

## 血清中肝素结合表皮生长因子、磷酸二酯酶 4D 的水平与急性冠状动脉综合征的关系

韩鹏黎<sup>1</sup>, 程晓丹<sup>2</sup>, 刘建华<sup>2</sup>, 刘新叶<sup>2</sup>, 池豪<sup>2</sup>, 曹巍<sup>1</sup>, 杨东伟<sup>2</sup>

(郑州大学附属郑州中心医院 1.转化医学中心, 2.心血管内科四病区, 河南省郑州市 450007)

[关键词] 肝素结合表皮生长因子; 磷酸二酯酶 4D; 急性冠状动脉综合征

[摘要] **目的** 探讨血清中肝素结合表皮生长因子(HB-EGF)、磷酸二酯酶 4D(PDE4D)的水平与急性冠状动脉综合征的关系。**方法** 采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法检测 50 例急性冠状动脉综合征患者(ACS 组)及 100 例正常对照者(对照组)的 HB-EGF 蛋白及 PDE4D 蛋白的血清水平,运用 Logistic 回归分析评估它们与 ACS 的关系。**结果** 校正高血压、吸烟、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、体质指数(BMI)等单因素分析有意义的因素后,发现 HB-EGF 蛋白水平与是否罹患 ACS 有关[OR = 4.114, 95%CI 为(1.782, 9.498),  $P=0.001$ ]; PDE4D 蛋白水平也与是否罹患 ACS 有关[OR = 5.049, 95%CI 为(1.764, 14.448),  $P=0.003$ ]。**结论** 血清中 HB-EGF、PDE4D 水平与是否罹患急性冠状动脉综合征有关, HB-EGF、PDE4D 水平高者患急性冠状动脉综合征的风险高。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### The relationship between the levels of HB-EGF, PDE4D in serum and acute coronary syndrome

HAN Peng-Li<sup>1</sup>, CHENG Xiao-Dan<sup>2</sup>, LIU Jian-Hua<sup>2</sup>, LIU Xin-Ye<sup>2</sup>, CHI Hao<sup>2</sup>, CAO Wei<sup>1</sup>, YANG Dong-Wei<sup>2</sup>

(1. Translational Medicine Center, 2.4<sup>#</sup> Department of Cardiology, Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450007, China)

[KEY WORDS] Heparin binding epidermal growth factor; Phosphodiesterase 4D; Acute coronary syndrome

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the relationship between the levels of heparin binding epidermal growth factor(HB-EGF), phosphodiesterase 4D (PDE4D) in serum and acute coronary syndrome(ACS). **Methods** The protein levels of HB-EGF, PDE4D were measured in serum of 50 patients with ACS (ACS group) and 100 cases normal control (normal control group) by double antibodies sandwich ABC-ELISA method. The relationship between the protein levels and ACS was evaluated by logistic regression analysis. **Results** After correcting for meaningful factors such as high blood pressure, smoking, TG, TC, LDL, HDL and BMI by single factor analysis, it found that the protein level of HB-EGF was associated with whether or not suffering from ACS (OR=4.114, 95%CI was 1.782, 9.498,  $P=0.001$ ). The protein level of PDE4D was associated with whether or not suffering from ACS, too (OR = 5.049, 95%CI was 1.764, 14.448,  $P=0.003$ ). **Conclusion** The protein levels of HB-EGF, PDE4D in serum was associated with whether or not suffering from ACS. Cases with high protein levels of HB-EGF, PDE4D were at high risk of ACS.

急性冠状动脉综合征(acute coronary syndromes, ACS)是冠心病中较严重的类型,易发生心力衰竭以及猝死等严重并发症<sup>[1-2]</sup>。研究表明冠心病患者冠状动脉病变程度越严重,颈动脉粥样硬化越重,脑梗死发生率越高<sup>[3]</sup>。肝素结合表皮生长因子(heparin binding epidermal growth factor, HB-EGF)在多个组织

中表达,尤其在脂肪组织中高表达,具有广泛的生物学活性。国内外研究发现,血清 HB-EGF 在冠心病患者中呈现高水平<sup>[4]</sup>;在 2010 年,刘红旗等<sup>[5]</sup>人研究发现,在动脉粥样硬化斑块组织中,HB-EGF 在平滑肌细胞和巨噬细胞中的表达均显著增高。因此,HB-EGF 可能促进动脉粥样硬化的发生和发展。磷酸二

[收稿日期] 2016-12-05

[修回日期] 2017-09-29

[作者简介] 韩鹏黎,硕士,主管药师,研究方向为药理学, E-mail 为 hanpengli2013@163.com。通讯作者杨东伟,博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向为心血管内科, E-mail 为 yangdongwei@126.com。

酯酶(phosphodiesterase, PDE)是一个多基因大家族,在体内广泛分布,PDE4D 是 PDE 超家族的成员之一,PDE4D 基因位于 5q12,其长度大约 1.5 Mb,至少有 22 个外显子,编码至少 9 个不同的异构体<sup>[6]</sup>。Gretarsdottir 等<sup>[7]</sup>通过对冰岛人群进行研究,认为 PDE4D 基因主要是通过促进动脉粥样硬化的形成而引起缺血性脑卒中的发生。有学者认为,PDE4D 表达增加可引起血管平滑肌增生、移行以及血管受损处局部炎症反应的加剧,从而促进动脉粥样硬化的形成、导致血管粥样斑块的不稳定性增加<sup>[6]</sup>。本实验通过双抗体夹心 ABC-ELISA 法检测 HB-EGF 及 PDE4D 的血清浓度,进一步分析 HB-EGF 及 PDE4D 蛋白水平与 ACS 的关系,希望能为 ACS 从分子水平的防治提供新思路、新途径。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

选取郑州大学附属郑州中心医院 2015 年至 2016 年住院病例,入院诊断考虑 ACS 并通过冠状动脉造影(CAG)确诊病例 50 例,并选取同期经冠状动脉造影排除了冠心病诊断的患者 100 例作为对照组。所有入组病例均排除严重肝肾脑肺疾病、严重瓣膜性心脏病、心肌病、风湿性心脏病、肺源性心脏病、重症感染、甲亢、活动性结核、近 1 个月内应用激素或其他免疫抑制剂、肿瘤、自身免疫疾病、感染性疾病或感染急性期、银屑病、妊娠、近期皮肤及组织损伤等病患。

### 1.2 试剂

抗人 HB-EGF 单克隆抗体试剂盒(96 孔)及抗人 PDE4D 单克隆抗体试剂盒(96 孔)(购自上海酶免生物技术公司)。

### 1.3 ACS 诊断标准

按 2007 年美国心脏病学会(American College of Cardiology, ACC)/美国心脏协会(American Heart Association, AHA) ACS 诊疗指南的诊断标准。

### 1.4 身高、体重测定

要求选用同一身高、体重计测量,所有能站立的对象均于入院后第一个清晨在空腹状态下,穿单衣单裤、赤脚,脚跟、骶骨部及两肩胛间紧靠身高立柱上;不能站立者采用赛康 Seca985 型电子病床透析秤测量患者体重,于患者能够站立时测量身高。所有数据均连续测两次取其平均值,计算体质指数(BMI), $BMI = \text{体重}/\text{身高}^2$ 。

### 1.5 血脂测定

所有研究对象均于入院后第一个清晨空腹采

取外周静脉血,经郑州大学附属郑州中心医院检验科全自动生化仪测定其甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)。

### 1.6 ABC-ELISA 法检测 HB-EGF 及 PDE4D 浓度

取所有研究对象于入院后第一个清晨采取空腹静脉血各 5 mL,室温静置 10~20 min 至自然凝固分层。经离心、分离血浆,取上清液-20℃冰箱储存待测。检测方法为双抗体夹心 ABC-ELISA 法,酶标仪为美国宝特仪器有限公司 ELx800 全自动酶标仪。

### 1.7 统计学方法

计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 20.0 软件,用 Logistic 回归分析方法进行分析:首先对年龄、性别、高血压、糖尿病、吸烟、BMI、TG、TC、LDL、HDL、HB-EGF、PDE4D 等因素进行单因素分析,然后进行多因素分析(校正有意义的因素)评估 HB-EGF、PDE4D 与 ACS 的关系。 $P < 0.05$  认为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 临床资料

ACS 组与对照组患者的年龄、性别构成、高血压分布、糖尿病分布、吸烟分布、BMI、TG、TC、LDL、HDL、HB-EGF、PDE4D 等各项指标比较,除年龄、性别构成、糖尿病外,高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDL、HDL、HB-EGF、PDE4D 等各项指标在两组间差异有显著性(表 1)。

表 1. ACS 组与对照组的临床资料

Table 1. Clinical data of ACS group and control group

项 目	ACS 组 (n=50)	对照组 (n=100)	t 或 $\chi^2$	P
年龄(岁)	61.66±12.70	64.79±8.69	1.57	0.12
男/女(例)	41/9	77/23	0.24	0.62
高血压[例(%)]	21(42)	20(20)	7.05	<0.05
糖尿病[例(%)]	9(18)	8(8)	3.32	0.07
吸烟[例(%)]	19(38)	15(15)	8.79	<0.05
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	24.66±2.49	21.89±1.76	7.04	<0.05
TC(mmol/L)	4.91±1.46	3.56±0.65	6.24	<0.05
TG(mmol/L)	2.40±3.48	1.24±0.42	2.35	<0.05
LDL(mmol/L)	3.15±1.12	1.95±0.49	7.24	<0.05
HDL(mmol/L)	0.96±0.21	1.22±0.32	5.96	<0.05
HB-EGF 蛋白(μg/L)	24.37±1.63	20.06±2.05	13.97	<0.05
PDE4D 蛋白(μg/L)	23.23±0.80	19.63±1.90	16.28	<0.05

### 2.2 单因素 Logistic 回归分析

以是否罹患 ACS 为应变量(1=是,0=否),将 HB-EGF、PDE4D、年龄、性别、高血压、糖尿病、吸

烟、BMI、TC、TG、LDLC 等因素作为自变量(性别: 1=男, 0=女; 高血压: 1=是, 2=否; 糖尿病: 1=是, 2=否; 吸烟: 1=是, 2=否), 各项因素进行单因素 Logistic 回归分析, 结果发现 HB-EGF、PDE4D 与是否罹患 ACS 有关; 高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDLC、HDLc 等因素也均与是否罹患 ACS 有关, 与目前关于冠心病危险因素的认识相符(表 2)。

表 2. ACS 危险因素的单因素 Logistic 回归分析结果

Table 2. Single factor Logistic regression analysis of ACS risk factors

影响因素	P 值	OR 值	OR 的 95%CI
PDE4D 蛋白	<0.001	5.151	(2.883, 9.204)
HB-EGF 蛋白	<0.001	2.551	(1.926, 3.379)
BMI	<0.001	1.831	(1.487, 2.255)
TC	<0.001	5.434	(3.044, 9.703)
LDLC	0.046	8.388	(4.234, 16.615)
HDLc	<0.001	0.024	(0.004, 0.136)
TG	0.001	2.834	(1.551, 5.180)
高血压	0.005	2.897	(1.375, 6.103)
吸烟	0.002	3.473	(1.573, 7.669)

### 2.3 多因素 Logistic 回归分析

单因素分析时发现除 PDE4D、HB-EGF 外, 高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDLC、HDLc 等也与是否罹患 ACS 有关。本研究旨在评估 PDE4D 和 HB-EGF 与 ACS 的关系, 因此进行多因素回归分析时校正了高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDLC、HDLc 等指标, 结果发现, HB-EGF 蛋白仍然与是否罹患 ACS 有关[OR = 4.114, 95%CI 为 (1.782, 9.498),  $P=0.001$ ], PDE4D 蛋白也仍与是否罹患 ACS 有关[OR = 5.049, 95%CI 为 (1.764, 14.448),  $P=0.003$ ]。

## 3 讨论

HB-EGF 是一种内皮细胞生长因子, 可以促进平滑肌细胞增殖、有丝分裂以及迁移, 从而促进动脉粥样硬化的形成<sup>[5]</sup>。在人动脉粥样硬化斑块组织中, HB-EGF 在平滑肌细胞和巨噬细胞的表达显著增高<sup>[8]</sup>。动物实验中发现 HB-EGF 可以促进小鼠低流速血管内膜的增殖及血管的重构<sup>[9]</sup>。

PDE 是一类可水解细胞内第二信使环磷酸腺苷(cAMP) 和环磷酸鸟苷(cGMP) 的酶类, 可调节细胞内的多种信号传递和生理活动。主要存在于各种炎性细胞内, 包括肥大细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞和上皮细胞等, 共分为 4 种亚型, 包括 PDE 4A、4B、4C、4D, 各种亚型又有多种次亚

型<sup>[10]</sup>。作为其超 II 家族的成员之一的 PDE4D 能够选择性降解第二信使 cAMP, 促进平滑肌细胞增殖和迁移<sup>[11]</sup>, 这是动脉粥样硬化过程中的关键事件。

本研究结果显示, 单因素 Logistic 回归分析时, PDE4D、HB-EGF、高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDLC、HDLc 等因素均与是否罹患 ACS 有关, 校正高血压、吸烟、BMI、TG、TC、LDLC、HDLc 等因素进行多因素分析, 发现 HB-EGF 蛋白及 PDE4D 蛋白仍然与是否罹患 ACS 有关, HB-EGF 蛋白每增加 1  $\mu\text{g/L}$ , ACS 的风险便增加 3.114 倍, PDE4D 蛋白每增加 1  $\mu\text{g/L}$ , ACS 的风险便增加 4.049 倍, 提示 HB-EGF、PDE-4D 可能为 ACS 发生、发展的独立危险因素, 该结果可能为 ACS 从分子水平的防治提供新思路、新途径。

综上所述, ACS 患者血清中 HB-EGF、PDE4D 水平增高, 但是 HB-EGF、PDE4D 水平与患 ACS 的风险是否相关还需要进一步的验证。

### [参考文献]

- [1] 黄兆章, 周希敏. 急性冠脉综合征早期的识别和救治[J]. 实用临床医药杂志, 2007, 11(6): 82-84.
- [2] 李 靓, 谢 巍, 姜志胜, 等. 我国动脉粥样硬化基础研究近三年进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23(11): 1 182-188.
- [3] 王维铁, 张 旭, 许日昊, 等. 冠心病患者冠状动脉病变程度与颈动脉粥样硬化及脑梗死的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(2): 171-174.
- [4] Matsumoto S, Kishida K, Shimomura I, et al. Increased plasma HB-EGF associated with obesity and coronary artery disease [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 292(3): 781-786.
- [5] 刘红旗, 谈 敏. 冠心病患者血清肝素结合表皮生长因子样生长因子及超敏 C 反应蛋白水平的临床意义[J]. 安徽医科大学学报, 2010, 45(2): 248-251.
- [6] Le Jeune IR, Shepherd M, Van Heeke Q, et al. Cyclic AMP-dependent transcriptional up-regulation of phosphodiesterase 4D5 in human airway smooth muscle cells. Identification and characterization of a novel PDE4D5 promoter [J]. J Biol Chem, 2002, 277(39): 35 980-989.
- [7] Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Reynisdottir ST, et al. The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke [J]. Nat Genet, 2003, 35(2): 131-138.
- [8] Reape TJ, Wilson VJ, Kanczler JM, et al. Detection and cellular localization of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor mRNA and protein in human atherosclerotic tissue [J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29(6): 1 639-648.
- [9] Zhang H, Sunnarborg SW, McNaughton KK, et al. Heparinbinding epidermal growth factor like growth factor signaling in flow induced arterial remodeling[J]. Circ Res, 2008, 102(10): 1 275-285.
- [10] Kostic MM, Erdogan S, Rena G, et al. Altered expression of PDE1 and PDE4 cyclic nucleotide phosphodiesterase isoforms in 7-oxo-prostacyclin-preconditioned rat heart [J]. J Mol Cell Cardiol, 1997, 29(11): 3 135-146.
- [11] Housplay M D, Adams DR. PDE4D cAMP phosphodiesterase: modular enzymes that orchestrate signaling cross-talk, desensitization and compartmentalization [J]. Biochem J, 2003, 370(pt1): 1-18.

(此文编辑 许雪梅)