

脂蛋白相关性磷脂酶 A₂活性能反映冠状动脉粥样硬化病变程度

刘甲兴, 郑兴*, 秦永文, 丁继军, 赵仙先, 曹江

(第二军医大学长海医院心血管内科, 上海 200433)

[摘要] **目的:**探讨人血浆脂蛋白相关性磷脂酶 A₂ (Lp-PLA₂) 活性与冠状动脉病变严重程度和稳定性的关系。**方法:**对 180 例可疑冠心病患者进行冠脉造影, 以病变支数和 Gensini 积分评价冠脉病变严重程度, 根据造影结果分为冠心病组 (112 例) 与对照组 (68 例)。冠心病患者再分别根据临床类型、冠脉病变支数、Gensini 积分进行分组。所有患者在造影前均测定血浆 Lp-PLA₂ 活性、白细胞 (WBC) 数、超敏 C 反应蛋白 (hsCRP)、血脂、血压、体质量指数等指标, 同时采集年龄、性别、吸烟史、高血压病史及糖尿病史等资料。用统计学方法对各亚组 Lp-PLA₂ 活性、WBC、hsCRP 进行比较, 并计算 Lp-PLA₂ 活性与 WBC、hsCRP 及冠心病传统危险因素的相关系数。**结果:**冠心病患者血浆 Lp-PLA₂ 活性显著高于对照组 ($P < 0.01$)。Lp-PLA₂ 活性在稳定型心绞痛和急性冠脉综合征患者间无显著差别; Lp-PLA₂ 活性随着冠脉病变支数和 Gensini 积分的增加而升高。血浆 Lp-PLA₂ 活性与 TC、LDL-C 呈明显正相关, 与 HDL-C 呈负相关, 与 WBC 微弱相关, 与 hsCRP 无相关。**结论:**血浆 Lp-PLA₂ 活性能反映冠状动脉粥样硬化病变的严重程度, 与冠脉病变稳定性无关。

[关键词] 脂蛋白相关性磷脂酶 A₂; 冠状动脉硬化; 冠状动脉疾病

[中图分类号] R 541.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)04-0391-05

Lipoprotein-associated phospholipase A₂ as a predictor for severity of coronary atherosclerosis

LIU Jia-xing, ZHENG Xing*, QIN Yong-wen, DING Ji-jun, ZHAO Xian-xian, CAO Jiang (Department of Cardiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate whether plasma lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂) activity correlates with severity and stability of coronary atherosclerosis and other established cardiovascular risk factors. **Methods:** Coronary angiography (CAG) was performed in 180 hospitalized patients who were suspected as having coronary heart disease (CHD). The severity of pathological changes of the coronary artery was assessed by the number of diseased coronary branches and Gensini's score. According to the results of CAG, the 180 patients were divided into 2 groups: CHD group ($n=112$) and non-CHD group ($n=68$). The CHD patients were further divided into subgroups according to the clinical types, the number of diseased coronary branches and Gensini's score. Lp-PLA₂ activity, white blood cell (WBC) count, high sensitive C reactive protein (hsCRP), lipids, blood pressure and body mass index were measured. The age, sex and prior medical histories including hypertension, diabetes mellitus and smoking status were obtained before CAG in all patients. Lp-PLA₂, WBC count and hsCRP were compared statistically between the subgroups, and correlation coefficients of Lp-PLA₂ activity with WBC count, hsCRP and other conventional risk factors for CHD were calculated. **Results:** Plasma Lp-PLA₂ activity in CHD patients was significantly higher than that in controls ($P < 0.01$). No significant difference was found in Lp-PLA₂ activity between patients with acute coronary syndrome and stable angina pectoris. Lp-PLA₂ activity increased with the increasing number of diseased coronary branches and Gensini's score. Plasma Lp-PLA₂ activity was positively correlated with TC and LDL-C, negatively correlated with HDL-C, weakly correlated with WBC count, and not correlated with hsCRP. **Conclusion:** Plasma Lp-PLA₂ activity can be used as a parameter to predict pathological severity of coronary atherosclerosis, though it is not associated with stability of pathological changes of the coronary artery.

[KEY WORDS] lipoprotein-associated phospholipase A₂; coronary arteriosclerosis; coronary disease

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(4): 391-395]

传统危险因子不能解释所有的冠状动脉(冠脉)事件, 这促使人们去寻找新的冠心病(coronary heart disease, CHD)致病因子。由于有越来越多的证据表明炎症在动脉粥样硬化形成、发展及最终破裂的全过程中均起着重要的作用, 因此人们推测多种炎症介质可能是 CHD 新的危险因素^[1]。目前正在接受评估的与 CHD 有关的炎症标志物有 C 反应

蛋白^[2]、血清淀粉样蛋白 A^[3]、纤维蛋白原^[4]、白介素-6^[5]、细胞间黏附分子-1^[6]等。最近有研究^[7~9]发现脂蛋白相关性磷脂酶 A₂ (lipoprotein-associated

[作者简介] 刘甲兴, 硕士生, 主治医师。现在解放军第 180 医院心内科, 泉州 362000。E-mail: liulijiaxing@yahoo.com.cn

* Corresponding author. E-mail: zhengxing5753@163.com

phospholipase A₂, Lp-PLA₂)是一种与 CHD 有关的新的炎症标志物,而且可能直接参与动脉粥样硬化,能独立预测冠脉事件。但 Lp-PLA₂活性与冠脉病变严重程度和稳定性的关系尚不清楚。本研究目的主要是探讨 Lp-PLA₂活性与冠脉病变严重程度的关系,并分析 Lp-PLA₂活性与传统 CHD 危险因素及白细胞(WBC)数、C 反应蛋白等炎性指标的相关性。

1 资料和方法

1.1 研究对象 选择2005年5月至2005年11月因可疑冠心病在长海医院心内科住院并行冠脉造影术(CAG)患者180例,男性118例(65.6%),女性62例(34.4%),年龄36~84(61.7±10.5)岁。按CAG结果分为CHD组与对照组,对照组(冠脉无狭窄)68例,CHD组(定义为至少1支主要血管狭窄程度≥25%)112例。CHD组包括47例稳定型心绞痛(SAP)、65例急性冠脉综合征(ACS),其中ACS有47例为不稳定型心绞痛、18例为急性心肌梗死。CHD根据冠脉病变支数再分为单支病变、双支病变和三支病变;根据Gensini积分分为0<积分<20、20≤积分<40和积分≥40共3组。

所有患者均接受心电图、胸片、超声心动图、肝肾功能等检查。排除瓣膜性心脏病、心肌病、恶性肿瘤、急慢性感染性疾病、严重肝肾功能不全等。CAG前未曾服用降脂药等影响Lp-PLA₂活性及C反应蛋白的药物。所有病例CAG前均测定血浆Lp-PLA₂活性、白细胞(WBC)计数、超敏C反应蛋白(hsCRP);总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C);以及收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、体质指数(BMI)等相关指标,同时询问吸烟史、高血压病史及糖尿病史。

1.2 冠脉造影及冠脉狭窄程度的评价 CAG由经验丰富的心内科介入组医生完成,采用标准Judkins法,每一血管至少3个以上的多体位投照。结果均由同一位放射科医师进行分析,其对患者临床情况和化验结果并不知晓。根据1984年美国心脏协会制定的冠脉血管图像分段评价标准和Gensini积分系统对每支血管狭窄程度进行定量分析:采用直径法测量,冠脉病变狭窄程度以最严重处直径狭窄的比例表示,狭窄直径<25%计1分,≥25%~<50%计2分,≥50%~<75%计4分,≥75%~<90%计8分,≥90%~<99%计16分,≥99%计32分。将冠脉各分支狭窄得分分别乘以下列不同的系数,即左主干病变:得分×5;左前降支病变:近段得

分×2.5,中段得分×1.5;对角支病变:第一对角支得分×1,第二对角支得分×0.5;左回旋支病变:近段得分×2.5,远段得分×1;后降支得分×1;后侧支得分×0.5;右冠状动脉病变:近、中、远段和后降支得分均×1。各病变支得分总和即为患者的冠脉病变狭窄程度总积分。

1.3 生化指标测定方法

1.3.1 Lp-PLA₂活性测定 冠脉造影当天采受检者晨起空腹肘静脉血3ml,肝素抗凝,立即置于冰水中,30min内以4℃ 2500 r/min离心10min,取上层血浆置于-80℃冰冻保存待测。所有样本的检测均同一批次完成,由美国Cayman公司提供Lp-PLA₂活性检测试剂盒。步骤简述如下:按试剂盒要求配制检测缓冲液(包含0.1 mol/L Tris-HCl和1 mmol/L EGTA, pH 7.2)、显色剂5,5'-二硫代-2-硝基苯甲酸(DTNB)溶液和底物2-硫代-血小板活化因子(2-Thio PAF)溶液。测前将血浆解冻,用美国Millipore公司Ultra-4离心超滤管低温高速离心,使样本浓缩到原来的1/4。采用酶水解底物显色法测定Lp-PLA₂活性,用试剂盒提供的人Lp-PLA₂标准品(2 μg/ml)作为阳性对照;空白对照孔为10 μl DTNB+15 μl 检测缓冲液;阳性对照孔为10 μl DTNB+10 μl Lp-PLA₂标准品+5 μl 检测缓冲液;样品孔10 μl DTNB+10 μl 血浆样品+5 μl 检测缓冲液,均复孔测定。上述试剂混匀后每孔加200 μl 底物2-Thio PAF溶液,室温下轻摇30s后,每分钟在酶标仪上读取405 nm波长处的光密度值(D₄₀₅),绘制时间-光密度值函数曲线,在曲线直线部分取两点,计算样本的光密度变化率ΔD₄₀₅/min。并根据说明书提供的公式计算各样本的Lp-PLA₂活性。结果以每分钟每毫升血浆水解PAF的微摩尔数表示。

$$\text{Lp-PLA}_2 \text{ 活性} (\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}) =$$

$$\frac{\Delta D_{405}/\text{min}}{10.0 \text{ mmol/L}} \times \frac{0.225 \text{ ml}}{0.01 \text{ ml}} \times 1/4$$

1.3.2 血脂测定 以日立7600-020自动生化分析仪统一测定血脂,包括TC、TG、HDL-C、LDL-C。TG、TC采用酶法测定。HDL-C、LDL-C采用直接匀相测定法。

1.3.3 其他指标测定 hsCRP以德国DADE Behring公司的BNProSpec特定蛋白分析仪,采用乳胶颗粒增强速率散射比浊法测定。WBC用血细胞自动计数仪测定。

1.4 统计学处理 绝对变量用百分数表示,连续变量符合正态分布的用 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合偏态分布的用

中位数(第1四分位数/第3四分位数)表示。两组间均数的比较采用成组 *t* 检验,多组均数比较用协方差分析,偏态分布的数据先进行 lg 转换变成正态分布后再进行比较。计数资料的比较用 χ^2 检验。相关分析采用 Pearson 直线相关。本研究均采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析。 $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 冠心病组与对照组一般临床资料 CHD 组血浆 Lp-PLA₂ 活性显著高于对照组。经调整年龄、性别、BMI、血脂等传统危险因素后,两组 Lp-PLA₂ 差别仍具有显著性($P < 0.01$)。CHD 组年龄、WBC、hsCRP 及男性、吸烟者高于对照组,HDL-C 低于对照组($P < 0.05$ 或 0.01)。余指标无统计学差异。见表 1。

2.2 冠脉造影结果 180 例患者中,CAG 阴性(对照组)68 例,阳性(CHD 组)112 例,冠脉单支病变 41 例,双支病变 37 例,三支病变 34 例,Gensini 积分在 $0 < \text{积分} < 20$ 、 $20 \leq \text{积分} < 40$ 和 $\text{积分} \geq 40$ 三组的患者分别为 42 例、28 例、42 例。

2.3 Lp-PLA₂ 活性与冠心病临床类型、冠脉病变支数、Gensini 积分的关系 Lp-PLA₂ 活性与 CHD 临床类型、冠脉病变支数、Gensini 积分的关系见表 2。

与对照组相比,SAP 组和 ACS 组 Lp-PLA₂ 活

性均有非常显著升高($P < 0.01$),但 Lp-PLA₂ 活性在 SAP 和 ACS 两组间无显著差别;WBC、hsCRP 只在 ACS 组有显著升高($P < 0.05$ 或 0.01)。

表 1 冠心病组和对照组的一般临床资料

Tab 1 Clinical characteristics of CHD patients and controls

Risk factors	Control (n=68)	CHD (n=112)
Age(year)	58.0±10.3	63.9±10.0**
BMI(kg/m ²)	24.2±3.2	24.9±3.5
Male[n(%)]	37(54.4)	81(72.3)*
Smokers[n(%)]	20(29.4)	55(49.1)**
Hypertention[n(%)]	37(54.4)	74(66.1)
Diabetes[n(%)]	8(11.8)	15(13.4)
SBP(p/mmHg)	130±20	134±20
DBP(p/mmHg)	80±10	79±11
TC(c _B /mmol·L ⁻¹)	4.69±0.87	4.77±1.05
TG(c _B /mmol·L ⁻¹)	1.43	1.48
LDL-C(c _B /mmol·L ⁻¹)	2.8±0.7	3.0±0.8
HDL-C(c _B /mmol·L ⁻¹)	1.09±0.25	0.98±0.20**
WBC(×10 ⁹ /L)	5.99±1.18	6.58±1.63*
hsCRP(c _B /mg·L ⁻¹)	0.641	1.140*
Lp-PLA ₂ (μmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)	22.02±2.75	27.68±3.94**

CHD; Coronary heart disease; BMI; Body mass index; SBP; Systolic blood pressure; DBP; Diastolic blood pressure; TC; Total cholesterol; TG; Triglyceride; LDL-C; Low density lipoprotein-cholesterol; HDL-C; High density lipoprotein-cholesterol; WBC; White blood cell; hsCRP; High sensitive C reactive protein. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control

表 2 Lp-PLA₂ 活性与 CHD 临床类型、冠脉病变支数、Gensini 积分的关系

Tab 2 Relationship between Lp-PLA₂ activity and CHD clinical types, branches of coronary artery lesions, and Gensini's score

Group	N	WBC (×10 ⁹ /L)	hsCRP (c _B /mg·L ⁻¹)	Lp-PLA ₂ activity (μmol·min ⁻¹ ·ml ⁻¹)
Control	68	5.99±1.18	0.641	22.02±2.75
Clinical type				
SAP	47	6.14±1.68	0.675	27.90±3.76**
ACS	65	6.60±1.46*	1.880**	27.52±4.08**
Vessel				
Single vessel	41	6.13±1.30	0.715	25.57±3.14**
Double vessels	37	6.79±1.75**	1.200*	27.34±3.52**
Triple vessels	34	6.90±1.77**	2.450**	30.59±3.51**
Gensini's score				
$0 < \text{score} < 20$	42	6.25±1.18	0.794	26.57±3.13**
$20 \leq \text{score} < 40$	28	6.98±2.41**	2.160**	27.52±3.99**
$\text{Score} \geq 40$	42	6.64±1.31*	1.360**	28.89±4.35**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control; SAP; Stable angina pectoris, ACS; Acute coronary syndrome

WBC、hsCRP 水平只在冠脉双支、三支病变组中显著高于对照组($P < 0.05$ 或 0.01);而 Lp-PLA₂ 活性在单支、双支、三支病变组中均显著高于对照组($P < 0.01$),且随着病变支数的增加而逐渐升高。

WBC、hsCRP 在 $20 \leq \text{积分} < 40$ 组和 $\text{积分} \geq 40$ 组中均高于对照组,相差显著($P < 0.05$ 或 0.01)。但在 $\text{积分} \geq 40$ 组中,WBC、hsCRP 水平有所下降。而 Lp-PLA₂ 活性在三个积分组中均显著高于对照组

($P < 0.01$),且随着 Gensini 积分的增加而逐渐升高。

2.4 Lp-PLA₂活性与冠心病危险因素的关系 Lp-PLA₂活性、WBC、hsCRP 及其他 CHD 危险因素之间的关系用 Pearson 直线相关分析,以 Pearson 相关系数表示。结果发现 Lp-PLA₂活性与 HDL-C 呈负相关,与 TC、LDL-C 呈明显正相关,与 TG、年龄也有相关,与 WBC 相关程度轻,而与 BMI、SBP、DBP、hsCRP 无相关。WBC 与 hsCRP、DBP 呈正相关,与其他因素无关。hsCRP 与年龄、BMI、WBC 呈正相关,与其他因素无关(表 3)。

表 3 所有患者 Lp-PLA₂活性、WBC、hsCRP 及其他危险因素的 Pearson 相关系数

Tab 3 Pearson correlation coefficients between Lp-PLA₂ activity, WBC, hsCRP and other risk factors

Risk factors	WBC	hsCRP	Lp-PLA ₂
Age	-0.105	0.252**	0.200**
BMI	0.078	0.221**	-0.019
SBP	0.130	0.055	0.067
DBP	0.165*	0.049	-0.026
TC	0.040	0.065	0.485**
TG	0.062	0.035	0.198**
LDL-C	0.111	0.089	0.482**
HDL-C	-0.077	-0.098	-0.412**
WBC	-	0.222**	0.097**
hsCRP	0.222**	-	0.098
Lp-PLA ₂	0.097**	0.098	-

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

人血浆 Lp-PLA₂相对分子质量 50 000,主要由成熟的巨噬细胞和淋巴细胞合成和分泌,并受炎症介质的调节,人循环中的 Lp-PLA₂以与脂蛋白颗粒结合的形式存在,其中 2/3 与 LDL 结合,1/3 与 HDL、VLDL 结合^[10]。血浆 Lp-PLA₂活性与 Lp-PLA₂浓度呈正相关^[10]。Lp-PLA₂能水解血小板活化因子(PAF)使之失去活性,故又称血小板活化因子乙酰水解酶(PAF-AH)。但该酶底物特异性不强,除了水解 PAF 外,还能水解 LDL 上的氧化卵磷脂,生成溶血卵磷脂和氧化游离脂肪酸,后二者是促炎介质,能通过刺激黏附因子和细胞因子生成,促进单核细胞由管腔向内膜聚集,衍生为巨噬细胞,巨噬细胞吞噬氧化 LDL 变成泡沫细胞,泡沫细胞聚集成动脉粥样硬化性斑块,斑块在细胞因子和蛋白酶的作用下溃疡或破裂,导致血栓形成和心血管事件的发生。因此,理论上 Lp-PLA₂具有促动脉粥样硬化

形成和心血管事件发生的作用。

最近几个较大的流行病学和临床前瞻性研究^[7-9]均发现,发生冠心病事件者与对照组相比 Lp-PLA₂浓度或活性显著升高,能独立于传统危险因素及 hsCRP、WBC、纤维蛋白原、血清淀粉样蛋白 A (SAA)等炎症指标预测冠心病事件,是 CHD 新的独立危险因素。但 Lp-PLA₂与 CHD 冠脉病变严重程度关系尚不明确。

本研究发现,CHD 血浆 Lp-PLA₂活性显著高于对照组($P < 0.01$),而且随着冠脉病变支数的增加和 Gensini 积分的增加而逐渐升高。提示 Lp-PLA₂活性与冠脉病变严重程度明显相关。但 Lp-PLA₂活性在 SAP 和 ACS 两组间无显著差别,与 hsCRP 无相关,与 WBC 仅轻度相关,说明 Lp-PLA₂活性和 WBC、hsCRP 不同,与 CHD 冠脉病变的稳定性无关,而与冠脉造影所示的冠脉病变严重程度相关。因此,它不是急性阶段的炎症标志物,而可能是直接参与了致动脉粥样硬化作用。

WBC 和 hsCRP 在双支病变、三支病变组中显著高于对照组,单支病变组与对照组无差别。WBC 和 hsCRP 在 Gensini 积分 < 20 时与对照组无显著差别,当 Gensini 积分 > 20 时才有显著升高,但当 Gensini 积分 ≥ 40 (Gensini 积分高者中闭塞性病变较多,斑块较稳定)时又有所下降。WBC 和 hsCRP 只在 ACS 中显著高于对照组,在 SAP 组与对照组间无显著差别。WBC 和 hsCRP 间有较明显的相关性。以上说明 WBC 和 hsCRP 是急性期非特异性系统炎症标志物,主要反映的是粥样硬化斑块的不稳定性,可用于 CHD 的危险分层,而与冠脉解剖学病变程度(造影所见)并无良好相关性。

国外研究发现 Lp-PLA₂与 TC、LDL-C 呈明显正相关,这和 Lp-PLA₂在循环中主要与 LDL-C 结合有关。多数研究显示 Lp-PLA₂与 HDL-C 呈负相关。Lp-PLA₂与年龄、BMI、BP、TG 等其他危险因素的关系,各研究结果有所不同。可能与研究人群特征不同有关。本研究发现血浆 Lp-PLA₂活性与 TC、LDL-C 呈明显正相关,与 HDL-C 呈负相关,与年龄、TG、WBC 有轻微正相关,而与 BMI、SBP、DBP、hsCRP 无相关,结果与 Winkler 等^[11]研究相似。这些关系的不同,反映了 Lp-PLA₂与 WBC、CRP 在冠脉动脉粥样硬化中的作用不同。

总之,本研究加深了对 CHD 是一种慢性炎症性疾病这一观念的认识。WBC 和 hsCRP 是非特异性系统炎症标志物,二者明显相关,主要反映冠脉粥样硬化斑块的不稳定性,可用于 CHD 的危险分层。

Lp-PLA₂活性与 TC、LDL-C 呈明显正相关,与 HDL-C 呈负相关,与 hsCRP 无相关,与 WBC 相关性弱,与冠脉病变的稳定性无关,能预测冠脉病变的严重程度。Lp-PLA₂活性除了介导炎症反应外,还有较强的直接促动脉粥样硬化作用,因此有望成为 CHD 新的治疗目标。

[参考文献]

- [1] Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2002, 105: 1135-1143.
- [2] Danesh J, Wheeler JG, Hirschfeld GM, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350: 1387-1397.
- [3] 马丽萍, 秦永文, 郑兴, 等. 高敏感 C 反应蛋白和淀粉样物质 A 与冠状动脉病变程度的关系[J]. *第二军医大学学报*, 2004, 25: 763-765.
- [4] Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteins, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease[J]. *JAMA*, 2001, 285: 2481-2485.
- [5] Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men[J]. *Circulation*, 2000, 101: 1767-1772.
- [6] Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, et al. Plas-

ma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men[J]. *Lancet*, 1998, 351: 88-92.

- [7] Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group[J]. *N Engl J Med*, 2000, 343: 1148-1155.
- [8] Koenig W, Khuseynova N, Lowel H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany[J]. *Circulation*, 2004, 110: 1903-1908.
- [9] Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study[J]. *Circulation*, 2005, 111: 570-575.
- [10] Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A₂, platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2000, 150: 413-419.
- [11] Winkler K, Winkelmann BR, Scharnagl H, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity indicates angiographic coronary artery disease independently of systemic inflammation and other risk factors: The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study [J]. *Circulation*, 2005, 111: 980-987.

[收稿日期] 2006-01-04

[修回日期] 2006-02-25

[本文编辑] 邓晓群

Induction of mucosal and systemic immune response by single-dose oral immunization with biodegradable microparticles containing DNA encoding HBsAg

He XW, Wang F, Jiang L, Li J, Liu SK, Xiao ZY, Jin XQ, Zhang YN, He Y, Li K, Guo YJ, Sun SH (Department of Medical Genetics, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] The purpose of this work was to assess the ability of plasmid DNA encoding hepatitis B virus (HBV) HBsAg encapsulated in poly(DL-lactide-co-glycolic acid) (PLGA) microparticles to induce local and systemic HBsAg-specific immunity following a single dose of oral immunization. RT-PCR analysis demonstrated prolonged transcription of plasmid DNA, consistent with the sustained expression and presentation of target antigen observed by confocal laser scanning microscopy, in gut-associated lymphocyte tissue (GALT) from mice immunized orally with plasmid DNA encapsulated into PLGA microparticles. Oral administration of PLGA-DNA microparticles induced a long-lasting and stable antigen-specific antibody response, both serum total antibody and intestinal IgA, in BALB/c mice. Mice immunized orally exhibited antigen-specific gamma interferon production and cytotoxic T lymphocyte responses in spleen and GALT after restimulation *in vitro* with HBsAg or tumour cells stably expressing HBsAg. In contrast, naked DNA vaccines given by intramuscular injection induced only systemic cellular and humoral responses to HBsAg, which were much lower than the responses elicited by oral DNA encapsulated in PLGA microparticles at equivalent doses. The results are encouraging with regard to obtaining good compliance and vaccination coverage with candidate plasmid DNA vaccines, especially in developing countries.

[J Gen Virol, 2005, 86(Pt 3): 601-610]