

[文章编号] 1007-3949(2004)12-06-0707-03

•临床研究•

急性冠状动脉综合征患者外周血单个核细胞核因子 κ B 活性的测定及临床意义

孙承波, 吴宗贵, 梁春, 任雨笙

(第二军医大学附属长征医院心血管内科, 上海市 200003)

[关键词] 内科学; 核因子 κ B 活性测定; C 反应蛋白; 患者, 急性冠状动脉综合征; 斑块稳定型; 外周血单个核细胞

[摘要] 测定急性冠状动脉综合征患者外周血单个核细胞中核因子 κ B 活性, 研究核因子 κ B 活性与 C 反应蛋白、斑块稳定型等的关系, 以明确核因子 κ B 对急性冠状动脉综合征的判断价值。测定入院时 30 例急性冠状动脉综合征患者、14 例稳定型心绞痛患者、15 例高血压患者和 15 例正常对照者外周血单个核细胞核因子 κ B p50 吸光度值, 以及急性冠状动脉综合征患者入院后 2 周的外周血单个核细胞核因子 κ B p50 吸光度值, 并行血压、血脂、血 C 反应蛋白等检查。结果发现, 入院时急性冠状动脉综合征组(急性心肌梗死和不稳定型心绞痛组)的核因子 κ B p50 吸光度值为 0.694 ± 0.16 , 与稳定型心绞痛组和高血压组比较有显著性差异 ($P < 0.01$)。入院两周后, 急性冠状动脉综合征组 ($n = 28$) 核因子 κ B p50 吸光度值降低 (0.157 ± 0.059), 与入院时相比差异显著 ($P < 0.01$)。急性冠状动脉综合征组患者的外周血单个核细胞核因子 κ B p50 的吸光度值与血糖水平有正相关关系 ($r = 0.512, P < 0.01$), 与血清 C 反应蛋白水平有正相关关系 ($r = 0.771, P < 0.01$)。结果提示急性冠状动脉综合征患者外周血单个核细胞核因子 κ B 的活性增高, 可以反映斑块的不稳定型与破裂, 并有助于评估急性冠状动脉综合征的危险性。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Measurement and Clinical Significance of Activation of Nuclear Factor-kappa B in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Patients with Acute Coronary Syndromes

SUN Cheng-Bo, WU Zong-Gui, LIANG Chun, and REN Yu-Sheng

(Department of Cardiology, the Second Military Medical University, Shanghai, 200003, China)

[KEY WORDS] Nuclear Factor-kappa B; C-Reactive Protein; Acute Coronary Syndrome; Plaque Stability; Peripheral Blood Mononuclear Cells

[ABSTRACT] **Aim** To measure the activity of nuclear factor- κ B (NF- κ B) of the peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of patient which had acute coronary syndrome (ACS) or stable angina or hypertension, study its relationship with C-reactive protein (CRP), plaque stability and determine its value in the diagnosis of ACS. **Methods** We compared the results of the activity of nuclear factor- κ B and levels of CRP in ACS aged 48-80 years with that of the stable angina (SA) or hypertension as controls. **Results** OD of NF- κ B p50 of PBMC and CRP in ACS group on admission was significantly higher than that in SA group and hypertension group ($P < 0.01$), OD of NF- κ B p50 of PBMC and CRP in AMI group on admission was significantly higher than that in UA group ($P < 0.05$). OD of NF- κ B p50 of PBMC and CRP in SA group had no difference from that in hypertension group. After two weeks, OD of NF- κ B p50 of PBMC in ACS group was significantly decreased compared with that on admission ($P < 0.01$). There was no difference between SA group and hypertension group. There was a positive correlation between OD of NF- κ B p50 of PBMC and blood glucose level ($r = 0.512, P < 0.01$) in ACS group. OD of NF- κ B p50 of PBMC also had a positive correlation with serum CRP level ($r = 0.771, P < 0.01$). **Conclusions** The activation of NF- κ B in peripheral blood mononuclear cells may be a predictor of the coronary plaque instability and disruption, and it might be helpful in the diagnosis of ACS.

急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)发作与动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)斑块的不稳定及破裂有关^[1]。文献[2]报道, ACS患者As斑块中核因子 κ B 活性增高, 受其调控的基因表达增

加。本研究测定 ACS 患者外周血单个核细胞核因子 κ B 活性, 探讨核因子 κ B 活性与 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)对 ACS 的判断价值。

1 对象和方法

1.1 研究对象

2002年6月至2003年4月长征医院心内科住院患者59例, 其中30例ACS患者(急性心肌梗死及

[收稿日期] 2003-06-19 [修回日期] 2004-05-28

[作者简介] 孙承波, 硕士研究生, 研究方向为急性冠状动脉综合征防治。吴宗贵, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病防治等, 本文通讯作者。

不稳定型心绞痛患者各 15 例,胸痛发作在 24 h 以内)、14 例稳定型心绞痛(stable angina, SA)患者、15 例高血压患者以及 15 例正常对照者。急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)的诊断标准为血清磷酸肌酸激酶 MB(CK-MB) 大于正常上限 2 倍或肌钙蛋白 T(troponin T, TnT) 和肌钙蛋白 I(troponin I, TnI) 升高。不稳定心绞痛(unstable angina pectoris, UAP)的诊断符合 Braunwald 分型,排除继发性心绞痛,胸痛发作在 24 h 以内。SA 劳累性心绞痛发作的性质在 1~3 个月内无改变,即每日和每周发作的次数大致相同,诱发疼痛的劳累和情绪激动程度相同,每次发作疼痛的性质和部位无改变,疼痛时限相仿(3~5 min),用硝酸甘油后,在相同时间内发生疗效^[3]。高血压组采用《1999 WHO/ISH 高血压治疗指南》的标准,血压高于 140/90 mm Hg,或既往有高血压,服药治疗血压正常者。

1.2 临床、实验室检查及造影

患者入院后即抽血送检血常规、CK-MB、TnT、TnI,测量血压。空腹 12 h 后抽血检查 CRP、血脂、血糖。急性心肌梗死、不稳定型心绞痛、稳定型心绞痛患者行冠状动脉造影分析。

血糖、血脂、CK-MB 采用拜耳 1650 全自动生物化学分析仪测定,TnT、TnI 采用金标法测定(罗氏公司以及美国 PBM 公司试剂盒),血常规测定使用 Sysmex SE-9000 自动分析仪。

1.3 核因子 κ B p50 测定

核因子 κ B 采用美国 Clontech 公司的转录因子试剂盒测定。其原理是,转录因子试剂盒的测样孔

孔壁覆盖有相应转录因子的寡聚核苷酸序列,当包含特定转录因子的核抽提物在测样孔中孵育时与特定的寡聚核苷酸结合,加入特定的第一抗体与转录因子结合,然后加入结合辣根过氧化物酶的第二抗体与第一抗体结合,共同孵育的产物可以通过微量读盘器测定吸光度值。这种方法敏感性高,适用大量样本的测定^[4]。

所有患者入院后一次性抽取全血 2 mL,ACS 组患者入院后 2 周再次抽取 2 mL 外周血,用密度梯度离心法分离单个核细胞,按照核因子 κ B p50 测定试剂盒说明书抽提核蛋白及测定核因子 κ B p50 吸光度值。

1.4 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间计量资料采用方差齐性检验、方差分析,组间计数资料采用 Fisher 精确检验、 χ^2 检验等,并行线性相关性分析, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异非常显著。

2 结果

2.1 血糖、血脂及血 C 反应蛋白的测定结果

各组生物化学测定结果见表 1(Table 1)。可见 AMI 组患者入院时血白细胞、血糖水平显著高于其他四组($P < 0.01$)。AMI 组患者入院时血 CRP 水平明显增高,与其他三组相比有显著性差异($P < 0.01$),UAP 组入院时血 CRP 水平显著高于 SA 组、高血压组($P < 0.05$)。UA 组患者入院时血 CRP 水平与 SA 组、高血压组相比差异显著($P < 0.05$)。

表 1. 五组患者的临床特征及实验室检查

Table 1. Clinical characteristics and lab measurements in five groups

指标	对照组 (n=15)	AMI 组 (n=15)	UAP 组 (n=15)	SA 组 (n=14)	高血压组 (n=15)
年龄(岁)	60.3 ± 15.2	66.4 ± 7.2	65.9 ± 12.8	59.1 ± 13.1	63.2 ± 16.2
性别(男/女)	6/9	8/7	9/6	9/5	7/8
高血压(例)	0	11(0.733)	8(0.533)	8(0.571)	15
糖尿病(例)	0	4(0.267)	3(0.2)	2(0.143)	4(0.267)
收缩压(mm Hg)	124.6 ± 17.2	128.7 ± 20.7	124.6 ± 20.1	130.6 ± 18.8	139.3 ± 24.1
舒张压(mm Hg)	70.3 ± 11.3	80.5 ± 14.6	74.7 ± 14.7	77.4 ± 10.0	72.7 ± 8.9
白细胞计数($\times 10^9/L$)	4.62 ± 1.89	10.51 ± 3.73 ^a	6.38 ± 1.60 ^c	6.09 ± 1.01 ^c	5.63 ± 1.41 ^c
单个核细胞($\times 10^9/L$)	1.74 ± 0.32	1.75 ± 0.54	1.84 ± 0.43	2.20 ± 0.53	1.84 ± 0.22
血糖(mmol/L)	4.68 ± 1.45	8.11 ± 2.73 ^a	5.40 ± 0.61 ^c	5.26 ± 1.25 ^c	5.17 ± 1.10 ^c
TC(mmol/L)	4.74 ± 1.03	4.65 ± 0.71	4.98 ± 1.84	3.89 ± 0.80	4.78 ± 0.93
TG(mmol/L)	1.68 ± 1.02	1.45 ± 0.58	2.32 ± 1.34	1.17 ± 0.72	1.59 ± 1.22
CRP(mmol/L)	2.96 ± 2.11	65.3 ± 42.4 ^b	12.7 ± 10.5 ^{ad}	4.3 ± 2.2 ^{de}	3.1 ± 3.4 ^{de}

a: $P < 0.01$, b: $P < 0.001$, 与对照组比较; c: $P < 0.01$, d: $P < 0.001$, 与 AMI 比较; e: $P < 0.05$, 与 UA 组比较。

2.2 外周血单个核细胞核因子 κ B p50 的吸光度值

各组外周血单个核细胞核因子 κ B p50 吸光度

值见表 2(Table 2)。可见入院时 AMI 组和 UA 组核因子 κ B p50 吸光度值均较 SA 组和高血压组显著增

高($P < 0.01$)。AMI 组核因子 κB p50 吸光度值与 UA 组相比, 差异显著($P < 0.05$)。ACS 组(AMI 组+ UA 组)的核因子 κB p50 吸光度值较 SA、高血压组差异显著($P < 0.01$)。入院两周后, ACS 组($n = 28$)核因子 κB p50 吸光度值为: 0.157 ± 0.059 , 入院时为 0.694 ± 0.16 , 两者相比差异显著($P < 0.01$)。入院两周内 AMI 组死亡两例, 其外周血单个核细胞核因子 κB p50 的吸光度值和血清 CRP 的水平均较高。

表 2. 各组外周血单个核细胞核因子 κB p50 吸光度值的比较
Table 2. Comparison of OD of nuclear factor κB p50 in peripheral blood mononuclear cell of five groups

分 组	n	入院时	入院后 2 周
对照组	15	0.80 ± 0.14	0.07 ± 0.02
AMI 组	15	0.76 ± 0.16	0.16 ± 0.06
UA 组	15	0.63 ± 0.14^{ac}	0.15 ± 0.05
SPA 组	14	0.16 ± 0.10^{bde}	0.15 ± 0.07
高血压组	15	0.12 ± 0.12^{bde}	0.11 ± 0.09

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.001$, 与对照组比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与 AMI 组比较; e: $P < 0.05$, 与 UA 组比较。

2.3 相关关系分析

线性回归与相关性分析发现, ACS 组患者的外周血单个核细胞核因子 κB p50 的吸光度值与血糖水平有正相关关系($r = 0.512$, $P < 0.01$), 与血清 CRP 水平有正相关关系, $r = 0.771$, $P < 0.01$, 相关系数 95% 可信区间为(0.569, 0.885)。

3 讨论

人的 As 病灶中的平滑肌细胞、内皮细胞和巨噬细胞中存在核因子 κB 的激活, 而且与疾病进展的程度相关, 这提示核因子 κB 在急性炎症反应参与的冠状 As 斑块破裂中起重要作用^[5]。

本研究发现 ACS 患者的外周血单个核细胞核因子 κB p50 的吸光度值较稳定型心绞痛和高血压组患者显著增高, 而且病情稳定后, 外周血单个核细胞核因子 κB p50 的吸光度值显著降低。表明 ACS 患者外周血单核细胞中核因子 κB 显著激活, 推测外周血单核细胞核因子 κB 的激活可以反映人类动脉粥样硬化斑块不稳定型, 并且是一个原发事件^[3]。

氧化应激、脂质代谢紊乱、高血压、高血糖、同型半胱氨酸、感染如巨细胞病毒、肺炎衣原体等致动脉粥样硬化因素均可使血管平滑肌细胞、内皮细胞、白细胞等细胞中核因子 κB 激活^[6]。高度激活的核因子 κB 诱导转录致炎细胞因子、急性期反应蛋白如 C 反应蛋白(CRP) 等的表达^[7,8], 急性期蛋白已经建议作为粥样硬化性疾病和“不稳定”粥样斑块的潜在标志物^[9]。CRP 现在已被视为心血管疾病的独立危险因素, 并被用来判断其预后^[10]。本研究发现 ACS 患者入院时血清 CRP 水平显著增高, 而且外周血单个核细胞核因子 κB p50 的吸光度值与血清 CRP 水平呈正相关, 而且两指标同处于高水平的两例患者死亡, 提示同时测定血清 CRP 和血单个核细胞核因子 κB 活性有助于评估 ACS 的危险性。

本研究还发现, 患者入院时血糖水平与血单个核细胞核因子 κB p50 吸光度值呈正相关关系, 说明控制血糖可以部分抑制核因子 κB 的激活, 可能有助于降低糖尿病患者心血管事件的发生。

总之, ACS 患者外周血单个核细胞核因子 κB 的活性增高, 可以反映斑块的不稳定型与破裂, 并有助于评估 ACS 的危险性。

[参考文献]

- [1] Plutzky J. Atherosclerotic plaque rupture: emerging insights and opportunities. *Am J Cardiol*, 1999, **84** (1A): 15J-20J
- [2] Ritchie ME. Nuclear factor- κB is selectively and markedly activated in humans with unstable angina pectoris. *Circulation*, 1998, **98**(17): 1707-713
- [3] Braunwald(主编), 陈灏珠(主译). 心脏病学. 第 5 版, 北京: 人民卫生出版社, 2001; 1203
- [4] Benotmane AM, Hoylaerts MF, Collen D, et al. Nonisotopic quantitative analysis of protein-DNA interactions at equilibrium. *Anal Biochem*, 1997, **250** (2): 181-185
- [5] Brand K, Page S, Rogler G, Bartsch A, Brandl R, Kneuchel R, et al. Activated transcription nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J Clin Invest*, 1996, **97** (7): 1715-722
- [6] Bourcier T, Sukhova G, Libby P. The nuclear factor κB signaling pathway participates in dysregulation of vascular smooth muscle cells in vitro and in human atherosclerosis. *J Biol Chem*, 1997, **272** (25): 15817-824
- [7] Piette J, Piret B, Bonizzi G, Schoonbroodt S, Merville MP, Legrand-Poels S, et al. Multiple redox regulation in NF- κB transcription factor activation. *Biol Chem*, 1997, **378** (11): 1237-245
- [8] Collins T, Cybulsky ML. NF- κB : pivotal mediator or innocent bystander in atherosclerosis? *J Clin Invest*, 2001, **107** (3): 255-264
- [9] Maseri A, Biasucci LM, Liuzzo G. Inflammation in ischemic heart disease. *Bri Med J*, 1996, **312** (7038): 1049-050
- [10] Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *Bri Med J*, 1996, **312** (7038): 1061-065

(此文编辑 胡必利)