文章编号:1000-5404(2014)12-1331-04

论著

高原心脏病研究对象血液中促血管内皮生长因子及平滑肌细胞生长因子的表达及意义

李尚师[1],李素芝[2],高钰琪[1],黄学文[2],陈 彬[3],郑必海[2],左 锋[2],王宇亮[2],杨定周[2],何 兵[2] (400038 重庆,第三军医大学高原军事医学系[1];850007 拉萨,西藏军区总医院:全军高山病防治中心[2],心脏内科[3])

[摘要] **目的** 探讨高原心脏病研究对象血液中促血管内皮生长因子及平滑肌细胞生长因子的表达情况及其意义。**方法** 对42例高原心脏病研究对象和40例高原健康者血液中促血管内皮生长因子[肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor,HGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor,bFGF)]及促血管平滑肌细胞生长因子[内皮素-1(endothelin-1,ET-1)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor,PDGF)、成纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF)]血液中的表达情况及其超声心动图情况进行检测。**结果** 通过对两组研究对象血液中的促血管内皮生长因子及促血管平滑肌细胞生长因子比较发现,高原心脏病组HGF、VEGF、bFGF及ET-1、PDGF、FGF血液中的表达均显著高于对照组($P<0.05$,$P<0.01$)。高原心脏病研究对象均存在不同程度的右心改变及肺动脉高压,其右房(上下径,横径)、右室流出道、右室前后径、右室前壁厚度、肺动脉内径、肺动脉收缩压等测值均显著高于对照组($P<0.01$)。且高原心脏病研究对象HGF、VEGF、bFGF及ET-1、PDGF、FGF与其肺动脉收缩压、舒张压、平均压呈显著的正相关。**结论** 高原心脏病研究对象血液中促血管内皮及平滑肌细胞生长因子的表达较高原健康者明显增强,与缺氧性肺动脉高压的形成及高原心脏病密切相关。

[关键词] 高原;高原心脏病;促血管内皮生长因子;促血管平滑肌细胞生长因子
[中图法分类号] R339.54;R341;R541.02 [文献标志码] A

Expression and significance of vascular endothelial growth factors and vascular smooth muscle cell growth factors in blood of patients with high altitude heart disease

Li Shangshi[1], Li Suzhi[2], Gao Yuqi[1], Huang Xuewen[2], Chen Bin[3], Zheng Bihai[2], Zuo Feng[2], Wang Yuliang[2], Yang Dingzhou[2], He Bing[2] ([1]College of High Altitude Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Center of High Altitude Medicine of PLA, [3]Department of Cardiology, General Hospital of Tibet Military Command, Lhasa, Tibet Autonomous Region, 850007, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate and discuss the expression and significance of vascular endothelial growth factors (VEGF) and vascular smooth muscle cell growth factors in blood of patients with high altitude heart disease through experimental study. **Methods** The expression of vascular endothelial growth factors including hepatocyte growth factor (HGF), VEGF and basic fibroblast growth factor (bFGF) and vascular smooth muscle cell growth factors including endothelin-1 (ET-1), platelet-derived growth factor (PDGF), and fibroblast growth factor (FGF) in the blood samples of 42 patients with high altitude heart disease and 40 healthy subjects living in plateau as well as their echocardiogra-phic restuts were analyzed. **Results** The expression levels of HGF, VEGF, bFGF, ET-1, PDGF and FGF in the patients with high altitude disease were all higher that those in the healthy group ($P<0.05$ or $P<0.01$). The patients with high altitude disease presented various degrees of right heart changes and pulmonary hypertension, and had significantly higher values of right atrium (vertical diameter/transverse diameter), outflow tract of right ventricle, anteroposterior diameter of right ventricle, right ventricular anterior wall thickness, pulmonary artery inner diameter, and pulmonary arterial systolic pressure than those in the healthy group ($P<0.01$). Meanwhile, the expression of HGF, VEGF, bFGF, ET-1, PDGF and FGF showed positive correlation with the pulmonary arterial systolic pressure, pulmo-

[通信作者] 李素芝,电话:(0891)6858066,E-mail:lzqqh66@126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140417.1708.005.html(2014-04-17)

nary artery diastolic pressure, and mean pulmonary arterial pressure. **Conclusion** Compared with those healthy subjects, the expression levels of vascular endothelial growth factors and vascular smooth muscle cell growth factors are significantly increased in the patients with high altitude heart disease, showing close correlation with the development of hypoxic pulmonary hypertension and high altitude heart disease.

[**Key words**] plateau; high altitude heart disease; vascular endothelial growth factor; vascular smooth muscle cell growth factor

Corresponding author: Li Suzhi, Tel:86-891-6858066, E-mail: lzqqh66@126.com

长期低氧暴露是缺氧性肺动脉高压形成的直接原因,缺氧性肺动脉高压是高原心脏病发病的重要环节[1]。目前普遍认为,缺氧性肺动脉高压的发病机制是由于"肺血管构型重建"[2],并以肺血管壁细胞增殖、管壁增厚和管腔狭窄为特征[3-4]。其中低氧刺激引起肺动脉内皮细胞源性细胞因子的合成及分泌异常,以及肺动脉平滑肌细胞增殖和肺动脉壁胶原沉积等是导致肺血管结构改变的主要原因。我们在高原现场对高原心脏病研究对象血液中促血管内皮生长因子[肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)]及促血管平滑肌细胞生长因子[内皮素-1(endothelin-1, ET-1)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、成纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)]表达情况进行了研究,以了解其在高原慢性缺氧性肺动脉高压的形成及高原心脏病的发生、发展中的作用,现将研究结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 对象

收集2012年3-10月期间来西藏军区总医院门诊就诊或住院治疗的高原心脏病或疑似高原心脏病研究对象共107例,根据高原心脏病组纳入标准:确诊高原心脏病,近6个月内有心律失常、心衰、心肌缺血等发作病史研究对象,从以上病例中选取共42例;其中男性30例,女性12例,移居汉族16例,世居藏族26例;平均年龄55(26~88)岁,平均海拔高度4 393(3 700~4 950)m;其中移居者移居高原平均时间35(9~66)年。对照组选择相似条件下在高原长期生活居住的健康者,对照组纳入标准:近1年内体格检查未发现心、肺、血液系统等相关疾病研究对象,共40例,其中男性25例,女性15例,移居汉族19例,世居藏族21例;平均年龄48(34~78)岁;居住平均海拔高度4 200(3 658~4 700)m;其中移居者移居高原平均时间30(8~52)年。排除标准:近期有重大外伤、骨折病史,有严重消化道疾患如胆管炎、胰腺炎等,肝肾功能不全,出凝血功能障碍,严重精神、神经疾患不能配合治疗及检查,因个人原因拒绝入组者。其中高原心脏病病例均符合中华医学会第三届高原病学术研讨会1995年9月推荐的高原心脏病诊断标准[5]。经西藏军区总医院医学伦理委员会批准并遵守其相关规定,所有人员自愿入组并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 分组及观察指标 将40例高原健康者设为对照组,42例高原心脏病研究对象设为试验组,分别对其一般资料进行收集。对照组和试验组均行心电图、胸片及彩色多普勒超声心动图检查,并分别于清晨空腹采集静脉血10 mL,取5 mL注入加有10% EDTA Na_2 30 μL和抑肽酶40 μL的试管中,混匀;另5 mL加入空白试管中。以上标本均在10 min内于4 ℃低温情况下3000 r/min离心10 min,取上清置于-78 ℃冰箱保存,待标本收集完后行HGF、VEGF、bFGF、ET-1、PDGF、FGF检测。同时,对两组研究对象行常规行血、大小便常规,肝功,肾功,血生化及心肌酶谱等检查。其中试验组各种检查及标本的采集均于治疗前进行。对两组研究对象超声心动图检查结果及血液中HGF、VEGF、bFGF、ET-1、PDGF、FGF表达进行分析。

1.2.2 仪器及检测方法 心电图及胸部平片检查均采用常规方法进行;超声心动图检查由我院超声科医师操作,应用iE-33型彩色多普勒超声诊断仪(PHILIPS公司),受试者左侧卧位,探头频率2.5 MHz,记录肺动脉的血流频谱,测量右心室射血前期(RPEP),肺动脉血流加速时间(ACT),右心室射血时间(RVET),根据肺动脉多普勒频谱法计算肺动脉收缩压(SPAP = -3.372 + 36.58 × RPEP/RVET),肺动脉舒张压(DPAP = -3.007 + 21.779 × RPEP/RVET),肺动脉平均压(MPAP = -3.315 + 26.621 × RPEP/RVET)[6];HGF、VEGF、bFGF、ET-1、PDGF、FGF采用ELISA法进行检测,使用仪器为Thermo MK3酶标仪,相应的检测试剂盒购买自南京建成生物工程研究所,检测步骤及方法按试剂盒说明进行。

1.3 统计学处理

采用SPSS 14.0统计学软件,各组数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验比较各组样本均值。

2 结果

2.1 两组研究对象一般资料比较

通过对两组研究对象一般资料对比发现,两组研究对象的男女构成比、世居藏族和移居汉族所占百分比、平均年龄、居住海拔高度、移居高原时间经检验无显著统计学差异($P > 0.05$)。结果见表1。

2.2 两组研究对象超声心动图检查结果

通过对两组研究对象超声心动图检查结果的对比发现,试

表1 两组研究对象一般资料比较

组别	n	男[例(%)]	女[例(%)]	世居藏族[例(%)]	移居汉族[例(%)]	年龄(岁)	居住海拔高度(km)	移居时间(年)
对照组	40	25(62.50)	15(37.50)	21(52.50)	19(47.50)	47.78±8.62	4 200.30±354.01	30.42±13.09
试验组	42	30(71.43)	12(28.57)	26(61.90)	16(38.10)	55.14±15.83	4 392.62±355.44	35.31±14.18

表2 两组研究对象超声心动图检查结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	右房(mm)		右室流出道(mm)	右室前后径(mm)	右室前壁厚度(mm)	肺动脉内径(mm)	肺动脉收缩压(mmHg)
		上下径	横径					
对照组	40	45.58±3.46	41.10±3.51	31.38±3.27	21.90±4.14	4.15±1.03	24.40±3.48	25.40±3.51
试验组	42	54.50±6.25	49.50±7.58	38.52±2.17	28.57±3.16	9.02±1.99	30.71±4.17	52.69±19.46
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
t		8.81	6.50	14.47	9.61	17.11	8.41	8.72

表3 两组研究对象促血管内皮生长因子与促血管平滑肌细胞生长因子检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	肺动脉收缩压(mmHg)	促血管内皮生长相关因子			促平滑肌细胞生长作用因子		
			HGF(ng/L)	VEGF(ng/L)	bFGF(ng/L)	ET-1(ng/L)	PDGF(ng/mL)	FGF(ng/L)
对照组	40	25.40±3.51	271.40±100.65	92.24±28.63	872.14±276.94	107.03±36.15	3.42±1.50	2.81±1.41
试验组	42	52.69±19.46	439.76±146.71	122.85±30.95	1 103.60±401.47	147.77±68.18	5.89±3.33	4.15±2.46
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
t		8.72	6.30	4.62	2.97	3.17	4.11	2.75

验组均存在不同程度的右心改变及肺动脉高压,其右房(上下径,横径)、右室流出道、右室前后径、右室前壁厚度、肺动脉内径、肺动脉收缩压等测值均显著高于对照组($P<0.01$)。结果见表2。

2.3 两组研究对象血液中的促血管内皮生长因子与促血管平滑肌细胞生长因子检测结果

通过对两组研究对象血液中的促血管内皮生长因子HGF、VEGF、bFGF及促血管平滑肌细胞生长因子ET-1、PDGF、FGF进行检测发现,试验组HGF、VEGF、bFGF、ET-1、PDGF、FGF血液中的表达均显著高于对照组($P<0.01$)。结果见表3。

2.4 两组研究对象血液中的促血管内皮生长因子与促血管平滑肌细胞生长因子与肺动脉压相关性分析

通过对两组研究对象肺动脉压比较发现,试验组HGF、VEGF、bFGF、ET-1、PDGF、FGF检测结果与其肺动脉收缩压、肺动脉舒张压、肺动脉平均压均呈显著的正相关。而对照组则缺乏显著相关性。结果见表4、5、6。

表4 两组研究对象促血管内皮生长因子及促血管平滑肌细胞生长因子与肺动脉收缩压相关分析

组别	n	促血管内皮生长相关因子			促平滑肌细胞生长作用因子		
		HGF	VEGF	bFGF	ET-1	PDGF	FGF
对照组	40	0.186	0.158	−0.031	−0.189	0.168	−0.026
试验组	42	0.836[a]	0.628[a]	0.709[a]	0.735[a]	0.900[a]	0.901[a]

a:$P<0.01$,与对照组比较

表5 两组研究对象促血管内皮生长因子及促血管平滑肌细胞生长因子与肺动脉舒张压相关分析

组别	n	促血管内皮生长相关因子			促平滑肌细胞生长作用因子		
		HGF	VEGF	bFGF	ET-1	PDGF	FGF
对照组	40	0.175	0.156	−0.033	−0.224	0.180	−0.011
试验组	42	0.833[a]	0.626[a]	0.706[a]	0.729[a]	0.898[a]	0.901[a]

a:$P<0.01$,与对照组比较

表6 两组研究对象促血管内皮生长因子及促血管平滑肌细胞生长因子与肺动脉平均压相关分析

组别	n	促血管内皮生长相关因子			促平滑肌细胞生长作用因子		
		HGF	VEGF	bFGF	ET-1	PDGF	FGF
对照组	40	0.175	0.158	−0.043	−0.171	0.167	−0.042
试验组	42	0.834[a]	0.629[a]	0.707[a]	0.737[a]	0.900[a]	0.901[a]

a:$P<0.01$,与对照组比较

3 讨论

高原心脏病发病的重要病理生理基础是缺氧性肺动脉高压,而缺氧性肺动脉高压形成的先决条件是肺血管的结构重建和功能发生不可逆性改变。研究证实,缺氧性肺动脉高压肺血管结构重建是一系列复杂的细胞和分子机制导致的肺血管结构、功能的变化,涉及细胞、体液介质,甚至分子遗传等多个途径[2]。目前已知,HGF、VEGF等血管活性因子在肺动脉结构重塑中发挥着重要的作用。

已有的研究显示,高原慢性缺氧可导致肺血管内皮功能出现紊乱,使其异常分泌及表达多种促血管内皮生长相关因子(如HGF、bFGF和VEGF等),以及收缩血管和促平滑肌细胞生长作用因子过度表达(如ET-1、PDGF及FGF等);这可能是血管内皮细胞过度增殖,肺血管结构重建发生的重要原因[7-9]。

HGF是一种间充质来源的多功能性细胞因子,通过与其特异性受体c-met结合而广泛调控着各种类型细胞的分化、增殖、再生、运动、迁移和形态发生,具有促进肺动脉内皮细胞增殖、迁移和新生血管生成的作用[10-11]。bFGF能刺激毛细血管内皮细胞和血管平滑肌细胞增殖分裂,具有强烈的血管生成作用;bFGF对

肺动脉的作用则表现为刺激平滑肌细胞增生肥厚和产生细胞外基质成分[12-13]。VEGF由多数肿瘤细胞、伤口中角质细胞和巨噬细胞产生,其受体仅表达于血管内皮细胞表面,能增加血管通透性,促进血管形成;进一步的研究提示其能够促进肺动脉血管内皮细胞增殖[14]。除单独发挥作用外,上述血管相关生长因子之间、上述血管相关生长因子与在肺动脉高压形成机制中发挥重要作用的缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1,HIF-1)、ET-1、一氧化氮(nitric oxide,NO)还具有联合作用,形成一定的网络状联系。如:ET-1能够显著上调VEGF表达[15];NO能够抑制ET-1和VEGF的生成[16];HGF、VEGF、bFGF、ET-1均位于HIF下游[17];VEGF和ET-1对低氧性肺血管重建作用明显[18]。可以看出:上述血管活性因子均能够在肺动脉结构重塑中发挥作用。既往的研究主要针对平原慢性阻塞性肺疾病或广泛肺部病变时所出现的肺血管重塑及缺氧致肺血管重建的实验动物研究,而目前尚缺乏上述血管活性因子与高原心脏病研究对象肺动脉结构重塑相关性的研究。

本研究发现,与高原健康者比较,高原心脏病研究对象均存在显著的肺动脉高压。这与既往的研究结果相同,目前认为其主要的形成原因是由慢性缺氧环境下肺动脉结构重塑导致[2]。如前所述,促血管内皮或平滑肌生长因子的表达异常是导致肺动脉结构重塑的重要原因。因此,我们推测上述因子也可能在高原心脏病病理生理过程中发挥重要作用。后续对血液中的促血管内皮生长因子HGF、VEGF、bFGF及促血管平滑肌细胞生长因子ET-1、PDGF、FGF等检测发现:高原心脏病研究对象促血管内皮生长因子HGF、VEGF、bFGF及促血管平滑肌细胞生长因子ET-1、PDGF、FGF血液中的表达均显著高于健康对照组。高原心脏病研究对象促血管内皮生长因子HGF、VEGF、bFGF及促血管平滑肌细胞生长因子ET-1、PDGF、FGF与其肺动脉收缩压、舒张压及平均压均呈显著的正相关。上述结果提示:随着高原心脏病的病情加重,研究对象血液中的促血管内皮及平滑肌细胞生长因子表达水平与肺动脉压相关性越强。由此说明,促血管内皮生长因子及促血管平滑肌细胞生长因子的表达增强;其表达增强可能是高原心脏病研究对象肺血管重建的重要原因,与高原慢性缺氧性肺动脉高压的形成及高原心脏病的发生、发展密切相关。

参考文献:

[1] 益西, 陈浩. 高原心脏病[J]. 西藏医药杂志, 2003, 24(3): 1-2.

[2] 钟小宁, 姚龙. 肺血管重建在低氧性肺动脉高压中的作用及其机制[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2003, 2(4): 246-248.

[3] 李尚师, 李素芝, 郑必海. 高原性心脏病与肺血管结构重建的研究进展[J]. 华南国防医学杂志, 2012, 26(4): 392-394.

[4] Stenmark K R, McMurtry I F. Vascular remodeling versus vasoconstriction in chronic hypoxic pulmonary hypertension: a time for reappraisal? [J]. Circ Res, 2005, 97(2): 95-98.

[5] 中华医学会第三届全国高原医学学术讨论会推荐稿. 我国高原病命名、分型及诊断标准[J]. 高原医学杂志, 1996, 6(1): 2-4.

[6] 汪涛, 解勇, 段晋庆. 彩色多普勒超声心动图在高原检测肺动脉压的研究应用[J]. 中国超声诊断杂志, 2004, 5(5): 328-330.

[7] 刘斌, 彭军. 氧化应激和肺动脉高压血管重构[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(6): 539-542.

[8] 董莉, 朱海萍, 李云雷, 等. 5-羟基癸酸盐对低氧肺动脉高压大鼠肺血管重建的影响及其机制[J]. 温州医学院学报, 2010, 40(5): 445-449.

[9] 杨海涛, 孙立红. 缺氧性肺动脉高压研究对象NO及CGRP的变化与意义[J]. 山东医药, 2011, 51(21): 49-50.

[10] Nakamura Y, Morishita R, Higaki J, *et al*. Expression of local hepatocyte growth factor system in vascular tissues[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1995, 215(2): 483-488.

[11] Nakamura Y, Morishita R, Higaki J, *et al*. Hepatocyte growth factor is a novel member of the endothelium-specific growth factots: additive stimulatory effect of hepatocyte growth factor with basic fibroblast growth factor but not with vascular endothelial growth factor[J]. J Hypertens, 1996, 14(9): 1067-1072.

[12] 颜浩, 陈文彬, 程德云, 等. 碱性成纤维细胞生长因子在低氧性肺动脉高压大鼠肺内表达及分布变化的观察[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1997, 20(6): 344-346.

[13] Rabinovitch M. Elastase and cell matrix interactions in the pathobiology of vascular disease[J]. Acta Paediatr Jpn, 1995, 37(6): 657-666.

[14] Pepper M S, Ferrara N, Orci L, *et al*. Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis *in vitro*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1992, 189(2): 824-831.

[15] Spinella F, Rosano L, Di-Castro V, *et al*. Endothelin-1 induces vascular endothelial growth factor by increasing hypoxia-inducible factor-1alpha in ovarian carcinoma cells[J]. J Biol Chem, 2002, 277(31): 27850-27855.

[16] Elvert G, Kappel A, Heidenreich R, *et al*. Cooperative interaction of hypoxia-inducible factor-2alpha (HIF-2alpha) and Ets-1 in the transcriptional activation of vascular endothelial growth factor receptor-2 (Flk-1)[J]. J Biol Chem, 2003, 278(9): 7520-7530.

[17] 周志刚, 赵建平. 缺氧诱导因子与缺氧性肺动脉高压[J]. 中国康复, 2006, 21(3): 202-204.

[18] 钟小宁, 梁国容, 何志义, 等. 血管内皮生长因子和内皮素在低氧性肺血管重建中的作用[J]. 中华内科杂志, 2001, 40(8): 525-528.

(**收稿**:2014-01-20;**修回**:2014-03-10)

(编辑 黄 超)