 的基因是位于 6 号染色体短臂的 PLA2G7,全长 31 378 bp,由 12 个外显子组成,编码 441 个氨基酸。

目前 PLA2G7 基因多态性与冠心病的相关性研究得出的结果不一致。张明明等^[9]在国内研究发现急性心肌梗死患者 Y160X 位点 AT、AG 基因型以及 A 等位基因的分布频率明显高于健康者,逻辑回归分析结果显示,AA 基因型与急性心肌梗死关系密切。在另一项研究^[10]中发现心肌梗死患者 N133K 位点 GG、GC 基因型和 G 等位基因的分布频率明显高于心绞痛患者和健康者,同时心绞痛患者较健康者上述基因型及 G 等位基因分布频率明显升高。Zhang 等^[11]发现 D166E 位点的 G 等位基因在心肌梗死患者中比例高于健康者 ($P < 0.05$);逻辑回归分析显示心肌梗死与 Lp-PLA2 和 D166E GG 基因型密切相关。

在亚洲人群中进行的两项大型荟萃分析显示,冠心病风险与影响 Lp-PLA2 活性的 PLA2G7 基因单核苷

酸多态性 (SNP) 之间无关联^[12-13]。最近 Millwood 等^[14]在中国 10 个地区共随机选择 91 428 例观察对象,发现 V279F 总体发生率为 5%,随访 7 年的主要心血管事件,结果提示调整混杂因素后 V279F 与主要心血管事件无关。这与前述大型荟萃分析结果一致。

Gregson 等^[15]在美国对纳入 45 823 例冠心病患者和 88 680 例对照者的多项大型随机试验进行系统评价,结果发现因 LP-PLA2 编辑基因发生突变导致 LP-PLA2 降低的人群,心血管事件风险并未较正常人显著降低。

目前认为 PLA2G7 基因多态性可影响 LP-PLA2 的浓度和活性,但编码 Lp-PLA2 的基因 PLA2G7 多态性位点众多,不同位点所致 LP-PLA2 表达结果不一致,而它是否与冠心病的发病及预后相关,目前研究结论不一致,尚需大规模研究来明确。

4 Lp-PLA2 与冠心病的关系

Lp-PLA2 处于脂质代谢和炎症反应的交叉点,被认为在 AS 的发生和发展中扮演重要角色。

孙旭等^[16]检测急性冠脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 患者血浆 Lp-PLA2 水平,并计算其 GRACE 积分,按照 GRACE 积分危险分度将患者分为低危组、中危组和高危组,结果发现三组患者血浆 Lp-PLA2 水平依次升高,三者两两比较, P 值 < 0.05 ,表明 Lp-PLA2 与 ACS 危险程度相关。李明^[17]研究得出类似结论。有研究^[18]纳入汉族、维吾尔族、哈萨克族和回族等 11 个种族的 911 例受试者,观察血浆 Lp-PLA2 水平、冠状动脉造影结果和 Gensini 评分,多因素逻辑回归分析显示 Lp-PLA2 水平与冠心病显著相关, Lp-PLA2 水平与冠心病的严重程度呈正相关。并且发现 Lp-PLA2 平均值在维吾尔族中最高、汉族中最低,以年龄为协变量进行协方差分析得出各民族血浆 Lp-PLA2 水平存在显著差异 ($P < 0.01$)。

Li 等^[19]通过检测 79 例 ACS 患者 Lp-PLA2 水平,根据 Lp-PLA2 中位数分为高 Lp-PLA2 组和低 Lp-PLA2 组,随访 (10.6 ± 4.7) 个月的主要心血管事件。Kaplan-Meier 分析显示高 Lp-PLA2 组的患者心血管无事件生存率低于 Lp-PLA2 低的患者。Lp-PLA2 水平在调整体重指数、尿酸、国际标准化比值 (INR)、收缩压和 GRACE 评分等潜在混杂因素后可独立预测 ACS 患者的心血管死亡、心肌梗死、不稳定型心绞痛、血管重建、心力衰竭和卒中住院治疗等主要心血管事件。另一项研究^[20]观察冠状动脉造影异常者和健康者血浆 LP-PLA2 浓度,结果发现冠状动脉造影异常患者 LP-PLA2 浓度明显高于健康者,多变量分析显示 Lp-PLA2 ≥ 292 μg/L (整个队列的上四分位数) 与冠心病独立相关。Ma 等^[21]观察发现 ACS 患者 Lp-PLA2 水平显著高于稳定型心绞痛患者和非心源性胸痛患者

($P < 0.05$), 相关性分析提示 Lp-PLA2 水平与冠状动脉狭窄严重程度和 Gensini 评分无关。

大量临床相关性研究结果提示 Lp-PLA2 可能是冠心病的独立危险因素, 与冠心病的病变程度相关, 上述试验大多是小样本和单中心研究。Li 等^[22]系统回顾了 12 项 Lp-PLA2 与冠心病和卒中相关性的前瞻性队列研究, 共纳入 2 838 例患者, 结果显示 Lp-PLA2 的活性每增加 1 个标准差, 冠心病风险增加 12%; Lp-PLA2 浓度与冠心病风险相关。

而 Benderly 等^[23]通过测量 2 538 例冠心病患者 Lp-PLA2 活性, 调整患者特征和传统危险因素后发现, Lp-PLA2 与死亡率和心血管事件无显著相关性。

目前 Lp-PLA2 与动脉斑块稳定性、冠状动脉狭窄程度和冠心病预后的相关性尚无确切结论, 需大样本、多中心和随机试验来证实。

5 治疗手段

自 Lp-PLA2 致 AS 的作用机制被发现后, 被认为可能是一个潜在的改善冠心病预后的靶点。Darapladib 是一种口服给药的高选择性 Lp-PLA2 抑制剂, 它具有相对长的半衰期(约 40 h), 被 CYP3 酶代谢, 主要通过粪便排出^[24]。Darapladib 可降低血浆高敏 C 反应蛋白和白介素-6 等炎症因子浓度, 抑制 Lp-PLA2 活性呈剂量依赖性, 这种抑制作用与 LDL 胆固醇和 HDL 胆固醇水平无关, 也不受他汀类药物治疗的影响^[25-26]。

早期临床研究发现在 Darapladib 治疗期间, AS 斑块内 Lp-PLA2 的活性降低, Darapladib 可降低斑块中 caspase-3 和 caspase-8 的表达, 提示该药物可增加 AS 斑块的稳定性^[27]。但近年来三项大型临床试验结果表明 Darapladib 并未降低冠心病患者心血管事件和死亡率。SOLID-TIMI 52^[28]是一项多中心、随机和双盲对照试验, 在 36 个国家的 868 个中心随机选取 13 026 例住院患者(心肌梗死患者); 受试者被随机分为每日一次 Darapladib(160 mg)或安慰剂; 患者的中位随访时间为 2.5 年, 主要终点事件在治疗组和对照组之间无显著差异。

STABILITY^[29]则纳入 15 828 例稳定性冠心病患者, 随机分为试验组和对照组, 分别每天接受一次 Darapladib(剂量为 160 mg)或安慰剂; 中位随访期为 3.7 年, 主要终点的各个组成部分和全因死亡率也无显著的组间差异。

Wallentin 等^[30]选取 14 500 例稳定性冠心病患者, 分别在 Darapladib 治疗前、后不同时间段连续检测血浆 Lp-PLA2 活性, 并随访主要终点事件, 结果发现基线 Lp-PLA2 升高与主要终点事件增加密切相关; 治疗后 Lp-PLA2 活性虽较基线降低约 65%, 但心血管事件并未显著降低。

6 小结

目前相关研究结果表明在冠心病患者中血浆 Lp-PLA2 浓度和活性均较健康者升高, 但它与冠心病的危险程度、冠状动脉狭窄程度以及预后的相关性研究则得出不一致的结果。近几年基因多态性的众多研究也得出不同的结果, 分析其原因有以下几方面: (1) 不同种族和人群的基因多态性表达不一致; (2) 编码 Lp-PLA2 的基因 PLA2G7 多态性位点众多, 不同位点所致 Lp-PLA2 表达结果不一致。且基因表达是一个复杂的过程, 可能是多基因相互作用的结果。另外, 大多数研究是数百例的小样本研究, 期待完善大样本、前瞻性和同时纳入多个位点的临床研究得出可靠结果。

关于 Lp-PLA2 特异性抑制剂 Darapladib 的三项大型临床试验结果显示, Darapladib 能显著降低患者血浆 Lp-PLA2 活性, 但未降低冠心病患者的心血管事件。目前认为冠心病(AS)的发病机制是血管炎症反应, 但后者是一个多细胞和多炎症因子参与的复杂的病理生理反应过程, 炎症因子、组织损伤修复因子和心肌损伤标志物等与冠心病预后均有相关性^[31]。而 Lp-PLA2 参与的仅是其中一环, 故降低 Lp-PLA2 水平能否减少冠心病患者的心血管事件, 目前尚存在巨大争议。

参考文献

- [1] 胡盛寿, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(3): 209-220.
- [2] Ikonidis I, Kadoglou NN, Tritakis V, et al. Association of Lp-PLA2 with digital reactive hyperemia, coronary flow reserve, carotid atherosclerosis and arterial stiffness in coronary artery disease[J]. Atherosclerosis, 2014, 234(1): 34-41.
- [3] Shi Y, Zhang P, Zhang LF, et al. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in leukocyte activation and inflammatory responses[J]. Atherosclerosis, 2007, 191(1): 54-62.
- [4] Grallert H, Dupuis J, Bis JC, et al. Eight genetic loci associated with variation in lipoprotein-associated phospholipase A2 mass and activity and coronary heart disease: meta-analysis of genome-wide association studies from five community-based studies[J]. Eur Heart J, 2012, 33(2): 238-251.
- [5] Zhuo SQ, Wolfert RL, Yuan C. Biochemical differences in the mass and activity tests of lipoprotein-associated phospholipase A2 explain the discordance in results between the two assay methods[J]. Clin Biochem, 2017, 50(18): 1209-1215.
- [6] Topbas C, Swick A, Razavi M, et al. Measurement of lipoprotein-associated phospholipase A2 by use of 3 different methods: exploration of discordance between Elisa and activity assays[J]. Clin Chem, 2018, 64(4): 697-704.
- [7] Liu H, Rong P, Jia H, et al. A wash-free homogeneous colorimetric immunoassay method[J]. Theranostics, 2016, 6(1): 54-64.
- [8] Chen J, Zhang H, Chen W. Chemiluminescence immunoassay for sensing lipoprotein-associated phospholipase A2 in cardiovascular risk evaluation[J]. Clin Chim Acta, 2019, 488: 143-149.
- [9] 张明明, 于悦卿, 赵培, 等. 心肌梗死患者 Lp-PLA2 基因 Y160X 位点多态性检测的意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2017, 36(1): 40-43.
- [10] 张明明, 高伟, 刘欣, 等. 不同类型冠心病患者 Lp-PLA2 基因 N133K 位点多态性的意义[J]. 广东医学, 2017, 38(4): 538-541.

- [11] Zhang MM, Zhang CG, Yang CJ, et al. The association between the D166E polymorphism of the lipoprotein associated phospholipase A2 and risk of myocardial infarction[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(9):3960-3966.
- [12] Wang Q, Hao Y, Mo X, et al. PLA2G7 gene polymorphisms and coronary heart disease risk: a meta-analysis[J]. *Thromb Res*, 2010, 126(6):498-503.
- [13] Jang Y, Waterworth D, Lee JE, et al. Carriage of the V279F null allele within the gene encoding Lp-PLA(2) is protective from coronary artery disease in South Korean males[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4):e18208.
- [14] Millwood IY, Bennett DA, Walters RG, et al. A genome-wide association study of a lipoprotein-associated phospholipase A2 loss-of-function variant in 90 000 Chinese adults[J]. *Int J Epidemiol*, 2016, 45(5):1588-1599.
- [15] Gregson JM, Freitag DF, Surendran P, et al. Genetic invalidation of Lp-PLA2 as a therapeutic target: large-scale study of five functional Lp-PLA2-lowering alleles[J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2017, 24(5):492-504.
- [16] 孙旭, 贾志, 梁海青, 等. 急性冠脉综合征患者血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2 与 GRACE 积分的关系[J]. *山东医药*, 2015, 55(8):43-45.
- [17] 李明. 血清 Lp-PLA2、hs-CRP 和 D-二聚体在冠心病患者冠脉病变程度中的评估价值[J]. *重庆医学*, 2015, 44(9):1215-1217.
- [18] Ge PC, Chen ZH, Pan RY, et al. Synergistic effect of lipoprotein-associated phospholipase A2 with classical risk factors on coronary heart disease: a multi-ethnic study in China[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(5):953-968.
- [19] Li J, Wang H, Tian J, et al. Change in lipoprotein-associated phospholipase A2 and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndrome[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(28):e11517.
- [20] Yang L, Liu Y, Wang S, et al. Association between Lp-PLA2 and coronary heart disease in Chinese patients[J]. *J Int Med Res*, 2017, 45(1):159-169.
- [21] Ma CY, Xu ZY, Wang SP, et al. Change of inflammatory factors in patients with acute coronary syndrome[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2018, 131(12):1444-1449.
- [22] Li D, Wei W, Ran X, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and risks of coronary heart disease and ischemic stroke in the general population: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 471:38-45.
- [23] Benderly M, Sapir B, Kalter-Leibovici O, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, and subsequent cardiovascular events and mortality among patients with coronary heart disease[J]. *Biomarkers*, 2017, 22(3-4):219-224.
- [24] Dave M, Nash M, Young GC, et al. Disposition and metabolism of darapladib, a lipoprotein-associated phospholipase A2 inhibitor, in humans[J]. *Drug Metab Dispos*, 2014, 42:415-430.
- [25] Mohler ER, Ballantyne CM, Davidson MH, et al. The effect of darapladib on plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and cardiovascular biomarkers in patients with stable coronary heart disease or coronary heart disease risk equivalent: the results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(17):1632-1641.
- [26] Daida H, Iwase T, Yagi S, et al. Effect of darapladib on plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 activity in Japanese dyslipidemic patients, with exploratory analysis of a PLA2G7 gene polymorphism of Val279Phe[J]. *Circ J*, 2013, 77(6):1518-1525.
- [27] Johnson JL, Shi Y, Snipes R, et al. Effect of darapladib treatment on endarterectomy carotid plaque lipoprotein-associated phospholipase A2 activity: a randomized, controlled trial[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e89034.
- [28] O'Donoghue ML, Braunwald E, White HD, et al. Effect of darapladib on major coronary events after an acute coronary syndrome: The SOLID-TIMI 52 randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2014, 312(10):1006-1015.
- [29] STABILITY Investigators, White HD, Held C, et al. Darapladib for preventing ischemic events in stable coronary heart disease[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(18):1702-1711.
- [30] Wallentin L, Held C, Armstrong PW, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of risk but not a useful target for treatment in patients with stable coronary heart disease[J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(6):e003407.
- [31] 高文君. 急性冠脉综合征预后的预测研究进展[J]. *心血管病学进展*, 2018, 39(4):606-610.

收稿日期: 2019-07-05

我刊增加论著栏目的启事

我刊 2019 年起新增论著栏目, 论著投稿注意事项如下。

1. 论著文章 5 000 字以内(包括摘要、图表及参考文献); 论著采用结构式摘要(含目的、方法、结果、结论), 摘要篇幅以 200~400 个汉字符为宜, 并有完整的英文摘要(含文题、作者、单位、摘要、关键词); 关键词以 3~8 个为宜; 论著引用参考文献要求达到 20 条以上。

2. 论文如属国家自然科学基金项目或省、部级以上重点攻关课题、其他科研基金资助的项目, 请在文稿首页脚注“【基金项目】×××科研资助项目(编号)”, 如获专利请注明专利号。本刊对重大研究成果、国家自然科学基金、卫生部科研基金、省科技厅项目, 将优先发表。

3. 本刊已全部实行网上投稿, 请通过《心血管病学进展》杂志的稿件远程处理系统投稿(登录 <http://xxgbxzz.paperopen.com> 后, 点击“作者投稿”, 在“作者投稿管理平台”中投稿)。网上投稿成功后还需报送以下材料: (1) 稿件处理费 50 元(可通过手机银行转账)。(2) 推荐信(可发电子版): 来稿需经作者单位审核, 并附单位推荐信。推荐信应注明对稿件的审评意见以及无一稿多投、不涉及保密、署名无争议等项, 并加盖公章。如涉及保密问题, 需附有关部门审查同意发表的证明。(3) 若此项研究为基金项目者, 需附基金批文复印件(可发电子版)。

《心血管病学进展》编辑部