

冠心病患者内皮细胞膜微粒及 Th 细胞因子水平变化及意义

沈红元¹, 陈玉蓉², 沈建林^{1△} (1. 湖北职业技术学院医学院, 湖北孝感 432000; 2. 湖北省汉川市血吸虫病诊疗专科医院检验科 432300)

【摘要】 目的 探讨冠心病患者外周血内皮细胞膜微粒(EMPs)、辅助性 T 细胞(Th)细胞因子水平变化及临床意义。**方法** 选择 2011 年 7 月至 2013 年 7 月孝感市中心医院收治的 68 例冠心病患者作为研究对象,按照世界卫生组织分类标准分为稳定型心绞痛(SA)21 例,不稳定型心绞痛(UA)22 例,急性心肌梗死(AMI)25 例;另选择同期在孝感市中心医院体检的健康人群 30 例作为健康对照组。比较 4 组受检者外周血 EMPs、 γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素-2(IL-2)、IL-4、IL-10 水平。**结果** 4 组受检者中,SA 组、UA 组、AMI 组外周血 EMPs、IFN- γ 、IL-2 水平均显著高于健康对照组,其中 UA 组和 AMI 组水平又高于 SA 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);AMI 组外周血 EMPs 显著高于 UA 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。相关性分析结果显示,EMPs 与 IFN- γ 、IL-2 呈正相关关系($P < 0.05$),而与 IL-4、IL-10 无明显相关性($P > 0.05$)。**结论** 冠心病患者外周血 EMPs 水平能够反映患者内皮功能、斑块炎症反应程度及斑块稳定性;导致 EMPs 升高的原因可能与 Th1/Th2 细胞因子分泌异常有关。

【关键词】 冠心病; 内皮细胞膜微粒; 辅助性 T 细胞; 动脉硬化

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.03.029 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)03-0360-03

Dynamic changes and clinical significance of EMPs, Th cytokines levels in patients with coronary heart disease SHEN Hong-yuan¹, CHEN Yu-rong², SHEN Jian-lin^{1△} (1. Chemistry Teaching and Research Section, School of Medical, HuBei Polytechnic Institute, Xiaogan, Hubei 432000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Schistosomiasis Diagnosis and Treatment of Specialized Subject Hospital of Hanchuan City, Hanchuan, Hubei 432300, China)

【Abstract】 Objective To explore the changes and clinical significance of endothelial cell membrane particles (EMPs), helper T cell (Th) levels in patients with coronary heart disease. **Methods** Totally 68 cases of patients with coronary heart disease from July 2011 to July 2013 in the hospital were selected as the research object, according to the WHO classification standards, stable angina pectoris (SA) in 21 patients, unstable angina pectoris (UA) in 22 cases, acute myocardial infarction (AMI) in 25 cases; 30 cases of health the same period in the hospital were selected as the control group. The levels of EMPs, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-10 in the four groups were compared. **Results** The SA group, UA group, AMI group of peripheral blood EMPs, IFN- γ , IL-2 levels were significantly higher than those in the control group, UA group and AMI group was higher than that of SA group ($P < 0.05$); peripheral blood EMPs in AMI group was higher than that in UA group ($P < 0.05$). The results of correlation analysis showed EMPs and IFN- γ , IL-2 was positively related ($P < 0.05$), and had no significant correlation between IL-4, IL-10 ($P > 0.05$). **Conclusion** The level of EMPs in peripheral blood of patients with coronary heart disease can reflect the degree of inflammation, endothelial function and plaque stability; possible reasons leading to elevated EMPs and Th1/Th2 cytokine secretion abnormalities.

【Key words】 coronary heart disease; endothelial cell membrane particles; helper T cells; arteriosclerosis

随着对冠状动脉研究的深入,研究者发现动脉粥样硬化(AS)是发生于动脉血管壁上、由多种免疫细胞参与的一种炎症反应^[1]。免疫细胞对 AS 早期斑块的形成有重要作用,而急性冠状动脉综合征(ACS)就是斑块在炎症环境中被激活所引起的,因此 AS 是一种免疫和炎症疾病。最近国外研究证实,辅助性 T 细胞(Th)失衡与 AS 斑块形成和 ACS 的发病过程有密切关系^[2]。内皮细胞膜微粒(EMPs)是由内皮细胞在各种刺激下释放出的囊泡,因此外周血 EMPs 水平可反映冠心病患者的内皮功能,但是 EMPs 是否可以反映冠心病患者的炎症反应程度及在冠心病发病中的作用目前仍不清楚^[3]。本文对冠心病患者外周血 EMPs、Th 水平进行检测,分析其在冠心

病发病中的作用,为临床治疗方案的制订提供一些参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 7 月至 2013 年 7 月孝感市中心医院收治的 68 例冠心病患者作为研究对象,男 49 例,女 19 例;年龄 48~74 岁,平均(61.3±7.5)岁。按照世界卫生组织分类标准:稳定型心绞痛(SA)21 例,不稳定心绞痛(UA)22 例,急性心肌梗死(AMI)25 例。SA 组男 16 例,女 5 例,年龄 45~74 岁,平均(61.7±5.5)岁;患者临床表现为心前区压榨性疼痛或不适,冠状动脉造影显示最少有 1 支血管直径狭窄大于或等于 50%。UA 组男 15 例,女 7 例,年龄 47~71 岁,平均

(60.9±8.1)岁;患者临床表现为静息性心绞痛或劳累后疼痛,心电图显示有一过性 T 波倒置或 ST 段压低。AMI 组男 18 例,女 7 例,年龄 48~73 岁,平均(62.1±9.5)岁;患者临床表现为 24 h 内心肌缺血持续 20 min 以上,肌酸激酶(CK)和肌钙蛋白水平高于正常值的 2 倍以上。另选择同期在孝感市中心医院体检的健康人群 30 例作为健康对照组,男 23 例,女 7 例,年龄 40~83 岁,平均(62.8±7.8)岁。

1.2 排除标准^[4] (1)陈旧性心肌梗死(病程 6 个月以上);(2)严重肝、肾等器官功能不全者或恶性肿瘤患者;(3)伴有自身免疫性疾病或内分泌系统疾病;(4)风湿性心脏病、心内膜炎等其他心脏疾病;(5)近 1 个月内服用免疫抑制剂或抗感染药物者。

1.3 方法

1.3.1 EMPs 检测 取 4 组受检者静脉血 3 mL,离心获得血浆^[5];取富含血小板的血浆 100 μL,加入 0.5 μg 荧光标记抗体(PE-anti-CD144 抗体,上海瑞齐生物科技有限公司产品);37℃孵育 30 min,再加入 1 mL 磷酸盐缓冲液悬液,采用 BD FACSCalibur 流式细胞仪进行检测。每组检测重复 3 次,定义 EMPs 为小于 1.0 μm 以下的 CD144⁺ 颗粒。

1.3.2 Th 细胞因子检测 取 4 组受检者静脉血 5 mL,高速

离心分离血清,于-80℃冰箱保存待检;样本采集后用酶联免疫吸附试验(ELISA)对血清 γ 干扰素(IFN-γ)、白细胞介素-2(IL-2)、IL-4、IL-10 水平进行检测,相关试剂盒由深圳市炬英生物科技有限公司提供,操作按照说明书进行。

1.4 统计学处理 所有研究数据采用 SPSS17.0 统计学软件包进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间资料相比采用方差分析,相关性采用 Pearson 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组受检者临床资料对比 见表 1。4 组受检者年龄分布、性别构成、血脂、血糖未见显著差异;与 SA 组及健康对照组相比,UA 组和 AMI 组 C 反应蛋白(CRP)显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$);AMI 组 CK 水平显著高于其他 3 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 4 组受检者外周血 EMPs、Th 细胞因子水平比较 见表 2。4 组受检者中,SA 组、UA 组、AMI 组外周血 EMPs、IFN-γ、IL-2 水平均显著高于健康对照组,其中 UA 组和 AMI 组水平又高于 SA 组,差异有统计学意义($P<0.05$);AMI 组外周血 EMPs 显著高于 UA 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 4 组受检者患者临床资料对比

组别	n	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	男性 [n(%)]	总胆固醇 ($\bar{x} \pm s$, mmol)	低密度脂蛋白 ($\bar{x} \pm s$, mmol)	血糖 ($\bar{x} \pm s$, mmol)	CRP ($\bar{x} \pm s$, mg/L)	CK ($\bar{x} \pm s$, U/L)
健康对照组	30	62.8±7.8	23(76.67)	5.1±0.3	2.3±0.4	5.2±0.3	1.8±0.3	28.5±7.4 [△]
SA 组	21	61.7±5.5	16(76.19)	5.2±0.6	2.3±0.7	5.5±0.7	1.3±0.6	30.4±11.4 [△]
UA 组	22	60.9±8.1	15(68.18)	5.5±1.1	2.5±0.4	5.6±1.1	3.3±1.4*	36.3±12.5 [△]
AMI 组	25	62.1±9.5	18(72.00)	5.4±0.7	2.6±0.9	5.3±0.5	3.1±0.7*	123.1±321.0

注:与健康对照组和 SA 组相比,* $P<0.05$;与 AMI 组相比,[△] $P<0.05$ 。

表 2 4 组受检者外周血 EMPs、Th 细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	EMPs(个/微升)	IFN-γ(ng/L)	IL-2(ng/L)	IL-4(ng/L)	IL-10(ng/L)
健康对照组	30	417±131	7.6±1.4	9.8±3.1	18.7±2.5	31.5±4.7
SA 组	21	687±205*	10.8±4.3*	12.8±5.4*	18.4±3.3	30.7±4.1
UA 组	22	1 473±378* [△]	29.7±7.8* [△]	27.9±5.6* [△]	17.9±2.1	29.8±3.3
AMI 组	25	1 985±451* ^{△▲}	32.6±8.3* [△]	28.7±5.5* [△]	17.6±4.7	30.1±5.2

注:与健康对照组相比,* $P<0.05$;与 SA 组相比,[△] $P<0.05$;与 UA 组相比,[▲] $P<0.05$ 。

2.3 相关性分析 见表 3。相关性分析结果显示,EMPs 与 IFN-γ、IL-2 呈正相关关系($P<0.05$),与 IL-4、IL-10 无明显相关性($P>0.05$)。

表 3 EMPs 与 Th 细胞因子相关性分析

统计值	IFN-γ	IL-2	IL-4	IL-10
r	0.794	0.805	-0.087	-0.157
P	0.000	0.000	0.375	0.113

3 讨论

目前研究已证实,ACS 的发病机制与血栓的形成、冠状 AS 斑块破裂有关,其中炎症反应在介导动脉硬化中起重要作用^[6]。Guo 等^[7]在研究中发现,炎症反应是导致不稳定斑块形

成的主要因素。越来越多的研究显示,ACS 患者存在 Th1/Th2 失衡,其中以 Th1 分泌的白细胞介素、肿瘤坏死因子升高最为明显,并且随着疾病的进展,上述因子水平会显著升高^[8-9]。这提示白细胞介素、肿瘤坏死因子在不稳定斑块形成中发挥着重要作用。在本研究中,UA 组和 AMI 组 IFN-γ、IL-2 水平显著高于健康对照组和 SA 组,由此说明 Th1 细胞参与了 AS 斑块和不稳定斑块的形成。

EMPs 主要由内皮细胞分泌,它作为内皮细胞的产物,能够准确反映出内皮细胞的功能。对于各种内皮细胞功能异常的疾病,如高血压、糖尿病、紫癜、冠心病等患者,血浆 EMPs 水平会明显升高,因此临床上常将 EMPs 作为监测内皮细胞功能的标志物^[10]。本研究发现,SA 组、UA 组、AMI 组外周血 EMPs 水平显著高于健康对照组,由此说明 EMPs 水平可以反

映冠心病患者内皮细胞的功能。另外 UA 组、AMI 组 EMPs 水平又高于 SA 组,这提示冠心病动脉硬化斑块的稳定性与 EMPs 水平有密切关系。本研究对 EMPs 与 Th 细胞因子相关性进行分析后发现,EMPs 与 IFN- γ 、IL-2 呈正相关关系,而与 IL-4、IL-10 无明显相关性。这一结果提示 Th1/Th2 细胞因子分泌异常可能是导致 EMPs 水平升高的主要原因。此外通过检测外周血 IFN- γ 、IL-2 水平也能在一定程度上了解动脉硬化斑块的炎性反应程度。

既往研究还证实,EMPs 不仅反映内皮细胞功能,还参与凝血过程,它可以通过促进血小板的聚集导致血栓形成^[11-12]。此外 EMPs 还能够调节患者免疫功能。本研究结果表明,通过检测 EMPs 水平可以反映冠心病患者斑块炎性反应程度和內皮功能,还参与 Th1/Th2 的调控,促进斑块形成和斑块的不稳定。但 EMPs 在此过程中参与的程度仍需要进一步研究。

综上所述,冠心病患者外周血 EMPs 水平能够反映患者內皮功能、斑块炎性反应程度及斑块的稳定性,导致 EMPs 升高的原因可能与 Th1/Th2 细胞因子分泌异常有关。

参考文献

[1] Gijssen F, Van Der Giessen A, Van Der Steen A, et al. Shear stress and advanced atherosclerosis in human coronary arteries[J]. J Biomech, 2013, 46(2): 240-247.
 [2] Li Q, Wang Y, Chen K, et al. The role of oxidized low-density lipoprotein in breaking peripheral Th17/Treg balance in patients with acute coronary syndrome[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 394(3): 836-842.
 [3] 郑敏哲,吴志宏,纪春良,等. 内皮细胞膜微粒对血管内皮细胞通透性的影响[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(5): 337-339.
 [4] 高阅春,何继强,姜腾勇,等. 冠心病患者冠状动脉病变严重程度与冠心病危险因素的相关分析[J]. 中国循环杂志, 2012, 27(3): 178-181.
 [5] 吴志宏,郑敏哲,李辉,等. 细胞膜微粒对内皮细胞凋亡影

响的研究[J]. 中国骨与关节外科, 2011, 4(2): 141-145.

[6] Peiffer V, Bharath AA, Sherwin SJ, et al. A novel method for quantifying spatial correlations between patterns of atherosclerosis and hemodynamic factors[J]. J Biomech Eng, 2013, 135(2): 021023.
 [7] Guo M, Mao X, Ji Q, et al. Inhibition of IFN regulatory factor-1 down-regulate Th1 cell function in patients with acute coronary syndrome[J]. J Clin Immunol, 2010, 30(2): 241-252.
 [8] 王晓琦,杜乃立,张磊,等. 辅助性 T 细胞 17、辅助性 T 细胞 17/辅助性 T 细胞 1 比例在急性冠状动脉综合征的变化及临床意义[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(4): 336-340.
 [9] 安成,张振鹏,王涛,等. 急性冠状动脉综合征患者 T 淋巴细胞与心功能的相关性研究[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2012, 6(1): 43-46.
 [10] Yen ML, Hou CH, Peng KY, et al. Efficient derivation and concise gene expression profiling of human embryonic stem cell-derived mesenchymal progenitors (EMPs) [J]. Cell Transplant, 2011, 20(10): 1529-1545.
 [11] Fujita M, Horio T, Kishimoto S, et al. Effects of platelet-rich plasma-containing fragmin/protamine microparticles in enhancing endothelial and smooth muscle cell growth and inducing collateral vessels in a rabbit model of hind-limb ischemia[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2013, 101(1): 36-42.
 [12] 陆永光,符春晖,严华,等. 阿托伐他汀对内皮细胞微粒诱导的人脐静脉内皮细胞 ERK、p38MAPK、NF- κ B p65 蛋白及 ICAM-1mRNA 表达的影响[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2012, 47(6): 765-769.

(收稿日期: 2014-08-28 修回日期: 2014-10-15)

(上接第 359 页)

病变患者维生素 B₁₂ 的影响[J]. 中国实用内科杂志, 2013, 32(5): 396-397.
 [5] 李佳宁,刘思颖,姜福丽,等. 维生素 B1 与糖尿病微血管并发症[J]. 临床荟萃, 2012, 27(22): 2013-2017.
 [6] 齐立凤. 维生素 B₁ 在预防及治疗 2 型糖尿病中的作用研究[J]. 基层医学论坛, 2012, 16(1): 49-50.
 [7] Luong KV, Nguyen LT. The impact of thiamine treatment in the diabetes mellitus[J]. J Clin Med Res, 2012, 4(3): 153-160.
 [8] Keogh JB, Cleanthous X, Wycherley TP, et al. Increased thiamine intake may be required to maintain thiamine status during weight loss in patients with type 2 diabetes [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2012, 98(3): e40-42.
 [9] Kauffman G, Coats D, Seab S, et al. Thiamine deficiency in ill children[J]. Am J Clin Nutr, 2011, 94(2): 616-617.
 [10] Pacal L, Kuricova K, Kankova K. Evidence for altered thiamine metabolism in diabetes: Is there a potential to op-

pose gluco- and lipotoxicity by rational supplementation [J]. World J Diabetes, 2014, 5(3): 288-295.

[11] Gibson GE, Hirsch JA, Cirio RT, et al. Abnormal thiamine-dependent processes in Alzheimer's Disease. Lessons from diabetes[J]. Mol Cell Neurosci, 2013, 7(55): 17-25.
 [12] 李劲杨,杨红英. 糖尿病周围神经病变相关因素研究进展[J]. 检验医学与临床, 2012, 12(2): 207-209.
 [13] Shaw-Smith C, Flanagan SE, Patch AM, et al. Recessive SLC19A2 mutations are a cause of neonatal diabetes mellitus in thiamine-responsive megaloblastic anaemia [J]. Pediatr Diabetes, 2012, 13(4): 314-321.
 [14] Larkin JR, Zhang F, Godfrey L, et al. Glucose-induced down regulation of thiamine transporters in the kidney proximal tubular epithelium produces thiamine insufficiency in diabetes[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e53175.

(收稿日期: 2014-06-17 修回日期: 2014-10-17)