

# 冠心病患者外周血单核细胞钾离子通道表达及辛伐他汀的调控作用<sup>△</sup>

王韶屏<sup>1\*</sup>, 游莉<sup>2</sup>, 李世英<sup>1</sup>, 王健<sup>1</sup>, 杨红<sup>1</sup>, 程姝娟<sup>1#</sup> (1. 首都医科大学附属北京安贞医院心内科/北京市心血管病研究所, 北京 100029; 2. 西南大学医院, 重庆 400715)

中图分类号 R654.4; Q43; R244 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)20-2793-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.20.19

**摘要** 目的: 探讨冠心病患者外周血电压依赖性钾离子通道(KV1.3)和钙离子激活钾通道(KCa3.1)的表达, 以及辛伐他汀对其的调控作用。方法: 选取冠心病患者20例以及经皮冠脉造影排除冠心病但具有冠心病相关危险因素的对照组患者8例, 以实时定量聚合酶链反应(RT-PCR)分别检测两组患者外周血单核细胞KV1.3 mRNA和KCa3.1 mRNA的表达, 以及冠心病患者服用辛伐他汀1个月后外周血单核细胞KV1.3 mRNA和KCa3.1 mRNA的表达。结果: 与对照组比较, 冠心病患者外周血单核细胞KV1.3 mRNA的表达水平 $[(1.54 \pm 0.08) \text{ vs. } (0.77 \pm 0.06), P < 0.01]$ 和KCa3.1 mRNA的表达水平 $[(1.32 \pm 0.08) \text{ vs. } (1.06 \pm 0.06), P < 0.05]$ 均有显著增高。冠心病患者KV1.3 mRNA的表达水平与血浆C反应蛋白(CRP)浓度显著相关 $(P = 0.003)$ , 并在患者服用辛伐他汀1个月后表达降低 $[(1.54 \pm 0.08) \text{ vs. } (1.14 \pm 0.05), P < 0.01]$ 。而KCa3.1 mRNA的表达水平与血浆CRP浓度不相关, 辛伐他汀治疗1个月后其表达也无显著变化。结论: 外周血单核细胞KV1.3和KCa3.1可能是冠心病新的标记物, 调节外周血单核细胞KV1.3的表达可能是他汀类药物多效性的机制之一。

**关键词** 冠心病; 单核细胞; 电压依赖性钾离子通道; 钙离子激活钾通道; 辛伐他汀; 调控作用

## Expression of Potassium Channels in Peripheral Monocyte from Patients with Coronary Artery Disease and the Regulation of Simvastatin

WANG Shao-ping<sup>1</sup>, YOU Li<sup>2</sup>, LI Shi-ying<sup>1</sup>, WANG Jian<sup>1</sup>, YANG Hong<sup>1</sup>, CHENG Shu-juan<sup>1</sup> (1. Dept. of Cardiology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University & Beijing Institute of Heart, Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing 100029, China; 2. The Affiliated Hospital of Southwest University, Chongqing 400715, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To discuss the expression of voltage-gated potassium channel (KV1.3) and calcium activated potassium channel (KCa3.1) in peripheral monocyte from patients with coronary artery disease (CAD) and the regulatory effect of simvastatin. METHODS: 20 patients with CAD and 8 control patients without CAD diagnosed by percutaneous coronary intervention but correlated to risk factor of CAD were enrolled. The expression of KV1.3 mRNA and KCa3.1 mRNA were measured by RT-PCR in 2 groups, and those of CAD group were measured by RT-PCR after 1 month of simvastatin treatment. RESULTS: Compared with control group, mRNA expression of KV1.3  $[(1.54 \pm 0.08) \text{ vs. } (0.77 \pm 0.06), P < 0.01]$  and KCa3.1  $[(1.32 \pm 0.08) \text{ vs. } (1.06 \pm 0.06), P < 0.05]$  were significantly increased in CAD group. mRNA expression of KV1.3 was significantly correlated to the concentration of C reactive protein (CRP)  $(P = 0.003)$  and was decreased by simvastatin for one month  $[(1.54 \pm 0.08) \text{ vs. } (1.14 \pm 0.05), P < 0.01]$ . However, mRNA expression of KCa3.1 was not correlated to the concentration of CRP and simvastatin didn't affect its expression. CONCLUSIONS: KV1.3 and KCa3.1 in peripheral monocytes may be two new markers of CAD. Regulating KV1.3 may be one of mechanisms of statin's pleiotropic effect.

**KEYWORDS** Coronary artery disease; Monocyte; Voltage-gated potassium channel; Calcium activated potassium channel; Simvastatin; Regulation

血液中的单核细胞迁移并在动脉内皮下聚集, 进而转化为巨噬细胞, 释放大量炎症因子是导致动脉粥样硬化早期

形成的关键步骤之一<sup>[1]</sup>。人外周血单核细胞存在电压依赖性钾离子通道(KV1.3)和钙离子激活钾通道(KCa3.1)的表达。基础研究发现, 特异性地阻滞KV1.3和/或KCa3.1可完全阻滞

### 本栏目协办

上海交通大学医学院附属新华医院  
国药控股凌云生物医药(上海)有限公司

△ 基金项目: 国家自然科学基金(青年科学基金)资助项目(No.81000131); 北京市自然科学基金资助项目(No.7122058)

\* 主治医师, 博士。研究方向: 起搏电生理、冠心病。电话: 010-64456541。E-mail: physicianwsp@sina.com

# 通信作者: 主任医师, 博士。研究方向: 起搏电生理、冠心病。电话: 010-64456541。E-mail: cheng0413@126.com

单核细胞趋化因子诱导的细胞迁移,并减少相关炎症因子的分泌<sup>[2]</sup>,但目前尚无确切的研究证实单核细胞钾离子通道表达水平和冠心病的关系。他汀类药物除了其明确的降脂作用外,还具有抑制单核细胞迁移和炎症因子分泌、减少机体非特异性炎症等作用<sup>[3]</sup>。但他汀类药物的生物多效性机制尚不明确<sup>[4-5]</sup>。本研究主要探讨冠心病患者外周血单核细胞钾离子通道的表达,以及辛伐他汀对其的调控作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取2013年8—10月北京安贞医院(以下简称“我院”)心内科收治的冠心病患者20例作为冠心病组,以及经皮冠脉造影为阴性、排除冠心病但具有冠心病相关危险因素的患者8例作为对照组。入选患者冠心病诊断标准:冠状动脉左主干、左前降支、左回旋支及右冠状动脉中至少有1支血管狭窄程度 $\geq 50\%$ 。排除标准:2周内急性慢性感染、自身免疫性疾病、恶性肿瘤、严重肝脏疾病、严重肾脏疾病、心肌炎、心肌病、严重心力衰竭[美国纽约心脏病协会(NYHA)分级IV级]以及近1个月内服用他汀类药物服用史者。本试验方案经我院医学伦理委员会审核通过,患者均知情同意并签署知情同意书。20例冠心病患者中,包括稳定型心绞痛患者6例、不稳定型心绞痛患者14名,其中非ST段抬高型心肌梗死患者6例。研究对象的一般资料见表1(表中,1 mm Hg=133.322 Pa)。由表1可知,冠心病组患者的血浆C反应蛋白(CRP)浓度明显高于对照组,差异有统计学意义( $P=0.000$ ),其余一般资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

表1 研究对象的一般资料( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 General information of subjects( $\bar{x} \pm s$ )

一般资料	对照组(n=8)	冠心病组(n=20)	P
年龄,岁	59 $\pm$ 14	63 $\pm$ 17	0.435
男性,例(%)	5(63)	13(65)	0.594
体质量指数,kg/m <sup>2</sup>	26 $\pm$ 3	27 $\pm$ 4	0.567
吸烟者,例(%)	5(63)	12(60)	0.388
收缩压,mmHg	141 $\pm$ 19	151 $\pm$ 17	0.615
舒张压,mmHg	82 $\pm$ 12	82 $\pm$ 15	0.470
糖尿病患者,例(%)	4(50)	9(45)	0.315
空腹血糖,mg/dl	110 $\pm$ 30	120 $\pm$ 46	0.256
肾小球滤过率,ml/(min $\cdot$ 1.73 m <sup>2</sup> )	85 $\pm$ 30	80 $\pm$ 36	0.734
总胆固醇,mg/dl	188 $\pm$ 35	190 $\pm$ 52	0.796
甘油三酯,mg/dl	158 $\pm$ 118	168 $\pm$ 125	0.658
CRP,mg/L	2.18 $\pm$ 0.41	12.30 $\pm$ 1.89	0.000

### 1.2 用药方法

入院后所有患者均服用辛伐他汀(杭州默沙东制药有限公司,国药准字H19990366)40 mg,每晚1次,冠心病组患者至少服用1个月,对照组患者根据其冠心病危险因素决定出院后是否长期服用。所有患者均服用拜阿司匹林和波立维双联抗血小板药物。

### 1.3 检测方法

所有患者于入院第2天空腹抽取肘静脉血5 ml,以200 $\times$ g离心20 min获取沉淀细胞,以淋巴细胞分离液(北京金诚维客科技有限公司)采用密度梯度离心法(200 $\times$ g离心20 min)获取单核细胞。采用实时定量聚合酶链反应(RT-PCR),按TRIzol试剂盒(北京金诚维客科技有限公司)操作方法提取单核细胞总RNA,按M-MLV逆转录酶说明书合成cDNA,于4 $^{\circ}$ C保存。

各引物序列分别为KV1.3: Forward 5' CGGTTCTTCGCTT-GTCCTAG3', Reverse 5' CTGGCAATGCGATGGTCAAG3'; KCa3.1: Forward 5' TGGACCCACAGAA-GAATCAGG3', Reverse 5' CAGCAGCACAGCAGAAAAG3'。以18 s rRNA为参照,采用 $\Delta\Delta$ CT方法计算各基因的相对表达值。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 18.0软件包进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用t检验,多组间比较选用方差分析及SNK法;不符合正态分布的计量资料组间比较采用非参数检验。计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验。计算相关系数时,服从双变量正态分布的计量资料采用Pearson检验,不服从双变量正态分布的计量资料采用Spearman检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 单核细胞KV1.3 mRNA和KCa3.1 mRNA的表达

收集入选患者外周血单核细胞,采用RT-PCR检测KV1.3 mRNA和KCa3.1 mRNA的表达水平。结果发现,冠心病组患者外周血单核细胞KV1.3 mRNA的表达水平(1.54 $\pm$ 0.08)明显高于对照组(0.77 $\pm$ 0.06),差异有统计学意义( $P<0.01$ )(图1A)。冠心病患者外周血单核细胞KCa3.1 mRNA的表达水平(1.32 $\pm$ 0.08)也明显高于对照组(1.06 $\pm$ 0.06),差异有统计学意义( $P<0.05$ )(图1B)。

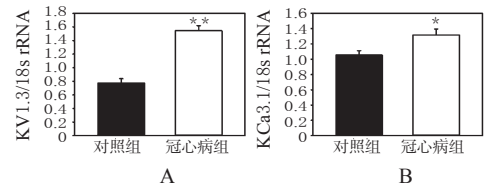


图1 两组患者外周血单核细胞KV1.3 mRNA和KCa3.1 mRNA的表达

A. KV1.3 mRNA; B. KCa3.1 mRNA; 与对照组比较, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$

Fig 1 mRNA expression of KV1.3 and KCa3.1 in peripheral monocyte from patients of 2 groups

A. KV1.3 mRNA; B. KCa3.1 mRNA; compared to control group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$

### 2.2 KV1.3 mRNA和KCa3.1 mRNA表达水平与CRP的相关性

进一步分析冠心病患者外周血单核细胞KV1.3 mRNA和KCa3.1 mRNA表达水平与血浆CRP的相关性可得, KV1.3 mRNA的表达水平与血浆CRP浓度具有显著的相关性( $P=0.003$ ), Pearson相关系数为0.637(图2A); KCa3.1 mRNA的表达水平和血浆CRP浓度无相关性( $P=0.652$ )(图2B)。

### 2.3 辛伐他汀对KV1.3 mRNA和KCa3.1 mRNA表达水平的调控

冠心病患者接受辛伐他汀每日40 mg治疗1个月后,血浆CRP浓度从治疗前的(12.30 $\pm$ 1.89)mg/L下降至(8.73 $\pm$ 5.00)mg/L,差异有统计学意义( $P=0.003$ )。进一步分析外周血单核细胞KV1.3 mRNA和KCa3.1 mRNA表达水平的变化发现, KV1.3 mRNA表达水平在辛伐他汀治疗后较治疗前明显降低[(1.54 $\pm$ 0.08)vs.(1.14 $\pm$ 0.05)],差异有统计学意义( $P<0.01$ )(图3A);而KCa3.1 mRNA表达水平在辛伐他汀治疗前后无明显变化[(1.32 $\pm$ 0.08)vs.(1.25 $\pm$ 0.07),  $P=0.141$ ](图3B)。

## 3 讨论

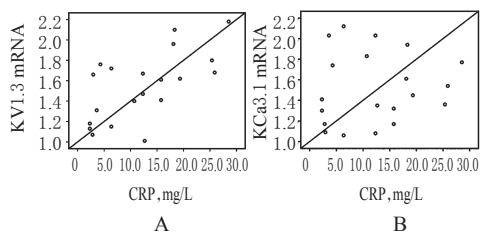


图2 冠心病患者外周血单核细胞 KV1.3 mRNA 和 KCa3.1 mRNA 表达水平与血浆 CRP 浓度的 Pearson 相关性

A. KV1.3 mRNA; B. KCa3.1 mRNA

Fig 2 Pearson association of mRNA expression of KV1.3 and KCa3.1 in peripheral monocyte from patients with coronary artery disease with plasma concentration of CRP

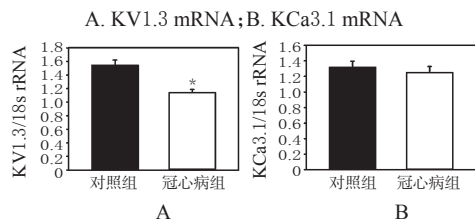


图3 冠心病患者经辛伐他汀治疗1个月外周血单核细胞 KV1.3 mRNA 和 KCa3.1 mRNA 表达水平的变化

A. KV1.3 mRNA; B. KCa3.1 mRNA; 与治疗前比较, \* $P < 0.01$

Fig 3 mRNA expression of KV1.3 and KCa3.1 in peripheral monocyte from patients with coronary artery disease after one month of simvastatin treatment

A. KV1.3 mRNA; B. KCa3.1 mRNA; compared to before treatment, \* $P < 0.01$

冠心病是世界范围内严重威胁人类健康的重要公共卫生问题。单核细胞的迁移及其炎症因子的分泌是动脉粥样硬化发生、发展的关键步骤<sup>[1]</sup>。钾离子通道是细胞膜上的一种特殊整合蛋白在脂质双分子层膜上构成具有高度选择性的亲水性孔道,允许适当大小和电荷的离子以被动转运的方式通过。离子通道广泛表达于可兴奋细胞,直接影响细胞的兴奋性。非可兴奋细胞表达的离子通道主要是多种类型的钾离子通道,与肿瘤细胞的迁移<sup>[6]</sup>、T淋巴细胞的活化<sup>[7]</sup>、骨髓干细胞的增殖和凋亡密切相关<sup>[8-9]</sup>。人外周血单核细胞中存在多种离子通道的表达,并与单核细胞的迁移和炎症因子的分泌密切相关。本研究以冠脉造影确认的冠心病患者为研究对象,以冠脉造影阴性、排除冠心病但具有冠心病相关危险因素的患者为对照,发现冠心病患者外周血单核细胞 KV1.3 和 KCa3.1 的表达水平较对照有明显增高(图1),提示该两种通道分子可能是冠心病的新标记物。

他汀类药物的多效性包括降低全身非特异性的炎症水平、抑制单核细胞的迁移和炎症因子的分泌等,但其作用机制尚不明确<sup>[3-5]</sup>。有观察发现,他汀类药物可显著降低冠心病患者外周血单核细胞黏附分子和促炎因子的表达<sup>[10]</sup>。本研究发现,冠心病患者接受辛伐他汀治疗1个月后,在血浆 CRP 浓度降低的同时,外周血单核细胞 KV1.3 的表达也显著降低(图

3A),且 KV1.3 的表达水平与血浆 CRP 浓度具有显著的相关性(图2A),提示 KV1.3 有可能是他汀类药物减少外周血单核细胞炎症因子分泌的一个作用靶点。而 KCa3.1 与血浆 CRP 浓度无相关性(图2B),辛伐他汀亦不改变其在单核细胞中的表达(图3B),提示 KCa3.1 可能不是他汀类药物的作用靶点。

综上所述,外周血单核细胞 KV1.3 和 KCa3.1 可能是冠心病新的标记物,其与冠心病的严重性和临床预后有待进一步研究。调节外周血单核细胞 KV1.3 的表达可能是他汀类药物多效性的机制之一,但 KV1.3 介导细胞迁移和炎症因子分泌等确切作用机制有待进一步研究。

### 参考文献

- [1] Hilgendorf I, Swirski FK, Robbins CS. Monocyte fate in atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(2):272.
- [2] Schilling T, Eder C. Lysophosphatidylcholine-and MCP-1-induced chemotaxis of monocytes requires potassium channel activity[J]. *Pflugers Arch*, 2009, 459(1):71.
- [3] Han KH, Ryu J, Hong KH, et al. HMG-CoA reductase inhibition reduces monocyte CC chemokine receptor 2 expression and monocyte chemoattractant protein-1-mediated monocyte recruitment in vivo[J]. *Circulation*, 2005, 111(11):1439.
- [4] 曾勇,杨贵芳,谭超,等. 他汀类药物干预高血压病炎症反应的疗效的 Meta 分析[J]. *中国药房*, 2015, 26(3):339.
- [5] 赵文萃,张艳萍,房颖. 辛伐他汀治疗急性心肌梗死的作用机制研究[J]. *中国药房*, 2015, 26(6):763.
- [6] Bielanska J, Hernandez-Losa J, Perez-Verdaguer M, et al. Voltage-dependent potassium channels KV1.3 and KV1.5 in human cancer[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2009, 9(8):904.
- [7] Beeton C, Wulff H, Barbaria J, et al. Selective blockade of T lymphocyte K (+) channels ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis, a model for multiple sclerosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24):13942.
- [8] Wang S, Wang JA, Li J, et al. Voltage-dependent potassium channels are involved in staurosporine-induced apoptosis of rat mesenchymal stem cells[J]. *Cell Biol Int*, 2008, 32(2):312.
- [9] Wang SP, Wang JA, Luo RH, et al. Potassium channel currents in rat mesenchymal stem cells and their possible roles in cell proliferation[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(9):1077.
- [10] Walter T, Suselbeck T, Borggrefe M, et al. Effect of atorvastatin on cellular adhesion molecules on leukocytes in patients with normocholesterolemic coronary artery disease[J]. *In Vivo*, 2010, 24(2):189.

(收稿日期:2015-04-22 修回日期:2015-06-02)

(编辑:胡晓霖)