

## • 临床研究 •

[文章编号] 1007-3949(2000)-02-0154-03

## 冠心病患者巨细胞病毒检测结果及临床意义

陈跃峰<sup>1</sup>, 杜心清<sup>1</sup>, 蔡元元<sup>2</sup>, 黄子扬<sup>1</sup>

(福建医科大学附属第二医院 1. 心内科, 2. 肝胆研究室; 福建省泉州市 362000)

[关键词] 巨细胞病毒感染; 白细胞; 冠状动脉疾病; 患者; 聚合酶链反应

[摘要] 为研究人巨细胞病毒感染与冠心病的关系, 利用人巨细胞病毒磷酸化蛋白 PP71 基因引物, 采用聚合酶链反应检测了 56 例冠心病患者和 42 例健康对照者外周血人巨细胞病毒, 同时应用全自动生物化学仪检测了血清总胆固醇、甘油三酯、载脂蛋白 A、载脂蛋白 B 含量。结果发现冠心病组血人巨细胞病毒阳性率为 58.93%, 显著高于对照组的 28.57% ( $P < 0.01$ ), 急性心肌梗死和不稳定型心绞痛患者血人巨细胞病毒的阳性率又高于其他类型冠心病患者 (77.27% 比 47.06%,  $P < 0.05$ ), 而冠心病患者中人巨细胞病毒阳性者与人巨细胞病毒阴性者各种血脂水平无明显差异。结果提示, 人巨细胞病毒感染与冠心病发病有关, 可能是冠心病的一个危险因素, 冠心病患者中有人巨细胞病毒感染者易于发生急性心肌梗死和不稳定型心绞痛。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

## The Clinical Significance of Detection of Human Cytomegalovirus in Patients with Coronary Heart Diseases

CHEN Yue- Feng<sup>1</sup>, DU Xin- Qing<sup>1</sup>, CAI Yuan- Yuan<sup>2</sup>, and HUANG Zi- Yang<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiology, 2. Laboratory of Hepatic and Cholecystic Disease, the 2nd Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou, Fujian 362000, China)

MeSH Cytomegalovirus Infection; White Blood Cell; Coronary Disease; Patients; Polymerase Chain Reaction

**ABSTRACT** **Aim** To explore the relationship between human cytomegalovirus (hCMV) infection and coronary heart disease (CHD). **Methods** Peripheral blood specimens from 56 CHD patients and 42 controls were detected by PCR for the presence of hCMV nucleic acid in white blood cell using the hCMV pp71 gene primer pair, and the levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), apolipoprotein A (Apo A), apolipoprotein B (Apo B) in serum were analyzed simultaneously. **Results** With the hCMV pp71 gene primer, hCMV nucleic acid was found in 58.93% of the CHD patients and in 28.57% of controls, the difference is significant ( $P < 0.01$ ). The positive rate of hCMV in acute myocardial infarction (AMI) and unstable angina pectoris (UAP) patients is higher than that in the other types of CHD patients (77.27% vs 47.06%,  $P < 0.05$ ). For the CHD patients, no significant difference in the levels of serum TC, TG, Apo A and Apo B was found between hCMV positive ones and hCMV negative ones. **Conclusion** hCMV infection is relevant to CHD, and may be regard as a risk factor for CHD; CHD patients with hCMV are apt to suffer from AMI and UAP.

冠心病 (coronary heart disease, CHD) 的病因和发病机制迄今尚未完全明了, 随着分子生物学的进展和研究的不断深入, 愈来愈多的证据表明病毒感染, 尤其是人巨细胞病毒 (human cytomegalovirus, hCMV) 感染可能促成了冠心病的发生和发展。本文采用聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 检测 56 例冠心病患者外周血白细胞中的 hCMV, 旨在探讨 hCMV 感染与 CHD 发病的关系。

[基金项目] 福建省教委科研资金资助 (项目编号: 97A094)

[作者简介] 陈跃峰, 男, 29 岁, 住院医师, 心血管内科; 杜心清, 男, 44 岁, 副主任医师, 副教授, 心血管内科; 蔡元元, 女, 40 岁, 主治医师, 检验科; 黄子扬, 男, 46 岁, 副主任医师, 副教授, 心血管内科。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象及分组

1.1.1 冠心病组 选择 1998 年 3 月~1999 年 6 月住院患者 56 例, 男 45 例, 女 11 例, 平均年龄  $68.4 \pm 10.1$  岁 (41~82 岁), 其中不稳定型心绞痛 (unstable angina pectoris, UAP) 12 例, 稳定型劳累性心绞痛 5 例; 急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 10 例, 陈旧性心肌梗死 9 例; 心力衰竭和心律失常型冠心病 20 例, 均符合 WHO 冠心病诊断标准, 除外心肌病、贫血、肝肾功能异常及各种感染性疾病、免疫性疾病、输血及应用激素和免疫抑制剂。

1.1.2 对照组 健康志愿者 42 例, 来自同期门诊

体检者,男 33 例,女 9 例,平均年龄  $65.7 \pm 7.9$  岁(45 ~ 79 岁)。

## 1.2 血巨细胞病毒检测

1.2.1 试剂仪器 PCR 诊断试剂盒由上海复星高科技(集团)有限公司提供。DNA 扩增仪(型号 HBPX05 220,英国 HYBAID 公司)。

1.2.2 操作 按说明书进行,每次实验均设立阳性及阴性对照组,质量控制采用重复试验原则。采取抗凝全血 2~3 mL,制备白细胞,采用 PCR 方法检测其中的 hCMV,主要检测 hCMV 磷酸化蛋白 PP71 基因序列,扩增产物长度 420 bp,引物序列为 PP1a 5'-TGA CGC GCA TAC ATC CCG AGT ACA T-3', PP1b 5'-ATG ACG TTG CTC CGT GGA AAG AGA CC-3'。反应条件:94℃加热 3 min 后进入循环,93℃ 45 s  $\rightarrow$  55℃ 45 s  $\rightarrow$  72℃ 60 s,共循环 35 次,最后 72℃延伸 5 min。

## 1.3 血脂检测

空腹采血 3 mL,3 h 内离心分离血浆,酶法测定总胆固醇(total cholesterol, TC)和甘油三酯(triglyceride, TG)含量(药盒由美国 Beckman 公司提供),免疫比浊法测定载脂蛋白 A 和载脂蛋白 B 含量(药盒由上海北海生物技术工程有限公司提供),采用美国 Beckman 公司生产的全自动化仪(型号 CX5CE),由厂家提供的标准血清,计算机自动进行质控。

## 1.4 数据的统计学处理

所有参数用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,率的比

较用  $\chi^2$  检验,两均数比较用  $t$  检验。

## 2 结果

### 2.1 血巨细胞病毒检测阳性率的比较

血巨细胞病毒检测阳性率如表 1 (Table 1) 所示,可见冠心病组血 hCMV 的阳性率为 58.93%,显著高于对照组的 28.57% ( $P < 0.01$ )。在冠心病组中,AMI 和 UAP 患者 hCMV 的阳性率为 77.27%,高于其他类型冠心病患者的 47.06% ( $P < 0.05$ )。

表 1. 冠心病组和对照组血巨细胞病毒检测结果.

Table 1. Detection of hCMV in control and CHD group.

Groups	n	Numbers of positive	Positive ratio (%)
Control	42	12	28.57
CHD	56	33	58.93 <sup>b</sup>
AMI+ UAP	22	17	77.27 <sup>a</sup>
Others	34	16	47.06

a:  $P < 0.05$ , compared with others in CHD group; b:  $P < 0.01$ , compared with control group.

### 2.2 血脂检测结果

血脂检测结果如表 2 (Table 2) 所示,可见冠心病组血 TC、TG 和载脂蛋白 A 含量均高于对照组,二者血载脂蛋白 B 含量无统计学差异;冠心病组及对照组中,hCMV 阳性者与 hCMV 阴性者各种血脂水平无明显差异。

表 2. 冠心病组与对照组血脂含量( $\bar{x} \pm s$ ).

Table 2. The level of serum lipid in control and CHD group.

Groups	n	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	Apo A (g/L)	Apo B (g/L)
CHD	56	$5.12 \pm 1.21^b$	$2.07 \pm 1.2^b$	$1.37 \pm 0.29^a$	$0.74 \pm 0.18$
hCMV P	33	$5.24 \pm 1.20$	$2.00 \pm 1.16$	$1.39 \pm 0.27$	$0.73 \pm 0.19$
hCMV N	23	$4.93 \pm 1.23$	$2.17 \pm 1.28$	$1.34 \pm 0.31$	$0.76 \pm 0.18$
Control	42	$4.50 \pm 0.87$	$1.10 \pm 0.34$	$1.26 \pm 0.20$	$0.79 \pm 0.12$
hCMV P	12	$4.31 \pm 0.72$	$1.01 \pm 0.30$	$1.28 \pm 0.19$	$0.76 \pm 0.12$
hCMV N	30	$4.57 \pm 0.92$	$1.14 \pm 0.36$	$1.26 \pm 0.20$	$0.80 \pm 0.12$

P: positive; N: negative. a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ , compared with control group.

## 3 讨论

冠心病的病因迄今尚未完全明了,已知的危险因素并不能完全解释动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的成因。近年来,很多临床和实验研究认为感染因素(包括肺炎衣原体、疱疹病毒、幽门螺杆菌)与动脉粥样硬化/冠心病的发病有关,并以人巨细胞病毒

复制出动脉粥样硬化的动物模型,随着分子生物学的进展,人们利用原位杂交技术、DNA 斑点杂交技术和 PCR 技术在动脉粥样硬化患者的动脉组织中检测到人巨细胞病毒-DNA,发现其阳性率显著高于健康对照组,且动脉中膜平滑肌细胞是人巨细胞病毒的一个潜伏场所<sup>[1]</sup>,从而更直接、有力地表明人巨细胞病毒参与了 As 的发生。研究表明,血中白细

胞也是人巨细胞病毒的一个潜伏场所, Fish 等<sup>[2]</sup> 提出人巨细胞病毒可在单核巨噬细胞内囊胞化以避免病毒降解和从细胞中清除, 从而持续生存于单核巨噬细胞内。因此, 可以从外周血中检测人巨细胞病毒来反映人巨细胞病毒感染情况。Melnick 等<sup>[1]</sup> 利用 PCR 技术检测了 135 例 As 患者的动脉活检组织中的人巨细胞病毒, 阳性率为 76%, 舒先红等<sup>[3]</sup> 用同样技术检测 19 例冠心病患者冠状动脉组织中的人巨细胞病毒, 阳性率为 63.2%, 本研究检测了 56 例冠心病患者外周血人巨细胞病毒的阳性率为 58.93%, 与上述结果相近, 明显高于对照组的 28.57% ( $P < 0.01$ ), 说明冠心病患者外周血白细胞人巨细胞病毒的感染情况与动脉组织相似, 因此可以通过检测外周血人巨细胞病毒来反映动脉组织中人巨细胞病毒的感染情况, 同时表明人巨细胞病毒感染参与了冠心病的发生, 可能是冠心病的一个危险因素, 支持冠心病发生的病毒病因学说。

有关人巨细胞病毒感染诱发动脉粥样硬化的机理不明, 目前认为有以下几种可能: (1) 病毒感染在某些具有遗传易感性的人群中可引起亚临床炎症反应, 并诱发动脉粥样硬化<sup>[4]</sup>; (2) 潜伏感染病毒的周期性激活引起局部慢性免疫反应或炎症反应, 损伤血管内膜, 导致平滑肌细胞增殖和移位, 诱导平滑肌细胞突变<sup>[5]</sup>; (3) 病毒感染, 产生 IE84 蛋白, 与 P53 蛋白结合并消除其功能, 导致平滑肌细胞过度增殖<sup>[6]</sup>。通过研究, 我们认为, 人巨细胞病毒感染的单核巨噬细胞, 可能通过损伤的内膜浸润到内皮下, 吞噬脂质形成泡沫细胞, 从而参与动脉粥样硬化的形成。

目前认为, 急性冠状动脉综合征是在动脉粥样硬化基础上, 由于斑块破裂及(或)出血、血管痉挛以及完全或不完全血栓性堵塞所致。Liuzzo 等<sup>[7]</sup> 发现不稳定型心绞痛和急性心肌梗死患者血清 C 反应蛋白(CRP)水平高于劳力型心绞痛患者, 而具有高血清 C 反应蛋白的不稳定型心绞痛患者缺血性事件的发生率高, 提示炎症因素参与了这一过程。Patrick 等<sup>[8]</sup> 认为病毒感染或炎症反应可损伤内皮细胞功能, 影响内皮依赖性舒血管作用, 从而促使血管

痉挛和血栓形成。我们的研究发现, 不稳定型心绞痛和急性心肌梗死患者血人巨细胞病毒的阳性率高于其他类型冠心病患者(77.27% 比 47.06%,  $P < 0.05$ ), 说明人巨细胞病毒感染对不稳定型心绞痛和急性心肌梗死的发生起着极为重要的作用, 有人巨细胞病毒感染的冠心病患者易于发生不稳定型心绞痛和急性心肌梗死。研究发现, 粥样斑块的不稳定并非由人巨细胞病毒的复制所致<sup>[9]</sup>, 因此, 潜伏于动脉组织中的人巨细胞病毒的周期性激活引起局部免疫反应或炎症反应, 导致粥样斑块不稳定, 易于破裂或出血, 可能是其中一个原因。

#### 参考文献

- Melnick JL, Hu CZ, Joyce B, et al. Cytomegalovirus DNA in arterial walls of patients with atherosclerosis [J]. *J Med Virol*, 1994, **42**: 170-174
- Fish KN, Britt W, Nelson JA. A novel Mechanism for persistence of human cytomegalovirus in human macrophages [J]. *J Virol*, 1996, **70**: 1855
- 舒先红, 陈瑞珍, 杨英珍. 用聚合酶链反应技术检测冠状动脉粥样硬化斑块组织中的人巨细胞病毒 DNA [J]. *中华内科杂志*, 1996, **35** (3): 168
- Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, et al. Cytomegalovirus in the pathogenesis of atherosclerosis: the role of inflammation as reflected by elevated C-reactive protein levels [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1999, **34** (6): 1738-1743
- Lemstrom KB, Bruning JH, Bruggeman CA, et al. Cytomegalovirus infection enhances smooth muscle cell proliferation and intimal thickening of rat aortic allografts [J]. *J Clin Invest*, 1993, **92** (2): 549-558
- Edith Speir, Rama Modali, Huang E-S, et al. Potential role of human cytomegalovirus and P53 interaction in coronary restenosis [J]. *Science*, 1994, **265**: 391-393
- Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina [J]. *N Eng J Med*, 1994, **331** (7): 417-424
- Patrick Vallance, Joe Collier, Kiran Bhagat. Infection, inflammation, and infarction: does acute endothelial dysfunction provide a link [J]. *Lancet*, 1997, **349**: 1391-1392
- Kol A, Sperti G, Shani J, et al. Cytomegalovirus replication is not a cause of instability in unstable angina [J]. *Circulation*, 1995, **91** (7): 1910-1913

(此文 1999-10-28 收到, 2000-04-25 修回)

(此文编辑 胡必利)