论著

文章编号:1000-5404(2008)06-0546-03

冠状动脉粥样硬化性心脏病患者单核细胞 CX3CR1 表达的研究

彭丹丹,李志梁 (南方医科大学珠江医院心血管内科,广州 510282)

摘 要:目的 观察 CX3CR1 在不同类型冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)患者外周血单核细胞中的表达。**方法** 选择经冠状动脉造影后确诊为冠心病的患者,其中54例稳定型心绞痛病例及61例急性冠脉综合征的病例作为研究对象;以冠状动脉造影正常的20例患者作为正常对照组,24例冠状动脉造影正常但有胸前区疼痛的病例作为阳性对照。利用流式细胞仪直接免疫荧光法检测不同类型患者外周血单核细胞上 CX3CR1 的表达;同时采用 Gensini 评分系统对冠心病患者冠状动脉病变程度进行定量评分,并分析 CX3CR1 与 Gensini 积分间的关系。**结果** 冠心病患者 CX3CR1 表达水平高于正常对照组[正常对照组为(0.46±0.27)%、稳定性心绞痛组为(12.59±6.05)、急性冠脉综合征组为(38.77±13.22),$P<0.01$],急性冠脉综合征患者 CX3CR1 表达明显高于稳定型心绞痛患者,差异有统计学意义($P<0.01$);且冠心病患者 CX3CR1 表达水平与 Gensini 积分呈显著正相关($r=0.913$,$P<0.01$)。**结论** 冠心病患者 CX3CR1 表达水平明显升高,并且其增加程度与冠脉的狭窄程度有相关性。

关键词: 冠心病;CX3CR1;表达;动脉粥样硬化;冠状动脉病变

中图法分类号: R329-33;R446.11;R541.402 **文献标识码:** A

CX3CR1 expressions in monocytes from patients with coronary heart diseases

PENG Dan-dan, LI Zhi-liang (Department of Cardiology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China)

Abstract: Objective To explore the changes of CX3CR1 expressions in monocytes from the patients with different types of coronary heart diseases (CHD). Methods The expressions of CX3CR1 in monocytes were measured by direct immunofluorescence associated with flow cytometry (FCM) in 54 patients with stable angina pectoris (SAP) confirmed by coronary arteriography, 61 patients with acute coronary syndrome (ACS), 20 normal individuals and 24 patients with chest pain syndrome (CPS). Gensini score system was utilized to quantitatively assess the coronary lesion in CHD patients. Finally, the correlation of CX3CR1 levels and Gensini scores was analyzed. Results CX3CR1 expressions in monocytes from the CHD patients were markedly higher than those in normal individuals ($P<0.01$). CX3CR1 expressions in monocytes from the ASC patients were significantly higher than those in the SAP patients ($P<0.01$). CX3CR1 expressions in monocytes from the CHD patients was positively related to Gensini scores ($r=0.913$, $P<0.01$). Conclusion The CHD patients have higher CX3CR1 expressions. The increased degree of CX3CR1expressions is related to the severity of CHD.

Key words: coronary heart disease; CX3CR1; expression; atherosclerosis; coronary lesion

最近几年的研究表明,一种炎症内皮释放的新的趋化因子 fractalkine(FKN)及其受体 CX3CR1 具有介导白细胞趋化和黏附的功能,在血管和组织损伤的发病机制中起着重要的作用[1-3]。但对于不同类型的冠心病患者 CX3CR1 的表达水平如何,以及有何不同,这些问题国内外鲜有报道。本研究拟通过检测不同类型冠心病患者外周血单核细胞 CX3CR1 的表达情况,阐明 CX3CR1 与冠心病严重程度的关系,为进一步研究如何调节 CX3CR1 表达从而应用于临床治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择本科2006年10月至2007年10月,因冠心病心绞痛入院后经过冠脉造影确诊为冠心病的患者作为研究对象试验组,共159例。按入院前症状的特点分为稳定型心绞痛(劳累性心绞痛发作性质在1~3个月内无改变)54例;急性冠脉综合征组(符合急性冠脉综合征的诊断标准)61例,其中不稳定性心绞痛患者30例,急性心肌梗死患者31例。选择冠状动脉造影正常的20例患者作为正常对照组,冠状动脉造影正常但有

作者简介:彭丹丹,女,湖南省攸县人,博士研究生,主要从事冠心病发病机制方面的研究。电话:(020)317506199

通信作者:李志梁,电话:(020)61643160

收稿日期:2007-10-23;修回日期:2008-01-18

胸前区疼痛的病例 24 例作为阳性对照组。所有研究对象检查前 4 周无感染外伤史。同时记录患者的高血压、糖尿病、血脂异常、吸烟史,统计各组性别和年龄。各组患者一般情况及冠心病危险因素比较。各组患者在年龄、性别构成、高血压、糖尿病、血脂异常、吸烟史的病例构成两组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1　各组一般情况及冠心病危险因素比较

组别	例数	年龄(岁)	性别(女/男)	高血压	糖尿病	血脂异常	吸烟史
正常对照组	20	60.35±6.098	4/16	10	1	12	16
不明原因胸痛组	24	60.67±6.069	4/20	15	3	15	18
稳定型心绞痛组	54	60.94±6.508	15/39	33	9	37	41
急性冠脉综合征组	61	61.75±6.891	14/47	41	10	47	44

1.2　积分评估[4]

冠状动脉造影的评价采用 Gensini 评分,即对每支血管病变程度进行定量评定:没有狭窄记 0 分,狭窄≤25% 记 1 分,26% ~50% 记 2 分,51% ~75% 记 4 分,76% ~90% 记 8 分,91% ~99% 记 16 分,100% 记 32 分。不同节段冠状动脉评分系数按 Gensini 标准,每例患者冠状动脉病变程度的最终积分为各分支积分之和。根据积分不同分成轻度病变组(积分 < 25 分)、中度病变组(积分为 25 ~49 分)、重度病变组(积分≥50)。

1.3　外周血单核细胞的分离

取冠心病患者外周血 20 ml,肝素抗凝。用淋巴细胞分离液 2 000 r/min 离心,分离人血单个核细胞,D-Hanks 液洗涤 3 次;利用经明胶和自身血浆处理的塑料平皿收集贴壁的单核细胞[5]。加入 DMEM 培养基(美国 Sigma 公司)制成细胞悬液,调整细胞数为 1×10^9/L,用 Giemsa 和非特异酯酶染色检查,单核细胞纯度大于 95%,台盼蓝拒染试验活细胞大于 97%。

1.4　流式细胞仪检测

取 100 μl 细胞悬液,加入 30 μl 抗 CX3CR1-PE 抗体于 1.5 ml EP 管中,4 ℃孵育 20 min;洗液洗涤 3 次后,以 500 μl PBS 重悬细胞,维持 4 ℃立刻上机检测。

1.5　统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件,对各组 CX3CR1 表达水平进行单因素方差分析;对冠心病患者 CX3CR1 表达水平与冠脉病变程度进行 Spearman 相关分析。

2　结果

2.1　各组 CX3CR1 水平的比较

正常冠脉患者外周血单核细胞表面几乎没有 CX3CR1 表达,冠心病患者却有较强的表达,与对照组比较,差异显著($P<0.01$),而且急性冠脉综合征组 CX3CR1 的表达又明显强于稳定型心绞痛组($P<0.01$)。结果见表 2。

2.2　不同冠状动脉病变程度患者 CX3CR1 表达水平的比较

根据 Gensini 积分所划分的轻、中、重 3 组不同程度病变患者的 CX3CR1 表达水平依次升高,且差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2　各组 CX3CR1 表达水平的比较

组别	例数	荧光强度(%)
正常对照组	20	0.46±0.27
不明原因胸痛组	24	1.02±0.93
稳定型心绞痛组	54	12.59±6.05[ab]
急性冠脉综合征组	61	38.77±13.22[abc]

a:$P<0.01$,与正常对照组比较;b:$P<0.05$,与不明原因胸痛组比较;c:$P<0.01$,与稳定型心绞痛组比较

表 3　不同冠状动脉病变程度 CX3CR1 表达水平的比较

病变程度	例数	荧光强度(%)
轻度病变	23	7.11±2.52
中度病变	47	19.90±6.27[a]
重度病变	45	43.24±12.44[ab]

a:$P<0.05$,与轻度病变比较;b:$P<0.05$,与中度病变比较

2.3　冠心病患者 CX3CR1 表达水平与冠脉病变程度的相关性

冠心病患者 CX3CR1 表达水平与 Gensini 积分呈显著正相关性($r=0.913$,$P<0.01$)。

3　讨论

本实验结果显示,冠心病患者外周血单核细胞中 CX3CR1 表达水平高于正常组及胸痛综合征组,而且急性冠脉综合征患者 CX3CR1 表达明显高于稳定型心绞痛患者;但胸痛综合征组与正常对照组组比较无显著差异。患者 CX3CR1 表达水平越高,冠状动脉病变程度越严重,并且与 Gensini 积分呈显著正相关性($r=0.913$,$P<0.01$)。

众所周知,冠状动脉粥样硬化性心脏病是一种多种因素共同作用而致的心血管疾病,其病理机制至今尚未完全阐明。1999 年 Ross 等将动脉粥样硬化定义为慢性炎症过程得到认同。血循环中的单核细胞是动脉粥样硬化性损伤中泡沫细胞的前体细胞,趋化因子在单核细胞由血液到血管壁的迁移中起十分重要的作用;因此单核细胞在动脉粥样硬化斑块形成中起着中心环节作用[6,7]。本实验直接观察冠心病患者外周血单核细胞上 CX3CR1 的表达情况,发现冠心病患者 CX3CR1 表达明显高于冠脉正常者,提示该因子与冠心病有关,是其相关抗原。同时我们还发现,CX3CR1 的表达水平急性冠脉综合征组明显高于稳定型心绞痛组,进一步证实 CX3CR1 水平与冠心病的发展有着密切的关系。

目前,对 AS 炎症机制的深入研究和再认识已取得长足进展,最近发现的炎症内皮释放的新的趋化因子 fractalkine(FKN)及其受体 CX3CR1 不仅具有黏附功能同时还具有趋化因子的作用,Fractalkine/CX3CR1 系统通过提高细胞黏附和促进 CX3CR1 阳性

单核细胞和淋巴细胞的跨膜转移,在血管和组织损伤的发病机制中起作用[8,9];另外,CX3CR1 的多态性被认为是冠心病的遗传性危险因素[10-12]。本研究结果显示 CX3CR1 表达水平与 Gensini 积分呈显著正相关性($r=0.913$,$P<0.01$)表明 CX3CR1 表达水平与冠状动脉粥样硬化狭窄的程度呈正相关,提示狭窄程度越重,范围越大,数量越多,CX3CR1 表达的越高。由此可见,CX3CR1 表达水平可作为反映冠状动脉粥样硬化程度和数量的指标,用以评估冠状动脉的病变情况。

总之,Fractalkine/ CX3CR1 系统在动脉粥样硬化、心血管疾病等炎症性疾病中发挥重要的作用。因此,努力探索其病理生理机制将有利于进一步寻求冠心病的新的治疗靶点和策略。

参考文献:

[1] Wong B W, Wong D, McManus B M. Characterization of fractalkine (CX3CL1) and CX3CR1 in human coronary arteries with native atherosclerosis, diabetes mellitus, and transplant vascular disease[J]. Cardiovasc Pathol, 2002, 11(6): 332-338.

[2] Nishimura M, Umehara H, Nakayama T, *et al*. Dual functions of fractalkine/CX3C ligand 1 in trafficking of perforin+/granzyme B+ cytotoxic effector lymphocytes that are defined by CX3CR1 expression[J]. J Immunol, 2002, 168(12): 6173-6180.

[3] Kerfoot S M, Lord S E, Bell R B, *et al*. Human fractalkine mediates leukocyte adhesion but not capture under physiological shear conditions; a mechanism for selective monocyte recruitment[J]. Eur J Immunol, 2003, 33(3): 729-739.

[4] Gensini G G. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease[J]. Am J Cardiol, 1983, 51(3): 606.

[5] Freudlich B, Avdalovic N. Use of gelatin/plasma coated flasks for isolating human peripheral blood monocytes[J]. J Immumol Methods, 1983, 62(1): 31-37.

[6] McDermott D H, Halcox J P, Schenke W H, *et al*. Association between polymorphism in the chemokine receptor CX3CR1 and coronary vascular endothelial dysfunction and atherosclerosis[J]. Circ Res, 2001, 89(5): 401-407.

[7] 陈章强, 金 希, 胡申江. Fractalkine 及其受体 CX3CR1 与冠心病[J]. 国外医学: 老年医学分册, 2003, 24(5): 195-198.

[8] Umehara H, Bloom E T, Okazaki T, *et al*. Fractalkine in vascular biology: from basic research to clinical disease[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(1): 34-40.

[9] 邓开伯, 邓开叔, 夏宏器. 应重视冠心病炎症机制的研究[J]. 中国心血管杂志, 2005, 10(5): 321, 326.

[10] Gugl A, Renner W, Seinost G, *et al*. Two polymorphisms in the fracalkine receptor CX3CR1 are not associated with peripheral arterial disease[J]. Atherosclerosis, 2003, 166(2): 339-343.

[11] Barlic J, Zhang Y, Foley J F, *et al*. Oxidized lipid-driven chemokine receptor switch, CCR2 to CX3CR1, mediates adhesion of human macrophages to coronary artery smooth muscle cells through a peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent pathway[J]. Circulation, 2006, 114(8): 807-819.

[12] Cybulsky M I, Hegele R A. The fractalkine receptor CX3CR1 is a key mediator of atherogenesis[J]. J Clin Invest, 2003, 111(8): 1118-1120.

(编辑 王小寒)

《现代美容整形外科学》征订启事

由军内外著名美容整形外科专家、第三军医大学西南医院教授领衔主编、国内外数十名经验丰富的美容整形外科专家和学者编撰,系统阐述了以常见经典手术为主的各类美容整形外科手术的基本原则及操作技术等最新知识的专著《现代美容整形外科学》于 2006 年 4 月由人民军医出版社出版,全国发行。本书特点:① 70 余位美容整形专家鼎力奉献,中韩 13 位著名权威专家主编、审定。② 系统介绍了头颅、额颞、面颈、牙颌、五官、胸壁、乳房、四肢、会阴、生殖器等各部位的美容整形手术的适应证、禁忌证、术前准备、麻醉与体位、手术步骤、术中注意要点、术后注意事项、术后处理以及并发症等,并配有大量精细的局部解剖和手术操作示意图或照片。全面阐述了美容整形、显微外科、创伤美容、麻醉、皮肤色斑及体表肿瘤、皮肤软组织扩张、吸脂减肥、组织移植、生物材料、组织工程、瘢痕的预防和治疗的最新知识和冷冻、文刺、计算机、内镜、超声、光子、纳米、激光等技术在美容整形外科的应用。根据当今美容整形外科的发展特点,还特别加入了人体美学、心理学、康复医学以及医学美容法规及医疗纠纷的防范等内容。③ 全书共计 1 848 页,插图 1 160 余幅,其中彩色插图 80 余幅。正 16 开,80 g 双面铜版纸彩色印刷。豪华精装加封面套盒。定价:680 元/册。

本书作者在参阅国内外大量最新文献的基础上,较全面地反映了美容整形外科学的发展水平。《现代美容整形外科学》是一部系统、全面介绍美容整形外科技术的专著,是从事美容整形外科的工作人员案头必备参考书,也是各级各类美容整形医疗单位、医学院校师生、图书馆、资料室重点收藏图书。

地 址:重庆市沙坪坝区高滩岩第三军医大学学报编辑部 **邮 编**: 400038

联系人:王 红 **电 话**: (023)68752782, 68752189-84