

急性冠脉综合征患者Th/Tregs水平的变化及其临床意义

余锋¹, 信梦雪², 刘静¹, 洪永敦¹, 刘南¹, 赵静¹

(广州中医药大学第一附属医院急诊科¹、新生儿科², 广东 广州 510405)

【摘要】 目的 研究白介素17(IL-17)、白介素35(IL-35)在急性冠脉综合征(ACS)患者外周血中的表达,探讨该指标与肌钙蛋白I(cTnI)、B型钠尿肽(BNP)及左室射血分数(LVEF)等是否存在相关性。方法 选取2016年7月至2017年9月在广州中医药大学第一附属医院住院的ACS患者143例,其中ST段抬高型急性心肌梗死(STEMI)37例,非ST段抬高型急性心肌梗死(NSTEMI)45例,不稳定心绞痛61例;同期体检健康者30例为对照组。以ELISA法检测血清IL-17、IL-35水平,超声心动图Simpson法测定LVEF值。指标间相关性采用Pearson相关分析。结果 STEMI组患者的IL-35、IL-17水平[40.71±14.96) pg/mL、(45.72±13.75) pg/mL]与UAP组[(79.84±21.41) pg/mL、(15.64±9.83) pg/mL]比较差异均有统计学意义($P<0.05$),而STEMI与NSTEMI组患者的IL-35水平[(45.96±17.52) pg/mL]和IL-17水平[(39.13±10.94) pg/mL]比较差异均无统计学意义($P>0.05$);ACS患者IL-17水平与cTnI、BNP及D-Dimer呈负相关($r=-0.652, -0.571, -0.484, P<0.05$),与LVEF呈正相关($r=0.436, P<0.05$);IL-35水平与cTnI、BNP及D-Dimer呈正相关($r=0.573, 0.416, 0.597, P<0.05$),与LVEF呈负相关($r=-0.391, P<0.05$)。结论 ACS患者外周血IL-17、IL-35水平在一定程度上能反映ACS的病情严重程度,可作为冠心病急性心血管事件的独立预测指标。

【关键词】 冠心病;急性冠脉综合征;调节T淋巴细胞;白介素17;白介素-35;炎症免疫

【中图分类号】 R442.8 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2018)11-1486-04

Evaluation of plasma Th/Tregs levels in patients with acute coronary syndrome and their clinical significance. YU Feng¹, XIN Meng-xue², LIU Jing¹, HONG Yong-dun¹, LIU Nan¹, ZHAO Jing¹. Department of Emergency¹, Department of Neonatology², the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the levels of IL-17 and IL-35 in patients with acute coronary syndrome (ACS), and to explore the correlation between them and cardiac troponin I (cTnI), brain natriuretic peptide (BNP), left ventricular ejection fraction (LVEF). **Methods** A total of 143 cases of patients with ACS, including 45 cases of ST elevation acute myocardial infarction (STEMI), 37 cases of non-ST segment elevation acute myocardial infarction (NSTEMI), and 61 cases of unstable angina patients (UAP), who admitted to the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine from July 2016 to September 2017, were selected as the research subjects. At the same time, a total of 30 cases of physical examination in our hospital were selected as the control group. Serum IL-17, IL-35 were detected by ELISA, and the echocardiography LVEF values were determined by Simpson method. The correlation between the indexes was analyzed by Pearson correlation. **Results** The levels of IL-35 and IL-17 were respectively (40.71±14.96) pg/mL and (45.72±13.75) pg/mL in the STEMI group versus corresponding (79.84±21.41) pg/mL and (15.64±9.83) pg/mL in the UAP group ($P<0.05$); but there was no significant difference between the STEMI and NSTEMI group, (45.96±17.52) pg/mL and (39.13±10.94) pg/mL, in the levels of IL-35 and IL-17 ($P>0.05$). The level of IL-35 in the patients with ACS were negatively correlated with cTnI, BNP, D-Dimer ($r=-0.652, -0.571, -0.484$, respectively), and positively correlated with LVEF ($r=0.436, P<0.05$); while the IL-17 level were positively correlated with cTnI, BNP, D-Dimer ($r=0.573, 0.416, 0.597, P<0.05$), and negatively correlated with LVEF ($r=-0.391, P<0.05$). **Conclusion** The levels of IL-17 and IL-35 in the peripheral blood of ACS patients can reflect the severity of ACS in a certain extent, and can be used as an independent predictor of acute cardiovascular events in coronary heart disease.

【Key words】 Coronary heart disease; Acute coronary syndrome (ACS); Th/Tregs; IL-17; IL-35; Immune inflammatory

急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)包括急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)及不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UA),其中AMI又分为ST段抬高的心肌梗死(STEMI)及非ST段抬高心肌梗死(NSTEMI)。研究表明炎症因子及免疫应答参与动脉粥样硬化发生发展的全过程。T淋巴细胞是介导免疫应答的主要细胞,根据其功能特点分为

辅助性T细胞(Th)和调节性T细胞(Treg)等不同亚群。冠心病患者主要表现为Th细胞功能亢进, Th/Tregs比例失调^[1]。免疫机制是斑块破裂及动脉粥样硬化发生的重要机制,理解这些机制有助于揭示动脉粥样硬化的本质,识别ACS高危人群。本研究旨在测定ACS患者外周血清Th/Tregs主要效应分子水平,并探讨其与肌钙蛋白I(cTnI)、血浆D-二聚体(D-Dimer)

基金项目:广东省中医药局建设中医药强省科研项目(编号:20161126)

通讯作者:余锋。E-mail:doctoryufeng@126.com

的相关性,评估其临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年7月至2017年9月就诊于广州中医药大学第一附属医院急诊科、心内科门诊及病区的ACS患者。健康受试者来源于本院体检保健科体检人群,为经冠脉造影等检查排除冠心病或其他器质性心脏病。其中AMI诊断标准参照中华医学会心血管分会2001年发布的“急性心肌梗死诊断和治疗指南”以及欧洲心脏病学会2008年指南。纳入标准:符合ACS的诊断标准;配合诊断治疗,依从性好;同意并签署知情同意书者。剔除标准:严重的肝肾等脏器功能不全者;合并肺、胆道等部位感染;恶性肿瘤患者和风湿免疫性疾病。共纳入合格受试对象143例,其中STEMI患者37例,NSTEMI患者45例,UAP患者61例;对照组共入选30例。

1.2 观察指标与检测方法

1.2.1 白介素-17(IL-17)、白介素-35(IL-35)水平测定 患者均在入院第二天清晨空腹平卧位情况下取外周静脉血5 mL,肝素钠抗凝,3 000 r/10 min高速离心后取上清液置于-80℃冰箱保存待测。IL-17、IL-35水平检测所用的ELISA试剂盒购自上海继锦化学科技公司,由本单位专业实验人员进行检测,操作过程严格按照产品说明书进行。实验中设置空白对照和阴性对照以最大程度确保检测结果可靠。D-Dimer、cTnI及BNP检测在本院检验科进行。

1.2.2 左心室射血分数(LVEF)测定 所有ACS患者在入院时行超声心动图常规检查,采用GE公司的GE Vivid E9超声心动图仪,探头频率2~4 MHz,测定心脏各心腔大小,以二维双平面改良 Simpson 法测得LVEF。如对所测定数值有疑问,则由另一位超声心动室中中级以上职称医师复测。

表2 各组受检者的实验室指标及LVEF值水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL-35 (pg/mL)	IL-17 (pg/mL)	cTnI (μ g/L)	BNP (pg/mL)	LVEF (%)
STEMI组	37	40.71 \pm 14.96 ^a	45.72 \pm 13.75 ^a	8.64 \pm 5.2 ^a	348.4 \pm 76.51 ^a	43.5 \pm 9.3 ^a
NSTEMI组	45	45.96 \pm 17.52	39.13 \pm 10.94	5.71 \pm 4.3	298.7 \pm 53.47	46.7 \pm 7.1
UAP组	61	79.84 \pm 21.41	15.64 \pm 9.83	-	104.8 \pm 24.16	59.7 \pm 8.1
对照组	30	126.47 \pm 21.43	6.32 \pm 2.1	-	-	65.2 \pm 7.8
F/t值		21.53	54.37	4.86	129.74	48.27
P值		0.01	0.00	0.67	0.00	0.38

注:与UAP及对照组比较,^a $P<0.05$ 。

2.3 IL-17、IL-35水平与各指标的相关性 以Pearson相关性分析IL-17、IL-35与cTnI、BNP、LVEF及D-Dimer的相关性,结果表明,ACS患者IL-35水平和cTnI、BNP及D-Dimer均呈一定负相关性($P<0.05$),与LVEF呈正相关;而IL-17水平与cTnI、BNP及D-Dimer呈正相关($P<0.05$),但与LVEF呈负相关。IL-17与IL-35之间无明显相关性($P>0.05$)。一般根据相关系数 $r\leq 0.3$ 为相关性较差, $0.3<r\leq 0.6$ 为中度相关, $0.6<r\leq 0.8$ 提示相关程度较高, $r>0.8$ 时表示有很高的相关性,可

1.3 统计学方法 采用Excel建立数据库,由两位研究者独立输入计算机并进行交叉核对,核对无误后采用SPSS17.0统计软件包进行统计分析。计量资料符合正态分布,以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,计数资料采用率或构成比表示,成组四格表计数资料符合条件采用Pearson χ^2 检验。多组间计量资料比较采用Oneway ANOVA检验,两两比较采用LSD检验,指标间的关系用Pearson相关性分析。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组受检者的基线情况比较 STEMI组37例,男性20例,女性17例,平均年龄(59.8 \pm 10.4)岁;NSTEMI组45例,男性25例,女性20例,平均年龄(57.4 \pm 11.6)岁;UAP组61例,男性39例,女性22例,平均年龄(61.3 \pm 9.8)岁;对照组30例,男性19例,女性11例,平均年龄(45.1 \pm 7.4)岁。各组受检者在年龄、性别,以及三组患者所患基础疾病方面比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。

表1 各组受检者的基线资料比较例(%]

组别	例数	高血压	糖尿病	血脂异常	吸烟
STEMI组	37	19 (51.35)	8 (21.62)	12 (32.43)	21 (56.75)
NSTEMI组	45	27 (60.00)	14 (31.11)	18 (40.00)	26 (57.77)
UAP组	61	38 (62.29)	19 (31.14)	26 (42.62)	33 (54.09)
χ^2 值		1.181	1.213	1.023	0.156
P值		0.554	0.545	0.600	0.925

2.2 各组受检者的实验室指标及LVEF值比较 STEMI组患者的IL-35水平最低,而IL-17水平最高,与UAP组和对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$),而IL-35与IL-17、LVEF水平在STEMI与NSTEMI组间比较差异均无统计学意义($P>0.05$);cTnI水平与BNP指标方面,STEMI组较NSTEMI组明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表2。

以看出与IL-35有较高程度相关性的指标为cTnI,而D-Dimer、cTnI和IL-17相关性较好,见表3及图1。

表3 IL-17、IL-35与各指标的相关性

检测指标	IL-17		IL-35	
	r值	P值	r值	P值
cTnI	-0.652	0.000	0.573	0.000
LVEF	0.436	0.000	-0.391	0.000
BNP	-0.571	<0.05	0.416	<0.05
D-Dimer	-0.484	0.000	0.597	0.000

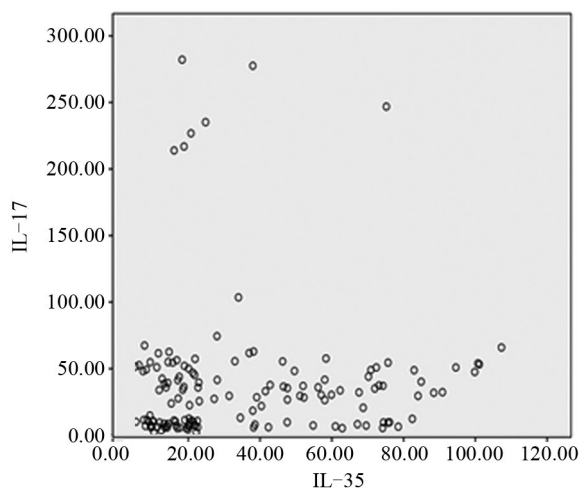


图1 AC患者 IL-35 水平和 IL-17 水平散点图

3 讨论

随着人口老龄化及心血管危险因素流行,冠心病已成为我国医疗卫生的沉重负担,到2030年我国冠心病患者将会超过2千万^[2]。急性冠脉综合征是导致我国冠心病患者死亡的重要原因,因此提高ACS的救治水平尤为重要。对于临床可疑ACS的患者,初始的病史询问及体格检查、心电图并不能确诊和排除ACS。如应用危险程度评分,同时结合初始肌钙蛋白检测,可提供更多的诊断线索,但诊断的准确率仍有待提高^[3]。迄今ACS的最佳生物标志物仍未明确,目前临床使用较为广泛的是cTnI、CRP、BNP,其他生物标志物多处于研究阶段。超敏肌钙蛋白可能是最佳选择之一,但仍有一些问题需要解决^[4]。因此亟待寻找新的能反映心肌损伤和病情严重程度的标志物。

近年研究表明免疫炎症以及促血栓形成机制在动脉粥样硬化的病理形成过程中起了重要作用,其中包括斑块的不稳定性进展以及破裂。动物实验证实CD4⁺T细胞的激活可促进不稳定性动脉粥样硬化斑块的活化^[5]。CD4⁺T淋巴细胞参与了动脉粥样硬化的产生与发展过程,T淋巴细胞在其中起了重要的作用^[6]。Th17细胞是最近几年新发现的CD4⁺T亚群,它能够分泌IL-17但不能分泌IFN- γ ,IL-17是Th17细胞亚群的主要效应因子。研究发现冠状动脉的T淋巴细胞分泌的IL-17与IFN- γ 能够导致血管平滑肌细胞的炎症状态^[7],表明Th17细胞及其分泌的IL-17在冠心病的发生以及形成过程中具有致病作用。动物实验显示IL-17对动脉粥样硬化的形成具有关键影响^[8],但是IL-17在AMI发生过程中所扮演的角色还缺乏深入研究。调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)细胞是机体免疫系统的重要组成部分,可通过表达IL-4、IL-10等抗炎因子抑制AS的发生、发展和泡沫细胞的形成,因此Treg细胞数量的减少和功能的降低是ACS发生、发展的重要原因之一。IL-35具有诸多抗AS作用,如有免疫抑制及抗炎作用;能抑制致炎T淋巴细胞活性包括Th1、Th17及树突状细胞;促进Tregs增殖,增强Tregs的抑制功能,诱导产生可诱导性IL-35促Tregs;

促进抗炎因子如IL-10的生成同时下调致炎因子如IL-17的表达。以上诸多特性提示干预IL-35有望成为治疗动脉粥样硬化方面新的靶点^[9-10]。研究表明在ACS各组中,STEMI组IL-35水平最低,而IL-17水平最高,与UAP组和对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),这从一个侧面反映STEMI患者炎症反应较其他组严重,且体内抗炎因子分泌水平即抑制动脉粥样硬进展的活性相对较低,抗炎/致炎这一动态平衡关系被打破,处于失衡状态。而IL-35与IL-17、LVEF水平在STEMI与NSTEMI组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$),提示对于急性心肌梗死患者,虽然存在梗死面积大小、梗死部位的不同以及心电图ST段是否抬高差异,且肌钙蛋白水平与BNP指标方面,STEMI组较NSTEMI组明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。但体内炎症-免疫反应并无太大差别,临床决策决不能掉以轻心。这同时也说明从炎症免疫角度干预ACS可能比仅关注肌钙蛋白水平更有意义。IL-17、IL-35与各实验指标的相关性分析方面,与IL-35有较高程度相关性的指标为cTnI,而D-Dimer、cTnI和IL-17相关性较好。这与国内文献报道冠心病患者IL-35水平和LVEF呈显著正相关的结果不同^[11-12],原因可能在于本研究所纳入的心肌梗死患者IL-35水平较低,以及所采用的评价相关系数的标准不同有关。此外因LVEF数值的测定尚有一定的主观性,操作者的水平在一定程度上影响了LVEF的估测数值,如何避免主观偏倚至关重要。仔细分析该两篇文献关于IL-35与LVEF的相关系数仅为0.41、0.36,虽然P值有统计学意义,但尚不能认为IL-35与LVEF水平呈显著正相关。IL-17与IL-35之间无明显相关性($P > 0.05$),表明人体内的免疫/炎症机制十分复杂,Th与Tregs的比例失衡可能需要寻找更好的标志物来体现。

本研究的不足之处在于因样本量不足,未能行回归分析进一步探讨Th/Tregs与ACS心肌损伤标志物之间的数量依存关系。且所纳入病例多为岭南地区ACS患者相关检测数据,部分患者因罹患高血压、糖尿病等基础病,平素多有服用中成药,试验结果可能受到患者地域特点、平素服药史等因素的影响。ACS患者的IL-17及IL-35等指标并非固定不变,而是呈动态演变过程,因此如能动态追踪ACS患者整个病程过程中的免疫/炎症因子水平的变化进而探讨其相关性,可能会得出更为可靠的结论。对于Th/Tregs在ACS发病中的过程以及能否作为临床干预的靶点有待今后进一步深入的研究。

参考文献

- [1] Cheng X, Liao YH, Ge H, et al. Th1/Th2 functional imbalance after acute myocardial infarction: coronary arterial inflammation or myocardial inflammation [J]. J Clin Immunol, 2005, 25(3): 246-253.
- [2] Wang S, Marquez P, Langenbrunner J, et al. Toward a healthy and harmonious life in China: stemming the rising tide of non-communicable disease [D]. Washington DC: World Bank, 2011.
- [3] Fanaroff AC, Rymer JA, Goldstein SA, et al. Does this patient with chest pain have acute coronary syndrome? The rational clinical examination systematic review [J]. JAMA, 2015, 314(18): 1955-1965.

基于急重症脑卒中伴脑心综合征 近期死亡危险因素的风险评估模型分析

沈友进, 万婷玉, 王丹, 任庆华, 任志军, 李孟修, 王艳竹
(江门市人民医院神经内科, 广东 江门 529020)

【摘要】 目的 构建基于急重症脑卒中伴脑心综合征患者近期死亡危险因素的风险评估模型, 分析该模型对指导开展医疗干预的价值。方法 回顾性分析2012年1月至2017年1月江门市人民医院神经内科收治的127例急重症脑卒中伴脑心综合征患者院内救治资料。统计患者脑心综合征相关资料, 通过Cox回归分析明确患者6个月内死亡的独立危险因素, 构建风险评估模型, 通过受试者工作曲线(ROC)测评该模型对患者6个月内死亡的预测价值, 并获取最佳截断值。根据最佳截断值将患者划分为高风险组和低风险组, 对比两组患者的临床干预效果。**结果** 127例患者死亡31例; 高血清肌酸激酶(CK)、高肌酸激酶同工酶(CK-MB)、高乳酸脱氢酶(LDH)、高 α -羟丁酸脱氢酶(α -HBDH)是患者近期死亡的独立危险因素($OR=1.030, 1.301, 1.019, 1.035$; P 均 <0.05); 患者6个月内死亡的风险评估模型为风险评分 $=0.030 \times CK + 0.263 \times CK-MB + 0.019 \times LDH + 0.034 \times \alpha-HBDH$, 该模型对患者死亡的预测ROC曲线下面积为0.975, 风险评分的最佳截断值为25.582分, 其诊断敏感度为0.935, 特异度为0.958。评分 ≥ 25.582 分的患者6个月死亡率明显高于评分 <25.582 分患者, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 患者6个月内死亡的风险评估模型为风险评分 $=0.030 \times CK + 0.263 \times CK-MB + 0.019 \times LDH + 0.034 \times \alpha-HBDH$, 入院早期检测上述指标有助于预测患者预后, 并对患者开展针对性干预。

【关键词】 脑卒中; 脑心综合征; 近期预后; 危险因素; 风险评估模型

【中图分类号】 R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2018)11-1489-04

Analysis of risk assessment models based on the short-term mortality risk factors of acute severe stroke patients with cerebral cardiac syndrome. SHEN You-jin, WAN Ting-yu, WANG Dan, REN Qing-hua, REN Zhi-jun, LI Meng-xiu, WANG Yan-zhu. Department of Neurology, the People's Hospital of Jiangmen City, Jiangmen 529020, Guangdong, CHINA

【Abstract】 Objective To construct the risk assessment model based on the short-term mortality risk factors in patients with acute severe stroke and cerebral cardiac syndrome, and analyze the value of this model in guiding medical intervention. **Methods** A total of 127 cases of patients with severe acute stroke and cerebral cardiac syndrome, who were treated in Department of Neurology of the People's Hospital of Jiangmen City from January 2012 to January 2017, were analyzed retrospectively. The data related with cerebral cardiac syndrome were observed, and the risk factors of short-term mortality were screened by Cox regression analysis. Then a risk assessment model for short-term mortality was constructed, and its value to predict short-term mortality and the optimal cut-off value were analyzed by receiver operating characteristic curve (ROC). According to the optimal cut-off value, the patients were divided into the high-risk group and low risk group, and their effect of clinical intervention were compared. **Results** Among the 127 patients, 31 patients died. High serum creatine kinase (CK), high creatine kinase isoenzyme (CK-MB), high lactate dehydrogenase (LDH), high α -hydroxybutyrate dehydrogenase (α -HBDH) were independent risk factors of short-term mortality ($OR=1.030, 1.301, 1.019, 1.035$; all $P < 0.05$). The risk assessment model for mortality within 6 months was risk scores $=0.030 \times$

通讯作者: 沈友进。E-mail: shen_youjin@qq.com

- [4] 边美琪, 马根山. 急性冠脉综合征生物标志物的研究[J]. 现代医学, 2017, 45(1): 157-162.
- [5] Jain MK, Sangwung P, Hamik A. Regulation of an inflammatory disease: Kruppel-like factors and atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34 (3): 499-508.
- [6] Oliveira RT, Silva RM, Teo FH, et al. Detection of TCD4⁺ subsets in human carotid atheroma [J]. Cytokine, 2013, 62(1): 131-140.
- [7] Eid RE, Rao DA, Zhou J, et al. Interleukin-17 and interferon-gamma are produced concomitantly by human coronary artery-infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells [J]. Circulation, 2009, 119(10): 1424-1432.
- [8] Smith E, Prasad KM, Butcher M, et al. Blockade of interleukin-17A results in reduced atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. Circulation, 2010, 121(15): 1746-1755.
- [9] Bobryshev YV, Sobenin IA, Orekhov AN, et al. Novel anti-inflammatory interleukin-35 as an emerging target for anti-atherosclerotic therapy [J]. Curr Pharm Des, 2015, 21(9): 1147-1151
- [10] Li X, Mai J, Virtue A, et al. IL-35 is a novel responsive anti-inflammatory cytokine—a new system of categorizing anti-inflammatory cytokines [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e33628.
- [11] 黄瑛, 施莹, 林英忠, 等. 冠心病患者血浆白介素-35水平与左室射血分数相关性分析[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(23): 3877-3880.
- [12] 胡瑞兰, 任俊, 张冬凤. 血浆 IL-35 水平评价冠心病及其与冠脉 Gensini 积分和 LVEF 的相关性[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24 (4): 408-410.

(收稿日期: 2017-10-10)