

# 急性心肌梗死患者全身与 局部血浆 $\alpha$ 防御素 1-3 水平的变化

赵汉军<sup>1</sup>, 颜红兵<sup>1,2</sup>, 李文铮<sup>2</sup>, 刘 臣<sup>2</sup>, 陈 艺<sup>2</sup>, 周 鹏<sup>2</sup>, 迟云鹏<sup>2</sup>, 王韶屏<sup>2</sup>, 宋 莉<sup>1</sup>

(1. 中国医学科学院 北京协和医学院 国家心血管病中心 阜外心血管病医院

心血管疾病国家重点实验室, 北京市 100037; 2. 首都医科大学附属北京安贞医院 28 病区, 北京市 100029)

[关键词] 急性心肌梗死;  $\alpha$  防御素; 炎症因子

[摘要] **目的** 评价急性 ST 段抬高型心肌梗死 (STEMI) 时全身与局部血浆  $\alpha$  防御素 1-3 (DEFA1-3) 水平的变化。**方法** 入选对象均为男性, 冠状动脉正常[无冠状动脉粥样硬化性心脏病 (CAD)] 组 31 例、稳定型 CAD 组 44 例、STEMI 组 47 例。全身血样经造影导管取自主动脉根部, 局部血样 (STEMI 组) 经抽吸导管取自罪犯血管。夹心酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定血浆 DEFA1-3 水平。**结果** 全身血浆 DEFA1-3 水平 STEMI 组 > 稳定型 CAD 组 > 无 CAD 组 (均  $P < 0.05$ )。局部与全身血浆 DEFA1-3 水平差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。DEFA1-3 诊断 STEMI 的最佳诊断分界点为  $136.3 \mu\text{g/L}$ , 其敏感度和特异度分别为 77.2% 和 66.7%, 受试者操作特征曲线 (ROC) 曲线下面积 (AUC) 为 0.717 (95% CI: 0.624 ~ 0.811,  $P = 0.000$ )。**结论** STEMI 时患者全身血浆 DEFA1-3 水平升高, 有可能作为新型炎症标志物用于急性冠状动脉综合征患者风险或预后评估。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## Level Change of Local and Systemic Plasma Alpha-Defensin 1-3 in Acute Myocardial Infarction

ZHAO Han-Jun<sup>1</sup>, YAN Hong-Bing<sup>1,2</sup>, LI Wen-Zheng<sup>2</sup>, LIU Chen<sup>2</sup>, CHEN Yi<sup>2</sup>, ZHOU Peng<sup>2</sup>, CHI Yun-Peng<sup>2</sup>, WANG Shao-Ping<sup>2</sup>, and SONG Li<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Cardiovascular Disease & Fuwai Hospital & National Center for Cardiovascular Diseases & Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100037, China; 2. The 28th Division, Beijing Anzhen Hospital of the Capital Medical University, Beijing 100029, China)

[KEY WORDS] Alpha-Defensin 1-3; Acute Myocardial Infarction; Inflammation Factor

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether systemic or local (culprit artery) plasma alpha-defensin 1-3 (DEFA1-3) levels are associated with stable coronary artery disease (CAD) and acute ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI). **Methods** Systemic or local blood samples were obtained from 122 consecutive male subjects including no CAD ( $n = 31$ ) controls, stable CAD ( $n = 44$ ) and STEMI ( $n = 47$ ). Plasma DEFA1-3 levels were measured by ready-to-use solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the sandwich principle. **Results** Systemic DEFA1-3 in STEMI were increased compared with no CAD ( $P < 0.05$ ) and stable CAD ( $P < 0.05$ ), and systemic DEFA1-3 in stable CAD were higher than in no CAD ( $P < 0.05$ ). However, local and systemic levels of DEFA1-3 did not differ ( $P > 0.05$ ). Receiver operating characteristic (ROC) analysis revealed that the best cutoff value for systemic DEFA1-3 levels discriminating STEMI from no CAD and stable CAD was  $136.3 \mu\text{g/L}$  with a sensitivity of 77.2%, a specificity of 66.7% and an area under the curve (AUC) of 0.717 (95% CI: 0.624 to 0.811,  $P = 0.000$ ). **Conclusion** STEMI was associated with increased DEFA1-3 in systemic circulation. Future studies should be directed to their prognostic values for myocardial infarction.

[收稿日期] 2011-11-10

[基金项目] 北京市自然科学基金(7082030), 北京市优秀人才基金(20081D0300600080), 首都医科大学临床基础合作课题(2007JL42)资助

[作者简介] 赵汉军, 博士, 副主任医师, 研究方向为急性冠状动脉综合征新型生物标志物, E-mail 为 czhaohanjun@yahoo.com。通讯作者颜红兵, 博士, 教授, 从事冠心病临床与基础研究。李文铮, 硕士, 医师, 研究方向为急性冠状动脉综合征生物标志物。

研究表明动脉粥样硬化(As)的发生、发展乃至血栓形成都有炎症机制参与<sup>[1]</sup>。某些炎性标志物的血液水平如C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)可用于冠状动脉粥样硬化性心脏病(CAD)的风险分层。不过,血中炎性标志物的全身水平并不总是与局部循环(如罪犯血管)水平相一致。例如,急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)时局部循环(斑块破裂部位)类淀粉样蛋白水平高于全身,而CRP水平则降低<sup>[2]</sup>。这些发现加深了炎性标志物与AMI关系的认识。近期研究显示,人 $\alpha$ 防御素1-3(alpha-defensin 1-3/DEFA1-3;别名人中性粒细胞肽1-3, human neutrophil peptide 1-3/HNP1-3)参与As的病理生理过程<sup>[3,4]</sup>。DEFA1-3是急性期反应物,属于抗菌肽家族<sup>[3,4]</sup>。已知DEFA1-3参与血管壁的脂质代谢,促进低密度脂蛋白(LDL)和脂蛋白a[Lp(a)]在内皮、细胞外基质的沉积或修饰<sup>[5,6]</sup>。DEFA1-3可损害内皮依赖的血管舒张反应<sup>[7]</sup>,抑制去氧肾上腺素(PE)诱导的动脉收缩和PE介导的血管平滑肌细胞(VSMC)Ca<sup>2+</sup>动员<sup>[8]</sup>。DEFA1-3还有促血栓活性和抑制血管新生的作用<sup>[9,10]</sup>。然而,目前有关CAD尤其是AMI时抗菌肽水平的报道较少。因此,我们对急性ST段抬高型心肌梗死(STEMI)、稳定型CAD和无CAD人群的全身血浆DEFA1-3水平进行了测定,比较了STEMI时全身与局部血浆DEFA1-3水平,同时观察了STEMI急性期血中DEFA1-3的经时性变化。

## 1 对象与方法

### 1.1 病例选择

自2009年7月至12月,在取得知情授权同意后连续入选接受冠状动脉造影的患者,均为男性。入选标准:①无CAD组31例。以胸痛入院但冠状动脉造影(CAG)提示冠状动脉内膜平滑、无狭窄,心脏肌钙蛋白I(cTnI)水平正常。②稳定型CAD组44例。临床表现符合稳定型心绞痛,CAG提示左主干、前降支、回旋支或右冠状动脉至少存在一处直径狭窄 $\geq 50\%$ ,cTnI水平正常。③STEMI组47例。持续胸痛30 min~12 h;心电图至少两个相邻导联ST段抬高超过0.1 mV;急诊CAG示梗死相关动脉TIMI血流0~1级;急诊冠状动脉介入治疗(PCI)时采用抽吸导管进行血栓抽吸。排除标准:女性、瓣膜性心脏病、肾功能不全、肝脏疾病、免疫系统疾病或2周内有感染史;STEMI心源性休克、左主干闭塞、溶栓治疗后、急诊冠状动脉旁路移植术(CABG)或急诊PCI术中死亡亦

不予入选。

### 1.2 手术操作与样本采集

所有患者CAG前静脉推注普通肝素(50 U/kg)。全身血样(4 mL)通过导管取自主动脉根部,在取样前充分放血以排空导管内生理盐水或造影剂。STEMI血栓抽吸和介入治疗前将普通肝素追加至100 U/kg。罪犯病变局部血样通过抽吸导管获得:抽吸导管种类为Diver CE(意大利Invatec公司)或ZEEK(日本Zeon公司),首次抽吸物经所附过滤器过滤后收集4 mL血样。血样不足则将前两次或前三次抽吸物过滤血样混合后取4 mL。抽吸导管在使用前以空气排空其中液体以免血样稀释。所有血样均于取样后立即置入肝素抗凝BD Vacutainer真空采血管并在3000 r/min离心15 min(Anke TDL 80-2B),收集血浆保存于-70℃。

### 1.3 样本测定

血浆DEFA1-3和高敏C反应蛋白(high-sensitive CRP, hs-CRP)水平于样本入选终止后采用夹心酶联免疫吸附法(ELISA)统一测定。DEFA1-3 ELISA试剂盒购自荷兰HyCult Biotechnology公司(HK317),hs-CRP ELISA试剂盒购自德国RECI公司(48040)。均按照产品说明书进行测定,用Thermo Multiskan-MK3酶标仪(美国)在450 nm波长测定吸光度。

### 1.4 统计学分析

以Kolmogorov-Smirnov检验判断数据分布,以Levene's检验判断方差齐性。两组的参数检验以 $\bar{x} \pm s$ 表示并行 $t$ 检验或配对 $t$ 检验,三组以上数据间比较进行重复或非重复ANOVA检验,组间比较进行LSD检验。非参数检验以中位数和四分位数(IQR)表示,两组间比较采用Mann-Whitney U检验或Wilcoxon  $t$ 检验,三组以上数据比较采用Kruskal Wallis  $H$ 检验及组间两两比较进行Mann-Whitney  $U$ 检验和Bonferroni correction检验。率的比较采用 $\chi^2$ 检验和Fisher's检验。两组连续变量间的相关性采用相关分析或Spearman's相关分析。 $r_s$ 表示两组非正态分布数据相关系数, $r$ 表示两组正态分布数据的相关系数或非正态分布数据与正态分布数据经对数转换后的相关系数。所有检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者特征

稳定型CAD组既往心肌梗死比例高于无CAD

组和 STEMI 组 ( $P < 0.05$ )。STEMI 组糖尿病比例高于稳定型 CAD 组 ( $P < 0.05$ ),而三组间空腹血糖、空腹血脂[包括甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、LDL 和高密度脂蛋白(HDL)]和空腹 Lp(a)水平差异无显著性(均  $P > 0.05$ )。STEMI 组术前白细胞(WBC)计数和分类计数均高于无 CAD 组和稳定型 CAD 组(均  $P < 0.05$ ;表 1)。

表 1. 患者基线资料

Table 1. Demographic characters of the subjects

基线资料	无 CAD 组( $n = 31$ )	稳定型 CAD 组( $n = 44$ )	STEMI 组( $n = 47$ )	$P$ 值
年龄(岁)	52.5 ± 11.7	56.4 ± 11.2	56.5 ± 9.6	0.206
既往心肌梗死(例)	0(0%)	7(15.9%) <sup>a</sup>	1(2.1%) <sup>b</sup>	0.007
既往脑梗死(例)	0(0%)	5(11.4%)	5(10.6%)	0.155
高血压(例)	13(41.9%)	20(45.5%)	26(55.3%)	0.456
高脂血症(例)	7(22.6%)	4(9.1%)	4(8.5%)	0.130
糖尿病(例)	4(12.9%)	4(9.1%)	13(27.7%) <sup>b</sup>	0.049
吸烟(例)	19(61.3%)	25(56.8%)	35(74.5%)	0.190
嗜酒史(例)	8(25.8%)	7(15.9%)	10(21.3%)	0.571
家族史(例)	0(0%)	3(6.8%)	5(10.6%)	0.178
阿司匹林(例)	31(100.0%)	44(100.0%)	47(100.0%)	1.00
氯吡格雷(例)	31(100.0%)	44(100.0%)	47(100.0%)	1.00
收缩压(mmHg)	129.1 ± 15.4	131.6 ± 13.7	126.4 ± 19.5	0.319
舒张压(mmHg)	78.0 ± 10.9	81.5 ± 11.8	80.8 ± 15.0	0.491
心率(次/分钟)	71.4 ± 9.4	70.9 ± 6.0	74.6 ± 12.4	0.151
空腹血糖 (mmol/L)	5.54 ± 0.86	5.71 ± 1.50	6.06 ± 1.40	0.202
TG (mmol/L)	2.49 ± 2.41	2.19 ± 1.89	1.90 ± 0.84	0.345
TC (mmol/L)	4.49 ± 0.92	4.71 ± 1.55	4.57 ± 0.96	0.732
LDL (mmol/L)	2.74 ± 0.79	2.82 ± 0.91	2.86 ± 0.73	0.801
HDL (mmol/L)	0.98 ± 0.22	1.08 ± 0.26	1.07 ± 0.27	0.204
Lp(a) (mg/dL)	19.0(5.8,41.5)	11.0(5.0,40.5)	20.0(9.0,41.5)	0.546
白细胞 (×10 <sup>9</sup> /L)	7.33 ± 2.78	7.27 ± 2.08	10.45 ± 3.42 <sup>ab</sup>	0.000
中性粒细胞 (×10 <sup>9</sup> /L)	4.72 ± 2.51	4.67 ± 1.68	8.10 ± 3.58 <sup>ab</sup>	0.000
淋巴细胞 (×10 <sup>9</sup> /L)	2.01 ± 0.67	1.96 ± 0.64	1.71 ± 1.04	0.421
单核细胞 (×10 <sup>9</sup> /L)	0.42 ± 0.17	0.47 ± 0.22	0.48 ± 0.28	0.544

a 为  $P < 0.05$ ,与无 CAD 组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与稳定型 CAD 组。

2.2 全身血浆人 DEFA1-3 水平

无 CAD 组、稳定型 CAD 组和 STEMI 组三组间全身血浆 DEFA1-3 水平差异有显著性( $P = 0.000$ )。STEMI 组 DEFA1-3 水平高于其他两组( $P < 0.01$ )。此外,稳定型 CAD 组 DEFA1-3 水平高于无 CAD 组( $P = 0.004$ ;表 2)。

表 2. 全身血浆 DEFA1-3 水平

Table 2. Systemic levels of plasma alpha-defensin 1-3

分 组	$n$	DEFA1-3(μg/L)
无 CAD 组	31	110.08(88.55,135.94)
稳定型 CAD 组	44	133.26(125.26,144.75) <sup>a</sup>
STEMI 组	47	151.52(132.06,182.44) <sup>bc</sup>

a 为  $P < 0.05$ ,b 为  $P < 0.01$ ,与无 CAD 组比较;c 为  $P < 0.01$ ,与稳定型 CAD 组比较。

2.3 STEMI 患者局部与全身血浆人 DEFA1-3 和 hs-CRP 水平

STEMI 组局部(罪犯血管)与全身(主动脉根部)血浆 DEFA1-3 和 hs-CRP 水平差异均无显著性( $P > 0.05$ ;表 3)。

2.4 相关分析

STEMI 组全身(主动脉根部)或局部(罪犯血管)血浆 DEFA1-3 与 hs-CRP 之间不存在相关性(均  $P > 0.05$ ),DEFA1-3 或 hs-CRP(全身或局部)与外周血白细胞计数或分类计数之间也不存在相关性(均  $P > 0.05$ ;表 4)。

2.5 受试者操作特征曲线分析

对全身(主动脉根部)血浆 DEFA1-3 水平的 STEMI 诊断价值进行了分析,DEFA1-3 诊断 STEMI

的最佳诊断分界点为 136.3  $\mu\text{g/L}$ ,其敏感度和特异度分别为 77.2% 和 66.7%,受试者操作特征曲线(ROC)曲线下面积(AUC)为 0.717(95% CI:0.624 ~0.811,  $P=0.000$ )。因此,全身血浆 DEFA1-3 对 STEMI 的诊断准确性为中等。

表 3. 急性 STEMI 患者局部与全身血浆 DEFA1-3 和 hs-CRP 水平

Table 3. Systemic and local levels of DEFA1-3 and hs-CRP in the acute STEMI group

指 标	局部(罪犯血管)	全身(主动脉根部)	<i>P</i> 值
DEFA1-3( $\mu\text{g/L}$ )	151.52 (128.62,173.66)	151.52(132.06,182.44)	0.775
hs-CRP( $\text{mg/L}$ )	1.91(1.05,3.39)	2.06(0.88,3.51)	0.620

表 4. 急性 STEMI 患者全身或局部血浆 DEFA1-3 或 hs-CRP、白细胞计数或分类计数间的相关性

Table 4. Correlations among systemic or local plasma DEFA1-3, hs-CRP levels and their associations with white blood cells or subset counts in the acute STEMI group

		DEFA1-3	hs-CRP	白细胞	中性粒细胞	淋巴细胞	单核细胞
全身	DEFA1-3	—	$r_s=0.207$	$r=0.027$	$r=0.074$	$r=0.013$	$r=0.036$
			$P=0.163$	$P=0.856$	$P=0.621$	$P=0.929$	$P=0.812$
	hs-CRP	$r_s=0.207$	—	$r=0.116$	$r=0.156$	$r=0.015$	$r=0.164$
		$P=0.163$		$P=0.438$	$P=0.296$	$P=0.919$	$P=0.272$
局部	DEFA1-3	—	$r_s=0.035$	$r=0.069$	$r=0.078$	$r=0.023$	$r=0.104$
			$P=0.817$	$P=0.644$	$P=0.599$	$P=0.876$	$P=0.487$
	hs-CRP	$r_s=0.035$	—	$r=0.138$	$r=0.153$	$r=0.019$	$r=0.174$
		$P=0.817$		$P=0.356$	$P=0.306$	$P=0.899$	$P=0.241$

3 讨 论

本研究发现 STEMI 人群全身血浆 DEFA1-3 水平>稳定型 CAD>无 CAD 人群,这提示 CAD 患者血浆基础 DEFA1-3 水平可能呈持续升高状态并在心肌梗死急性期进一步升高。我们前期工作发现稳定型 CAD 患者外周血白细胞 DEFA1-3 mRNA 水平高于无 CAD 患者<sup>[11]</sup>,与本研究蛋白水平检测结果一致。由于全身 DEFA1-3 与白细胞计数或分类计数之间不存在相关性,我们认为 STEMI 时 DEFA1-3 合成或释放增强。

近期 DEFA1-3 与 CAD 的关系受到关注。研究者认为 DEFA1-3 是桥接炎症和 As 的关键分子,并可能成为治疗 CAD 的新靶标<sup>[3,12,13]</sup>。然而,目前尚少有血液循环中 DEFA1-3 水平与 CAD 关系的报道。研究显示血管壁 DEFA1-3 蛋白的蓄积分布在内皮细胞、血管平滑肌细胞和细胞外基质,这种蓄积可能与弥散作用有关<sup>[3-6,11]</sup>。因此,血中 DEFA1-3 水平持续升高可能是其在血管壁过量沉积的原因之一。

目前观点倾向于 DEFA1-3 有致 As 作用。DEFA1-3 可使血管内皮功能受损,促进低密度脂蛋白(LDL)或 Lp(a)在血管壁过量沉积或接受有害修饰<sup>[3-7,11]</sup>。有报道表明皮肤 DEFA1-3 水平是 CAD 可能性和严重性的独立预测因素<sup>[13]</sup>。因此,我们的结果为 DEFA1-3 与 CAD 的关系提供了新的证据。此外,有研究发现 DEFA1-3 可以预测 1 型糖尿病患者 CAD 的发病率和死亡率<sup>[14]</sup>。不过,DEFA1-3 对 CAD 尤其是急性心肌梗死患者风险分层和预后评估的价值还不清楚,值得进一步研究。由于统计分析显示 DEFA1-3 对 STEMI 的诊断准确性中等,今后研究的重点应该转向其对急性冠状动脉综合征风险分层和预后评估的价值。

本研究存在一些局限性。首先,研究中未入选非 ST 段抬高型急性冠状动脉综合征(NSTEACS)患者。本研究设计的主要目的之一是评估罪犯血管局部与全身血浆 DEFA1-3 水平的差异,而 NSTEACS 主要是由于罪犯血管部分或间断阻塞所致。因此,我们推测其局部与全身血浆 DEFA1-3 水平的差异难于维持和检测到。其次,由于担心性别差异对

DEFA1-3 水平的影响,女性患者也未予入选。今后也应对这两组人群加以研究。

#### [参考文献]

- [1] Libby P, Okamoto Y, Rocha VZ, et al. Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice[J]. *Circ J*, 2010, 74(2): 213-220.
- [2] Maier W, Altwegg LA, Corti R, et al. Inflammatory markers at the site of ruptured plaque in acute myocardial infarction: locally increased interleukin-6 and serum amyloid A but decreased C-reactive protein[J]. *Circulation*, 2005, 111(11): 1 355-361.
- [3] Kougias P, Chai H, Lin PH, et al. Defensins and cathelicidins: neutrophil peptides with roles in inflammation, hyperlipidemia and atherosclerosis[J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(1): 3-10.
- [4] Li Y. The role of antimicrobial peptides in cardiovascular physiology and disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 390(3): 363-367.
- [5] Bdeir K, Cane W, Canziani G, et al. Defensin promotes the binding of lipoprotein (a) to vascular matrix[J]. *Blood*, 1999, 94(6): 2 007-019.
- [6] He C, Huang R, Du F, et al. LDL oxidation by THP-1 monocytes: implication of HNP-1, Sg III and DMT-1[J]. *Clin Chim Acta*, 2009, 402(1-2): 102-106.
- [7] Kougias P, Chai H, Lin PH, et al. Neutrophil antimicrobial peptide alpha-defensin causes endothelial dysfunction in porcine coronary arteries[J]. *J Vasc Surg*, 2006, 43(2): 357-363.
- [8] Nassar T, Akkawi S, Bar-Shavit R, et al. Human alpha-defensin regulates smooth muscle cell contraction: a role for low-density lipoprotein receptor-related protein/alpha 2-macroglobulin receptor[J]. *Blood*, 2002, 100(12): 4 026-032.
- [9] Bokarewa M, Tarkowski A. Human alpha -defensins neutralize fibrinolytic activity exerted by staphylokinase[J]. *Thromb Haemost*, 2004, 91(5): 991-999.
- [10] Chavakis T, Cines DB, Rhee JS, et al. Regulation of neovascularization by human neutrophil peptides (alpha-defensins): a link between inflammation and angiogenesis[J]. *FASEB J*, 2004, 18(11): 1 306-308.
- [11] 赵汉军,山下静也,永井义幸,等. 冠状动脉粥样硬化患者外周血单个核细胞抗菌肽  $\alpha$  防御素和组织蛋白酶抑制素基因表达的变化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18: 223-226.
- [12] Quinn K, Henriques M, Parker T, et al. Human neutrophil peptides: a novel potential mediator of inflammatory cardiovascular diseases[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295(5): H1 817-824.
- [13] Nassar H, Lavi E, Akkawi S, et al. alpha-defensin: link between inflammation and atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2007, 194(2): 452-457.
- [14] Joseph G, Tarnow L, Astrup AS, et al. Plasma alpha-defensin is associated with cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(4): 1 470-475.

(此文编辑 许雪梅)