

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.27.009

# 风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞与 hs-CRP、IL-6 表达的变化及意义\*

秦亚录<sup>1</sup>, 许锋成<sup>1</sup>, 曾洪燕<sup>1</sup>, 吴多江<sup>2</sup>, 葛斌<sup>3</sup>, 晏明君<sup>1</sup>, 余朝萍<sup>1</sup>, 杜曦<sup>1</sup>, 汪斌<sup>1</sup>, 刘天虎<sup>1△</sup>  
(成都郫县人民医院:1. 心内科;2. 科教科;3. 检验科 611730)

**[摘要]** 目的 探讨风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞表达与超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)及 IL-6 的水平和意义。方法 风湿性心脏病患者 38 例,健康者 37 例(对照),采用流式细胞术检测风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞表达水平,ELISA 测定 hs-CRP 和 IL-6 的水平。结果 风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞表达水平明显高于健康者( $P < 0.05$ )。风湿性心脏病患者外周血 hs-CRP 及 IL-6 水平明显高于健康者( $P < 0.05$ )。风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞表达水平与外周血 hs-CRP、IL-6 呈正相关关系( $P < 0.01$ )。结论 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞表达增高与风湿性心脏病的发病有关;风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞表达增高影响 hs-CRP 及 IL-6,参与风湿性心脏病的发病。

**[关键词]** CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞;风湿性心脏病;超敏 C 反应蛋白;白介素-6

**[中图分类号]** R541.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)27-3772-03

## The expression and clinical significance of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T lymphocytes and hs-CRP and IL-6 in peripheral blood of rheumatic heart disease patients\*

Qin Yalu<sup>1</sup>, Xu Fengcheng<sup>1</sup>, Zeng Hongyan<sup>1</sup>, Wu Duojiang<sup>2</sup>, Ge Bin<sup>3</sup>, Yan Mingjun<sup>1</sup>,  
Yu Chaoping<sup>1</sup>, Du Xi<sup>1</sup>, Wang Bin<sup>1</sup>, Liu Tianhu<sup>1△</sup>

(1. Department of Cardiology; 2. Department of Science and Education; 3. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Pixian in Chengdu, Chengdu, Sichuan 611730, China)

**[Abstract]** **Objective** To find out the changes of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T lymphocytes, hs-CRP and IL-6 in peripheral blood of the rheumatic heart disease (RHD) patients and to discover the relationship between the hs-CRP and IL-6. **Methods** The proportion of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T lymphocytes in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from 38 patients with RHD and 37 healthy peoples were analyzed by Flow cytometry. Concentration of hs-CRP and IL-6 in serum from the same sample were tested the by ELISA. **Results** Compared with the healthy peoples, the proportion of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T lymphocytes and the serum concentration of hs-CRP and IL-6 were decreased obviously in patients with RHD all( $P < 0.05$ ). And the proportion of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T lymphocytes were positive correlated with the concentration of hs-CRP and IL-6 in RHD patients ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The increased expression of CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T lymphocytes may be associated with the pathogenesis of RHD that may affect the serum concentration of hs-CRP and IL-6 in RHD patients.

**[Key words]** CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T lymphocytes; rheumatic heart disease; high-sensitivity C-reactive protein; interleukin-6

风湿性心脏病是一种以长期、反复发作的风湿性心瓣膜炎所导致慢性心瓣膜损害的疾病。风湿性心脏病目前发病率高,但其发病机制仍不清楚,考虑与遗传、分子模拟、细胞免疫和体液免疫有关<sup>[1]</sup>。炎症在风湿性心脏病的发病中起到重要作用,而 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞在炎症中起重要作用,但有关风湿性心脏病和 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞研究的报道较少,本课题组通过检测风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞表达与超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、IL-6 表达的水平,探讨其在风湿性心脏病发病中的作用。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2013 年 1 月至 2014 年 6 月本院收治的风湿性心脏病患者 38 例为研究对象,符合 2002~2003 年 WHO 风湿热及风湿性心脏病诊断标准<sup>[2]</sup>,其中男 14 例,女 24 例,年龄(43.66±14.90)岁。排除标准:除外冠心病,肝肾功能不全,恶性肿瘤,急、慢性感染,炎症性疾病,糖尿病,甲状腺功能亢进等内分泌疾病及近期使用免疫调节药物者或近期有风湿和其他自身免疫性疾病患者。同时在本院健康体检科随机选取健康

者 37 例为对照,其中男 17 例,女 20 例,年龄(47.70±10.7)岁;两组性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。这一研究通过本院伦理委员会批准,所有入选患者均签署书面知情同意书。

**1.2 仪器与试剂** 仪器为流式细胞仪(BD FACS Canto II, 美国 BD 公司,由协作单位四川大学华西医院提供) Pacific Blue-Mouse Anti-Human CD3, APC-Cy<sup>TM</sup> 7 Mouse Anti-Human CD4 及相应同型对照抗体;红细胞裂解液均购自 BD 公司, Mutiskan Mk3 型酶标仪购自上海赛默非世尔公司,所用 hs-CRP、IL-6 试剂盒购自 Elisia Biotech 公司

**1.3 方法** 清晨在患者空腹状态下同时抽取肘静脉血 2 管,其中 1 管加入肝素抗凝,采用红细胞裂解液分离外周血单个核细胞(PBMC),以 PBS 洗涤后重悬制成 PBMC 悬液备用。取 PBMC 悬液 100 μL,分别加入荧光标记的抗人 Pacific Blue 标记的鼠抗人 CD3<sup>+</sup> 单克隆抗体, APC-Cy<sup>TM</sup> 7 标记的鼠抗人 CD4<sup>+</sup> 单克隆抗体,反应 30 min 后冷 PBS 洗涤,以 400 μL 冷 PBS 重悬,然后采用流式细胞仪进行检测,结果分析采用

\* 基金项目:四川省卫生计生基金项目(120277)。 作者简介:秦亚录(1982-),硕士,主治医师,主要从事心血管病基础及临床研究。

△ 通讯作者, E-mail: lthzgj@163.com。

FlowJo V<sub>10</sub> 软件, 在 FSC-SSC 点图上选定淋巴细胞群, 然后以 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 设门分析 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞表达水平。另外一管离心后, 将血浆放置在一 80 °C 冰箱中进行保存, 严格按照 ELISA 试剂盒操作步骤检测外周血清中 hs-CRP 和 IL-6 水平。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析, 各组数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用两独立样本 *t* 检验, 相关性分析采用 Pearson 相关分析, 检验水准  $\alpha=0.05$ , 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 风湿性心脏病患者外周血 IL-6 和 hs-CRP 水平** 风湿性心脏病患者外周血 hs-CRP 和 IL-6 水平显著高于健康者, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 外周血中 IL-6 和 hs-CRP 表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	IL-6 (pg/mL)	HS-CRP (mg/L)
风湿性心脏病患者	38	0.54 ± 0.17	8.48 ± 1.11
健康者	37	0.30 ± 0.07	6.92 ± 1.63
<i>t</i>		7.801	4.849
<i>P</i>		<0.01	0.01

**2.2 外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞表达** 风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞水平为 (34.46 ± 5.47)%, 显著高于健康者 (17.51 ± 3.66)%, 差异有统计学意义 ( $P<0.01$ )。见图 1。

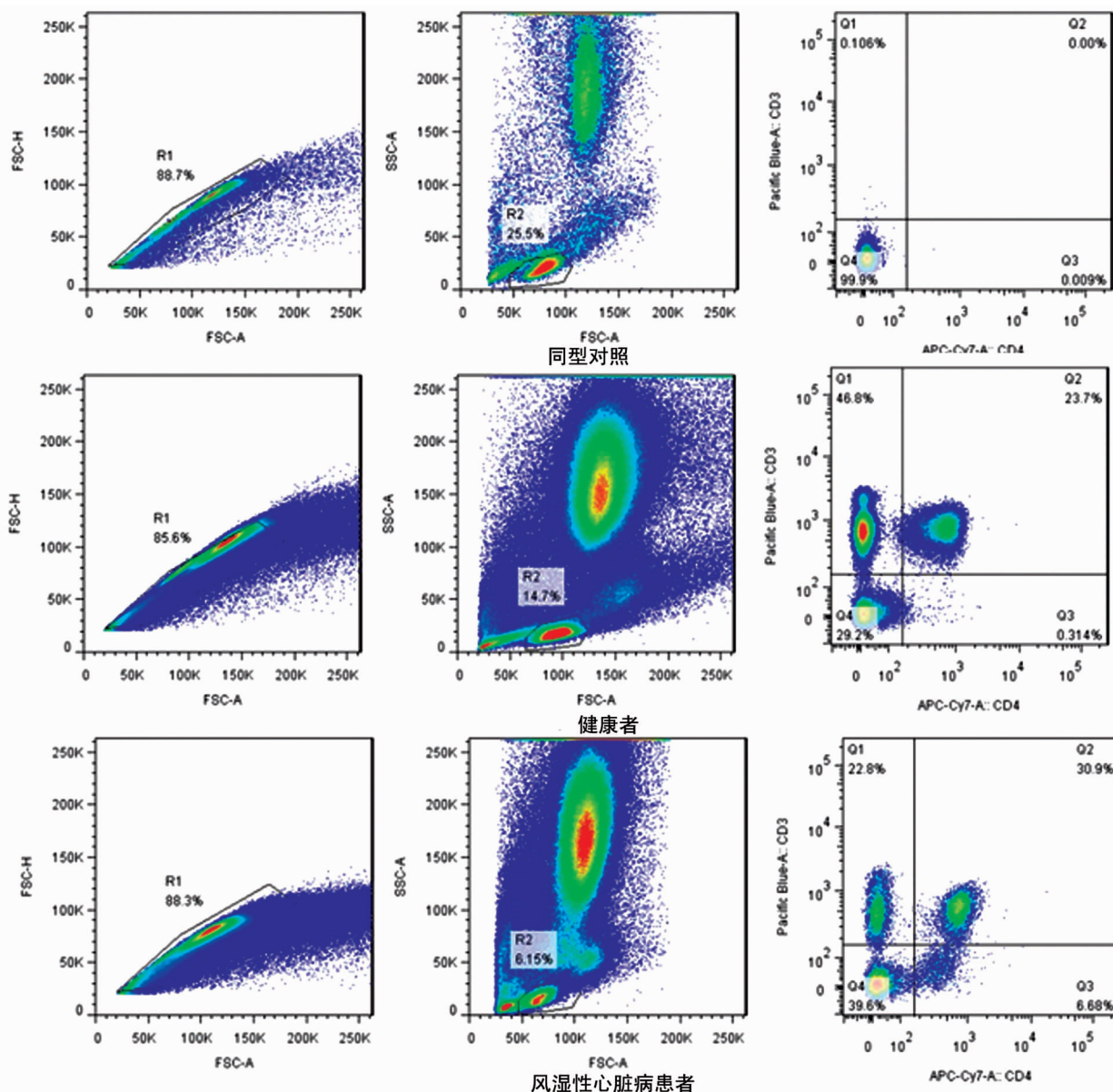


图 1 外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞表达

**2.3 相关性分析** 经过直线相关分析, 风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的表达与外周血 hs-CRP 水平呈正相关关系 ( $r=0.802, P<0.01$ ), 风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的表达与外周血 IL-6 水平呈正相关关系 ( $r=0.923, P<0.01$ )。

**3 讨 论**

据 2006 年北京阜外心血管病医院调查显示, 我国成人风湿性心脏病的发病率为 2%, 当时我国至少有 2 000 000 例风湿性心脏病患者<sup>[3]</sup>。研究发现风湿性心脏病与单核细胞及细胞因子有关, 目前大量的研究证实风湿性心脏病的发病与遗传

传、淋巴细胞、单核细胞以及细胞因子相关, 主要与病毒或细菌感染后的免疫反应和自身免疫反应有关, 然而风湿性心脏病的确切发病机制并不完全清楚<sup>[4]</sup>。研究发现 T 细胞在风湿性心脏病的瓣膜损害中发挥重要作用。有研究<sup>[5]</sup>证明 CD4<sup>+</sup> T 与风湿性心脏病损害有关。还有研究发现和心脏组织交叉反应的抗体结合到瓣膜内皮表面使大量的 CD4<sup>+</sup> T 细胞浸润<sup>[6-8]</sup>。另外有研究证实心脏组织浸润 T 细胞所有成分可能由外周前 T 细胞迁移而来<sup>[9]</sup>。本课题组发现的风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 双阳性表达的 T 细胞水平百分比明显高于健康者, 因此也进一步证实了这种 T 细胞在风湿性心脏病发病机制中的作用。

hs-CRP 为肝脏合成, 释放到血液中, 是一种全身性的非特异性的炎症标志物, 常于炎症反应期水平增高, 是心血管事件危险最强有力的预测因子之一<sup>[10]</sup>, 可由肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、IL-1、IL-6 及前列腺素 E 介导生成<sup>[11]</sup>。hs-CRP 还能与脂蛋白结合, 激活补体系统进而产生大量的炎症介质, 氧自由基增多, 致使炎症反应加重<sup>[12]</sup>。本组标本数量不多, 风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞表达量与 hs-CRP 比较呈正相关关系 ( $r=0.802, P<0.01$ ), 仍然提示风湿性心脏病与炎症的关联性很可能就是通过这种 T 细胞介导的某种机制而实现的。IL-6 是体内多种细胞产生的一种具有多种生物活性的刺激因子, 是炎症反应的细胞因子网络中一个中枢性调节因子, 参与机体的各种病理生理过程<sup>[13]</sup>。实验证明, IL-6 及其受体与心肌肥厚、心室重构、心肌功能下降及心肌细胞凋亡有密切联系<sup>[14]</sup>。IL-6 在炎症反应中起到重要作用, 该因子主要通过调节免疫细胞的增殖分化, 进而促进炎症反应的进程<sup>[15-16]</sup>。IL-6 在调节细胞免疫过程中起重要作用, 该因子能够激活和促进 T 细胞和成纤维细胞分化成熟, 并产生淋巴因子参与炎症反应; 此外 IL-6 能促使 B 细胞前体增殖分化产生浆细胞, 并产生相应的特异性抗体; 与集落刺激因子共同作用, 促进粒系和单核系祖细胞的增殖分化, 促进炎症反应进程。本研究风湿性心脏病外周血 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的表达与外周血 IL-6 水平呈正相关关系 ( $r=0.923, P<0.01$ )。

本研究通过对风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞与 hs-CRP、IL-6 水平表达的变化的研究发现, 风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞明显高于健康者, 提示 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞表达增高与风湿性心脏病的发病有关。风湿性心脏病患者 hs-CRP 及 IL-6 水平均高于健康者, 且与风湿性心脏病患者外周血中 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞水平呈正比, 说明风湿性心脏病患者外周血 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞表达增高影响 hs-CRP 及 IL-6, 参与风湿性心脏病的发生和发展。因此推测 CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞在风湿性心脏病的发生机制中, 尤其在风湿性心脏病炎症相关发病机制中可能起关键作用。

## 参考文献

- Guilherme L, Kalil J. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: cellular mechanisms leading autoimmune reactivity and disease[J]. *J Clin Immunol*, 2010, 30(1): 17-23.
- World Health Organisation. Rheumatic fever, rheumatic heart disease: report of a WHO expert consultation[Z]. Geneva: WHO, 2004.
- Xiang YJ, Dai SM. Prevalence of rheumatic diseases and disability in China[J]. *Rheumatol Int*, 2009, 29(5): 481-490.
- 秦亚录, 刘天虎. Notch 信号通路在风湿性心脏病炎症相关发病机制中的研究进展[J]. *心血管病学进展*, 2014, 35(6): 740-743.
- Faé KC, Palacios SA, Nogueira LG, et al. CXCL9/Mig mediates T cells recruitment to valvular tissue lesions of chronic rheumatic heart disease patients[J]. *Inflammation*, 2013, 36(4): 800-811.
- Moreland NJ, Wilson NJ. Can soluble adhesion molecules accurately predict carditis in acute rheumatic fever[J]. *Pediatr Cardiol*, 2014, 35(3): 556-557.
- Kirvan CA, Galvin JE, Hilt S, et al. Identification of streptococcal m-protein cardiopathogenic epitopes in experimental autoimmune valvulitis [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2014, 7(2): 172-181.
- Wang B, Xu ZY, Han L, et al. Impact of preoperative atrial fibrillation on mortality and cardiovascular outcomes of mechanical mitral valve replacement for rheumatic mitral valve disease[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2013, 43(3): 513-519.
- Gupta U, Mishra A, Rathore SS, et al. Association of angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism with rheumatic heart disease in Indian population and meta-analysis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 382(1/2): 75-82.
- 魏文青, 刘晶, 赵满仓. 超敏 C 反应蛋白——一种很有前景的评价心血管疾病危险度和治疗及预后的标志物[J]. *标记免疫分析与临床*, 2011, 18(1): 53-56.
- Bilgir O, Bilgir F, Topcuoglu T, et al. Comparison of high-sensitivity C-reactive protein and fetuin-A levels before and after treatment for subjects with subclinical hyperthyroidism[J]. *Endocrine*, 2014, 45(2): 244-248.
- Genovese MC, Bojin S, Biagini IM, et al. Tabalumab in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate and naive to biologic therapy: a phase II, randomized, placebo-controlled trial [J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(4): 880-889.
- 宋斌斌, 高美华. 白细胞介素-6 与心血管疾病的相关性研究[J]. *药物与人*, 2014(7): 255.
- 何爽, 韩丽娜, 王玉堂, 等. IL-6 单克隆抗体对自身免疫性心肌炎的保护作用及其机制[J]. *中国应用生理学杂志*, 2014(2): 119-123.
- 杨文, 刘洁云, 秦雷. 瑞舒伐他汀与阿托伐他汀治疗冠心病的疗效对比研究[J]. *中国全科医学*, 2013, 16(6): 621-623.
- 崔飞飞, 徐惠. 阿托伐他汀对冠心病性心力衰竭患者血浆 hs-CRP、NT-proBNP 水平及心功能的影响[J]. *山东医药*, 2014, 54(8): 42-44.