

## 血清 Leptin、SFRP5、RBP4 与冠心病的相关性分析

李瑶瑶<sup>1,2</sup>, 董文鹏<sup>2</sup>, 陆华<sup>2</sup>, 童光<sup>2</sup>, 王晓武<sup>2</sup>, 马涛<sup>2</sup>, 张卫达<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的 探讨血清中瘦素(Leptin)、分泌型卷曲相关蛋白 5(SFRP5)和视黄醇结合单核蛋白 4(RBP4)表达水平与冠状动脉粥样硬化性心脏病(CAD)的关系。方法 选取 71 例怀疑为 CAD 的患者,根据心电图、冠脉造影等分为 CAD 组和非 CAD 组,收集患者临床资料,并用 ELISA 法分别测定血清 Leptin、SFRP5、RBP4 的表达水平,将 Leptin、SFRP5、RBP4 表达水平与 CAD 患者临床资料进行相关性分析。结果 CAD 组血清 SFRP5 水平明显低于非 CAD 组( $P < 0.05$ ),Gensini 积分与血清 SFRP5 水平呈负相关性( $r = -0.20, P = 0.01$ );CAD 组 Leptin 水平高于非 CAD 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),血清 RBP4 水平在 CAD 组和非 CAD 组之间差异无统计学意义。结论 Leptin、SFRP5 表达水平的变化可能是 CAD 发生、发展的机制之一,可以作为预防、评估和治疗 CAD 的一个新靶点。

**关键词** 冠状动脉粥样硬化性心脏病;脂肪细胞分泌因子;瘦素;分泌型卷曲相关蛋白 5

中图分类号 R 541.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)08-1160-04

脂肪细胞不仅能够储存能量,而且能够合成和分泌多种细胞因子,这些细胞因子统称为脂肪细胞分泌因子,包括瘦素(Leptin)、脂联素、抵抗素、内脂素等。既往研究<sup>[1-4]</sup>表明,脂肪细胞分泌因子与代谢紊乱或动脉粥样硬化(atherosclerotic, AS)相关。分泌型卷曲相关蛋白 5(secreted frizzled-related protein 5, SFRP5)、视黄醇结合单核蛋白 4(retinol binding protein, RBP4)和 Leptin 均为脂肪细胞分泌因子,但 SFRP5、RBP4 和 Leptin 与中国冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease, CAD)患者的相关性目前尚较少研究。该研究拟选取 CAD 患者血清标本,检测 SFRP5、RBP4 和 Leptin 的表达水平,并分析其与 CAD 的相关性,旨在为

CAD 的发病机制和临床治疗提供依据。

### 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 收集 2014 年 5 月~2015 年 5 月在广州军区广州总医院心脏中心 71 例行冠状动脉造影患者(年龄 39~80 岁)的临床资料,排除既往有冠脉干预手段或冠脉旁路移植手术。此外,慢性透析、急性冠脉综合征、近期心肌梗死(4 周内)、炎性疾病如胶原性疾病、严重感染性疾病和恶性疾病等也排除。根据患者临床表现、心电图及冠状动脉造影等临床症状把受试者分成两组:心电图检查结果阳性、冠状动脉计算机断层成像血管造影主要血管狭窄 $\geq 50\%$ 者为病例组(CAD 组)(53 例);对照组(非 CAD 组)为冠状动脉造影/冠状动脉计算机断层成像血管造影的检查结果为无病变或轻微病变者(18 例)。

**1.2 冠脉造影的评分** 冠脉造影结果由至少两位高年资心内科医师评估并报告。使用两套评估标准:①根据左主干、左前降支、左回旋支、右冠狭窄 $\geq 50\%$ 的病变血管的数目得分为 0~3,若左主干狭窄 $\geq 50\%$ ,记录为多支血管病变;② Gensini 评分:首先根据冠脉狭窄程度确定基本评分,狭窄 $\phi < 25\%$ 记 1 分, $\geq 25\% \sim < 50\%$ 记 2 分, $\geq 50\% \sim < 75\%$ 记 4 分, $\geq 75\% \sim < 90\%$ 记 8 分, $\geq 90\% \sim < 99\%$ 记 16 分, $99\% \sim 100\%$ 记 32 分,再根据不同冠脉分支确定相应的系数,分别为:左主干(LM)病变 $\times 5$ ;左前降支(LAD):近段 $\times 2.5$ ,中段 $\times 1.5$ ,远段 $\times 1$ ;对角支:D1 $\times 1$ ,D2 $\times 0.5$ ;左回旋支(LCX):近段 $\times 2.5$ ,钝缘支 $\times 1$ ,远段 $\times 1$ ,后降支 $\times 1$ ,后侧支 $\times 0.5$ ;右冠状动脉(RCA):近、中、远和后降支均 $\times 1$ ,每处病变的积分为狭窄程度乘以病变部位系数。

**1.3 ELISA 法** 采集患者清晨空腹静脉血 4 ml,离心取上清液以 Eppendorf 管分装为 4 管,置 $-80^\circ\text{C}$ 超低温冰箱中保存待测,该研究中 SFRP5、RBP4、Leptin 试剂盒均购自美国 RayBio 公司,并严格按照试剂盒说明书进行操作。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 20.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间差异比较使用  $t$  检

2016-05-29 接收

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(编号:81500183、81200633)

作者单位:<sup>1</sup>南方医科大学研究生院,广州 510515

<sup>2</sup>广州军区广州总医院心血管外科,广州 510000

作者简介:李瑶瑶,女,硕士研究生;

张卫达,男,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: 18819140974@163.com

验或 Mann-Whitney  $U$  检验。计数资料用频率表示,组间比较使用  $\chi^2$  检验;采用单因素或者多因素 logistic 回归分析评价各变量与合并 CAD 之间的相关性。

## 2 结果

**2.1 两组基线资料比较** CAD 组和非 CAD 组在年龄、性别、高血压、血脂异常、糖尿病、吸烟状态、药物等差异均无统计学意义(表 1)。CAD 组血清 SFRP5 的水平低于非 CAD 组;CAD 组 Leptin 水平高于非 CAD 组;两组间 RBP4 水平差异无统计学意义(表 1)。多支血管病变[37 例,  $(23.3 \pm 14.8)$  ng/ml]中 SFRP5 水平明显低于单支血管病变[16 例,  $(30.6 \pm 17.7)$  ng/ml],Leptin 水平在多支血管病变中明显高于单支血管病变 [ $(27.6 \pm 13.7)$  pg/ml vs  $(18.8 \pm 10.1)$  pg/ml],RBP4 水平与血管病变数量无显著相关性( $P > 0.05$ )。Gensini 积分可反映 CAD 的严重程度,与血清 SFRP5 水平呈负相关性,与 Leptin 呈正相关性( $r = -0.20, P = 0.01; r = 0.26, P < 0.01$ )。

**2.2 疾病状态或使用药物状态下的 SFRP5、RBP4、Leptin 水平** 血清 SFRP5 水平在年龄、高血压、糖尿病、血脂异常、吸烟史等差异没有统计学意义,但在性别间差异有统计学意义,男性 SFRP5 水平低于女性( $t = 2.775, P < 0.05$ );血清 Leptin 水平

在年龄  $> 65$  岁组中高于年龄  $\leq 65$  岁组,差异有统计学意义( $t = -2.532, P = 0.02$ ),Leptin 水平在性别间差异也有统计学意义,女性 Leptin 水平高于男性( $t = 2.087, P = 0.01$ )。在高血压、糖尿病、血脂异常、吸烟和使用药物方面差异没有统计学意义(表 2);血清 RBP4 水平在年龄、性别、高血压、糖尿病、血脂异常和药物方面差异均无统计学意义。见表 2。

**2.3 相关危险因素的 Logistics 回归分析** 低血清 SFRP5、高血清 Leptin 水平均是 CAD 的独立危险因素( $P < 0.05$ ),见表 3。在使用药物方面,血清 SFRP5 水平和使用利尿剂相关,差异有统计学意义( $P = 0.03$ ),但与血管紧张素转换酶抑制剂/血管紧张素受体阻断剂(ACEI/ARBs)、胰岛素或他汀类降脂等药物差异无统计学意义。

## 3 讨论

**3.1 Leptin 与 CAD 的关系** 既往实验研究<sup>[5-6]</sup>显示,抑制 Leptin 表达能够抑制小鼠动脉粥样硬化的发展,而促进 Leptin 表达则增加小鼠动脉粥样硬化的几率。本研究显示 CAD 患者的 Leptin 水平高于非 CAD 患者,表明 Leptin 水平升高与 CAD 相关。此外,Leptin 水平在多支血管病变中的水平高于单支血管病变,表明 Leptin 水平一定程度上反映了 CAD 的严重程度,其水平升高促进了 CAD 的发展。本研究显示,Leptin 水平在男、女间存在显著

表 1 CAD 组和非 CAD 组基线资料比较

项目	CAD 组( $n = 53$ )	非 CAD 组( $n = 18$ )	$t/\chi^2$ 值	$P$ 值
年龄( $\bar{x} \pm s$ )	60 $\pm$ 10	59 $\pm$ 12	-0.526	0.600
男性[ $n$ (%) ]	44(83.02)	12(67.67)	2.156	0.130
体质指数( $\text{kg}/\text{m}^2, \bar{x} \pm s$ )	24.0 $\pm$ 3.2	23.6 $\pm$ 2.2	-0.465	0.643
吸烟史[ $n$ (%) ]	33(62.26)	10(55.56)	0.253	0.408
SFRP5( $\text{ng}/\text{ml}, \bar{x} \pm s$ )	24.3 $\pm$ 15.6	34.5 $\pm$ 18.9	2.257	0.027
RBP4( $\text{mg}/\text{ml}, \bar{x} \pm s$ )	11.3 $\pm$ 3.0	11.8 $\pm$ 3.3	0.674	0.503
Leptin( $\text{pg}/\text{ml}, \bar{x} \pm s$ )	22.4 $\pm$ 12.9	14.1 $\pm$ 9.4	-5.663	0.006
糖尿病[ $n$ (%) ]	9(16.98)	4(22.22)	0.247	0.428
空腹血糖( $\text{mmol}/\text{L}, \bar{x} \pm s$ )	6.8 $\pm$ 2.3	5.7 $\pm$ 1.1	-1.653	0.103
血脂异常[ $n$ (%) ]	8(15.09)	3(16.67)	0.025	0.568
高血压[ $n$ (%) ]	38(71.70)	10(55.56)	1.599	0.165
三酰甘油( $\text{mmol}/\text{L}, \bar{x} \pm s$ )	2.5 $\pm$ 0.8	2.1 $\pm$ 1.1	2.338	0.467
低密度脂蛋白( $\text{mmol}/\text{L}, \bar{x} \pm s$ )	3.1 $\pm$ 1.3	2.8 $\pm$ 0.9	0.131	0.467
总胆固醇( $\text{mmol}/\text{L}, \bar{x} \pm s$ )	4.5 $\pm$ 1.3	4.2 $\pm$ 1.0	-0.816	0.417
高密度脂蛋白( $\text{mmol}/\text{L}, \bar{x} \pm s$ )	1.2 $\pm$ 0.5	1.0 $\pm$ 0.2	-1.034	0.305
药物[ $n$ (%) ]				
ACEI/ARBs	22(41.51)	7(38.89)	0.038	0.536
他汀类	34(64.15)	9(50.00)	1.127	0.216
利尿药	11(20.75)	3(16.67)	0.142	0.501
胰岛素	4(7.55)	2(11.11)	0.221	0.479

表2 冠脉造影时的疾病状态或药物下的 SFRP5、RBP4、Leptin 水平(  $\bar{x} \pm s$  )

项目	SFRP5( ng/ml)			RBP4( mg/ml)			Leptin( pg/ml)		
	是	否	t 值	是	否	t 值	是	否	t 值
年龄( >65 岁)	29.4 ± 18.0	24.9 ± 14.2	-1.363	11.4 ± 3.2	11.5 ± 3.1	0.934	25.4 ± 13.7	17.5 ± 11.1	-2.532*
男性	23.8 ± 13.4	36.5 ± 19.7	2.775*	11.2 ± 2.9	12.6 ± 3.5	1.598	18.3 ± 12.1	27.9 ± 11.9	2.087*
高血压	25.0 ± 14.1	29.3 ± 18.2	0.865	11.6 ± 3.3	11.2 ± 2.6	-0.411	21.8 ± 12.6	17.3 ± 12.3	-1.643
糖尿病	24.8 ± 15.2	26.9 ± 15.9	0.516	11.7 ± 2.7	11.4 ± 3.2	-0.374	23.4 ± 13.2	19.6 ± 12.5	-1.229
血脂异常	20.5 ± 12.1	27.6 ± 16.1	0.975	11.2 ± 3.9	11.5 ± 2.9	0.349	20.3 ± 13.4	20.3 ± 12.6	0.165
吸烟史	23.7 ± 12.8	30.7 ± 18.7	1.998	11.3 ± 3.0	11.7 ± 3.3	0.490	17.9 ± 11.4	24.0 ± 13.7	1.916
ACEI/ARBs	23.7 ± 14.8	25.1 ± 15.3	0.947	11.8 ± 2.5	11.6 ± 3.0	-0.043	18.7 ± 11.2	21.9 ± 12.5	-1.087
他汀类	26.1 ± 15.3	25.0 ± 12.3	1.063	11.1 ± 3.3	11.3 ± 2.6	-0.242	22.5 ± 12.6	24.2 ± 11.3	-0.245
利尿药	29.8 ± 16.5	21.5 ± 14.2	1.517	11.5 ± 2.8	12.0 ± 3.1	-0.247	20.6 ± 12.7	18.2 ± 11.2	-1.097

\* P < 0.05

表3 与 CAD 相关危险因素的 Logistics 回归分析

项目	单因素 Logistics 回归分析			多因素 Logistics 回归分析		
	OR 值	95% CI	P 值	OR 值	95% CI	P 值
SFRP5( ng/ml)	0.966	0.935 ~ 0.998	0.035	0.655	0.915 ~ 0.997	0.038
Leptin( pg/ml)	1.001	1.000 ~ 1.001	0.020	1.001	1.001 ~ 1.003	0.003
糖尿病	2.562	1.471 ~ 8.650	0.001	2.113	0.341 ~ 13.089	0.442
吸烟	2.500	1.447 ~ 3.899	0.028	0.801	0.530 ~ 13.089	0.291
三酰甘油( mmol/L)	2.176	1.078 ~ 5.153	0.002	0.984	1.000 ~ 1.002	0.991

差异,女性 Leptin 水平高于男性,表明女性可能比男性有更高的 CAD 发生风险。但先前的研究<sup>[7]</sup>表明,Leptin 的浓度与性别不存在相关关系。因此,Leptin 与性别之间是否存在相关性,仍需进一步大样本量研究。

**3.2 SFRP5 与 CAD 的关系** Bhatt et al<sup>[8]</sup>发现在小鼠和人的动脉粥样硬化斑块中均检测到 Wnt5a 高表达。SFRP5 - 2005 年研究者利用基因芯片鉴定出的一种新的脂肪细胞分泌因子,动物实验研究<sup>[9-10]</sup>表明,SFRP5 可通过抑制 Wnt5a 阻断巨噬细胞或脂肪细胞产生炎症介质。此外,本研究显示,SFRP5 水平与 CAD 病变严重程度呈负相关性,CAD 患者血清 SFRP5 水平低于非 CAD 患者,多支血管病变的血浆 SFRP5 水平低于单支血管病变。Miyoshi et al<sup>[11]</sup>检测 185 例受试者(128 例 CAD、57 例非 CAD)的 SFRP5 水平,发现 CAD 组血清 SFRP5 水平高于非 CAD 组,而且血清 SFRP5 水平和超敏 C 反应蛋白( hs-CRP) 水平呈负相关性,这支持 SFRP5 有抗炎作用,本研究与既往研究结果相符,本研究显示 SFRP5 水平在性别间差异有统计学意义,男性血清 SFRP5 水平低于女性( P < 0.01),但既往研究<sup>[11]</sup>显示男、女差异无统计学意义。尽管 SFRP5 水平可能会被肥胖影响,但在本研究中,CAD 组和非 CAD 组的体质指数之间差异无统计学意义,多因素 Logistics 回归分析表明血清 SFRP5 水平和 CAD 独立相

关。此外,本研究显示 SFRP5 水平和药物之间的关系,使用利尿剂可能会增加 SFRP5 水平,但其影响机制尚未完全清楚。

**3.3 RBP4 与 CAD 的关系** 既往研究<sup>[12-13]</sup>表明,RBP4 可能通过干扰糖、脂质代谢,从而促进炎症的发生,并在进一步的研究中证实,RBP4 水平升高可能和胰岛素抵抗、肥胖、动脉粥样硬化相关。但关于 RBP4 在颈动脉和冠状动脉粥样硬化中的作用仍无明确结论<sup>[14-15]</sup>。本研究显示 RBP4 水平在 CAD 组和非 CAD 组间差异无统计学意义,说明 RBP4 水平的变化与 CAD 的发生、发展无关。此外,RBP4 水平与 CAD 的其它危险因素如吸烟、血脂异常等差异也无统计学意义,表明 RBP4 不影响 CAD 危险因子的作用。

参考文献

[1] Hansson G K, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis [J]. *Nat Immunol* 2011, 12( 3) : 204 - 12.

[2] Bouziana S, Tziomalos K, Goulas A. The role of adipokines in ischemic stroke risk stratification [J]. *Int J Stroke* 2016, 11( 4) : 389 - 98.

[3] Shibata R, Ohashi K, Murohara T, et al. The potential of adipokines as therapeutic agents for cardiovascular disease [J]. *Cytokine Growth Factor Rev* 2014, 25( 4) : 483 - 7.

[4] Alexopoulos N, Katritsis D, Raggi P. Visceral adipose tissue as a source of inflammation and promoter of atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis* 2014, 233 ( 1) : 104 - 12.

- [5] Park A C , Huang G , Jankowska-Gan E , et al. Mucosal administration of collagen V ameliorates the atherosclerotic plaque burden by inducing interleukin 35-dependent tolerance [J]. *J Biol Chem* , 2016 291(7) : 3359 – 70.
- [6] Hoffmann A , Ebert T , Klötting N , et al. Leptin dose-dependently decreases atherosclerosis by attenuation of hypercholesterolemia and induction of adiponectin [J]. *Biochim Biophys Acta* , 2016 , 1862(1) : 113 – 20.
- [7] Miyoshi T , Onoue G , Hirohata A , et al. Serum adipocyte fatty acid-binding protein is independently associated with coronary atherosclerotic burden measured by intravascular ultrasound [J]. *Atherosclerosis* 2010 211(1) : 164 – 9.
- [8] Bhatt P M , Malgor R. Wnt5a: a player in the pathogenesis of atherosclerosis and other inflammatory disorders [J]. *Atherosclerosis* , 2014 237(1) : 155 – 62.
- [9] Ouchi N , Higuchi A , Ohashi K , et al. Sfrp5 is an anti-inflammatory adipokine that modulates metabolic dysfunction in obesity [J]. *Science* 2010 329(5990) : 454 – 7.
- [10] Bilkovski R , Schulte D M , Oberhauser F , et al. Adipose tissue macrophages inhibit adipogenesis of mesenchymal precursor cells via Wnt-5a in humans [J]. *Int J Obes( Lond)* , 2011 , 35(11) : 1450 – 4.
- [11] Miyoshi T , Doi M , Usui S , et al. Low serum level of secreted frizzled-related protein 5 , an anti-inflammatory adipokine , is associated with coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis* , 2014 , 233(2) : 454 – 9.
- [12] Alkharfy K M , Al-Daghri N M , Vanhoutte P M , et al. Serum retinol-binding protein 4 as a marker for cardiovascular disease in women [J]. *PLoS One* 2012 7(10) : e48612.
- [13] Huang G , Wang D , Khan U I , et al. Associations between retinol-binding protein 4 and cardiometabolic risk factors and subclinical atherosclerosis in recently postmenopausal women: cross-sectional analyses from the KEEPS study [J]. *Cardiovasc Diabetol* , 2012 , 11: 52.
- [14] Aust G , Uptaitė-Patapienė M , Scholz M , et al. Circulating Nampt and RBP4 levels in patients with carotid stenosis undergoing carotid endarterectomy(CEA) [J]. *Clin Chim Acta* , 2011 , 413(13–14) : 1195 – 200.
- [15] Liu Y , Wang D , Chen H , et al. Circulating retinol binding protein 4 is associated with coronary lesion severity of patients with coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis* 2015 238(1) : 45 – 51.

## Correlation analysis between serum Leptin , SFRP5 and RBP4 levels and coronary heart disease

Li Yaoyao<sup>1 2</sup> , Dong Wenpeng<sup>2</sup> , Lu Hua<sup>2</sup> , et al

(<sup>1</sup> Faculty of Graduate Studies , Southern Medical University , Guangzhou 510515; <sup>2</sup> Dept of Cardiovascular Surgery , General Hospital of Guangzhou Military Command , Guangzhou 510010)

**Abstract Objective** To investigate the relationship between serum Leptin , SFRP5 and RBP4 expression levels and coronary atherosclerotic heart disease( CAD) . **Methods** 71 patients suspected for CAD were included in the study and were divided into CAD and non-CAD group according to electrocardiogram and coronary angiography results. Serum Leptin , SFRP5 and RBP4 levels were examined using ELISA. Correlations of Leptin , SFRP5 and RBP4 expression levels and patients dermatography such as CAD were analysed. **Results** Serum SFRP5 level in CAD group was significantly lower than in non-CAD group(  $P < 0.05$  ) . Serum SFRP5 level was negatively correlated with Gensini score(  $r = -0.20$  ,  $P = 0.01$  ) . In CAD group , serum Leptin level increased significantly compared with non-CAD group(  $P < 0.05$  ) . There was no significant difference for serum RBP4 levels between CAD and non-CAD group. **Conclusion** The expression levels of Leptin , SFRP5 may be one of the mechanisms of initiation , development of CAD , which can be used as a new target for the prevention , assessment and treatment of CAD.

**Key words** coronary artery disease; adipokines; Leptin; secreted frizzled-related protein 5