· 论著 ·

调脂和抗血小板治疗对内皮脂肪酶表达的影响

方玉强 何多芬 杨成明 王旭开 曾春雨 王红勇 傅春江 石伟彬 张晔

【摘要】 **目的** 了解调脂治疗和抗血小板治疗对冠心病患者内皮脂肪酶(EL)表达的影响,进一步探讨EL在冠心病中的作用。**方法** 将157例冠心病患者按临床表现和冠状动脉(冠脉)造影结果分为3组:对照组41例,有1项以上冠心病危险因素,但冠脉狭窄程度<30%;稳定型心绞痛(SAP)组55例;急性冠状动脉综合征(ACS)组61例。在禁用调脂药和阿司匹林2周后取血查EL阳性细胞率,均给予患者辛伐他汀和(或)拜阿司匹林,如出现并发症或不能依从者停药,6个月后复查EL阳性细胞率。**结果** 除对照组单用拜阿司匹林外,各组患者不论单用辛伐他汀或拜阿司匹林,还是两药联用,EL阳性细胞率均显著下降〔单用辛伐他汀对照组:(3.93±0.87)%比(5.28±1.05)%,SAP组:(8.16±2.11)%比(15.12±2.53)%,ACS组:(13.93±3.22)%比(38.44±4.36)%;单用拜阿司匹林SAP组:(10.57±4.07)%比(14.66±2.29)%,ACS组:(18.28±5.14)%比(40.27±3.96)%;联合用药对照组:(3.13±0.87)%比(5.33±1.25)%,SAP组:(5.68±2.20)%比(14.89±2.15)%,ACS组:(7.81±3.96)%比(39.27±5.17)%,$P<0.05$或$P<0.01$〕。**结论** 调脂治疗和抗血小板治疗能有效抑制内皮细胞表达EL,提示EL参与了冠心病的发病过程。

【关键词】 冠心病; 内皮脂肪酶; 辛伐他汀; 拜阿司匹林

Effects of lipid-modulation and antiplatelet treatment on the endothelial lipase expression *FANG Yu-qiang, HE Duo-fen, YANG Cheng-ming, WANG Xu-kai, ZENG Chun-yu, WANG Hong-yong, FU Chun-jiang, SHI Wei-bin, ZHANG Ye. Department of Cardiology, Daping Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China*

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the effects of lipid-modulation and antiplatelet treatment on the expression of endothelial lipase (EL) of patients with coronary artery disease (CAD), and investigate the role of EL in the development of CAD. **Methods** One hundred and fifty-seven cases were divided into three groups according to clinical manifestations and the results of coronary artery angiography: control group ($n=41$) with more than one risk factors of CAD and the vessel lesions was <30%; stable angina pectoris (SAP) group ($n=55$); acute coronary syndrome (ACS) group ($n=61$). The EL positive cell rate was measured 2 weeks after cessation of lipid-modulation and aspirin treatment, and 6 months after treatment with simvastatin and/or aspirin. The drug was ceased for the complications or not tolerance for the treatment. **Results** Except the patients in control group with aspirin treatment, the EL positive cell rate was significantly decreased among other groups 〔control group with simvastatin: (3.93±0.87)% vs. (5.28±1.05)%, SAP group: (8.16±2.11)% vs. (15.12±2.53)%, ACS group: (13.93±3.22)% vs. (38.44±4.36)%; SAP group with aspirin: (10.57±4.07)% vs. (14.66±2.29)%, ACS group: (18.28±5.14)% vs. (40.27±3.96)%; control group with aspirin and simvastatin: (3.13±0.87)% vs. (5.33±1.25)%, SAP group: (5.68±2.20)% vs. (14.89±2.15)%, ACS group: (7.81±3.96)% vs. (39.27±5.17)%, $P<0.05$ or $P<0.01$〕. **Conclusion** The treatment with lipid-modulation and/or antiplatelet drug may significantly decrease the expression of EL, implying that EL participates in the progression of CAD.

【**Key words**】 Coronary artery disease; Endothelial lipase; Simvastatin; Aspirin

内皮脂肪酶(EL)是1999年发现的脂肪酶成员之一[1-2],主要由血管内皮细胞表达。研究发现,EL在尸检冠心病患者冠状动脉(冠脉)粥样硬化斑块的内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞中表达[3],是高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)代谢的关键酶[4],可能参与动脉粥样硬化的发生发展。本课题组前期研究发现,外周血内皮细胞(即循环内皮细胞,CEC)中存在EL的表达,其表达量及阳性细胞比值(即阳性细胞率)与冠心病的临床危险性显著相关[5],与血中超敏C-反应蛋白(hs-CRP)呈显著正相关,与冠心病患者随防心血管事件发生率亦呈正相关[6]。本研究中通过观察冠心病患者及有危险因素患者EL阳性细胞率在使用调脂药和(或)抗血小板药后的变化,进一步探讨EL表达在冠心病中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料:选择2005年12月至2007年12月在本科行选择性冠脉造影术的157例冠心病患者,

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.11.006

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30470729)

作者单位:400042 重庆,解放军第三军医大学大坪医院野战外科研究所心血管内科

Email:yuqfang@163.com

万方数据

经询问病史确定未使用过调脂药和阿司匹林肠溶片者即刻入选，正在使用这两类药者先停服 2 周以上再入选，然后依据患者临床表现和选择性冠脉造影结果分组：①对照组 41 例，有 1 项以上冠心病危险因素，但造影示冠脉狭窄程度<30%。②稳定型心绞痛(SAP)组 55 例，临床诊断为 SAP，造影示冠脉狭窄程度>30%。③急性冠状动脉综合征(ACS)组 61 例，临床诊断为 ACS，造影示冠脉狭窄程度>30%。经询问患者病史和辅助检查均排除外周血管疾病、急性心力衰竭、自身免疫性疾病、肝肾疾病和炎症者。3 组患者性别、年龄、体重、吸烟史、高血压、糖尿病、血脂异常等差异均无统计学意义(均 $P>0.05$；表 1)，有可比性。本研究符合医学伦理学标准，经医院伦理委员会批准，并取得患者知情同意。

1.2 治疗方法：患者入选后给予拜阿司匹林 0.1 g 和辛伐他汀 20～40 mg 进行抗凝和调脂治疗，均每日 1 次。如患者出现阿司匹林并发症，停用拜阿司匹林归入单用调脂药组；如患者出现转氨酶升高等他汀类药物副作用时，停用调脂药归入单用拜阿司匹林组；其余患者归入联合用药组。

1.3 EL 阳性细胞率的检测及方法：患者入选后即刻及治疗 6 个月后取右肘静脉血 3 ml，用 0.3% 枸橼酸钠抗凝。以 Percoll 密度梯度离心法分离 CEC[7]。取 15 μl 细胞重悬液涂布于玻片上，室温干燥备检。取分离的 CEC，用Ⅷ因子和 DiI 标记低密度脂蛋白(DiI-ldl)检测均证实为内皮细胞。将细胞涂片用 2%多聚甲醛溶液固定，并按照说明书进行免疫组化染色(一抗兔抗人 EL 多克隆抗体购于美国 Cayman Chimical 公司，二抗购于北京中杉金桥生物工程有限公司)，在 400 倍光镜下观察 12 个视野中的细胞数并计数，分别计数细胞总数和免疫组化阳性细胞数，并计算阳性细胞率(EL 阳性细胞数/CEC 细胞总数×100%)。

1.4 统计学处理：用 SPSS 10.0 统计软件进行分析，统计图在 Origin 5.0 软件中完成。各组数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，进行组间 t 检验或单因素方差分析，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结　果

2.1 单用调脂药患者 EL 阳性细胞率的变化比较(表 2)：各组单用调脂药患者治疗后 EL 阳性细胞率均显著下降，其中以 SAP 组和 ACS 组下降更为显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.2 单用拜阿司匹林患者 EL 阳性细胞率的变化比较(表 2)：各组单用拜阿司匹林患者治疗后 EL 阳性细胞率均下降，其中对照组下降差异无统计学意义($P>0.05$)，SAP 组和 ACS 组下降明显($P<0.05$ 和 $P<0.01$)。

2.3 联用调脂药和拜阿司匹林患者 EL 阳性细胞率的变化比较(表 2)：各组联用调脂药和拜阿司匹林患者治疗后 EL 阳性细胞率均显著下降，其中以 SAP 组和 ACS 组下降更为显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3 讨　论

EL 是脂肪酶家族成员之一，与脂蛋白脂肪酶(LPL)、肝脂肪酶(HL)共同参与了脂蛋白的代谢。LPL 和 HL 均是由组织细胞分泌后经血液循环到靶细胞发生作用，而 EL 是由血管内皮细胞合成和分泌并于血管内皮细胞局部起作用[8]。目前体内外实验均发现 EL 是 HDL-C 代谢的关键酶，并可能与冠心病的发病和病理过程有关[4]。本课题组前期研

表 1　3 组冠心病患者一般情况比较

组别	例数	性别		年龄	吸烟史	高血压	糖尿病	高胆固醇血症	体质指数>
		男	女	($\bar{x}\pm s$，岁)	[%(例)]	[%(例)]	[%(例)]	[%(例)]	27 kg/m²[%(例)]
对照组	41	25	16	54.6±13.2	36.6(15)	29.3(12)	26.8(11)	14.6(6)	19.5(8)
SAP 组	55	34	21	61.5±11.5	34.5(19)	36.4(20)	25.4(14)	12.7(7)	16.4(9)
ACS 组	61	36	25	59.3±15.4	41.0(25)	34.4(21)	29.5(18)	18.0(11)	21.3(13)

注：SAP：稳定型心绞痛，ACS：急性冠状动脉综合征

表 2　3 组使用调脂药和拜阿司匹林治疗的冠心病患者 EL 阳性细胞率变化比较($\bar{x}\pm s$)

组别	单用调脂药时 EL 阳性细胞率(%)		单用拜阿司匹林时 EL 阳性细胞率(%)		联合用药时 EL 阳性细胞率(%)	
	用药前	用药后	用药前	用药后	用药前	用药后
对照组	5.28±1.05(5)	3.93±0.87(5)[a]	5.37±1.45(4)	4.97±1.87(4)	5.33±1.25(32)	3.13±0.87(32)[a]
SAP 组	15.12±2.53(4)	8.16±2.11(4)[b]	14.66±2.29(5)	10.57±4.07(5)[a]	14.89±2.15(46)	5.68±2.20(46)[b]
ACS 组	38.44±4.36(6)	13.93±3.22(6)[b]	40.27±3.96(7)	18.28±5.14(7)[b]	39.27±5.17(48)	7.81±3.96(48)[b]

注：EL：内皮脂肪酶，SAP：稳定型心绞痛，ACS：急性冠状动脉综合征；与本组用药前比较，[a]$P<0.05$，[b]$P<0.01$；括号内为病例数

万方数据

究发现冠心病患者血管内皮细胞中存在 EL 表达，EL 阳性细胞率与冠心病临床表现呈显著正相关，随着临床危险性的增加而升高，且与冠心病的多种危险因素呈显著相关性[5]。研究还发现，EL 阳性细胞率可作为冠心病患者独立的预后危险因子[6]，EL 可促进脐静脉内皮细胞表达黏附分子[9]，从而更进一步说明 EL 参与了冠心病的发病过程。但目前有关冠心病治疗中药物对 EL 影响的报道较少。

作为冠心病防治过程中的重要药物，他汀类药物已得到了广泛的研究。目前达成共识的是除了调脂作用外，他汀类药物还具有抗炎、改善内皮功能、抑制平滑肌细胞迁移和增殖等作用[10]，这些作用在冠心病的防治中占据重要地位。本研究发现使用调脂药物后，患者 CEC 表达 EL 的阳性细胞率显著下降，而且这种作用在 ACS 组中更明显，表明调脂药可能降低了内皮细胞表达 EL 的能力，与马天容等[11]的研究结果一致。拜阿司匹林肠溶片是重要的抗血小板聚集药和抗炎症反应药物。本研究发现使用拜阿司匹林肠溶片后，患者血中 EL 阳性细胞率下降，似与其抗炎作用一致。我们以前的研究发现 EL 阳性细胞率与患者血中 hs-CRP 呈显著正相关[6]，也有研究发现炎症反应可促进 EL 的表达，结合本观察可以得出，血管内皮细胞表达 EL 参与了冠心病发病过程中的炎症反应，对抗 EL 的表达可能有利于冠心病的防治。

参考文献

[1] Jaye M, Lynch KJ, Krawiec J, et al. A novel endothelial-derived lipase that modulates HDL metabolism. Nat Genet, 1999, 21: 424-428.

[2] Hirata K, Dichek HL, Cioffi JA, et al. Cloning of a unique lipase from endothelial cells extends the lipase gene family. J Biol Chem, 1999, 274: 14170-14175.

[3] Azumi H, Hirata K, Ishida T, et al. Immunohistochemical localization of endothelial cell-derived lipase in atherosclerotic human coronary arteries. Cardiovasc Res, 2003, 58: 647-654.

[4] Jaye M, Krawiec J. Endothelial lipase and HDL metabolism. Curr Opin Lipidol, 2004, 15: 183-189.

[5] 方玉强，黄岚，宋耀明，等. 循环内皮细胞中内皮脂肪酶的表达与冠心病患者临床表现的关系. 中华老年心脑血管病杂志，2006, 8: 812-814.

[6] 方玉强，黄岚，李爱民，等. 循环内皮脂酶阳性细胞比例与超敏 C-反应蛋白在冠心病患者临床预后中的作用. 中国危重病急救医学，2007, 19: 644-646.

[7] Iwata Y, Kuzuya F, Hayakawa M, et al. Circulating endothelial cells fail to induce cerebral infarction in rabbits. Stroke, 1986, 17: 506-509.

[8] 赵景宏，黄岚. 内皮脂肪酶与脂蛋白代谢和动脉粥样硬化关系的研究进展. 中华心血管病杂志，2005, 33: 480-482.

[9] 方玉强，黄岚，赵晓辉，等. 内皮脂酶对人脐静脉内皮细胞黏附分子表达的影响. 中国危重病急救医学，2007, 19: 705-707.

[10] 郭汉林，靳建旭，李晓阳，等. 阿托伐他汀对老年血脂异常的调脂及非调脂作用. 中国中西医结合急救杂志，2005, 12: 51-53.

[11] 马天容，潘其兴，朱清，等. 阿托伐他汀对内皮细胞增殖和内皮脂酶 mRNA 表达的影响. 中国动脉硬化杂志，2006, 14: 471-474.

（收稿日期：2010-08-16）
（本文编辑：李银平）

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国危重病急救医学》杂志对运用统计学方法的有关要求

1 统计学符号：按 GB 3358-1982《统计学名词及符号》的有关规定，统计学符号一律采用斜体。

2 研究设计：应告知研究设计的名称和主要方法。例如：调查设计分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究；实验设计应告知具体的设计类型，如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等；临床试验设计应告知属于第几期临床试验，采用了何种盲法措施等。主要做法应围绕重复、随机、对照、均衡 4 个基本原则概要说明，尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3 资料的表达与描述：用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表达近似服从正态分布的定量资料，用中位数（四分位数间距）〔$M(Q_R)$〕表达呈偏态分布的定量资料。用统计表时，要合理安排纵横标目，并将数据的含义表达清楚。用统计图时，所用统计图的类型应与资料性质相匹配，并使数轴上刻度值的标法符合数学原则。用相对数时，分母不宜小于 20，要注意区分百分率与百分比。

4 统计学分析方法的选择：对于定量资料，应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的，选用合适的统计学分析方法，不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析。对于定性资料，应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的，选用合适的统计学分析方法，不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析，应结合专业知识和散布图，选用合适的回归类型，不应盲目套用简单直线回归分析；对具有重复实验数据检验回归分析资料，不应简单化处理；对于多因素、多指标资料，要在一元分析的基础上，尽可能运用多元统计分析方法，以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5 统计结果的解释和表达：当 $P<0.05$（或 $P<0.01$）时，应说对比组之间的差异具有统计学意义，而不应说对比组之间具有显著性（或非常显著性）差异；应写明所用统计学方法的具体名称（如：成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等），统计量的具体值（如：$t=3.45$，$\chi^2=4.68$，$F=6.79$ 等）；在用不等式表示 P 值的情况下，一般情况下选用 $P>0.05$、$P<0.05$ 和 $P<0.01$ 3 种表达方式，无须再细分为 $P<0.001$ 或 $P<0.0001$。当涉及总体参数（如总体均数、总体率等）时，在给出显著性检验结果的同时，应再给出 95% 可信区间。

万方数据