

循环内皮细胞对心力衰竭患者左室心功能及长期预后评价的临床价值

陈文生 李广平 杨立明 孙淑娴 赵庆霞 张 宇 邸亚丽 纪 征

【摘要】 目的:探讨循环内皮细胞(circulating endothelial cells, CECs)在心力衰竭(心衰)患者左室功能及预后评价中的临床价值。 方法:入选 280 例明确诊断为心衰的患者(病例组)和 100 例表观健康人(对照组),检测研究对象的 CECs 计数值,通过超声心动图记录左室舒张末期容积指数(LVEDVI)、左室收缩末期容积指数(LVESVI)、左室心肌质量指数(LVMI)及左室射血分数(LVEF);分析 CECs 计数值和心功能参数的关联性;随访患者不良事件的发生情况,对不同 CECs 计数值分组的人群做生存分析。 结果:病例组的 CECs 计数值显著高于对照组,为 $(9\ 663 \pm 2\ 395)/\text{mL}$ 对 $(674 \pm 224)/\text{mL}$, $P < 0.01$ 。CECs 计数与 LVEF 呈负相关($r = -0.65$),与 LVEDVI($r = 0.85$)、LVESVI($r = 0.68$)、LVMI($r = 0.63$)呈正相关($P < 0.01$)。病例组中 CECs 计数高于均数组的患者再入院及死亡发生率高于 CECs 计数低于均数组的患者,CECs $\geq 9\ 663/\text{mL}$ 组患者的生存概率随时间的下降趋势大于 CECs $< 9\ 663/\text{mL}$ 组患者($\text{HR} = 1.84$, 95%CI: 1.26~2.67, $P < 0.01$)。 结论:心衰患者 CECs 计数值明显升高,CECs 计数值在评估心功能及不良事件发生风险方面具有参考价值。

【关键词】 心力衰竭;循环内皮细胞;心功能;生存分析

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2015.06.015

Clinical value of circulating endothelial cells in heart failure patients for heart function evaluation and outcome prediction CHEN Wensheng¹, LI Guangping², YANG Liming¹, SUN Shuxian¹, ZHAO Qingxia¹, ZHANG Yu¹, DI Yali¹, JI Zheng¹. 1. Cardiovascular Institute of Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, China; 2. Clinical Laboratory of Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, China

【Abstract】 Objective: To explore clinical value of circulating endothelial cells (CECs) for heart function evaluation and outcome prediction in heart failure (HF) patients. **Methods:** A total of 280 HF patients and 100 healthy people were enrolled and CECs were detected. Left ventricular end-diastolic volume index (LVEDVI), left ventricular end-systolic volume index (LVESVI), left ventricular mass index (LVMI) and left ventricular ejection fraction (LVEF) were calculated by ultrasonic examination, and Pearson's r for CECs with heart function indexes was analyzed. The occurrence of adverse events was followed up, and the survival analysis of the different CECs subgroups was made. **Results:** Number of CECs in HF patients was significant higher than that in healthy people ($9\ 663 \pm 2\ 395/\text{mL}$ vs. $674 \pm 224/\text{mL}$, $P < 0.01$). CECs number was negatively correlated with LVEF ($r = -0.65$), and positively correlated with LVEDVI ($r = 0.85$), LVESVI ($r = 0.68$) and LVMI ($r = 0.63$), $P < 0.01$. Re-admission

作者单位:063000 河北省唐山市唐山工人医院心内一科(陈文生,杨立明,赵庆霞,张宇,邸亚丽,纪征);
检验科(李广平)

通信作者:纪征,Email:jizheng999@163.com

and mortality rate in CECs \geq 9 663/mL subgroup were higher than those of CECs $<$ 9 663/mL subgroup. The survival curves were significantly different between the two groups (HR = 1.84, $P < 0.01$). The decline trend of probability of survival in CECs \geq 9 663/mL subgroup was greater than that in CECs $<$ 9 663/mL subgroup. **Conclusion:** CECs count is higher in HF patients than healthy subjects. CECs index could provide clinical reference value for HF patients for heart function evaluation and long term prediction.

【Key words】 Heart failure; Circulating endothelial cell; Heart function; Survival analysis

循环内皮细胞(circulating endothelial cells, CECs)是从血管壁脱落并进入血液循环中的成熟内皮细胞。研究表明,内皮损伤可以导致冠心病患者外周血中 CECs 数量明显升高^[1]。CECs 数量的增加能够反映血管损伤和功能障碍^[2]。心力衰竭(心衰)是各种心脏结构或功能性疾病导致心室充盈和(或)射血能力受损而引起的一组综合征^[3]。本研究测定心衰患者 CECs 计数水平,探索 CECs 计数和左室心功能各项指标的关联性,并通过随访观察 CECs 计数指标在心衰患者预后风险评估方面的临床价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

入选 2013 年 1 月至 2014 年 10 月在唐山市工人医院心内科确诊为心衰的患者 280 例为病例组,将同期体检的 100 例健康者作为对照组。依据 Framingham 诊断标准、临床表现、心脏超声检查、胸部 X 线等综合诊断病例组患者为心衰,其中包括急性心肌梗死(AMI)患者 87 例、肥厚型心肌病患者 32 例,其余患者均有长期冠心病和(或)高血压病史。对照组人群的常规体检结果、心电图、心脏超声结果均排除冠心病,且经问诊明确无其他心脏病史。入选的患者及健康体检者均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 左室心功能超声检测 对所有入选者均使用多普勒实时超声诊断仪(ATL-4 型 LOGIQ 400, 美国)行超声检查,探头频率 2.5 MHz。患者取左侧卧位,采取心尖标准四腔切面,测定左室舒张末期和收缩末期容积,经体表面积校正,计算并记录左室舒张末期容积指数(LVEDVI)、左室收缩末期容积指数(LVESVI)、左室心肌质量指数(LVMI)及左室射血分数(LVEF)。

1.2.2 样本采集及 CECs 检测 根据 CECs 免疫表型,利用荧光染料标记 CD31 单克隆抗体(CD31-

FITC 抗体)进行计数^[4]。采集入选患者及健康对照者的静脉血 5 mL,300 g 离心 10 min 收集细胞,用 100 μ L PBS 重悬细胞,将每个样品平均分为两份,一份加入 CD31-FITC 抗体,另一份作为阴性对照加入 IgG 抗体,混匀后在 4 $^{\circ}$ C 冰箱中避光孵育 10 min;用 PBS 洗细胞,300 g 离心 10 min,去掉上清液,用 500 μ L PBS 重悬细胞。样本制备完毕后通过流式细胞仪(Becton&Dickinson 公司,美国)测量 CECs 细胞数,至少需统计 1 万个细胞。

1.2.3 随访 对 280 例心衰患者进行随访,观察并记录主要不良事件,包括反复心绞痛发作、心脑血管意外、心脏复合事件、入院或再次入院、死亡等。随访时间为 12~25 个月,平均随访(18.7 \pm 3.80)个月,无失访记录。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。定量数据以均值 \pm 标准差表示,组间比较采用 Student t 检验。定性数据以频数和/或百分数表示,组间比较采用 Chi-square 检验,必要时采用非参数统计分析方法 Mann-Whitney 或 McNemar 检验。采用 Pearson 相关分析定量数据间的相关性。对患者随访数据做生存分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 CECs 计数及左室心功能参数比较

病例组和对照组在性别、年龄、体质指数(BMI)、吸烟等影响因素方面无差异。病例组的 CECs 计数均值显著高于健康对照组($P < 0.01$);病例组与对照组的左室心功能参数各项指标均存在显著差异($P < 0.01$,见表 1)。Pearson 相关分析显示,CECs 数目与 LVEF 呈负相关($r = -0.65$),与 LVEDVI($r = 0.85$)、LVESVI($r = 0.68$)、LVMI($r = 0.63$)分别呈正相关($P < 0.01$)。

表 1 两组患者临床资料的比较

	病例组 (n = 280)	对照组 (n = 100)	P 值
年龄/岁	64. 6 ± 9. 0	62. 8 ± 10. 5	0. 1
男性/例(%)	168 (60. 0)	53 (53. 0)	0. 3
BMI/kg · m ⁻²	25. 4 ± 2. 3	25. 3 ± 2. 7	0. 7
吸烟/例(%)	137 (48. 9)	44 (44. 0)	0. 5
CECs/个 · mL ⁻¹	9 663 ± 2 395	674 ± 224	<0. 01
LVEF/%	35. 8 ± 9. 0	57. 5 ± 9. 1	<0. 01
LVEDVI/mL · m ⁻²	61. 4 ± 4. 8	45. 3 ± 3. 1	<0. 01
LVESVI/mL · m ⁻²	32. 0 ± 3. 3	25. 3 ± 3. 2	<0. 01
LVMI/g · m ⁻²	125. 7 ± 8. 9	106. 9 ± 12. 2	<0. 01

2.2 病例组随访结果

以病例组 CECs 计数均值 9 663/mL 为界,将心衰患者分为两组,CECs≥9 663/mL 组和 CECs<9 663/mL 组。随访显示,CECs≥9 663/mL 组患者入院/再次入院及死亡发生率高于 CECs<9 663/mL 组(P<0. 05,见表 2)。

表 2 病例组按 CECs 计数分组随访情况的比较

	CECs≥9 663/mL 组 (n = 105)	CECs<9 663/mL 组 (n = 175)	P 值
随访时间/月	20. 1 ± 3. 9	21. 8 ± 3. 7	0. 20
不良结局/例(%)			
反复心绞痛发作	11 (10. 5)	15 (8. 6)	0. 80
心脑血管意外	1 (1. 0)	0 (0)	0. 80
心脏复合事件	7 (6. 7)	10 (5. 7)	0. 90
入院或再次入院	20 (19. 0)	14 (8. 0)	0. 01
死亡	21 (20. 0)	18 (10. 3)	0. 04

生存分析显示,CECs≥9 663/mL 组患者平均生存时间为 20. 12 个月(95%CI :19. 25~21. 00),CECs<9 663/mL 组患者平均生存时间为 21. 77 个月(95%CI :21. 06~ 22. 47)。CECs≥9 663/mL 组患者的生存概率随生存时间的下降趋势大于 CECs<9 663/mL 组患者(HR = 1. 84, 95%CI: 1. 26~ 2. 67, P<0. 01,见图 1)。

3 讨论

Gaynor 等^[5]发现大多数动物经过内毒素处理刺激后,外周血中可观察到 CECs。外周血中 CECs 计数水平与血管损伤有关。研究发现,CECs 计数水平与动脉粥样硬化中血管损伤相关^[6]。对肾病患者的研究发现,CECs 细胞计数与血管事件相关^[7]。

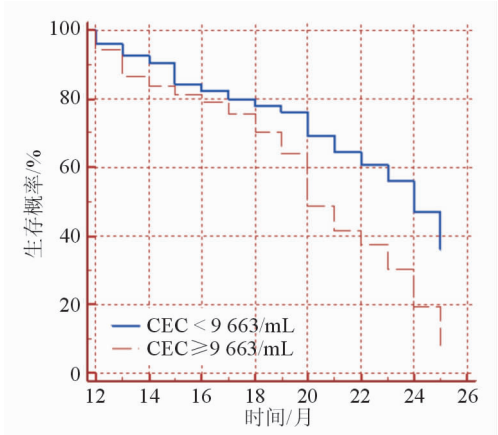


图 1 病例组不同 CECs 计数组间生存分析曲线图

另外,对冠心病、肾衰竭及肿瘤等的研究中都有类似的结论^[8-14]。CECs 计数水平较高提示患者血管损伤的程度较为严重^[15]。

研究显示,心衰患者 CECs 水平显著高于对照组,且急性期心衰患者 CECs 水平显著高于稳定期患者^[16]。本研究发现,心衰患者 CECs 计数均值明显高于健康对照组。这种数据特征对辅助诊断具有很高的临床实践意义。LVEF 和 LVEDVI 均是心衰诊断的重要指标^[17-18]。本研究中 CECs 与 LVEF 负相关,与 LVEDVI, LVESVI 和 LVMI 正相关。随访发现,病例组内 CECs 计数较高的患者不良事件发生率高于 CECs 计数较低的患者,Kplan-Meier 的生存曲线显示,CECs 计数较高的患者生存概率随时间延长,下降趋势更明显。

本研究在心衰人群中探讨了 CECs 计数与心功能及不良事件的相关性及风险预测价值,同时测定了健康人群 CECs 计数均值,也为临床实践建立诊断阈值提供了参考。由于方法学上检测 CECs 计数值存在一定的误差,在后续研究中,我们将扩大健康人群的样本量,优化年龄分布,以期获得更为准确的临床诊断阈值。

参 考 文 献

[1] 于世勇,黄 岚,宋耀明,等. 心绞痛患者冠状动脉内皮损伤及意义[J]. 中华内科杂志, 2003, 42(7):473-475.

[2] Mehmet K, Richards HB, Azra B, et al. Circulating endothelial cells are associated with future vascular events in hemodialysis patients [J]. Kidney Int, 2005, 67 (3): 1078-1083.

[3] 苏 瑶,魏 玲,卢国良,等. 老年慢性心力衰竭的多病因性及心衰类型分析[J]. 中国老年保健医学, 2010, 20(3):

- 259-261.
- [4] 李宏伟, 迟 喧, 修瑞娟. 一种全新的检测循环内皮细胞的方法——流式细胞仪法[J]. 中国微循环, 1999, 3(4):239.
- [5] Gaynor E, Bouvier CA, Spaet TH. Circulating endothelial cells in endotoxin-treated rabbits[J]. Clin Res, 1968, 16: 535-543.
- [6] Damani S, Bacconi A, Libiger O, et al. Characterization of circulating endothelial cells in acute myocardial infarction[J]. Sci Transl Med, 2012, 4(126):1618-1619.
- [7] Mehmet K, Richards HB, Azra B, et al. Circulating endothelial cells are associated with future vascular events in hemodialysis patients. [J]. Kidney Int, 2005, 67 (3): 1078-1083.
- [8] 方玉强, 黄 岚, 李爱民, 等. 循环内皮脂酶阳性细胞比例与超敏 C-反应蛋白在冠心病患者临床预后中的作用[J]. 中国危重病急救医学, 2007, 19(11):644-646.
- [9] Nicolas A, Guérin AP, Alain T, et al. Predictive value of circulating endothelial microparticles for cardiovascular mortality in end-stage renal failure: a pilot study[J]. Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(5):1873-1880.
- [10] Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. [J]. Circ Res, 2001, 89(1):E1-E7.
- [11] Bertolini F, Shaked Y, Mancuso P, et al. The multifaceted circulating endothelial cell in cancer: towards marker and target identification [J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6 (36): 835-845.
- [12] Ilie M, Long E, Hofman V, et al. Clinical value of circulating endothelial cells and of soluble CD146 levels in patients undergoing surgery for non-small cell lung cancer [J]. Br J Cancer, 2014, 110(5):1236-1243.
- [13] Smadja DM, Gaussem P, Mauge L, et al. Circulating endothelial cells: a new candidate biomarker of irreversible pulmonary hypertension secondary to congenital heart disease [J]. Circulation, 2009, 119(3):374-381.
- [14] Goon PK, Lip GY, Boos CJ, et al. Circulating endothelial cells, endothelial progenitor cells, and endothelial microparticles in cancer[J]. Neoplasia, 2006, 8(8):79-88.
- [15] Li C, Wu Q, Liu B, et al. Detection and validation of circulating endothelial cells, a blood-based diagnostic marker of acute myocardial infarction [J]. Plos One, 2013, 8 (3):e58478.
- [16] Martínez-Sales V, Sánchez-Lázaro I, Vila V, et al. Circulating endothelial cells in patients with heart failure and left ventricular dysfunction[J]. Dis Markers, 2011, 31(2):75-82.
- [17] 马丙鑫, 王建华. 超声心动图评价左心室功能的研究进展 [J]. 心血管病学进展, 2007, 28(5):812-815.
- [18] 连 敏, 孙育民, 王 骏. 心房在射血分数保留心力衰竭中的作用[J]. 国际心血管病杂志, 2014, 41(1):30-32.

(收稿:2015-04-29 修回:2015-09-25)

(本文编辑:梁英超)

