

· 临床研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2017)25-06-0590-04

强化剂量阿托伐他汀对不稳定型心绞痛患者 PCI 围手术期 B7-H3、B7-H4 的影响

吕静¹, 徐戈¹, 黄琛², 雷敏³, 张晶晶⁴, 马冰宁⁵

(1.广西医科大学第一附属医院心血管内科, 2.广西中医药大学第一附属医院中西医结合心血管内科, 广西南宁市 530021; 3.玉林市红十字会医院心血管内科, 广西玉林市 537000; 4.益阳医学高等专科学校附属医院内一科, 湖南省益阳市 413000; 5.永州市中心医院心血管内科, 湖南省永州市 425000)

[关键词] 不稳定型心绞痛; 阿托伐他汀; B7-H3; B7-H4

[摘要] **目的** 探讨强化剂量阿托伐他汀对不稳定型心绞痛患者经皮冠状动脉介入治疗(PCI)围手术期 B7-H3 和 B7-H4 表达的影响。**方法** 将 80 例不稳定型心绞痛患者随机分为常规剂量组(阿托伐他汀 20 mg/d, $n=40$)和强化剂量组(阿托伐他汀 80 mg/d, $n=40$), 分别于 PCI 术前和术后 18~24 h 收集外周静脉血, 采用 ELISA 检测外周血白细胞介素 4(IL-4)、白细胞介素 10(IL-10)、干扰素 γ (IFN- γ)、血清可溶性 B7-H3(sB7-H3)、可溶性 B7-H4(sB7-H4)水平, 用实时荧光定量 PCR 检测外周血单核细胞 B7-H3、B7-H4 mRNA 相对表达量。**结果** 两组患者 PCI 术后 IL-10、sB7-H3、sB7-H4 水平和 B7-H3、B7-H4 的 mRNA 表达水平均较术前升高, 其中强化剂量组升高更显著($P<0.05$)。相反, 两组患者 PCI 术后 IL-4、IFN- γ 水平均降低, 且强化剂量组较常规剂量组下降更明显($P<0.05$)。**结论** 强化剂量阿托伐他汀可能通过促进 B7-H3、B7-H4 表达, 从而降低不稳定型心绞痛患者 PCI 术后免疫炎症反应。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Effect of intensive dose atorvastatin on B7-H3, B7-H4 in patients with unstable angina pectoris undergoing percutaneous coronary intervention

LV Jing¹, XU Ge¹, HUANG Chen², LEI Min³, ZHANG Jing-Jing⁴, MA Bing-Ning⁵

(1. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China; 2. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530021, China; 3. Department of Cardiology, the Red Cross Hospital of Yulin City, Yulin, Guangxi 537000, China; 4. Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Yiyang Medical College, Yiyang, Hunan 413000, China; 5. Department of Cardiology, Central Hospital of Yongzhou, Yongzhou, Hunan 425000, China)

[KEY WORDS] Unstable angina pectoris; Atorvastatin; B7-H3; B7-H4

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of intensive dose atorvastatin therapy on B7-H3, B7-H4 in peripheral blood monocytes of patients with unstable angina pectoris undergoing percutaneous coronary intervention (PCI). **Methods** The patients with unstable angina pectoris were randomly divided into conventional dose group (atorvastatin 20 mg/d, $n=40$) and intensive dose group (atorvastatin 80 mg/d, $n=40$), peripheral blood were collected before and 18 h ~ 24 h after PCI. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect peripheral blood IL-4, IL-10, IFN- γ and sB7-H3, sB7-H4, fluorescence-based quantitative real-time PCR was used to measure B7-H3 and B7-H4 mRNA. **Results** The levels of IL-10, sB7-H3, sB7-H4 and the expression of B7-H3 and B7-H4 mRNA in the two groups after PCI were higher than those before PCI, and the increase of the intensive dose group was more significant than that of the conventional dose group ($P<0.05$). On the contrary, the levels of IL-4 and IFN- γ in the two groups after PCI were decreased, and the decrease of the intensive dose group was more obvious than that of the conventional dose group ($P<0.05$). **Conclusion** Intensive dose atorvastatin may promote the expression of B7-H3 and B7-H4, thereby reducing the immune inflammation in patients with unstable angina pectoris after PCI.

[收稿日期] 2016-09-05

[修回日期] 2016-12-11

[基金项目] 广西科学研究与技术开发计划项目(科技攻关 1355005-4-6)

[作者简介] 吕静, 硕士研究生, 研究方向为心脑血管疾病诊治新方法、新技术, E-mail 为 estellelv@126.com。通讯作者徐戈, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为心脑血管疾病诊治新方法、新技术, E-mail 为 402172241@qq.com。

在动脉粥样硬化发生发展的各个时期,免疫系统和炎症因子都发挥着重要作用^[1-3],已有大量研究证实干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素 4 (interleukin-4, IL-4) 为促进动脉粥样硬化的炎症因子,白细胞介素 10 (interleukin-10, IL-10) 则在动脉粥样硬化中起保护性作用。B7 家族成员是最近研究的热点,有研究显示血清可溶性 B7-H3 (soluble B7-H3, sB7-H3) 在高血压合并颈动脉硬化患者体内表达水平明显升高^[4],且鼠和人的 B7-H3 都有抑制 CD4⁺T 细胞激活和效应因子 IL-4、IFN- γ 的产生的作用^[5],既往研究表明在 B7-H4 基因敲除的小鼠中 IL-4、IFN- γ 表达量增加^[6]。

他汀类药物是广泛应用于临床的有效胆固醇合成抑制剂,除此之外,还有抗炎、改善内皮功能、稳定斑块、抗血栓、抑制内膜增厚等多种降脂以外的作用^[7-10]。循证医学研究证实,强化剂量阿托伐他汀短期使用可改善急性冠状动脉综合征患者炎症反应,减少心血管事件的发生率。目前 B7-H3、B7-H4 在不稳定型心绞痛中的作用罕见报道,他汀对不稳定型心绞痛患者围手术期 B7-H3、B7-H4 的影响亦不清楚。本研究的主要目的是观察强化剂量阿托伐他汀对围手术期不稳定型心绞痛患者 B7-H3、B7-H4 的影响,初步探讨他汀抗动脉粥样硬化的免疫炎症机制,为临床使用大剂量他汀治疗动脉硬化提供新的理论依据。

1 资料和方法

1.1 研究对象

选择 2012 年 10 月至 2014 年 10 月由广西医科大学第一附属医院和广西中医药大学第一附属医院心血管内科收入的确诊为不稳定型心绞痛且择期进行 PCI 术的患者 80 例,其中男性 51 例,女性 29 例,年龄 63.12 ± 7.63 岁。纳入标准:不稳定型心绞痛患者均经冠状动脉造影证实存在冠状动脉狭窄,有 PCI 指征,且心肌酶学标记物肌酸激酶同工酶和肌钙蛋白 I 为阴性。排除标准:①院前用过他汀类药物;②对他汀类药物过敏;③有严重感染或肿瘤;④严重肝病或肾功能不全;⑤急性中风;⑥近期服用抗炎药;⑦合并其他严重的心脑血管疾病;⑧有冠状动脉造影禁忌症;⑨左心室射血分数 $< 30\%$ 。

1.2 治疗方法

常规剂量组患者于 PCI 术前 48 h、术后均口服阿托伐他汀 20 mg/d;强化剂量组患者于术前 48 h 口服阿托伐他汀 80 mg/d,术后口服阿托伐他汀 40

mg/d。所有患者术前均接受抗血小板、ACEI 类或 β 受体阻滞剂等冠心病标准方案治疗,冠状动脉造影均采用标准介入术式。

1.3 血清炎症因子及 sB7-H3、sB7-H4 水平的测定

两组患者分别于 PCI 术前及术后 18 h~24 h 采集外周静脉血 20 mL,1300 r/min 离心 5 min,取血清,置于 -20°C 冰箱保存。采用 ELISA 检测血清 IL-4、IL-10、IFN- γ 水平和 sB7-H3、sB7-H4 水平(试剂盒均购自美国 R&D 公司)。

1.4 荧光实时定量 PCR 测定 B7-H3 和 B7-H4 mRNA 的表达

外周血单个核细胞的分离采用密度梯度离心法。采用 Trizol 法提取细胞总 RNA,测定 260 nm 和 280 nm 处的吸光度比值及其完整性,逆转录合成 cDNA 后,用 ABI7500 型 FQ-PCR 仪进行实时定量 PCR 分析相关基因表达量。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 60 s,共 40 个循环。GAPDH 上游引物为 5'-GCA CCG TCA AGG CTG AGA AC-3',下游引物为 5'-TGG TGA AGA CGC CAG TGG A-3';B7-H3 上游引物为 5'-CTG GCT TTC GTG TGC TGG AG-3',下游引物为 5'-CTT TGC TGT CAG AGT G TT TCA GAG G-3';B7-H4 上游引物为 5'-AGT GAC AGA ATC GGA GAT CAA AAG-3',下游引物为 5'-GTA AGG GCT GAG AGG CAG AAGT-3'。根据 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 B7-H3 和 B7-H4 mRNA 的相对表达量。

1.5 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验;B7-H3、B7-H4 与炎症因子 IL-10、IL-4、IFN- γ 的相关性采用 Pearson 相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床特征比较

常规剂量组与强化剂量组年龄、性别、体质指数等一般资料比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性(表 1)。

2.2 PCI 术前、术后血脂水平比较

常规剂量组与强化剂量组血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 及低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 水平在 PCI 术前、术后无明显改变 ($P > 0.05$; 表 2)。

表 1. 两组患者一般临床特征

Table 1. General clinical features in the two groups

项目	常规剂量组 (n=40)	强化剂量组 (n=40)	P 值
男性[例(%)]	22(55.0)	29(72.5)	0.496
年龄(岁)	61.73±7.05	62.04±7.56	0.681
体质指数(kg/m ²)	24.3±2.6	25.0±2.8	0.351
高血压[例(%)]	22(55.0)	28(70.0)	0.146
糖尿病[例(%)]	16(40.0)	11(27.5)	0.167
高脂血症[例(%)]	23(57.5)	31(77.5)	0.178
吸烟[例(%)]	14(35.0)	12(30.0)	0.468

表 2. 两组 PCI 术前、术后血脂水平比较($\bar{x}\pm s$, mmol/L)Table 2. Comparison of serum lipid levels before and after PCI in the two groups($\bar{x}\pm s$, mmol/L)

项目	常规剂量组		强化剂量组	
	PCI 术前	PCI 术后	PCI 术前	PCI 术后
TC	5.13±0.23	5.09±0.41	5.16±0.35	5.13±0.27
TG	1.84±0.14	1.82±0.22	1.87±0.19	1.79±0.26
HDL	1.31±0.25	1.32±0.29	1.24±0.24	1.31±0.33
LDL	3.19±0.34	3.17±0.36	3.26±0.38	3.21±0.32

2.3 PCI 术前、术后 IL-4、IL-10 和 IFN- γ 水平比较

常规剂量组和强化剂量组 PCI 术前血清 IL-4、IL-10、IFN- γ 水平无统计学差异($P>0.05$)。常规剂量组和强化剂量组 PCI 术后血清 IL-4、IFN- γ 水平较术前降低,其中强化剂量组下降更明显($P<0.05$);血清 IL-10 水平较术前上升,且强化剂量组血清 IL-10 水平升高更显著($P<0.05$;表 3)。

表 3. 两组 PCI 术前、术后 IL-4、IL-10 及 IFN- γ 水平比较($\bar{x}\pm s$, n=40, ng/L)Table 3. Comparison of IL-4, IL-10 and IFN- γ levels before and after PCI in the two groups($\bar{x}\pm s$, n=40, ng/L)

分组		IL-4	IL-10	IFN- γ
常规剂量组	PCI 术前	5.93±0.61	6.11±0.98	4.33±0.22
	PCI 术后	3.58±0.74 ^a	8.39±0.79 ^a	2.91±0.72 ^a
强化剂量组	PCI 术前	5.15±0.93	6.36±0.72	4.55±0.39
	PCI 术后	2.02±0.65 ^{ab}	11.51±0.32 ^{ab}	2.08±0.95 ^{ab}

a 为 $P<0.05$,与本组术前比较;b 为 $P<0.05$,与常规剂量组术后比较。

2.4 PCI 术前、术后外周血 sB7-H3 和 sB7-H4 水平比较

PCI 术前,两组患者 sB7-H3、sB7-H4 水平无明显差异($P>0.05$);PCI 术后,两组患者 sB7-H3、sB7-H4 水平均上升,其中强化剂量组 sB7-H3、sB7-H4 水平升高更显著($P<0.05$);常规剂量组 PCI 术后

sB7-H3、sB7-H4 水平与术前相比升高不明显,差异无统计学意义($P>0.05$;表 4)。

表 4. 两组患者 PCI 术前、术后 sB7-H3 和 sB7-H4 水平比较($\bar{x}\pm s$, n=40, ng/L)Table 4. Comparison of sB7-H3 and sB7-H4 levels before and after PCI in the two groups($\bar{x}\pm s$, n=40, ng/L)

分组		sB7-H3	sB7-H4
常规剂量组	PCI 术前	3294.46±547.92	3373.00±561.72
	PCI 术后	3379.85±578.72	3667.00±543.36
强化剂量组	PCI 术前	3043.00±562.45	3392.00±478.67
	PCI 术后	4426.32±617.71 ^a	5645.49±563.98 ^a

a 为 $P<0.05$,与常规剂量组术后比较。

2.5 PCI 术前、术后 B7-H3 和 B7-H4 mRNA 的表达

PCI 术前,两组 B7-H3、B7-H4 mRNA 的表达无显著差异($P>0.05$)。常规剂量组 PCI 术后 B7-H3、B7-H4 mRNA 的表达较术前无明显变化($P>0.05$);强化剂量组 PCI 术后 B7-H3、B7-H4 mRNA 的表达较术前明显升高($P<0.05$;表 5)。

表 5. 两组患者 PCI 术前、术后 B7-H3 和 B7-H4 mRNA 的表达($\bar{x}\pm s$, n=40)Table 5. Expression of B7-H3 and B7-H4 mRNA before and after PCI in the two groups($\bar{x}\pm s$, n=40)

分组		B7-H3	B7-H3
常规剂量组	PCI 术前	0.977±0.213	0.975±0.161
	PCI 术后	1.000±0.216	1.000±0.179
强化剂量组	PCI 术前	0.800±0.197	0.820±0.315
	PCI 术后	1.490±0.178 ^{ab}	1.520±0.296 ^{ab}

a 为 $P<0.05$,与本组术前比较;b 为 $P<0.05$,与常规剂量组术后比较。

2.6 线性相关分析

Pearson 相关分析显示, B7-H3 与 IL-10 ($r=0.629, P<0.05$) 呈正相关, B7-H3 与 IL-4、IFN- γ 分别呈负相关($r=-0.342, r=-0.417, P<0.05$); B7-H4 与 IL-10 呈正相关($r=0.599, P<0.05$), B7-H4 与 IL-4、IFN- γ 呈负相关($r=-0.391, r=-0.458, P<0.05$)。

3 讨论

冠心病的主要病理基础是动脉粥样硬化,而动脉粥样硬化斑块的形成是慢性炎症过程。冠心病患者体内存在单核细胞的过度激活和各种炎症因子的分泌。B7 家族是近些年来新发现的免疫球蛋白超家族, B7-H3 具有抑制 T 细胞免疫反应,进而下调细胞

因子表达水平的功能。有研究显示 sB7-H3 在高血压合并颈动脉硬化患者体内表达水平升高^[4]。既往研究发现 B7-H4 能通过抑制 T 细胞增殖、细胞因子和细胞周期负性调控 T 细胞的免疫应答,进而起到调节免疫逃逸的作用,而 B7-H3、B7-H4 与动脉粥样硬化关系如何国内外尚未见相关报道。

本研究中,PCI 术后血清 B7-H3、B7-H4 水平明显上升,IL-10 水平上调,两者呈明显的正相关关系,而 IFN- γ 、IL-4 分泌下降,与 B7-H3、B7-H4 呈负相关关系。既往研究发现,IL-10 具有抑制斑块、稳定斑块的作用,血清 IL-10 水平反映了其抗炎效应的高低^[11]。IL-10 能诱导促使 APC 的 B7-H4 表达增多^[12],且在 Liu 等^[13]的研究中 B7-H3 与 IL-10 的表达均上升。提示在动脉粥样硬化中,IL-10 可能通过促进 B7-H3、B7-H4 的表达来发挥其抗炎效应。

IFN- γ 、IL-4 参与体液免疫炎症促进动脉硬化的发展^[14-15]。既往研究发现,鼠和人的 B7-H3 都有抑制炎性细胞激活和效应因子 IL-4、IFN- γ 产生的作用,而在 B7-H4 基因敲除的小鼠中 IL-4、IFN- γ 表达量增加。本研究结果发现,B7-H3、B7-H4 升高,IFN- γ 、IL-4 分泌下降,两者呈负相关关系,与既往研究相似。B7-H3、B7-H4 可能通过抑制炎性因子 IL-4、IFN- γ 的分泌进而起到抗炎反应的作用。B7-H3、B7-H4 在动脉粥样硬化炎症反应过程中起到中枢调节作用,为动脉粥样硬化炎症反应中的保护性因子。

目前,他汀已被广泛应用于冠状动脉粥样硬化的预防和治疗。大量临床研究表明,在 PCI 围手术期使用强化剂量的阿托伐他汀,可以有效地减少术后炎症反应^[16]。本研究结果发现,PCI 术前 18 h~24 h 给予 80 mg 强化剂量的阿托伐他汀,可以显著促进血清 IL-10 分泌,同时单核细胞上 B7-H3、B7-H4 mRNA 的表达也显著升高,而血清 IL-4 和 IFN- γ 的分泌明显降低;相比之下,常规剂量组 IL-10、B7-H3 mRNA、B7-H4 mRNA 表达升高不明显,而血清 IL-4、IFN- γ 水平下降不明显。以上结果表明,强化剂量阿托伐他汀减少术后免疫炎症反应,可能是通过促进 IL-10 表达进而促进单核细胞 B7-H3、B7-H4 表达,降低血清 IL-4、IFN- γ 分泌起效。表明强化剂量阿托伐他汀降低 PCI 围手术期炎症的机制与促进单核细胞 B7-H3、B7-H4 的表达,降低 PCI 术后炎症反应有关。

综上所述,强化剂量阿托伐他汀治疗通过促进 IL-10 表达进而促进外周血单核细胞 B7-H3、B7-H4 表达,减少外周血中 IL-4、IFN- γ 分泌,达到抗炎作用,且独立于降脂作用之外,可使不稳定型心绞痛

患者获益更为显著。

[参考文献]

- [1] Libby P, Hansson GK. Inflammation and immunity in diseases of the arterial tree: players and layers[J]. *Circ Res*, 2015, 116(2): 307-311.
- [2] Conti P, Shaik-Dasthagirisae Y. Atherosclerosis: a chronic inflammatory disease mediated by mast cells[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2015, 40(3): 380-386.
- [3] Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis[J]. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 165-197.
- [4] 张小民,宋月霞,刘春荣,等.免疫因子 sB7-H3 与高血压合并颈动脉粥样硬化[J]. *中华高血压杂志*, 2007, 15(9): 756-758.
- [5] 王玲,刘丽宏,单保恩. B7-H3—肿瘤免疫治疗的新热点[J]. *免疫学杂志*, 2012, 28(8): 726-729.
- [6] Suh WK, Wang S, Duncan GS, et al. Generation and characterization of B7-H4/B7S1/B7x-deficient mice[J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(17): 6 403-411.
- [7] Zhao X, Liu Y, Zhong Y, et al. Atorvastatin improves inflammatory response in atherosclerosis by upregulating the expression of GARP[J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 841472.
- [8] Barbarash O, Gruzdeva O, Uchasova E, et al. Dose-dependent effects of atorvastatin on myocardial infarction[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 3 361-368.
- [9] Zhao XJ, Liu XL, He GX, et al. Effects of single-dose atorvastatin on interleukin-6, interferon gamma, and myocardial no-reflow in a rabbit model of acute myocardial infarction and reperfusion[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2014, 47(3): 245-251.
- [10] Vondrakova D, Ostadal P, Kruger A. Immediate effect of intensive dose atorvastatin therapy on lipid parameters in patients with acute coronary syndrome[J]. *Lipids Health Dis*, 2010, 9: 71.
- [11] Han X, Boisvert WA. Interleukin-10 protects against atherosclerosis by modulating multiple atherogenic macrophage function[J]. *Thromb Haemost*, 2015, 113(3): 505-512.
- [12] Kryczek I, Wei S, Zou L, et al. Cutting edge: induction of B7-H4 on APCs through IL-10: novel suppressive mode for regulatory T cells[J]. *J Immunol*, 2006, 177(1): 40-44.
- [13] Liu C, Liu J, Wang J, et al. B7-H3 expression in ductal and lobular breast cancer and its association with IL-10[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(1): 134-138.
- [14] Moss JW, Ramji DP. Interferon- γ : Promising therapeutic target in atherosclerosis[J]. *World J Exp Med*, 2015, 5(3): 154-159.
- [15] Sasaguri T, Arima N, Tanimoto A, et al. A role for interleukin 4 in production of matrix metalloproteinase 1 by human aortic smooth muscle cells[J]. *Atherosclerosis*, 1998, 138(2): 247-253.
- [16] Sun F, Yin Z, Shi Q, et al. Effect of short-term high-dose atorvastatin on systemic inflammatory response and myocardial ischemic injury in patients with unstable angina pectoris undergoing percutaneous coronary intervention [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127(21): 3 732-737.

(此文编辑 文玉珊)