



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2022.03.016

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2022.03.016

· 临床研究 ·

# 心外膜脂肪中巨噬细胞对快速心房起搏犬心房 KCa3.1 及心房颤动易感性的影响

曹真 刘弟世闻 付韞韬 陈慧宇 赵庆彦

**【摘要】 目的** 探讨心外膜脂肪中巨噬细胞对快速心房起搏犬心房 KCa3.1 及心房颤动(简称房颤)易感性的影响。**方法** 将 18 只比格犬随机分为空白组、起搏组和清除组,每组各 6 只,清除组犬在右肺静脉-左心房脂肪垫、下腔静脉-左心房脂肪垫与上腔静脉-主动脉根部脂肪垫注射氯膦酸二钠脂质体(5 mg/ml,每个部位 0.5 ml)以清除巨噬细胞,起搏组犬在相同部位注射等剂量磷酸盐缓冲溶液(PBS)脂质体作为对照。起搏组和清除组犬接受快速心房起搏(600 次/min,持续 7 h),记录左右心房的心房有效不应期(AERP)、房颤诱发次数和房颤持续时间。采用免疫荧光法检测心外膜脂肪中巨噬细胞浸润水平,采用蛋白质免疫印迹法检测心外膜脂肪组织中 CD68 及其毗邻心房肌组织中血管紧张素 II 受体-1(AT1R)、磷酸化 P38 丝裂原活化蛋白激酶(p-P38MAPK)、c-Fos、c-Jun、KCa3.1 表达水平。**结果** 起搏组犬左心房和右心房 1、3、5、7 h 的 AERP 均短于 0 h ( $P < 0.05$ )。清除组犬左心房和右心房 5、7 h 的 AERP 均短于 0 h ( $P < 0.05$ )。清除组犬左心房 1、3、5、7 h 的 AERP 均长于起搏组同一时间,清除组犬右心房 3、5、7 h 的 AERP 均长于起搏组同一时间( $P < 0.05$ )。清除组犬房颤诱发次数和房颤持续时间均低于起搏组( $P < 0.001$  或  $P < 0.05$ )。3 组犬心外膜脂肪邻近心房肌组织中 AT1R、p-P38MAPK、c-Fos、c-Jun 及 KCa3.1 表达水平比较差异均有统计学意义( $P < 0.001$ ),其中起搏组高于空白组,清除组低于起搏组( $P < 0.05$ )。**结论** 心房快速起搏导致心外膜脂肪组织巨噬细胞浸润增多,可能通过调控 AT1R/P38MAPK/AP-1 信号通路上调相邻心房 KCa3.1 的表达,从而增加房颤易感性。

**【关键词】** 心房颤动; 巨噬细胞; KCa3.1; 心外膜脂肪**【中图分类号】** R541.7**【文献标识码】** A

**Effect of macrophages in epicardial fat on atrial KCa3.1 channels and vulnerability to atrial fibrillation in dogs with rapid atrial pacing** Cao Zhen, Liu Dishu, Fu Yuntao, Chen Huiyu, Zhao Qingyan. Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of macrophages in epicardial fat on atrial KCa3.1 channels and vulnerability to atrial fibrillation (AF) in dogs with rapid atrial pacing. **Methods** Eighteen beagle dogs were randomly divided into blank group, pacing group and clodronate liposomes group (CL group), with 6 dogs in each group. To deplete macrophage, clodronate liposomes (5 mg/ml, 1.5 ml, 0.5 ml per injection site) were equally injected into right pulmonary vein-left atrial fat pad, inferior vena cava-left atrial fat pad and superior vena cava-aortic root fat pad in dogs of CL group, and dogs of pacing group were injected with an equal dose of the negative control phosphate buffer solution (PBS)-liposome into the same sites as in the CL group. Dogs in the pacing group and CL group performed rapid atrial pacing for 7 h (600 beats/min). Atrial effective refractory period (AERP), frequency of AF induced and the duration of AF were measured. Level of macrophage infiltration in epicardial fat was detected by immunofluorescence, CD68 in epicardial fat tissue and expression levels of angiotensin II receptor-1 (AT1R), phosphorylated-P38 mitogen-activated protein kinase (p-P38MAPK), c-Fos, c-Jun, KCa3.1 in atrial tissue adjacent to epicardial fat were detected by western blotting. **Results** AERP of the left and right atrium at 1, 3, 5, 7 h were all shorter than those at 0 h in pacing group ( $P < 0.05$ ). AERP of the left and right atrium at 5 and 7 h were all shorter than those at 0 h in CL group ( $P < 0.05$ ). AERP of the left atrium at 1, 3, 5, 7 h in CL group were all longer than those at the same time in pacing group, and AERP of the right atrium at 3, 5, 7 h in CL group were all longer than those at the same time in pacing group ( $P < 0.05$ ). Frequency of AF

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81970277)

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院心内科 武汉大学心血管病研究所 心血管病湖北省重点实验室

通讯作者:赵庆彦;E-mail:ruyan71@163.com

induced and duration of AF in CL group were all lower than those in pacing group ( $P < 0.001$ ). There were significant differences of expression levels of AT1R, p-P38MAPK, c-Fos, c-Jun and KCa3.1 in atrial tissue adjacent to epicardial fat among 3 groups, and above indexes in pacing group were higher than those in blank group, above indexes in CL group were higher than those in pacing group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Rapid atrial pacing increases the infiltration of macrophages in epicardial fat and may upregulate the expression of KCa3.1 channels in adjacent atrial tissue by regulating AT1R/P38MAPK/AP-1 signal pathway, thus increasing the vulnerability to AF.

**[Key words]** Atrial fibrillation; Epicardial adipose tissue; Macrophage; KCa3.1 channels

心外膜脂肪是一种代谢活跃的内分泌脂肪库,由冠状动脉分支供血,位于心肌和内脏心包之间,与心肌直接毗邻。有研究发现心外膜脂肪为心肌炎症及纤维化因子旁分泌调节的来源,可影响心房重构的产生<sup>[14]</sup>。临床上也发现心房颤动(简称房颤)患者心外膜脂肪的高炎症活性<sup>[5]</sup>,心外膜脂肪的炎症活性与巨噬细胞浸润程度一致<sup>[6]</sup>。巨噬细胞释放多种炎症和纤维化因子,在房颤的电重构和结构重构中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。与非房颤患者相比,房颤患者心外膜脂肪标本中存在巨噬细胞大量聚集,提示房颤的病理生理机制可能与心外膜脂肪中的巨噬细胞相关<sup>[3,8]</sup>。KCa3.1 是一种由 KCNN4 基因编码的中电导钙离子激活钾通道,在心肌细胞、成纤维细胞和巨噬细胞等多种细胞表面表达,参与如心肌细胞自律性、心肌成纤维细胞增殖及巨噬细胞迁移极化等多种功能的调节<sup>[9-11]</sup>。我们在前期研究中发现快速心房起搏犬心房中 KCa3.1 表达上调,抑制 KCa3.1 可明显降低快速心房起搏导致的房颤易感性增加<sup>[12]</sup>,但在房颤发生过程中 KCa3.1 表达上调是否与心外膜脂肪中巨噬细胞浸润相关尚不清楚。本研究通过快速心房起搏探讨犬心外膜脂肪局部巨噬细胞浸润对相邻心房肌组织中 KCa3.1 及房颤易感性的影响。

## 材料与方法

1. 材料:比格犬[湖北逸挚诚生物科技有限公司,许可证号:SCXK(鄂)2016-0020,体质量 8~10kg]、戊巴比妥钠(Aspen,中国)、氯膦酸二钠脂质体(Vrije Universiteit Amsterdam,荷兰)、磷酸盐缓冲溶液(PBS)脂质体(Vrije Universiteit Amsterdam,荷兰)、多极电极导管(Biosense-Webster,加拿大)、计算机电生理系统 Lead7000(晋江公司,中国)、HRP 标记山羊抗小鼠二抗 CY3(Aspen,中国)、4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI, Aspen,中国)、BCA 蛋白质浓度测定试剂盒(Aspen,中国),一抗均购自于 Aspen,包括 CD68、血管紧张素 II 受体-1(AT1R)、磷酸化 P38 丝裂原活化蛋白激酶(p-P38MAPK)、c-Fos、c-Jun 及 KCa3.1。

## 2. 方法

(1)动物模型制备:18 只比格犬饲养于武汉大学

人民医院动物实验中心。采用戊巴比妥钠 30 mg/kg 静脉推注麻醉比格犬,予以气管插管、机械通气和连续心电监测。额外静脉追加戊巴比妥钠 1 ml/h 以维持实验过程中的动物麻醉状态。静脉滴注生理盐水(50~100 ml/h)以补偿自发的液体丢失。将 18 只犬随机分为空白组、起搏组和清除组,每组 6 只。清除组及起搏组犬在无菌条件下于第 4 肋间逐层双侧开胸,剪开心包以暴露心脏,在左心房和右心房缝制多极电极导管用于快速心房起搏及记录。清除组犬在右肺静脉-左心房脂肪垫、下腔静脉-左心房脂肪垫与上腔静脉-主动脉根部脂肪垫注射氯膦酸二钠脂质体(5 mg/ml,每个部位 0.5 ml)以清除巨噬细胞,起搏组犬在相同的部位注射等剂量的 PBS 脂质体作为对照。随后给予起搏组及清除组犬快速心房起搏(600 次/min,持续 7 h)。

(2)电生理学指标测量:分别于起搏前和起搏后 1、3、5、7 h 测量左心房和右心房的心房有效不应期(AERP)。AERP 采用程序期前刺激法(S1S2)进行测量,每 8 个基础 S1 起搏刺激后,发放一个期前刺激 S2, S1S2 的偶联间期以 2 ms 递减。在起搏前及起搏 7 h 后,使用 S1S1 程序刺激法(120 ms、100 ms 和 75 ms 周期长度,每次 5 s,每频率执行 3 次,即每只犬于 3 个起搏周长共完成 9 次程控刺激)诱发房颤。房颤定义为持续时间 > 5 s 的绝对不规则的心房节律,频率 > 500 次/min。记录各组中每只犬的房颤诱发次数,统计各组平均房颤诱发次数。记录各组中每只犬每次诱导出房颤的持续时间,并计算每只犬的平均房颤持续时间,用以统计各组房颤持续时间,所有数据均由计算机电生理系统记录。

(3)巨噬细胞浸润水平评估:实验结束后,收集心外膜脂肪组织和其覆盖的毗邻心房肌组织。部分置于 4% 多聚甲醛中固定,过夜后取出,制备常规石蜡切片,部分置于 -80 ℃ 冰箱中待检。采用免疫荧光法检测心外膜脂肪中巨噬细胞浸润水平,将心外膜脂肪样本与 CD68 的一抗(1:50 稀释)进行孵育,然后将其与二级抗体荧光素(CY3)标记的山羊抗小鼠免疫球蛋白 IgG(1:50 稀释)进行孵育,并用 DAPI 对细胞核进行染色。于荧光显微镜下观察心外膜脂肪染色情况,在每组中随机选择来自不同犬的 4 个样本,用于计算 3 个不

同视野中巨噬细胞数量的平均数,使用 Image J 软件分析结果。

(4) 蛋白质免疫印迹法检测心外膜脂肪组织中 CD68 及其毗邻心房肌组织中 AT1R、P-p38MAPK、c-Fos、c-Jun、KCa3.1 表达水平:将心外膜脂肪组织和心房肌组织分别研磨后收集总蛋白,用 SDS-PAGE 电泳分离总蛋白并将分离后的蛋白质转移到 PVDF 膜上,在膜上添加 CD68 (1:1 000 稀释)、AT1R (1:500 稀释)、p-P38MAPK (1:500 稀释)、c-Fos (1:1 000 稀释)、c-Jun (1:500 稀释) 和 KCa3.1 (1:1 000 稀释) 的一抗并在 4℃ 下孵育过夜,洗涤后在 37℃ 下与 HRP 标记的二抗孵育 1 h。采用蛋白凝胶成像仪进行拍照和灰度分析,目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白灰度/相对内参灰度。

3. 统计学处理:应用 GraphPad Prism 软件进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验,同组不同时间比较采用配对样本 *t* 检验,两组间比较采用独立样本 *t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1.3 组犬心外膜脂肪中 CD68 标记的巨噬细胞浸润水平及 CD68 水平比较:免疫荧光分析结果显示,空白组、起搏组、清除组犬心外膜脂肪中 CD68 标记的巨噬细胞浸润水平分别为  $5.00 \pm 4.24$ 、 $228.25 \pm 65.41$ 、 $45.25 \pm 27.90$ ,其中起搏组高于空白组,清除组低于起

搏组 ( $P < 0.001$ ),而空白组和清除组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见图 1。蛋白质免疫印迹法检测结果显示,空白组、起搏组、清除组犬心外膜脂肪组织中 CD68 水平分别为  $0.12 \pm 0.05$ 、 $0.77 \pm 0.06$ 、 $0.42 \pm 0.17$ ,其中起搏组高于空白组,清除组低于起搏组,清除组高于空白组 ( $P < 0.001$ )。

2. 起搏组和清除组犬左右心房不同时间 AERP 及房颤易感性比较:起搏组犬左心房和右心房 1、3、5、7 h 的 AERP 均短于 0 h ( $P < 0.05$ )。清除组左心房和右心房 5、7 h 的 AERP 均短于 0 h ( $P < 0.05$ )。清除组犬左心房 1、3、5、7 h 的 AERP 均长于起搏组同一时间,清除组犬右心房 3、5、7 h 的 AERP 均长于起搏组同一时间 ( $P < 0.05$ )。见表 1。起搏前,起搏组和清除组犬均未诱发出房颤。起搏组犬 7 h 房颤诱发次数高于基线 [ $(5.3 \pm 2.5)$  次比 0 次,  $P < 0.001$ ],而清除组犬 7 h 与基线房颤诱发次数比较差异无统计学意义 [ $(1.3 \pm 0.5)$  次比 0 次,  $P > 0.05$ ]。清除组犬房颤诱发次数低于起搏组 [ $(5.3 \pm 2.5)$  次比  $(1.3 \pm 0.5)$  次,  $P < 0.001$ ],且清除组犬房颤持续时间低于起搏组 [ $(7.4 \pm 3.0)$  s 比  $(22.7 \pm 18.6)$  s,  $P < 0.05$ ]。

3.3 组犬心外膜脂肪邻近心房肌组织中 AT1R、p-P38MAPK、c-Fos、c-Jun 及 KCa3.1 表达水平比较:3 组犬心外膜脂肪邻近心房肌组织中 AT1R、p-P38MAPK、c-Fos、c-Jun 及 KCa3.1 表达水平比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.001$ ),其中起搏组高于空白组,清除组低于起搏组 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

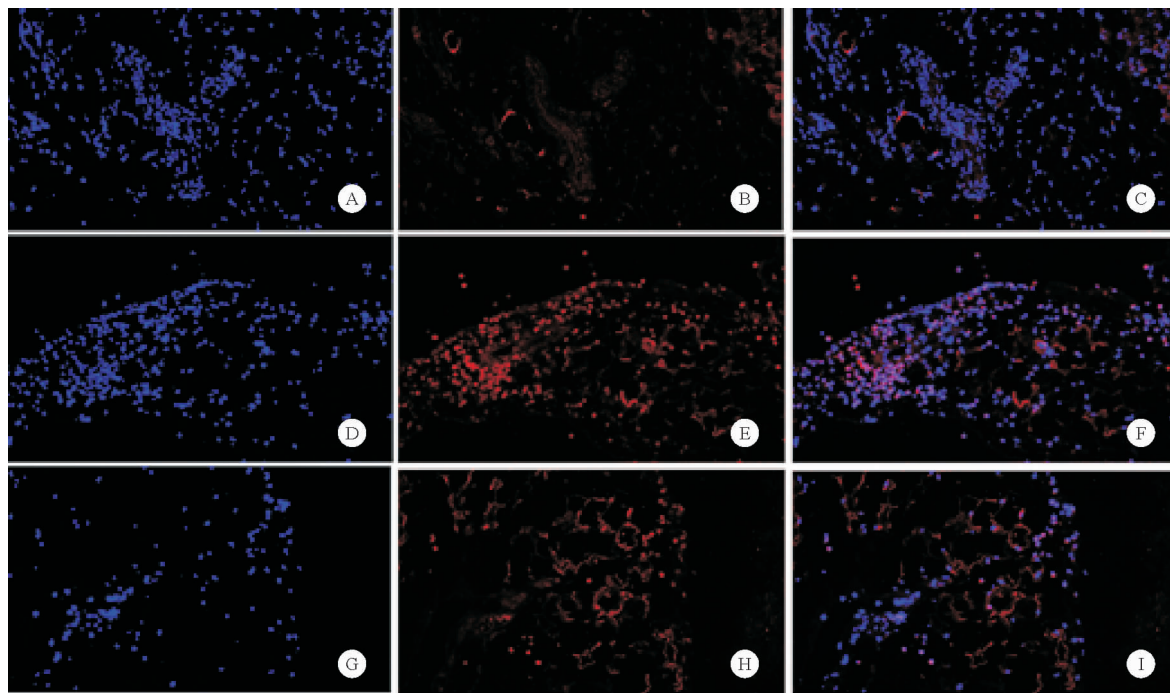


图1 3组犬心外膜脂肪组织中巨噬细胞浸润水平:CY3 标记的 CD68 被染成红色,DAPI 标记的细胞核被染成蓝色(A、B、C 分别为空白组的 DAPI、CD68、Merge;D、E、F 分别为起搏组的 DAPI、CD68、Merge;G、H、I 分别为清除组的 DAPI、CD68、Merge;免疫荧光染色,×200)

**表 1** 起搏组和清除组犬左右心房不同时间 AERP 比较  
(ms,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

组别		左心房	右心房
起搏组	0 h	132.0 $\pm$ 6.8	130.0 $\pm$ 8.6
	1 h	121.3 $\pm$ 6.0 <sup>a</sup>	118.7 $\pm$ 9.6 <sup>a</sup>
	3 h	112.0 $\pm$ 7.4 <sup>a</sup>	112.3 $\pm$ 6.4 <sup>a</sup>
	5 h	104.7 $\pm$ 5.0 <sup>a</sup>	104.3 $\pm$ 6.6 <sup>a</sup>
	7 h	100.3 $\pm$ 5.0 <sup>a</sup>	97.3 $\pm$ 8.6 <sup>a</sup>
清除组	0 h	130.7 $\pm$ 9.1	128.3 $\pm$ 7.7
	1 h	132.0 $\pm$ 9.7 <sup>b</sup>	131.3 $\pm$ 10.8
	3 h	127.0 $\pm$ 7.6 <sup>b</sup>	125.3 $\pm$ 10.9 <sup>b</sup>
	5 h	118.7 $\pm$ 7.3 <sup>ab</sup>	121.0 $\pm$ 9.8 <sup>ab</sup>
	7 h	112.3 $\pm$ 5.1 <sup>ab</sup>	115.7 $\pm$ 10.5 <sup>ab</sup>

注:与同组 0 h 比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与起搏组同一时间比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

**表 2** 3 组犬心外膜脂肪邻近心房肌组织中 AT1R、p-P38MAPK、c-Fos、c-Jun 及 KCa3.1 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

组别	AT1R	p-P38MAPK	c-Fos	c-Jun	KCa3.1
空白组	0.09 $\pm$ 0.03	0.08 $\pm$ 0.04	0.05 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.05
起搏组	0.85 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	0.46 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	0.50 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.63 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.78 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
清除组	0.40 $\pm$ 0.25 <sup>ab</sup>	0.26 $\pm$ 0.10 <sup>ab</sup>	0.20 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	0.30 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>	0.49 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值	35.903	31.886	78.523	80.324	87.497
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与空白组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与起搏组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

## 讨 论

既往研究发现,相较于皮下脂肪,心外膜脂肪与房颤的发生及发展更为相关<sup>[6]</sup>,影像学检查提示心外膜脂肪与其相邻心房肌在病理改变上密切相关<sup>[13]</sup>。但心外膜脂肪与房颤病理生理机制之间的关系仍未完全阐明。我们前期研究发现快速心房起搏犬心房中 KCa3.1 的表达上调,抑制 KCa3.1 可逆转快速心房起搏犬的心房电重构及降低房颤易感性<sup>[12]</sup>。进一步研究还发现, KCa3.1 表达上调影响巨噬细胞的招募极化,导致巨噬细胞分泌的多种炎症因子如白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$  的表达增加<sup>[14]</sup>。IL-1 $\beta$  抑制心房肌颤动蛋白(QK1)的表达,使 L 型钙通道电流减少,进而导致心房电重构<sup>[15]</sup>。最近的一项研究提示编码 KCa3.1 的 KCNN4 基因上调主要归因于巨噬细胞聚集极化,巨噬细胞通过激活 KCa3.1 和缝隙链接导致动作电位时程异质性及心肌梗死后心律失常<sup>[16]</sup>。巨噬细胞聚集对房颤过程中心房组织 KCa3.1 表达的影响尚不清楚。有研究发现,在房颤患者心外膜脂肪标本中,巨噬细胞在心肌和脂肪组织交界处大量聚集<sup>[8]</sup>。本研究证实了巨噬细胞在快速心房起搏犬心外膜脂肪中大量浸润,进一步发现使用氯膦酸二钠脂质体清除局部心外膜脂肪组织中的巨噬细胞后,临近心房肌组织中 KCa3.1 的表达水平上调及房颤易感性的增加被

抑制。此前有研究结果显示,血管紧张素 II (Ang II) 作用于 AT1R 激活 P38MAPK、细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)和磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路,从而上调激活蛋白-1 (AP-1, 由 c-Fos 和 c-Jun 组成的转录因子)导致 KCa3.1 的表达水平升高<sup>[11]</sup>。与其一致的是,本研究发现快速心房起搏犬心外膜脂肪临近心房肌组织中 AT1R、P38MAPK 及 AP-1 表达水平升高,而心外膜脂肪的巨噬细胞清除后, AT1R、P38MAPK 及 AP-1 表达的上调均被抑制,提示心外膜脂肪中巨噬细胞可能与临近心肌中 AT1R/P38MAPK/AP-1 途径的 KCa3.1 激活相关。近期有研究发现,血管紧张素转换酶 2 (ACE2) 在心外膜脂肪组织细胞外基质增厚部位的表达增加<sup>[3]</sup>。而 ACE2 基因敲除小鼠的心外膜脂肪炎症程度加重,常驻脂肪组织巨噬细胞的浸润增多,提示局部肾素-血管紧张素系统(RAS)与心外膜巨噬细胞浸润相关<sup>[17]</sup>。经典 RAS 途径(Ang II/AT1R)的激活和非经典 RAS 途径(Ang1-7/Mas1R)的抑制可能通过巨噬细胞相关炎症/心外膜脂肪代谢改变/心脏电重构机制参与房颤的诱发和维持<sup>[18]</sup>。巨噬细胞相关的局部炎症微环境影响脂肪组织的代谢及活化,促进循环血管紧张素原的释放,产生和分泌 Ang II,激活 AT1R 诱导自分泌和旁分泌效应,从而影响循环和局部的 RAS<sup>[19-20]</sup>。本研究发现,心外膜脂肪巨噬细胞浸润与相邻心房肌组织中 AT1R 表达相关,为心外膜脂肪/巨噬细胞/局部 RAS 的关联提供了证据。

综上所述,快速心房起搏犬心外膜脂肪组织存在巨噬细胞大量浸润,心外膜脂肪组织中巨噬细胞浸润可能通过调控 AT1R/P38MAPK/AP-1 信号通路上调 KCa3.1 表达,从而增加快速心房起搏犬的房颤易感性。

## 参 考 文 献

- [1] Iacobellis G. Local and systemic effects of the multifaceted epicardial adipose tissue depot[J]. Nat Rev Endocrinol, 2015, 11(6):363-371.
- [2] Wong CX, Ganesan AN, Selvanayagam JB. Epicardial fat and atrial fibrillation: current evidence, potential mechanisms, clinical implications, and future directions[J]. Eur Heart J, 2017, 38(17):1294-1302.
- [3] Shaihov-Teper O, Ram E, Ballan N, et al. Extracellular Vesicles From Epicardial Fat Facilitate Atrial Fibrillation[J]. Circulation, 2021, 143(25):2475-2493.
- [4] Venteclef N, Guglielmi V, Balse E, et al. Human epicardial adipose tissue induces fibrosis of the atrial myocardium through the secretion of adipo-fibrokinases[J]. Eur Heart J, 2015, 36(13):795-805a.
- [5] Mazurek T, Kiliszek M, Kobylecka M, et al. Relation of proinflammatory activity of epicardial adipose tissue to the occurrence of atrial fibrillation[J]. Am J Cardiol, 2014, 113(9):1505-1508.
- [6] Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, et al. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators[J]. Circulation, 2003, 108(20):2460-2466.
- [7] Grune J, Yamazoe M, Nahrendorf M. Electroimmunology and cardiac arrhythmia[J]. Nat Rev Cardiol, 2021, 18(8):547-564.



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2022.03.017

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2022.03.017

· 论著摘要 ·

# 湖北荆州地区 193 例地中海贫血基因型分析

刘荟敏 张江召 臧思斌

[关键词] 荆州地区; 地中海贫血; 基因型; 突变频率

[中图分类号] R566.6

[文献标识码] A

地中海贫血(简称地贫)为常染色体隐性遗传性血红蛋白病,主要包括 $\alpha$ -地贫和 $\beta$ -地贫,广泛分布在全球地中海地区,我国多见于广东、广西、海南、云南、贵州等沿海地区<sup>[1]</sup>。关于地贫在湖北武汉地区有相关报道,但湖北其他地区报道较少。其发病机制是 $\alpha$ -及 $\beta$ -珠蛋白基因的先天性缺陷,造成 $\alpha$ -及 $\beta$ -珠蛋白肽链合成减少或缺失,而引起血红蛋白生成障碍,导致无效造血和溶血性贫血。随着检测技术发展及人口迁移,越来越多内地地区检测出地贫患者。本研究主要通过统计分析湖北荆州地区地贫发病率及其基因类型和构成,旨在了解该地区 $\alpha$ - $\beta$ -地贫基因突变类型的分布情况,为预防地贫患儿的出生提供有效指导依据,同时可针对性地指导遗传咨询与产前诊断。

## 对象与方法

1. 对象:收集 2017 年 1 月~2019 年 12 月于我院门诊就诊或住院的地贫初筛阳性患者 2 272 例。平均红细胞体积 $<80$  fl 或平均红细胞血红蛋白含量 $<27$  pg 且血清铁蛋白 $>12$   $\mu$ g/L 定义为地贫初筛阳性。纳入标准:血常规检查符合贫血诊断标准(血红蛋白男性 $<120$  g/L、女性 $<110$  g/L)且地贫初筛阳性患者。排除标准:除贫血外还患有其他类型的血液系统疾病。所有患者均知情同意。

作者单位:434020 湖北省荆州市中心医院血液内科

2. 方法:所有患者均使用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝管采血 3 ml 送检我院实验室行地贫基因检测。 $\alpha$ -和 $\beta$ -地中海贫血基因检测试剂盒购自于广州达安检测中心。采用跨断裂点聚合酶链式反应(PCR)技术检测中国人群中常见的 3 种 $\alpha$ -地贫缺失型突变(--SEA、 $\alpha^{3.7}$ 、 $\alpha^{4.2}$ ),采用 PCR 结合反向斑点杂交技术检测 17 种 $\beta$ -地贫点突变(CD41-42、CD71-72、CD17、-28、 $\beta$ E、IVS-II-654、IVS-I-1、IVS-I-5、CD43、CD31、CD27/28、-32、-29、CD30、CD14-15、CAP 和 Int)。

3. 统计学处理:计数资料以例和百分比表示。

## 结果

1. 地贫基因检测结果阳性患者各疾病类型发病率情况:2 272 例患者中共 193 例地贫基因检测结果阳性,其中男 54 例,女 139 例,男女比例为 1:2.57,发病率为 8.49%。在 193 例地贫患者中,其中 $\alpha$ -地贫 64 例,占 33.2% (64/193), $\beta$ -地贫 127 例,占 65.8% (127/193), $\alpha\beta$ 复合型地贫 2 例,占 1.0% (2/193)。

2.  $\alpha$ -地贫基因型分布情况:在检出的 64 例 $\alpha$ -地贫基因携带者中,以东南亚型(--SEA/ $\alpha\alpha$ )基因型突变为主(37 例,57.8%),其次为 $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 型(11 例,17.2%)。在不同临床表型地贫中,以轻型表型为主(37 例,57.8%),其次是静止型(19 例,29.8%)。见表 1。

3.  $\beta$ -地贫基因型分布情况:在检出的 127 例 $\beta$ -地贫基因携

[8] Abe I, Teshima Y, Kondo H, et al. Association of fibrotic remodeling and cytokines/chemokines content in epicardial adipose tissue with atrial myocardial fibrosis in patients with atrial fibrillation[J]. Heart Rhythm, 2018, 15(11):1717-1727.

[9] Haron-Khun S, Weisbrod D, Bueno H, et al. SK4 K(+) channels are therapeutic targets for the treatment of cardiac arrhythmias[J]. EMBO Mol Med, 2017, 9(4):415-429.

[10] Toyama K, Wulff H, Chandy KG, et al. The intermediate-conductance calcium-activated potassium channel KCa3.1 contributes to atherogenesis in mice and humans[J]. J Clin Invest, 2008, 118(9):3025-3037.

[11] Wang LP, Wang Y, Zhao LM, et al. Angiotensin II upregulates K(Ca)3.1 channels and stimulates cell proliferation in rat cardiac fibroblasts[J]. Biochem Pharmacol, 2013, 85(10):1486-1494.

[12] Yang M, Wang Y, Zhao H, et al. Role of intermediate-conductance calcium-activated potassium channels in atrial fibrillation in canines with rapid atrial pacing[J]. J Interv Card Electrophysiol, 2021, 60(2):247-253.

[13] Mahajan R, Kuklik P, Grover S, et al. Cardiovascular magnetic resonance of total and atrial pericardial adipose tissue: a validation study and development of a 3 dimensional pericardial adipose tissue model[J]. J Cardiovasc Magn Reson, 2013, 15(1):73.

[14] He S, Wang Y, Yao Y, et al. Inhibition of KCa3.1 Channels Suppresses Atrial Fibrillation via the Attenuation of Macrophage Pro-inflammatory

Polarization in a Canine Model With Prolonged Rapid Atrial Pacing[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8:656631.

[15] Sun Z, Zhou D, Xie X, et al. Cross-talk between macrophages and atrial myocytes in atrial fibrillation[J]. Basic Res Cardiol, 2016, 111(6):63.

[16] Fei YD, Wang Q, Hou JW, et al. Macrophages facilitate post myocardial infarction arrhythmias; roles of gap junction and KCa3.1[J]. Theranostics, 2019, 9(22):6396-6411.

[17] Patel VB, Mori J, McLean BA, et al. ACE2 Deficiency Worsens Epicardial Adipose Tissue Inflammation and Cardiac Dysfunction in Response to Diet-Induced Obesity[J]. Diabetes, 2016, 65(1):85-95.

[18] Mascolo A, Urbanek K, De Angelis A, et al. Angiotensin II and angiotensin 1-7; which is their role in atrial fibrillation[J]. Heart Fail Rev, 2020, 25(2):367-380.

[19] Frigolet ME, Torres N, Tovar AR. The renin-angiotensin system in adipose tissue and its metabolic consequences during obesity[J]. J Nutr Biochem, 2013, 24(12):2003-2018.

[20] Rutkowska-Zapała M, Suski M, Szatanek R, et al. Human monocyte subsets exhibit divergent angiotensin I-converting activity[J]. Clin Exp Immunol, 2015, 181(1):126-132.

(收稿日期:2021-11-17)

(本文编辑:周三凤)