

血清 CXCL16 趋化因子配体 16 水平与冠心病的相关性

孙颖¹, 李敏¹, 秦明照², 常志文², 张素娟²

(首都医科大学 1 附属北京友谊医院综合科, 北京市 100050 2 附属北京同仁医院干部医疗科, 北京市 100730)

[关键词] CXCL16 趋化因子配体 16 趋化因子; 冠心病; 急性冠状动脉综合征

[摘要] 目的 探讨血清可溶性 CXCL16 趋化因子配体 16 与冠心病的关系, 以及其与冠状动脉狭窄严重程度的相关性。方法 研究对象分为急性冠状动脉综合征组 ($n=29$)、稳定型心绞痛组 ($n=26$) 及对照组 ($n=21$)。酶联免疫吸附法测定血清 CXCL16 趋化因子配体 16 水平, 比较三组患者间血清 CXCL16 趋化因子配体 16 水平; Logistic 回归分析 CXCL16 趋化因子配体 16 水平与急性冠状动脉综合征的相关性, Spearman 相关分析其与冠状动脉狭窄严重程度的相关性。结果 血清 CXCL16 趋化因子配体 16 水平在急性冠状动脉综合征组显著增高, 其与急性冠状动脉综合征呈正相关, 而与用药情况、血脂及 C 反应蛋白水平无相关。急性冠状动脉综合征组血清 CXCL16 趋化因子配体 16 与 Gensini 评分不相关。结论 血清可溶性 CXCL16 趋化因子配体 16 水平在急性冠状动脉综合征病人显著增高, 是独立于 C 反应蛋白及血脂水平的生物标志物。血清可溶性 CXCL16 趋化因子配体 16 与冠状动脉狭窄严重程度不相关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Serum CXCL16 Level Increased in Patients with Acute Coronary Syndromes

SUN Ying¹, LIM Min¹, QIN Ming-Zhao², CHANG Zhi-Wen², and ZHANG Su-Juan²

(1 Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050 2 Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100730 China)

[KEY WORDS] CXCL16 Chemokines Coronary Artery Disease Acute Coronary Syndromes

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between the level of CXCL16 (CXCL16) and coronary artery disease and severity of coronary artery stenosis. **Methods** A total number of 76 patients were enrolled in present study including three groups: acute coronary syndrome (ACS) patients ($n=29$), stable angina pectoris (SAP) patients ($n=26$) and controls ($n=21$). Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to examine the concentration of serum soluble CXCL16. Gensini score system was applied to evaluate the narrow severity of coronary artery in ACS. Analysis of variance (ANOVA) was used to test for the differences in means of serum CXCL16 among three groups. Logistic regression was used to analyze the correlation between the level of serum CXCL16 and ACS. Spearman rank correlation coefficient was employed to assess the relationship between serum CXCL16 level and Gensini score.

Results In patients with ACS the level of serum CXCL16 was significantly increased compared with control and SAP patients. The serum CXCL16 concentration was positively associated with ACS. No significant association was found between serum CXCL16 and high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) or serum lipid parameters. In ACS patients the increased level of serum CXCL16 was not linked to Gensini score. **Conclusion** Increased level of serum soluble CXCL16 was independently associated with ACS. The serum CXCL16 level was not associated with the severity of coronary artery stenosis.

炎症反应是动脉粥样硬化形成的一个极为重要的因素, 而趋化因子和黏附因子是炎症反应的关键。CXCL16 趋化因子配体 16 (CXCL16) 是近年新发现的趋化因子, 存在膜结合型和可溶性分泌型两种形式。CXCL16 不仅可作为趋化因子趋化 T 细胞^[1-3], 还发挥黏附因子的作用介导 T 细胞与内皮细胞黏附^[4], 促进平滑肌细胞增殖^[5], 此外 CXCL16 还可作为清道夫受体内存氧化

型低密度脂蛋白 (oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)^[6], 因此, CXCL16 可能参与动脉粥样硬化的发生发展。然而, CXCL16 与冠心病的关系尚不明确, 特别是循环中可溶性 CXCL16 水平与冠心病关系的研究结果还存在矛盾。本研究通过比较急性冠状动脉综合征 (ACS)、稳定型心绞痛 (SAP) 和对照组病人的血清 CXCL16 水平, 探讨血清可溶性 CXCL16 与冠心病及冠状动脉狭窄严重程度的相关性。

[收稿日期] 2009-08-10

[修回日期] 2009-10-12

[作者简介] 孙颖, 博士, 主治医师, 研究方向为冠状动脉粥样硬化的发病机制, E-mail 为 ysun15@yahoo.com.cn 李敏, 主任医师, 研究方向为老年心血管疾病。秦明照, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为老年心血管疾病。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选自 2007 年 4 月至 8 月北京同仁医院干部医

疗科门诊、病房及冠心监护病房共 76 例患者, 其中男性 59 例, 女性 17 例, 平均年龄 66 ± 11 岁。研究对象分为三组: ACS 组 (29 例)、SAP 组 (26 例) 及对照组 (21 例)。各组年龄、性别相匹配, 排除严重心脏瓣膜病、心肌病、自身免疫性疾病、严重感染、肝炎、肾炎和恶性肿瘤等。

1.2 血清 CXCL16 趋化因子配体 16 水平测定

ACS 患者入院 6 h 内采血, 对照组及 SAP 患者需过夜禁食 8 h 以上, 次日晨起采血, 用 2 支不含抗凝剂真空采血管经肘静脉各采血 3 mL 分别用于生物化学检测和 ELISA 检测。全血标本室温静置 1 h 应用 BFX5-320 型低速自动平衡离心机离心 5 min (3000 r/min), 留取血清, 应用全自动生物化学分析仪进行生物化学分析。血清 CXCL16 采用人 CXCL16 ELISA 试剂盒 (R&D systems 美国) 检测, 严格按照操作步骤操作。

1.3 冠状动脉狭窄程度评估

ACS 病人入院 48 h 内均行冠状动脉造影术, 采用 Gensini 评分系统^[7]根据冠状动脉造影结果评估冠状动脉狭窄程度。

1.4 统计学方法

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较行单因素方差分析, 对 P 值 < 0.05 的项目进一步采用最小显著性差异法行两两组间比较。血清 CXCL16 水平与 ACS 的相关性采用 Logistic 回归检验。CXCL16 与年龄、用药情况、家族史及各化验指标的相关性以及冠状动脉狭窄严重程度的相关性采用 Spearman 相关分析。以 P 值 < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本资料

ACS 组、SAP 组和对照组间性别、年龄、冠心病家族史、糖尿病史、高血压病史和吸烟状况差异无显著性。噻唑烷二酮类药物、钙拮抗剂和降糖药物应用情况三组间差异无显著性。与对照组比较, ACS 组和 SAP 组 β 受体阻滞剂、硝酸酯类、他汀及氯吡格雷药物的应用比例均显著增加, ACS 组阿司匹林、血管紧张素转化酶抑制剂 (ACEI) 和/或血管紧张素 II 受体阻滞剂 (ARB) 应用比例亦明显增高 ($P < 0.003$)。而 ACS 组与 SAP 组相比除硝酸酯类药物外, 其他药物的应用差异均无显著性 (表 1)。

2.2 血清 CXCL16 趋化因子配体 16、炎症因子及血脂水平

与对照组相比, SAP 组血清 CXCL16 水平升高,

但差异无统计学意义 ($P = 0.059$), ACS 组血清 CXCL16 水平显著升高 ($P < 0.01$); 与 SAP 组比较, ACS 组血清 CXCL16 水平升高 ($P < 0.05$ 表 2)。ACS 组 hs-CRP 较 SAP 组和对照组显著增高 ($P < 0.01$), 而 SAP 组与对照组间差异无显著性。白细胞、中性粒细胞百分比和血沉 ACS 组较 SAP 组和对照组均显著增高 ($P < 0.01$)。而 SAP 组与对照组相比仅中性粒细胞百分比有增高 ($P < 0.05$), 白细胞及血沉差异无显著性。三组间甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白 (LDL) 及脂蛋白 (a) [Lp(a)] 差异均无显著性, SAP 组和 ACS 组高密度脂蛋白 (HDL) 水平较对照组均有下降, 差异有显著性 ($P < 0.01$; 表 2)。

表 1 各组基本资料和用药情况比较

基本资料和用药情况	对照组 ($n = 21$)	SAP 组 ($n = 26$)	ACS 组 ($n = 29$)
男/女 (例)	15/6	24/2	20/9
年龄 (岁)	65 ± 11	67 ± 11	66 ± 10
冠心病家族史	14 3%	11 5%	10 3%
高血压病史	61 9%	80 8%	86 2%
糖尿病史	47 6%	76 9%	69 0%
目前吸烟	33 3%	11 5%	27 6%
主要用药情况			
阿司匹林	42 9%	76 9%	96 6% ^b
β 受体阻滞剂	19 0%	69 2% ^b	86 2% ^b
ACEI /ARB	38 1%	73 1%	89 7% ^b
硝酸酯类	9 5%	46 2% ^a	79 3% ^{bc}
他汀	33 3%	88 5% ^b	93 1% ^b
钙拮抗剂	28 6%	65 4%	48 3%
胰岛素或口服降糖药	28 6%	50 0%	44 8%

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比; c 为 $P < 0.01$, 与 SAP 组比。

表 2 各组血清 CXCL16 趋化因子配体 16、炎症因子及血脂水平

参数	对照组 ($n = 21$)	SAP 组 ($n = 26$)	ACS 组 ($n = 29$)
白细胞 ($\times 10^9/L$)	6.35 ± 1.48	6.25 ± 1.44	8.58 ± 1.17^{bd}
中性粒细胞	$57.60\% \pm 6.74\%$	$63.35\% \pm 5.98\%a$	$73.79\% \pm 8.56\%bd$
血沉 (mm/h)	7.67 ± 5.94	10.89 ± 7.64	20.25 ± 11.98^{bd}
TC (mmol/L)	4.84 ± 0.80	4.53 ± 1.21	4.48 ± 0.89
TG (mmol/L)	1.51 ± 0.58	1.70 ± 1.23	1.32 ± 0.49
HDL (mmol/L)	1.36 ± 0.31	1.12 ± 0.19^b	1.11 ± 0.33^b
LDL (mmol/L)	2.67 ± 0.67	2.77 ± 1.14	2.73 ± 0.67
Lp(a) (mg/L)	233.2 ± 82.7	279.9 ± 132.6	278.5 ± 81.1
hs-CRP (mg/L)	2.913 ± 1.989	2.891 ± 3.635	9.885 ± 6.676^{bd}
CXCL16 ($\mu g/L$)	2.588 ± 0.518	2.866 ± 0.439	3.309 ± 0.849^{bc}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, d 为 $P < 0.01$, 与 SAP 组比较。

2.3 血清 CXCL16与急性冠状动脉综合征的相关性分析

Logistic回归分析显示,血清 CXCL16与 ACS有强相关性 (Model 1), 且为正相关 ($B = 1.667, P = 0.004, OR = 5.296$), 调整了性别、年龄等因素后 (Model 2), 这种相关性仍然存在 ($P = 0.009$), 再进一步调整了冠心病家族史、高血压、糖尿病及吸烟几项危险因素后 (Model 3), 相关性仍然存在 (表 3)。

表 3 血清 CXCL16与急性冠状动脉综合征相关的 Logistic回归分析

	B	SE	Wald	P 值	OR	95% CI
Model 1	1.667	0.586	8.091	0.004	5.296	1.679~16.704
Model 2	1.523	0.584	6.804	0.009	4.585	1.460~14.396
Model 3	1.794	0.816	4.833	0.028	6.014	1.215~29.769

2.4 用药情况、血脂及其他指标与血清 CXCL16的相关性分析

Spearman相关分析显示,血清 CXCL16水平与血脂各项参数包括 TC、TG、LDL、HDL 及 Lp(a)无相关关系。其他反映炎症的参数如白细胞、血沉、血清 hs-CRP水平也与血清 CXCL16无相关性 (表 4)。血清 CXCL16水平与用药情况包括阿司匹林、ACEI/ARB、 β 受体阻滞剂、钙拮抗剂、硝酸酯类、他汀及胰岛素/口服降糖药的应用也无相关性。

表 4 血脂及其他指标与血清 CXCL16的相关性分析

	对照组		SAP组		ACS组	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
TC	0.375	0.114	-0.029	0.891	-0.135	0.486
TG	0.186	0.445	0.109	0.605	-0.046	0.813
LDL	0.174	0.447	0.067	0.443	-0.261	0.171
HDL	0.128	0.601	-0.161	0.443	-0.030	0.876
Lp(a)	-0.397	0.092	-0.113	0.590	0.087	0.666
白细胞	0.213	0.354	0.161	0.453	0.078	0.693
hs-CRP	-0.215	0.363	-0.020	0.935	0.325	0.085
血沉	0.108	0.701	0.228	0.363	0.353	0.090

2.5 急性冠状动脉综合征病人血清 CXCL16与 Gensini评分的关系

Spearman相关分析显示,ACS患者血清可溶性 CXCL16水平与冠状动脉狭窄严重程度 Gensini评分 (8.0 ± 3.4)无相关性 ($r = 0.049, P = 0.832$)。

3 讨论

炎症反应在动脉粥样硬化的发生、发展直至斑块不稳定、破裂的最后阶段都发挥至关重要的作用^[8]。CXCL16是近年新发现的趋化因子 CXC 家族的成员之一,它既可在细胞表面以膜结合的形式存在,又可以可溶性的分泌型分子存在^[9]。可溶性 CXCL16具备趋化因子的功能可以趋化 T 细胞^[1-3],还可作为黏附因子介导 T 淋巴细胞与内皮细胞黏附^[4]。CXCL16在人动脉粥样硬化斑块处脂负荷的巨噬细胞^[10]和平滑肌细胞均有表达^[11]。动物研究显示 CXCL16及其受体 CXCR6在载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠动脉粥样硬化斑块有表达^[12],基因多态性研究发现其与冠状动脉狭窄严重程度相关^[13]。上述研究结果提示 CXCL16可能在动脉粥样硬化形成中发挥重要作用,然而体内可溶性 CXCL16与人类冠心病的关系尚不清楚,既往相关研究结果存在着矛盾^[14]。

本研究通过对 ACS、SAP 和对照三组病人血清可溶性 CXCL16水平的比较发现,血清 CXCL16在 ACS 组较 SAP 组及对照组均显著升高, SAP 组 CXCL16水平也较对照组有所升高,虽然统计学上差异无显著性,但 P 值 (0.059)已非常接近 0.05。此结果与 Lehnke 等^[15]及 Smith 等^[16]的研究结果相似,却与 Shekine 等^[17]的结论相反。Shekine 等^[17]研究发现在 SAP 患者可溶性 CXCL16较对照组显著降低,在不稳定型心绞痛/非 ST 段抬高型心肌梗死病人组,虽有下降趋势却没有统计学意义。Shekine 等的研究对象选择了不稳定型心绞痛和非 ST 段抬高型心肌梗死病人,而本研究包含了病变更严重的 ST 段抬高型心肌梗死病人,这可能是造成结果不同的一个原因。此外,如果可溶性 CXCL16水平在冠心病病人下降,我们可以这样假设:可溶性 CXCL16在动脉粥样硬化中是否起保护性作用呢?由于 CXCL16与 ox-LDL 的结合部位是其趋化结构域^[18],而膜结合形式和可溶性 CXCL16都具有趋化结构域,因此可溶性 CXCL16是否会竞争性地与 ox-LDL 结合从而减少跨膜 CXCL16内吞 ox-LDL,进而导致泡沫细胞形成减少。然而这种假设目前似乎缺乏证据支持, van Lieshout 等^[19]报告循环中的 CXCL16与血浆 ox-LDL 不相关,并且可溶性 CXCL16不能结合和内吞 ox-LDL。

可溶性 CXCL16可以强烈趋化激活的 T 淋巴细胞^[1,2],而 T 淋巴细胞是动脉粥样硬化形成中参与血管炎性反应的重要细胞,在动脉粥样硬化发生、发

展中起重要调节作用。可溶性 CXCL16还可促进平滑肌细胞增殖^[5],并激活血管平滑肌细胞释放炎症因子及基质金属蛋白酶^[16]。上述研究均说明可溶性 CXCL16在动脉粥样硬化形成的炎症反应中发挥重要作用。本研究结果显示血清 CXCL16在 ACS病人显著增高,它与其他反映炎症的指标变化相一致,如白细胞、中性粒细胞和血沉,特别是 hs-CRP被认为是反映 ACS急性炎症的一个重要标志物^[20],这一结果支持血清可溶性 CXCL16在动脉粥样硬化中的促炎作用。Logistic回归分析显示血清 CXCL16水平与 ACS呈正相关,并且在调整了性别、年龄及冠心病家族史、高血压病史、糖尿病史和吸烟史等危险因素后这种相关关系仍然存在。相关性研究发现血清 CXCL16水平与 hs-CRP、白细胞和血沉水平不相关,与各项血脂参数也无相关性。以上结果说明血清 CXCL16是独立于炎症因子 CRP和血脂水平的 ACS生物标志物。斑块破裂、血栓形成是 ACS的主要病理基础,研究表明多个促炎因子能够促进斑块不稳定^[21]。可溶性 CXCL16在 ACS患者显著升高并与 ACS呈正相关,可溶性 CXCL16是否参与促进斑块的不稳定还需在今后的研究中进一步探讨。

Gensini评分系统是广泛应用的评估冠状动脉狭窄严重程度的评分方法^[7],相关分析显示血清 CXCL16与冠状动脉狭窄严重程度无明显相关性,这与 Shekine等^[17]对 243名陈旧性心肌梗死病人的研究结果相一致。有研究显示在人及载脂蛋白 E基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块处 CXCL16呈高表达^[10 12],可溶性 CXCL16可促进平滑肌细胞增殖^[5],这些均提示 CXCL16与冠状动脉狭窄相关,但目前的研究大多采用免疫组织化学染色、原位杂交和实时定量 PCR 等技术^[10 12 16],而这些手段主要检测的是组织中的 CXCL16且无法区分膜结合形式抑或可溶性分子,可见冠状动脉的狭窄程度可能主要与膜结合形式以及组织中可溶性 CXCL16分子相关,而体循环中可溶性 CXCL16主要是急性炎症反应标志物。此外,斑块不稳定、破溃是 ACS的病理基础,但是斑块是否稳定与冠状动脉狭窄程度不一定相关,故反映炎症反应的血清可溶性 CXCL16与冠状动脉狭窄程度可能无关。

[参考文献]

- [1] Matloubian M, David A, Engel S, et al. A transmembrane CXC chemokine is a ligand for HIV-coreceptor Bonzo [J]. *Nat Immunol* 2000; **1**:

298-304

- [2] Wilbanks A, Zondlo SC, Murphy K, et al. Expression cloning of the STRL33/BONZO/TYM STR ligand reveals elements of CC, CXC, and CX3C chemokines [J]. *J Immunol* 2001; **166**: 5 145-154
- [3] Shimaoka T, Nakayama T, Kume N, et al. Cutting edge: SR-PSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates bacterial phagocytosis by APCs through its chemokine domain [J]. *J Immunol* 2003; **171**: 1 647-651
- [4] Shekine Y, Sirsjo A. CXCL16/SR-PSOX-A friend or a foe in atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis* 2008; **197** (2): 487-495
- [5] Chandrasekar B, Bysani S, Mummidi S. CXCL16 signals via G β phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, I κ B kinase, and nuclear factor- κ B and induces cell-cell adhesion and aortic smooth muscle cell proliferation [J]. *J Biol Chem*, 2004; **279**: 3 188-196
- [6] Shimaoka T, Kume N, Minami M, et al. Molecular cloning of a novel scavenger receptor for oxidized low density lipoprotein, SR-PSOX, on macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2000; **275**: 40 663-666
- [7] Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease [J]. *Am J Cardiol* 1983; **51**: 606
- [8] Lusis AJ. Atherosclerosis [J]. *Nature* 2000; **407**: 233-241
- [9] Abel S, Hundhausen C, Mentlein R, et al. The transmembrane CXC-chemokine ligand 16 is induced by IFN- γ and TNF- α and shed by the activity of the disintegrin-like metalloproteinase ADAM 10 [J]. *J Immunol* 2004; **172**: 6 362-372
- [10] Minami M, Kume N, Shimaoka T, et al. Expression of SR-PSOX, a novel cell-surface scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized LDL in human atherosclerotic lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; **21**: 1 796-800
- [11] Wagsater D, Olofsson PS, Nongren L, et al. The chemokine and scavenger receptor CXCL16/SR-PSOX is expressed in human vascular smooth muscle cells and is induced by interferon gamma [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **325**: 1 187-193
- [12] Wuttge DM, Zhou X, Shekine Y, et al. CXCL16/SR-PSOX is an interferon- γ -regulated chemokine and scavenger receptor expressed in atherosclerotic lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; **24**: 750-755
- [13] Lundberg GA, Kellin A, Samnegard A, et al. Severity of coronary artery stenosis is associated with a polymorphism in the CXCL16/SR-PSOX gene [J]. *J Intern Med* 2005; **257**: 415-422
- [14] 孙颖, 常志文. 趋化因子 CXCL16与动脉粥样硬化的研究现状 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008; **16** (4): 329-331
- [15] Lehnke M, Millington SC, Lefterova M, et al. CXCL16 is a marker of inflammation, atherosclerosis, and acute coronary syndromes in humans [J]. *J Am Coll Cardiol* 2007; **49**: 442-449
- [16] Smith C, Halvorsen B, Otterdal K, et al. High levels and inflammatory effects of soluble CXCL16 in coronary artery disease - down-regulatory effects of statins [J]. *Cardiovasc Res* 2008; **79** (1): 195-203
- [17] Shekine Y, Bang CS, Nilsson L, et al. Decreased plasma CXCL16/SR-PSOX concentration is associated with coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis* 2006; **188**: 462-466
- [18] Shimaoka T, Nakayama T, Fukumoto N, et al. Cell surface-anchored SR-PSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates firm adhesion of CXC chemokine receptor 6-expressing cells [J]. *J Leukoc Biol* 2004; **75**: 267-274
- [19] van Lieshout AW, Popa C, Meyer-Wentrup F, et al. Circulating CXCL16 is not related to circulating ox-LDL in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; **355**: 392-397
- [20] Blake GJ, Rinker PM. C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes [J]. *J Am Coll Cardiol* 2003; **41**: 37S-42S
- [21] 沈潞华. 急性冠状动脉综合征的相关标志物 [J]. *中国医刊*, 2006; **41**: 4-6

(此文编辑 许雪梅)