

[文章编号] 1007-3949(2010)18-09-0725-04

• 临床研究 •

不同炎症标志物对冠状动脉病变的预测价值

刘淼, 纪求尚, 张运, 王旭平, 王荣, 李贵双, 陈玉国, 李继福

(教育部和卫生部心血管重构和功能研究重点实验室 山东大学齐鲁医院心内科, 山东省济南市 250012)

[关键词] 可溶性 CD40L; 单核细胞趋化蛋白 1; 白细胞介素 8; 白细胞介素 6; Gensini积分

[摘要] 目的 探讨可溶性 CD40L、单核细胞趋化蛋白 1、白细胞介素 8 和白细胞介素 6 等炎症标志物对冠状动脉病变严重程度和稳定性的预测价值。方法 应用流式细胞术检测 129 例冠心病患者血浆可溶性 CD40L、单核细胞趋化蛋白 1、白细胞介素 8 和白细胞介素 6 水平, 计算各类型冠心病患者冠状动脉病变的 Gensini 积分, 分析上述炎症标志物与 Gensini 积分的相关关系以及对急性冠状动脉综合症的预测价值。结果 四种炎症标志物血浆浓度在冠心病组均显著高于对照组 (P 均 < 0.01), 其中可溶性 CD40L、单核细胞趋化蛋白 1 和白细胞介素 6 的浓度在急性心肌梗死组高于稳定型心绞痛组 ($P = 0.001$, $P = 0.009$ 和 $P = 0.011$)。血浆单核细胞趋化蛋白 1 和白细胞介素 6 水平与冠状动脉 Gensini 积分呈正相关关系 ($r = 0.322$, $P < 0.00001$; $r = 0.203$, $P = 0.026$); 多因素 Logistic 回归分析显示白细胞介素 6 对急性冠状动脉综合症有预测价值 ($OR = 1.275$, $P = 0.037$)。结论 血浆可溶性 CD40L、单核细胞趋化蛋白 1、白细胞介素 8 和白细胞介素 6 等炎症标志物与冠状动脉粥样硬化病变有关; 血浆单核细胞趋化蛋白 1 和白细胞介素 6 能反映冠状动脉病变的严重程度; 白细胞介素 6 对预测冠状动脉病变不稳定的冠心病急性冠状动脉综合症有一定价值。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Different Inflammatory Markers Differ in Predicting the Severity and Instability of Coronary Artery Disease

LU Miao, JI Qiu-Shang, ZHANG Yun, WANG Xu-Ping, WANG Rong, LI Guo-Shuang, CHEN Yu-Guo, and LI Ji-Fu
(Key Laboratory of Cardiovascular Remodeling and Function Research, Chinese Ministry of Education and Chinese Ministry of Public Health & Department of Cardiology, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China)

[KEY WORDS] Soluble CD40L; Monocyte Chemoattractant Protein-1; Interleukin-8; Interleukin-6; Gensini Score

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the predicting value of plasma levels of soluble CD40L (sCD40L), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), interleukin-8 (IL-8), and interleukin-6 (IL-6) for the severity and instability of coronary artery disease. **Methods** sCD40L, MCP-1, IL-8 and IL-6 were measured in 129 cases of coronary artery disease patients, including 39 stable angina pectoris, 43 unstable angina pectoris and 47 acute myocardial infarction, using flow cytometric method. Gensini scores were evaluated for each patient. Correlation of the above inflammatory factors with Gensini scores was analyzed. The predicting value of the above biomarkers for acute coronary syndrome was investigated.

Results Concentrations of the tested inflammatory factors were higher in all the three coronary artery disease groups than those in contrast (all $P < 0.01$). Concentrations of sCD40L, MCP-1 and IL-6 were increased in acute myocardial infarction patients than stable angina pectoris patients ($P = 0.001$, $P = 0.009$, $P = 0.011$, respectively). Plasma concentrations of both MCP-1 and IL-6 manifested positive correlation with Gensini scores ($r = 0.322$, $P < 0.00001$; $r = 0.203$, $P = 0.026$, respectively). Multiple Logistic regression analysis showed that IL-6 could predict acute coronary syndrome ($OR = 1.275$, $P = 0.037$). **Conclusion** The plasma concentrations of sCD40L, MCP-1, IL-8 and IL-6 can predict the existence of atheroma. MCP-1 and IL-6 levels correlate to the severity of atheroma in coronary artery disease patients. IL-6 plays a role in predicting acute coronary syndrome.

近年来的基础研究证实炎症反应是动脉粥样硬化发生与发展的最重要机制^[1]。但是, 目前关于血浆可溶性 CD40L (soluble CD40L, sCD40L)、单核

细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、白细胞介素 8 (interleukin-8, IL-8) 和 IL-6 等炎症因子在冠心病患者中的变化研究结果不一致^[2-5]; 另外, 上述炎症因子与反映冠状动脉病变严重程度的 Gensini 积分^[6]之间的关系也未见报道。因此, 本研究在稳定型心绞痛 (stable angina pectoris, SAP)、不稳定型心绞痛 (unstable angina pectoris, UAP) 和急性心肌梗死 (acute myocardial infarction,

[收稿日期] 2010-08-04 [修回日期] 2010-09-18

[基金项目] 973 项目分课题 (2006CB503803)

[作者简介] 刘淼, 硕士研究生, 主要从事冠心病基础与临床研究, Email 为 836518522@qq.com。通讯作者纪求尚, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病基础与临床研究, Email 为 jiqiush@yashoo.com.cn。张运, 博士, 中国工程院院士, 研究方向为心血管重构和功能研究, Email 为 zhangyun@sdu.edu.cn。

AMI患者检测 sCD40L、MCP-1、IL-8和 IL-6四种炎症因子的血浆浓度,并分析其与 Gensini积分和急性冠状动脉综合征之间的相关关系,以探讨不同炎症标志物在冠心病患者中的检测意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

于 2009年 2月至 2010年 1月在山东大学齐鲁医院经冠状动脉造影检查确诊为冠心病和正常者中随机选取 170例为研究对象,其中冠心病患者 129例,包括 SAP患者 39例,男 31例,女 8例,年龄 60.5 ± 8.4 岁;UAP患者 43例,男 34例,女 9例,年龄 58.6 ± 10.2 岁;AMI患者 47例,男 37例,女 10例,年龄 59.8 ± 11.5 岁。冠状动脉造影正常者 41例作为对照组,男 32例,女 9例,年龄 58.6 ± 9.2 岁。凡合并有下列疾病者予以剔除:急、慢性感染,自身免疫性疾病或结缔组织性疾病,急性或慢性肝、肾疾病及恶性肿瘤。所有受试者均签署了参加本研究的书面同意书。该研究获得山东大学齐鲁医院伦理委员会批准。

1.2 冠状动脉造影诊断冠心病标准

冠状动脉造影显示左主干、左前降支、左回旋支或右冠状动脉至少一支管腔直径狭窄 $\geq 50\%$ 者诊断为冠心病。

1.3 冠心病临床分型诊断标准

急性心肌梗死:持续胸痛 > 30 min,心电图动态变化、心肌酶 CK-MB显著升高(达正常值两倍或以上),3项中具备 2项或以上即诊断为 AMI ④不稳定型心绞痛:1个月内新发心绞痛或原心绞痛症状恶化,伴或不伴静息心绞痛,有或无心肌酶的增高(不及正常值两倍);④稳定型心绞痛:劳力性心绞痛病程在 1个月以上而病情稳定不变者,其心绞痛阈值固定;急性冠状动脉综合征包括 AMI和 UAP患者。

1.4 Gensini积分

冠状动脉狭窄 $\leq 25\%$ 为 1分, $25\% \sim 49\%$ 为 2分, $50\% \sim 74\%$ 为 4分, $75\% \sim 90\%$ 为 8分, $91\% \sim 99\%$ 为 16分, 100% 为 32分。不同节段冠状动脉病变乘以相应系数:左主干病变 $\times 5$,前降支近段、中段、远段分别 $\times 2.5$, 1.5 , 1 ;第一对角支 $\times 1$,第二对角支 $\times 0.5$;左回旋支近段、远段分别 $\times 2.5$, 1 ;钝缘支 $\times 1$;右冠状动脉近、中、远段均 $\times 1$,后降支 $\times 1$,左心室后支 $\times 0.5$ 。冠状动脉病变程度最终积分为各分支积分之和。

1.5 炎症标志物检测

所有受试者于清晨、空腹抽取肘静脉血 2 mL,注入 EDTA 抗凝的试管中。在室温下以 $3\,000$ r/min 离心 20 min,分离血浆,分装保存于 -80°C 冰箱中备检。应用流式细胞术检测血浆中 sCD40L、MCP-1、IL-8和 IL-6浓度。试剂购于 Bender Medsystem s公司(奥地利维也纳),所用仪器为 BD 公司的 BD FACSCalibur流式细胞仪(美国富兰克林湖)。严格按照说明书步骤操作。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 11.0软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料采用率或构成比表示。计量资料服从正态分布者多组间比较用 ANOVA 分析,两两间比较用 LSD-t检验;不服从正态分布资料采用秩和检验,其两两比较用 Mann-Whitney U 检验。非计量资料采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料

冠心病各组及对照组之间年龄、性别、吸烟史、冠心病家族史及高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)等方面差异无显著性($P > 0.05$)。冠心病组高血压病史和糖尿病史高于对照组($P = 0.003$ 和 $P = 0.001$),但冠心病各组之间差异无显著性($P > 0.05$)。各组抽血前 1周内应用 β 受体阻滞剂、钙离子拮抗剂、硝酸酯类药物、他汀类降脂药、阿司匹林、氯吡格雷的比例差异也无统计学意义($P > 0.05$),但血管紧张素 II 受体拮抗剂(ARB)或血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)应用比例在冠心病组高于对照组(P 均 < 0.05 ,表 1)。

2.2 血浆炎症标志物在各型冠心病患者中的变化

冠心病各组可溶性 CD40L浓度均高于对照组(P 均 < 0.01),且 AMI组和 UAP组高于 SAP组($P = 0.001$ 和 $P = 0.043$),但前两者之间差异无显著性($P = 0.174$);冠心病各组患者 MCP-1水平均高于对照组(P 均 < 0.05),且 AMI组明显高于 UAP和 SAP组($P = 0.027$ 和 $P = 0.009$),而后两者之间差异无显著性($P = 0.802$);冠心病各组间 IL-8水平明显高于对照组(P 均 < 0.01),但冠心病各组之间差异无显著性;冠心病各组 IL-6浓度明显高于对照组(P 均 < 0.01),其中 AMI组显著高于 SAP组($P = 0.011$),余各组间差异无显著性($P > 0.05$,表 2)。

表 1 各组临床资料对比

项 目	对照组 (n = 41)	SAP组 (n = 39)	UAP组 (n = 43)	AMI组 (n = 47)
年龄 (岁)	58.6 ± 9.2	60.5 ± 8.4	58.6 ± 10.2	59.8 ± 11.5
男性	78.0%	79.5%	79.1%	78.7%
吸烟	58.5%	59%	58.1%	60.2%
高血压病	21.9%	48.7% ^a	53.5% ^a	57.4% ^a
糖尿病	14.1%	53.6% ^a	56.2% ^a	60.4% ^a
冠心病家族史	10.3%	12.8%	13.3%	14.9%
甘油三酯 (mmol/L)	1.41 ± 0.75	1.76 ± 1.11	1.67 ± 0.71	1.76 ± 0.74
总胆固醇 (mmol/L)	4.41 ± 0.61	4.57 ± 1.05	4.84 ± 1.12	4.72 ± 1.46
HDL-C (mmol/L)	1.18 ± 0.07	1.26 ± 0.05	1.29 ± 0.05	1.17 ± 0.06
LDL-C (mmol/L)	2.65 ± 0.51	2.62 ± 0.85	2.87 ± 0.93	3.25 ± 2.69
β受体阻滞剂	81.7%	83.6%	84.9%	90.4%
钙拮抗剂	26.8%	28.5%	24.2%	20.7%
ACEI/ARB	31.7%	63.1% ^a	72.9% ^a	74.6% ^a
他汀类降脂药	71%	79.3%	78.3%	81%
阿司匹林	100%	100%	100%	100%
氯吡格雷	100%	100%	100%	100%
硝酸酯类药物	100%	100%	100%	100%

a为 $P < 0.05$ 与对照组比较。

表 2 血浆炎症标志物在各型冠心病患者中的变化 (ng/L)

参 数	对照组 (n = 41)	SAP组 (n = 39)	UAP组 (n = 43)	AMI组 (n = 47)
sCD40L	14.6 (6.8~25.6)	135.1 (14.6~294.1) ^a	232.7 (91.9~425.5) ^{ab}	254.9 (127.0~581.3) ^{ab}
MCP-1	239.1 ± 118.1	323.1 ± 135.4 ^a	337.5 ± 135.4 ^a	439.1 ± 326.1 ^{abc}
IL-8	0.13 (0.13~1.70)	1.36 (0.35~2.31) ^a	1.82 (0.35~2.82) ^a	1.83 (0.45~2.73) ^a
IL-6	1.76 ± 1.56	2.88 ± 1.21 ^a	3.26 ± 1.83 ^a	3.85 ± 1.71 ^{ab}

a为 $P < 0.05$ 与对照组相比; b为 $P < 0.05$ 与 SAP组相比; c为 $P < 0.05$ 与 UAP组相比。

2.3 血浆炎症标志物与 Gensini积分的关系

SAP、UAP、AMI三组冠心病患者 Gensini积分分别为 53.3 ± 35.8 、 56.0 ± 33.7 和 52.0 ± 24.5 。三组间差异无显著性 ($P < 0.05$)。分别将四种炎症标志物与 Gensini积分做直线相关分析 (sCD40L和 IL-8做自然对数变换), MCP-1和 IL-6与 Gensini积分有正相关关系 ($r = 0.322$, $P < 0.0001$; $r = 0.203$, $P = 0.026$)。以四种血浆炎症标志物为自变量, Gensini积分为应变量, 做多元线性回归分析, 结果仅 IL-6被纳入回归方程 ($Y = 31.626 + 6.031X$; $t = 3.623$, $P < 0.0001$)。

2.4 血浆炎症标志物对冠心病的诊断价值

以炎症标志物血浆浓度作为检验变量, 以是否为冠心病作为状态变量, 分别得到 4种因子的 ROC曲线, 各因子以中位数作为临界值时, 有较好的诊断冠心病的价值 (表 3)。

表 3 炎症标志物对冠心病诊断价值 (ng/L)

参 数	ROC曲线下面积 (95% CI)	临界值	敏感性	特异性	P 值
sCD40L	0.787 (0.700~0.873)	138.4	0.667	0.856	< 0.0001
MCP-1	0.708 (0.612~0.803)	264.8	0.722	0.667	< 0.0001
IL-8	0.699 (0.590~0.808)	1.24	0.603	0.675	< 0.0001
IL-6	0.780 (0.693~0.867)	2.41	0.763	0.667	< 0.0001

2.5 血浆炎症标志物对急性冠状动脉综合征风险分析

将 4种炎症标志物作为自变量, ACS作为应变量进行单因素和多因素 Logistic 回归分析, 结果显示 sCD40L、MCP-1和 IL-6对 ACS均有一定的预测价值, 但多因素 Logistic 回归分析仅显示 IL-6对 ACS的发生有预测作用 ($OR = 1.275$, 95% CI 1.016~1.602, $P = 0.037$)。

3 讨论

有充分证据表明,冠心病是一种炎性疾病,多种炎症因子参与其发生与发展的过程。但许多炎症因子以自分泌或旁分泌的方式发挥作用而不在循环血中表现出来;另一方面,许多疾病或因素可导致炎症因子在血浆中浓度增高^[7-8]。本研究证明,血浆中 sCD40L、MCP-1、IL-8 及 IL-6 水平能反映冠状动脉病变的存在,而且 MCP-1、IL-6 能反映冠状动脉病变的严重程度。在所研究的 4 种炎症标志物中,IL-6 对 ACS 有独立的预测价值。

既往关于炎症标志物在冠心病患者中变化的研究结果不一致。如同样在冠心病患者检测 sCD40L、MCP-1、IL-8 及 IL-6 等炎症因子, Wang 等^[4]未发现 sCD40L 和 IL-8 浓度在稳定型心绞痛患者升高;而 Rothenbacher 等^[5]发现稳定型心绞痛患者 IL-8 浓度升高, MCP-1 较对照无变化。导致这种研究结果差异的可能原因是所研究的炎症标志物在血浆中的浓度受许多因素影响。sCD40L、MCP-1、IL-8 及 IL-6 等主要介导各种急、慢性炎症反应,因此,在许多炎症性疾病中均可增高。除此之外,对照组中若不能完全排除动脉粥样硬化斑块的存在,也必然会对结果造成影响。本研究是在行冠状动脉造影的患者中选取造影正常者作为对照,并对每一例受试者进行了仔细检查,排除了慢性炎症性疾病的存在,最大程度地保证了结果的可靠性。

基础研究显示 sCD40L、MCP-1、IL-8 和 IL-6 参与动脉粥样硬化斑块的形成^[9-11]。本研究对 4 种血浆炎症因子与 Gensini 积分行多元线性回归分析,显示仅 IL-6 可纳入回归方程,说明 IL-6 与动脉粥样硬化的严重程度具有更强的相关性,其他炎症因子的作用被掩盖。AMI、UAP、SAP 各组之间 Gensini 积分无明显差异,说明 ACS 的发病决定于冠状动脉粥样硬化斑块的稳定性,而不是冠状动脉病变的严重程度。

炎症反应是导致斑块不稳定的重要因素,但不同的炎症因子在 ACS 患者升高的程度和持续时间不同。我们曾报道过高敏 C 反应蛋白、纤维蛋白原、von Willebrand 因子等在 AMI 患者有不同的动态变化规律^[12-13]。因此,发病距检测时间不同会导致不同的结果。我们的资料中 UAP 患者发病至采血时间为 10 天之内,AMI 患者为 20 天之内,显示多数 AMI 患者 sCD40L、MCP-1 和 IL-6 水平在发病 20 天内仍高于 SAP,而 MCP-1 和 IL-6 水平在 UAP 患者与 SAP 相比有增高的趋势,但差异无统计学意

义。我们的研究未显示 IL-8 在 ACS 患者的变化(但 UAP 和 AMI 患者较 SAP 患者有增高的趋势),与以往的结果不一致^[14],可能的原因是 IL-8 在 ACS 患者变化短暂。

本研究不足之处主要是由于样本量不够大,没能进一步分析 ACS 患者所检测指标在不同时间段内的变化;另外,对照组中糖尿病、高血压和使用 ACEI/ARB 者较低,但进一步分析这三个因素对所检测炎症因子的影响,没有发现两者间有差别。因此不影响本研究所做出的结论:不同的炎症标志物对冠心病有不同的预测价值;炎症因子在 ACS 患者中增高,反映了炎症反应突然加剧,但也可能是一种急性应急反应;不同炎症标志物对预测这种急性变化有不同的作用。

[参考文献]

- [1] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature* 2002 **420** (6917): 868-874
- [2] Samnegård A, Hulthe J, Silveira A, et al. Gender specific associations between matrix metalloproteinases and inflammatory markers in postmyocardial infarction patients [J]. *Atherosclerosis* 2009 **202** (2): 550-556
- [3] Fouad HH, A Hdera H, Bakhoun SW, et al. Levels of sCD40 ligand in chronic and acute coronary syndromes and its relation to angiographic extent of coronary arterial narrowing [J]. *Angiology* 2010 [Epub ahead of print].
- [4] Wang J, Zhang S, Jin Y, et al. Elevated levels of platelet-monocyte aggregates and related circulating biomarkers in patients with acute coronary syndrome [J]. *Int J Cardiol* 2007 **115** (3): 361-365
- [5] Rothenbacher D, Möller-Scholz S, Herder C, et al. Differential expression of chemokines: risk of stable coronary heart disease and correlation with established cardiovascular risk markers [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006 **26** (1): 194-199
- [6] Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease [J]. *Am J Cardiol* 1983 **51** (3): 606-610
- [7] Castro SV, Jimenez SA. Biomarkers in systemic sclerosis [J]. *Biomark Med* 2010 **4** (1): 133-147
- [8] Achur RN, Freeman WM, Vrana KE. Circulating cytokines as biomarkers of alcohol abuse and alcoholism [J]. *J Neuroimmune Pharmacol* 2010 **5** (1): 83-91
- [9] Schonbeck U, Bonnefoy JY, Pober JS, et al. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atherothrombosis by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor [J]. *Circulation* 1997 **96** (2): 396-399
- [10] apadopoulos C, Corrigan V, Taylor PR, et al. The role of the chemokines MCP-1, GRO-α, IL-8 and their receptors in the adhesion of monocyte cells to human atherosclerotic plaques [J]. *Cytokine* 2008 **43** (2): 181-186
- [11] Kerr R, Stirling D, Ludlam CA. Interleukin 6 and haemostasis [J]. *Br J Haematol* 2001 **115** (1): 3-12
- [12] 纪求尚, 张运, 杨晓静, 等. 急性心肌梗死患者炎症介质的动态变化及意义 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2003 **11** (4): 349-351
- [13] 纪求尚, 张运, 郭媛, 等. 急性心肌梗死患者促凝因子的动态变化及意义 [J]. *山东大学学报*, 2004 **42** (3): 284-286
- [14] Rajappa M, Sen SK, Shama A. Role of pro-/anti-inflammatory cytokines and their correlation with established risk factors in South Indians with coronary artery disease [J]. *Angiology* 2009 **60** (4): 419-426

(此文编辑 许雪梅)