

· 临床研究 ·

急性心肌梗死患者外周血内皮祖细胞相关研究

姜朝新, 潘开拓, 曾令恒, 叶振望, 王陈龙

(广东省佛山市南海区第三人民医院检验科 528244)

摘要:目的 研究急性心肌梗死患者(AMI)外周血内皮祖细胞(EPCs)数量变化及其与白细胞介素-18(IL-18)的关系。方法 选择2010年6月至2012年12月南方医科大学珠江医院收治的住院AMI患者120例为AMI组,选择同期体检的健康者20例作为对照组,比较两组的临床资料。结果 AMI组患者的IL-18、集落数量与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。AMI组中EPCs数量与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 EPCs、IL-18监测可以作为AMI患者诊断和鉴别诊断的重要指标。

关键词:心肌梗死;内皮祖细胞;白细胞介素-18

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.09.022

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)09-1017-02

Research of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction

Jiang Chaixin, Pan Kaituo, Zeng Lingheng, Ye Zhenwang, Wang Chenlong

(Department of Clinical Laboratory, Nanhai District Third People's Hospital, Foshan, Guangdong 528244, China)

Abstract: Objective To study the change of the number of endothelial progenitor cells(EPCs) and its relationship with interleukin-18(IL-18) in the patients with acute myocardial infarction(AMI). Methods 120 patients with AMI treated in Zhujiang hospital affiliated to the Southern Medical University were selected as the AMI group, and contemporaneous 20 individuals of healthy examination as the control group. EPCs and IL-18 were detected and the detection results were compared among 4 groups. Results IL-18 and the colony number in the AMI group(single, double, multi-vessel disease subgroups) were significantly lower than those in the control group with statistical difference($P < 0.05$). Compared with the control group, the EPCs number in the AMI group had statistical difference($P < 0.05$). Conclusion Monitoring EPCs and IL-18 can be used as an important indicator of the diagnosis and differential diagnosis for the patients with AMI.

Key words: myocardial infarction; endothelial progenitor cells; interleukin-18

冠心病是当今威胁人类健康的主要疾病之一,其中急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是冠心病中最为严重的一种^[1],由于其起病急,病死率高,更加受到重视。而内皮祖细胞(EPCs,即内皮细胞的前体细胞)在体内可以转化为内皮细胞,在修复心肌缺血损伤方面发挥非常重要的作用,已成为近期的研究热点。现将研究AMI患者120例外周血不同病变程度的内皮祖细胞数量和功能的变化等临床应用价值报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2010年6月至2012年12月南方医科大学珠江医院收治的住院AMI患者120例为AMI组,其中,男79例,女41例,年龄43~60岁,平均(51.6±8.6)岁;双支病变38例,多支病变32例。选择同期体检的健康者20例作为对照组,其中,男12例,女8例,年龄41~59岁,平均(48.8±10.1)岁。本研究患者均签署知情同意书。排除标准:近期有创伤、手术史、皮肤溃疡、炎症、肿瘤和血液系统疾病等患者。

1.2 方法 所有患者入院时采集外周血20 mL,肝素抗凝,4 h内处理标本,对照组清晨抽血,同样处理。密度梯度离心法获得外周血单个核细胞,RMPI-1640培养基培养,DiL-acLDL和FITC-UEA-I荧光双染色法鉴定,双染色阳性细胞为EPCs。同时采用贴壁法检测其黏附,改良的Boyden小室检测其迁移能力。

1.3 统计学处理 应用SPSS11.5软件进行统计学处理分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用配对 t 检验,多组间

比较采用 F 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞形态 光学显微镜下观察,对照组细胞变大变圆,出现较多的小杆形细胞和梭形细胞(图1)。AMI组细胞数目较对照组明显减少。

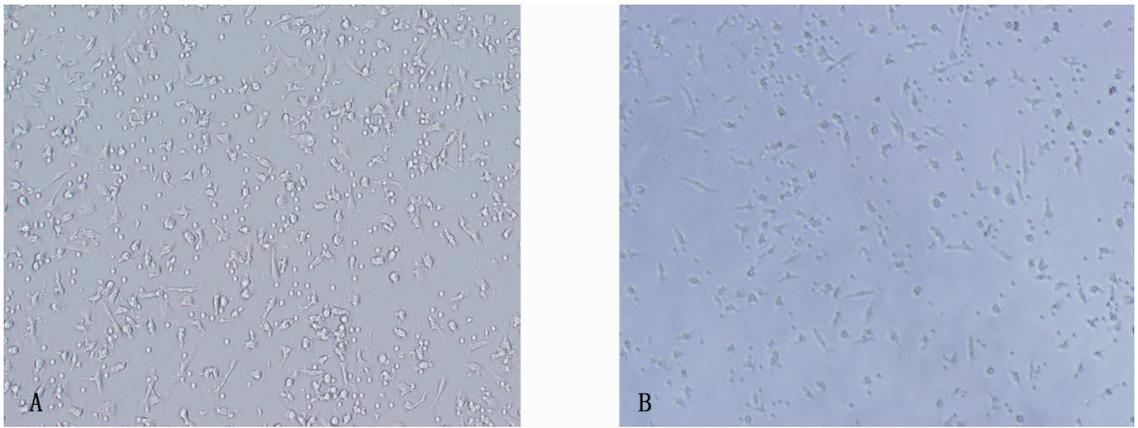
2.2 荧光双染色细胞鉴定 AMI组患者内皮祖细胞分离获得的单个核细胞培养7 d后形成了梭形的内皮样细胞。用acLDL-DiL和UEA-I双染色后,通过共聚焦显微镜鉴定,acLDL-DiL和UEA-I双染色阳性细胞被认为是正在分化的EPCs。

2.3 EPCs数量、集落形成单位及白细胞介素-18(IL-18)浓度 AMI组患者的IL-18、集落数量与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。AMI组中EPCs数量与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 AMI患者治疗不同病变程度EPCs数量、集落形成单位和IL-18浓度的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	EPCs 数量	IL-18(pg/mL)	集落数量
对照组	20	57.1±2.1	20.5±9.7	31.10±1.90
AMI组				
单支病变	50	48.5±7.3	135.6±86.9*	15.60±4.79*
双支病变	38	36.5±5.6	151.2±90.8*	12.14±7.31*
多支病变	32	18.9±3.9*	266.8±122.4*	8.00±4.80*

* : $P < 0.05$,与对照组比较。



A: 对照组; B: AMI 组。

图 1 培养 7 d 后 EPCs 数量及形态的变化影像学表现(光学显微镜, $\times 200$)

3 讨论

EPCs 是一种多能干细胞,能循环、增殖并分化为血管内皮细胞,但尚未表达成熟血管内皮细胞的表面特征^[2]。EPCs 不仅参与人胚胎血管生成,还可以分化为成熟内皮细胞参与出生后血管新生和内皮损伤后的修复过程^[3-5],EPCs 可以迁移到损伤局部分化成成熟的血管内皮细胞,还可以通过旁分泌机制分泌出血管生成的物质^[6][如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF),胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factors, IGF-1),碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)和巩膜成纤维细胞(guinea pig scleral fibroblast, GSF)等],从而促进 EPCs 的增殖分化和促进血管新生。多项研究表明 AMI 患者存在不同程度的内皮损伤,损伤相关因子与修复相关因子呈动态的此消彼长状态。本研究发现,AMI 患者血清 EPCs 水平显著低于健康对照组($P < 0.05$),这与 Eizawa 等研究结果一致。崔斌等^[7]研究发现,随着冠状动脉病变支数的增加,循环 EPCs 的水平逐渐降低,冠状动脉病变(单支、双支、3 支)组循环 EPCs 水平均显著低于对照组($P < 0.05$),3 支病变组 EPCs 水平明显低于单支病变组($P < 0.05$),与本研究结果一致。动脉粥样硬化导致循环血中 EPCs 数量功能改变的机制可能包括以下几种途径:(1)形成动脉粥样硬化的危险因素可增强氧化应激,直接影响 EPCs 的动员或生存时间;(2)由于 EPCs 参与内皮损伤后的修复过程,持续的内皮损伤和内皮功能障碍可导致 EPCs 过量消耗甚至衰竭;(3)动脉粥样硬化的危险因素可能会通过抑制其促进因子的分泌[如粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、VEGF、bFGF 等],同时动员其抑制因子的合成,从而抑制骨髓 EPCs 的动员作用而间接减少 EPCs 数量;(4)冠心病的危险因素常可通过影响其他信号转导途径而调节 EPCs 的分化和动员。内皮功能障碍的本质是内皮损伤和修复之间动态平衡的破坏,EPCs 是修复损伤血管的细胞库,EPCs 在血管修复和维持内皮功能完整中具有重要作用。因此,EPCs 可作为了解血管功能和血管危险因素的一个生物学指标。

近年来,有研究认为,动脉粥样硬化与炎症反应密切相关,其发病机制与炎症的机制存在较多相似之处^[8]。IL-18 作为重要的促炎性细胞因子,在冠状动脉粥样硬化性心脏病的发生、发展及粥样斑块破裂的过程中起重要作用。有文献报道,冠状动脉粥样硬化斑块处多种促炎性细胞因子显著增加,表明其可能对斑块形成有一定的作用。本研究也得到同样结果。并且本研究发现 EPCs 和 IL-18 与 AMI 病变程度相关,同时二

者之间显著负相关。由此可见,对 AMI 患者而言,随着炎症反应不断增强,损伤因子——促炎性细胞因子表达上升,而修复因子——EPCs 大量消耗,造成血管损伤进一步加重。目前,许多研究结果表明心肌梗死后脂质代谢异常,细胞因子过度表达,血管紧张素和醛固酮过度激活等与心肌梗死后心室重塑有密切的关系,且均能抑制心脏功能^[9-12]。因此,早期诊断其损伤程度并采取适当干预措施将有利于病情好转或延缓其迅速恶化^[13-16]。所以,EPCs 和 IL-18 的监测在 AMI 患者早期诊断、治疗和预后判断中有较好的临床应用价值。

参考文献:

- [1] Hur J, Yoon CH, Kim HS, et al. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovasculogenesis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(2): 288-293.
- [2] Gulati R, Jevremovic D, Peterson TE, et al. Diverse origin and function of cells with endothelial phenotype obtained from adult human blood[J]. *Circ Res*, 2003, 93(11): 1023-1025.
- [3] Bompais H, Chagraoui J, Canron X, et al. Human endothelial cells derived from circulating progenitors display specific functional properties compared with mature vessel wall endothelial cells[J]. *Blood*, 2004, 103(7): 2577-2584.
- [4] Yoon CH, Hur J, Park KW, et al. Synergistic neovascularization by mixed transplantation of early endothelial progenitor cells and late endothelial cells: the role of angiogenic cytokines and matrix metalloproteinases[J]. *Circulation*, 2005, 112(11): 1618-1627.
- [5] Ingram DA, Mead LE, Tanaka H, et al. Identification of a novel hierarchy of endothelial progenitor cells using human peripheral and umbilical cord blood[J]. *Blood*, 2004, 104(9): 2752-2760.
- [6] Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2001, 103(23): 2776-2779.
- [7] 崔斌, 黄岚, 宋耀明, 等. 冠心病患者循环内皮祖细胞与相关危险因素及冠状动脉病变的关系[J]. *中华心血管病杂志*, 2005, 33(9): 785-788.
- [8] 张冬会. 冠状动脉支架置入患者血清炎症因子表达及血管再狭窄[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(3): 559-562.

表 1 两组患者术后疗效比较[颗(%)]

组别	患牙(颗)	6个月				12个月			
		直接盖髓术		间接盖髓术		直接盖髓术		间接盖髓术	
		成功	失败	成功	失败	成功	失败	成功	失败
SE ³ BOND组	49	8(16.33)	10(20.41)	27(55.10)	4(8.16)	5(10.20)	13(26.53)	25(51.02)	6(12.24)
Dycal组	54	18(33.33)	5(9.26)	29(53.70)	2(3.70)	15(27.78)	8(14.81)	28(51.85)	3(5.56)

3 讨 论

牙体修复的治疗原则是尽量保留活髓,盖髓术是一种保存活髓的方法,盖髓术即是用盖髓剂覆盖露髓孔,刺激造牙本质细胞生长形成修复性牙本质桥封闭露髓孔,隔绝外界刺激,永久保留牙髓活力的一种治疗方法^[9-10]。盖髓剂有很多种,氢氧化钙制剂仍是目前应用最广泛和疗效较肯定的一类盖髓剂^[11]。直接盖髓术中,所有病例均充分止血,充分止血已被证明是决定直接盖髓术成败的一个重要因素。Arrais等^[12]研究证明,在置放盖髓材料之前没有充分的止血会严重影响盖髓效果。因为血凝块形成的屏障阻止了材料和牙髓的接触,并且血块中含有诱导坏死和退化的物质,这些物质会因其引菌作用导致炎症及坏死的发生。Dycal是化学固化型氢氧化钙,可自然快速凝固,固化前流动性好,无需加压就位,故不会对牙髓产生压力。固化后有一定的粘结力,具有良好的生物封闭作用,可防止细菌侵入,但是存在双糊剂调和方式、放置不太容易的缺点。可乐丽非露 SE³ BOND是新一代自酸蚀粘结剂,具有良好的抗微渗漏能力。陆玉等^[13]报道粘结系统所形成的树脂突较其他自酸蚀类材料更短且不影响其粘结强度,可乐丽非露 SE³ BOND对牙髓的刺激性较小^[14],牙体质粘接材料对牙髓组织存在较强的刺激^[15]。本研究认为,Dycal和可乐丽非露 SE³ BOND都是较好的间接盖髓剂,Dycal有良好的抗微渗漏能力、脱敏性和操作方便准确,在深髓间接盖髓后牙齿的抗龋坏能力增加,有助于减少继发龋的发生,并且可以缩短临床操作时间,减少患者使用树脂充填后的敏感不适症状,建议所有未穿髓窝洞都可以使用可乐丽非露 SE³ BOND。而对于露髓的患牙,Dycal直接盖髓成功率显著高于可乐丽非露 SE³ BOND,说明在直接盖髓术中,不宜使用可乐丽非露 SE³ BOND,更适合使用 Dycal 盖髓剂。

参考文献:

- [1] Lee YL, Lee BS, Lin FH, et al. Effects of physiological environments on the hydration behavior of mineral trioxide aggregate[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(5): 787-793.
- [2] De Souza Costa CA, Duarte PT, de Souza PP, et al. Cytotoxic effects and pulpal response caused by a mineral trioxide aggregate formulation and calcium hydroxide[J]. *Am J Dent*, 2008, 21(4): 255-261.
- [3] Parirokh MM. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive lit-

erature review part III: clinical applications, drawbacks, and mechanism of action[J]. *J Endod*, 2010, 36(3): 400-413.

- [4] Estrela CR. Calcium hydride study based on scientific evidences[J]. *J Appl Oral Sci*, 2003, 11(4): 269-282.
- [5] 张丹,李昊妍,梁景平,等.黏结剂直接盖髓体外实验研究[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2008, 18(11): 611-614.
- [6] Watanabe I, Nakabayash I, Pashley DH. Bonding to ground dentin by a phenyl P self-etching primer[J]. *J Dent Res*, 1994, 73(6): 1212-1213.
- [7] Blanco D. Treatment of crown fractures with pulp exposure[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1996, 82(5): 564-567.
- [8] 樊明文. *牙体牙髓病学*[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社, 2003: 204-210.
- [9] Tomson PL, Grover LM, Lumley PJ, et al. Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate[J]. *J Dent*, 2007, 35(8): 636-642.
- [10] Goldberg MC. Extracellular matrices of dentin, pulp, a biological basis for repair and tissue engineering[J]. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2004, 15(1): 13-27.
- [11] Schrode RU. A 2-year follow-up of primary molars, pulpotted with a gentle technique and capped with calcium hydroxide[J]. *Scand J Dent Res*, 1978, 86(4): 273-274.
- [12] Arrais CA, Giannini M. Morphology and thickness of the diffusion of resin through demineralized or unconditioned dentinal matrix[J]. *Pesqui Odontol Bras*, 2002, 16(2): 115-120.
- [13] 陆玉,刘天佳,皮根莉,等.可乐丽非露 SE BOND用于直接盖髓术的组织学评价[J]. *实用口腔医学杂志*, 2005, 21(4): 504-507.
- [14] Da Silva LA, de Freitas AC, de Carvalho FK, et al. Direct pulp capping with a self-etching adhesive system: histopathologic evaluation in dogs' teeth[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2009, 108(1): 34-40.
- [15] 何惠明,谢超,赵信义,等.牙本质黏结剂对牙髓直接影响的动物实验[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2005, 15(2): 80-83.

(收稿日期:2012-07-03 修回日期:2012-12-25)

(上接第 1018 页)

- [9] 郭东梅,胡蓉.冠心病新的危险因素研究进展[J]. *重庆医学*, 2011, 40(24): 2462-2465.
- [10] 舒娴,傅春江.血清胱抑素 C 与冠状动脉病变相关性研究[J]. *重庆医学*, 2010, 39(2): 197-199.
- [11] 王安伟,罗素新,向睿. 266 例冠心病患者经皮冠状动脉介入治疗的临床分析[J]. *重庆医学*, 2010, 39(12): 1582-1583.
- [12] 牛颖,罗先润,梁鹏.自体外周血内皮祖细胞移植联合 PPAR 激动剂治疗大鼠急性心肌梗死的实验研究[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2009(3): 169-172.
- [13] 张玉龙,方靖琴,张伟国,等.兔骨髓来源内皮祖细胞分离

培养及鉴定[J]. *重庆医学*, 2011, 40(10): 952-953.

- [14] 王代红,袁发焕.内皮祖细胞与肾脏病[J]. *重庆医学*, 2009, 38(22): 2898-2901.
- [15] 徐承平,张华蓉,陈飞兰,等.内皮祖细胞在胶质瘤新生血管中的募集和整合作用[J]. *重庆医学*, 2008, 37(21): 2424-2426.
- [16] 王代红,李芙蓉,张莹,等.内皮祖细胞移植对单侧输尿管梗阻大鼠肾小管周毛细血管重建的影响[J]. *重庆医学*, 2009, 38(23): 2294-2296.

(收稿日期:2012-11-13 修回日期:2013-01-17)