

活化 T 细胞核因子 c1 检测联合血管内超声 在冠心病风险评价中的作用

徐良洁, 王中群, 梁 仪, 周翠翠, 樊廷攀, 严金川

(江苏大学附属医院心内科, 江苏省镇江市 2120001)

[关键词] 活化 T 细胞核因子 c1; 血管内超声; 冠心病; 不稳定性斑块

[摘要] 目的 以血管内超声(IVUS)分析为参照,探讨活化 T 细胞核因子 c1(NFATc1)对不稳定性斑块的预测意义。方法 183 例冠心病患者根据 IVUS 结果分为不稳定性斑块组(98 例)和稳定性斑块组(85 例),另选 46 例冠状动脉造影结果阴性患者为对照组。流式细胞术检测淋巴细胞内 NFATc1 表达水平,通过受试者工作曲线(ROC)分析其对不稳定性斑块的诊断意义。结果 冠心病患者 NFATc1 水平明显高于对照组,其中不稳定性斑块组 NFATc1 水平高于稳定性斑块组,NFATc1 受试者工作曲线下面积为 0.796, $P=0.01$,最佳界值平均荧光强度为 17.5。结论 NFATc1 是不稳定性斑块的活性指标,能够评价冠心病风险,从而进一步预测急性冠状动脉事件的发生。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

Research on the Significance of Nuclear Factor of Activated T Cells c1 with Intravascular Ultrasound in Evaluating the Risk of Coronary Heart Disease

XU Liang-Jie, WANG Zhong-Qun, LIANG Yi, ZHOU Cui-Cui, FAN Tin-Pan, and YAN Jin-Chuan

(Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

[KEY WORDS] Nuclear Factor of Activated T Cells c1; Intravascular Ultrasound; Coronary Heart Disease; Unstable Plaques

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the significance of nuclear factor of activated T cells c1 (NFATc1) in diagnosing unstable plaques of coronary arteries referred to intravascular ultrasound (IVUS). **Methods** 183 patients with coronary heart disease (CHD) were divided into two groups of SA (with stable angina, 85 cases) and UA (with unstable angina, 98 cases) according to IVUS, another 46 patients without CHD confirmed by coronary angiography were taken as the controls. The expression of NFATc1 was measured by flow cytometry, then judged by creating the receiver operating characteristic curves (ROC). **Results** The expression of NFATc1 was significantly increased in patients with CHD, and the expression of NFATc1 in UA group was higher than that in SA group. Area under the ROC of NFATc1 was 0.796, $P=0.01$, the optimal operating point was 17.5. **Conclusion** Detection of NFATc1 would be useful for diagnosing unstable plaques of coronary arteries, and be better for evaluating the risk of CHD and predicting acute coronary events.

冠心病目前已经成为人类健康的“第一杀手”^[1],不稳定性斑块破裂是冠心病患者预后不良的主要因素,早期识别并干预冠心病的发生是预防急性心血管事件的重要方法。我们在前期研究中已证明,淋巴细胞中活化 T 细胞核因子 c1 (nuclear

factor of activated T cells c1, NFATc1) 的表达与动脉粥样硬化的发生密切相关^[2-6]。血管内超声 (intravascular ultrasound, IVUS) 能够实时显现血管横截面图像,它能够显示斑块的形态和大小、组织成分及形态,从而评价冠状动脉斑块的稳定性。本研究以

[收稿日期] 2016-08-10

[修回日期] 2016-10-10

[基金项目] 镇江市社会发展基金项目(SH2014083);镇江市卫生科技重点项目(SH2015023);江苏大学临床医学专项基金项目(JDLCZX011)

[作者简介] 徐良洁,硕士研究生,主治医师,研究方向为心血管内科,E-mail 为 dxuliangjie@163.com。王中群,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向为心血管内科。通讯作者严金川,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为心血管内科,E-mail 为 yanjinchuan@hotmail.com。

对冠心病进行风险评估为出发点,以 IVUS 为诊断不稳定性斑块的标准,探讨早期预测不稳定性斑块的血清标志 NFATc1,最终提高冠心病的救治能力。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 1 月至 2016 年 6 月在心内科经冠状动脉造影(coronary angiography, CAG)确诊为冠心病并行 IVUS 检查的住院患者 183 例,根据 IVUS 结果分为不稳定性斑块组(98 例)和稳定性斑块组(85 例)。以因胸部不适或不典型胸痛而接受 CAG 检查结果为阴性,且排除其他器质性心脏病者为对照组(46 例)。除外瓣膜性心脏病、心肌病、原发性高血压、糖尿病、肿瘤、肌肉疾病、肝肾功能不全及感染性疾病患者。所有患者术前均采用阿司匹林 0.3 g 嚼服,波立维 300 mg 口服,明确冠心病后给予冠心病规范化二级预防治疗。

1.2 NFATc1 的检测

所有受试者入院后即刻抽取静脉血 4 mL,取淋巴细胞,将收获细胞悬于 PBS 中,PBS 洗 2 次后加入 500 μ L 破膜剂,4 $^{\circ}$ C 下孵育 30 min,破膜缓冲液洗 2 次,加 NFATc1 抗体 5 μ L,4 $^{\circ}$ C 下孵育 1.5 h,破膜缓冲液洗 2 次,加 FITC 标记二抗 1 μ L,4 $^{\circ}$ C 下孵育 1.5 h,洗涤后将细胞重悬于 300 μ L PBS 中,上流式细胞仪检测。计数 5×10^4 个细胞。用 System II Version 3.0 软件进行分析。

1.3 IVUS 检查

CAG 检查结束后,符合条件的患者立即行 IVUS 检查。IVUS 结果由两位不了解患者临床情况的 IVUS 专业人员进行定性、定量分析^[7-8]。定性分析:根据斑块的声学特点分为钙化斑块、纤维斑块、软斑块及混合斑块,钙化斑块又分为表浅点状钙化及 II 度以上的钙化。定量分析:测量血管外弹力膜面积(external elastic membrane area, EEMA)、管腔面积(lumen area, LA)、斑块面积(plaque area, PA)、斑块最厚处直径、对侧斑块最薄处直径,计算病变血管的面积狭窄率=PA/EEMA \times 100%,偏心指数(eccentricity index, EI)=斑块的最大径/最小径,重构指数(reconstruction index, RI)=斑块部位的切面最大 EEMA/附近参考部位的切面 EEMA。不稳定性斑块的判别条件:①斑块内低回声区(脂核) $>1 \text{ mm}^2$;②脂核/斑块比率 $>20\%$;③大脂质池上有薄纤维帽且纤维帽厚度 $<0.7 \text{ mm}$;④偏心分布的低回声区脂质斑块;⑤切面有血小板聚集所导致的血栓样回声;⑥斑块裂隙、破裂或溃疡。次要条件:表浅钙化结

节、斑块内出血、正性重构。稳定性斑块为钙化斑块、纤维斑块及混合性斑块。

1.4 统计学分析

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,受试者工作曲线的特异性、敏感性均以 IVUS 结果为“金标准”,诊断符合率=指标阳性或增高例数/不稳定性斑块总例数(IVUS) $\times 100\%$ 。多组间比较采用 ANOVA 分析,两组间比较采用非配对 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基线资料

183 例冠心病患者根据 IVUS 结果分为不稳定性斑块组(98 例,图 1)和稳定性斑块组(85 例),其中不稳定性斑块患者占 53.6%(98/183),稳定型斑块患者占 42.2%(85/183)。两组患者在性别、年龄及吸烟、高血压、高胆固醇血症、糖尿病等冠心病危险因素方面比较无统计学意义(表 1)。

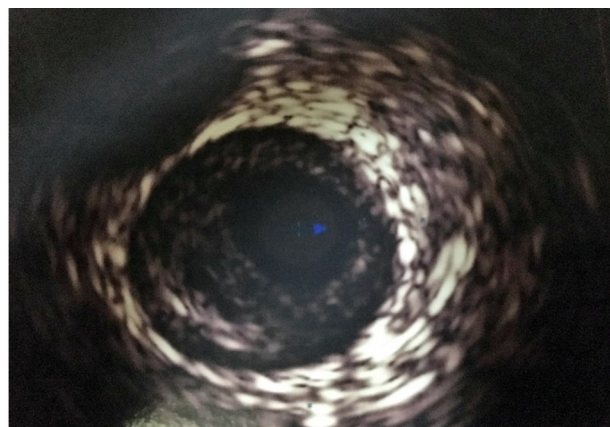


图 1. 不稳定性斑块的 IVUS 分析图

Figure 1. The IVUS of unstable plaques of coronary arteries

2.2 NFATc1 对不稳定性斑块诊断与 IVUS 诊断的符合率

以 IVUS 诊断为标准,将 NFATc1 ≥ 17.5 定为诊断界值,分析显示,NFATc1 \geq 诊断界值对不稳定性斑块诊断符合率为 66.4%。

2.3 NFATc1 的表达水平

冠心病患者 NFATc1 水平明显高于对照组,其中不稳定性斑块组 NFATc1 水平高于稳定性斑块组(图 2)。对所有患者 NFATc1 绘制受试者工作曲线(图 3),曲线下面积为 0.796, $P = 0.01$,最佳界值平均荧光强度为 17.5。

表 1. 两组临床资料比较

Table 1. Baseline characteristics of the patients

项目	不稳定性斑块组 (n=98)	稳定性斑块组 (n=85)	对照组 (n=46)
男/女 (例)	59/39	47/38	18/18
年龄 (岁)	58.4±8.57	61.7±8.72	60.9±9.21
体质指数 (kg/m ²)	25.4±1.9	25.1±2.6	24.6±3.0
高血压 (例)	53	42	19
高胆固醇血症 (例)	49	41	20
吸烟 (例)	43	38	17
糖尿病 (例)	17	15	12

3 讨 论

相当一部分冠心病患者在通常无临床症状,甚至在急性心血管事件发生前仍无明显相关症状,不稳定性斑块的破裂是引起急性心血管事件的主要原因,冠状动脉 IVUS 分析是判断斑块性质的“金标准”,但有创,并且昂贵,限制了其在临床上的广泛应用。因此,无创且简单易行的检测方法来明确斑块的性质^[9-10],及早采取干预措施,在冠心病的预防和诊疗中至关重要。

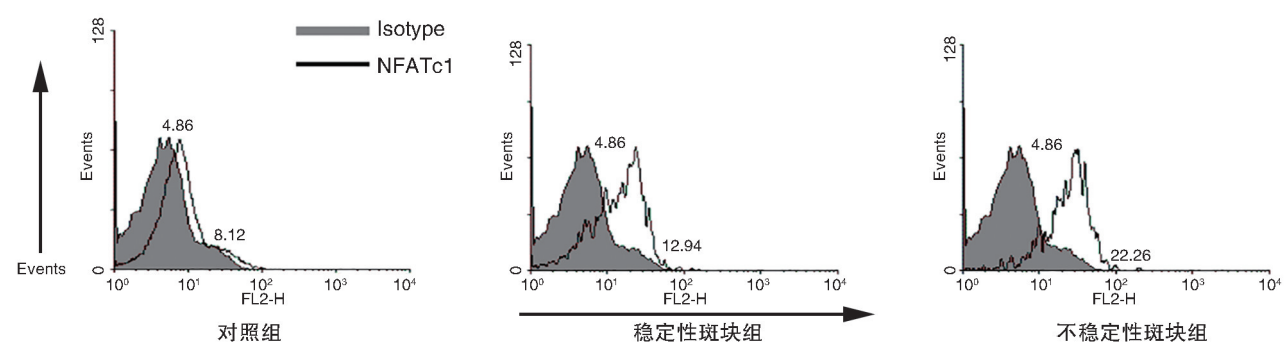


图 2. 各组患者 NFATc1 的表达水平
Figure 2. The expression of NFATc1 of the patients

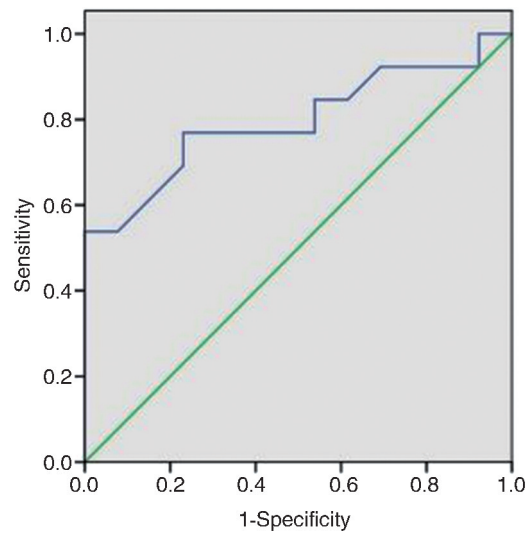


图 3. NFATc1 对不稳定性斑块的受试者工作曲线图
Figure 3. ROC curves of NFATc1 of unstable plaques of coronary arteries

NFATc1 最初是因其在免疫激活中起重要作用而得名,近年来发现 NFATc1 参与调控心脏瓣膜形成、血管发育、骨骼肌生长;NFATc1 也被揭示参与

调控动脉粥样斑块形成,并与血管成形术后的再狭窄密切相关^[11-12];进一步研究发现抑制 NFATc1 活性能明显抑制平滑肌细胞增殖,从而阻遏粥样斑块的形成^[13]。最近来自美国的一个研究小组发现 NFATc1 通过调控人主动脉血管平滑肌细胞的细胞周期蛋白 Cyclin A 及 Cyclin D1 表达,从而促发血管平滑肌细胞增殖,并诱导平滑肌细胞向内膜面迁移导致血管内膜过度增生,研究认为 NFATc1 可能是血管成形术后再狭窄的潜在治疗靶点^[14]。在 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化斑块模型中发现,颈动脉粥样硬化斑块部位 NFATc1 表达显著增加,因此,我们推测 NFATc1 是不稳定性斑块的活动性标志物。

本研究中,由于不稳定性斑块激发炎症反应,进而进一步扩增活化的 T 细胞,使胞浆 Ca²⁺ 浓度升高,启动促分裂素原活化蛋白激酶级联反应^[15],使 NFATc1 在核内表达增加,从而导致冠心病患者 NFATc1 水平明显高于对照组,其中不稳定性斑块组 NFATc1 水平高于稳定性斑块组;使用流式细胞术检测患者体内 NFATc1 水平,将平均荧光强度 17.5 定为诊断界值,大于 17.5 则为阳性患者,以

IVUS 诊断为标准, NFATc1 阳性患者对不稳定性斑块诊断符合率为 66.4%, 提示 NFATc1 是导致冠状动脉粥样斑块不稳定的活动性标志物, 进而进一步预测急性冠状动脉事件的发生。对患者的心脏不良事件的随访及扩大样本量的工作仍在进行中。

在临床工作中, 我们可以将 NFATc1 表达阳性的患者考虑为不稳定性斑块具有一定的“活动性”, 对 NFATc1 阳性患者建议进一步行冠状动脉造影及 IVUS 检查, 以求更好地识别不稳定性斑块, 对冠心病患者进行及早、及时的治疗, 降低冠心病的致死率及致残率。

[参考文献]

- [1] Dalal J, Sahoo PK, Singh RK, et al. Role of thrombolysis in reperfusion therapy for management of AMI: Indian scenario[J]. Indian Heart J, 2013, 65 (5): 566-585.
- [2] 徐良洁, 严金川, 王 标, 等. 共刺激分子 OX40-OX40L 相互作用对 ApoE^{-/-}小鼠淋巴细胞活化 T 细胞核因子 C1 表达的影响[J]. 中华心血管病杂志, 2011, 39 (6): 526-530.
- [3] Yan J, Su H, Xu L, et al. OX40-OX40L interaction promotes proliferation and activation of lymphocytes via NFATc1 in ApoE-deficient mice[J]. PLoS One, 2013, 8 (4): e60854.
- [4] Yan JC, Xu LJ, Wang CP, et al. Effects of OX40-OX40L interaction on the nuclear factor of activated T cells c1 in ApoE-deficient mice[J]. Inflammation, 2014, 37 (1): 205-213.
- [5] Yan J, Yin Y, Zhong W, et al. CD137 regulates NFATc1 expression in mouse VSMCs through TRAF6/NF- κ B p65 signaling pathway[J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015: 639780.
- [6] Yin Y, Yan J, Wang Z, et al. Nuclear factor- κ B pathway mediates the effects of CD137 signaling on NFATc1 expression in mice vascular smooth muscle cells[J]. Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi, 2015, 43 (7): 614-618.
- [7] 程文强, 张 运, 张 梅, 等. 冠状动脉不稳定性斑块血管内超声特征的临床研究[J]. 中国超声医学杂志, 2004, 20 (4): 289-291.
- [8] 丁士芳, 张 运, 张 梅, 等. 应用血管内超声技术识别冠状动脉粥样斑块[J]. 中华超声医学杂志, 2005, 14 (5): 325-329.
- [9] 贾 宁, 冯 艳, 王明生, 等. 糖化血红蛋白对老年急性心肌梗死患者接受直接经皮冠状动脉介入治疗远期预后的影响[J]. 临床与病理杂志, 2014, 35 (1): 36-42.
- [10] 王彦军, 朱 琳, 俞天虹, 等. 血浆 suPAPR 水平与冠心病患者冠状动脉斑块稳定性、病变程度及冠心病预测之间的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23 (12): 1 236-240.
- [11] Lin CY, Lin CJ, Chen CH, et al. The secondary heart field is a new site of calcineurin/NFATc1 signaling for semilunar valve development[J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 52 (5): 1 096-102.
- [12] Sieber M, Baumgrass R. Novel inhibitors of the calcineurin/NFATc hub-alternatives to CsA and FK506[J]. Cell Commun Signal, 2009, 7 (1): 25.
- [13] Karpurapu M, Wang D, Singh NK, et al. NFATc1 targets cyclin A in the regulation of vascular smooth muscle cell multiplication during restenosis[J]. J Biol Chem, 2008, 283 (39): 26 577-590.
- [14] Karpurapu M, Wang D, Van Quyen D, et al. Cyclin D1 is a bona fide target gene of NFATc1 and is sufficient in the mediation of injury-induced vascular wall remodeling[J]. J Biol Chem, 2010, 285 (5): 3 510-523.
- [15] 尤晓欣, 裴 建. Toll 样受体信号通路与缺血性中风炎症反应机制的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科杂志, 2014, 41 (2): 138-141.

(此文编辑 文玉珊)