信号通路激活，促进癌细胞的迁移和侵袭能力[5]。Annexin Ⅰ在肿瘤的发生与肿瘤演变过程中起着重要的调节作用。Tropomyosin-4 在乳腺癌[6]中的高表达、Vimentin 在前列腺癌细胞中高表达[7]，提示它们可能参与肿瘤发生、发展的某个过程，而胚胎植入与肿瘤侵袭转移特性十分相似，推测它们在胚胎植入中的发挥一定的作用。HSP90β 是细胞内最活跃的分子伴侣蛋白之一，近年来的研究认为 Hsp90 是很多癌基因通路中的重要组成部分。Hsp90 在植入前的小鼠胚胎中有表达，至囊胚发育中期表达广泛，主要位于中枢区神经系统和骨骼形成区[8]。本实验也证实了 Hsp90 在人胚胎早期发育过程中表达。推测 Hsp90 一方面参与细胞分裂、神经分化等，在胚胎发育中具有看家基因的功能；另一方面 Hsp90 作为分子伴侣，通过介导新合成的或可逆变性的蛋白质正确折叠、装配、转动和促进不需要的或不可逆变性的蛋白质降解，参与胚胎的正常发育。

目前认为 Apo-AI 是子宫容受性的标志，对胚胎着床具有促进作用，测定血清 Apo-AI 对判断自然流产的发生的预测具有指导意义[9]。本研究发现 Apo 在人正常蜕膜中表达上调，可能对蜕膜的侵袭功能有调节。生理情况下，ANXA5 调节母体与胎盘的血液循环，保持着血液的流动性。免疫荧光染色检测发现人 Annexin V 在人绒毛滋养层细胞、绒毛间质细胞、间质内血管内皮细胞中有表达[10]。推测 ANXA5 在胚胎植入过程中发挥一定作用。

综上所述，人早期胚胎绒毛和蜕膜的蛋白质组存在差异表达，这可能是胚胎植入的一个重要机制。

参考文献：

[1] Yoshinaga K. Research on Blastocyst Implantation Essential Factors (BIEFs)[J]. Am J Reprod Immunol, 2010, 63(6): 413 - 424.

[2] 张群，余秋波，刘学庆，等. 小鼠胚泡植入不同时期子宫内膜组织细胞蛋白质组研究[J]. 西南大学学报(自然科学版)，2007，29(4)：62 - 66.

[3] Lim L H, Pervaiz S. Annexin 1: the new face of an old molecule[J]. FASEB J, 2007, 21(4): 968 - 975.

[4] 刘迎福，肖志强，张鹏飞，等. 人原发性肺腺癌转移相关分子的定量蛋白质组学研究[J]. 生物化学与生物物理进展，2009，36(4)：448 - 457.

[5] Babbin B A, Lee W Y, Parkos C A, *et al*. Annexin I regulates SKCO - 15 cell invasion by signaling through formyl peptide receptors[J]. J Biol Chem, 2006, 281(28): 19588 - 19599.

[6] Raval G N, Bharadwaj S, Levine E A, *et al*. Loss of expression of tropomyosin - 1, a novel class II tumor suppressor that induces anoikis, in primary breast tumors[J]. Oncogene, 2003, 22(40): 6194 - 6203.

[7] Zhao Y, Yan Q, Long X, *et al*. Vimentin affects the mobility and invasiveness of prostate cancer cells[J]. Cell Biochem Funct, 2008, 26(5): 571 - 577.

[8] Hotchkiss R, Nunnally I, Lindquist S, *et al*. Hyperthermia protects mice against the lethal effects of endotoxin [J]. Am J Physiol, 1993, 265(6 Pt 2): R1447 - R1457.

[9] 黄泽洧. 载脂蛋白 A - I 与自然流产发生关系的探讨[J]. 江西医学检验，2006，24(1)：11 - 12.

[10] 张润驹，岳亚飞，李淑红，等. 胎盘组织中 Human Annexin V 的表达及与 HBV 感染的关系[J]. 西安交通大学学报：医学版，2006，27(1)：79 - 81.

(收稿：2010-03-12 修回：2010-05-27)

(编辑 王小寒)

短篇论著

文章编号：1000-5404(2010)17-1902-03

己酮可可碱对慢性心力衰竭患者细胞因子免疫调节及 B 型利钠肽的影响

蔡伦安[1,2]，卢永昕[1]，苏冠华[1]，周 晗[3] (430022 武汉，华中科技大学同济医学院附属协和医院心血管病研究所[1]；464000 河南 信阳，河南省信阳市中心医院心血管内科[2]；450003 郑州，河南省人民医院心血管内科[3])

【摘要】 目的 探讨己酮可可碱(pentoxifylline，PTX)对慢性心力衰竭患者外周血辅助性 T 淋巴细胞(Th) Th1/Th2 细胞因子免疫调节及 B 型利钠肽(B-type natriuretic peptide，BNP)的影响。方法 心力衰竭患者分为己酮可可碱治疗组(PTX 组，17 例)和常规治疗组(常规组，18 例)，采用流式细胞分析法，检测 35 例心力衰竭患者和正常对照者(10 例)外周血 $CD4^+$ Th1 型细胞因子干扰素-γ(IFN-γ)和 Th2 型细胞因子白介素-10(IL-10)细胞百分率的变化；采用酶联免疫吸附法(ELISA)分别测定心力衰竭患者外周血肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、IL-10 及 B 型利钠肽的水平；应用彩色多普勒超声诊断仪测定左心室射血分数(LVEF)的变化。结果 心力衰竭患者基线水平 $CD4^+$ Th1(IFN-γ)细胞百分率及 Th1/Th2 比值显著高于正常对照组[(18.42 ± 5.63) *vs* (6.69 ± 1.39)，$P < 0.01$]；(1.58 ± 0.78) *vs* (0.17 ± 0.04)，$P < 0.01$)，心力衰竭患者治疗 1 个月后，PTX 组与常规组比较，PTX 组 $CD4^+$ Th1(IFN-γ)细胞百分率[(11.97 ± 2.75) *vs* (15.20 ± 4.13)]和 Th1/Th2 比值[(0.82 ± 0.31) *vs* (1.33 ± 0.40)]显著降低($P < 0.01$)，外周血 TNF-α 及 B 型利钠肽水平显著降低[(80.42 ±

【通信作者】 蔡伦安，电话：(0376)6210275，E-mail：tsaiyifee@yahoo.com.cn

43.70) pg/ml *vs* (114.31 ± 46.38) pg/ml, $P < 0.05$; (247.94 ± 105.33) ng/L *vs* (335.12 ± 106.57) ng/L, $P < 0.01$], IL-10 水平轻度升高[(9.81 ± 3.13) pg/ml *vs* (8.11 ± 2.66) pg /ml, $P > 0.05$]; 左心室射血分数显著提高[(36.54 ± 5.21) *vs* (30.76 ± 4.80), $P < 0.01$]。结论 心力衰竭患者在常规治疗的基础上应用己酮可可碱,左心功能得到改善,可能与己酮可可碱对心力衰竭患者 Th1/Th2 细胞失衡起到免疫调节作用,并通过免疫调节影响炎性细胞因子的激活与分泌有关。

【关键词】 己酮可可碱; 心力衰竭; Th1 淋巴细胞; Th2 淋巴细胞; 免疫调节; B 型利钠肽
【中图法分类号】 R541.6; R392.3; R979.5 **【文献标志码】** A

神经内分泌过度激活是慢性心力衰竭重要的病理生理学机制。近年来的研究发现,炎性细胞因子激活与免疫激活参与了心力衰竭的发生和发展[1,2]。本研究观察己酮可可碱(pentoxifylline, PTX)对慢性心力衰竭衰患者外周血辅助性 T 淋巴细胞(Th) Th1/Th2 细胞因子免疫调节及 B 型利钠肽的影响,并探讨己酮可可碱在慢性心力衰竭免疫调节中的作用。

1 对象与方法

1.1 对象及分组

2007 年 7 月至 2008 年 8 月在信阳市中心医院心血管内科住院的慢性心力衰竭患者 40 例,经患者知情同意后入选。入选标准:①年龄 35 ~ 75 岁,NYHA 心功能Ⅱ ~ Ⅳ级;②基础病因为缺血性心脏病、扩张型心肌病、高血压;③窦性心律;④左心室射血分数(LVEF) <40%。排除标准:①合并脑卒中、严重肝肾功能不全者;②瓣膜性心脏病患者;③近期有不稳定性心绞痛及急性心肌梗死者(6 个月内);④对甲基嘌呤类药物和茶碱等不能耐受者;⑤急慢性感染、严重高血压患者;⑥自身免疫性疾病如类风湿性关节炎、甲状腺功能亢进和慢性阻塞性肺疾患所致心力衰竭者;⑦近期使用过可影响免疫功能的药物如类固醇、环磷酰胺等的患者。

分组:心力衰竭患者 35 例,男性 22 例,女性 13 例,年龄 35 ~ 75 (54.40 ± 11.84) 岁。

常规治疗组 20 例(2 例因经济原因退出),男性 11 例,女性 7 例,年龄(53.89 ± 10.59) 岁,常规治疗包括利尿剂、洋地黄类药物、血管紧张素转换酶抑制剂、β-受体阻滞剂等。己酮可可碱治疗组 20 例(3 例因消化道反应退出),男性 11 例, 女性 6 例,年龄(54.94 ± 13.33) 岁,在常规治疗的基础上加用己酮可可碱 400 mg, 3 次/d,饭时口服(己酮可可碱为缓释片,由德国 Merckle GmbH 生产)。两组治疗时间为 1 个月,且均禁用免疫抑制剂。

正常对照组 10 例,为信阳市中心医院同期健康体检者,年龄 35 ~ 70 (52.60 ± 12.95) 岁。除外心脏、肝脏、肾脏、内分泌系统疾病、肿瘤及感染性疾病者。

1.2 方法

细胞培养及流式 $CD4^+$ 淋巴细胞胞内细胞因子检测方法参照文献[3],主要试剂(异硫氰酸荧光素标记的干扰素 γ 和 PE 标记的白细胞介素-10)均购自美国 BD 公司。酶联免疫吸附法(ELISA)分别测定 TNF-α、IL-10 及 B 型利钠肽的水平,采用全自动酶标仪(Multiskan mk3 型,Labsystem Dragon 公司)进行测定,TNF-α、IL-10 及 B 型利钠肽均购自深圳晶美生物工程有限公司,严格按照试剂盒操作步骤进行操作。采用 GE Vivid7 彩色多普勒超声心动图检测,采用改良的 Simpson 法检测左心室舒张末期容积(EDV)、左心室收缩末期容积(ESV),左心室射血分数(LVEF)根据公式(EDV - ESV)/EDV × 100% 计算。

1.3 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 10.0 统计软件进行分析,组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 两组心力衰竭患者临床资料的基线特征比较

两组患者在年龄、性别、病因(缺血性心脏病、扩张型心肌病、高血压)、NYHA 分级、射血分数、药物使用情况方面差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 心力衰竭患者与正常对照组外周血 $CD4^+$ Th 细胞因子表达的比较

心力衰竭患者基线水平 $CD4^+$ Th1(IFN-γ)细胞百分率及 Th1/Th2 比值显著高于正常对照组($P < 0.01$),心力衰竭患者治疗 1 个月后,PTX 组 $CD4^+$ Th1(IFN-γ)细胞百分率和 Th1/Th2 比值显著低于常规治疗组($P < 0.01$),$CD4^+$ Th2(IL-10)细胞百分率显著高于常规治疗组($P < 0.01$,表 1)。

2.3 心力衰竭衰患者外周血 TNF-α、IL-10、B 型利钠肽水平及射血分数的变化

心力衰竭患者治疗 1 个月后,PTX 组与常规组比较, 外周血 TNF-α 水平显著降低($P < 0.01$),IL-10 水平轻度升高($P > 0.05$),B 型利钠肽水平亦显著降低($P < 0.05$),左心室射血分数显著提高($P < 0.01$,表 2)。

表 1 心力衰竭患者及正常对照组外周血 $CD4^+$ Th 细胞因子表达的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IFN-γ(%)		IL-10(%)		Th1/Th2	
		基线水平	1 个月后	基线水平	1 个月后	基线水平	1 个月后
PTX 组	17	17.61 ± 5.40	11.97 ± 2.75[ab]	13.90 ± 2.52	15.97 ± 5.13[ab]	1.31 ± 0.50	0.82 ± 0.31[a]
常规治疗组	18	19.17 ± 5.90	15.20 ± 4.13[b]	12.07 ± 4.60	11.74 ± 1.89[b]	1.84 ± 0.92	1.33 ± 0.40
正常对照组	10	6.69 ± 1.39	-	39.68 ± 3.05	-	0.17 ± 0.04	-

a $P < 0.01$,与常规治疗组比较; b $P < 0.01$,与基线水平比较

表2 心力衰竭患者外周血TNF-α、IL-10、B型利钠肽水平及射血分数的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF-α(pg/ml)		IL-10(pg/ml)		B型利钠肽(ng/L)		EF(%)	
		基线水平	1个月后	基线水平	1个月后	基线水平	1个月后	基线水平	1个月后
PTX组	17	123.95±60.62	80.42±43.70[ab]	8.11±2.66	9.81±3.13	506.52±161.25	247.94±105.33[ab]	30.76±4.80	36.54±5.21[ab]
常规治疗组	18	121.14±60.83	114.31±46.38[b]	9.07±3.31	10.72±2.49	517.49±164.96	335.12±106.57[b]	27.61±4.97	31.07±4.85[b]

a:$P<0.05$,与常规治疗组比较;b:$P<0.01$,与基线水平比较

3 讨论

2项大规模靶向拮抗TNF-α治疗慢性心力衰竭随机化临床实验(REINASSANCE和RECOVER)因无临床裨益而提前终止[4],其失败的可能原因是:单纯拮抗某一种炎性细胞因子并不能改善细胞因子网络的内环境稳态。Yamaoka-Tojo等[2]的研究表明,在慢性心力衰竭细胞因子网络失衡中,各种病因的慢性心力衰竭患者皆存在$CD4^+$Th1/Th2细胞失衡。徐玉兰等[5]的研究显示,己酮可可碱可以使心力衰竭体外培养的$CD4^+$Th分泌IFN-γ的Th1型细胞百分率明显降低,而分泌IL-10的Th2型细胞所占百分率升高;万建平等[3]的临床随机对照研究表明,己酮可可碱显著抑制体内$CD4^+$Th分泌IFN-γ的Th1型细胞功能,表明己酮可可碱可以逆转慢性心力衰竭患者的Th1/Th2细胞失衡,从而起到免疫调节的作用。因此,免疫调节治疗可能是改善心力衰竭细胞因子网络内环境稳态的新趋势。

目前,已有多种免疫调节治疗用于心力衰竭的治疗[6],ACEI和β受体阻滞剂亦显示出对心力衰竭患者免疫调节的影响,从免疫调节机制调节心力衰竭患者Th1/Th2细胞的失衡,使心力衰竭患者免疫紊乱得以纠正。近年来他汀类药物治疗心力衰竭的机制亦被认为是部分通过免疫调节影响Th1/Th2细胞平衡而实现的[7,8]。

己酮可可碱为磷酸二酯酶抑制剂,体外研究表明,PTX抑制炎性因子IFN-γ以及致炎因子诱导的激活[9],在转录水平抑制TNF-α的合成以及抑制内毒素诱导的心肌细胞合成TNF-α,以及抑制NF-κB介导的新生大鼠心肌细胞的凋亡。

近年来,B型利钠肽作为心力衰竭诊断及判断预后价值的客观指标已得到肯定,其作为治疗疗效判断的指标亦越来越受到重视[10]。我们的研究显示,心力衰竭患者在常规治疗的基础上应用己酮可可碱治疗1个月后,外周血B型利钠肽水平较常规治疗组显著下降($P<0.05$);慢性心力衰竭患者$CD4^+$Th分泌IFN-γ的Th1型细胞所占百分比及Th1/Th2比值显著降低($P<0.01$),而分泌IL-10的Th2型细胞所占百分比升高($P<0.01$),外周血炎性细胞因子标记物TNF-α水平降低($P<0.01$),抗炎细胞因子IL-10水平轻度升高($P>0.05$);慢性心力衰竭患者左心功能改善,表明己酮可可碱可能在细胞水平调节Th1/Th2细胞平衡状态,从而逆转促炎因子和抗炎因子的失衡,进而影响心室重塑过程而改善心功能状态。因此,己酮可可碱可能为心力衰竭的免疫调节治疗提供一定的理论依据,亦有望成为心力衰竭治疗一种新的研究方向。

参考文献:

[1] Vistnes M, Christensen G, Omland T. Multiple cytokine biomarkers in heart failure[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2010, 10(2): 147-157.

[2] Yamaoka-Tojo M, Tojo T, Inomata T, *et al*. Circulating levels of interleukin-18 reflect etiologies of heart failure: Th1/Th2 cytokine imbalance exaggerates the pathophysiology of advanced heart failure[J]. J Card Fail, 2002, 8(1): 21-27.

[3] 万建平, 卢永昕, 徐玉兰, 等. Th1型细胞因子干扰素γ及Th2型细胞因子白细胞介素10水平在慢性心力衰竭患者接受己酮可可碱干预过程中的变化:随机对照[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(45): 9079-9082.

[4] Mann D L, McMurray J J, Packer M, *et al*. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL)[J]. Circulation, 2004, 109(13): 1594-1602.

[5] 徐玉兰, 卢永昕, 万建平, 等. 己酮可可碱对充血性心力衰竭患者CD_4^+ Th细胞免疫调节的研究[J]. 临床内科杂志, 2007, 24(5): 301-303.

[6] Blum A. Immunological mediated therapies for heart failure[J]. Isr Med Assoc J, 2009, 11(5): 301-305.

[7] Cheng X, Ding Y, Xia C, *et al*. Atorvastatin modulates Th1/Th2 response in patients with chronic heart failure[J]. J Card Fail, 2009, 15(2): 158-162.

[8] 彭艳, 覃数, 刘剑. 血脂康对心力衰竭患者炎症因子和血管内皮功能的影响[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(7): 636-638.

[9] Shaw S M, Shah M K, Williams S G, *et al*. Immunological mechanisms of pentoxifylline in chronic heart failure[J]. Eur J Heart Fail, 2009, 11(2): 113-118.

[10] Boerrigter G, Costello-Boerrigter L C, Burnett J C Jr. Natriuretic peptides in the diagnosis and management of chronic heart failure[J]. Heart Fail Clin, 2009, 5(4): 501-514.

(收稿:2010-02-06 修回:2010-03-02)

(编辑 张 维)