

瑞舒伐他汀钙对冠心病合并糖尿病患者 辅助性 T 细胞亚群的干预作用

李晓燕 张华丽 韩淑芳 张红明 康玲 耿雪

【摘要】 **目的** 通过观察瑞舒伐他汀钙对冠心病合并糖尿病患者的外周血中辅助性 T 细胞亚群的干预作用,推测瑞舒伐他汀钙在治疗过程中的非调脂作用。**方法** 选取冠心病合并糖尿病患者 90 例,随机分为安慰剂对照组(45 例)和瑞舒伐他汀钙治疗组(45 例),在治疗前及给予安慰剂或瑞舒伐他汀钙(10 mg/晚)治疗 1 个月后,提取外周血单个核细胞(PBMC),流式细胞术检测 Th1/Th2 细胞水平。**结果** (1)瑞舒伐他汀钙组治疗 1 个月后,血浆中总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)与治疗前及对照组相比,均有显著性下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和甘油三酯(TG)变化无统计学意义;(2)瑞舒伐他汀钙组治疗 1 个月后,患者外周血中 Th1 细胞水平与治疗前及对照组相比显著降低,差异具有统计学意义($P < 0.01$),Th2 细胞水平与治疗前及对照组相比显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 瑞舒伐他汀钙除具有较强的调脂作用外,还可以改善外周血辅助性 T 细胞亚群的失衡,从而延缓冠心病合并糖尿病患者的动脉粥样硬化进程,此可能为他汀类药物抗动脉粥样硬化的机制之一。

【关键词】 冠心病; 糖尿病; T 淋巴细胞,辅助诱导; 流式细胞术; 瑞舒伐他汀钙

Effect of rosuvastatin on the change of Th1/Th2 subsets in coronary heart disease with diabetes LI Xiao-yan, ZHANG Hua-li, HAN Shu-fang, ZHANG Hong-ming, KANG Ling, GENG Xue. Department of Cardiology, General Hospital of Jinan Military Region, Jinan 250031, China
Corresponding author: LI Xiao-yan, Email: lixiaoyan902006@126.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of rosuvastatin on the change of Th1/Th2 subsets in coronary heart disease with diabetes. **Methods** Selected 90 patients with both coronary heart disease and diabetes mellitus. These cases were randomly divided into placebo control group (45 cases) and rosuvastatin calcium treatment group (45 cases). Before treatment, the peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were extracted to test the Th1/Th2 cell ratio by flow cytometry. After taking placebo or rosuvastatin calcium (10 mg/d) for a month, PBMC were extracted to test the Th1/Th2 cell ratio by flow cytometry again. **Results** (1) Plasma total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) of rosuvastatin calcium group compared with those of placebo control group and those before treatment were significantly decreased ($P < 0.05$), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and triglyceride (TG) were no significant change. (2) Compared with placebo control group and before treatment, the Th1 cell ratio was significantly lower ($P < 0.01$). The Th2 cell ratio was increased, and there was significant difference ($P < 0.05$). **Conclusions** Rosuvastatin could intervene with experimental atherosclerotic development in coronary heart disease with diabetes, which mechanism might be that rosuvastatin could suppress the activation of Th1 related cytokines and improve the imbalance of Th1/Th2.

【Key words】 Coronary disease; Diabetes mellitus; T-lymphocytes, helper-inducer; Flow cytometry; Rosuvastatin calcium

糖尿病是冠心病的等危症,合并糖尿病的患者冠状动脉病变通常严重而弥漫,且累及远端血管较重,

严重影响了患者的预后^[1]。因此,有效控制冠心病患者的危险因素,对减轻和延缓冠状动脉粥样硬化的发生、发展尤为重要。有研究证明,冠心病合并糖尿病患者外周血辅助性 T 细胞(Th)存在分化失衡,分泌前炎性细胞因子的 1 型辅助性 T 细胞(Th1)亚群过度增殖,而分泌抗炎细胞因子的 2 型辅助性 T 细胞(Th2)亚群功能明显下降^[2]。而他汀类药物除调脂作用外,还具有明确的抑制炎症反应的作用^[3]。本研究旨在观察他汀类药物干预后 Th 亚群频率和功能的变化,进一步探讨他汀类药物在纠正冠心病合并糖尿病患者 Th 分化失衡中的作用。

资料与方法

一、一般资料

选取 2010 年 11 月至 2011 年 4 月在济南军区总医院心内科根据冠状动脉造影或冠状动脉 320 排 CT 及 OGTT 试验确诊为冠心病合并糖尿病的 90 例患者(男 50 例,女 40 例),平均年龄(61±9)岁。排除标准:先前 3 个月内发生过心肌梗死、脑中风或短暂性脑缺血发作;纽约心脏病协会(NYHA)分级Ⅲ或Ⅳ级的心力衰竭;已妊娠;严重的肝肾功能不全及各种急慢性感染性疾病、各种恶性肿瘤患者;自身免疫性疾病、结缔组织病和风湿性疾病患者;甲状腺及肾上腺等内分泌腺疾病患者;其他心脏病,如心肌炎、心肌病、心内膜炎、风湿性心脏病患者;近 3 周内服用了抗炎药、免疫抑制剂;3 个月内受过创伤或者接受手术的患者;对造影剂过敏者;近期血糖波动较大患者。

二、研究方法

1. 药物治疗:入选患者除服用冠心病及糖尿病的常规药物外,随机分为两组,每组 45 例,安慰剂组服用安慰剂(淀粉片,1 片/晚),瑞舒伐他汀钙组服用瑞舒伐他汀钙(10 mg/晚)。

2. 常规生化检查: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)均随入院常规检查。

3. 人外周血单个核细胞(PBMC)的分离:入院后次日清晨抽取患者空腹外周血 3 ml,肝素钠抗凝,应用 Ficoll 淋巴细胞分离液(美国 GE 公司)密度梯度离心法分离 PBMC。

4. PBMC 胞内细胞因子染色及流式细胞仪分析:将分离好的 PBMC 用 1640 培养液(Life Technology)重悬,加入胎牛血清(杭州四季青生物有限公司)0.1 ml,佛波醇脂(PMA,1 mg/L)、ionomycin(50 mg/L)和 Brefeldin A(500 mg/L)(均购自 Sigma-Aldrich),孵育 4 h 后,加入鼠抗人 CD3-FITC 抗体(美国 BD 公司),室温孵育 20 min。洗涤后加入 fix/perm 液破膜,洗涤后加入鼠抗人 IFN- γ -PE、IL-4-PE 的抗体或小鼠 IgG1-PE/IgG1-PE 的同型抗体(均购自美国 Biolegend 公司),孵育后流式细胞仪检测。用前向散射光(FSC)及侧向散射光(SSC)圈出淋巴细胞,结果表示为 CD3⁺T 细胞亚群中细胞因子染色阳性的细胞百分比,其中 IFN- γ ⁺CD3⁺细胞为 Th1 细胞,IL-4⁺CD3⁺细胞为 Th2 细胞。

5. 统计学分析:应用 SPSS 16.0 统计软件处理,数值以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。治疗前后数据比较采用配对 *t* 检验。组间比较采用独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 研究对象治疗前后血脂情况比较(表 1):干预 1 个月后,瑞舒伐他汀钙组血浆中 TC、LDL-C 较安慰剂组及治疗前显著性下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$);而 HDL-C 和 TG 较安慰剂组及治疗前无明显变化,差异无统计学意义。

2. 瑞舒伐他汀干预治疗对辅助性 T 细胞亚群的影响(表 2,图 1,2):干预 1 个月后,瑞舒伐他汀钙组外周血中 Th1(IFN- γ ⁺CD3⁺)细胞水平较安慰剂组及治疗前显著性下降,差异具有统计学意义($P < 0.01$);Th2(IL-4⁺CD3⁺)细胞水平较安慰剂组及治疗前显著性升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 研究对象干预前后血脂变化(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	干预前				干预后			
		TC	TG	LDL-C	HDL-C	TC	TG	LDL-C	HDL-C
瑞舒伐他汀钙组	45	5.22 ± 1.23	2.08 ± 0.93	3.45 ± 1.07	1.16 ± 0.23	3.96 ± 0.27 ^{ab}	1.37 ± 0.95	2.16 ± 0.22 ^{ab}	1.02 ± 0.12
安慰剂组	45	5.12 ± 1.33	2.10 ± 0.93	3.36 ± 1.07	1.16 ± 0.23	5.22 ± 1.23	2.12 ± 0.93	3.53 ± 1.08	1.06 ± 0.33

注:与干预前比较,^a $P < 0.05$ (按瑞舒伐他汀钙干预前血脂水平补充安慰剂干预前后血脂水平);与安慰剂组比较,^b $P < 0.05$

表2 瑞舒伐他汀干预治疗对Th细胞亚群的影响(% , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	干预前		干预后	
		Th1 细胞	Th2 细胞	Th1 细胞	Th2 细胞
瑞舒伐他汀钙组	45	27.01 ± 1.91	1.13 ± 0.14	19.04 ± 2.14 ^{ac}	1.70 ± 0.13 ^{bd}
安慰剂组	45	26.96 ± 1.89	1.14 ± 0.16	26.98 ± 1.90	1.14 ± 0.15

注:与干预前比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$ (按瑞舒伐他汀钙干预前血脂水平补充安慰剂干预前后Th1/Th2水平);与安慰剂组比较,^c $P < 0.01$,^d $P < 0.05$

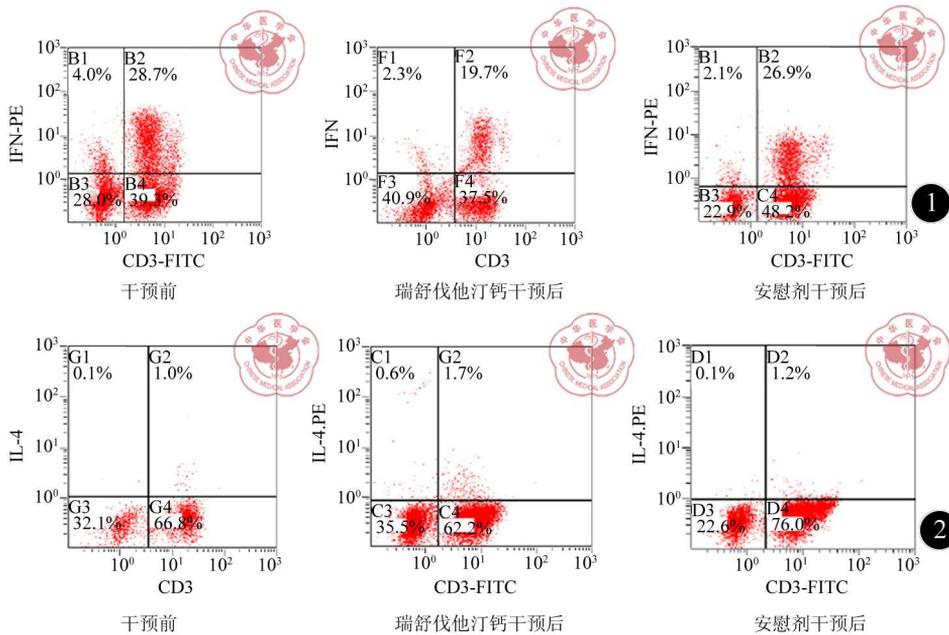


图1 干预前后研究对象外周血Th1细胞水平变化 图2 干预前后研究对象外周血Th2细胞水平变化

讨 论

冠心病和糖尿病高发的患病率、致残和致死率使人们在近几十年来一直竭尽全力地寻找减缓和控制疾病进展的治疗方法和治疗药物^[4]。有效控制冠心病患者的心血管危险因素,减轻和延缓冠状动脉粥样硬化的发生、发展尤为重要。强化降脂治疗可以稳定并控制斑块的发生发展^[5]。他汀类药物能够调节体内的免疫状况,控制炎症,减少炎症和免疫反应对机体的破坏。对于冠心病合并糖尿病的高危患者,提倡早期应用足量的他汀类药物干预。

研究发现他汀类药物可防治动脉粥样硬化,具有改善血管内皮功能、抗炎和免疫调节、抗氧化、抑制平

滑肌细胞增殖和迁移、抑制血栓形成以及稳定动脉粥样硬化斑块等作用^[6]。多项研究发现,他汀类药物可通过降低血清中 INF- γ 、IL-6 等细胞因子的释放来抑制 INF- γ 的多种生物功能,如抗原递呈、T 细胞分化成 Th1 细胞等;降低抗原递呈细胞上的 II 类主要组织相容性复合物分子的表达;阻滞白细胞功能相关抗原-1 与其配体的结合等途径,从而发挥免疫调节的作用。

瑞舒伐他汀钙(rosuvastatin,商品名为可定)是 20 世纪 80 年代末期合成并筛选所得的 1 个氨基嘧啶衍生物,是全合成单一对映异构体化合物。瑞舒伐他汀钙对肝脏羟甲基戊二酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶的竞争性抑制作用和降脂作用较其他降脂药物更强;肝选择性更好,其耐受性良好,不良反应发生率与同类其他药物相似。STELLAR 研究结果显示,瑞舒伐他汀钙(10~40 mg/d)可使血清 LDL-C 水平降低 55%~65%, HDL-C 水平升高 13%^[7]。有国外研究显示:积极的他汀治疗可以终止亚临床动脉粥样硬化的低危患者疾病的发展^[8-10]。本研究结果显示,服用瑞舒伐他汀钙临床干预治疗 1 个月后,Th1 细胞的比例与治疗前比较明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$);而 Th2 细胞的比例较治疗前升高。服用瑞舒伐他汀钙治疗 1 个月后,冠心病合并糖尿病患者外周血 Th1/Th2 细胞比例失衡情况得到了明显改善。瑞舒伐他汀钙可以抑制冠心病合并糖尿病患者体内过度激活的免疫反应,并起到减轻炎症反应的作用,从而延缓动脉粥样硬化的进展,改善冠心病合并糖尿病患者的预后,减少恶性心脏事件的发生。总之,通过本研究发现,瑞舒伐他汀治疗可有效地改善和逆转动脉粥样硬化中 Th1/Th2 细胞比例的失衡,有较强的免疫调节作用及抗炎作用,此可能为他汀类药物抗动脉粥样硬化的机制之一。

参 考 文 献

- [1] Chilton R, Wyatt J, Nandish S, et al. Cardiovascular comorbidities of type 2 diabetes mellitus: defining the potential of glucagonlike peptide-1-based therapies. *Am J Med*, 2011, 124: S35-53.
- [2] Jagannathan-Bogdan M, McDonnell ME, Shin H, et al. Elevated proinflammatory cytokine production by a skewed T cell compartment requires monocytes and promotes inflammation in type 2 diabetes. *J Immunol*, 2011, 186: 1162-1172.
- [3] Spite M, Serhan CN. Novel lipid mediators promote resolution of acute inflammation: impact of aspirin and statins. *Circ Res*, 2010, 107: 1170-1184.
- [4] Ng AC, Delgado V, Djaberi R, et al. Multimodality imaging in diabetic heart disease. *Curr Probl Cardiol*, 2011, 36: 9-47.
- [5] Nicholls SJ, Borgman M, Nissen SE, et al. Impact of statins on progression of atherosclerosis: rationale and design of SATURN (Study of Coronary Atheroma by Intravascular Ultrasound: Effect of Rosuvastatin versus Atorvastatin). *Curr Med Res Opin*, 2011, 27: 1119-1129.
- [6] Whitman SC, Ravisankar P, Daugherty A. Interferon-gamma deficiency exerts gender-specific effects on atherogenesis in ApoE^{-/-} mice. *Cytokine Res*, 2002, 22: 661-670.
- [7] Jones PH, Davidson MH, Stein EA, et al. Comparison of the efficacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses (STELLAR Trial). *Am J Cardiol*, 2003, 93: 152-160.
- [8] Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, et al. Effect of very high intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA*, 2006, 295: 1562-1565.
- [9] Gronros J, Wikstrom J, Brandt-Eliasson U, et al. Effects of rosuvastatin on cardiovascular morphology and function in an ApoE-knockout mouse model of atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295: H2046-2053.
- [10] Chalubinski M, Broncel M. Influence of statins on effector and regulatory immune mechanisms and their potential clinical relevance in treating autoimmune disorders. *Med Sci Monit*, 2010, 16: RA245-251.

(收稿日期: 2011-05-16)

(本文编辑: 张岚)

李晓燕,张华丽,韩淑芳,等.瑞舒伐他汀钙对冠心病合并糖尿病患者辅助性 T 细胞亚群的干预作用[J/CD].中华临床医师杂志:电子版, 2011, 5(13): 3712-3715.