

# 老年急性冠脉综合征患者的细胞免疫功能变化

叶少武<sup>1</sup>, 张康<sup>1</sup>, 唐剑<sup>2</sup>, 莫丕立<sup>3</sup>, 黎志革<sup>1</sup>,  
陈永雄<sup>1</sup>, 陆兆华<sup>1</sup>, 彭晓燕<sup>1</sup>, 陀健琳<sup>1</sup>

(1. 梧州市人民医院 心内科; 2. 梧州市工人医院 心内科; 3. 梧州市中心血站, 广西 梧州 543000)

**[摘要]** 目的: 通过检测老年急性冠脉综合征(ACS)病人血清中的细胞因子 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ ), 免疫细胞表面抗原分子CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>的浓度水平, 探讨老年ACS病人的细胞免疫功能改变。方法: 36例ACS患者为实验组, 40例正常对照组老年人的外周静脉血, 酶联免疫吸附法(ELISA)测定IFN- $\gamma$ 含量, 采用碱性磷酸酶-抗碱性磷酸酶桥联酶染色法(APAAP)测定T淋巴细胞亚群细胞数。结果: 实验组IFN- $\gamma$ 含量和CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值低于对照组( $P=0.001$ ), 而CD8<sup>+</sup>则高于对照组( $P=0.001$ ), 差异均有显著性意义。结论: 老年ACS患者体内细胞免疫功能的改变可能对ACS的形成和发展产生了一定的影响, T淋巴细胞亚群比值和IFN- $\gamma$ 含量变化可作为老年ACS严重程度的监测指标。

**[关键词]** 急性冠脉综合征; 老年人; 细胞免疫;  $\gamma$ -干扰素

**[中图分类号]** R543.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1000-9965(2009)06-0672-04

## Study on variation of cellular immunity in senior patients of acute coronary syndromes

YE Shao-wu<sup>1</sup>, ZHANG Kang<sup>1</sup>, TANG Jian<sup>2</sup>, MO Pi-li<sup>3</sup>, LI Zhi-ge<sup>1</sup>, CHEN Yong-xiong<sup>1</sup>,  
LU Zhao-hua<sup>1</sup>, PENG Xiao-yan<sup>1</sup>, TUO Jian-lin<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiology, Wuzhou Peoples' Hospital; 2. Department of Cardiology, the Workers' Hospital of Wuzhou District;  
3. Wuzhou Blood Center, Wuzhou 543000, China)

**[Abstract]** **Aim:** To investigate change of cellular immunity in senior patients of acute coronary syndromes via evaluating the serum level of IFN- $\gamma$  and CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>. **Methods:** The level of IFN- $\gamma$  was measured by ELISA, and the level of T-lymphocyte subpopulations in blood was assayed by APAAP method from 36 senior patients with ACS, forty healthy old persons as controls(NC). **Results:** The level of CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、IFN- $\gamma$ , and the ratio of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> in group ACS were less than those in group NC( $P=0.001$ ). But the level of CD8<sup>+</sup> was more than that in group NC( $P=0.001$ ). **Conclusion:** The immune change in ACS has an effect on forming and progress of ACS. The ratio of T-lymphocyte subpopulations and the level of IFN- $\gamma$  in blood can be the measure to detect the serious degree of ACS.

**[Key words]** acute coronary syndrome; senior citizen; cellular immunity; IFN- $\gamma$

冠心病是严重威胁人类健康和生命的心血管疾病,冠心病的发病以炎症为主要特征<sup>[1-2]</sup>。临床研究发现冠状动脉粥样硬化斑块内T淋巴细胞占有核细胞总数的10%~20%,冠心病患者外周血前炎症因子辅助分泌前炎症因子的辅助T淋巴细胞明显升高。冠心病的炎症可能不仅仅局限于致病血管壁的局部,而且包括全身免疫系统的激活,本研究通过对冠心病患者外周血免疫细胞表面抗原分子CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>及细胞因子 $\gamma$ -干扰素细胞比例的检测,探讨动脉粥样硬化的发生发展是否与细胞免疫功能失常有关。

1 资料与方法

1.1 研究对象

入选对象为我院2003年3月至2005年12月的住院病人,实验组为36例急性冠脉综合征(ACS)病人,其中男24例,女12例,平均年龄(68.22±11.25)岁,于初次发病12h内入院。对照组为40例健康老年人,其中男21例,女19例,平均年龄(69.10±12.38)岁。ACS的诊断标准:①缺血性胸痛20~30min,舌下含服硝酸甘油无效;②相邻的ST段呈缺血性运态改变;③心脏标志物轻度升高。排除标准:①感染性疾病;②肿瘤;③结核;④慢性阻塞性肺病及自身免疫性疾病。

1.2 方法

(1)标本收集 入选对象于清晨空腹采肝素抗凝静脉血2mL,3000r/min,20min离心分离出血清,贮于-70℃低温冰箱内保存,收集齐后统一测试标本,以避免批间误差。

(2)IFN- $\gamma$ 测定 采用酶联免疫吸附法(ELISA法)。细胞因子——IFN- $\gamma$ 检测方法(ELISA法):①反应板包被;②加待测血清;③加相应抗原、抗体或

酶标记抗体;④洗板;⑤加酶标记物终止反应,并加显色剂;⑥观察反应结果或测定显色深浅;⑦计算结果。

(3)T细胞亚群——CD3、CD4、CD8测定 APAAP法测定T淋巴细胞亚群CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>(北京邦定泰克生物技术公司试剂盒),严格按操作规程进行操作,步骤如下:①分离单个核细胞后制细胞涂片;②固定液固定30min;③加小牛血清10min后甩干;④加一抗孵育37℃1h后PBS冲洗3次;⑤加二抗孵育37℃30min后PBS冲洗3次;⑥加三抗孵育37℃30minPBS冲洗3次;⑦加底物显色液20min;⑧加亮绿复染5min;⑨高倍显微镜下计算200个淋巴细胞,细胞膜或细胞浆着色者为阳性,计算阳性率。

(4)技术指标 ①细胞学方面:CD4↓、CD8↑、CD4/CD8↓即表示细胞免疫功能低下,相反表示细胞免疫功能亢进。②细胞因子:IFN- $\gamma$ ↓表示细胞免疫功能低下,与CD4↓、CD8↑、CD4/CD8↓结果相一致,相反,结果亦一致。

1.3 统计学方法

数值变量用 $\bar{x}\pm s$ 表示,显著性检验用 $t$ 检验,计量资料用卡方检验,用SPSS 12.0数据统计软件分析实验数据, $P<0.05$ 时有显著性差异。

2 结果

2.1 两组基本资料比较

实验组和对照病人的年龄、性别、总胆固醇、甘油三酯和血糖水平无显著性差异( $P>0.05$ )(见表1)。

2.2 两组细胞免疫功能变化

实验组CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>的体积分数及IFN- $\gamma$ 的质量分数低于对照组( $P<0.001$ ), CD8<sup>+</sup>则高于对照组( $P<0.001$ ),反映为细胞免疫功能低下(见表2)。

表1 实验组和对照组基本资料比较

分组	n	年龄/岁	男/女	c(总胆固醇)/(mmol·L <sup>-1</sup> )	c(甘油三酯)/(mmol·L <sup>-1</sup> )	c(血糖)/(mmol·L <sup>-1</sup> )
实验组	36	78.22±11.25	24:12	5.76±0.95	1.86±0.53	6.05±0.32
对照组	40	69.10±12.38 <sup>1)</sup>	21:19 <sup>1)</sup>	5.12±1.15 <sup>1)</sup>	1.68±0.42 <sup>1)</sup>	5.78±0.26 <sup>1)</sup>

1)与实验组比较, $P>0.05$

表2 实验组和对照组T淋巴细胞亚群及IFN- $\gamma$ 测定结果

分组	n	w(CD3 <sup>+</sup> )/%	w(CD4 <sup>+</sup> )/%	w(CD8 <sup>+</sup> )/%	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	$\rho$ (IFN- $\gamma$ )/(ng·mL <sup>-1</sup> )
实验组	36	62.50±6.53	33.72±4.90	31.81±3.76	1.080 0±0.240 0	132.220 0±122.830 0
对照组	40	73.21±7.11 <sup>1)</sup>	43.79±4.49 <sup>1)</sup>	27.09±4.27 <sup>1)</sup>	1.640 0±0.260 0 <sup>1)</sup>	253.700 0±66.870 0 <sup>1)</sup>

1)与实验组比较, $P<0.001$

### 3 讨论

CD为T淋巴细胞分化抗原,是细胞表面的一种标志。临床上通过检测 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 细胞数及 $CD4^+/CD8^+$ 的比值变化来反映辅助T细胞/抑制性T细胞(Th/Ts细胞)比值的改变,从而判断疾病的免疫异常特征或免疫反应程度。干扰素( $IFN-\gamma$ )属II型干扰素,是一种强的巨噬细胞、NK细胞、血管内皮细胞活化剂,能激活巨噬细胞并促进其活性<sup>[3-4]</sup>。 $IFN-\gamma$ 通过多方面作用参与动脉粥样硬化(As)的发生发展。

ACS的发生与冠状动脉粥样硬化斑块的稳定性有关,其斑块内的炎症反应状态决定着斑块稳定性的因素之一,与炎症原因与免疫中介机制也有关系,这种免疫机制是多种炎症和非炎症的刺激的反应。特殊的淋巴细胞经过同源细胞的扩张,产生大量的干扰素及前炎症细胞因子,以对局限的抗原刺激作出反应<sup>[5]</sup>。Nakajima等<sup>[6]</sup>通过对血管内皮细胞的研究指出:T淋巴细胞介导的内皮细胞损伤是一个新的组织损伤途径,它加重了斑块的不稳定性。目前有关ACS患者T淋巴细胞亚群变化已有较多报道,结论仍然不能确定<sup>[7-8]</sup>。

本组资料结果进一步证实了老年人ACS患者存在T淋巴细胞亚群的变化,外周血 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 显著减少, $CD8^+$ 显著增加, $CD4^+/CD8^+$ 比值减低,与对照组比较有显著性差异。根据文献<sup>[7-8]</sup>报道的人类不稳定性斑块及破裂斑块的纤维帽中,巨噬细胞、T细胞MHC-II类分子和MMPs的表达均增强,尤其在斑块易破损的肩部 $CD+8T$ 细胞明显增多,与其他资料相比<sup>[9-10]</sup>,是使用检测的方法不同或采血时间的因素所致。

本观察发现在ACS发病过程中,老年ACS患者 $IFN-\gamma$ 血清浓度水平较低,与对照组相比有显著性差异,与文献<sup>[11]</sup>有不一致,分析其原因为 $IFN-\gamma$ 主要影响动脉粥样硬化过程中的炎症反应及斑块处细胞成分。在复杂的炎症反应中, $IFN-\gamma$ 主要起中介作用。一方面它可促进血管炎症反应、调节炎症介质、诱导泡沫细胞形成及内皮功能障碍,促进动脉粥样硬化形成。另一方面它又可调节巨噬细胞相关脂质受体抑制泡沫细胞出现、保护内皮细胞和抑制动脉粥样硬化进展。 $IFN-\gamma$ 对动脉粥样硬化的影响是有益还是有害,是通过影响多种炎症因子、表达还是通过某一具体机制尚未明了,可能与 $IFN-\gamma$ 的不

同反应与其血清浓度含量及机体炎症状态有关。在Koga等<sup>[12]</sup>的实验中,高脂喂养的apoE基因敲除鼠用 $IFN-\gamma$ 抑制蛋白处理后,小鼠动脉粥样硬化斑块处巨噬细胞及脂质沉积减少,纤维帽中纤维成分及平滑肌细胞增多,提示阻断功能, $IFN-\gamma$ 可抑制动脉粥样硬化进展,使斑块更趋于稳定。深入探讨 $IFN-\gamma$ 在动脉粥样硬化中的作用,可能有助于人们进一步了解其发生机制,在治疗策略的制定中起一定的辅助作用。

本组资料表明在老年人ACS发生时,机体应激使炎症反应增强,而免疫功能紊乱,进一步研究将有助于阐明ACS患者免疫损伤的机理,并对ACS患者的治疗提供实验和理论依据。检测老年ACS患者T淋巴细胞亚群的变化和 $IFN-\gamma$ 将有助于监测病情和判断预后,改善ACS患者的细胞免疫功能,有助于缓解病情,因而免疫干预可能成为防治老年人ACS的新途径。

#### [参考文献]

- [1] FORRESTER J S. Role of plaque rupture in acute coronary syndromes[J]. Am J Catdiol, 2000, 86(8): 15J - 23J.
- [2] BRAUNWALD E, ANTMAN E M, BEASLEY J W, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction[J]. J Am Coll Cardiol, 2000, 36(3): 970 - 1062.
- [3] PFEILSCHIFTER M H. Anti-inflammatory properties of pro-inflammatory interferon-gamma[J]. Int Immunopharmacol, 2003, 3(9): 1247 - 1255.
- [4] SCHOENHORN J R, WILSON C B. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses[J]. Adv Immunol, 2007, 96(3): 41 - 101.
- [5] LIUZZO G, CORONZY J J, YANG H, et al. Monoclonal T-cell proliferation and plaque instability in acute coronary syndromes[J]. Circulation, 2000, 101(25): 2883 - 2888.
- [6] NAKAJIMA T, SCHULTE S, WARRINGTON K J, et al. T-cell-mediated lysis of endothelial cells in acute coronary syndromes[J]. Circulation, 2002, 105(5): 570 - 575.
- [7] FARB A, BURKE A P, TANG A L, et al. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death[J]. Circulation, 1996, 93(7): 1354 - 1363.

(下转第685页)

简便,可由患者自行使用,特别是针对冠周炎这种易反复发作的疾病有较大的实用价值。

西吡氯铵化学名为氯化十六烷基吡啶水合物(CPC),是阳离子型表面活性剂,带正电,能降低表面张力,吸附到细菌细胞膜的表面,它可与细菌细胞壁阴离子作用,增加细胞壁通透性,造成细菌体肿胀、破裂而死亡,并使菌体蛋白质变性,从而杀死细菌<sup>[5]</sup>。动物试验结果表明本品对口腔粘膜无明显刺激性。体外试验结果表明本品对多种口腔致病和非致病菌有抑制和杀灭作用,包括白色念珠菌。含漱后能减少或抑制牙菌斑的形成,具有保持口腔清洁、消除口腔异味的作用。对牙面不着色,有抗菌作用,可减少菌斑形成,使用含西吡氯铵的漱口液不会改变口腔正常菌群的组成,也不会导致非口腔细菌和潜在致病菌在口腔的定植<sup>[6]</sup>。在国外被广泛地应用于口腔的卫生保健。

质量分数为0.1%西吡氯铵含漱液具有杀菌、降低菌斑形成率及消炎作用,从而能显著改善牙龈出血、牙龈疼痛、牙龈肿胀及口臭等牙龈炎症状,所以常用于牙龈炎及牙周病的治疗<sup>[7]</sup>。本试验结果表明西吡氯铵含漱液对急性冠周炎也具有很好的治疗作用。虽然与碘甘油相比,二者总体疗效差异无显著性,但西吡氯铵含漱液作为一种非处方药,具有易于购得,使用方便等优点,具有推广价值。

## [参考文献]

- [1] 邱蔚六. 口腔颌面外科学[M]. 6版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 139-141.
- [2] 邱宏亮. 碘仿甲硝唑糊剂治疗智齿冠周炎疗效观察[J]. 口腔医学, 2003, 23(4): 228-229.
- [3] 王林虎, 王虎忠, 郭家平, 等. 奥硝唑治疗急性智齿冠周炎疗效观察[J]. 中国康复理论与实践, 2004, 10(4): 237.
- [4] 李若兰, 梁焕友, 王 萍, 等. 盐酸米诺环素软膏治疗急性智齿冠周炎疗效观察[J]. 广东牙病防治, 2004, 12(2): 137.
- [5] WALKER C B. Microbiological effects of mouthrinses containing antimicrobials[J]. J Clin Periodontol, 1988, 15(s): 499-505.
- [6] RADFORD J R, BEIGHTON D, NUGENT Z, et al. Effect of use of 0.05% cetyl-pyridinium chloride mouth wash on normal oral flora[J]. J Dent, 1997, 25(1): 35-40.
- [7] 李孝权, 肖晓蓉, 朱 珠, 等. 0.1%西吡氯铵漱口液的体外抗菌试验[J]. 中国微生态学杂志, 2002, 14(2): 361-362.
- [8] GALIS Z S, SUKHOVA G K, LARK M W, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques[J]. J Clin Invest, 1994, 94(6): 2493-2503.
- [9] 崔 颖, 李璐璐, 姜 明. 急性冠脉综合征患者体内T细胞亚群的变化及活化[J]. 黑龙江医学, 2007, 31(2): 91-92.
- [10] 张晓明, 苗榕生, 朱继红, 等. 急性心肌梗死患者外周血粘附分子表达及T淋巴细胞亚群变化[J]. 中国医药导刊, 2003, 5(3): 185-186.
- [11] 钟文亮, 李志梁, 刘映峰, 等. 外周血 CD4<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>T淋巴细胞数量与阿托伐他汀对急性冠脉综合征患者干预的相关性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(46): 9297-9300.
- [12] KOGA M, KAI H, YASUKAWA H, et al. Inhibition of progression and Stabilization of plaques by postnatal interferon-gamma function blocking in ApoE-knockout mice[J]. Circ Res, 2007, 101(4): 348-356.

[责任编辑:陈咏梅]

[责任编辑:陈咏梅]

(上接第674页)