

· 论著 ·

基于单细胞质谱流式分析急性心肌梗死后 免疫细胞的变化及性别差异

周游 卓杨 张侃迪 赵倩 许左隽 范例 张俊峰 张绘莉

(上海交通大学医学院附属第九人民医院心内科, 上海 200011)

【摘要】目的 探索急性心肌梗死(AMI)患者早期免疫细胞图谱及其变化特征。方法 研究收集了 19 例 AMI 患者(男性 11 例,女性 8 例)和 10 例稳定型心绞痛(SAP)患者(男女各 5 例)的外周血标本,分离单个核细胞,应用不同金属耦联的 42 种细胞表面标志物进行标记,通过单细胞质谱流式技术进行精细分群和比较分析。结果 通过单细胞质谱流式技术,将免疫细胞精细分为 8 个大亚群和 53 个小亚群(C1~C53)。在大亚群的层面,与同性别 SAP 患者相比较,男性 AMI 患者的单核细胞比例显著升高、CD4⁺T 细胞比例显著降低;女性 AMI 患者单核细胞、B 细胞和浆细胞样树突状细胞比例显著升高,CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞比例则显著降低。在小亚群层面,男性 AMI 患者单核细胞 C19、CD8⁺T 细胞 C36 和 C37、CD4⁺T 细胞 C45 的比例,与男性 SAP 患者相比较存在显著差异。在女性患者中,AMI 患者单核细胞 C18、B 细胞 C27、CD8⁺T 细胞 C36 和 C39、CD4⁺T 细胞 C45 和 C52 等 8 个小亚群的比例,与 SAP 患者存在显著差异。结论 本研究描绘了不同性别 AMI 患者循环免疫细胞亚群的变化,为探索 AMI 免疫反应以及性别差异提供了新的研究思路。

【关键词】急性心肌梗死;免疫细胞;单细胞质谱流式;性别差异

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2025.01.015

Analysis of Immune Cell Changes and Gender Differences After Acute Myocardial Infarction Based on Single-Cell Mass Spectrometry Flow Cytometry

ZHOU You, ZHUO Yang, ZHANG Kandi, ZHAO Qian, XU Zuojun, FAN Li, ZHANG Junfeng, ZHANG Huili

(Department of Cardiology, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China)

【Abstract】Objective To explore the early immune cell atlas and its changing characteristics in patients with acute myocardial infarction (AMI). Methods This study collected peripheral blood samples from 19 patients with AMI (11 males and 8 females) and 10 patients with stable angina pectoris (SAP) (5 males and 5 females). Mononuclear cells were isolated and labeled with 42 different metal labeled cell surface markers. Fine clustering and comparative analysis were performed using single-cell mass spectrometry flow cytometry. Results Through single-cell mass spectrometry flow cytometry, this study finely divided immune cells into 8 large subgroups and 53 small subgroups (C1~C53). At the level of large subgroups, compared to same-sex SAP patients, the proportion of monocytes in male AMI patients significantly increased and the proportion of CD4⁺T cells significantly decreased. The proportion of monocytes, B cells and plasmacytoid dendritic cells in female AMI patients significantly increased, the proportion of CD4⁺T cells and CD8⁺T cells significantly decreased. At the small subgroup level, the proportions of monocyte C19, CD8⁺T cell C36 and C37, and CD4⁺T cell C45 were significantly different in male AMI patients compared with SAP patients. In female patients, the proportions of 8 small subgroups, including monocyte C18, B cell C27, CD8⁺T cell C36 and C39, CD4⁺T cell C45 and C52, in AMI patients were significantly different from those in SAP patients. Conclusion This study describes the changes in circulating immune cell subsets in patients with AMI of different genders, providing new research ideas for exploring immune response and gender differences of AMI.

【Keywords】Acute myocardial infarction; Immune cell; Single-cell mass spectrometry flow cytometry; Sex difference

近年来的大量研究发现心肌梗死后的炎症反应与疾病预后密切相关^[1]。稳定状态下心肌组织中免

疫细胞的数量和种类较少,心肌梗死后外周血免疫细胞大量浸润到梗死区,引起心肌组织炎症反应。炎症

基金项目:上海市自然科学基金(21ZR1438000)

通信作者:张绘莉, E-mail: huilizhang815@163.com

反应的严重程度及持续时间,显著影响心肌组织修复和心肌梗死预后。适度的炎症可清除坏死组织,促进局部组织修复,炎症反应过度或持续时间过长,则不利于心脏功能的恢复^[2-4]。目前主要通过流式细胞技术,评估心肌梗死后的炎症反应。由于荧光光谱的重叠问题,传统的流式细胞技术仅能同时检测 2~3 种细胞表面标志物,在细胞分群的精确度以及亚群数量方面具有明显的局限性。

基于单细胞技术的质谱流式是近年兴起的新技术,其在传统流式细胞技术的基础上,使用金属元素标记的特异性抗体作为探针,应用质谱技术,对采集的单细胞原子质谱进行分析。质谱流式不仅显著减少了通道间的干扰,而且能同步检测数十种甚至上百种细胞表面标志物,可对细胞进行精细的分群和全面的亚群分析^[5]。因此,本研究采用质谱流式技术,分析不同性别心肌梗死患者外周血免疫细胞的变化和特点,期望为进一步探索心肌梗死与炎症反应的关系提供新思路。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

本研究入选了 2020 年 10 月—2021 年 12 月于上海交通大学医学院附属第九人民医院心血管内科住院的急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 患者 19 例 (男性 11 例,女性 8 例) 和稳定型心绞痛 (stable angina pectoris, SAP) 患者 10 例 (男女各 5 例)。AMI 患者的入选标准: (1) 年龄 18~80 岁; (2) 心电图或心肌损伤标志物符合 AMI 的诊断标准; (3) 冠状动脉造影显示直径 >2.5 mm 的冠状动脉及其主要分支狭窄程度 >90%。SAP 患者的入选标准: (1) 年龄 18~80 岁; (2) 符合《稳定性冠心病诊断与治疗指南》^[6] 的诊断标准; (3) 冠状动脉造影显示直径 >2.5 mm 的冠状动脉及其主要分支狭窄程度介于 40%~70%, 且未进行冠状动脉介入治疗操作。排除标准: (1) 患有各类感染性疾病的患者; (2) 患有扩张型心肌病、瓣膜性心脏病、慢性心力衰竭、缺血性心肌病、严重肝肾功能不全、恶性肿瘤、血液系统疾病和结缔组织疾病的患者; (3) 长期服用免疫抑制剂的患者。本研究已通过上海交通大学医学院附属第九人民医院伦理委员会审批 (SH9H-2019-T160-2), 所有入组患者均签署了知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 收集临床资料和血样本

所有受试者入院后立即应用乙二胺四乙酸抗凝管采集静脉血 5 mL, AMI 患者入院后 2~12 h 内完成冠状动脉造影和介入治疗, SAP 患者入院后 72 h 内完

成冠状动脉造影。所有血样本 48 h 内完成外周血单个核细胞的分离和质谱流式抗体的标记。

1.2.2 外周血单个核细胞的提取

5 mL 静脉血经磷酸盐缓冲液稀释后, 加入 Ficoll 分离液, 通过梯度离心获得分层液面, 吸取中间的白膜层, 裂解残余红细胞后获得单个核细胞, 并进行细胞计数。

1.2.3 质谱流式抗体与金属标签耦联

按照 Maxpar® X8 抗体标记试剂盒的使用说明, 免疫标志物抗体与金属同位素耦联和标记, 共采用了 42 种免疫标记物: anti-CD45、anti-CD3、anti-CD66b、anti-CD56、anti-CD19、anti-CCR6、anti-CD62L、anti-CCR5、anti-CCR3、anti-pSTAT5、anti-CXCR5、anti-CD33、anti-CD123、anti-CD36、anti-p-Akt、anti-CD204、anti-CCR9、anti-CD15、anti-CXCR4、anti-CXCR3、anti-CCR7、anti-CD11c、anti-CXCR6、anti-CD163、anti-CD169、anti-CD68、anti-CCR2、anti-CD11a、anti-NF- κ B p65、anti-CD206、anti-CD40、anti-CXCR2、anti-CD54、anti-CD106、anti-CX3CR1、anti-CCR4、anti-CD14、anti-CD16、anti-HLA-DR、anti-CD4、anti-CD8a、anti-CD11b。使用的金属同位素主要有: 铋 (²⁰⁹Bi)、铂 (¹⁹⁸Pt)、金 (¹⁹⁷Au)、镱 (¹⁷⁵Lu)、镱 (¹⁷¹Yb、¹⁷²Yb、¹⁷³Yb、¹⁷⁴Yb、¹⁷⁶Yb)、铥 (¹⁶⁹Tm)、铒 (¹⁶⁶Er、¹⁶⁷Er、¹⁶⁸Er、¹⁷⁰Er)、钬 (¹⁶⁵Ho)、镝 (¹⁶¹Dy、¹⁶²Dy、¹⁶³Dy、¹⁶⁴Dy)、铽 (¹⁵⁹Tb)、钆 (¹⁵⁵Gd、¹⁵⁶Gd、¹⁵⁷Gd、¹⁵⁸Gd、¹⁶⁰Gd)、铕 (¹⁵¹Eu、¹⁵³Eu)、钐 (¹⁴⁷Sm、¹⁴⁹Sm、¹⁵²Sm、¹⁵⁴Sm)、钕 (¹⁴²Nd、¹⁴³Nd、¹⁴⁴Nd、¹⁴⁵Nd、¹⁴⁶Nd、¹⁴⁸Nd、¹⁵⁰Nd)、镨 (¹⁴¹Pr)、镱 (¹³⁹La)、铟 (¹¹⁵In)、钇 (⁸⁹Y)。上述抗体及金属同位素均购自 Fluidigm 公司。

1.2.4 质谱流式抗体的染色和检测

对得到的外周血单个核细胞样本, 应用金属标记的抗体进行染色。然后, 使用质谱流式细胞仪对样本进行检测。所有样本中的免疫细胞根据细胞表面标志物 CD45 进行圈门, 最后得到单个免疫细胞进行后续分析。对数据进行标准化预处理, 并去除批次等噪音影响, 得到有效数据。所有数据采用 X-shift-算法和 t-分布随机邻域嵌入进行聚类分析, 最终高维数据以热图、可视化随机网络嵌入 (visual stochastic network embedding, viSNE) 等形式展示。

1.2.5 统计学方法

应用 SPSS 26.0 和 R 4.3.3 软件进行数据统计学分析和绘图, 符合正态分布的计量数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 来表示, 不符合正态分布的计量资料采用中位数 (Q_1, Q_3) 表示, 计数资料以频率 $n(\%)$ 表示。符合正态分布的计量资料采用独立样本 t 检验进行比

较,不符合正态分布的计量资料采用 Mann-Whitney *U* 检验进行比较,计数资料采用卡方检验进行比较。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 研究结果

2.1 患者的临床特征

本研究共入组 AMI 患者 19 例,其中男性 11 例,女性 8 例;SAP 患者 10 例,其中男性 5 例,女性 5 例。患者的一般资料如表 1 所示。

表 1 患者的一般资料

临床特征	女性		男性	
	AMI(<i>n</i> =8)	SAP(<i>n</i> =5)	AMI(<i>n</i> =11)	SAP(<i>n</i> =5)
年龄/岁	74.00±4.12	57.60±9.09	60.73±11.1	61.80±5.17
吸烟/[<i>n</i> (%)]	0(0%)	0(0%)	5(45.5%)	2(40.0%)
高血压/[<i>n</i> (%)]	5(62.5%)	2(40.0%)	10(90.9%)	4(80.0%)
糖尿病/[<i>n</i> (%)]	2(25.0%)	1(20.0%)	1(9.1%)	1(20.0%)
BMI/(kg·m ⁻²)	26.06±1.85	24.73±0.64	27.62±1.15	24.97±0.57
TG/(mmol·L ⁻¹)	0.97(0.97,2.25)	1.31(0.97,1.81)	1.32(0.77,1.91)	1.61(0.93,3.40)
TC/(mmol·L ⁻¹)	5.95±1.67	4.59±0.98	3.76±0.95	3.57±1.56
LDL-C/(mmol·L ⁻¹)	8.30(2.53,6.38)	2.93(2.39,3.81)	2.57(1.61,2.98)	2.07(1.18,2.13)
HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	1.43±0.32	1.18±0.31	0.93±0.19	0.70±0.05
TnI/(ng·mL ⁻¹)	2.38(0.00,4.32)	0.00(0.00,0.18)*	1.19(0.00,7.64)	0.00(0.00,0.55)*
BNP/(pg·mL ⁻¹)	165.00(86.00,252.00)	25.00(22.50,37.50)*	52.00(29.00,114.00)	35.00(14.50,61.50)
CRP/(mg·L ⁻¹)	1.11(0.41,7.26)	1.28(0.80,2.06)	1.43(1.01,2.26)	1.71(0.91,22.38)
eGFR/(mL·min ⁻¹)	85.00±13.42	100.40±12.58	89.27±22.80	101.00±20.17
Hb/(g·L ⁻¹)	125.00±12.91	128.80±8.04	139.45±24.38	138.00±7.97
白细胞/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	8.34±1.62	6.08±1.84*	9.44±3.10	7.14±2.16
中性粒细胞/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	6.77±1.64	3.75±1.65*	7.95±2.96	5.01±2.36
淋巴细胞/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	1.15±0.28	1.88±0.20*	0.99±0.44	1.50±0.76
冠状动脉 Gensini 评分/分	32.00(24.00,48.00)	2.00(2.00,2.50)*	48.00(32.00,48.00)	6.00(3.00,8.00)*
心血管疾病家族史/[<i>n</i> (%)]	2(25.0%)	1(20.0%)	2(18.2%)	1(20.0%)
抗血小板药/[<i>n</i> (%)]	8(100%)	5(100%)	11(100%)	5(100%)
β受体阻滞剂/[<i>n</i> (%)]	5(62.5%)	2(40.0%)	8(72.7%)	3(60.0%)
ACEI/ARB/[<i>n</i> (%)]	4(50.0%)	2(40.0%)	9(81.8%)	3(60.0%)*
他汀类药物/[<i>n</i> (%)]	8(100%)	5(100%)	11(100%)	5(100%)

注:BMI,体重指数;TG,总甘油三酯;TC,总胆固醇;LDL-C,低密度脂蛋白胆固醇;HDL-C,高密度脂蛋白胆固醇;TnI,肌钙蛋白 I;BNP,脑钠肽;CRP,C 反应蛋白;eGFR,估算的肾小球滤过率;Hb,血红蛋白;ACEI,血管紧张素转化酶抑制剂;ARB,血管紧张素 II 受体阻滞剂。*表示 AMI 组与同性别 SAP 组相比较, $P<0.05$ 。

2.2 对循环免疫细胞进行精细分群

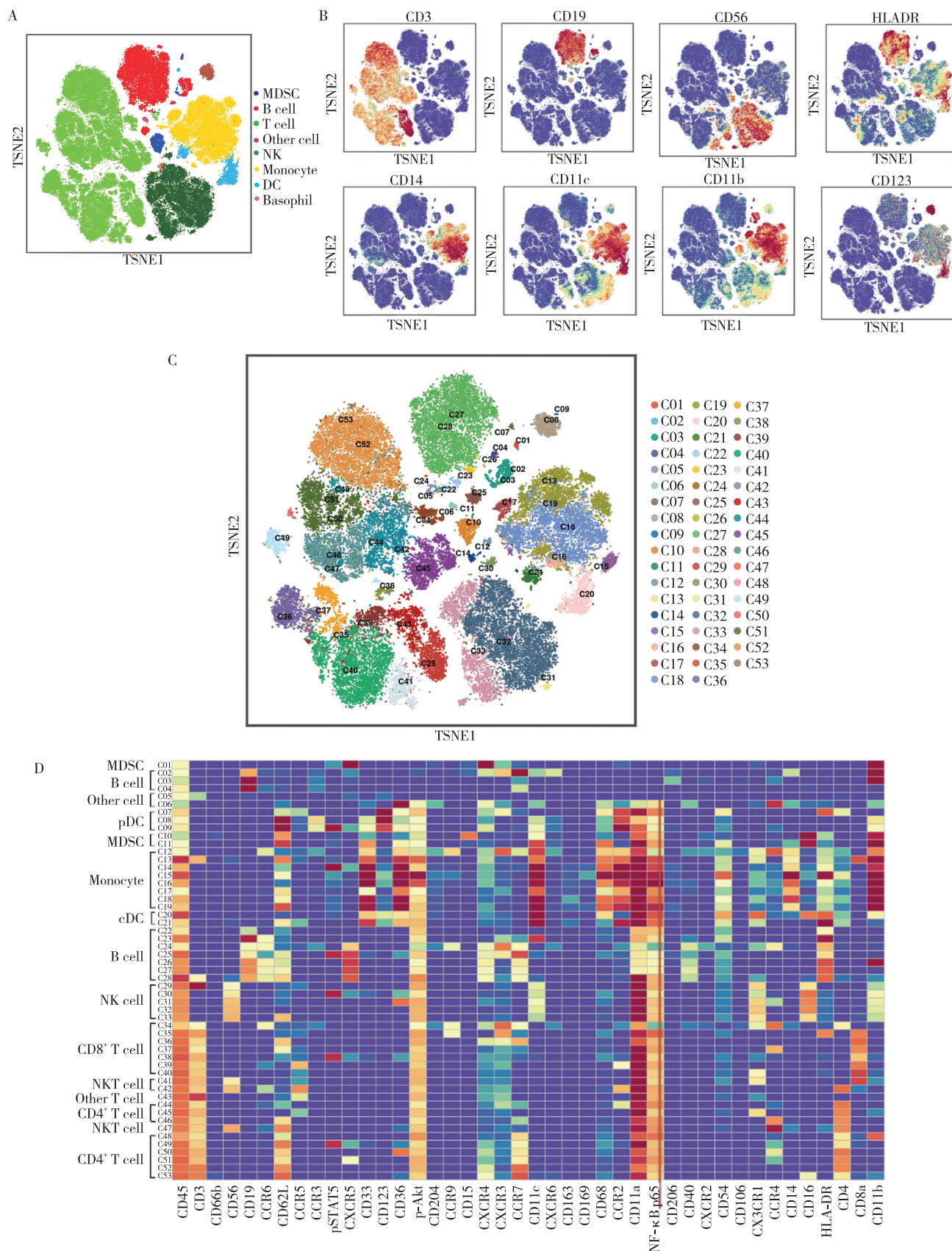
本研究采用不同金属标记的 42 个免疫细胞标志物,对外周血单个核细胞染色后,通过质谱流式技术对表面标志物的表达进行检测。对获得的高维度数据进行降维处理和分析。通过质谱流式检测,可将 CD45⁺ 的免疫细胞分为单核细胞、T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞(natural killer cell,NK 细胞)、树突状细胞(dendritic cell,DC)、骨髓来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cell,MDSC)、嗜碱性粒细胞、其他 8 种免疫细胞大亚群(图 1A 和 1B)。综合 t-分布随机邻域嵌入降维和 X-shift 聚类分析结果,可将免疫细胞进一步精细分为 53 个小亚群(C1~C53)(图 1C 和

1D)。

2.3 循环免疫细胞大亚群的分析

2.3.1 男性 AMI 患者循环免疫细胞大亚群的变化

在男性患者中,将 AMI 患者与 SAP 患者外周血免疫细胞大亚群进行比较。如图 2A 所示,AMI 患者单核细胞比例较同性别 SAP 患者显著升高($P=0.002$),AMI 患者 CD4⁺T 细胞比例则较同性别 SAP 患者显著降低($P=0.029$)。CD4⁺T 细胞、B 细胞、MDSC、浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cells,pDC)、经典树突状细胞(classic dendritic cells,cDC)、NK 细胞和自然杀伤 T 细胞(natural killer T cells,NKT 细胞)等大亚群比例,两组间无显著性差异。



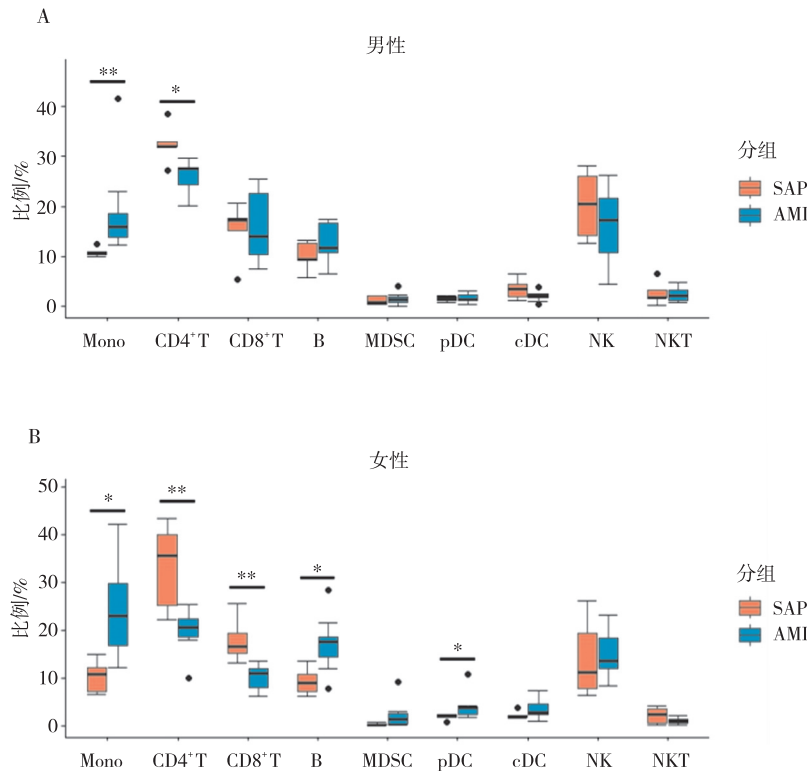
注:A 为循环免疫细胞的 viSNE 图;B 为循环免疫细胞大亚群特异性标志物表达的 viSNE 图;C 为循环免疫细胞小亚群分布的 viSNE 图;D 为 heatmap 显示循环免疫细胞 53 个亚群的分群和功能性标记物的表达情况。TSNE, t-分布随机邻域嵌入;B cell, B 细胞;T cell, T 细胞;Other cell, 其他细胞;Monocyte, 单核细胞;Basophil, 嗜碱性粒细胞;pDC, 浆细胞样树突状细胞;cDC, 经典树突状细胞;NKT cell, 自然杀伤 T 细胞;Other T cell, 其他 T 细胞。

图 1 单细胞质谱流式技术对循环免疫细胞大亚群和小亚群的精细分类

2.3.2 女性 AMI 患者循环免疫细胞大亚群的变化

在女性患者中,将 AMI 患者与 SAP 患者外周血免疫细胞大亚群进行比较。如图 2B 所示,AMI 患者外周血单核细胞($P=0.006$)、B 细胞($P=0.019$)和 pDC

($P=0.030$) 比例较同性别 SAP 患者显著升高,CD4⁺T 细胞($P=0.011$)和 CD8⁺T 细胞($P=0.003$)比例较同性别 SAP 患者显著降低。MDSC、cDC、NK 细胞和 NKT 细胞等大亚群比例,两组间无显著性差异。



注:Mono,单核细胞;CD4⁺T,CD4⁺T 细胞;CD8⁺T,CD8⁺T 细胞;B,B 细胞。* 表示 MI 组与 SAP 组相比较, $P<0.05$; ** 表示 AMI 组与 SAP 组相比较, $P<0.01$ 。

图 2 AMI 组与 SAP 组免疫细胞亚群分布差异比较

2.4 循环免疫细胞小亚群的分析

2.4.1 男性 AMI 患者循环免疫细胞小亚群的变化

在男性患者中,将 AMI 患者与 SAP 患者外周血免疫细胞小亚群进行比较。如表 2 所示,AMI 患者单核细胞 C19($P=0.010$)和 CD8⁺T 细胞 C36($P=0.029$)

小亚群比例较同性别 SAP 患者显著升高。CD8⁺T 细胞 C37($P=0.007$)和 CD4⁺T 细胞 C45($P=0.042$)比例较同性别 SAP 患者显著降低。其他小亚群比例,两组间无显著性差异。

表 2 男性 AMI 患者存在显著性差异的循环免疫细胞小亚群

小亚群名称	表面标志物及细胞分类	小亚群比例(%)		P 值
		SAP	AMI	
C19	CCR2 ⁺ ,单核细胞	1.78(0.56,9.32)	14.71(11.83,18.98)	0.010
C36	CXCR4 ⁺ ,CCR7 ⁺ ,CD8 ⁺ ,T 细胞	1.94(0.96,2.47)	6.22(2.67,6.79)	0.029
C37	CXCR3 ⁺ ,CD8 ⁺ ,T 细胞	2.58(2.01,4.11)	1.08(1.00,1.97)	0.007
C45	CCR5 ⁺ ,CX3CR1 ⁺ ,CD4 ⁺ ,T 细胞	9.33(3.07,16.85)	2.57(0.38,3.18)	0.042

2.4.2 女性 AMI 患者循环免疫细胞小亚群的变化

在女性患者中,将 AMI 患者与 SAP 患者外周血免疫细胞小亚群进行比较。如表 3 所示,AMI 患者单核细胞 C18($P=0.003$)、cDC C20($P=0.045$)、B 细胞 C27($P=0.019$)小亚群比例较同性别 SAP 患者显著升高。

CD8⁺T 细胞 C36($P=0.003$)和 C39($P=0.019$),CD4⁺T 细胞 C45($P=0.045$)、C49($P=0.002$)和 C52($P=0.045$)小亚群比例较同性别 SAP 患者显著降低。其他小亚群比例,两组间无显著差异。

表 3 女性 AMI 患者存在显著性差异的循环免疫细胞小亚群

小亚群名称	表面标志物及细胞分类	小亚群比例/%		P 值
		SAP	AMI	
C18	CCR2 ⁺ 、CX3CR1 ⁺ , 单核细胞	5.33(0.53, 12.24)	21.51(15.46, 30.27)	0.003
C20	CD11c ⁺ 、CX3CR1 ⁺ 、CD11b ⁺ , cDC	1.24(1.14, 1.83)	2.37(1.83, 4.90)	0.045
C27	CXCR5 ⁺ 、CCR7 ⁺ , B 细胞	8.64(6.20, 11.63)	16.68(12.28, 19.82)	0.019
C36	CXCR4 ⁺ 、CCR7 ⁺ 、CD8 ⁺ , T 细胞	4.55(3.29, 5.75)	1.72(1.06, 2.21)	0.003
C39	CCR5 ⁺ 、CCR2 ⁺ 、CD8 ⁺ , T 细胞	1.50(1.16, 2.35)	0.75(0.45, 1.01)	0.019
C45	CCR5 ⁺ 、CX3CR1 ⁺ 、CD4 ⁺ , T 细胞	2.94(2.50, 6.05)	1.00(0.80, 2.96)	0.045
C49	CXCR4 ⁺ 、CCR7 ⁺ 、CCR4 ⁺ 、CD4 ⁺ , T 细胞	0.051(0.02, 0.47)	0.0015(0.0003, 0.0038)	0.002
C52	CXCR4 ⁺ 、CCR7 ⁺ 、CD4 ⁺ , T 细胞	13.35(4.48, 18.59)	3.78(2.47, 5.50)	0.045

3 讨论

本研究通过质谱流式技术,对 AMI 和 SAP 患者外周血免疫细胞进行了精细分群,比较了两组患者免疫细胞大亚群和小亚群比例的变化。研究发现 AMI 患者免疫细胞的大、小亚群分布情况,较 SAP 患者均发生了显著变化,这些变化具有明显的性别差异特征。外周血免疫细胞大、小亚群的变化为探索免疫反应对 AMI 预后及性别差异提供了新的思路。

在细胞大亚群的分析中,与同性别 SAP 患者相比较,男性和女性 AMI 患者的变化趋势较为类似,均出现了外周血单核细胞,尤其是 CCR2⁺单核细胞亚群比例的升高,CD4⁺和/或 CD8⁺T 淋巴细胞比例的显著降低。这些变化与既往的临床报道一致^[7-8]。AMI 的动物模型研究证实,AMI 24 h 内,骨髓或脾脏来源的单核细胞持续大量进入血液,逐步浸润至梗死心肌局部,AMI 后 3 d 达到浸润高峰^[9],此时以促炎、CCR2⁺M1 型单核细胞为主^[3,10],抑制脾脏单核细胞的生成,可显著减轻 AMI 的严重程度。T 细胞在鼠前壁心肌梗死后 2 min 即向梗死区域浸润^[11]。AMI 患者再灌注治疗 90 min 内,即有大量 CD4⁺T 细胞向心肌浸润^[8]。

本研究还发现,在女性 AMI 患者中,B 细胞比例较同性别 SAP 患者显著升高。目前关于女性 AMI 外周血免疫细胞的临床研究较少。在鼠 AMI 模型中,B 淋巴细胞浸润至梗死区域,不仅介导促炎性单核细胞的募集^[12],还能通过产生抗体增加心肌的破坏^[13],消除 B 细胞则有益于心肌的修复^[14]。2021 年 Kyaw 等^[15]还发现,心肌梗死会激活 B 淋巴细胞的免疫记忆功能,促进主动脉粥样硬化病变中免疫球蛋白 G 显著积累,并加剧动脉粥样硬化的进展。既往的研究^[16-17]显示,女性患者 AMI 后心力衰竭的发生率、30 d 内死亡率均显著高于男性,老年女性心肌梗死后的再入院率也显著更高,女性 AMI 预后的这些特点是否与外周血 B 细胞比例的升高有关,值得进行深入研究。此

外,女性 AMI 患者外周血中 pDC 升高,该细胞亚群的主要功能包括呈递抗原和分泌细胞因子(包括干扰素、肿瘤坏死因子- α 等),从而在病毒感染的自身免疫过程中起到调节免疫细胞活性的作用,并以分泌 I 型干扰素为主要特点^[18]。该细胞亚群在 AMI 后的炎症反应中所起的作用尚不明确^[4]。

在免疫细胞小亚群比例方面,AMI 患者则存在显著的性别差异。首先,研究仅在女性 AMI 患者中观察到了 C27 亚群,即 CXCR5⁺CCR7⁺B 细胞比例的显著升高。2021 年 Heinrichs 等^[19]应用单细胞 RNA 测序,在鼠心肌梗死区域发现了高度表达 CXCR5、CCR7 的 B 淋巴细胞,即 CXCR5⁺CCR7⁺B 细胞。他们证实这种 B 细胞亚群,可通过 CXCL13-CXCR5 轴,介导其向梗死区域浸润和促进转化生长因子- β 分泌。认为 CXCR5⁺CCR7⁺B 细胞仅在心肌梗死区域存在,与心脏特异性相关,故命名为心脏相关细胞(hB 细胞)。本研究发现女性 AMI 患者存在 CXCR5⁺CCR7⁺B 细胞(C27)比例的升高,其是否与女性 AMI 的预后特点相关,值得进一步深入研究。

其次,女性 AMI 患者表达 CXCR4、CCR7 的细胞小亚群比例(C27、C36、C49、C52 等)较同性别 SAP 患者显著降低,男性 AMI 患者中则未观察到这一现象。CXCR4 信号传导与炎症细胞浸润和心肌细胞凋亡等相关^[20]。Hess 等^[21]通过正电子发射断层成像发现,在鼠 AMI 后,心肌 CXCR4 水平出现升高,且该水平与急性破裂和慢性收缩功能障碍正相关,抑制 CXCR4 可加速炎症消退并改善预后。CCR7 则主要激活和趋化免疫细胞^[22],2015 年 Jiang 等^[23]指出,AMI 后心脏 CCR7 水平升高,且通过抑制 CCL21(CCR7 的主要配体之一)可减少鼠的心肌梗死面积,并减少心脏扩大、改善心室功能。女性 AMI 患者外周血 CXCR4⁺CCR7⁺小亚群比例降低的意义有待进一步研究明确。

再次,本研究还发现 C20 小亚群,即 CD11c⁺CD11b⁺cDC,在女性 AMI 患者中也存在一定程度的升

高。Anzai 等^[24]指出,来源于骨髓的成熟、活化的 CD11c⁺CD11b⁺cDC,可浸润至心肌梗死部位,通过调节心脏局部的免疫细胞亚群,在梗死后炎症和随后的左心室重塑中发挥保护作用。

最后,本研究作为新技术应用的探索性研究,存在着诸多不足之处。首先,入组的女性 AMI 患者平均年龄显著高于同性别 SAP 组,而男性 AMI 与 SAP 患者的基线资料具有更好的可比性。其次,由于经费有限,检测的样本例数偏少,而且缺乏临床随访和预后的资料信息。此外,本研究主要观察了外周血免疫细胞亚群比例的变化,其与心肌局部免疫反应的关系尚不明确。

总之,本研究通过单细胞质谱流式技术,探索了男女 AMI 患者外周血免疫细胞亚群比例的变化,首次在女性 AMI 患者中发现了 CXCR5⁺CCR7⁺B 细胞(C27)、CXCR4⁺CCR7⁺小亚群(C27、C36、C49、C52)比例的性别特异性变化,为探索 AMI 患者的预后和性别特点提供了全新的思路。

参 考 文 献

- [1] Swirski FK, Nahrendorf M. Cardioimmunology: the immune system in cardiac homeostasis and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(12): 733-744.
- [2] Westman PC, Lipinski MJ, Luger D, et al. Inflammation as a driver of adverse left ventricular remodeling after acute myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67(17): 2050-2060.
- [3] Prabhu SD, Frangogiannis NG. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: from inflammation to fibrosis[J]. *Circ Res*, 2016, 119(1): 91-112.
- [4] Kologrivova I, Shtatolkina M, Suslova T, et al. Cells of the immune system in cardiac remodeling: main players in resolution of inflammation and repair after myocardial infarction[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 664457.
- [5] Iyer A, Hamers AAJ, Pillai AB. CyTOF[®] for the masses[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 815828.
- [6] 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组, 中华医学会心血管病学分会动脉粥样硬化与冠心病学组, 中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会, 等. 稳定性冠心病诊断与治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2018, 46(9): 680-694.
- [7] Meisel SR, Pauzner H, Shechter M, et al. Peripheral monocytoysis following acute myocardial infarction: incidence and its possible role as a bedside marker of the extent of cardiac injury[J]. *Cardiology*, 1998, 90(1): 52-57.
- [8] Boag SE, Das R, Shmeleva EV, et al. T lymphocytes and fractalkine contribute to myocardial ischemia/reperfusion injury in patients[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(8): 3063-3076.
- [9] Leuschner F, Rauch PJ, Ueno T, et al. Rapid monocyte kinetics in acute myocardial infarction are sustained by extramedullary monocytopoiesis[J]. *J Exp Med*, 2012, 209(1): 123-137.
- [10] Dewald O, Zymek P, Winkelmann K, et al. CCL2/monocyte chemoattractant protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts[J]. *Circ Res*, 2005, 96(8): 881-889.
- [11] Yang Z, Day YJ, Toufektsian MC, et al. Myocardial infarct-sparing effect of adenosine A_{2A} receptor activation is due to its action on CD4⁺ T lymphocytes[J]. *Circulation*, 2006, 114(19): 2056-2064.
- [12] Zougari Y, Ait-Oufella H, Bonnin P, et al. B lymphocytes trigger monocyte mobilization and impair heart function after acute myocardial infarction[J]. *Nat Med*, 2013, 19(10): 1273-1280.
- [13] Haas MS, Alicot EM, Schuerpf F, et al. Blockade of self-reactive IgM significantly reduces injury in a murine model of acute myocardial infarction[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 87(4): 618-627.
- [14] Andreadou I, Cabrera-Fuentes HA, Devaux Y, et al. Immune cells as targets for cardioprotection: new players and novel therapeutic opportunities[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(7): 1117-1130.
- [15] Kyaw T, Loveland P, Kanellakis P, et al. Alarmin-activated B cells accelerate murine atherosclerosis after myocardial infarction via plasma cell-immunoglobulin-dependent mechanisms[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(9): 938-947.
- [16] Cenko E, Yoon J, Kedev S, et al. Sex differences in outcomes after STEMI: effect modification by treatment strategy and age[J]. *JAMA Intern Med*, 2018, 178(5): 632-639.
- [17] Dreyer RP, Dharmarajan K, Hsieh AF, et al. Sex differences in trajectories of risk after rehospitalization for heart failure, acute myocardial infarction, or pneumonia[J]. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2017, 10(5): e003271.
- [18] Reizis B. Plasmacytoid dendritic cells: development, regulation, and function[J]. *Immunity*, 2019, 50(1): 37-50.
- [19] Heinrichs M, Ashour D, Siegel J, et al. The healing myocardium mobilizes a distinct B-cell subset through a CXCL13-CXCR5-dependent mechanism[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(13): 2664-2676.
- [20] Murad HAS, Bakarman MA. Could plasma CXCL12 predict ventricular dysfunction in patients with severe myocardial infarction?[J]. *Int J Angiol*, 2023, 32(3): 165-171.
- [21] Hess A, Derlin T, Koenig T, et al. Molecular imaging-guided repair after acute myocardial infarction by targeting the chemokine receptor CXCR4[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(37): 3564-3575.
- [22] Akhavanpoor M, Gleissner CA, Gorbatsch S, et al. CCL19 and CCL21 modulate the inflammatory milieu in atherosclerotic lesions[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 8: 2359-2371.
- [23] Jiang Y, Bai J, Tang L, et al. Anti-CCL21 antibody attenuates infarct size and improves cardiac remodeling after myocardial infarction[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(3): 979-990.
- [24] Anzai A, Anzai T, Nagai S, et al. Regulatory role of dendritic cells in postinfarction healing and left ventricular remodeling[J]. *Circulation*, 2012, 125(10): 1234-1245.

收稿日期: 2024-07-25