

# 冠心病患者血细胞和粥样硬化动脉壁中巨细胞病毒的检出

胡文立, 刘敬忠<sup>1</sup>, 牛世芹, 刘 旻, 石怀银<sup>2</sup>, 韦立新<sup>2</sup>

(首都医科大学附属北京红十字朝阳医院神经内科, 北京 100020;

1. 北京市基因诊断中心; 2. 解放军总医院病理科)

[主题词] 巨细胞病毒; 动脉粥样硬化; 冠状动脉; 颈动脉; 血细胞; 病人

[摘要] 为了研究巨细胞病毒和动脉粥样硬化的关系, 用聚合酶链反应方法检查了巨细胞病毒在颈内动脉、冠状动脉和血中的分布, 并与健康人作了对照。发现 83.3%~86.7% 的动脉粥样硬化病人的动脉壁中存在巨细胞病毒, 而非动脉粥样硬化病人的动脉壁中只有 6.7% 的标本中见巨细胞病毒, 两者相比有非常显著性差异 ( $P < 0.001$ ); 在 42.4% 的动脉粥样硬化病人的血细胞中查见巨细胞病毒, 而对照组中只有 3% 查见了巨细胞病毒, 两者相比有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ )。因此认为巨细胞病毒在动脉粥样硬化、冠心病和动脉粥样硬化性脑梗塞的病理过程中起着重要的作用。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

## Prevalence of Present Cytomegalovirus in the Atherosclerosis Arterial Walls and Leucocytes of the Patients with Coronary Heart Disease

HU Wen-Li, LIU Jing-Zhong, NU Shi-Qin, LIU Min, SHI Huai-Yin, and WEI Li-Xin

(Department of Neurology, Beijing Red Cross Chaoyang Hospital, Capital University of Medical Science, Beijing 100020, China)

**MeSH** Cytomegalovirus; Atherosclerosis; Coronary Vessels; Carotid Arteries; Blood Cells; Patients

**ABSTRACT** **Aim** To study the association of cytomegalovirus (CMV) with atherosclerosis. **Methods** The present of cytomegalovirus (CMV) nucleic acids was demonstrated in carotid artery and coronary artery of patients with and without atherosclerosis by polymerase chain reaction (PCR), and detected CMV by PCR in the blood of cerebral infarction patients with and without atherosclerosis. **Results** 83.3% - 86.7% of the samples obtained from atherosclerotic patients' arterial wall were shown to contain viral nucleic acids (CMV), among 6.6% of patients' arterial wall without atherosclerosis CMV could be found, significant difference can be found between them ( $P < 0.01$ ). In blood CMV could be found in 42.4% of patients with atherosclerosis, in the comparison only 3% of samples had CMV ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** CMV plays an important role in the pathologic process of the atherosclerosis and the atherosclerotic cerebral infarction.

近几年国外有资料证实动脉粥样硬化与巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV) 感染有关<sup>[1~3]</sup>, 国内仅见个别报道动脉粥样硬化病人的血液中巨细胞病毒的抗体浓度偏高, 尚未见直接检测病毒的报道<sup>[4]</sup>。我们这篇报道主要研究巨细胞病毒在动脉粥样硬化病人的血管壁、血液中的分布情况, 并与非动脉粥样硬化病人做了对照研究。

[作者简介] 胡立文, 男, 1964 年出生, 1988 年青岛医学院医疗系毕业, 1991 年首都医科大学研究生班毕业, 现任首都医科大学附属北京红十字朝阳医院神经内科主治医师。韦立新, 男, 河南省安阳县人, 1957 年 12 月出生, 新乡医学院医疗系毕业, 现任中国人民解放军总医院病理科主任医师、副主任, 军医进修学院教授、中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会委员、《中华病理学杂志》常务编委、《中国动脉硬化杂志》常务编委、《中国体视学及图像分析杂志》编委。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象与分组

动脉粥样硬化病人死亡后 12 h 内行尸体解剖, 取 30 个病人的冠状动脉壁和 30 个病人的颈内动脉壁用作研究资料; 另取 30 例意外死亡者的颈内动脉壁作为正常对照。随机抽取 210 例动脉粥样硬化性脑梗塞病人的血白细胞用于 CMV 检查, 动脉粥样硬化的诊断根据颈内动脉彩色 B 型多普勒超声检查来确定, 有纤维斑块和钙化斑块者为 ②级动脉粥样硬化。100 例健康检查者的白细胞作为对照。

### 1.2 血细胞及组织样本的制备

**1.2.1 血细胞** 用淋巴细胞分离液分离沉淀白细胞, 然后加入 50  $\mu$ L DNA 提取液充分混匀, 沸水浴 10 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 去上清后备用。

1.2.2 组织 取液氮中冻存的组织约 10 g, 用锡纸包好, 迅速砸碎, 倒入研钵中, 加液态氮, 研成粉, 将细粉加入 50 mL 试剂 A (10 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 0.5 mmol/L EDTA pH 8.0, 10 mmol/L NaCl), 在 50℃轻轻搅拌并保温。4~5 h 后将溶液冷却至 4℃, 加等体积的饱和酚, 反复抽洗离心, 取上清 DNA 再经反复抽提, 离心、消化及透析, 即得 DNA 溶液, 储于 4℃备用。

### 1.3 巨细胞病毒的检出方法——聚合酶链反应

取 30 mL DNA 提取物进行扩增。反应物包括 10 mL Tris-HCl (pH 9.6), 10 mol/g MgCl<sub>2</sub>, 0.2 g/L BSA 缓冲液, 50 mmol NaCl, 1 mmol dATP, 1 mmol dGTP (Promega 公司提供), 0.5 mg 各种引物, 1 u 热稳定聚合酶, 2.5~5 mg DNA 标本, 反应物用 20 mL 石蜡油覆盖以防蒸发。93℃预热 3 min, 然后按 93℃ 45 s → 55℃ 45 s → 72℃ 1 min, 共做 35 个循环, 最后置 72℃保温 5 min。从扩增的反应管中取 10 mL 下层兰色液体加样, 经 2% 琼脂凝胶电泳 20~30 min (5 V/cm) 后于紫外分光光度仪上观察, 若在 244 bp 处出现橙黄色条带, 则为 CMV 阳性。

### 1.4 统计学方法

用  $\chi^2$  和  $t$  检验, 如  $P < 0.05$  则认为有显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 血细胞中巨细胞病毒的检出结果

从表 1 (Table 1) 可见, 42.4% 的 ④级动脉粥样硬化病人的血中 CMV 阳性, 与健康对照组比较有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ )。

表 1 血细胞中巨细胞病毒的分布情况

Table 1 Prevalence of CMV in the blood cells

Groups	Total number	Positive number	Positive rate (%)
Control	100	3	3
As	210	89	42.4 <sup>b</sup>

b: compared with control group,  $P < 0.01$ .

### 2.2 动脉壁中巨细胞病毒的检出结果

从表 2 (Table 2) 中可见 86.7% 的粥样硬化颈动脉标本中发现 CMV, 83.3% 的粥样硬化冠状动脉标本中发现 CMV, 两者之间相比尽管无差异, 但与健康对照组 6.7% 的阳性率相比都有非常显著性差异 ( $P < 0.001$ )。

表 2 动脉壁中巨细胞病毒的分布情况

Table 2 Prevalence of CMV in the arterial wall

Groups	Total number	Positive number	Positive rate (%)
Control CA	30	2	6.7
As carotid A	30	26	86.7 <sup>c</sup>
As coronary A	30	25	83.3 <sup>c</sup>

CA: carotid arteries; A: arteries. c: compared with control carotid arteries group,  $P < 0.001$ .

## 3 讨论

已经证实脑梗塞和动脉粥样硬化有非常密切的关系, 引起动脉粥样硬化发生的因素很多, 如脂质代谢障碍, 脂质浸润, 动脉壁的功能异常, 血流动力学因素, 神经内分泌因素, 吸烟及年龄、性别等, 但至今仍未发现导致动脉粥样硬化的原发因素及可能机制。近几年国外有资料证实动脉粥样硬化与巨细胞病毒感染有关<sup>[1~3]</sup>, 为此我们利用 PCR 技术系统地检查 CMV 在国人血和血管壁的分布情况, 并证实巨细胞病毒和动脉粥样硬化有着密切的相关性。我们用 PCR——一种非常敏感的方法在动脉粥样硬化病人的血细胞和动脉壁中检查 CMV 病毒, 结果发现 ④级动脉粥样硬化病人的血管壁中 CMV 的阳性率高达 83.3%~86.7%, 血细胞中也高达 42.4%, 此结果说明动脉粥样硬化性脑梗塞和 CMV 感染有非常密切的关系。通过表 1 和表 2 对比, 动脉粥样硬化病人的血管壁中比血细胞中含 CMV 的比率更高, 因此我们可以推论, CMV 可能引起或参与了动脉粥样硬化的过程。CMV 在血管壁中的活动可能导致反复的感染, 引起血管壁结构和功能的改变, 继发各种炎性细胞和脂质的浸润和沉积, 最终导致动脉粥样硬化的形成。目前的证据已经证实这种假说, 即 CMV 和动脉粥样硬化的病理过程有关, 这包括: CMV 在大众人群中广泛感染, 在有损伤的血管壁中发现 CMV; ④承认 CMV 加速了动脉粥样硬化; ④已证实 CMV 在鸡、人类单纯疱疹病毒在狒狒等动物脉血管壁平滑肌中可以诱发动脉粥样硬化, 导致脂质沉积, 因此 CMV 是动脉粥样硬化的诱发因素。

### 参考文献

- [1] Lozinguéz O, Arnard E, Velut JG, et al. Cytomegalovirus and arterial disease [J]. *Arch Mal Coeur Vaiss*, 1999, 92(9): 1 205-212
- [2] Wanishawar C, Zhou YF, Epstein SE. Chlamydia pneumoniae-induced transactivation of the major immediate early promoter of cytomegalovirus: potential synergy of infectious agents in the pathogenesis

of atherosclerosis [J]. *J Infect Dis*, 2000, **181** (2): 787- 790

- [3] Zhou YF, Shou M, Harrell RF. Chronic non - vascular cytomegalovirus infection: effects on the neointimal response to experimental vascular injury [J]. *Cardiovasc Res*, 2000, **45**(4): 1 019 - 025

- [4] 郭福强, 黄开琼, 刘杰. 动脉粥样硬化性脑梗塞和巨细胞病毒感染关系[J]. *中国神经精神病杂志*, 1997, **23**(3): 169 - 171

(此文 2000- 03- 03 收到, 2000- 07- 16 修回)

(此文编辑 胡必利)

•读者•作者•编者•

## 欢迎订阅《中国动脉硬化杂志》!

## 欢迎向《中国动脉硬化杂志》投稿!

## 欢迎在《中国动脉硬化杂志》上刊登广告!

## 欢迎引用发表在《中国动脉硬化杂志》上的文章!

《中国动脉硬化杂志》是中国科学技术协会主管、中国病理生理学会主办、衡阳医学院承办的全国性高级学术性期刊, 1993 年 12 月创刊, 国内外公开发行, 国内统一刊号 CN 43 - 1262/R, 国际标准刊号 ISSN 1007- 3949, 国内邮发代号 42 - 165, 国外发行代号 4723Q, 广告经营许可证号 4304005020099。从 2001 年起, 中国动脉硬化杂志编辑部委托西安华商代理公司独家代理广告业务。

《中国动脉硬化杂志》设有专家评述、实验研究、临床研究、研究快报、诊治经验、短篇与病例报道、临床病例讨论、方法技术、论著摘要、研究成果综述、文献综述、国外动态、学术争鸣、简讯和消息等栏目, 以报道我国在防治动脉硬化性疾病中的新理论、新观点、新疗法、新药物为己任, 始终把广大实验研究人员和临床诊治工作者视为朋友; 力争把最新研究成果推向世界, 把最新观点带给同仁。自创刊以来, 以办刊严谨、内容丰富、编排新颖、对稿件处理快速及时、文章发表周期短、可读性强而深受广大作者和读者厚爱。现是国家科学技术部中国科技论文统计源期刊、中国科学院文献情报中心中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊, 被国家科技部《万方数据资源系统(ChinaInfo) 数字化期刊群》、《中国学术期刊(光盘版)》和《中国期刊网》全文收录。到 1999 年底, 几乎被国内所有数据库和检索期刊收录。已被国际权威检索刊物《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》收录; 并即将被《医学索引(Index Medicus, IM)》收录。

《中国动脉硬化杂志》的报道范围广泛, 凡中医药学、预防医学、基础医学、临床医学、护理学、药学和特种医学中有关防治动脉硬化性疾病的基础理论和临床研究论文、诊治经

验和方法技术等方面的文稿都可向她投稿。她在理论研究与临床实践之间架起了一座桥梁, 使理论研究人员和临床工作者都从中受益。对于理论研究人员, 《中国动脉硬化杂志》既是理想的对外快速公布研究成果的阵地, 又可以从中了解国内外最新研究动态, 以调整研究方向; 对于临床医务人员, 既可通过《中国动脉硬化杂志》将自己的经验体会介绍给同仁, 又可从中得到理论研究的最新进展, 用新的理论来指导临床实践。因此, 中国动脉硬化杂志编辑部恭候国内外同仁不断赐稿。

《中国动脉硬化杂志》为季刊, 每季末月出版, A4 (大 16) 开本, 每期定价 8.50 元, 全年 34.00 元。由湖南省报刊发行局发行, 全国各级各地邮局均可订阅。中国动脉硬化杂志编辑部热忱欢迎全国同仁和社会各届朋友到当地邮局订阅。若错过邮局征订日期, 可直接写信和邮汇订购费到编辑部补办订购手续。个人直接向编辑部订阅, 给予 4 元优惠(即每年每份 30 元)。编辑部设在湖南省衡阳市常胜西路、南华大学内, 邮政编码为 421001, 电话号码为(0734) 8281289, E-mail 为 dmzzbjb@163.net。编辑部现尚有少量 1993~ 1997 年出版各期杂志共 16 期, 其中 1993~ 1994 年 4 期, 1995、1996 和 1997 年各 4 期。需要者可直接与编辑部联系购买, 平均每期定价 7.50 元(含邮资)。

中国动脉硬化杂志编辑部热情欢迎并采取下述措施激励广大同仁引用发表在《中国动脉硬化杂志》上的文章: 凡在中国科技论文统计源期刊和中国科学引文数据库来源期刊上发表的文章中引用了《中国动脉硬化杂志》的文章者, 凭当期刊封面、目次页和文章的复印件可获赠第二年全年的《中国动脉硬化杂志》一份。