

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.05.013

◇临床医学◇

## M1型巨噬细胞与不同类型冠心病的相关性研究

龚俊豪<sup>1</sup>, 汤慧敏<sup>2a</sup>, 褚庆民<sup>2b</sup>, 吴辉<sup>2b</sup>作者单位:<sup>1</sup>广州中医药大学第一临床医学院, 广东 广州 510405; <sup>2</sup>广州中医药大学第一附属医院,<sup>a</sup>I期临床研究病房, <sup>b</sup>心血管内科, 广东 广州 510405

通信作者: 褚庆民, 男, 副主任医师, 研究方向为中医药防治心血管疾病, E-mail: 13929504676@163.com

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2017A030313745); 广东省医学科学技术研究基金项目(A2018222); 广东省中医药局项目(20181087)

**摘要:**目的 探讨巨噬细胞极化M1型与冠心病的相关性。方法 选取2018年11月至2019年2月广州中医药大学第一附属医院住院的冠心病病人120例(其中包括稳定型心绞痛组40例, 不稳定型心绞痛组40例和急性心肌梗死组40例), 另外纳入同期排除冠心病40例(对照组), 测定各组冠心病与对照组巨噬细胞极化M1型特异性标志物分化簇86(CD86)和细胞因子白细胞介素1(IL-1)的表达情况, 探讨巨噬细胞极化M1型与不同类型冠心病的相关性。结果 外周血巨噬细胞的CD86水平, 对照组为(36.314±17.08)ng/mL, 冠心病组为(133.945±117.78)ng/mL, 稳定型心绞痛组为(40.850±8.18)ng/mL, 不稳定型心绞痛组为(78.722±15.77)ng/mL, 急性心肌梗死组为(282.262±86.23)ng/mL, CD86水平冠心病组与对照组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.001$ ), 在冠心病组中, 超敏肌钙I和总胆固醇(TC)水平均与CD86正相关。结论 巨噬细胞极化M1型与不同类型冠心病有显著相关性, M1型巨噬细胞水平或许可间接反映冠状动脉粥样硬化病变的严重程度。

**关键词:**冠心病; 巨噬细胞; 白细胞介素1; CD86

## The study of relationship between macrophage polarization M1 and different types of coronary heart disease

GONG Junhao<sup>1</sup>, TANG Huimin<sup>2a</sup>, CHU Qingmin<sup>2b</sup>, WU Hui<sup>2b</sup>

Author Affiliations: <sup>1</sup>The First Clinical Medical College of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China; <sup>2a</sup>Department of Phase I Clinical Research Unit,

<sup>2b</sup>Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China

**Abstract: Objective** To analyze the correlation between macrophage polarized M1 type and coronary heart disease. **Methods** 120 cases of patients with coronary heart disease in The First Clinical Medical College of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine from Nov.2018 to Feb.2019 were selected, including 40 patients with stable angina, 40 patients with unstable angina, 40 patients with acute myocardial infarction and 40 patients with coronary heart disease. And the correlation between macrophage-polarized M1-type specific markers CD86 and cytokine IL-1, macrophage polarized M1 type and coronary heart disease were analyzed. **Results** In this study, the average CD86 level of peripheral blood macrophages in the control group was (36.314±17.08)ng/mL, the average CD86 level in the coronary heart disease group (133.945±117.78)ng/mL, the average CD86 level in the stable angina group was (40.850±8.18)ng/mL, and the average CD86 level in the unstable angina group was (78.722±15.77)ng/mL. The average level of CD86 in the acute myocardial infarction group was (282.262±86.23)ng/mL, ( $P < 0.01$ , there was a statistical difference in CD86 levels in the coronary heart disease group), and the levels of hypersensitive intramuscular calcium I and TC in the coronary heart disease group were statistically correlated with CD86. **Conclusion** There is a significant correlation between macrophage polarization M1 and different types of coronary heart disease and the level of M1 macrophages may indirectly reflect the severity of coronary atherosclerotic lesions.

**Key words:** Coronary disease; Macrophages; Interleukin-1; CD86

近年来, 越来越多研究显示, 巨噬细胞极化在动脉粥样硬化(AS)过程中炎症的调控起到重要的作用。根据不同因素激活后巨噬细胞的表面标记和功能差异等将其分为两种极性分化类型(极化

型), 一种为经典激活的巨噬细胞(M1型)和另一种替代激活的巨噬细胞(M2型)<sup>[1]</sup>。常见的M1型巨噬细胞表面标志有人类白细胞抗原DR位点有分化簇86(CD86)等<sup>[2]</sup>。M1型巨噬细胞可分泌白细胞介素

1(IL-1)和其他趋化因子等大量促炎物质,发挥炎症反应和免疫防御功能,导致机体正常组织的炎症损伤<sup>[3]</sup>,IL-1 $\beta$ 为IL-1家族中的一员,具有促炎的作用。而炎症、应激反应、血流动力学变化等情况,易使动脉硬化斑块破裂、出血或管腔内血栓形成从而导致急性冠脉事件<sup>[4]</sup>。本研究通过纳入稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛和急性心肌梗死病人共120例和排除冠心病病人40例,测定各组冠心病病人与正常对照组外周血巨噬细胞极化M1型特异性标志物CD86和细胞因子IL-1的表达情况,探讨巨噬细胞极化M1型与冠心病的相关性。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2018年11月至2019年2月于广州中医药大学第一附属医院心血管科住院的冠心病病人120例(其中包括稳定型心绞痛病人40例,不稳定型心绞痛病人40例和急性心肌梗死病人40例)为冠心病组,另外纳入同期在心内科行冠脉造影术且排除冠心病40例为对照组。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。基线资料比较见表1。

**1.2 冠心病西医诊断标准** ①稳定型心绞痛诊断标准:按照2007年由中华医学会心血管病学分会制定的《慢性稳定性心绞痛诊断与治疗指南》<sup>[5]</sup>;②急性冠脉综合征诊断标准:按照中华医学会心血管病学分会和中华心血管病杂志编辑委员会制定的《非ST段抬高型急性冠状动脉综合征诊断和治疗指南》<sup>[6]</sup>和《急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南》<sup>[7]</sup>。

**1.3 病例纳入标准** ①年龄范围为18~80岁;②有心绞痛临床症状,表现为稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛、急性心肌梗死病人及已行冠脉造影确诊或排除冠心病病人;③病人对研究方案知情同意。

**1.4 病例排除标准** ①各种急性和慢性感染性疾病;②其他心血管系统疾病如肺源性心脏病、高血压性心脏病、肥厚型心肌病、病毒性心肌炎、先天性心脏病、肺源性心脏病等;③严重的肝肾功能不全;④脑卒中、肿瘤、甲状腺疾病、自身免疫性疾病、血液系统疾病或精神疾病。

**1.5 检测项目** ①病人基本信息:年龄、性别、吸烟

史、体质指数(BMI)、既往病史;②超敏肌钙I(cTnI)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C)、sCD86、IL-1 $\beta$ 等。

## 1.6 研究步骤

**1.6.1 入组筛选** 每一个研究对象均按照纳入标准以及排除标准入组,且签署知情同意书。

**1.6.2 病人冠脉造影检查** 均由广州中医药大学第一附属医院心内科专业医师执行,经桡动脉或股动脉穿刺多体位造影。

**1.6.3 外周血sCD86、IL-1测定** 样本采集:在静息、空腹状态下,从受试者肘静脉采取血2 mL,于室温放置2 h然后以3 000 r/min离心15 min,收集上清液后将上清液置-80℃保存待检测。sCD86、IL-1检测方法:采用酶联免疫法(ELISA)检测出血清sCD86和IL-1水平浓度。

**1.7 统计学方法** 采用SPSS 23.0统计软件进行处理。计数资料采用百分率、构成比等进行描述。计量资料采用标准差、中位数等描述,两组均数比较采用 $\chi^2$ 或秩和检验,组间两两比较采用Kruskal-Wallis单因素ANOVA(K样本)检验,相关性分析使用Pearson检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组一般资料比较** 冠心病组和对照组在性别构成比例、年龄、吸烟史、饮酒史、既往糖尿病史、既往高血压病史和BMI的比较上,均差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。

**2.2 冠心病组及对照组血浆CD86和IL-1 $\beta$ 水平含量比较** 冠心病病人血CD86血浆含量明显高于对照组水平,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );冠心病病人血浆IL-1 $\beta$ 含量同样高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表2。

**2.3 不同冠心病类型CD86、IL-1 $\beta$ 水平比较** 根据检验结果显示,不同类型冠心病血浆CD86、IL-1 $\beta$ 水平不同,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。在冠心病组里CD86含量水平最高为急性心肌梗死组,最低为稳定型心绞痛组;IL-1 $\beta$ 含量水平最高为急性心肌梗死组,最低为不稳定型心绞痛组。对照组和稳定型心绞痛组CD86水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),

表1 冠心病组与对照组一般情况比较

组别	例数	性别/例		年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$ )	体质指数/ (kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x} \pm s$ )	饮酒 史/例	吸烟 史/例	糖尿 病/例	高血 压病/例
		男	女						
对照组	40	24	16	64.00 $\pm$ 10.78	24.19 $\pm$ 4.51	16	5	15	17
冠心病组	120	80	40	63.58 $\pm$ 14.01	25.33 $\pm$ 5.00	31	44	49	58
$t(\chi^2)$ 值		(0.586)		1.361	1.360	(2.902)	(2.025)	(0.138)	(0.410)
$P$ 值		0.444		0.177	0.178	0.088	0.155	0.709	0.522

**表2** 冠心病组及对照组血浆CD86和IL-1 $\beta$ 水平含量比较/ $\bar{x} \pm s$ 

组别	例数	CD86/(ng/mL)	IL-1 $\beta$ /(pg/mL)
对照组	40	36.314 $\pm$ 17.08	24.754 $\pm$ 14.97
冠心病组	120	133.945 $\pm$ 117.78	55.493 $\pm$ 37.83
Z值		6.431	4.516
P值		0.000	0.000

注:CD86为分化簇86,IL-1 $\beta$ 为白细胞介素-1 $\beta$

其余冠心病CD86水平和对照组比较,均差异有统计学意义( $P < 0.01$ );不同类型冠心病IL-1 $\beta$ 水平和对照组比较,均差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表3。

**表3** 对照组和不同冠心病类型CD86、IL-1 $\beta$ 水平比较/ $\bar{x} \pm s$ 

组别	例数	CD86/(ng/mL)	IL-1 $\beta$ /(pg/mL)
对照组	40	36.314 $\pm$ 17.08	24.753 $\pm$ 14.97
稳定型心绞痛组	40	40.850 $\pm$ 8.18	58.634 $\pm$ 22.75*
不稳定型心绞痛组	40	78.722 $\pm$ 15.77*	19.756 $\pm$ 5.44*
急性心肌梗死组	40	282.262 $\pm$ 86.23*	88.090 $\pm$ 37.53*
H值		123.62	95.45
P值		0.000	0.000

注:与对照组相比较,\* $P < 0.01$ ;CD86为分化簇86,IL-1 $\beta$ 为白细胞介素-1 $\beta$

**2.4 冠心病病人血浆CD86水平与IL-1 $\beta$ 水平相关分析** 经检验,冠心病病人血浆CD86水平(133.944 $\pm$ 117.78)ng/mL与IL-1 $\beta$ 水平(55.493 $\pm$ 37.83)pg/mL呈正相关,Pearson相关系数=0.741, $P = 0.000$ 。

**2.5 冠心病病人血浆CD86水平与其它检验指标相关分析** 经相关性检验,冠心病病人CD86水平与超敏肌钙I(1.37 $\pm$ 2.11)ng/mL成强正相关, $r = 0.843$ , $P < 0.01$ ;冠心病病人CD86水平与TC(4.00 $\pm$ 2.12)mmol/L成弱正相关, $r = 0.287$ , $P < 0.01$ ;冠心病病人CD86水平与年龄(63.58 $\pm$ 14.01)岁、BMI(25.33 $\pm$ 5.00)kg/m<sup>2</sup>和LDL-C(2.52 $\pm$ 0.70)mmol/L无相关性( $P > 0.05$ ),见表4。

**表4** 冠心病病人血浆CD86水平与其它检验指标相关分析/ $\bar{x} \pm s$ 

统计值	年龄	BMI	cTnI	TC	LDL-C
r值	0.102	-0.093	0.843	0.287	0.118
P值	0.269	0.312	0.001	0.010	0.200

注:BMI为体质指数,cTnI为超敏肌钙蛋白I,TC为总胆固醇,LDL-C为低密度脂蛋白

### 3 讨论

冠心病具有高发病率、高死亡率和高致残率等特点,目前冠心病已经超过肿瘤成为我国首位死亡原因,这给国家、社会、家庭和个人带来了沉重经济

负担。AS是冠心病发病的基础,当管腔斑块破裂后,溃破处产生急性血栓,形成急性心血管事件。斑块的易损性代表着斑块发生破裂的以及接而发生急性心血管事件的敏感指数,因此,早期发现或预测不稳定斑块进而减少心血管事件的发生,有着重要的临床意义。

**3.1 巨噬细胞概述** 巨噬细胞是机体免疫细胞的一种,具有吞噬异物、提呈抗原、分泌细胞因子等功能,尤其在机体炎症调控过程中发挥重要作用。巨噬细胞经过不同的组织分布的影响、环境刺激因子刺激和分化后,其表型和功能表现出巨大差异,巨噬细胞被不同因素激活后,分为两种极性分化类型,一种为经典激活M1型巨噬细胞和另一种替代激活M2型巨噬细胞<sup>[1]</sup>。不同极化类型的巨噬细胞其表面标记、生物活性产物和炎症免疫调控功能不同<sup>[8]</sup>。常见的M1型巨噬细胞表面标志有人类白细胞抗原DR位点(HLA-DR)、CD86、CD197、CC12、CCR7、CD16/32等<sup>[9-10]</sup>。

**3.2 M1型巨噬细胞与冠心病关系** AS发病的机制最早提出的是脂肪浸润学说,后又有血小板聚集和血栓形成学说以及平滑肌克隆学说,目前多数学者认同的是“内皮损伤-炎症反应”学说,研究表明,巨噬细胞在AS发生和发展的过程中有着重大的作用。当内皮损伤时,巨噬细胞参与了泡沫细胞的形成、炎症因子和基质降解酶的释放、胆固醇的逆向转运和斑块的消退等多个方面<sup>[11]</sup>。而巨噬细胞极化M1型细胞是经典活化的巨噬细胞,可分泌活性氧(ROS)、活性氮(RNS)、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-12、IL-23和其他趋化因子等大量促炎物质,当不稳定粥样斑块破裂后,溃破处激活巨噬细胞极化为M1型巨噬细胞,M1型巨噬细胞水平上升,常导致机体正常组织的炎症损伤<sup>[12]</sup>。

本研究共纳入住院确诊冠心病病人120例(其中包括稳定型心绞痛40例、不稳定型心绞痛40例和急性心肌梗死病人40例),另外纳入同期在行冠脉造影术且排除冠心病的病人40例。在外周血巨噬细胞CD86水平测定上,稳定型心绞痛组的平均水平为(40.850 $\pm$ 8.18)ng/mL,不稳定型心绞痛组病人的平均水平为(78.722 $\pm$ 15.77)ng/mL;急性心肌梗死组的平均水平为(282.262 $\pm$ 86.23)ng/mL;对照组的平均水平为(36.314 $\pm$ 17.08)ng/mL,各组CD163水平差异有统计学意义( $H = 123.62$ , $P < 0.01$ ),上述结果与前期假设结果大体相符合,冠心病病人CD86水平明显高于对照组,在不同类型的冠心病里,急性心肌梗死病人CD86的水平最高,而稳定型心绞

痛组病人CD86水平最低;在IL-1趋化因子水平上,不同类型冠心病差异有统计学意义( $H = 95.45, P < 0.01$ );CD86水平与IL-1水平为正相关,相关性强度为强相关( $r = 0.741, P < 0.01$ )。上述结果可提示,M1型巨噬细胞水平或许可间接反映冠状动脉粥样硬化病变的严重程度,冠状动脉斑块越不稳定,M1巨噬细胞水平越高,进而导致巨噬细胞释放的炎性因子水平越高。肌钙蛋白是检测心肌损伤敏感性和特异性最重要的指标之一,肌钙蛋白的升高可作为急性心肌梗死评估的重要指标<sup>[13-14]</sup>,在相关性分析上,冠心病病人cTnI与CD86水平为正相关( $r = 0.843, P < 0.01$ ),这提示M1巨噬细胞特异性标志物CD86在一定程度上,对早期预测冠心病病人斑块稳定性方面有着重要潜在的价值。另外,CD86与其它检验指标相关性研究上,TC与CD86呈弱正相关性( $r = 0.287, P < 0.05$ ),但与LDL-C无相关性( $r = 0.118, P > 0.05$ )。富含胆固醇酯的巨噬细胞的累积是动脉粥样硬化病变发展的核心,动脉粥样硬化早期的脂质病变多数被抗炎M2巨噬细胞所浸润,这个过程有利于平滑细胞增殖和细胞外基质沉积(组织修复表型),但随着动脉管腔里脂质积聚的增多,斑块的进展,巨噬细胞发生了从M2到M1表型的转换,进而导致炎症增加<sup>[14]</sup>,故本研究显示M1型巨噬细胞与脂质有一定的相关性,由此也间接显示M1型巨噬细胞在冠心病的形成与发生中起着重要的作用。

综上所述,本次实验初步探讨了M1型巨噬细胞极化与不同类型冠心病的相关性,结果提示M1型巨噬细胞水平或许可间接反映冠状动脉粥样硬化病变的严重程度,斑块越不稳定,M1巨噬细胞水平越高,而M1巨噬细胞特异性标志物CD86对早期预测冠心病病人斑块稳定性方面有着重要潜在的价值。

### 参考文献

[1] FUNES SC, RIOS M, ESCOBAR-VERA J, et al. Implications of

macrophage polarization in autoimmunity [J]. Immunology, 2018, 154(2): 186-195.

- [2] SHI Y, FELDER MA, SONDEL PM, et al. Synergy of anti-CD40, CpG and MPL in activation of mouse macrophages [J]. Mol Immunol, 2015, 66(2): 208-215.
- [3] TABAS I, BORNFELDT KE. Macrophage phenotype and function in different stages of atherosclerosis [J]. Circ Res, 2016, 118: 653-667.
- [4] 葛均波. 内科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 218
- [5] 高修仁. 我国慢性稳定型心绞痛诊断与治疗指南解读 [J]. 新医学, 2007, 38(11): 704-707.
- [6] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 非ST段抬高型急性冠状动脉综合征诊断和治疗指南(2016) [J]. 中华心血管病杂志, 2017, 45(5): 359-376.
- [7] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性ST段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南 [J]. 中华心血管病杂志, 2015, 43(5): 380-393.
- [8] 陈萍, 陈文娜. 不同亚型巨噬细胞调控动脉粥样硬化转归的免疫学机制探析 [J]. 辽宁医学杂志, 2019, 33(4): 59-63.
- [9] MUELLER CK, SCHULTZE - MOSGAU S. Histomorphometric analysis of the phenotypical differentiation of recruited macrophages following subcutaneous implantation of an allogeneous acellular dermal matrix [J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2011, 40(4): 401-407.
- [10] EE SG, OH J, BONG SK, et al. Macrophage polarization and acceleration of atherosclerotic plaques in a swine model [J]. PLoS One, 2018, 13(3): e0193005. DOI: 10.1371/journal.pone.0193005.
- [11] 吕树铮, 汪国忠. 冠心病分子机制研究进展 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2009, 1(3): 199-200.
- [12] 邓凌志. 冠心病患者外周血M2巨噬细胞水平变化及其极化的相关信号通路 [D]. 衡阳: 南华大学, 2016.
- [13] 黄国强. 超敏肌钙蛋白I检测在急性心肌梗死早期诊断中的应用分析 [J]. 河南医学研究, 2016, 25(9): 1647.
- [14] 吴金斌, 邹德学, 周逵, 等. 高敏肌钙蛋白T和普通肌钙蛋白I在急性心肌梗死早期诊断中的临床应用价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(13): 1799-1800, 1803.
- [15] BIE J, ZHAO B, GHOSH S. Atherosclerotic lesion progression is attenuated by reconstitution with bone marrow from macrophage-specific cholesteryl ester hydrolase transgenic mice [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2011, 301(4): 967-974.

(收稿日期: 2019-07-27, 修回日期: 2019-09-25)

众志成城、科学应对、群防群控、战胜疫情