

◇临床医学◇

RBP4/TNF- α 在冠心病患者血浆中的表达情况 及与冠脉病变程度的相关性研究

卢杰,付鑫,张继红,陈红光,高俊甲,范军,张颖

(沈阳医学院附属第二医院心血管内科,辽宁 沈阳 110036)

摘要:目的 探讨视黄醇结合蛋白4(RBP4)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平与冠心病、冠脉病变程度的关系以及冠心病患者血浆RBP4和TNF- α 两者之间的相关性。方法 选择2015年12月—2017年2月至该院就诊并诊断为冠心病的90例患者临床资料。根据临床特点及结合冠脉造影的结果分为:稳定型心绞痛(SAP)组28例、不稳定型心绞痛(UAP)组30例、急性心肌梗(AMI)组32例,另选该院体检健康者30例作为对照组;根据冠脉造影结果再将UAP组和AMI组患者分为单支病变组19例,双支病变组21例,三支病变组22例。采用酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测各组患者血浆RBP4、TNF- α 的水平,分析冠心病不同类型及冠脉病变不同程度患者血浆中RBP4、TNF- α 变化趋势及两者之间的相关性,并采用SPSS17.0统计软件对所得数据进行分析。结果 RBP4及TNF- α 水平在AMI、UAP、SAP及对照组四组间存在明显差异($P < 0.05$);RBP4与TNF- α 血浆水平在双支病变组与单支病变组及三支病变组与双支病变组相比呈现升高趋势,但三组血浆RBP4水平差异无统计学意义($P > 0.05$)、TNF- α 水平存在明显差异($P < 0.05$);冠心病患者血浆RBP4与TNF- α 血浆水平呈正相关($r = 0.906, P < 0.001$)。结论 RBP4及TNF- α 可视作冠心病的重要危险因素,可反映冠心病及冠脉病变的严重程度。冠心病患者血浆RBP4与TNF- α 水平相关,提示RBP4可能通过调节炎症反应,参与冠心病的发生、发展。

关键词:冠心病;视黄醇结合蛋白4;肿瘤坏死因子- α

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.11.014

Expression of RBP4/TNF-alpha in plasma of patients with coronary heart disease and its correlation with the severity of coronary artery disease

LU Jie, FU Xin, ZHANG Jihong, CHEN Hongguan, GAO Junjia, FAN Jun, ZHANG Ying

(Department of Cardiovascular Medicine, The Second Affiliated Hospital of Shenyang
Medical College, Shenyang, Liaoning 110036, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship of retinol binding protein 4 (RBP4) and tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) on coronary heart disease and the severity of coronary artery disease. **Methods** The clinical data of 90 patients with coronary heart disease in the Second Affiliated Hospital of Shenyang Medical College from December 2015 to February 2017 were selected and assigned into stable angina pectoris (SAP) group of 28 cases, unstable angina pectoris (UAP) group of 30 cases, acute myocardial infarction (AMI) group of 32 cases according to the clinical features and the results of coronary angiography. In addition, 30 healthy subjects were selected as control group. According to the results of angiography, patients with unstable angina pectoris (UAP) and acute myocardial infarction (AMI) were assigned into single vessel lesion group of 19 cases, double vessel disease group of 21 cases, three vessel

- [5] 杨慧,马培,林明宝,等.紫苏叶化学成分、抗炎作用及其作用机制研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2017,31(3):279-286.
- [6] 国家药典委员会.中国药典(四部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:203.
- [7] 马雯芳,谭建宁,徐东来,等.GC-MS测定姜油中 α -蒎烯、桉油精和龙脑的含量[J].安徽农业科学,2012,40(21):11030-11031,11116.
- [8] 赵祥升,黄立标,杨新全,等.肉豆蔻挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯含量测定及动态分析[J].海峡药学,2012,24(8):57-59.

- [9] ZHANG X, WU W, ZHENG Y, et al. Essential oil variations in different *Perilla L.* accessions: chemotaxonomic implications [J]. Plant Systematics and Evolution, 2009, 281(1): 1-10.
- [10] 林硕,邵平,马新,等.紫苏挥发油化学成分GC/MS分析及抑菌评价研究[J].核农学报,2009,23(3):477-481.
- [11] 唐英,陈欣,沈平嫌.紫苏叶中挥发油类成分的指纹图谱研究[J].上海中医药杂志,2013,47(9):82-86.
- [12] 刘雪,崔颖,黄顺旺,等.清热解肌颗粒中挥发油的初步质量研究[J].安徽医药,2015,19(11):2065-2068.

(收稿日期:2017-03-21,修回日期:2017-04-13)

disease group of 22 cases. Enzyme linked immunosorbent assay (Elisa) was used to detect the levels of plasma RBP4 and TNF- α in each group. The changes of RBP4 and TNF- α in plasma of patients with different types of coronary heart disease and coronary artery lesions were analyzed. The data were analyzed by SPSS17.0 statistical software. **Results** The levels of RBP4 and TNF- α in AMI, UAP, SAP and control group were significantly different ($P < 0.05$) between the four groups. The levels of RBP4 and TNF- α plasma in the double vessel lesion group compared with the single vessel disease group and the three vessel disease group compared with the double vessel disease group had an increasing trend. However, there was no significant difference in plasma RBP4 level between the three groups ($P > 0.05$). There was only significant difference in TNF- α level between the three groups ($P < 0.05$). Plasma RBP4 level was positively correlated with plasma TNF- α level ($r = 0.906, P < 0.001$) in patients with coronary heart disease (CHD). **Conclusions** RBP4 and TNF- α can be regarded as the important risk factors for coronary heart disease, which can reflect the severity of coronary heart disease and coronary artery disease. The correlation between plasma RBP4 level and TNF- α level in patients with coronary heart disease (CHD) suggests that RBP4 may be involved in the occurrence and development of coronary heart disease (CHD). **Key words:** Coronary heart disease; Retinol binding protein 4; Tumor necrosis factor α

近年来,视黄醇结合蛋白4(RBP4)引起了广泛关注,研究已证实,RBP4与代谢综合征、非酒精性脂肪肝、糖尿病、心血管疾病等密切相关^[1]。RBP4是由脂肪细胞和肝分泌的一种蛋白质分子,作为一种循环性脂肪细胞因子用于辅助诊断冠心病及判断冠状动脉(下文简称冠脉)病变程度有着重要的临床应用前景^[2]。据世界卫生组织统计,全世界每年约有1700万人死于冠心病,占疾病死亡人数的50%以上。我国正处于冠心病发病率持续上升阶段,成年人发病率已达20%。因此,探索预测冠心病病变程度的方法,对临床更好地防治冠心病有着深远的意义。付鑫等^[3]研究发现,RBP4可以通过增加细胞间黏附分子-1(ICAM-1)等黏附分子的表达从而诱发血管内皮细胞炎性反应,当引起血管内皮功能紊乱时,会加大该血管所供应器官的病变风险。结合他人研究^[4-5],RBP4还可能与冠脉病变致心肌炎症有关,而致炎因子——肿瘤坏死因子- α (TNF- α)在冠心病的发生和发展过程中也起着重要的作用。但RBP4和TNF- α 的变化趋势及相关性对早期诊断冠心病及判断冠脉病变程度的指导作用尚不明确。本研究结合冠脉造影结果检测并分析冠心病不同类型及冠脉病变不同程度的患者血浆RBP4和TNF- α 的水平及其变化趋势,探索冠心病病变中RBP4和TNF- α 两者的相关性,旨在为临床更好地诊断、治疗及风险与预后评估冠心病提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 全部患者来自沈阳医学院附属第二医院心血管内科2015年12月—2017年2月住院患者,共90例。依照美国心脏病协会(ACC)/美国心脏协会(AHA)制定的冠心病诊断标准进行确诊并排除各种心肌病、心脏瓣膜病、糖尿病、过度肥胖、体质量过轻、肿瘤、严重的肝肾功能不全、有明显脑血管及外周血管病变的患者。根据临床特点

及结合部分选择性冠脉造影分为:急性心梗(AMI)组32例、不稳定型心绞痛(UAP)组30例、稳定型心绞痛(SAP)组28例,另选沈阳医学院附属第二医院体检健康者30例作为对照组;根据造影结果再将AMI组和UAP组中患者分为单支病变组19例、双支病变组21例、三支病变组22例。各组经吸烟、年龄、性别、血压、血脂等方面检测证实差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经沈阳医学院附属第二医院医学伦理委员会批准,患者均签署知情同意书。

1.2 标本采集及检测 各组检测对象均在入院后24 h内采血(AMI组、UAP组入院后即刻采血)。血清RBP4及TNF- α 均于清晨抽取外周静脉血3 mL,乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)抗凝,分离血浆,于-80℃冰箱保存,6个月内完成检测。怀疑心肌梗死及排除心肌梗死加测心肌酶谱、肌红蛋白和肌钙蛋白等。

1.3 RBP4与TNF- α 测定 采用酶联免疫吸附试验法(ELISA)检测受检者血浆RBP4、TNF- α 的表达水平。RBP4、TNF- α 人ELISA检测试剂盒由上海研生生化试剂有限公司提供,所有操作严格按照试剂盒说明书和相关实验要求进行操作。检测原理:使抗原或抗体与某种酶连接成酶标抗原或抗体,这种酶标抗原或抗体既保留其免疫活性,又保留酶的活性。用洗涤的方法使固相载体上形成的抗原抗体复合物与其他物质分开,最后结合在固相载体上的酶量与标本中受检物质的量成一定的比例。加入酶反应的底物后,底物被酶催化变为有色产物,产物的量与标本中受检物质的量直接相关,故可根据颜色反应的深浅进行定性或定量分析。最后用酶标仪在450 nm条件下检测,颜色加深的即透光度减少、吸光度增加,反之,颜色变浅的即透光度增加、吸光度减少。根据标准品的浓度及吸光度绘制标准曲线,RBP4和TNF- α 的浓度可由标准品所作的剂量响应曲线算出。

1.4 统计学方法 采用 SPSS17.0 统计软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析, 指标间相关性采用线性相关分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同冠心病病变组间 RBP4 和 TNF- α 血浆水平比较 各组间 RBP4 和 TNF- α 水平相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且随病变程度加重呈现递增趋势, 组间比较均有显著性差异。详见表 1。

表 1 不同冠心病病变组间 RBP4 和 TNF- α 血浆水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	RBP4/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	TNF- α / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
对照组	30	49.60 $\pm$ 5.04	1.97 $\pm$ 0.26
SAP 组	28	57.07 $\pm$ 4.22 ^a	5.04 $\pm$ 0.34 ^a
UAP 组	30	75.63 $\pm$ 3.99 ^{ab}	8.9 $\pm$ 0.28 ^{ab}
AMI 组	32	85.28 $\pm$ 6.02 ^{abc}	12.14 $\pm$ 0.76 ^{abc}
方差分析			
F 值		340.989	2 752.967
P 值		<0.001	<0.001

注: 两两比较为 LSD-*t* 检验, 与对照组相比^a $P < 0.05$, 与 SAP 组相比^b $P < 0.05$, 与 UAP 组相比^c $P < 0.05$ 。

2.2 不同冠脉病变组间 RBP4 和 TNF- α 的血浆水平比较 差异分析(单因素方差分析)显示: 不同冠脉病变组的 RBP4 血浆水平差异无统计学意义; TNF- α 血浆水平有显著性差异 ($P < 0.05$)。相关分析(线性相关分析)显示: 不同冠脉病变组数 RBP4 血浆水平与冠脉病变支数有正相关趋势, 但差异无统计学意义 ($r = 0.232$, $P = 0.081$); TNF- α 血浆水平与冠脉病变支数呈正相关, 且差异有统计学意义 ($r = 0.313$, $P = 0.009$)。详见表 2。

表 2 不同冠脉病变组间 RBP4 和 TNF- α 的血浆水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	RBP4/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	TNF- α / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
单支病变组	19	78.51 $\pm$ 7.24	9.98 $\pm$ 1.35
双支病变组	21	80.30 $\pm$ 5.25	10.39 $\pm$ 1.63
三支病变组	22	82.37 $\pm$ 8.04	11.26 $\pm$ 1.83
差异分析			
F 值		1.465	3.377
P 值		0.239	0.041
相关分析			
r 值		0.232	0.313
P 值		0.081	0.009

2.3 血浆 RBP4 和 TNF- α 水平间相关性分析 将所有冠心病受检者的 RBP4 和 TNF- α 做直线相关分析, 发现 RBP4 与 TNF- α 呈正相关关系 ($r = 0.906$,

$P < 0.001$)。见图 1。

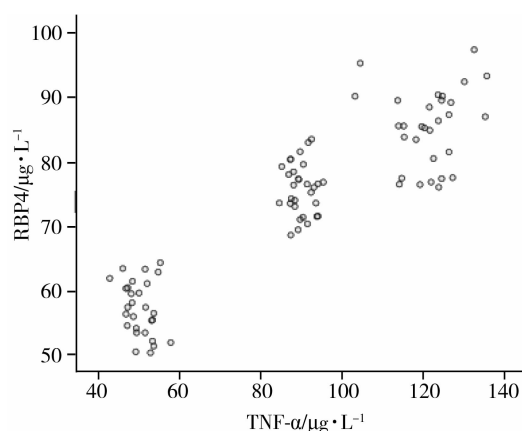


图 1 冠心病患者血浆 RBP4 和 TNF- α 水平的相关性

3 讨论

近年来随着人们生活水平的提高, 如熬夜加班、不爱运动、不控制体质量等一些不良生活方式的养成, 以及饮食结构和饮食习惯等正趋于多元化, 肥胖病患者越来越多, 这些都使得冠心病的发病率越来越高, 因此对冠心病的防治也引发了广大医学工作者的深入研究。冠心病是指冠状动脉血管发生动脉粥样硬化病变引起冠脉血管狭窄或阻塞, 导致心肌缺氧、缺血或者坏死, 也包括冠脉炎症, 栓塞, 痉挛等因素导致管腔狭窄或者闭塞, 临床上患者常有胸部紧闷或压迫性感觉。冠心病是动脉粥样硬化导致器官病变的最常见疾病, 也是人类健康的“第一大杀手”。其确切的病理机制还未能完全揭晓, 对冠心病相关危险因素的检测和调控是防止其发生和发展的关键。

RBP4 是由脂肪细胞和肝分泌的一种蛋白质分子, 属于脂溶性维生素运载蛋白, 作为一种循环性脂肪细胞因子, 在肥胖、胰岛素抵抗、动脉粥样硬化 (AS)、高血压、心力衰竭等疾病中均发挥重要作用^[6-7]。近年来, 有研究发现^[8-9], RBP4 基因的过表达是机体发生炎症反应的标志, 且与 AS 的形成与演变密切相关。如 Lee 等^[10-11]也发现, 血浆 RBP4 水平与 C 反应蛋白 (CRP)、外周白细胞水平相关, 同时他们还发现 RBP4 mRNA 表达与巨噬细胞标志物 CD68 呈显著正相关, 这与 Mohapatra 等^[12]发现高脂血症肥胖小鼠 RBP4 水平与细胞炎症标志物呈正相关的结论相一致, 从他们的研究中我们不难发现 RBP4 参与炎症反应, 其促进 AS 的形成与发展的机制可能与诱发血管慢性炎症有关。

AS 是冠心病的基本病理表现, 炎症是 AS 公认的危险因子, 许多炎症因子与 AS 的发生发展及病变程度均显著相关^[13]。比如, TNF- α 、CRP、白细胞

介素-6(IL-6)、血浆五聚素 3(PTX3)、髓过氧化物酶(MPO)等炎症因子贯穿 AS 发生发展的始终,不仅促进斑块的形成也会影响斑块的稳定性,当上述现象累及冠脉时,轻则引起心肌缺氧缺血,重者引起心肌梗死。TNF- α 主要由单核细胞和巨噬细胞产生,可以刺激炎症因子生成,直接发挥促炎作用,同时也是介导炎症和调节免疫反应的因子^[14]。TNF- α 在 AS 的发生发展过程中可以促进炎性介质的释放,巨噬细胞的浸润,以及激活巨噬细胞,推动动脉粥样斑块的形成以及斑块由稳定向不稳定的进展^[15]。此外 TNF- α 作为炎症反应中的重要介质,亦可作用于平滑肌细胞促进其增生,游走,也能作用于血管内皮细胞,使血管内皮细胞活化,受损,进而加速血栓形成,终致血管受损,从而诱发心肌细胞凋亡,引起心肌的正常结构的破坏以及生理功能的紊乱^[16]。

综上,本研究想了解冠心病患者血浆 RBP4 水平是否与在炎症反应中起到重要作用的 TNF- α 水平相关,是否与其共同参与了冠心病的发生与发展。通过研究我们发现:RBP4 及 TNF- α 水平在 AMI、UAP、SAP 及对照组四组间存在明显差异($P < 0.05$);RBP4 与 TNF- α 血浆水平在双支病变组与单支病变组及三支病变组与双支病变组相比呈升高趋势,但三组血浆 RBP4 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)、TNF- α 水平存在明显差异($P < 0.05$),研究结果与张宇等^[17-18]研究结果相一致。冠心病患者血浆 RBP4 与 TNF- α 血浆水平呈正相关($r = 0.906, P < 0.001$)。因此,本研究也表明 RBP4 及 TNF- α 可视作冠心病的重要危险因素,可反映冠心病及冠脉病变的严重程度。同时我们还发现冠心病患者血浆 RBP4 与 TNF- α 水平呈正相关,提示 RBP4 可能通过调节炎症反应,参与冠心病的发生、发展。能否作为冠心病新的病情诊断以及疗效评价的指标仍需结合其他实验进一步探讨。当然,所涉及的样本量范围及数量小是本研究的局限之一,需要扩大样本量且进行前瞻性等研究才能得到更确切的结论。

参考文献

- [1] 胡敏敏,王晓青,闫福媛,等. 视黄醇结合蛋白 4 的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2015,24(7):879-882.
- [2] 张小芳,赵巍,李守霞. 视黄醇结合蛋白 4 在心血管疾病中的作用新进展[J]. 岭南心血管病杂志,2017,23(1):105-108.
- [3] 付鑫,张彦红,邹慕蔚. RBP4 诱导 HUVEC 炎症反应作用机制的研究[J]. 中国医药导刊,2013,15(3):524-525.
- [4] 张锐,葛建军. 四种炎症因子与冠心病的关系研究[J]. 安徽医药,2014,18(4):695-697.
- [5] 黄山,张程,陈艳,等. 联合检测炎症因子 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 对冠心病临床诊断价值[J]. 中国实验诊断学,2012,16(6):1083-1085.
- [6] 黄瑄,郑刚. 视黄醇结合蛋白 4 与心血管疾病关系的研究进展[J]. 中国心血管杂志,2016,21(3):90-93.
- [7] XIE YT, WANG NS. Retinol binding protein 4 (RBP4) and the research of cardiovascular disease[J]. Chinese Journal of Clinicians (Electronic Edition), 2011, 5(6):1698-1699.
- [8] YU M, ISHIBASHI-UEDA H, OHTA-OGO K, et al. Transient expression of cellular retinol-binding protein-1 during cardiac repair after myocardial infarction[J]. Pathol Int, 2012, 62(4):246-253.
- [9] SALGADO-SOMOZA A, TEIJEIRA-FERNÁNDEZ E, RUBIO J, et al. Coronary artery disease is associated with higher epicardial Retinol-binding protein 4 (RBP4) and lower glucose transporter (GLUT) 4 levels in epicardial and subcutaneous adipose tissue[J]. Clinical Endocrinology, 2011, 76(1):51-58.
- [10] LEE DC, LEE JW, IM JA. Association of serum retinol binding protein 4 and insulin resistance in apparently healthy adolescents[J]. Metab Clin Exp, 2007, 56(3):327-331.
- [11] YAO-BORENGASSER A, VARMA V, BODLES AM, et al. Retinol binding protein 4 expression in humans: relationship to insulin resistance, inflammation, and response to pioglitazone[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(7):2590-2597.
- [12] MOHAPATRA J, SHARMA M, ACHARYA A, et al. Retinol-binding protein 4: a possible role in cardiovascular complications[J]. Br J Pharmacol, 2011, 164(8):1939-1948.
- [13] 李俊平,王阶. 炎症性心脏标志物与冠心病关系的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2016,14(6):604-606.
- [14] 张颖轩. 脂联素、肿瘤坏死因子- α 与动脉粥样硬化的相关性[J]. 中国当代医药,2011,18(32):10-11.
- [15] 周平,罗云,邢娜,等. 肿瘤坏死因子 α 介导动脉粥样硬化发生机制的研究进展[J]. 世界中医药,2015,10(8):1163-1168.
- [16] 李立辉. 动脉粥样硬化相关炎症因子的研究进展[J]. 中国现代医生,2017,55(1):157-161.
- [17] 张宇,徐立,李涵,等. 视黄醇结合蛋白 4 与冠心病患者冠脉病变程度的相关性研究[J]. 标记免疫分析与临床,2015,22(10):964-967.
- [18] 徐崇利,严建军,张郁青,等. 氨基末端脑钠肽原及 TNF- α 与冠心病的相关性研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2011, 31(1):61-64.

(收稿日期:2017-03-12,修回日期:2017-04-17)