

高血压病患者外周血单个核细胞分泌 白细胞介素 1 β 水平的变化

李全忠, 邓 勤, 阳跃忠, 黄文新

(桂林医学院附属医院内科, 广西省桂林市 541001)

[关键词] 内科学; 高血压病; 炎症; 外周血单个核细胞; 白细胞介素 1 β ; 肿瘤坏死因子 α ; 脂多糖

[摘要] 目的 观察高血压病患者体外培养的外周血单个核细胞炎症因子白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 的分泌, 了解高血压病患者外周血单个核细胞炎症因子的分泌状态。方法 序贯选取 33 例高血压病患者及 12 例血压正常者作对照。用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞进行体外培养。用酶联免疫吸附测定法检测细胞培养上清的白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 的浓度。结果 高血压组和正常对照组外周血单个核细胞培养上清液白细胞介素 1 β (182 ± 66 ng/L 比 154 ± 63 ng/L) 和肿瘤坏死因子 α (142 ± 74 ng/L 比 168 ± 61 ng/L) 的自发性分泌差异均无显著性。脂多糖刺激后高血压组和正常对照组白细胞介素 1 β ($2\,179 \pm 660$ ng/L 比 182 ± 66 ng/L; $2\,854 \pm 631$ ng/L 比 154 ± 63 ng/L, $P < 0.05$) 和肿瘤坏死因子 α (442 ± 134 ng/L 比 142 ± 74 ng/L; 500 ± 176 ng/L 比 168 ± 61 ng/L, $P < 0.05$) 分泌均较自发性分泌显著增加。与正常对照组比较, 高血压病患者脂多糖刺激的外周血单个核细胞白细胞介素 1 β 分泌增加 ($2\,854 \pm 631$ ng/L 比 $2\,179 \pm 660$ ng/L, $P < 0.05$)。结论 高血压病患者的外周血单个核细胞处于一定程度的炎症激活状态, 炎症反应可能与高血压病的形成和发展及并发症的发生有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Increased Secretion of Interleukin-1 β by Peripheral Blood Mononuclear Cell in Patients with Essential Hypertension

LI Quar Zhong, DENG Qin, YANG Yue Zhong, and HUANG Wen Xin

(Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001, China)

[KEY WORDS] Essential Hypertension; Inflammation; Peripheral Blood Mononuclear Cell; Interleukin 1 β ; Tumor Necrosis Factor α ; Lipopolysaccharide

[ABSTRACT] Aim To investigate whether individuals with essential hypertension have increased cytokines, specifically interleukin 1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor α (TNF- α), secretion in peripheral blood mononuclear cell (PBMC).

Methods In a cross-sectional study involving 12 apparently healthy control and 33 patients with essential hypertension, concentrations of IL-1 β and TNF- α were compared in PBMC culture supernatant. PBMC were isolated by gradient centrifugation. IL-1 β and TNF- α concentrations in supernatant from PBMC were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results There is no difference in the spontaneous secretion of IL-1 β (182 ± 66 ng/L vs 154 ± 63 ng/L, $P < 0.05$) and TNF- α (142 ± 74 ng/L vs 168 ± 61 ng/L) by PBMC between normal control and hypertensive patients. After stimulation by lipopolysaccharide, both IL-1 β ($2\,179 \pm 660$ ng/L vs 182 ± 66 ng/L, $P < 0.05$; 154 ± 63 ng/L vs $2\,854 \pm 631$ ng/L) and TNF- α (442 ± 134 ng/L vs 142 ± 74 ng/L; 500 ± 176 ng/L vs 168 ± 61 ng/L, $P < 0.05$) secretion by PBMC increased dramatically compared with the spontaneous secretion. After stimulation by lipopolysaccharide, patients had increased IL-1 β ($2\,179 \pm 660$ ng/L vs $2\,854 \pm 631$ ng/L; $P < 0.05$) secretion by PBMC compared with controls.

Conclusions These data suggest that PBMC in patients with essential hypertension are preactivated and inflammation mechanism may be involved in the pathogenesis of hypertensive disease.

高血压病是以血压升高为主要表现的临床综合征, 是多种心脑血管疾病的重要病因和危险因素, 但其发病机制目前还不完全清楚。多个横断面临床研究表明, 可溶性细胞间粘附分子 1、白细胞介素 6 和白细胞介素 1 β 等炎症因子和系统性炎症标志物 C 反应蛋白水平与血压水平相关^[1-3]。大规模前瞻

性人群研究发现, C 反应蛋白与未来发生高血压的危险性显著相关^[4], 提示高血压在某种程度上可能是一种炎症性疾病。但是, 高血压炎症反应的触发因素目前还不清楚。单核细胞及淋巴细胞是慢性炎症的重要参与者, 能分泌包括白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 在内的多种细胞因子和化学介质, 介导炎症的发生和发展。人外周血单个核细胞包括单核细胞及淋巴细胞是否与高血压病炎症有关, 目前还不十分明确。为研究外周血单个核细胞在高血压病中的作用, 我们分离高血压病患者外周血单个核细

[收稿日期] 2004-08-30

[修回日期] 2005-06-30

[作者简介] 李全忠, 博士, 副主任医师, 研究方向为高血压与炎症的关系, 联系电话为 0773-5603655, E-mail 为 Drquanzhongli@yahoo.com.cn。

胞在体外进行培养、观察并与正常人比较高血压病患者外周血单个核细胞炎症因子白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 的分泌是否有差别, 初步探讨炎症反应在高血压病中的作用。

1 对象和方法

1.1 研究对象

序贯选取 2002 年 8 月至 10 月我院住院治疗的 33 例血脂正常的高血压病患者, 男 21 例, 女 12 例。高血压的诊断参照美国高血压预防、检查、评价与治疗联合会第六次报告(JNC-6)的标准^[5], 于不同日期测量 3 次收缩压 ≥ 140 mm Hg, 舒张压 ≥ 90 mm Hg, 或有明确的高血压病史并服药治疗者, 排除引起高血压的继发性原因确诊为原发性高血压, 即高血压病, 且无心力衰竭及肾功能不全。另选 12 名年龄相配、血压正常的健康体检者作对照组, 其中男 7 例, 女 5 例。除外近期感染、风湿活动、自身免疫性疾病、恶性肿瘤和应用免疫抑制剂者。所有检查均于早晨 7 点空腹进行, 近期停药已知对炎症过程有影响的药物, 包括阿司匹林。

1.2 外周血单个核细胞的培养

人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)的分离、培养采用我室常规的密度梯度离心法。严格无菌条件下于肘静脉取血 5 mL 左右, 加入消毒的含 30 mL 肝素钠的离心管, 混匀。在透明无菌的 15 mL 刻度离心管中加入 5 mL 人淋巴细胞分离液(Ficoll), 比重为 1.077, 小心而缓慢地将细胞悬液加在分离液上面, 2 000 转/min 离心 20 min。单个核细胞悬于分离液的表面, 呈乳白色层, 用毛细吸管将该层细胞吸出, 移入另一个无菌离心管中, 用 Hank's 液离心洗涤单个核细胞 2~3 次, 每次离心速度 1 000 转/min, 时间 10 min。最后用 RPMI1640 培养基离心洗涤 1 次, 去除上清。加入 1 mL 含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 完全培养基, 混匀。进行细胞计数, 然后调整每孔细胞数目为 1×10^6 , 加或不加终浓度为 20 μ g/L 的脂多糖(LPS, E. Coli O 111: B4, Sigma)后于 24 孔培养板中培养^[6], 24 h 后收集细胞上清贮存于 -70 $^{\circ}$ C 冰箱备用。

2 结果

2.1 两组间一般资料的比较

如表 1(Table 1)所示, 除高血压病患者收缩压和舒张压均较对照组明显升高外, 两组在年龄、性别构成及其他指标上差异均无显著性。

表 1. 高血压病患者和对照组一般情况的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Characteristics of participants at baseline

指 标	对照组	高血压组
n=	12	33
男/女	7/5	21/12
年龄(岁)	59.7 $\pm$ 11.2	60.3 $\pm$ 10.1
BMI (kg/m ²)	23.2 $\pm$ 3.7	23.8 $\pm$ 3.9
SBP (mm Hg)	129.8 $\pm$ 8.9	152.8 $\pm$ 15.2 ^a
DBP (mm Hg)	80.4 $\pm$ 7.5	92.4 $\pm$ 11.9 ^a
TG (mmol/L)	1.47 $\pm$ 0.61	1.49 $\pm$ 0.59
TC (mmol/L)	4.34 $\pm$ 1.08	4.64 $\pm$ 1.04
HDLC (mmol/L)	1.24 $\pm$ 0.47	1.17 $\pm$ 0.42
LDLC (mmol/L)	2.55 $\pm$ 0.81	2.79 $\pm$ 1.08

a: $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 自发分泌的比较

正常对照组和高血压组 PBMC 培养上清液中白细胞介素 1 β 的自发性分泌分别是 182 ± 66 ng/L 和 154 ± 63 ng/L, 其差异无显著性。肿瘤坏死因子 α 的自发分泌分别是 142 ± 74 ng/L 和 168 ± 61 ng/L, 无统计学差异。

2.3 脂多糖刺激白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 分泌的比较

脂多糖刺激后正常对照组和高血压组 PBMC 培养上清液白细胞介素 1 β 的浓度分别是 $2\,179 \pm 660$ ng/L 和 $2\,854 \pm 631$ ng/L, 较自发分泌时明显上升, 且高血压组白细胞介素 1 β 的浓度比正常对照组高, 差异有显著性(表 2, Table 2)。

表 2. 各组人外周血单个核细胞培养上清液白细胞介素 1 β 的浓度($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Table 2. Secretions of IL-1 β (ng/L) by PBMC in each group

分 组	自发分泌	脂多糖刺激分泌
正常组	182 $\pm$ 66	2 179 $\pm$ 660 ^a
高血压组	154 $\pm$ 63	2 854 $\pm$ 631 ^{ab}

a: $P < 0.05$, 与自发分泌比较; b: $P < 0.05$, 与正常对照组比较。

脂多糖刺激后正常对照组和高血压组肿瘤坏死因子 α 的浓度分别是 442 ± 134 ng/L 和 500 ± 176 ng/L, 较自发分泌时明显上升, 差异有显著性。但高血压组肿瘤坏死因子 α 的分泌与正常对照组差异无显著性。

3 讨论

实验证明,自发性高血压大鼠单核细胞处于激活状态,数目显著升高^[7]。Mc Carron 等^[8]证明与正常 Wistar 大鼠比较,自发性高血压大鼠单核细胞与内皮细胞粘附性明显增加。Bataillard 等^[9]发现选择性抑制单核细胞可以减轻 Lyon 高血压大鼠高血压的程度并抑制左心室肥厚。Dorffel 等^[10]发现经血管紧张素 Ⅱ和脂多糖刺激后,高血压病患者单核细胞白细胞介素 1 β 等细胞因子的分泌较血压正常的对照组显著增加,随后发现高血压病患者单核细胞在体外与内皮细胞的粘附增强,并伴有氧自由基的释放^[11]。这些资料提示单核细胞在高血压的发生中可能起一定作用。和单核细胞一样,淋巴细胞在慢性炎症和动脉粥样硬化过程中也有重要作用^[12]。我们的实验发现,尽管高血压病患者和健康对照组外周血单个核细胞白细胞介素 1 β 自发分泌无差别,但经脂多糖刺激后,高血压病患者外周血单个核细胞白细胞介素 1 β 分泌较健康对照组的分泌显著升高,而脂多糖刺激的单核巨噬细胞分泌炎症因子的水平在一定程度上反映了单核巨噬细胞的激活状态。我们的实验结果提示了高血压病患者外周血单个核细胞可能处于前激活(pre-active)状态。

用经典的粘附法分离单核-巨噬细胞会不同程度地激活单核细胞,会影响单核细胞炎症因子的释放,从而干扰实验结果。本实验直接分离人外周血单个核细胞,避免了操作本身对单核细胞的激活并保持单核细胞与淋巴细胞间的相互作用,因而得出的结果更加可信。事实上我们得出的结果与 Dorffel 等的报告接近,而且本实验也提示单个核细胞白细胞介素 1 β 分泌增加可能也有淋巴细胞的参与。

白细胞介素 1 β 是一种具有多种生物活性的前炎性因子,能上调 1 型血管紧张素 Ⅱ受体的表达,增强血管紧张素 Ⅱ的作用^[13]。给大鼠静脉输入白细胞介素 1 β 可引起剂量依赖性的血管收缩反应和血压升高,提示白细胞介素 1 β 可能有参与血压调节的直接作用^[14]。在一项纳入 537 名老年人的研究中,校正了年龄、性别、胰岛素抵抗综合征评分和颈动脉粥样硬化后,血清白细胞介素 1 β 是收缩压的预测指标之一^[15]。另有报道,高血压病患者血浆白细胞介素 1 β 的浓度较正常人升高^[16]。我们的结果提示高血压病患者外周血单个核细胞白细胞介素 1 β 释放的增加可能是导致循环中白细胞介素 1 β 升高的原因之一。本实验没有发现高血压与正常血压的个体外周血单个核细胞肿瘤坏死因子 α 释放的差

异,提示其与白细胞介素 1 β 在高血压病中所起的作用可能有所不同。但是高血压病患者脂多糖刺激的外周血单个核细胞白细胞介素 1 β 分泌较健康对照组的分泌显著升高的原因及其在高血压病中的意义目前尚不清楚,有待进一步研究。

总之,本研究支持高血压病存在轻度炎症状态的观点,炎症反应可能与高血压的病理生理机制有关。研究高血压病炎症反应及其机制将增加我们对高血压病及其并发症的理解,为临床合理选用降压药物提供有益的证据。

[参考文献]

- [1] Abramson JL, Weintraub WS, Vaccarino V. Association between pulse pressure and C-reactive protein among apparently healthy US adults. *Hypertension*, 2002, **39**: 197-202
- [2] Bermudez EA, Rifai N, Buring J, Manson JE, Ridker PM. Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22**: 1 668-673
- [3] Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension*, 2001, **38**: 399-403
- [4] Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA*, 2003, **290**: 2 945-951
- [5] Joint National Committee. The sixth report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. *Arch Intern Med*, 1997, **157**: 2 413-446
- [6] Joost P H, Jos WM, Irving K. Unstimulated peripheral blood mononuclear cell from patients with the hyper-IgD syndrome produce cytokines capable of potent induction of C-reactive protein and serum amyloid A in Hep3B cell. *J Immunology*, 1996, **157**: 400-404
- [7] Schmid-Schlöthein GW, Seifge D, DeLano FA, Shen K, Zweifach BW. Leukocyte counts and activation in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Hypertension*, 1991, **17**: 323-330
- [8] Mc Carron RM, Wang L, Siren AL, Spatz M, Hallenbeck JM. Monocyte adhesion to cerebrovascular endothelial cell derived from hypertensive and normotensive rats. *Am J Physiol*, 1994, **267**: H2 491-497
- [9] Bataillard A, Renaudin C, Sassard J. Silica attenuates hypertension in Lyon hypertensive rats. *J Hypertens*, 1995, **13**: 1 581-584
- [10] Dorffel Y, Latsch C, Stuhlmüller B, Schreiber S, Scholze S, Bommester GR, et al. Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. *Hypertension*, 1999, **34**: 113-117
- [11] Dorffel Y, Franz S, Prub A, Neumann G, Rohde W, Bommester GR, et al. Preactivated monocytes from hypertensive patients as a factor for atherosclerosis? *Atherosclerosis*, 2001, **157**: 151-160
- [12] Joseph L, Witztum. Splenic immunity and atherosclerosis: a glimpse into a novel paradigm? *J Clin Invest*, 2002, **109** (6): 721-724
- [13] Sasamura H, Nakazato Y, Hayashida T, Kitamura Y, Hayashi M, Saruta T. Regulation of vascular type I angiotensinogen receptors by cytokines. *Hypertension*, 1997, **30**: 35-41
- [14] Takahashi H, Nishimura M, Sakamoto M, Ikegaki I, Nakanishi T, Yoshimura M. Effects of interleukin-1 β on blood pressure, sympathetic nerve activity, and pituitary endocrine functions in anesthetized rats. *Am J Hypertens*, 1992, **5**: 224-249
- [15] Barbieri M, Ferrucci L, Corsi AM, Macchi C, Lauretani F, Bonafe M, et al. Is chronic inflammation a determinant of blood pressure in the elderly? *Am J Hypertens*, 2003, **16**: 537-543
- [16] Dalekos DN, Elisaf MS, Papagalanis N, Tzallas C, Siamopoulos KC. Elevated interleukin-1 β in the circulation of patients with essential hypertension before any drug therapy: a pilot study. *Eur J Clin Invest*, 1996, **26**: 936-939

(此文编辑 朱雯霞)