



急性心肌梗死患者血浆VEGF、SDF-1和外周血CD34+细胞的动态改变及其意义

急性心肌梗死时心肌细胞严重的缺血、缺氧,局部的炎性环境可促使多种细胞因子和趋化因子的产生和释放。这些因子的产生一方面可加重炎症反应,另一方面也有助于修复坏死损伤的心肌细胞。多项动物研究发现,组织的缺血可动员骨髓干细胞进入外周血,外周血中的干细胞在损伤组织局部趋化因子的作用下,可归巢至缺血组织,发挥其修复的作用。研究发现,局部的缺血、缺氧可促使血管内皮生长因子(VEGF)和基质细胞衍生因子-1(SDF-1)表达增加,VEGF是一种强有力的促血管生成因子,而SDF-1是一种对CD34+祖细胞有明显趋化作用的蛋白,SDF-1及配体CXCR4在干/祖细胞归巢中具有重要的作用。现有的关于急性心肌梗死后外周血干细胞及VEGF、SDF-1的变化研究甚少。本研究通过检测急性心肌梗死患者血浆SDF-1、VEGF及外周血CD34+细胞的变化,研究其相互之间的关系,探讨其在心梗修复过程中的作用。

1 对象和方法

1.1 研究对象

本研究包括30例急性心肌梗死患者。入选标准:胸痛持续30 min,舌下含服硝酸酯类不缓解,至少相邻两个导联ST段抬高超过0.2 mv,血CK-MB升高超过正常值上限2倍以上。心梗患者均于发病6 h内入院。选择与心肌梗死组年龄与性别匹配的冠脉造影正常者15例作为对照组。本研究经过西安交通大学医学院第一附属医院伦理委员会批准,所有患者均签署了知情同意书。

1.2 方法

患者于入院第1天及入院第3、7、10、14天晨起空腹采取静脉血5 ml,对照组亦于晨起空腹采取静脉血5 ml。所有血样经EDTA抗凝,离心后分离血浆,放置于-80 °C冰箱中保存。检测指标:所有患者入院后常规行血常规、心肌酶、肌钙蛋白I、心电图及心脏超声检测。入院第1天及入院第7、14天行外周血CD34+细胞绝对值的检测,采用BD公司Procount Progenitor Cell计数盒,经流式细胞仪(FACSCal-ibur™, Becton-Dickinson)进行检测分析。采用入院第10天心电图,使用心电图计分方法计算梗死面积[1]。SDF-1的检测采用R&D的人SDF-1ELISA检测试剂盒,检测前将血浆于低温下10 000 r/min离心10 min,以去除血小板。VEGF检测采用晶美生物工程有限公司的人VEGF ELISA检测试剂盒,严格按照说明书进行操作。

1.3 统计学处理

所有统计分析均使用SPSS11.0统计软件,计量资料采用均数±标准差表示,两组间差异用t检验,多组间的比较用方差分析,计数资料的比较用 χ^2 检验,两变量之间的关系采用直线回归和相关分析。检测水平为双侧, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象基本情况

急性心肌梗死患者30例，其中男25例、女5例，年龄(56.5±1.98)岁。对照组15例，其中男13例、女2例，年龄(57.7±2.00)岁。两组在性别、年龄上基本匹配(P>0.05)。

2.2 外周血白细胞及外周血CD34⁺细胞水平

心梗第1天外周血白细胞最高达 $14.8 \times 10^9/L$ ，平均 $(9.86 \pm 2.79) \times 10^9/L$ ，第7天及第14天分别为 $(8.96 \pm 2.87) \times 10^9/L$ 和 $(6.92 \pm 1.67) \times 10^9/L$ ，三者之间无统计学上的差异(P>0.05)。图1示急性心肌梗死患者外周血CD34⁺细胞水平，心梗后第7天外周血CD34⁺细胞数达到高峰，与第1天相比有明显差异(P<0.05)。以后逐渐下降，第14天时基本恢复至入院时水平。

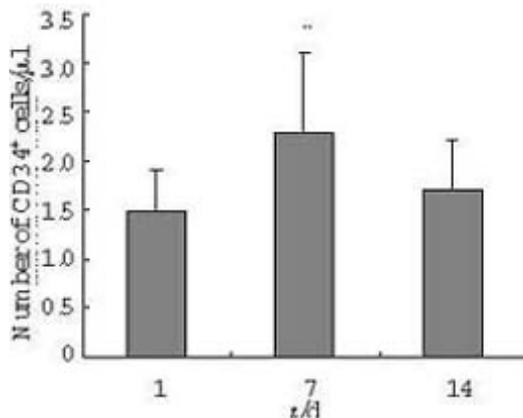


图1 心梗后患者CD34⁺细胞

Fig.1 Peripheral CD34⁺ cells count after AMI

*P<0.05 vs on day 1

2.3 两组VEGF水平

由图2可看出，心肌梗死组各时间点的VEGF水平均明显高于对照组。心梗后第1天VEGF即明显增高，第3天时有所降低，第7天接近于第1天水平，至第14天时达到高峰值。

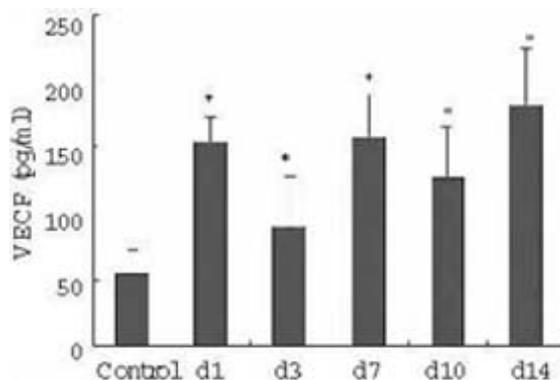


图2 心梗后患者血浆VEGF的变化

Fig.2 Plasma VEGF levels in patients with AMI

*P<0.05 vs control

2.4 两组SDF-1水平

如图3所示，心梗患者第1天SDF-1水平显著低于对照组(P<0.05)，随着心梗天数的增加，血SDF-1水平逐渐恢复至对照组水平。

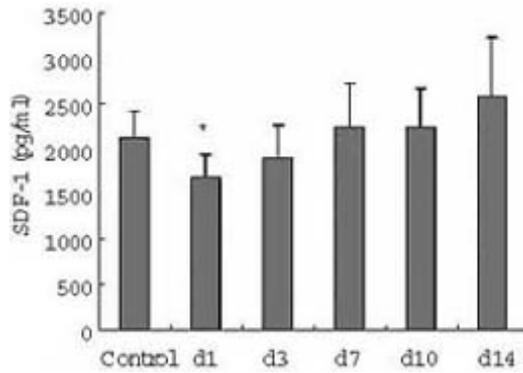


图3 心梗后患者血浆SDF-1的变化
Fig.3 Plasma levels of SDF-1 in patients with AMI
*P<0.05 vs the control

2.5 VEGF、SDF-1与外周血CD34⁺细胞的关系

通过相关分析后发现，CD34⁺细胞峰值与第7天VEGF之间有明显相关关系($r=0.648$, $P<0.01$)，见图4。各时间段的SDF-1值与CD34⁺细胞峰值之间均无相关关系，VEGF值与SDF-1值之间亦无相关关系。

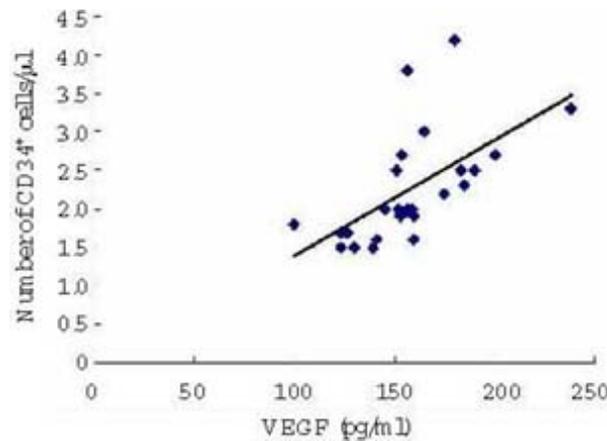


图4 心梗患者外周血CD34⁺细胞与VEGF的相关性
Fig.4 Peripheral CD34⁺ cells in correlation with plasma VEGF levels in patients with AMI

2.6 与CK-MB峰值及肌钙蛋白I之间的关系

第14天的VEGF峰值与CK-MB峰值有明显相关性($r=0.612$, $P=0.027$)，与肌钙蛋白I亦有明显相关性($r=0.698$, $P=0.025$)。外周血CD34⁺细胞峰值及各时间段的SDF-1值与CK-MB峰值及肌钙蛋白I之间均无相关关系。

2.7 与梗死面积、EF值的关系

VEGF、SDF-1及CD34⁺细胞数与经心电图计分方法所计算的梗死面积之间无明显相关性，与住院时心脏超声的EF值之间亦无明显相关。

3 讨论

本研究发现，心肌梗死后代表干细胞的外周血CD34⁺细胞明显增多，这一点与研究发现组织的缺血可动员机体的内皮前体细胞相互印证[2]。研究发现急性心肌梗死不仅可动员体内CD34⁺、c-met⁺的干细胞进入外周血，而且这些干细胞还可表达心肌和内皮细胞的标志物[3]。另有报道发现急性心肌梗死后动员的干细胞数量

与左室射血分值有明显的正相关[4]。这些研究说明心肌梗死本身即可动员机体的干细胞，这些被动动员的干细胞与机体修复缺血损伤组织有着密切关系。

心肌组织发生急性缺血、缺氧时，组织细胞在缺氧坏死条件下分泌多种细胞因子，这些因子参与损伤后的炎症反应和组织修复。VEGF是近年来已得到公认的强有力的促血管生长因子。多项研究发现心梗后血VEGF明显升高，一般于7~14 d达到高峰，其在血中的水平甚至在心梗后6个月仍高于对照组[5]。VEGF是一个肝素结合蛋白，患者在使用肝素后，血VEGF可明显降低[6]。本研究发现心梗患者VEGF在第1天明显增加，第3天显著降低，第7天渐恢复至高水平，这可能与心梗治疗时应用肝素有关。VEGF的升高在损伤后心肌修复和血管生成中具有重要意义。VEGF本身除具有明显的促血管生成作用外，它还可通过动员机体的干细胞参与心脏修复。Satoshi等[2]研究发现，急性心梗后，伴随VEGF的升高，外周血内皮前体细胞亦明显增加，这有利于血管的生成。而VEGF亦参与干细胞修复损伤心肌的过程。Hiasa等[7]通过冠脉将骨髓单个核细胞注入梗死心肌中，发现其缩小梗死面积的作用很大程度上是通过分泌VEGF来达到的。Tang等[8]将间充质干细胞植入梗死心肌，发现VEGF表达增强，新生血管增加。Urbich等[9]发现归巢至缺血组织中的内皮前体细胞可分泌VEGF。由此可见，组织缺血损伤后可通过产生VEGF等细胞因子及动员干细胞来进行自身修复，而归巢至缺血组织的干细胞亦可通过分泌VEGF等血管因子进一步促进损伤组织的修复，两者可起到相互促进的正反馈效应。本研究发现，心梗后VEGF升高的同时，外周血CD34⁺细胞亦明显增加，两者之间关系密切，说明心梗后VEGF可能参与机体干细胞的动员，且两者之间存在一定的时间效应，即VEGF在心梗后可立即升高，而机体干细胞池释放干细胞却具有一定的延迟效应，其机制还待深入研究。本研究亦发现VEGF与心梗后心肌损伤标志物关系密切，提示损伤心肌可能是心梗后早期VEGF的重要来源。至于VEGF的水平是否能够反应心梗面积的大小，还需进一步研究。

SDF-1是一个在造血干/祖细胞归巢中有重要作用的因子，它对CD34⁺细胞具有明显趋化作用。在肢体缺血组织的研究中发现，SDF-1在mRNA水平和蛋白水平均增加，它可增加组织中内皮前体细胞数及血管的形成[10]。大鼠心梗后即刻SDF-1表达上调，在7 d内下降。心梗8周后，将稳定转染表达SDF-1的心肌成纤维细胞植入梗死周围区，在用干细胞动员剂后发现，SDF-1组心脏中有更多CD117⁺和CD34⁺细胞，心脏功能明显改善[11]。研究发现SDF-1在心梗后招募更多骨髓干细胞归巢至缺血心肌的过程中起关键作用[12]。有研究将转染SDF-1的质粒注入缺血组织中，发现其增加血管生成的作用与VEGF有关[13]。由此可见，组织的缺血可使局部SDF-1表达上调，促使更多的外周血干细胞归巢至损伤部位，到达局部的干细胞与缺血后增加的VEGF及SDF-1相互作用，共同发挥促进血管生成和心肌再生等作用。这些研究结果提示，对于心肌缺血等组织缺血性疾病，联合应用细胞治疗和细胞因子治疗，可能会达到更好的治疗前景。国内外关于缺血后患者血SDF-1水平变化的研究甚少。Damás等[14]发现心绞痛患者的SDF-1较对照组明显降低，不稳定心绞痛者尤其明显。本研究发现，心梗后短期内SDF-1明显降低，以后渐升高。这似乎与动物实验中缺血组织局部SDF-1表达增加相矛盾，其机制可能是组织缺血在短期内，为了趋化更多干细胞归巢至缺血组织，有更多的SDF-1被“锚定”在缺血坏死组织局部，从而能更好的达到其修复损伤组织的目的。

本研究结果提示，急性心肌梗塞本身即可动员机体的干细胞，心梗后血VEGF和SDF-1的动态改变可能与干细胞动员及归巢至损伤组织密切相关。

参考文献:

- [1] 张开滋. 临床心电信息学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2001: 201-3.
- [2] Satoshi S, Toyooki M, Hisao I, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2001, 103(12): 2776-9.
- [3] Wojakowski W, Tendera M, Michalowska A, et al. Mobilization of CD34/CXCR4+, CD34/CD117+, c-met+ stem cells, and mononuclear cells expressing early cardiac, muscle, and endothelial markers into peripheral blood in patients with acute myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2004, 110(20): 3213-20.
- [4] Wojakowski W, Tendera M, Zebzda A, et al. Mobilization of CD34+, CD117+, CXCR4+, c-met+ stem cells is correlated with left ventricular ejection fraction and plasma NT-proBNP

levels in patients with acute myocardial infarction[J]. Eur Heart J, 2006, 27(3): 283-9.

[5]Andrea K, Christoph R, Matthias K, et al. Elevation of vascular endothelial growth factor: a serum levels following acute myocardial infarction. evidence for its origin and functional significance[J]. J Mol Cell Cardiol, 2000, 32(1): 65-72.

[6]Atsuhiko K, Hiroyuki K, Yasuhiro A, et al. Serum levels of VEGF and basic FGF in the subacute phase of myocardial infarction[J]. Int J Cardiol, 1998, 67(1): 47-54.

[7]Hiasa K, Egashira K, Kitamoto S, et al. Bone marrow mononuclear cell therapy limits myocardial infarct size through vascular endothelial growth factor[J]. Basic Res Cardiol, 2004, 99(3): 165-72.

[8]Tang YL, Zhao Q, Zhang YC, et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation induce VEGF and neovascularization in ischemic myocardium[J]. Regul Pept, 2004, 117(1): 3-10.

[9]Urbich C, Aicher A, Heeschen C, et al. Soluble factors released by endothelial progenitor cells promote migration of endothelial cells and cardiac resident progenitor cells[J]. J Mol Cell Cardiol, 2005, 39(5): 733-42.

[10]De Falco E, Porcelli D, Torella AR, et al. SDF-1 involvement in endothelial phenotype and ischemia-induced recruitment of bone marrow progenitor cells[J]. Blood, 2004, 104(12): 3472-82.

[11]Arman TA, Samuel U, Zoran BP, et al. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy[J]. Lancet, 2003, 362(9385): 697-703.

[12]Abbott JD, Huang Y, Liu D, et al. Stromal cell-derived factor-1alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury[J]. Circulation, 2004, 110(21): 3300-5.

[13]Kenichi H, Minako I, Kisho O, et al. Gene transfer of stromal cell-derived factor-1 enhances ischemic vasculogenesis and angiogenesis via vascular endothelial growth factor/endothelial nitric oxide synthase-related pathway[J]. Circulation, 2004, 109(20): 2454-61.

[14]Damas JK, Torgun W, Arne Y, et al. Stromal cell-derived factor-1 in unstable angina: potential antiinflammatory and matrix-stabilizing effects[J]. Circulation, 2002, 106(1): 36-42.