

[文章编号] 1007-3949(2010)18-10-0817-04

· 临床研究 ·

急性冠状动脉综合征患者血清热休克蛋白 70的变化及其相关因素分析

薛彦琼, 李向平, 秦英楠

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410012)

[关键词] 热休克蛋白 70 急性冠状动脉综合征; 高敏 C反应蛋白

[摘要] 目的 观察冠心病患者血清热休克蛋白 70水平的变化及其相关因素进行分析。方法 共入选冠心病患者 66例和无冠心病的健康对照者 21例,再将冠心病患者分为急性冠状动脉综合征组 46例(包括不稳定型心绞痛 23例和急性心肌梗死 23例)和稳定型心绞痛组 20例。用 ELISA 测定血清热休克蛋白 70水平,同时测定血清高敏 C反应蛋白、空腹血糖、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇及甘油三酯水平以及外周血白细胞计数等指标。结果 急性冠状动脉综合征组血清热休克蛋白 70水平 ($4.72 \pm 2.01 \mu\text{g/L}$)显著高于稳定型心绞痛组 ($2.33 \pm 1.44 \mu\text{g/L}$)和对照组 ($2.41 \pm 0.96 \mu\text{g/L}$; $P < 0.01$),但在稳定型心绞痛组与对照组之间差异没有统计学意义 ($P > 0.05$)。冠心病亚组分析显示,血清热休克蛋白 70水平在急性心肌梗死组 ($5.94 \pm 1.98 \mu\text{g/L}$)显著高于不稳定型心绞痛组 ($3.49 \pm 1.10 \mu\text{g/L}$; $P < 0.01$),在不稳定型心绞痛组显著高于稳定型心绞痛组 ($2.33 \pm 1.44 \mu\text{g/L}$; $P < 0.01$)。线性相关分析发现,热休克蛋白 70水平与白细胞计数 ($r = 0.337$, $P < 0.01$)、肌酸激酶同工酶 ($r = 0.653$, $P < 0.01$)及高敏 C反应蛋白 ($r = 0.658$, $P < 0.01$)呈正相关,与高密度脂蛋白胆固醇 ($r = -0.211$, $P < 0.05$)呈负相关。结论 血清热休克蛋白 70水平可能是预测动脉粥样硬化斑块不稳定性和评估急性冠状动脉综合征病情严重程度的敏感指标。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Changes of Serum Heat Shock Protein 70 Levels and Its Related Factors in Patients with Acute Coronary Syndrome

XUE Yan-Qiong, LI Xiang-Ping, and QIN Ying-Nan

(Department of Cardiovascular Medicine, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410012, China)

[KEY WORDS] Heat Shock Protein 70, Acute Coronary Syndrome, High Sensitive-C Reactive Protein

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the changes of serum heat shock protein 70 (HSP70) levels and its related factors in patients with coronary heart disease (CHD). **Methods** 66 patients with CHD and 21 healthy controls (non-CHD group) were enrolled in this study. 66 patients with CHD were divided into two groups: acute coronary syndrome group (composed of acute myocardial infarction group (AMI, $n = 23$) and unstable angina pectoris group (UAP, $n = 23$)), stable angina pectoris group (SAP, $n = 20$). Serum HSP70 levels were determined by ELISA. Meanwhile high sensitive C-reactive protein (hs-CRP), fasting blood sugar (FBS), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDLC), high density lipoprotein cholesterol (HDLC), and peripheral white blood cell (WBC) count were measured. **Results** Serum HSP70 levels in ACS group ($4.72 \pm 2.01 \mu\text{g/L}$) were significantly higher than those in SAP group ($2.33 \pm 1.44 \mu\text{g/L}$) and non-CHD group ($2.41 \pm 0.96 \mu\text{g/L}$; $P < 0.01$). But the difference of serum HSP70 levels between SAP group and non-CHD group was not statistically significant ($P > 0.05$). Among patients with CHD, serum HSP70 levels in AMI group ($5.94 \pm 1.98 \mu\text{g/L}$) were much higher than those in UAP group ($3.49 \pm 1.10 \mu\text{g/L}$; $P < 0.01$), and serum HSP70 levels in UAP group were much higher than those in SAP group ($2.33 \pm 1.44 \mu\text{g/L}$; $P < 0.01$). Serum HSP70 levels were associated positively with WBC ($r = 0.337$, $P < 0.01$), CK-MB ($r = 0.653$, $P < 0.01$) and hs-CRP ($r = 0.658$, $P < 0.01$), but negatively with HDLC ($r = -0.211$, $P < 0.05$) among all the subjects.

Conclusion Serum HSP70 levels may be valuable to predict the unstable plaque and evaluate the severity of ACS.

已知炎症和免疫反应在动脉粥样硬化和急性

冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 的发生发展过程中发挥着重要的作用^[1,2]。在 ACS 时,机体内多种炎症细胞被激活,从而分泌大量的致炎因子,使机体处于急性炎症状态^[3]。尽管以往研究认为细胞内热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70) 具有抗细胞凋亡、抗氧化、调节免疫功能、提

[收稿日期] 2010-06-08 [修回日期] 2010-10-15

[作者简介] 薛彦琼, 硕士研究生, 现为湖南省益阳市中心医院心内科住院医师。主要研究方向为冠心病发病机制及其防治, E-mail为 xueyan1@sina.com。通讯作者李向平, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为冠心病发病机制及其防治, E-mail为 lixp@med-mail.com.cn。秦英楠, 硕士研究生, 现为南华大学附属第二医院心内科住院医师, 主要研究方向为冠心病发病机制及其防治。

高细胞对应激的耐受性等作用^[4],并可能在缺血再灌注过程中细胞内 HSP70有直接的保护作用^[5]。然而新近研究显示细胞外的作用有所不同,可能具有促炎、促动脉粥样硬化形成的作用,但其在 ACS患者中的报道尚少。本研究通过检测冠心病患者血清 HSP70水平的差异,对血清 HSP70水平与 ACS之间的关系及其影响因素进行分析,旨在探讨 HSP70在 ACS患者中检测的临床意义。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选择 2008年 4月到 12月我院门诊就诊或住院诊断为冠心病的患者 66例,其中 ACS 46例,包括急性心肌梗死 (AMI) 23例和不稳定型心绞痛 (UAP) 23例,稳定型心绞痛 (SAP) 20例。AMI的诊断参照欧洲心脏病学会和美国心脏病学会 1999年定义的标准,UAP的诊断参照 Braunwald 分级定义,SAP的诊断参照美国心脏病协会 2002年修订后的《稳定型心绞痛诊断治疗指南》。对照组 21例,入选标准为:临床无典型心绞痛症状,心电图、动态心电图或/和运动平板无心肌缺血改变,或冠状动脉造影显示冠状动脉无明显阻塞性病变。有下列情况之一者予以剔除:肿瘤、创伤、结核、风湿及类风湿疾病、自身免疫病、感染、明显肝肾功能异常、甲状腺疾病以及近一周服用他汀类或贝特类调脂药、非甾体类抗炎药(除小剂量阿司匹林之外)或糖皮质激素的患者。

1.2 血清生物化学指标的测定

所有入选对象均在空腹 12 h后采肘静脉血测定下列指标:血常规、空腹血糖 (FBS)、血清甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、谷丙转氨酶 (ALT)、肌酐、肌酸激酶同工酶 (CK-MB)及高敏 C反应蛋白 (hs-CRP)。hs-CRP采用乳胶颗粒透射免疫比浊法测定,测定灵敏度最小为 0.1 mg/L。上述各指标均由我院检验科专人质控检测。

1.3 血清热休克蛋白 70的测定

所有受试者在空腹 12 h后采肘静脉血 4 mL入普通试管,静置 4 h后 3000 r/min离心 10 min,分离上层血清 -70℃保存待测。采用酶联免疫吸附法 (ELISA)测定血清 HSP70水平,试剂盒编号为 E0873h,由武汉中美科技有限公司代理,测定灵敏度最小为 0.039 μg/L。

1.4 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用方

差分析 SNK 检验或非参数 K-W 检验。计数资料以率表示,采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Pearson 相关或 Spearman 秩相关。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 HSP70和 hs-CRP水平及血生物化学指标比较

ACS组血清 hs-CRP水平显著高于 SAP组,SAP组血清 hs-CRP水平显著高于对照组 ($P < 0.01$);ACS组血清 HSP70水平显著高于 SAP组和正常对照组 ($P < 0.01$),但 SAP组血清 HSP70水平与对照组之间差异无显著性 ($P > 0.05$)。三组间 ALT、HDL-C、FBS及白细胞计数 (WBC)存在差异 ($P < 0.05$ 表 1)。

表 1 血清 HSP70和 hs-CRP水平及血生物化学指标比较

项目	对照组 (n=21)	SAP组 (n=20)	ACS组 (n=46)
年龄(岁)	56.48 ± 8.82	59.85 ± 9.01	62.04 ± 8.21
男女(例)	12/9	14/6	34/12
吸烟(例)	11(52.3%)	10(50.0%)	25(54.3%)
饮酒(例)	7(33.3%)	6(30.0%)	14(30.4%)
高血压病(例)	10(47.6%)	13(65.0%)	21(45.7%)
糖尿病(例)	4(19.0%)	4(20.0%)	11(23.9%)
体质指数 (kg/m ²)	24.04 ± 2.11	23.47 ± 2.70	23.88 ± 1.87
收缩压 (mmHg)	128.76 ± 17.22	129.60 ± 17.41	131.30 ± 22.48
舒张压 (mmHg)	79.76 ± 10.35	79.35 ± 9.84	77.54 ± 13.23
肌酐 (μmol/L)	70.02 ± 14.52	77.75 ± 14.73	79.21 ± 21.93
尿素氮 (mmol/L)	5.51 ± 1.56	5.67 ± 1.34	5.82 ± 1.84
谷丙转氨酶 (u/L)	27.22 ± 12.54	26.45 ± 10.41	40.00 ± 16.52 ^{bc}
TG (mmol/L)	1.53 ± 0.60	1.79 ± 1.05	1.73 ± 0.97
TC (mmol/L)	4.53 ± 0.66	4.78 ± 1.11	4.41 ± 0.86
HDL-C (mmol/L)	1.16 ± 0.26	1.25 ± 0.39	1.02 ± 0.21 ^c
LDL-C (mmol/L)	2.81 ± 0.57	2.94 ± 0.93	2.77 ± 0.71
FBS (mmol/L)	5.65 ± 0.54	5.72 ± 1.33	6.20 ± 1.12 ^a
WBC (×10 ⁹ /L)	6.48 ± 1.47	7.05 ± 1.85	8.53 ± 3.06 ^a
hs-CRP (mg/L)	1.61 ± 0.84	3.15 ± 2.40 ^b	11.9 ± 7.78 ^{bc}
HSP70 (μg/L)	2.41 ± 0.96	2.33 ± 1.44	4.72 ± 2.01 ^{bc}

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

2.2 冠心病各亚组间血清 HSP70和 hs-CRP水平比较

hs-CRP和 HSP70水平在 AMI组显著高于 UAP组,UAP组显著高于 SAP组 ($P < 0.01$;表 2)。

2.3 相关因素分析

在所有入选对象中,线性相关分析显示血清 HSP70水平与 WBC ($r = 0.337, P < 0.01$)、CK-MB (r

= 0.653, $P < 0.01$)及 hs-CRP($r = 0.658$, $P < 0.01$)呈正相关, 与 HDLC 呈负相关($r = -0.211$, $P < 0.05$), 而与年龄、血压、体质指数、吸烟、性别、饮酒、FBS、TC、TG 及 LDLC 不相关。

表 2 冠心病各亚组间血清 hs-CRP 和 HSP70 水平比较

项 目	SAP组	UAP组	AMI组
hs-CRP(mg/L)	3.15 ± 2.40	5.82 ± 4.11 ^a	18.04 ± 10.04 ^{ab}
HSP70(μg/L)	2.33 ± 1.44	3.49 ± 1.10 ^a	5.94 ± 1.98 ^{ab}

a为 $P < 0.01$, 与 SAP 组比较; b为 $P < 0.01$, 与 UAP 组比较。

3 讨论

近年来研究表明, 细胞内的 HSP70 在可逆性和不可逆性心肌缺血及再灌注中发挥着保护性作用。但是, 细胞外 HSP70 对动脉粥样硬化所起的作用目前还存在争议。有些学者认为细胞外 HSP70 有促炎、促动脉粥样硬化形成的作用, 而细胞外 HSP70 可通过 TLR-2、TLR-4、LOX-1、CD91、CD94、CCR5 及 CD40 等多种受体发挥作用, 从而激活巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞、NK 细胞及淋巴细胞等多种细胞^[6]。大量研究表明, HSP70 在动脉粥样硬化的多个阶段均有表达。在动脉粥样硬化病变早期, 树突状细胞可过表达 HSP70 而在晚期粥样硬化病变中, 单核细胞、巨噬细胞等多种细胞均过表达 HSP70^[7]。在载脂蛋白 E 基因敲除的小鼠中, 粥样硬化易损斑块部位处的内皮细胞、巨噬细胞等多种细胞表达 HSP70 明显增加^[8]。此外, 循环中 HSP70 水平与心肌缺血也有着密切的联系。CABG 术后患者体内循环 HSP70 水平显著升高, 且单核细胞 TLR-2 和 TLR-4 表达增强, 提示在应激和心肌缺血状态下, 有大量 HSP70 释放入血, 并可能通过 TLR-4 和 CD14 介导炎症和免疫反应^[9]。还有研究发现, AMI 患者循环中 HSP70 的水平明显升高^[10-12], 且 HSP70 峰值与心肌坏死标记物 (CK-MB、cTnT) 的峰值呈正相关, 而与左心室射血分数呈负相关。在心肌梗死后伴发心衰的患者中, 血清 HSP70 水平升高也尤为明显。同时, HSP70 可呈剂量依赖性地促进单核细胞 TLR4 表达及炎症因子的释放, 提示心肌梗死后循环中 HSP70 水平升高可能通过 TLR4 介导免疫炎症反应, 并参与心肌梗死后心衰的发生。

本研究中, ACS 患者血清 HSP70 水平明显高于 SAP 患者和对照者, AMI 组又明显高于 UAP 组, 而相关分析发现 HSP70 水平与 CK-MB 呈正相关。这提示 HSP70 作为一种应激蛋白, 在动脉粥样硬化病

变早期和粥样斑块较稳定或炎症反应较轻时, 细胞外表达或释放 HSP70 的细胞种类或数量较少, 以致循环中 HSP70 水平升高不明显。而在动脉粥样硬化晚期, 尤其是存在易损斑块或有斑块破裂等应激状态时, 大量细胞表达并分泌 HSP70 导致循环中 HSP70 水平明显升高。而此时循环中高水平的 HSP70 可能不仅可反映动脉粥样硬化斑块的免疫和炎症状态, 还可以进一步促进免疫细胞和炎症细胞的激活以及炎症因子的释放。并支持心肌梗死后血清 HSP70 水平的变化有可能反映心肌坏死的范围和心肌功能受损的程度。因此, HSP70 可能对于预测动脉粥样硬化斑块的不稳定性及评估 ACS 严重性有重要的临床意义。

有研究证实细胞外 HSP70 具有促炎的功能。Zou 等^[13] 在小鼠模型中发现, 心肌细胞在缺血再灌注过程中释放大量的 HSP70 入血, 而通过抗体特异性阻断 HSP70 后, 可抑制细胞因子的表达并有助于心脏在缺血再灌注后的功能恢复。另有研究表明, 细胞外 HSP70 可以诱导单核细胞释放多种炎症细胞因子如 TNF、IL-6、IL-1 β 等^[14], 并可能通过诱导激活 MMP-9 从而发挥促炎作用^[15]。但在小鼠模型中, 通过 HSP70 抗体拮抗 HSP70 可减少促炎因子 MCP-1 等的表达, 并减少心脏巨噬细胞的浸润^[16]。本研究中, 相关分析发现血清 HSP70 水平与 hs-CRP 和外周血 WBC 呈正相关, 提示 HSP70 的产生及释放可能与体内的炎症反应程度有密切关系, 支持细胞外 HSP70 具有促炎作用这一观点。还观察到 HSP70 与 HDLC 呈负相关。在现有的研究资料中, 尚未见 HSP70 与 HDLC 之间相互作用的报道。但有不少研究证实 HSP70 可能与血脂代谢有一定的关系。Svensson 等^[17] 研究发现氧化型 LDL (ox-LDL) 可刺激诱导细胞分泌 HSP70 并进一步导致巨噬细胞中脂质沉积与启动炎症反应。而 Navab 等^[18-19] 发现 HDL 及其主要的蛋白成分载脂蛋白 A_{iv} 可以直接抑制 ox-LDL 形成的各个环节, 而 HDL 相关的对氧磷酶 (PON) 可抑制 LDL 氧化, 从而减少 ox-LDL 的生成。所以, 我们推测血清 HDLC 水平降低伴随血浆 HSP70 水平升高, 可能与 HDL 抗氧化作用减弱, 体内 ox-LDL 生成增多, 诱导细胞分泌 HSP70 增加有关。

综上所述, 本研究初步探讨了 ACS 患者血清 HSP70 水平检测的临床意义, 为 ACS 与循环中 HSP70 之间关系的研究提供了新的客观证据, 而 HSP70 也将有望成为动脉粥样硬化相关疾病治疗的新靶点。

[参考文献]

- [1] 彭毅, 邵紫韞, 丁世芳. 动脉粥样硬化中的细胞因子及细胞因子相关信号通路 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16 (2): 161-164
- [2] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature* 2002, 420: 868-874
- [3] Choi YH, Lee WH, Lee Y, et al. Correlation between monocyte and T-lymphocyte activation markers in patients with acute coronary syndrome [J]. *Jpn Heart J*, 2000, 41 (5): 605-615
- [4] Juliani GK, George CT. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry and physiology [J]. *Pharmacol Ther*, 1998, 80 (2): 183-201
- [5] Guo S, Wharton W, Moseley P, et al. Heat shock protein 70 regulates cellular redox status by modulating glutathione-related enzyme activities [J]. *Cell Stress Chaperones* 2007, 12 (3): 245-254
- [6] Pockley AG, Muthana M, Caklewood SK, et al. The dual immunoregulatory roles of stress proteins [J]. *Trends Biochem Sci* 2008, 33 (2): 71-79
- [7] Bobryshev YV, Lord RS. Expression of heat shock protein-70 by dendritic cells in the arterial intima and its potential significance in atherogenesis [J]. *J Vasc Surg*, 2002, 35 (2): 368-375
- [8] Rupinder KK, Jagat RK, Dongm W, et al. Temporal expression of heat shock proteins 60 and 70 at lesion-prone sites during atherogenesis in ApoE-deficient mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001, 21: 1991-997
- [9] Dybdahl B, Wahba A, Lien E, et al. Inflammatory response after open heart surgery: release of heat-shock protein 70 and signaling through Toll-like receptor-4 [J]. *Circulation*, 2002, 105: 685-690
- [10] Satoh M, Shimoda Y, Akatsu T, et al. Elevated circulating levels of heat shock protein 70 are related to systemic inflammatory reaction through monocyte Toll signal in patients with heart failure after acute myocardial infarction [J]. *Eur J Heart Fail* 2006, 8 (8): 810-815
- [11] Dybdahl B, Skjrdahl SA, Waage A, et al. Myocardial ischemia and the inflammatory response: release of heat shock protein 70 after myocardial infarction [J]. *Heart* 2005, 91 (3): 299-304
- [12] Zhang X, Xu Z, Zhou L, et al. Plasma levels of HSP70 and anti-HSP70 antibody predict risk of acute coronary syndrome [J]. *Cell Stress Chaperones* 2010, 15 (5): 675-686
- [13] Zou N, Ao L, Cleveland JJ, et al. Critical role of extracellular heat shock cognate protein 70 in the myocardial inflammatory response and cardiac dysfunction after global ischemia-reperfusion [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008, 294 (6): H2805-813
- [14] Asea A, Rehli M, Kabingu E, et al. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 15028-034
- [15] Kyoung JL, Yoo MK, Dae YKL, et al. Release of heat shock protein 70 (HSP70) and the effects of extracellular HSP70 on matrix metalloproteinase-9 expression in human monocytic U937 cells [J]. *Exp Mol Med*, 2006, 38 (4): 364-374
- [16] Cai WF, Zhang XW, Yan HM, et al. Intracellular or extracellular heat shock protein 70 differentially regulates cardiac remodeling in pressure overload mice [J]. *Cardiovasc Res* 2010, 88 (1): 140-149
- [17] Svensson PA, Asea A, Englund MC, et al. Major role of HSP70 as a paracrine inducer of cytokine production in human oxidized LDL treated macrophages [J]. *Atherosclerosis* 2006, 185 (1): 32-38
- [18] Navab M, Hama SY, Anantharamaiah GM, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3 [J]. *Lipid Res* 2000, 41: 1495-508
- [19] Navab M, Hama SY, Cooke CJ, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1 [J]. *Lipid Res* 2000, 41: 1481-494

(此文编辑 文玉珊)

· 征稿征订 ·

2011年《中国动脉硬化杂志》征稿征订启事 (中文核心期刊)

《中国动脉硬化杂志》(国内统一刊号 CN 43-1262/R, 国际标准刊号 ISSN 1007-3949)是中国科学技术协会主管、中国病理生理学会主办、南华大学承办的国家级专业性高级学术期刊。主要报道中医药学、预防医学、基础医学、临床医学、药学和特种医学中防治动脉硬化性疾病中的研究论文(含流行病学研究、实验研究、临床研究和方法学研究)、诊治经验、病例报道、知识讲座等。其办刊宗旨是:报道防治动脉硬化性疾病的新理论、新观点、新疗法、新药物;介绍防治的新经验和新知识;既引导和弘扬我国的学术研究,促进国内外学术交流,将中国这一领域的研究推向世界和未来;又普及防治知识,提高全民的健康水平。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。《中国动脉硬化杂志》被多家权威部门收录为核心期刊【中文核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊(扩展版)、中国科技核心期刊、中国科技论文统计源期刊、中国学术期刊光盘版、万方数据期刊群、中国学术期刊综合评价数据库核心期刊等有关医学数据库入编期刊】。

《中国动脉硬化杂志》为月刊,每月26日出版,A4大开本,进口双胶纸印刷。每期定价12.00元,全年144.00元。由湖南省报刊发行局发行,邮发代号42-165,全国各级各地邮局均可订阅。编辑部可办理邮购,个人向编辑部订阅,给予八折优惠。中国动脉硬化杂志编辑部热忱欢迎海内外同仁和社会各界朋友向《中国动脉硬化杂志》投稿,到当地邮局订阅。

编辑部地址:湖南省衡阳市南华大学内《中国动脉硬化杂志》编辑部;邮政编码:421001;

联系电话:0734-8160765;传真:0734-8160523

电子信箱:dmzjb@163.net;网址: http://www.dmzjb.net