

• 临床研究 •

单核细胞尿激酶型纤溶酶原激活物受体表达水平与冠状动脉粥样硬化斑块稳定性的关系

钱 庚, 易 军, 陈韵岱

【摘要】 目的 探讨不同临床类型的冠状动脉粥样硬化性心脏病患者外周血单核细胞尿激酶型纤溶酶原激活物受体(uPAR)表达水平的差异及其在治疗前后的变化,并观察该指标与术后心血管事件的相关性。**方法** 连续入选经冠状动脉造影证实的冠心病患者 136 例,其中包括急性冠脉综合征(ACS)85 例、稳定型心绞痛(SAP)51 例,另选 20 例健康志愿者作为对照。留取全血标本,用流式细胞仪检测各组患者外周血单核细胞 uPAR 的表达水平。观察 ACS 组经皮冠状动脉介入(PCI)治疗 24,48 h,3 个月 after 外周血单核细胞 uPAR 表达水平的变化。随访 ACS 组患者 2 年,记录主要心血管事件的发生情况。**结果** ACS 组 uPAR 表达水平较 SAP 组及健康志愿者组均显著升高($P<0.01$),ACS 组 PCI 术后 3 个月的 uPAR 表达水平较术前有显著下降($P<0.01$)。85 例 ACS 患者平均随访(20.46 ± 2.45)个月,术后发生主要心血管事件 24 例,事件组单核细胞 uPAR 表达水平显著高于无事件组($P<0.01$)。应用多因素 logistic 回归分析发现,单核细胞上 uPAR 的表达水平与术后主要心血管事件显著相关($P<0.01$)。**结论** ACS 患者单核细胞 uPAR 的表达水平较 SAP 患者显著升高,ACS 患者 uPAR 的表达水平与主要心血管事件具有明显相关性,单核细胞 uPAR 的表达水平是冠心病临床病情严重程度的一个敏感指标,对于判断动脉粥样硬化斑块的稳定性以及心血管疾病的预后具有重要价值。

【关键词】 动脉粥样硬化;冠状动脉疾病;单核细胞;尿激酶型纤溶酶原激活物受体

【中图分类号】 R541.4

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-5403(2010)02-04

Relationship between urokinase plasminogen activator receptor expression level in monocytes and stability of coronary atherosclerotic plaque

QIAN Geng, YI Jun, CHEN Yundai

Department of Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 Objective To investigate the expression level of urokinase plasminogen activator receptor (uPAR) in monocytes in coronary heart disease (CHD) patients before and after percutaneous coronary intervention (PCI) and to determine the relationship between uPAR and major adverse cardiac events (MACE). **Methods** A consecutive cohort of 136 CHD patients were enrolled, including 85 acute coronary syndrome (ACS) patients and 51 stable angina pectoris (SAP) patients. Twenty healthy volunteers were taken as control group. Peripheral blood samples were collected, and uPAR expression in monocytes was measured by flow cytometry at 24 h, 48 h, and 3 months after PCI treatment. MACE were recorded during 2-year follow-up. **Results** Expression level of uPAR was significantly higher in ACS patients than in SAP patients and healthy controls($P<0.01$). In ACS group, the expression level of uPAR decreased significantly at 3 months after PCI($P<0.01$). Among 85 ACS patients who were followed up for an average of (20.46 ± 2.45) months, 24 MACE were reported. The expression level of uPAR in MACE group was significantly higher than that in non-MACE group($P<0.01$). Ordinal logistic regression analysis revealed that the level of uPAR expression in monocytes was significantly correlated to MACE. **Conclusion** The level of uPAR expression in monocytes in ACS group is significantly higher than that in SAP group. Expression level of uPAR in ACS patients is significantly correlated to MACE. uPAR is a sensitive predictor for the severity of CHD, and is of great significance in evaluating the stability of atheromatous plaque and the outcome of CHD.

作者单位:100853 北京市,解放军总医院心内科

通讯作者:陈韵岱, Tel:010-66937661, E-mail: cyundai@medmail.com.cn

【Key words】 atherosclerosis; coronary heart disease; monocyte; urokinase plasminogen activator receptor

急性冠脉综合征(ACS)的病理生理基础是斑块的不稳定导致斑块破裂、血小板聚集、血栓形成。仅凭冠脉造影的结果不足以评判冠状动脉粥样硬化斑块的稳定性,还必须结合临床表现以及实验室检查综合分析患者临床病情的轻重及预后。尿激酶型纤溶酶原激活物受体(urokinase plasminogen activator receptor, uPAR)是纤溶系统家族的重要成员,细胞表面的 uPAR 与其配体尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)结合后可以进一步激活纤溶酶原,使纤溶酶的蛋白酶解的作用局限在细胞表面,促进对细胞外基质的降解。uPAR 参与白细胞基本的生物学功能,白细胞动员和趋化迁移需要细胞膜表面表达 uPAR 而不是 uPA, uPAR 的表达还与细胞黏附有着密切联系。人们在动脉粥样硬化的斑块中发现了高表达的 uPAR, 并且发现 uPAR 在粥样斑块内的表达量随病变严重程度逐渐增加^[1]。为了进一步研究单核细胞上 uPAR 的表达水平与冠心病易损斑块的关系,笔者连续入选经冠状动脉造影证实的 136 例冠心病患者,检测不同临床类型冠心病患者单核细胞上 uPAR 表达水平的差异,并通过随访观察 ACS 组患者的预后,进一步探讨 uPAR 表达水平与术后心血管事件的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象 连续入选 2006 年 11 月至 2007 年 5 月在解放军总医院内科住院且经冠状动脉造影证实的冠心病患者 136 例,其中稳定型心绞痛(SAP) 51 例、ACS 85 例。ACS 组包括不稳定心绞痛(UAP) 48 例、非 ST 段抬高的心肌梗死(NSTEMI) 20 例和 ST 段抬高的心肌梗死(STEMI) 17 例。科室工作人员经体检选 20 例健康者作为对照组。所有入选者经询问病史、体格检查及实验室检查,重点排除以下疾病:创伤、肝功能异常(ALT>50 U/ml 或 AST>50 U/ml)、肾功能不全(Scr>100 μ mol/L)、内分泌疾病(如甲状腺功能亢进,甲状腺功能低下, Cushing 综合征, Addison's 病)、自身免疫性疾病(如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等)、血液病及肿瘤。在采血期间无合并感染症状、实验室检查也不支持感染。

1.2 研究方法 记录入选对象的年龄、身高、体质量,询问冠心病家族史、高血压病史、糖尿病史。冠状动脉介入(PCI)术前测血常规、血脂〔包括总胆固

醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)〕、空腹血糖、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)等。所有 ACS 组标本均在症状发作 12 h 内留取, SAP 组在入院 24 h 内留取血标本, ACS 组于支架植入术 24, 48 h 以及 3 个月采取血标本,用流式细胞仪检测外周血单核细胞 uPAR 的表达水平:从血标本中各抽取 100 μ l 全血 2 份放入流式细胞仪专用试管中,一管加入 CD14-FITC 10 μ l,另一管加入 CD14-FITC 和 CD87(uPAR)-PE 各 10 μ l 进行双重标记,先后加入溶血素和多聚甲醛,在流式细胞仪上读取样本单核细胞 uPAR(CD87)阳性细胞比率和单核细胞 uPAR(CD87)平均荧光强度指数。术后对 ACS 组患者观察随访近 2 年。

1.3 统计学分析 应用 SPSS16.0 软件进行统计分析。检测结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行正态性检验,符合正态分布的组间比较用 t 检验或方差分析,不符合正态分布的组间比较用非参数检验方法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 冠心病各组临床资料及单核细胞 uPAR 表达水平的比较 患者术前基本情况以及流式细胞仪检测的单核细胞 uPAR 表达水平见表 1。SAP 与 ACS 各组在白细胞总数、单核细胞总数、空腹血糖、LDL、TG、TC 水平上无显著性差异, NSTEMI 组的年龄显著高于其他 3 组,而 STEMI 组的 HDL-C 水平较其他 3 组显著降低。SAP、UAP、NSTEMI、STEMI 的 Hs-CRP 值依次升高,其中 NSTEMI 和 STEMI 的 Hs-CRP 值较 SAP 组均有显著升高。与之相似的 SAP、UAP、NSTEMI、STEMI 的 uPAR 表达阳性率值依次升高, SAP 组单核细胞 uPAR 表达的阳性率与正常对照组相比无显著差异;而 ACS 各亚组 UAP、NSTEMI、STEMI 的 uPAR 表达阳性率显著高于稳定型心绞痛和健康正常对照组。各组平均荧光强度指数数据因不满足正态性分布而进行了非参数检验,结果显示, ACS 组显著高于 SAP 组。单核细胞上 uPAR 表达水平的高低与冠心病临床类型的严重程度有显著的正相关。

2.2 PCI 术后外周血单核细胞表达 uPAR 的动态变化 ACS 组患者外周血单核细胞 uPAR 的表达阳性率在 PCI 术后逐渐降低,术前、术后 24 h、48 h、

表 1 不同临床类型冠心病患者术前临床资料及单核细胞 uPAR 表达水平 (x±s)

组别	例数	年龄(岁)	白细胞 (×10 ⁹ /L)	单核细胞 (×10 ⁹ /L)	血糖 (mmol/L)	T C (mmol/L)
健康志愿者	20	36±13	5.4±2.3	0.42±0.14	5.2±1.4	4.6±1.0
稳定型心绞痛	51	64±12	7.3±2.5	0.31±0.13	6.4±2.5	4.5±1.0
不稳定心绞痛	48	65±10	6.8±1.8	0.37±0.25	6.6±2.1	4.2±1.0
非 ST 段抬高心肌梗死	20	71±9*	7.7±1.9	0.41±0.18	6.7±2.3	4.8±1.1
ST 段抬高心肌梗死	17	63±9	7.8±1.8	0.41±0.13	6.7±1.8	4.1±1.2

组别	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	术前 Hs-CRP (mg/L)	单核细胞 uPAR 阳性率(%)	单核细胞 uPAR 的 平均荧光强度指数
健康志愿者	1.6±0.9	1.02±0.23	2.3±0.6	0.7±0.5	11±14	1.2±8.1
稳定型心绞痛	1.6±1.0	1.21±0.27	2.8±0.9	3.0±3.3	12±12	1.6±0.8
不稳定心绞痛	1.6±1.0	1.15±0.35	2.6±0.8	4.1±3.7	45±29*	3.4±3.1
非 ST 段抬高心肌梗死	1.7±0.8	1.15±0.25	3.1±0.9	8.4±3.1*	48±29*	4.0±3.5*
ST 段抬高心肌梗死	1.7±1.2	0.98±0.13*	2.6±1.0	8.1±3.3*	56±27*	5.6±3.0*

注:与稳定型心绞痛组比较,*P<0.05

3 个月分别为(52±26)%,(43±24)%,(37±22)%和(22±21)%(P<0.05)。这可能是支架植入与规范化抗栓、降脂、降压等治疗综合作用的结果。

2.3 ACS 组外周血单核细胞表达 uPAR 的变化与心血管事件的相关性 截至 2009 年 1 月,85 例 ACS 随访时间为 15~20(18.03±2.89)个月,24 例出现主要心血管事件,其中 6 例因心血管事件死亡,10 例因新出现心肌梗死而再次入院,8 例因 2 年内反复出现静息性心绞痛症状而再次入院。将随访的 ACS 组按是否出现心血管事件分为事件组(24 例)和无事件组(61 例),2 组的术前资料及单核细胞 uPAR 表达水平见表 2。结果显示事件组表现为年龄偏大(P<0.01),白细胞总数偏高(P<0.01),其余血糖、血脂等指标并无显著性差异。Hs-CRP 在事件组保持较高的水平,显著高于

无事件组(P<0.05),而事件组单核细胞 uPAR 阳性率和单核细胞 uPAR 平均荧光强度指数均显著高于无事件组(P<0.05),Hs-CRP 和 uPAR 表达水平均显示了较强的对于心血管事件的预测价值。

2.4 ACS 组心血管主要事件危险因素的回归分析 应用二分类多因素 logistic 回归分析比较年龄、白细胞总数、血脂、血糖、Hs-CRP、单核细胞 uPAR 阳性比率等危险因素对最终心血管事件的影响,发现白细胞总数、Hs-CRP 以及单核细胞 uPAR 阳性比率对心血管事件有显著影响(P<0.05)。

3 讨论

ACS 的病理基础是由于不稳定粥样斑块破裂,伴有不同程度的表面血栓及远端血管栓塞形成,严

表 2 按心血管事件分组 ACS 患者术前的基本情况及单核细胞 uPAR 表达水平 (x±s)

组别	例数	年龄(岁)	白细胞(×10 ⁹ /L)	血糖 (mmol/L)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)
无事件组	61	65±11	6.9±1.8	6.5±2.0	4.1±0.8	1.7±1.0
事件组	24	68±7	8.1±2.0	7.0±2.1	4.5±1.3	1.6±0.6
P 值		0.006	0.008	0.230	0.146	0.260

组别	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	Hs-CRP(mg/L)	单核细胞 uPAR 阳性率(%)	单核细胞 uPAR 的 平均荧光强度指数
无事件组	1.08±0.17	2.5±0.6	5±4	37±24	2.8±2.2
事件组	1.01±0.17	3.0±1.0	8±3	76±17	6.7±3.5
P 值	0.677	0.094	0.020	0.022	0.000

重者可引起冠状动脉血管持续、完全阻塞,动脉粥样斑块的不稳定性与ACS有密切关系。现已有多项炎症指标显示了与粥样斑块不稳定性的关系,如Hs-CRP、白介素家族(IL-2)、肿瘤坏死因子(TNF- β)、金属蛋白酶家族(MMP-1, MMP-2)等,特别是Hs-CRP已经被公认为是心血管疾病的危险因素之一。单核细胞上uPAR的表达在炎症反应过程发挥着重要的生理学功能,uPAR介导了炎症细胞的趋化、迁移、黏附过程,为了明确单核细胞上uPAR的表达与粥样斑块稳定性的关系以及与长期心血管事件的相关性,本研究首次综合平行分析了不同临床类型冠心病患者单核细胞上uPAR分子表达水平的差异,并连续追踪随访近2年,研究该分子表达水平与患者长期预后的关系。笔者在研究过程中发现,ACS组的单核细胞uPAR分子表达量较稳定性冠心病组有显著升高,在2年的随访期间内发生心血管事件组的uPAR分子表达量要显著高于无心血管事件组,而且相关分析显示uPAR分子表达量与Hs-CRP水平有着显著的相关性。研究结果表明,uPAR分子表达水平与Hs-CRP同样具有判断冠心病临床严重程度以及预测未来主要心血管事件的价值,该数据所反映的炎症水平很可能是冠心病斑块稳定性的影响因素之一,因此,uPAR分子表达水平有作为临床重要实验检查指标进行推广的价值。

May等^[2]曾报道STEMI患者的单核细胞上uPAR的表达较SAP显著升高,这和本研究结果一致。他们还发现STEMI患者外周血中分离的单核细胞对内皮细胞黏附力显著增强,黏附的过程有赖于uPAR与整合素家族成员CD11a、CD11b、CD18以及血管内皮黏附分子-1的结合。对粥样内膜行病理学检查发现,uPAR分子表达主要集中在斑块肩峰部及破裂斑块断端,以上部位的巨噬细胞和平滑肌细胞上都有大量的uPAR分子表达,而正常的动脉内膜uPAR分子的表达量很少^[3~5]。以上研究表明,uPAR分子很可能参与了不稳定斑块的形成和发展的过程。多种炎症因子都可以上调uPAR的表达,IL、TNF、补体C5a、TGF- β 、IGF-1可以经信号传导途径上调巨噬细胞系统U937细胞uPAR分子表达,而以TNF- α 和TNF- β 对巨噬细胞产生uPAR的刺激最强^[6]。有研究显示,MCP-1、MCP-2和MCP-3都可以刺激U937细胞合成uPAR mRNA,以MCP-3最明显,呈剂量依赖关系。Assmann等^[7]也发现游离脂肪酸也可刺激uPAR分子表达,而且是

依赖p38 MAP-kinase 激酶途径。炎症过程中,在上述炎症因子的刺激下,单核巨噬细胞表达uPAR的水平升高,增高的uPAR使单核细胞黏附、迁移、胞外酶解的作用增强,继而导致动脉粥样斑块的不稳定、破裂、继发血栓形成。表达的uPAR分子本身与动脉粥样硬化斑块的稳定性是否有直接的因果关系,uPAR分子介导不稳定粥样斑块的形成发展的病理生理机制究竟是什么,在临床方面它能否作为一个预后指标或疗效的替代终点,均有待进一步研究。

【参考文献】

- [1] Steins MB, Padró T, Schwaenen C, *et al.* Overexpression of urokinase receptor and cell surface urokinase-type plasminogen activator in the human vessel wall with different types of atherosclerotic lesions[J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2004, 15(5):383-391.
- [2] May AE, Schmidt R, Kanse SM, *et al.* Urokinase receptor surface expression regulates monocyte adhesion in acute myocardial infarction[J]. *Blood*, 2002, 100(10):3611-3617.
- [3] Pawlak K, Pawlak D, Myśliwiec M. Urokinase-type plasminogen activator and metalloproteinase-2 are independently related to the carotid atherosclerosis in haemodialysis patients[J]. *Thromb Res*, 2008, 121(4):543-548.
- [4] Svensson PA, Olson FJ, Hägg DA, *et al.* Urokinase-type plasminogen activator receptor is associated with macrophages and plaque rupture in symptomatic carotid atherosclerosis[J]. *Int J Mol Med*, 2008, 22(2):459-464.
- [5] Chen W, Chen LF, Yin HC, *et al.* Urokinase receptor expression in atherosclerotic plaques of human femoral arteries[J]. *Zhonghua Xinxueguanbing Zazhi*, 2007, 35(10): 897-901.
- [6] Kojima S. Regulation of cellular uPA activity and its implication in pathogenesis of diseases. Tanaka K, Davie EW, Ikeda Y, *et al.*, eds. *Recent Advances in Thrombosis and Hemostasis* [M]. New York: Springer, 2008. 301-313.
- [7] Assmann A, Möhlig M, Osterhoff M, *et al.* Fatty acids differentially modify the expression of urokinase type plasminogen activator receptor in monocytes[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 376(1):196-199.

(收稿日期:2009-03-13;修回日期:2009-06-23)