

冠心病患者血浆白细胞介素-35 水平及临床意义的探讨

台适¹ 周胜华¹ 刘启明¹ 胡信群¹ 方臻飞¹ 唐亮¹

[关键词] 冠心病;白细胞介素-35;高敏 C 反应蛋白;N 末端脑钠肽前体;动脉粥样硬化

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2014.01.025

[中图分类号] R541.4 [文献标志码] A

The plasma IL-35 levels in patients with coronary heart disease and its clinical significance

TAI Shi ZHOU Shenghua LIU Qiming HU Xinqun FANG Zhenfei TANG Liang
(Department of Cardiology, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan, 410011, China)

Corresponding author: ZHOU Shenghua, E-mail: zhoushenghua_guo@163.com

Summary This study was designed to observe the change of the plasma IL-35 levels in patients with different type of coronary heart disease (CHD) and analyzed its correlation with coronary gensini score, high-sensitive C-reactive protein (hs-CRP) and NT-proBNP. The results showed that plasma IL-35 levels were significantly decreased in the SAP group, the UAP group, and the AMI group compared with the patients in control group [(95.71±4.05) vs (111.44±4.57), $P<0.001$; (45.00±3.18) vs (111.44±4.57), $P<0.001$; (28.25±3.19) vs (111.44±4.57), $P<0.001$, respectively]. Furthermore, lower IL-35 levels were moderately negatively correlated with NT-proBNP ($r=-0.567$, $P<0.01$) and hs-CRP ($r=-0.718$, $P<0.01$) in CHD patients, whereas the levels of IL-35 were not related to the Gensini score.

Key words coronary disease; interleukin-35; high sensitive-C reaction protein; NT-proBNP; atherosclerosis

目前认为抗炎性细胞因子与促炎性细胞因子之间的失衡最终导致动脉粥样硬化的进展、斑块的不稳定以及急性缺血事件的发生^[1-3]。2007 年, Niedbala 等^[4]和 Collison 等^[5]分别发表了关于 IL-35 的文章,证实 IL-35 是由两个亚基 IL-12 α 链 p35 和 IL-27 β 链 EB13 以二硫键共价连接而成,由 CD4⁺ T

不稳定的发生。2007 年, Niedbala 等^[4]和 Collison 等^[5]分别发表了关于 IL-35 的文章,证实 IL-35 是由两个亚基 IL-12 α 链 p35 和 IL-27 β 链 EB13 以二硫键共价连接而成,由 CD4⁺ T

¹ 中南大学湘雅二医院心内科(长沙,410011)
通信作者:周胜华, E-mail: zhoushenghua_guo@163.com

参考文献

- [1] EPSTEIN A E, DIMARCO J P, ELLENBOGEN K A, et al. ACC/AHA/HRS 2008 Guidelines for device-based therapy of cardiac rhythm abnormalities: executive summary a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines developed in collaboration with the American Association for Thoracic Surgery and Society of Thoracic Surgeons[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 51: 2085-2086.
- [2] 中华医学会心电生理和起搏分会心脏再同步治疗专家工作组. 心脏再同步治疗慢性心力衰竭的建议[J]. 中华心律失常学杂志, 2006, 10(2): 90-102.
- [3] The Antiarrhythmics versus Implantable Defibrillators (AVID) Investigators. A comparison of antiarrhythmic-drug therapy with implantable defibrillators in patients resuscitated from near-fatal ventricular arrhythmias[J]. N Engl J Med, 1997, 337: 1576-1583.
- [4] KUCK K H, COPPATO R. Randomized comparison of antiarrhythmic drug therapy with implantable defibrillator in patients resuscitated from cardiac arrest: the cardiac arrest study hamberg (CASH) [J]. Circulation, 2000, 102: 748-754.
- [5] WATHEN M S, SWEENEY M O, DE GROOT P J, et al. Shock reduction using anti-tachycardia pacing for spontaneous rapid ventricular tachycardia in patients with coronary artery disease[J]. Circulation, 2001, 104: 796-801.
- [6] WATHEN M S, DE GROOT P J, SWEENEY M O, et al. Prospective randomized multi-center trial of empirical antitachycardia pacing versus shocks for spontaneous rapid ventricular tachycardia in patients with implantable cardioverter defibrillators: PainFREE RxII Trial Results[J]. Circulation, 2004, 110: 2591-2596.
- [7] 华伟, 张澍, 王方正, 陈珂萍, 等. 植入式心律转复除颤器抗心动过速起搏治疗室性心动过速疗效分析[J]. 中华心律失常学杂志, 2005, 9(5): 341-343.
- [8] ROSENQVIST M. Pacing techniques to terminate ventricular tachycardia[J]. PACE, 1995, 18: 592-594.
- [9] 陈珂萍, 陈若菡, 王方正, 等. 植入式心律转复除颤器不适当识别和治疗的发生率及常见原因[J]. 中华心律失常学杂志, 2006, 10(6): 409-413.

(收稿日期: 2013-09-11)

细胞群中静息和活化的调节 T 细胞(Treg)分泌。最近报道称,在促炎性因子的作用下非 T 细胞中也可以表达 IL-35^[6],但不表达于效应性 T 细胞。目前证据均显示 IL-35 可以有效地抑制效应性 T 细胞(Teff)的增殖和活化,诱导 iTreg 细胞生成,在自身免疫性疾病和病毒感染性疾病中发挥着重要作用^[7]。并且,在人颈动脉粥样硬化进展斑块中发现 EB13 和 p35 强表达,提示 IL-35 可能与动脉粥样硬化存在联系^[8]。本研究旨在了解 IL-35 在冠心病患者血浆中的变化从而探讨其临床意义。

1 对象

纳入湘雅二医院心内科病房和急诊病房 2012-06-2013-03 入院治疗并且经冠状动脉(冠脉)造影证实的冠心病患者共 97 例,根据入院时的临床诊断分为以下 4 组:①稳定型心绞痛组;②不稳定型心绞痛组;③急性心肌梗死组;④正常对照组。湘雅二医院心内科病房同期入院冠脉造影正常的住院患者,诊断为心脏神经综合征。

排除标准:①合并有感染、恶性肿瘤及自身免疫性疾病者;②肺源性心脏病、风湿性心脏病和心脏瓣膜病等其他器质性心脏病;③1 型糖尿病及哮喘急性发作者;④严重肝肾功能不全者;⑤ AIDS 患者;⑥近 6 个月内有手术或创伤、脑出血史,近期服用肾上腺皮质激素或其他免疫调节剂药物者。

所有入选患者均签署知情同意书,并通过医院伦理委员会的认证。

收集一般资料。各组均取晨空腹静脉血采用生化分析仪测定谷丙氨基转移酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、N 末端脑钠肽前体(NT-pro BNP)以及肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)及肌钙蛋白 T(cTnT)等指标,采用透射免疫比浊法检测高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)。

按美国心脏学会(AHA)冠脉造影指南行冠脉造影,由计算机辅助测径系统(QCA)对左前降支(LAD)、回旋支(LCX)和右冠脉(RCA)的直径进行定量分析,冠脉病变程度以 Gensini 积分^[9]表示。

采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血浆 IL-35 浓度。

2.3 统计学处理

采用 SPSS16.0 统计软件包处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以频数表示。计量资料服从正态分布的数据多组间均值比较采用单因素的方差分析。计数资料使用行×列表资料的 χ^2 检验。hs-CRP 及 NT-proBNP 均不服从正态分布,遂采用自然对数转换后进行统计分析。相关性分析采用 Pearson 相关分析。

2 结果

2.1 临床资料及生化指标的比较

4 组基本临床资料比较见表 1。

2.2 不同组间血浆 IL-35、hs-CRP、NT-proBNP 水平及 Gensini 积分分析

不同组间血浆 IL-35、hs-CRP、NT-proBNP 水平及 Gensini 积分分析见表 2。

吸烟患者(55 例)与不吸烟患者(72 例)血浆 IL-35 水平比较差异无统计学意义 $[(71.52 \pm 36.40) \text{ pg/ml} : (62.79 \pm 40.25) \text{ pg/ml}, P = 0.321]$;糖尿病患者(46 例)与非糖尿病患者(81 例)血浆 IL-35 水平比较差异无统计学意义 $[(70.52 \pm 40.60) \text{ pg/ml} : (61.87 \pm 29.93) \text{ pg/ml}, P = 0.364]$ 。

2.3 IL-35 与 hs-CRP、NT-proBNP 及冠脉 Gensini 积分的相关性分析

对冠心病组患者血浆 IL-35 水平与 hs-CRP 及 NT-proBNP 水平进行线性相关分析发现,IL-35 与 hs-CRP 水平显著负相关 $(r = -0.718, P < 0.01)$, IL-35 水平与 NT-proBNP 水平呈显著负相关 $(r = -0.567, P < 0.01)$;冠心病患者 IL-35 与冠脉 Gensini 积分相关性分析发现,稳定型心绞痛组、不稳定型心绞痛组及急性心肌梗死组 IL-35 与 Gensini 积分相关性分析差异均无统计学意义:稳定型心绞痛组 $(r = 0.343, P = 0.151)$;不稳定型心绞痛组 $(r = 0.338, P = 0.124)$;急性心肌梗死组: $(r = 0.141, P = 0.552)$ 。

3 讨论

我们发现与对照组和稳定型心绞痛组相比,急性心肌梗死和不稳定型心绞痛患者血浆中 IL-35 水平显著降低,且血浆 IL-35 水平与 hs-CRP 呈负相关,提示冠心病患者血浆 IL-35 水平与粥样硬化斑块炎症反应密切相关。目前认为,机体促炎性细胞因子和抗炎性细胞因子之间处于灵敏的调控和平衡体系中,当机体这种平衡被打破,促炎性细胞因子表达过度,抗炎性细胞因子表达不足,这种失衡状态将成为动脉粥样硬化发生和发展的重要因素^[1,3]。促炎性细胞因子主要包括 IFN- γ 、TNF- α 、IL-12 和 IL-27 等。在粥样斑块形成早期可以在病变中检出 IFN- γ 、TNF- α ,并且在不稳定斑块中大量表达。IL-12 是促进 Th1 细胞增殖、分化和成熟的主要细胞因子,并促使 Th1 细胞分泌 IFN- γ 。在给予 ApoE 基因敲除小鼠重组 IL-12 处理后,可加重小鼠动脉粥样硬化的进展^[10]。类似于 IL-12 作用的 IL-27 可正向诱导 Th1 型反应的同时也可负向调节 Th2 型反应^[11-12]。目前认为抗炎性细胞因子主要包括转化生长因子(TGF- β 1)、IL-10 和 IL-35。TGF- β 1 能够抑制炎症细胞的迁移和活化以及炎症递质的表达^[13-14],并且通过增加细胞外基质合成和

表 1 一般资料及生化指标比较

Table 1 General data

 $\bar{x} \pm s$

| 基本临床资料 | 正常对照组 (30 例) | 稳定型心绞痛组 (31 例) | 不稳定型心绞痛组 (35 例) | 急性心肌梗死组 (31 例) |
|--------------------------------|-----------------|------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| 男:女/例 | 11:19 | 19:12 ¹⁾ | 25:10 ¹⁾ | 25:6 ¹⁾ |
| 年龄/岁 | 59.67±7.43 | 60.90±8.00 | 63.90±5.82 | 63.42±6.13 |
| 身高/cm | 165±6.24 | 163±6.16 | 165±5.63 | 166±6.16 |
| 体重/kg | 65.50±7.37 | 67±7.49 | 64.46±8.27 | 66.13±6.94 |
| BMI/(kg·m ⁻²) | 24.12±2.18 | 25.13±2.27 | 23.67±2.45 | 24.01±1.39 |
| 吸烟/例(%) | 10(33.3) | 13(41.9) | 12(34.3) | 20(64.5) |
| 糖尿病/例(%) | 0(0) | 16(51.6) ¹⁾ | 17(48.6) ¹⁾ | 13(41.9) ¹⁾ |
| SBP/mmHg | 138.90±21.45 | 142.75±17.48 | 137.67±18.36 | 143.21±20.56 |
| DBP/mmHg | 81.56±10.24 | 82.52±14.35 | 80.63±11.68 | 85.73±12.05 |
| ALT/(U·L ⁻¹) | 22.45±9.21 | 23.69±11.40 | 20.58±8.19 | 22.06±9.07 |
| AST/(U·L ⁻¹) | 23.26±6.43 | 22.03±5.57 | 22.06±8.56 | 127.98±28.97 ¹⁾²⁾³⁾ |
| BUN/(mmol·L ⁻¹) | 5.90±1.97 | 6.19±1.82 | 6.81±2.37 | 5.85±0.68 |
| Cr/(μmol·L ⁻¹) | 98.67±20.89 | 101.34±36.3 | 95.41±18.92 | 88.92±22.02 |
| UA/(μmol·L ⁻¹) | 335.21±96.45 | 345.76±84.12 | 344.32±104.11 | 318.13±83.62 |
| TC/(mmol·L ⁻¹) | 4.65±1.03 | 4.57±0.83 | 4.45±1.04 | 4.79±0.91 |
| LDL-C/(mmol·L ⁻¹) | 2.86±0.86 | 2.72±0.83 | 2.76±0.73 | 3.17±0.82 |
| TG/(mmol·L ⁻¹) | 1.56±0.78 | 1.26±0.49 | 1.66±0.82 | 1.73±0.99 |
| HDL-C/(mmol·L ⁻¹) | 1.01±0.25 | 0.90±0.19 | 0.87±0.28 | 0.81±0.29 |
| CK-MB/(U·L ⁻¹) | 5.73±1.60 | 5.79±1.79 | 6.01±1.81 | 29.87±13.18 ¹⁾²⁾³⁾ |
| hs-cTnT/(pg·ml ⁻¹) | 19.00±3.12 | 21.10±7.13 | 24.35±6.56 | 1 674.50±541.20 ¹⁾²⁾³⁾ |

与正常对照组比较,¹⁾ $P<0.05$;与稳定型心绞痛组比较,²⁾ $P<0.05$;与不稳定型心绞痛组比较,³⁾ $P<0.05$ 。

表 2 不同组间 IL-35、Gensini score、hs-CRP 和 NT-proBNP 比较

Table 2 The levels of IL-35, Gensini score, hs-CRP and NT-proBNP

 $\bar{x} \pm s$

| | 正常对照组 (30 例) | 稳定型心绞痛组 (31 例) | 不稳定型心绞痛组 (35 例) | 急性心肌梗死组 (31 例) |
|----------------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| IL-35/(pg·ml ⁻¹) | 111.44±4.57 | 95.71±4.05 ¹⁾ | 45.00±3.18 ¹⁾²⁾ | 28.25±3.19 ¹⁾²⁾ |
| Gensini 积分 | 0 | 58.50±5.40 ¹⁾ | 88.91±7.81 ¹⁾ | 63.45±6.23 ¹⁾ |
| hs-CRP/(ng·ml ⁻¹) | 0.96±0.42 | 2.52±2.05 ¹⁾ | 8.34±7.22 ¹⁾²⁾ | 16.50±17.94 ¹⁾²⁾ |
| NT-proBNP/(pg·ml ⁻¹) | 37.11±22.70 | 328.79±400.81 ¹⁾ | 527.88±365.55 ¹⁾ | 1 634.75±1 990.79 ¹⁾²⁾ |

与正常对照组比较,¹⁾ $P<0.05$;与稳定型心绞痛组比较,²⁾ $P<0.05$ 。

减少细胞外基质的降解,形成较厚的纤维帽从而稳定斑块^[15]。IL-10 可以抑制 T 细胞活化增殖及诱导活化的 T 细胞凋亡、减轻移植排斥反应、诱导免疫耐受,减慢动脉粥样硬化的进程^[16]。Kempe 等^[8]取颈动脉粥样斑块标本,发现在斑块中 EB13 在平滑肌细胞处呈阳性表达。同时,IL-35 的亚基 p35 在动脉粥样硬化标本中呈强阳性表达。对平滑肌细胞经促炎因子 TNF- α 和 IFN- γ 刺激后,发现 EB13 mRNA 和 p35 mRNA 明显升高,两种促炎细胞因子同时刺激平滑肌细胞时,进一步上调 EB13 和 p35 的表达。

然而,冠心病患者血浆 IL-35 水平明显降低,我们推测在动脉粥样硬化形成过程中促炎性细胞因子和抗炎性细胞因子数量均上调;另外,外周血中初始 T 细胞在多种细胞因子的作用下,更多地向

Th17 等效应性 T 细胞分化,向 Treg 细胞分化减少。因此我们认为,冠心病患者低水平的 IL-35 提示机体整体抗炎细胞因子不足,而促炎性细胞因子的表达过度,促使了动脉粥样硬化的发生和发展,和心血管事件的发生。同时我们发现冠心病患者血浆 IL-35 水平与 Gensini 积分无明显相关性,这证实 IL-35 的变化水平与冠脉的狭窄程度无明显关系。与此同时,我们发现冠心病患者外周血 IL-35 水平与 NT-proBNP 水平呈明显负相关。另外,Lin 等^[17]也发现 IL-35 的血浆水平与冠心病患者的左室射血分数明显正相关,因此推测 IL-35 水平与冠心病患者心功能密切相关。

综上所述,IL-35 低表达不仅提示机体抗炎反应不足,上调 IL-35 表达水平可能延缓动脉粥样斑块的进展,而且其与冠心病患者心功能之间存在一

定相关性。同时,我们必须承认本实验样本量少,还需大样本和多中心的临床观察来证实上述结论,为动脉粥样硬化的预防和治疗提供新的干预靶点。

参考文献

- [1] FROSTEGARD J, ULFGREN A K, NYBERG P, et al. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of pro-inflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines [J]. *Atherosclerosis*, 1999, 145: 33-43.
- [2] ALAM S E, NASSER S S, FERNAINY K E, et al. Cytokine imbalance in acute coronary syndrome [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2004, 4: 166-170.
- [3] TEDGUI A, MALLAT Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways [J]. *Physiol Rev*, 2006, 86: 515-581.
- [4] NIEBALA W, WEI X Q, CAI B, et al. IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulatory T cells and suppression of Th17 cells [J]. *Eur J Immunol*, 2007, 37: 3021-3029.
- [5] COLLISON L W, WORKMAN C J, KUO T T, et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function [J]. *Nature*, 2007, 450: 566-569.
- [6] 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: e33628-33628.
- [7] KOCHETKOVA I, GOLDEN S, HOLDERNESS K, et al. IL-35 stimulation of CD39+ regulatory T cells confers protection against collagen II-induced arthritis via the production of IL-10 [J]. *J Immunol*, 2010, 184: 7144-7153.
- [8] KEMPE S, HEINZ P, KOKAI E, et al. Epstein-barr virus-induced gene-3 is expressed in human atheroma plaques [J]. *Am J Pathol*, 2009, 175: 440-447.
- [9] GENSINI G G. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease [J]. *Am J Cardiol*, 1983, 51: 606-608.
- [10] LEE T S, YEN H C, PAN C C, et al. The role of interleukin 12 in the development of atherosclerosis in ApoE-deficient mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19: 734-742.
- [11] CAO Y, DOODES P D, GLANT T T, et al. IL-27 induces a Th1 immune response and susceptibility to experimental arthritis [J]. *J Immunol*, 2008, 180: 922-930.
- [12] TASSI E, BRAGA M, LONGHI R, et al. Non-redundant role for IL-12 and IL-27 in modulating Th2 polarization of carcinoembryonic antigen specific CD4 T cells from pancreatic cancer patients [J]. *PLoS One*, 2009, 4: e7234-7234.
- [13] BICKERSTAFF A, OROSZ C. Evidence for a limited contribution of immune regulation to cardiac allograft acceptance [J]. *Hum Immunol*, 2002, 63: 935-947.
- [14] FEINBERG M W, JAIN M K, WERNER F, et al. Transforming growth factor-beta 1 inhibits cytokine-mediated induction of human metalloelastase in macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 25766-25773.
- [15] 张文宗, 林钟香. 转化生长因子-β1 在冠心病中的研究进展 [J]. *实用医学杂志*, 2008, 7(21): 3779-3781.
- [16] LINDMARK E, TENNO T, CHEN J, et al. IL-10 inhibits LPS-induced human monocyte tissue factor expression in whole blood [J]. *Br J Haematol*, 1998, 102: 597-604.
- [17] LIN Y, HUANG Y, LU Z, et al. Decreased plasma IL-35 levels are related to the left ventricular ejection fraction in coronary artery diseases [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e52490-52490.

(收稿日期: 2013-07-29)

重要声明

近期,编辑部收到作者反映,有中介机构以本刊编辑部的名义接收稿件并收取费用,为维护广大作者的合法权益,本编辑部郑重声明:本刊编辑部没有委托任何中介机构接收稿件或收取费用,提醒作者谨防受骗。作者投稿可登陆武汉协和和医院杂志社官方网站:www.whuhzss.com。