

· 临床研究 ·

## 炎症因子CD40配体在急性冠脉综合征患者中的作用

袁 铭<sup>1\*</sup>, 傅宏杰<sup>2</sup>, 任丽芬<sup>3</sup>, 王海昌<sup>1</sup>, 郭文怡<sup>1</sup>

(第四军医大学西京医院: <sup>1</sup>心内科, <sup>3</sup>检验科 西安 710032; <sup>2</sup>总参谋部通信部门门诊部, 北京 100840)

**【摘要】目的** 探讨急性冠脉综合征(ACS)患者血清可溶性CD40配体(sCD40L)和超敏C反应蛋白(hs-CRP)的水平及临床意义。**方法** 按照诊断标准入选研究对象137例,分为两组:冠状动脉造影无异常者为对照组,21例,ACS组116例,男86例,30例,年龄35~77(56.9±12.6)岁,包括不稳定型心绞痛88例,急性心肌梗死28例。采集患者空腹肘静脉血,采用酶联免疫吸附(ELISA)方法测定血清sCD40L浓度和hs-CRP浓度。所有患者入院第2~4天行冠状动脉造影检查,用直径法测定冠状动脉狭窄的程度,用Gensini评分系统进行评分,累计积分。**结果** ACS组sCD40L与hs-CRP水平均高于对照组( $P < 0.05$ )。sCD40L水平与Gensini积分呈正相关关系( $r = 0.328, P = 0.000$ ),hs-CRP水平与Gensini积分呈正相关关系( $r = 0.748, P = 0.000$ ),sCD40L与hs-CRP之间呈正相关关系( $r = 0.192, P = 0.039$ )。**结论** ACS患者外周血清sCD40L和hs-CRP水平明显升高,提示CD40/CD40L系统与ACS的发生有关。

**【关键词】** 急性冠脉综合征;可溶性CD40配体;C反应蛋白

**【中图分类号】** R392.11

**【文献标识码】** A

**【DOI】** 10.3724/SP.J.1264.2013.00148

## Role of inflammatory factor CD40 ligand in patients with acute coronary syndrome

YUAN Ming<sup>1\*</sup>, FU Hong-Jie<sup>2</sup>, REN Li-Fen<sup>3</sup>, WANG Hai-Chang<sup>1</sup>, GUO Wen-Yi<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Cardiology, <sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; <sup>2</sup>Department of Outpatients, Division of Communication, PLA General Staff Department, Beijing 100840, China)

**【Abstract】 Objective** To determine the serum levels of soluble CD40 ligand (sCD40L) and high sensitivity C-reaction protein (hs-CRP) in patients with acute coronary syndrome (ACS) and their clinical significance. **Methods** A total of 116 ACS inpatients [86 males and 30 females; aged (58.4±10.4)years, ranging from 39 to 78 years] in the Department of Cardiology of Xijing Hospital from May to December 2011 were enrolled in this study. There were 88 cases of unstable angina and 28 cases of acute myocardial infarction. Another 21 patients with normal coronary angiography served as control group ( $n = 21$ ). Fasting forearm venous blood samples were taken from all patients in the morning for the serum levels of sCD40L and hs-CRP by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). All patients underwent coronary angiography within 2 to 4 d after admission for the extent of coronary artery stenosis, which were further analyzed with the Gensini scoring system. **Results** The serum levels of hs-CRP and sCD40L were obviously higher in ACS group than in the controls ( $P < 0.05$ ). The serum levels of sCD40L and hs-CRP were positively correlated with the Gensini score respectively ( $r = 0.328, P = 0.000$ ;  $r = 0.748, P = 0.000$ ). Positive correlation was also found between sCD40L and hs-CRP levels ( $r = 0.192, P = 0.039$ ). **Conclusion** The serum levels of sCD40L and hs-CRP are obviously increased in ACS patients, suggesting that CD40/CD40L system may be involved in the development of ACS.

**【Key words】** acute coronary syndrome; soluble CD40 ligand; C reactive protein

*This work was supported by the Tackling Project of Social Development of Shaanxi Province (2012K15-02-07) and the National Natural Science Foundation (81200189). YUAN Ming and FU Hong-Jie are first authors who contributed equally to the work. Corresponding author: YUAN Ming, E-mail: yuanming@fmmu.edu.cn*

急性冠脉综合征(coronary artery disease, ACS) 血管痉挛、血小板粘附、冠状动脉内血栓形成而致的是在冠状动脉粥样硬化的基础上,由粥样斑块破裂、一组急性病变,临床上的表现为急性心肌梗死(acute

收稿日期: 2013-02-16; 修回日期: 2013-05-15

基金项目: 陕西省社会发展攻关基金项目(2012K15-02-07), 国家自然科学基金(81200189)

傅宏杰, 为共同第一作者。

通信作者: 袁 铭, Tel: 029-84771043, E-mail: yuanming@fmmu.edu.cn

myocardial infarction, AMI, 包括ST段抬高型心肌梗死和非ST段抬高型心肌梗死) 和不稳定型心绞痛(unstable angina, UA)。以往的研究表明<sup>[1]</sup>, 免疫反应和炎症在动脉粥样硬化的进程中发挥了重要作用, 即内皮细胞对损伤因素产生的一系列炎性和纤维增生反应, 同时激活的炎症细胞在斑块破裂和血栓形成中起了重要作用<sup>[2]</sup>。内皮细胞、平滑肌细胞、白细胞和血小板表达CD40受体及其配体(CD40 ligand, CD40L), CD40/CD40L对启动和促进动脉粥样硬化起了重要作用<sup>[3]</sup>, 但无论是在稳定型心绞痛患者还是ACS患者, 关于CD40/CD40L作用的临床研究尚不多见。超敏C反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)作为一种经典的急性时相反应蛋白, 也被认为是动脉粥样硬化的炎症性标志物<sup>[4]</sup>。本研究旨在观察ACS患者血清可溶性CD40L(soluble CD40L, sCD40L)及hs-CRP水平变化, 探讨CD40系统在ACS中的作用和意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

按照ACS诊断标准, 随机选择2011年5月至2011年12月在第四军医大学西京医院内科住院的患者共137人, 分为两组: 冠状动脉造影无异常者为对照组, 21例, 男16例, 女5例, 年龄39~78( $58.4 \pm 10.4$ )岁; ACS组共116例, 男86例, 女30例, 年龄35~77( $56.9 \pm 12.6$ )岁, 其中UA 88例, 男56例, 女12例, AMI 28例, 男13例, 女5例。经冠状动脉造影确认狭窄程度 $\geq 70\%$ 。纳入标准如下。(1) 所有患者均为新近诊断病例或既往为ACS患者但近期内未服用抗凝调脂药物, 未行介入治疗。(2) UA入选根据Braunwald标准<sup>[5]</sup>以及中华医学会心血管病分会2000年制定的不稳定型心绞痛诊断和治疗建议。AMI则依据2001年12月中华心血管病AMI诊断标准, 临床症状、心电图变化和血清酶学检查等均符合AMI。除外各种感染性疾病、肿瘤、严重心律失常、心肌病、充血性心力衰竭、自身免疫性疾病、肺功能不全、近6个月内手术史、近期正服用抗凝药物治疗或未控制的高血压和糖尿病等并发症者。(3) 性别、民族不限。(4) 患者知情同意, 研究获得本地伦理委员会通过。

### 1.2 方法

1.2.1 血清标本收集 患者入院后翌日清晨取空腹肘静脉血3ml, 置于干燥管中, 常温下1000r/min离心15min, 分离提取上层血清后立即置于 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

1.2.2 血清sCD40L水平测定 采用ELISA法定量测定, 试剂盒由BlueGene提供, 检测灵敏度为

0.01 $\mu\text{g/L}$ 。取样本在波长为450nm的酶标仪上读取A值, 使用logit-got数据处理模式计算出对应浓度值。

1.2.3 血清hs-CRP水平测定 用酶联免疫比浊法在全自动生化分析仪上测定, 试剂为Biocheck公司原装试剂盒, 由北京科美东雅生物技术有限公司分装(规格为96T)。正常参考范围0.01~5mg/L, 灵敏度为0.001mg/L。

1.2.4 冠状动脉造影方法 术前签订手术同意书。术前常规改善心肌缺血、扩冠治疗, 服用钙拮抗剂和硝酸酯制剂, 同时服用负荷量阿司匹林300mg、氯吡格雷300mg, 进行碘过敏实验, Allens实验。术前当天早晨进食少量半流质饮食, 做抗生素皮试及奴夫卡因过敏实验, 手术部位常规消毒铺巾, 取右侧桡动脉为穿刺点, 利多卡因局部麻醉, 穿刺成功将鞘管中的血液和气泡充分抽吸出来, 注入肝素2000IU, 由心内科专业医师行选择性冠状动脉造影, 取左前斜、右前斜及头脚轴状位等体位投影观察冠状动脉病变, 用直径法分别对右冠状动脉、左主干、左前降支和左回旋支等存在血管狭窄的病变程度进行评价, 用定量冠状动脉分析软件测定冠状动脉狭窄程度, 根据冠状动脉造影结果, 至少有一支冠状动脉狭窄 $\geq 50\%$ 时确诊为冠心病。

### 1.3 冠状动脉病变狭窄程度评分办法

根据Gensini评分系统<sup>[6]</sup>计算冠状动脉病变狭窄程度。评分标准如下。(1) 根据管腔狭窄程度: 25%~49%, 1分; 50%~74%, 2分; 75%~89%, 4分; 90%~98%, 8分; 99%左右, 16分; 100%, 32分;(2) 根据病变血管位置的不同制定不同的系数(倍数): 左主干为5.0, 左前降支近段为2.5, 左回旋支近段为2.5, 前降支中段为1.5, 左前降支第2对角支为0.5, 左后外侧支为0.5, 其他为1.0;(3) 评分方法为冠状动脉管腔狭窄程度(百分比)乘以病变血管系数, 最后积分为各支积分之和。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS13.0软件包进行统计学分析。计量资料用均数 $\pm$ 标准差表示, 所有数据均经正态性检验, 计量资料采用t检验, 组间TC、TG比较采用秩和检验, HDL、LDL比较采用t检验。计数资料用百分率表示, 组间比较采用 $\chi^2$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, 同时各指标与冠状动脉Gensini积分比较采用直线相关分析,  $P < 0.05$ 为显著相关。

## 2 结果

### 2.1 两组患者一般临床资料比较

两组基本临床资料比较, ACS组吸烟率及舒张

压均高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 其他指标如性别、体质指数、高血压患病率、收缩压、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇两组间差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ; 表1)。

表1 两组基本临床资料的比较

Table1 Comparison of general clinical characteristics between two groups

| Item                    | Control group(n = 21) | ACS group(n = 116) |
|-------------------------|-----------------------|--------------------|
| Male/female(n/n)        | 16/5                  | 86/30              |
| Smoking[n(%)]           | 10 (46.2)             | 90 (78.3)*         |
| BMI(kg/m <sup>2</sup> ) | 24.2 ± 0.3            | 26.1 ± 0.2         |
| Hypertension[n(%)]      | 1 (4.8)               | 28 (24.1)          |
| Family history[n(%)]    | 2 (9.5)               | 22 (19.0)          |
| SBP(mmHg)               | 139.0 ± 1.2           | 145.0 ± 0.8        |
| DBP(mmHg)               | 83.2 ± 0.8            | 91.3 ± 1.0*        |
| TC(mmol/L)              | 3.68 ± 0.75           | 3.78 ± 0.82        |
| TG(mmol/L)              | 1.86 ± 1.86           | 1.78 ± 1.17        |
| LDL-C(mmol/L)           | 2.13 ± 0.69           | 2.19 ± 0.75        |
| HDL-C(mmol/L)           | 0.94 ± 0.23           | 0.93 ± 0.22        |

BMI: body mass index; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure; TC: total cholesterol; TG: triglyceride; LDL-C: low density lipoprotein cholesterol; HDL-C: high density lipoprotein cholesterol. 1mmHg = 0.133kPa. Compared with control group, \* $P < 0.05$

## 2.2 两组血清sCD40L与hs-CRP水平比较

ACS组血清sCD40L高于对照组 [ $(6.25 \pm 1.49)$  vs  $(5.49 \pm 1.27)$   $\mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.05$ ], 而且ACS组血清hs-CRP水平也高于对照组 [ $(2.65 \pm 1.82)$  vs  $(1.67 \pm 1.05)$   $\text{mg/L}$ ,  $P < 0.05$ ]。

## 2.3 ACS患者sCD40L和hs-CRP与冠状动脉Gensini评分的相关性分析

图1~3结果表明, sCD40L水平与Gensini积分呈正相关关系 ( $r = 0.328$ ,  $P = 0.000$ ), hs-CRP水平与Gensini积分呈正相关关系 ( $r = 0.748$ ,  $P = 0.000$ ), sCD40L与hs-CRP之间呈正相关关系 ( $r = 0.192$ ,  $P = 0.039$ )。

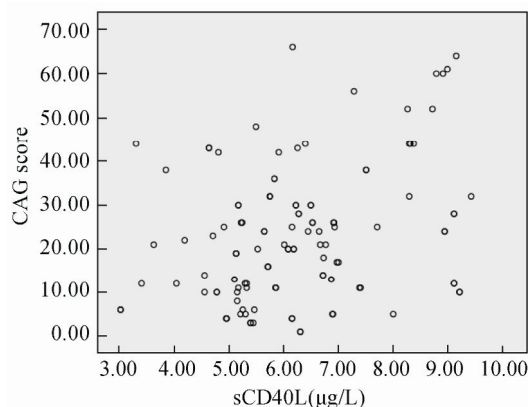


图1 sCD40L与Gensini积分相关性分析

Figure 1 Correlation analysis between sCD40L and Gensini score  
sCD40L: soluble CD40 ligand; CAG: coronary angiography

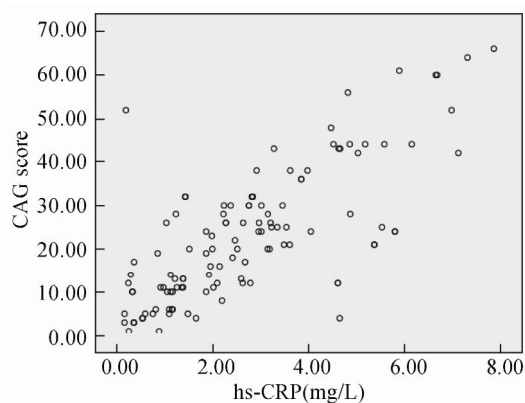


图2 hs-CRP与Gensini积分相关性分析

Figure 2 Correlation analysis between hs-CRP and Gensini score  
hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein; CAG: coronary angiography

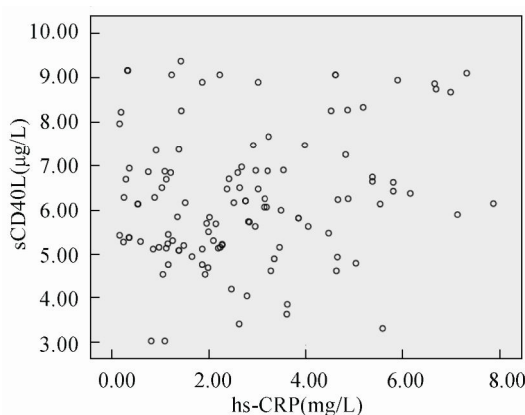


图3 sCD40L与hs-CRP相关性分析

Figure 3 Correlation analysis between sCD40L and hs-CRP  
sCD40L: soluble CD40 ligand; hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein

## 3 讨论

动脉粥样硬化发病原因主要与血管内皮细胞的炎性和免疫损伤有关。随着病因学研究的发展, 炎症与免疫调节在冠心病中的作用受到越来越多的关注<sup>[7]</sup>。传统的危险因素如高血压、糖尿病、肥胖、吸烟、缺乏锻炼等不能完全解释冠心病在人群中的发病等规律, 近年来多项研究证实一些新的炎症指标在冠状动脉粥样硬化中的作用, 多项临床研究表明新型动脉粥样硬化标志物如CD40/CD40L、C反应蛋白等日益受到关注。

CD40/CD40L属于肿瘤坏死因子超家族, 它们是双重血栓和炎性作用的分子。他们在各种组织中如免疫系统、血管壁及激活的血小板都有表达<sup>[8]</sup>。CD40L是一个II型膜蛋白, 储存在未刺激血小板的 $\alpha$ 颗粒, 当血小板被激活时迅速转运至血小板表面, 以sCD40L形式存在。炎症细胞因子和氧化低密度脂蛋白诱导CD40L基因的表达, 动脉粥样硬化的一个启动步骤为CD40/CD40L细胞表面的相互作用导致内皮和血管平滑肌细胞激活, 随后黏附分子表达<sup>[9]</sup>。

有证据表明,CD40/CD40L相互作用诱导基质金属蛋白酶的表达,间质胶原的降解和动脉粥样硬化斑块纤维帽的萎缩,导致斑块不稳定和破裂<sup>[7]</sup>。CD40/CD40L通路可能参与ACS的触发,抑制其表达可减缓动脉粥样硬化的进展、提高斑块稳定性和减少血栓性疾病的发生<sup>[10,11]</sup>。

作为预示ACS危险的另一炎症标志物CRP,是非常成熟的炎症标志物,它是无症状人群和稳定、不稳定患者发生ACS独立的预警指标。hs-CRP不是一种新的CRP指标,而是从不同测定方法的角度更为敏感的CRP,其在肝脏产生,存在于内皮细胞和动脉粥样硬化斑块内<sup>[12]</sup>。血清中的hs-CRP浓度明显升高,可通过直接聚集浸润或间接产生细胞因子作用造成血管损伤,促进斑块的不稳定性。有关研究显示<sup>[13]</sup>,hs-CRP对于ACS患者发生心血管事件的预测价值比其他炎症指标(如白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、黏附分子)更重要。

本研究中ACS组sCD40L水平和hs-CRP水平均显著高于正常对照组,提示sCD40L在斑块不稳定和ACS的发生机制中的作用,反映其动脉粥样硬化斑块的不稳定性高的特点,可能为今后阐明更深层次的研究提供参考,但具体机制仍有许多问题有待进一步研究。

除此之外,结果中还发现,血清hs-CRP水平较正常对照组明显升高,与冠状动脉Gensini积分呈显著正相关,这与国内其他研究一致,说明hs-CRP能够从一定程度上反映冠状动脉疾病的严重程度;既往研究已确定炎症性标志物hs-CRP在ACS发病中的明确作用,我们在研究中比较hs-CRP与sCD40L水平变化,发现二者呈明显的正相关,可能是CD40/CD40L互相作用减少了血管内皮细胞黏附分子的表达,并且释放白细胞介素-6,而白细胞介素-6可以刺激肝脏基因编码急性期反应物如纤维蛋白原、CRP等。类似观点也曾经被提出过<sup>[14]</sup>。

关于CD40/CD40L相互作用在冠状动脉疾病中的潜在作用,目前仍有许多问题。不过,目前还不清楚sCD40L水平是否可作为冠状动脉疾病的治疗目标,在这个领域的一些问题亟待解决。

#### 【参考文献】

[1] Tousoulis D, Antoniades C, Nikolopoulou A, *et al.* Interaction between cytokines and sCD40L in patients with

stable and unstable coronary syndromes[J]. *Eur J Clin Invest*, 2007, 37(8): 623–628.

- [2] Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Pecoraro R, *et al.* Atherosclerosis as an inflammatory disease[J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18(28): 4266–4288.
- [3] Wang JH, Zhang YW, Zhang P, *et al.* CD40 ligand as a potential biomarker for atherosclerotic instability[J]. *Neurol Res*. 2013 Mar 15. [Epub ahead of print]
- [4] Panichi V, Scatena A, Migliori M, *et al.* Biomarkers of chronic inflammatory state in uremia and cardiovascular disease[J]. *Int J Inflam*, 2012, 2012: 360147.
- [5] Gersh BJ, Braunwald E, Rut herford JD. Chronic coronary artery disease[A]//Braunwald E. *Heart Disease*[M]. Philadelphia : Saunders, 1997: 1289–1365.
- [6] Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease[J]. *Am J Cardiol*, 1983, 51(3): 606.
- [7] Karch I, Olszowska M, Tomkiewicz Pajak L, *et al.* The effect of physical activity on serum levels of selected biomarkers of atherosclerosis[J]. *Kardiol Pol*, 2013, 71(1): 55–60.
- [8] Aukrust P, Damas JK, Solum NO. Soluble CD40 ligand and platelets: self-perpetuating pathogenic loop in thrombosis and inflammation[J] ? *J Am Coll Cardiol*, 2004, 43(12): 2326–2328.
- [9] Schonbeck U, Varo N, Libby P, *et al.* Soluble CD40L and cardiovascular risk in woman[J]. *Circulation*, 2001, 104(19): 2266–2268.
- [10] Antoniades C, Bakogiannis C, Tousoulis D, *et al.* The CD40/CD40 ligand system: linking inflammation with atherothrombosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(8): 669–677.
- [11] Silva D, Pais de Lacerda A. High-sensitivity C-reactive protein as a biomarker of risk in coronary artery disease[J]. *Rev Port Cardiol*, 2012, 31(11): 733–745.
- [12] Varo N, de Lemos JA, Libby P, *et al.* Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes[J]. *Circulation*, 2003, 108(9): 1049–1052.
- [13] Ansar W, Ghosh S. C-reactive protein and the biology of disease[J]. *Immunol Res*, 2013, 56(1): 131–142.
- [14] Choi EY, Yan RT, Fernandes VR, *et al.* High-sensitivity C-reactive protein as an independent predictor of progressive myocardial functional deterioration: the multiethnic study of atherosclerosis[J]. *Am Heart J*, 2012, 164(2): 251–258.

(编辑:周宇红)