

干扰素- γ 诱导的单核因子与冠脉慢血流现象关系研究

梁有峰,郭增,张益名,王春苗,程宝山,梁丰

摘要 目的 探讨干扰素- γ 诱导的单核因子(MIG)水平与冠状动脉慢血流现象(CSFP)之间的关系。方法 选取CSFP患者80例和冠脉血流正常的患者54例,分别作为CSFP组和非CSFP组,采用心肌梗死溶栓(TIMI)帧计数(TFC)法定量测定冠脉血流速度,同时收集入选患者的临床资料和生化指标,以及CD40L,干扰素- γ (IFN- γ)和MIG水平等,并分析临床资料、血生化指标、趋化因子水平及其与CSFP之间的关系。结果 CSFP组CD40L,IFN- γ 及MIG水平分别高于非CSFP组($P=0.001$),相关性分析显示MIG水平与平均TFC帧数呈正相关($r=0.879, P=0.009$)。多因素Logistic回归分析提示MIG是CSFP的重要影响因素($\beta=0.874, P=0.011$)。ROC曲线分析显示MIG水平对CSFP具有较高的诊断价值,ROC曲线下面积(AUC)为0.793,敏感性为0.79%,特异性为76.0%,95%CI 0.714~0.872。结论 趋化因子CD40L,IFN- γ 及MIG可能协同参与了炎症反应及血管动脉硬化过程,其中MIG作为CSFP的一个重要影响因素,参与了其发生发展的过程。

关键词 趋化因子;MIG;冠状动脉慢血流;冠状动脉疾病

中图分类号 R 541.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)01-0161-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.01.027

冠状动脉慢血流现象(coronary slow flow phenomenon, CSFP)是一种冠状动脉疾病(Coronary artery disease, CAD),指冠状动脉血管没有阻塞而远端造影剂充盈延迟的现象^[1],其发病机制尚未完全阐明,冠状动脉微循环障碍,内皮功能损伤和炎症反

应,氧化应激和动脉粥样硬化及血管活性物质失衡等可能参与其发生发展。CD40配体(CD40L)为一种跨膜蛋白,主要表达于活化的T细胞表面,干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)及肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor α , TNF- α)等炎症因子可能通过激活转录因子AP-1和活化的T细胞核因子诱导T细胞表达CD40L。IFN- γ 诱导的单核细胞因子(monokine induced by interferon-gamma, MIG),又称CXC型趋化因子9(CXCL9),是由IFN- γ 诱导并通过与CXC趋化因子受体3型(CXCR3)相互作用而发挥其趋化功能的一种趋化因子。研究^[2-3]发现IFN- γ 和IFN- γ 诱导的CXCR3趋化因子在冠心病患者中的表达增加,MIG水平与颈动脉内膜中层厚度独立相关^[4],且是冠心病发生和严重程度的重要危险因素^[5]。为了进一步阐明趋化因子在CSFP中的作用,该研究分析了MIG与CSFP之间的相关性,为CSFP发生发展提供新的分子靶点。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取在2020年1月至2021年12月期间,本院心血管内科收住诉胸闷或胸痛症状,且临床初步考虑为冠状动脉粥样硬化性心脏病的患者,共134例。所有患者住院期间均在知情同意后接受冠状动脉造影检查,且既往未接受过该检查。根据CAG检查结果和CSFP定义将患者分为CSFP组(80例),非CSFP组(54例)。

排除标准:冠状动脉扩张;冠状动脉畸形和痉挛;冠状动脉内血栓形成;心脏瓣膜病;心肌病;急性或慢性心力衰竭或呼吸衰竭;结缔组织病;严重传染病;高血压心脏病(指由血压升高引起心脏结构和功能发生改变所导致的心脏病);肝肾功能不全和

2022-09-11 接收

基金项目:安徽省高校自然科学基金重大项目(编号:KJ2021ZD0026)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院心血管内科,合肥 230001

作者简介:梁有峰,男,博士,副主任医师,责任作者,E-mail:liangyouf@163.com

liver cancer compared with GG genotype ($P<0.05$). Stratification analysis showed that compared with the population with CG + GG genotype, the Korean population with CC genotype increased the risk of liver cancer by 3.331 times. **Conclusion** The single nucleotide polymorphism of HLA-A rs3132682 is correlated with the risk of liver cancer in Yanbian area.

Key words liver cancer; single nucleotide polymorphism; susceptibility

代谢性疾病;甲亢性心脏病;既往有心脏手术或经皮冠状动脉介入治疗史;服用他汀类药物和任何影响冠状动脉血流量的药物。

本研究得到医院伦理委员会的批准(批准号:2019414)。研究期间,遵循自愿和无害原则,患者充分了解研究过程。研究者在征得患者及家属同意后,签署研究知情同意书,并向患者及家属详细说明研究目的及意义。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集 收集所有入选患者的性别、年龄、收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP)、吸烟史、用药史及心血管危险因素(如高血压、糖尿病)等。

1.2.2 实验室资料 所有入组患者在治疗前采集血标本,标本采集前患者常规禁食禁水 12 h,晨间静脉采血 10 ml 送至检验室,使用全自动生化分析仪及配套的试剂盒,进行高密度脂蛋白(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C),低密度脂蛋白(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C),空腹血糖(fasting blood glucose, FPG),同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy),高敏 C 反应蛋白(high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)以及脑钠肽(B-type natriuretic peptide, BNP)等水平测定。

1.2.3 趋化因子水平检测 入院后使用一次性无热原和无内毒素试管抽取所有受试者静脉血(5 ml),使用 EDTA 抗凝。然后将样品以 3 000 r/min 的速度离心 15 min,血清暂时分离。样品在 -80 °C 冷冻保存备用。采用酶联免疫吸附试验(ELISA-KIT,赛业生物,广州)进行标准操作,通过标准曲线计算吸光度(optical density, OD)值确定标本检测因子(CD40L, IFN- γ , MIG)的浓度。

1.2.4 冠状动脉血流评估 所有入选患者住院期间均接受择期 CAG 检查,CAG 检查前 24 h 停用硝酸酯类药物,检查由两位有经验的心内科医师经右桡动脉或股动脉应用 Judkins 法完成。采用冠脉血流 TIMI 帧数(TIMI frame count, TFC)作为判断冠脉血流速度,每支冠脉血流速度大于已公布正常冠脉血流速度的 2 个标准差即可诊断 CSFP(冠脉平均血流速度 < 27 帧),在正常血流速度的 2 个标准差之内则认为冠脉血流正常^[6]。本研究为了保证冠脉血流评价的准确性和一致性,由 2 人分别依据 CAG 影像,按上述标准评价和记算冠状动脉的血流 TIMI

帧数。

1.3 统计学处理 将收集的数据用 SPSS18.0 软件进行整理和分析。研究数据用 $\bar{x} \pm s$ 描述,采用 *t* 检验,计数资料用 % 表示,采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 Pearson's 及多因素 Logistic 回归法对 CSFP 与危险因素进行相关性分析。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析和评价 MIG 在 CSFP 中的诊断价值。

2 结果

2.1 两组一般资料和实验室资料比较 统计分析显示两组患者的性别、年龄、DBP 以及糖尿病等方面无统计学差异,而在 SBP、吸烟史等方面差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组实验室指标水平统计分析表明,CSFP 组 LDL-C、hs-CRP 和 Hcy 水平高于非 CSFP 组($P < 0.05$),而 HDL-C 水平低于非 CSFP 组($P < 0.05$),两组 BNP、FPG 水平差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 两组患者的临床一般资料比较

因素	CSFP 组 (<i>n</i> = 80)	非 CSFP 组 (<i>n</i> = 54)	<i>P</i> 值	χ^2 值/ <i>t</i> 值
性别[男, <i>n</i> (%)]	47 (58.75)	34 (62.96)	0.529	0.317
年龄(岁)	61 ± 9	63 ± 10	0.107	1.624
收缩压(kPa)	20.1 ± 2.8	19.0 ± 3.0	0.033	2.156
舒张压(kPa)	11.4 ± 2.5	11.8 ± 2.2	0.316	1.006
高血压[<i>n</i> (%)]	29 (36.25)	21 (38.89)	0.083	0.991
糖尿病[<i>n</i> (%)]	22 (27.50)	16 (29.62)	0.093	1.032
吸烟[<i>n</i> (%)]	37 (46.25)	13 (24.07)	0.014	3.596
TC (mmol/L)	4.36 ± 0.89	4.28 ± 0.97	0.623	0.492
HDL-C (mmol/L)	0.94 ± 0.07	1.01 ± 0.10	0.001	-4.459
LDL-C (mmol/L)	3.64 ± 0.91	3.03 ± 0.68	0.003	4.196
FPG (mmol/L)	5.84 ± 1.36	5.47 ± 1.15	0.103	1.642
Hcy (μmol/L)	21.69 ± 5.74	15.24 ± 6.03	0.001	6.252
Hs-CRP (μmol/L)	7.68 ± 1.35	5.26 ± 1.22	0.001	10.575
BNP (pg/ml)	90.24 ± 9.85	87.28 ± 11.15	0.108	1.617

2.2 两组患者冠脉血管造影特征比较 通过对患者 CAG 影像学资料分析显示,CSFP 发生率最高的冠脉血管为 LAD,占 48.75%,其次 LCX、RCA (26.25%、37.50%)。对 CSFP 累及冠脉血管数量分析显示,累及 1 支冠状动脉血管占 57.5%,累及 2 支冠状动脉血管占 23.75%,累及 3 支冠状动脉血管占 18.75%。两组间冠脉血流速度比较表明,CSFP 组患者 3 支冠状动脉的 TFC 均高于非 CSFP 组,且平均 TFC 也高于非 CSFP 组,差异有统计学意义($P = 0.001$),见表 2。

表2 两组患者血管造影特征比较[n(%)]

项目	CSFP组 (n=80)	非CSFP组 (n=54)	P值	t值
CSFP 累计血管分布				
LAD	39(48.75)	-	-	-
LCX	21(26.25)	-	-	-
RCA	30(37.50)	-	-	-
CSFP 累及血管数				
累及1支血管	46(57.50)	-	-	-
累及2支血管	19(23.75)	-	-	-
累及3支血管	15(18.75)	-	-	-
冠脉血管 TFC				
LAD-TFC	40.36 ± 7.35	20.17 ± 6.21	0.001	16.578
LCX-TFC	35.71 ± 8.04	17.23 ± 6.94	0.001	13.775
RCA-TFC	38.52 ± 6.89	15.46 ± 7.25	0.001	18.607
平均 TFC	38.21 ± 7.64	17.61 ± 6.38	0.001	16.334

2.3 两组间 MIG 及其相关因子水平比较 统计分析显示,CSFP 组血清 CD40L、IFN- γ 及 MIG 水平分别高于非 CSFP 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表3。

表3 两组 CD40L、IFN- γ 及 MIG 血清水平比较

因素	CSFP组(n=80)	非CSFP组(n=54)	P值	t值
CD40L ($\mu\text{g/ml}$)	115.73 ± 20.64	93.51 ± 22.46	0.001	5.898
IFN- γ (pg/ml)	12.45 ± 2.41	8.96 ± 2.97	0.001	7.480
MIG (mg/ml)	113.27 ± 37.05	86.75 ± 42.64	0.001	3.823

2.4 CSFP 影响因素相关性分析 对所有入选者吸烟、Hcy、hs-CRP 和 MIG 的相关分析表明,冠脉血管 TFC 值与血压水平、高血压患病率无相关性,与吸烟史、hs-CRP、Hcy、LDL-C 及 MIG 水平呈正相关($P < 0.05$),与 HDL 水平呈负相关($P < 0.05$),见表4。

表4 CSFP 影响因素相关性分析

因素	相关系数	P值
收缩压	0.385	0.274
高血压	0.207	0.234
吸烟	0.796	0.038
HDL-C	-0.827	0.029
LDL-C	0.815	0.036
hsCRP	0.792	0.041
Hcy	0.836	0.028
MIG	0.879	0.009

2.5 CSFP 影响因素多因素 Logistic 回归分析 以 CSFP 为因变量(1 = CSFP, 0 = 非 CSFP),对 CSFP 影响因素进行 Logistic 回归分析。以年龄、性别、高血压病史、吸烟史、平均收缩压、血清学指标(FPG、

DHL、LDL、hs-CRP、Hcy) 和趋化因子 MIG 为自变量,分析结果表明,吸烟、hs-CRP、Hcy 和 MIG 是 CSFP 重要危险因素,见表5。

表5 CSFP 影响因素多因素 Logistic 回归分析

因素	β	Standard Error	Wald	P值	OR	95% CI
吸烟	0.967	0.462	4.381	0.027	1.827	0.908 ~ 1.784
Hs-CRP	1.583	0.551	8.254	0.039	2.639	1.037 ~ 2.653
Hcy	1.026	0.389	6.958	0.046	2.948	1.153 ~ 11.136
MIG	0.874	0.543	2.591	0.011	3.571	1.416 ~ 9.342

MIG:干扰素- γ 诱导的单核因子;Hcy,同型半胱氨酸;hs-CRP,高敏 C 反应蛋白

2.6 MIG 水平对 CSFP 诊断价值 采用 ROC 曲线分析和评价 MIG 对 CSFP 的诊断价值。结果表明,血清 MIG 水平对 CSFP 具有较高的诊断价值,ROC 曲线下面积(AUC)为 0.793,ROC 曲线显示血清 MIG 水平为 96.73 mg/L,是 CSFP 的预测值,敏感性为 0.79%,特异性为 76.0%,95% CI 0.714 ~ 0.872,见图1。

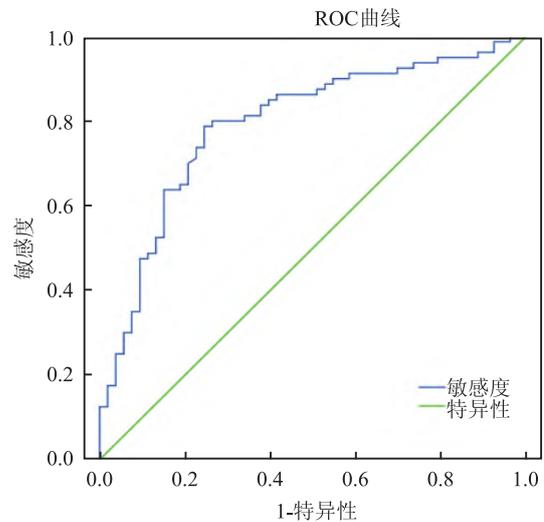


图1 ROC 曲线分析和评价 MIG 对 CSFP 的诊断价值

3 讨论

CSFP 发病机制尚未完全阐明,虽然认为可能多种机制参与其中,但动脉粥样硬化及炎症反应仍可能是 CSFP 发病核心机制。研究^[7]发现 CSFP 患者血清炎症因子水平升高,提示 CSFP 的发生可能涉及炎症反应机制。本研究显示,CSFP 组和非 CSFP 组在吸烟习惯存在差异,且 CSFP 组 hs-CRP、Hcy、LDL-C 水平高于非 CSFP 组,与以往临床研究一致,

进一步证实这些因素是动脉粥样硬化的关键危险因素,亦可能在 CSFP 的发生中起重要作用。

病理性 T 细胞驱动的炎症反应在动脉粥样硬化的进展中起关键作用,与之相关的炎症反应涉及细胞因子、黏附分子和趋化因子之间的相互作用^[8]。研究认为辅助性 T 细胞(Th1)和病理性 T 细胞分泌的 IFN- γ 在动脉粥样硬化的发病机制中具有重要作用^[9]。CD40/CD40L 通路作为炎症免疫反应的枢纽,参与了炎症反应的发生发展。研究发现 CD40/CD40L 通路能够增强血管内皮细胞和巨噬细胞等细胞的表达、释放细胞炎性因子,如 IFN- γ 等,而这些细胞炎性因子成为炎症反应的强大助推力,导致免疫炎症效应的级联放大。如 CD40/CD40L 信号通路下游因子 - 单核细胞趋化蛋白-1、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、IFN- γ 以及核转录因子 κ B (NF- κ B) 等。有研究^[10]提示炎症因子 IL-6 可能通过相应的受体在血管内皮细胞上传递信号,导致相关炎性分子的释放参与机体的免疫反应。TNF- α 、IL-6 JNK 以及 NF- κ B 炎症状态与心外膜脂肪组织中 Kruppel 样因子 7 (KLF7) 的表达水平相关,后者促进冠心病患者心外膜脂肪组织中炎症的发生,参与动脉硬化炎症反应,从而促进的动脉粥样硬化性心脏病发展^[11]。MIG 在体内主要由巨噬细胞经 IFN- γ 刺激产生,且在冠状动脉疾病患者中 IFN- γ 和 IFN- γ 诱导的 CXCR3 趋化因子的表达水平增加。CXCR3 拮抗剂可通过阻止 CXCR3 + 效应 T 细胞从外周循环迁移到动脉粥样硬化病变中,从而减弱低密度脂蛋白受体缺陷小鼠的动脉粥样硬化斑块形成^[12]。在原发性高血压患者体内 CXCR3 趋化因子的表达升高^[13],而 CXCR3 配体 MIG 与颈动脉内膜 - 中膜增厚之间存在相关性^[4,14],上述研究提示 MIG 可能在炎症反应以及动脉粥样硬化的发展中发挥作用。前期研究^[6]也表明 MIG 是冠心病发生和冠脉血管严重程度的重要危险因素。本研究比较了两组患者 MIG 以及 CD40L 和 IFN- γ 血清水平,结果发现 CSFP 患者 CD40L、IFN- γ 及 MIG 血清水平高于非 CSFP 组 ($P=0.001$)。进一步的相关性分析显示,冠脉血流速度与吸烟、hs-CRP、Hcy、LDL-C、HDL-C 等水平相关,并且与 MIG 水平呈正相关 ($r=0.879, P=0.009$)。研究结果提示 MIG 参与了 CSFP 发生发展的炎症反应过程,可能为 CD40/CD40L 通路增强相关炎性细胞表达、释放 IFN- γ 等

细胞炎性因子,巨噬细胞经 IFN- γ 刺激产生 CXCR3 配体 MIG,进而参与炎症反应的发生发展,进而导致冠脉血管功能障碍。

本研究进一步多因素 Logistic 回归分析显示,血清 MIG 水平可能是 CSFP 重要危险因素 ($\beta=0.874, P=0.011$),同时 ROC 曲线分析表明血清 MIG 水平对 CSFP 具有较高的诊断价值 ($AUC=0.793$),并提示血清 MIG 水平达 96.73 mg/L 时是 CSFP 的预测界值,敏感性为 0.79%,特异性为 76.0%,95% CI 0.714 ~ 0.872。虽然 MIG 在 CSFP 中的作用未见相关报道,但一些学者^[4]发现 CXCL8 在 CSFP 患者中的表达显著,CXCL8 可能是 CSFP 中的一个重要因素。本研究为趋化因子在 CSFP 中的作用提供了另一个视角,即 MIG 与 TFC 呈正相关,为 CSFP 发病提供了新的分子靶点。亦有相关研究表明,IL-18 可以促进 MIG 表达,MIG 又通过血管内皮生长因子等炎性因子影响血管内皮功能^[15],这可能为趋化因子参与 CSFP 发生发展的潜在机制。同时,在 CSFP 进展中,MIG 也可能参与更复杂的炎症信号通路,如炎症小体,特别是 MIG 可能通过招募或激活 NLRP1 和 NLRP3 炎症小体进一步诱导白细胞介素的产生并阻碍冠状动脉血流,但是该假设尚需进一步深入探索。

综上所述,本研究表明 MIG 可能在 CSFP 发生发展中发挥重要作用。鉴于其为观察性的单一中心研究,样本量较小,需要进行多中心大样本研究,以进一步阐明 MIG 在 CSFP 中的作用和机制。

参考文献

- [1] Tambe A A, Demany M A, Zimmerman H A, et al. Angina pectoris and slow flow velocity of dye in coronary arteries—a new angiographic finding[J]. Am Heart J, 1972, 84(1):66-71.
- [2] Fernandes J L, Mamoni R L, Orford J L, et al. Increased Th1 activity in patients with coronary artery disease [J]. Cytokine, 2004, 26(3):131-7.
- [3] Niki T, Soeki T, Yamaguchi K, et al. Elevated concentration of interferon-inducible protein of 10 kD (IP-10) is associated with Coronary atherosclerosis [J]. Int Heart J, 2015, 56(3):269-72.
- [4] Yu H T, Lee J, Shin E C, et al. Significant association between serum monokine induced by gamma interferon and carotid intima media thickness[J]. J Atheroscler Thromb, 2015, 22(8):816-22.
- [5] Liang Y F, Yang C, Zhou Q, et al. Serum monokine Induced by gamma interferon is associated with severity of coronary artery dis-

- ease [J]. *Int Heart J*, 2017, 58(1): 24–9.
- [6] Gibson C M, Cannon C P, Daley W L, et al. TIMI frame count: a quantitative method of assessing coronary artery flow [J]. *Circulation*, 1996, 93(5): 879–88.
- [7] Li J J, Qin X W, Li Z C, et al. Increased plasma C-reactive protein and interleukin-6 concentrations in patients with slow coronary flow [J]. *Clin Chim Acta*, 2007, 385(1–2): 43–7.
- [8] Zernecke A, Weber C. Chemokines in atherosclerosis: proceedings resumed [J]. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(4): 742–50.
- [9] Libby P, Lichtman A H, Hansson G K. Immune effector mechanisms implicated in atherosclerosis: from mice to humans [J]. *Immunity*, 2013, 38(6): 1092–104.
- [10] 魏 薇, 吴 月, 程中乐, 等. IL-6 与经典炎症指标预测川崎病患者丙种球蛋白敏感性及其冠状动脉损害的对比研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(2): 306–10.
- [11] 薛亚军, 黄文华, 杜雅彦, 等. 冠心病心外膜脂肪组织中 KLF7 促进炎症反应及脂肪分化成熟 [J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(2): 197–202.
- [12] Wanrooij E V, Jager S D, Es T V, et al. CXCR3 antagonist NBI-74330 attenuates atherosclerotic plaque formation in LDL receptor-deficient mice [J]. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(2): 251–7.
- [13] Youn J, Hee T Y, Lim B J, et al. Immunosenescent CD8 + T cells and C-X-C chemokine receptor type 3 chemokines are increased in human hypertension [J]. *Hypertension*, 2013, 62(1): 126–33.
- [14] Çelik O, Demirci E, Aydın M, et al. Evaluation of ghrelin levels and endothelial functions in patients with coronary slow flow phenomenon [J]. *Interv Med Appl Sci*, 2017, 9(3): 154–9.
- [15] Kanda N, Shimizu T, Tada Y, et al. IL-18 enhances IFN- γ -induced production of CXCL9, CXCL10, and CXCL11 in human keratinocytes [J]. *Eur J Immunol*, 2007, 37(2): 338–50.

Relationship between interferon- γ induced monocyte level and coronary slow flow phenomenon

Liang Youfeng, Guo Zeng, Zhang Yiming, Wang Chunmiao, Cheng Baoshan, Liang Feng

(*Dept of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001*)

Abstract *Objective* To investigate the relationship between monokine induced by interferon-gamma (MIG) level and coronary slow flow phenomenon (CSFP). *Methods* 80 patients diagnosed with CSFP and 54 patients with normal CAG were selected as the CSFP group and no-CSFP group respectively in this study. Coronary slow flow was determined quantitatively by thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) frame count (TFC) method. The clinical characteristics and biochemical indexes, including serum CD40L and Interferon- γ (IFN- γ), monokine induced by interferon-gamma (MIG) levels were measured, and the relationship between interferon- γ induced monocyte level and CSFP were analyzed. *Results* The serum levels of CD40L, IFN- γ and MIG in the CSFP group were higher than those in the no-CSFP group ($P = 0.001$). The MIG levels were positive correlated with mean TFC ($r = 0.879, P = 0.009$). Multivariate logistic regression analysis showed that MIG was an important risk factor for CSFP ($\beta = 0.874, P = 0.011$). The ROC curve analyses indicated that the MIG levels had diagnostic value in patients with CSFP, the area under the curve (AUC) was 0.793, the sensitivity was 0.79% and the specificity was 76.0%, and 95% CI 0.714–0.872. *Conclusion* Chemokine CD40L, IFN- γ and MIG may be involved in the process of vascular inflammation and arteriosclerosis. MIG is an important influencing factor of CSFP and participated in the occurrence and development of CSFP.

Key words chemokine; MIG; coronary slow flow; coronary artery disease