

## 冠心病患者血浆 IL-35 水平的变化及意义

罗程<sup>1</sup>, 吉庆伟<sup>2</sup>, 林英忠<sup>2</sup>, 赖沙毅<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>柳州市工人医院心内科, 广西柳州 545005; <sup>2</sup>广西壮族自治区人民医院心内科, 广西南宁 530021)

[关键词] IL-35; 动脉粥样硬化; 冠心病

[中图分类号] R392.11; R543.3

[文献标志码] B

冠状动脉粥样硬化性心脏病 (coronary atherosclerotic heart disease, CHD) 是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 性疾病中最常见也是最严重的类型。AS 是一种慢性炎症性疾病, 往往表现为促炎相关因子活性升高和抗炎细胞与因子活性下降<sup>[1]</sup>。具有抑制免疫活性作用的调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 及其自身分泌的抗炎细胞因子 IL-10 和 TGF- $\beta$ 1 对 AS 有明确的保护作用。Treg 分泌一种新型抑制性细胞因子白介素 35 (IL-35), IL-35 具有调节免疫反应、阻止和延缓多种炎症性疾病发生、发展的功能<sup>[2]</sup>。但 IL-35 在 CHD 患者外周血中水平的变化及其意义未见报道。本研究检测 98 例 CHD 患者和 33 例正常人血浆中 IL-35 水平变化, 并分析与冠脉病变的关系, 探讨 IL-35 在 CHD 发病机制中的可能作用。

### 1 对象和方法

**1.1 对象** 选择 2011-07/2012-03 在广西壮族自治区人民医院心内科住院并确诊为冠心病的患者 98 例, 男 67 例, 女 31 例, 年龄 42~80 岁, 平均年龄 (63.25  $\pm$  10.88) 岁, 其中稳定型心绞痛 (stable angina pectoris, SAP) 组 30 例, 不稳定型心绞痛 (unstable angina pectoris, UAP) 组 40 例, 急性 ST 段抬高性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 组 28 例, 均符合 2007 年 ACC/AHA 的诊断和分型标准。同期住院的 33 例冠状动脉造影正常的胸痛综合征患者 (chest pain syndrome, CPS) 为对照, 其中男 20 例, 女 13 例, 年龄 45~77 岁, 平均年龄 (60.73  $\pm$  7.45) 岁。排除标准: 所有纳入对象均无急慢性感染性疾病, 均未用过抗炎、激素等治疗, 均无瓣膜性心脏病、扩张型心肌病、血栓性疾病、严重肝肾功能损害、传染病、恶性肿瘤及血液病、自身免疫性疾病。本研究经医院伦理委员会批准, 所有研究对象均签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 临床资料** 所有研究对象均在入院后详细记录年龄、性别、高血压、糖尿病、吸烟史以及血糖、血脂、冠脉病变部位及狭窄程度等指标。Gensini 积分统计方法如下: 采用荷兰

飞利浦公司数字剪影冠状动脉造影机取多部位造影, 由 2 名介入经验丰富的心血管内科医师判断和分析冠状动脉狭窄部位和程度, 并采用 Gensini 积分系统对冠脉病变程度进行定量评定: (1) 根据冠状动脉狭窄程度确定狭窄评分: 狭窄  $\leq$  25% 为 1 分, 25% < 狭窄  $\leq$  50% 为 2 分, 50% < 狭窄  $\leq$  75% 为 4 分, 75% < 狭窄  $\leq$  90% 为 8 分, 99% 为 16 分, 100% (闭塞) 为 32 分。 (2) 根据冠脉病变部位确定权重系数: ①左冠状动脉主干 5; 前降支近段 2.5, 中段 1.5, 远段 1, 第一对角支 1, 第二对角支 0.5; 回旋支近段 2.5, 钝缘支 1, 远段 1, 后降支 1, 后侧支 0.5。 ②右冠状动脉近段 1, 中段 1, 远段 1, 后降支 1。冠状动脉各部位的狭窄评分乘以该部位的权重系数并相加, 所得总积分即为该患者的 Gensini 积分。

**1.2.2 标本采集及细胞因子水平的检测** 所有研究对象的进行均在入院后次日清晨空腹采集静脉血 2 mL, 注入肝素抗凝管内, 6 h 内处理标本, 以 3 000 r/min 离心 15 min, 吸取上层血浆置于 -80°C 冰箱内保存, 待标本收齐后统一用双抗体夹心 ELISA 测定 IL-35 水平, 操作过程严格按照产品说明进行。ELISA 试剂盒均由上海西唐生物科技有限公司提供。

**1.2.3 统计学分析** 应用 SPSS16.0 统计软件进行统计学处理, 正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 非正态分布的计量资料以  $M(P_{25}, P_{75})$  表示。对照组和 CHD 各组间各项数值指标方差齐者采用方差分析, 方差不齐者采用秩和检验, 率的比较采用  $\chi^2$  检验, 非正态分布数据比较用非参数检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 一般临床资料** 冠心病患者 3 个组患者的年龄、性别、高血压患病率、糖尿病患病率、吸烟率与胸痛综合征组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL)、空腹血糖 (fasting blood-glucose, GLU)、Gensini 积分比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

收稿日期: 2012-11-07; 接受日期: 2012-12-17

基金项目: 国家自然科学基金 (81160045)

作者简介: 罗程 (1985-), 男, 壮族, 广西柳州人, 住院医师, 硕士研究生

Tel: 15907721504; E-mail: gugulanglang@163.com

\* Corresponding author, 赖沙毅, E-mail: lzlsy@medmail.com.cn

表1 4组研究对象临床资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别(n)	CPS(33)	SAP(30)	UAP(40)	AMI(28)
年龄(岁)	60.73 ± 7.45	61.84 ± 12.09	64.97 ± 9.63	64.10 ± 10.46
性别(男/女)	20/13	21/9	27/13	19/9
高血压(%)	18 (54.50)	18 (60.00)	23 (57.50)	13 (46.40)
糖尿病(%)	5 (15.20)	8 (26.70)	8 (20.00)	6 (21.40)
吸烟史(%)	17 (51.50)	14 (46.70)	22 (55.00)	17 (60.70)
TC(mmol/L)	3.93 ± 0.61	3.74 ± 0.81	4.69 ± 0.98*	4.29 ± 0.97
TG(mmol/L)	1.41 ± 0.66	2.10 ± 1.00	2.52 ± 1.68*	1.32 ± 0.70
LDL-C(mmol/L)	2.10 ± 0.52	1.97 ± 0.64	2.62 ± 0.90*	2.57 ± 0.65
HDL-C(mmol/L)	1.18 ± 0.28	1.14 ± 0.26	0.97 ± 0.31*	1.03 ± 0.32
GLU(mmol/L)	4.97 ± 0.65	5.31 ± 0.96	5.98 ± 1.60*	6.67 ± 1.80*
Gensini积分	0.00 ± 0.00	22.41 ± 23.21*	27.86 ± 22.83*	53.17 ± 28.93*

\* $P < 0.05$  vs CPS组。

2.2 冠心病患者中 IL-35 水平的比较 与 CPS 组相比, CHD 患者血浆 IL-35 水平均显著降低, 并且 UAP 组和 AMI 组血浆的 IL-35 水平显著低于 SAP 组。

表2 4组研究对象(删除不同冠心病患者)中 IL-35 水平的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别(n)	CPS(33)	SAP(30)	UAP(40)	AMI(28)
IL-35(pg/mL)	117.40 ± 34.17	89.63 ± 35.19 <sup>b</sup>	68.69 ± 23.08 <sup>bc</sup>	43.81 ± 28.09 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs CPS组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs SAP组。

2.3 CHD 患者 IL-35 水平四分组中 Gensini 积分的比较 根据 CHD 患者的 IL-35 水平四分位间距分为 4 组 ( $\leq 36.25$ ;  $36.25 \sim 66.99$ ;  $66.99 \sim 90.59$ ;  $\geq 90.59$ ), 比较 4 组间 Gensini 积分的差异, 结果显示差异无统计学意义。

2.4 相关性分析 直线相关性分析结果提示, CHD 患者 IL-35 水平与 Gensini 积分无相关 ( $r = -0.04$ ,  $P = 0.71$ )。

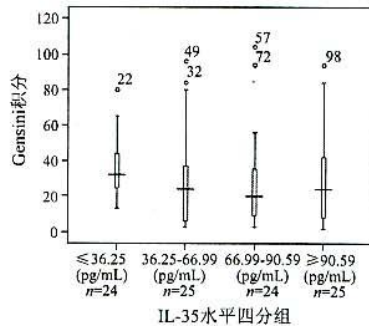


图1 IL-35 水平四分组中 Gensini 积分的变化

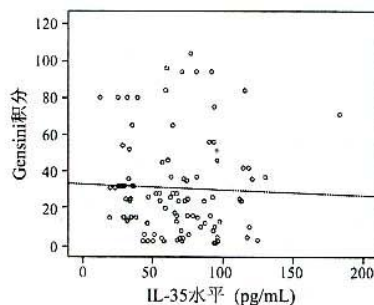


图2 IL-35 水平与 Gensini 积分的相关性分析

### 3 讨论

AS 是一种由各种炎症细胞和炎症因子参与的慢性炎症性疾病, 促炎细胞(包括 Th1、IFN- $\gamma$  及 IL-17)的大量激活与细胞因子的高效表达促使 AS 斑块增厚、破裂, 继而导致 UAP 和 AMI 发生<sup>[3-4]</sup>。研究发现, 具有拮抗炎症激活, 延缓斑块进展作用的抑炎细胞及细胞因子(Treg、IL-10 和 TGF- $\beta$ )在 CHD 尤其急性冠脉综合征患者血浆中显著下降, 抗炎活性不足是 CHD 进展的重要因素<sup>[5]</sup>。Kempe 等<sup>[6]</sup>报道新型抑炎因子 IL-35 在颈动脉的不稳定斑块中强阳性表达, 提示 IL-35 也参与了 AS 的发病过程。IL-35 的主要生物学功能为: 抑制效应性 T 细胞(包括 Th1 和 Th17 细胞)的发育、增殖, 抑制 IFN- $\gamma$ 、IL-17 分泌<sup>[7-8]</sup>; 诱导大量诱导型 Treg(iTREG)的产生, 有效增强了 Treg 亚群的数量和免疫调节功能<sup>[9-10]</sup>。IL-35 的抗炎作用在关节炎<sup>[8]</sup>、结肠炎<sup>[11]</sup>、哮喘<sup>[12]</sup>等多种实验性炎症疾病中亦得到证实。本研究中, IL-35 水平在 3 组 CHD 患者中均较 CPS 组下降, 提示 IL-35 可能也参与了 CHD 的发病过程。IL-35 水平在急性冠脉综合征患者(UAP 和 AMI 组)血浆中较 SAP 组进一步下降, 推测其抗炎活性的下降不足以抑制促炎因子的致病作用, 促使病情进一步加重, 另外可能与动脉粥样硬化斑块的不稳定性密切相关。Gensini 积分是反映冠脉病变的狭窄程度及范围的良好指标<sup>[13]</sup>, 本研究发现, 在 IL-35 水平四分组中 Gensini 积分无明显差异, 并且 IL-35 与 Gensini 积分也无相关性, 这提示 IL-35 与冠脉病变严重程度无相关。

综上所述, 新型抗炎因子 IL-35 可能参与了冠心病的发病过程, 在冠心病患者中的低表达可能与动脉粥样硬化斑块的不稳定性密切相关, 并可能成为一个评估冠心病患者预后的新指标。但其确切机制仍有待进一步的动物实验阐明。

### 参考文献:

- [1] Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease[J]. Am Heart J, 1999, 138(5Pt2): S419 - 420.
- [2] Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function[J]. Nature, 2007, 450(7169): 566 - 569.
- [3] Mallat Z, Ait-Oufella H, Tedgui A. Regulatory T-cell immunity in atherosclerosis[J]. Trends Cardiovasc Med, 2007, 17(4): 113 - 118.
- [4] Eid RE, Rao DA, Zhou J, et al. Interleukin-17 and interferon-gamma are produced concomitantly by human coronary artery-infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells[J]. Circulation, 2009, 119(10): 1424 - 1432.

(下转 764 页)

- [5] Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis[J]. *Science*, 1989, 244(4902): 362-364.
- [6] Barrera JM, Francis B, Ercilla C, et al. Improved detection of anti-HCV in post-transfusion hepatitis by a third-generation ELISA[J]. *Vox Sang*, 1995, 68(1): 15-18.
- [7] 谷金莲, 祁自柏, 王尊文, 等. 丙型肝炎病毒抗体试剂检测结果的可信度分析[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(6): 580-583.
- [8] 潘孝彰. 新发传染病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004; 6-86.
- [9] 秦艳兰, 刘仁强, 刘景春, 等. 丙型肝炎病毒抗体(抗-HCV)诊断试剂盒质控评价分析[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2009, 25(2): 139-140.
- [10] 金容玉, 周 诚, 苏 涛, 等. 丙型肝炎抗体 ELISA 诊断试剂质控参考品的建立[J]. *中国生物制品学杂志*, 1994, 7(1): 18-23.
- [11] 金容玉, 祁自柏, 周 诚, 等. 第二代丙型肝炎诊断试剂质量控制参考品的建立[J]. *中华医学检验杂志*, 1994, 4: 207-211.
- [12] 祁自柏, 周 诚, 扬 振, 等. 第 3 代丙肝试剂国家参考品的研制及初步应用[J]. *中国生物制品学杂志*, 1999, 2(2): 103-105.
- [13] 周 诚, 祁自柏, 谷金莲, 等. 抗 HCV 国家参考品的研制[J]. *中国预防医学杂志*, 2002, 3(1): 8-11.
- [14] 谷金莲, 祁自柏, 王尊文, 等. 丙型肝炎病毒抗体试剂检测结果的可信度分析[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(6): 580-583.
- [15] 谷金莲, 祁自柏, 扬 振, 等. 第 5 套丙型肝炎病毒抗体诊断试剂国家参考品的研制[J]. *中国生物制品学杂志*, 2006, 19(1): 68-70.
- [16] 孙丽杰, 刘 伟, 于建武. 丙型肝炎患者 HCV 血清型和基因型的研究[J]. *临床检验杂志*, 2007, 25(4): 4271-4272.
- [17] 卜秋宁, 王 玲, 刘 鹏, 等. 国产丙型肝炎诊断试剂评价质控体系的建立[J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(2): 137-140.

(上接 760 页)

- [5] Cheng X, Yu X, Ding YJ, et al. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome[J]. *Clin Immunol*, 2008, 127(1): 89-97.
- [6] Kempe S, Heinz P, Kokai E, et al. Epstein-barr virus-induced gene-3 is expressed in human atheroma plaques[J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(1): 440-447.
- [7] Chaturvedi V, Collison LW, Guy CS, et al. Cutting edge: Human regulatory T cells require IL-35 to mediate suppression and infectious tolerance[J]. *J Immunol*, 2011, 186(12): 6661-6666.
- [8] Niedbala W, Wei XQ, Cai B, et al. IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulatory T cells and suppression of Th17 cells[J]. *Eur J Immunol*, 2007, 37(11): 3021-3029.
- [9] Kochetkova I, Golden S, Holderness K, et al. IL-35 Stimulation of CD39<sup>+</sup> regulatory T cells confers protection against collagen II-induced arthritis via the production of IL-10[J]. *J Immunol*, 2010, 184(12): 7144-7153.
- [10] Castellani ML, Anogeianaki A, Felaco P, et al. IL-35, an anti-inflammatory cytokine which expands CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg cells[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2010, 24(2): 131-135.
- [11] Wirtz S, Billmeier U, McHedlidze T, et al. Interleukin-35 mediates mucosal immune responses that protect against T-cell-dependent colitis[J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(5): 1875-1886.
- [12] Huang CH, Loo EX, Kuo IC, et al. Airway inflammation and IgE production induced by dust mite allergen-specific memory/effector Th2 cell line can be effectively attenuated by IL-35[J]. *J Immunol*, 2011, 187(1): 462-471.
- [13] Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease[J]. *Am J Cardiol*, 1983, 51(3): 606.