

# 血清热休克蛋白 27 及其磷酸化与急性心力衰竭患者预后的关系

胡恩德<sup>1</sup>, 卢楠<sup>2</sup>, 陈海峰<sup>2</sup>

1. 福建医科大学附属第一医院重症医学科, 福建 福州 350005; 2. 福建医科大学省立临床医学院, 福建省立医院心内科, 福州大学附属省立医院

**摘要:** **目的** 探讨血清热休克蛋白 27(HSP27)、磷酸化热休克蛋白 27(pHSP27)与急性心力衰竭患者预后的关系。**方法** 纳入 2020 年 12 月至 2021 年 6 月就诊于福建省立医院心血管内科的患者 178 例, 其中对照组 40 例, 急性心力衰竭组 138 例。采用酶联免疫吸附试验法测定血清 HSP27、pHSP27 水平, 随访观察近期主要不良心血管事件(MACE, 包括不稳定型心绞痛、心力衰竭再入院、急性心肌梗死、脑卒中、死亡)的发生情况。分析 HSP27、pHSP27 与 MACE 的关系。**结果** 急性心力衰竭患者血清 HSP27、pHSP27 水平均高于对照组( $P < 0.05$ )。对纳入的 138 例急性心力衰竭患者进行随访, 随访时间[中位数( $P_{25}$ ,  $P_{75}$ )]为 9(6, 12)月, 共有 30 例出现 MACE, 其中不稳定型心绞痛 10 例、心力衰竭再入院 13 例、脑卒中 2 例, 死亡 5 例。受试者操作特征(ROC)曲线分析结果显示, 血清 HSP27、pHSP27 及两者联合均对急性心力衰竭患者 MACE 的发生有一定预测价值, 曲线下面积(95%CI)分别为 0.634(0.524~0.745)、0.656(0.534~0.779)、0.720(0.611~0.829)。多因素 Cox 回归分析发现, 校正性别、年龄、嗜酸性粒细胞计数、血小板计数及氨基末端脑利钠肽前体(NT-proBNP)后, 高 HSP27( $HR=1.009$ , 95%CI 1.003~1.016)、pHSP27( $HR=1.078$ , 95%CI 1.037~1.139)是发生 MACE 的独立危险因素。Kaplan-Meier 分析发现, 高水平 HSP27、pHSP27 组 MACE 发生时间较低水平 HSP27、pHSP27 组明显提前, 累积存活时间较低水平组短(Log-rank 检验,  $\chi^2=6.915$ ,  $P=0.009$ ;  $\chi^2=13.760$ ,  $P < 0.001$ )。 **结论** 急性心力衰竭患者血清 HSP27、pHSP27 水平均明显升高。高水平 HSP27 及 pHSP27 与不良预后的发生密切相关。**关键词:** 热休克蛋白 27; 急性心力衰竭; 主要不良心血管事件

## Relationship of serum heat shock protein 27 and its phosphorylation with the prognosis of patients with acute heart failure

HU Ende<sup>1</sup>, LU Nan<sup>2</sup>, CHEN Haifeng<sup>2</sup>

1. Department of Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350005, China; 2. Fujian Provincial Clinical College, Fujian Medical University; Department of Cardiology, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou University Affiliated Provincial Hospital

**Abstract:** **Objective** To explore the relationship of serum heat shock protein 27 (HSP27) and phosphorylated HSP27 (pHSP27) with the prognosis of patients with acute heart failure. **Methods** A total of 178 patients who visited the Department of Cardiology of Fujian Provincial Hospital from December 2020 to June 2021 were included, including 40 patients in the control group and 138 patients in the acute heart failure group. The levels of serum HSP27 and pHSP27 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The occurrences of recent major adverse cardiovascular events (MACE), including unstable angina, rehospitalization for heart failure, acute myocardial infarction, stroke, death, were observed during follow-up. The relationships of HSP27 and pHSP27 with MACE were analyzed. **Results** The levels of serum HSP27 and pHSP27 in patients with acute heart failure were higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). A total of 138 patients with acute heart failure were followed up for a median of 9 ( $P_{25}$ ,  $P_{75}$  6, 12) months. A total of 30 patients developed MACE, including 10 cases of recurrent angina, 13 cases of re-hospitalization for heart failure, 2 cases of stroke, and 5 deaths. The results of receiver operating characteristic (ROC) curve analysis showed that serum HSP27, pHSP27 and their combination could predict the occurrence of MACE in patients with acute heart failure, with the area under the curve (95%CI) being 0.634 (0.524–0.745), 0.656 (0.534–0.779), and 0.720 (0.611–0.829), respectively. After adjusted for gender, age, eosinophil

count, platelet count, and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), multivariate Cox regression analysis showed that high HSP27 ( $HR=1.009$ , 95% $CI$  1.003–1.016) and pHSP27 ( $HR=1.078$ , 1.037–1.139) were independent risk factors for MACE. Kaplan-Meier analysis showed that the time of MACE occurrence in the high-level HSP27 and pHSP27 groups was significantly earlier than that in the low-level HSP27 and pHSP27 groups, and the cumulative survival time was shorter in the low-level group (Log-rank,  $\chi^2=6.915$ ,  $P=0.009$ ;  $\chi^2=13.760$ ,  $P<0.001$ ). **Conclusions** Serum HSP27 and pHSP27 levels are significantly increased in patients with acute heart failure. High levels of HSP27 and its phosphorylation are closely related to the occurrence of poor prognosis.

**Keywords:** heat shock protein 27; acute heart failure; major adverse cardiovascular events

心血管疾病是威胁人类健康的常见疾病,其发病率逐年升高。流行病学统计结果发现,心血管疾病死亡位居城乡居民总死亡原因的第一位<sup>[1]</sup>。急性心力衰竭是常见的急性心血管疾病,其与其他系统疾病共病存在,严重影响患者的预后。诸多心血管疾病危险因素共同促使急性心力衰竭的发生,同时心肌梗死是心力衰竭的常见病因。研究发现,炎症参与心力衰竭<sup>[2-3]</sup>、心肌梗死<sup>[4]</sup>的发生发展。炎症反应是机体对抗体内、外刺激的重要措施,能够促进组织器官的损伤修复,同时也可能带来炎症破坏。热休克蛋白 27(heat shock protein 27, HSP27)属于小分子热休克蛋白家族,由人类 7 号染色体上的 *HspB1*[heat shock protein family B (small) member 1] 基因编码,其包含 3 个外显子,编码 205 个氨基酸,是结构高度保守的蛋白质。其活性形式为磷酸化,在多种细胞功能中发挥作用,通过影响细胞凋亡途径促进细胞存活,并在细胞骨架动力学、细胞分化和胚胎发育中起到重要作用<sup>[5]</sup>。近年研究发现, HSP27 在动脉粥样硬化中能够减少炎症反应从而稳定斑块<sup>[6]</sup>。本研究旨在明确对照组和急性心力衰竭患者血清 HSP27 及其磷酸化水平的差异,探讨 HSP27、pHSP27 与急性心力衰竭预后的关系。

## 1 对象与方法

**1.1 对象** 纳入 2020 年 12 月至 2021 年 6 月就诊于福建省立医院心血管内科的患者 190 例,排除 12 例(急性或慢性感染性疾病 6 例、重度肝/肾功能不全 5 例、恶性肿瘤 1 例),最终纳入 178 例,其中对照组 40 例,急性心力衰竭组 138 例。急性心力衰竭诊断标准:根据 2021 年欧洲心脏病学会急性和慢性心力衰竭诊断和治疗指南<sup>[7]</sup>,有可疑病史、症状、体征,经心电图、心脏彩超、胸部 X 线片进一步评估,并伴有氨基末端脑利尿钠肽前体(N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)  $\geq 300$  ng/L 等。对照组为同期就诊于福建省立医院的非急性心肌梗死/急性心力衰竭的住院患者,主要为高血压和心律失常(以心房颤动为主)患者。排除标准:急性或慢性感染性疾病、重度肝/肾功能不全、免疫性疾病、恶性肿瘤、近期使用激素。全部研究对象

或家属均知情并自愿参与本研究,研究通过福建省立医院伦理委员会审批(伦理科研第 K2020-12-024 号)。

## 1.2 方法

**1.2.1 基本资料** 收集患者的年龄、性别、身高、体重以及入院时收缩压、舒张压、心率等,详细记录既往病史及吸烟史。同时记录炎症指标测定前用药情况,包括血管紧张素转换酶抑制药(angiotensin-converting enzyme inhibitor, ACEI)/血管紧张素受体阻滞药(angiotensin receptor blocker, ARB)、 $\beta$ 受体阻滞剂、醛固酮受体拮抗剂、他汀类药物、抗血小板药、抗凝药等。所有患者至少空腹 10~12 h 后,次日清晨肘静脉采血后立即送往检验科,进一步检测血常规、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、肌酐等。血常规、生化检查所需的血标本分别采用乙二胺四乙酸抗凝管及无抗凝剂的干燥采血管收集。血常规标本采用美国贝克曼库尔特 LH750 自动血细胞分析仪测定。生化指标采用 Roche cobas 8000 全自动生化分析仪测定(德国罗氏诊断公司)。急性心力衰竭患者记录入院第 1 次检测的 NT-proBNP 结果。NT-proBNP 采用肝素锂抗凝管收集血液样本,应用 Elecsy2010 全自动免疫分析仪(美国 ROCHE 公司)及双向测流免疫法测定。

**1.2.2 血清 HSP27、pHSP27 的测定** 患者入院后空腹 8~12 h 后采集外周静脉血,选择乙二胺四乙酸抗凝,混合均匀后离心 20 min 左右(3 000 r/min,离心半径 10 cm),收集上清液,置于 $-80$  °C 冰箱冷藏后统一检测。HSP27、pHSP27 采用酶联免疫吸附法测定,试剂盒由江苏酶免实业有限公司提供(批内变异系数与批间变异系数均小于 10%),依照厂家说明书操作。

**1.2.3 心脏彩超** 由经验丰富的心脏彩超科主任或副主任医师采用美国 GE 公司生产的 Vivid E95 超声仪检测急性心力衰竭患者的左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左室后壁厚度(left ventricular posterior wall thickness, LVPWT)、室间隔厚度(interventricular septum thickness, IVST)。

1.2.4 随访 随访时间中位数( $P_{25}, P_{75}$ )为9(6, 12)月,由两名住院医师经统一培训后,采用电话随访或翻阅再入院记录统计主要不良心血管事件(major adverse cardiovascular events, MACE)发生情况,剔除失访数据(15例)后进行预后分析。MACE定义为不稳定型心绞痛、心力衰竭再入院、急性心肌梗死、脑卒中、死亡<sup>[8-9]</sup>。

1.3 统计学方法 所有数据采用SPSS 26.0统计软件和R语言进行处理。计量资料进行正态性检验,符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用两独立样本 $t$ 检验。不符合正态分布或方差不齐的计量资料以中位数( $P_{25}, P_{75}$ )表示,两组间比较采用Mann-Whitney  $U$ 检验。计数资料以例(%)表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher精确检验。采用受试者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评价HSP27及其磷酸化对MACE的预测价值。采用Cox回归模型分析HSP27及其磷酸化对MACE的影响。采用Kaplan-Meier分析评价不同水平HSP27及

其磷酸化对急性心力衰竭患者生存情况的影响。以上结果均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 对照组与急性心力衰竭组患者的基线资料 纳入的对照组中以高血压患者为主(77.5%),急性心力衰竭组中部分患者合并有高血压,占73.2%,两组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。两组间年龄、体重指数、舒张压、中性粒细胞计数、血红蛋白、红细胞分布宽度、血小板计数、甘油三酯、总胆固醇、LDL-C、肌酐差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。用药情况中,两组间ACEI/ARB、 $\beta$ 受体阻滞剂、醛固酮受体拮抗剂以及抗凝药的使用差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。心脏超声指标中,两组间LVEF与LVEDD比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 对照组与急性心力衰竭组患者的基线资料

组别	例数	年龄(岁)	男性[例(%)]	体重指数(kg/m <sup>2</sup> )	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	吸烟[例(%)]	
对照	40	59.05±12.16	20(50.0)	24.99±2.89	136.40±14.69	81.15±11.24	9(22.5)	
急性心力衰竭	138	71.83±13.18	80(58.0)	23.56±3.34	129.63±23.27	73.79±14.48	38(27.5)	
$\chi^2/t/U$ 值		-5.491	0.800	2.249	1.740	2.964	0.405	
$P$ 值		<0.001	0.371	0.026	0.084	0.003	0.525	
组别		高血压[例(%)]	糖尿病[例(%)]	白细胞计数( $\times 10^9/L$ )	中性粒细胞计数( $\times 10^9/L$ )	嗜酸粒细胞计数( $\times 10^9/L$ )	血红蛋白(g/L)	
对照		31(77.5)	8(20.0)	6.45±1.62	3.70(2.83, 4.30)	0.10(0.05, 0.22)	136.30±19.51	
急性心力衰竭		101(73.2)	49(35.5)	6.97±2.52	4.50(3.60, 5.95)	0.09(0.04, 0.17)	121.85±26.96	
$\chi^2/t/U$ 值		0.301	3.426	-1.230	3 678.500	2 455.000	3.157	
$P$ 值		0.583	0.064	0.220	0.001	0.287	0.002	
组别		红细胞分布宽度(%)	血小板计数( $\times 10^9/L$ )	总胆固醇(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	
对照		12.70(12.20, 13.20)	244.08±57.54	4.79±1.18	1.29(1.08, 2.24)	1.18±0.31	2.83±1.16	
急性心力衰竭		13.85(13.00, 15.50)	208.57±108.00	3.79±1.09	1.01(0.77, 1.42)	1.08±0.32	2.28±0.91	
$\chi^2/t/U$ 值		4 351.500	1.996	5.029	1 508.000	1.725	3.174	
$P$ 值		<0.001	0.047	<0.001	<0.001	0.086	0.002	
组别		肌酐( $\mu\text{mol/L}$ )	NT-proBNP(ng/L)	CRP(mg/L)	LVEDD(cm)	LVPWT(cm)	IVST(cm)	
对照		67.5(56.2, 81.0)	66(36, 141)	0.78(0.78, 6.56)	4.44(4.25, 4.70)	0.96(0.80, 1.04)	1.06(0.91, 1.27)	
急性心力衰竭		94.0(73.0, 132.0)	3 453(2 176, 7 110)	10.30(3.73, 24.55)	5.19(4.47, 6.20)	0.95(0.84, 1.08)	1.09(0.95, 1.30)	
$\chi^2/t/U$ 值		4 269.000	5 168.000	1 806.500	3 635.000	2 511.000	2 670.500	
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.659	0.326	
组别		LVEF(%)	ACEI/ARB[例(%)]	$\beta$ 受体阻滞剂[例(%)]	醛固酮受体拮抗剂[例(%)]	抗血小板药[例(%)]	抗凝药[例(%)]	他汀类药物[例(%)]
对照		61(59, 65)	14(35.0)	14(35.0)	1(2.5)	11(27.5)	5(12.5)	21(52.5)
急性心力衰竭		52(34, 57)	84(60.9)	74(53.6)	82(59.4)	56(40.6)	85(61.6)	73(52.9)
$\chi^2/t/U$ 值		504.000	8.387	4.303	40.373	2.260	29.902	0.002
$P$ 值		<0.001	0.004	0.038	<0.001	0.133	<0.001	0.965

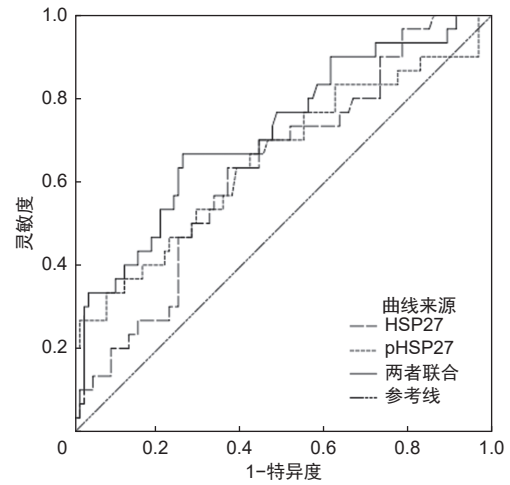
注:符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示;不符合正态分布或方差不齐的计量资料以中位数( $P_{25}, P_{75}$ )表示。HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇;LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇;NT-proBNP为氨基末端脑利钠肽前体;CRP为C反应蛋白;ACEI为血管紧张素转换酶抑制剂;ARB为血管紧张素受体阻滞剂;LVEDD为左心室舒张末期内径;LVPWT为左心室后壁厚度;IVST为室间隔厚度;LVEF为左室射血分数;HSP27为热休克蛋白27;pHSP27为磷酸化热休克蛋白27。LVEDD、LVPWT、IVST、LVEF缺失16例。总胆固醇、甘油三酯、HDL-C、LDL-C缺失5例。

**2.2 对照组与急性心力衰竭组患者的血清 HSP-27、pHSP-27 水平** 急性心力衰竭患者的血清 HSP-27 [122.53 (106.30, 146.94) 比 101.34 (98.13, 108.84)  $\mu\text{g/L}$ ,  $U=4\ 336$ ,  $P<0.001$ ]、pHSP-27 浓度 [37.85 (34.50, 40.46) 比 36.49 (34.33, 38.14)  $\mu\text{g/L}$ ,  $U=3\ 400$ ,  $P=0.026$ ] 高于对照组。

**2.3 HSP27 及其磷酸化对急性心力衰竭患者发生 MACE 的预测价值** HSP27 预测 MACE 发生的 ROC 曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.634 (95%CI 0.524~0.745,  $P=0.027$ ), 灵敏度为 63.33%, 特异度为 63.44%; pHSP27 预测 MACE 发生的 AUC 为 0.656 (95%CI 0.534~0.779,  $P=0.010$ ), 灵敏度为 33.33%, 特异度为 92.47%。两者联合预测 MACE 发生的 AUC 为 0.720 (95%CI 0.611~0.829,  $P<0.001$ ), 灵敏度为 66.67%, 特异度为 74.19% (图 1)。时间依赖性 ROC 曲线提示前期 HSP27 预测急性心力衰竭患者发生 MACE 的效果高, 而 pHSP27 在后期预测效果高 (图 2)。

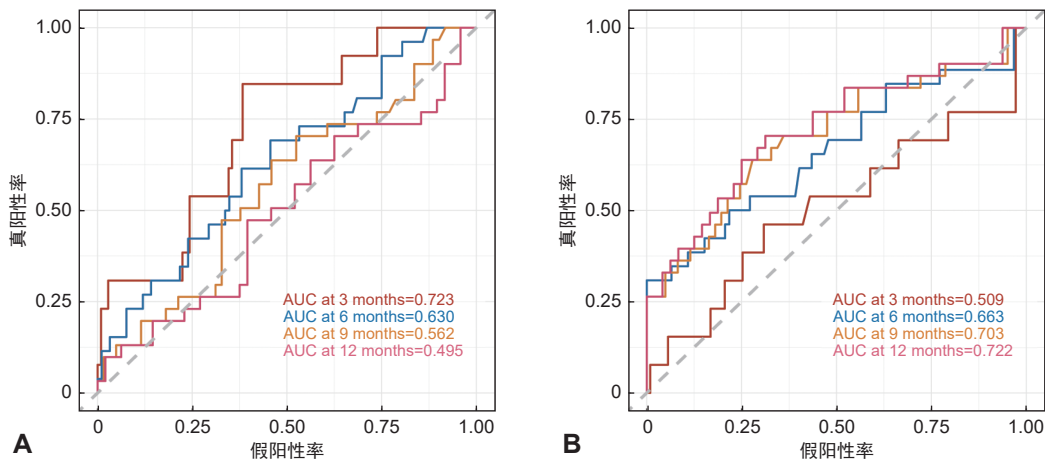
**2.4 HSP27 及其磷酸化对急性心力衰竭患者预后的影响** 对纳入的 138 例急性心力衰竭患者进行随访,

随访时间 [中位数 ( $P_{25}$ ,  $P_{75}$ )] 为 9 (6, 12) 月, 失访 15 例, 共有 30 例出现 MACE, 其中不稳定型心绞痛 10 例, 心力衰竭再入院 13 例, 脑卒中 2 例, 死亡 5 例。



注: HSP27 为热休克蛋白 27; pHSP27 为磷酸化热休克蛋白 27; MACE 为主要不良心血管事件; ROC 曲线为受试者操作特征曲线。

图 1 HSP27 及 pHSP27 预测急性心力衰竭患者发生 MACE 的 ROC 曲线 ( $n=138$ )



注: A 为 HSP27 预测急性心力衰竭患者发生 MACE 的时间依赖性 ROC 曲线; B 为 pHSP27 预测急性心力衰竭患者发生 MACE 的时间依赖性 ROC 曲线。HSP27 为热休克蛋白 27; pHSP27 为磷酸化热休克蛋白 27; MACE 为主要不良心血管事件; ROC 曲线为受试者操作特征曲线; AUC 为曲线下面积; AUC at 3 months 为 3 月时的 AUC; AUC at 6 months 为 6 月时的 AUC; AUC at 9 months 为 9 月时的 AUC; AUC at 12 months 为 12 月时的 AUC。HSP27 及 pHSP27 的 AUC 折线图见网络版附图 S1。

图 2 HSP27 及 pHSP27 预测急性心力衰竭患者发生 MACE 的时间依赖性 ROC 曲线 ( $n=138$ )

根据 ROC 曲线分析结果, 取正确指数 (灵敏度+特异度-1) 最高点为截点, 其中 HSP27 截点为 130.31  $\mu\text{g/L}$ , pHSP27 截点为 43.06  $\mu\text{g/L}$ , 将 HSP27、pHSP27 分为高水平和低水平。不同水平的 HSP27 和 pHSP27 的基线数据基本平衡, 高水平 HSP27、pHSP27 组 MACE 的发生率明显高于低水平组 (表 2, 表 3)。以是否 MACE 分组, 发现非 MACE 组 HSP27、pHSP27 水平均低于 MACE 组, 见网络版附表 S1。

单因素 Cox 回归分析发现, HSP27、pHSP27 为急

性心力衰竭患者发生 MACE 的危险因素 (表 4)。进一步行多因素 Cox 回归分析对性别、年龄、嗜酸性粒细胞计数、血小板计数及 NT-proBNP 进行调整后发现, HSP27、pHSP27 仍是急性心力衰竭患者发生 MACE 的独立危险因素 (表 5)。

Kaplan-Meier 分析发现高水平 HSP27、pHSP27 组 MACE 发生时间较 低水平 HSP27、pHSP27 组明显提早, 累积存活时间较 低水平组短 (Log-rank,  $\chi^2=6.915$ ,  $P_{\text{HSP27}}=0.009$ ;  $\chi^2=13.760$ ,  $P_{\text{pHSP27}}<0.001$ ) (图 3)。

表2 不同HSP27水平的急性心力衰竭患者的基线资料

HSP27	例数	年龄(岁)	男性[例(%)]	体重指数(kg/m <sup>2</sup> )	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	吸烟[例(%)]	高血压[例(%)]
低水平	80	70.99±13.55	49(61.3)	23.36±3.24	131.31±20.92	75.78±14.41	20(25.0)	58(72.5)
高水平	58	72.98±12.67	31(53.4)	23.91±3.55	127.31±26.19	71.05±14.26	18(31.0)	43(74.1)
$\chi^2/t/U$ 值		-0.877	0.840	-0.679	0.997	1.909	0.614	0.046
P值		0.382	0.359	0.499	0.320	0.058	0.443	0.830
HSP27		糖尿病[例(%)]	白细胞计数( $\times 10^9/L$ )	中性粒细胞计数( $\times 10^9/L$ )	嗜酸性粒细胞计数( $\times 10^9/L$ )	血红蛋白(g/L)	红细胞分布宽度(%)	血小板计数( $\times 10^9/L$ )
低水平		28(35.0)	6.70±2.19	4.40(3.25, 5.75)	0.95(0.05, 0.15)	122.78±23.76	13.90(13.02, 15.35)	199.70±77.57
高水平		21(36.2)	7.33±2.91	5.05(3.68, 6.33)	0.09(0.04, 0.17)	120.57±31.00	13.75(12.98, 15.55)	220.79±139.40
$\chi^2/t/U$ 值		0.021	-1.441	2 610.500	2 209.500	0.473	2 213.50	-1.134
P值		0.884	0.152	0.210	0.633	0.637	0.646	0.259
HSP27		总胆固醇(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	肌酐( $\mu$ mol/L)	NT-proBNP(ng/L)	CRP(mg/L)
低水平		3.84±1.09	0.97(0.77, 1.40)	1.12±0.36	2.29±0.92	92.5(75.2, 125.5)	3 193(2 007, 6 657)	9.37(3.47, 21.65)
高水平		3.72±1.09	1.12(0.80, 1.42)	1.03±0.26	2.27±0.91	99.0(69.5, 137.0)	4 114(2 364, 9 721)	13.60(3.91, 37.67)
$\chi^2/t/U$ 值		0.602	2 381.500	1.589	0.129	2 433.500	2 562.500	1 062.000
P值		0.548	0.400	0.114	0.897	0.624	0.166	0.200
HSP27		ACEI/ARB[例(%)]	$\beta$ 受体阻滞剂[例(%)]	醛固酮受体拮抗剂[例(%)]	抗血小板药[例(%)]	抗凝药[例(%)]	他汀类药物[例(%)]	MACE[例(%)]
低水平		53(66.3)	45(56.3)	51(63.7)	37(46.3)	53(66.3)	44(55.0)	11(13.8)
高水平		31(53.4)	29(50.0)	31(53.4)	19(32.8)	32(55.2)	29(50.0)	19(32.8)
$\chi^2/t/U$ 值		2.313	0.528	1.480	2.538	1.744	0.337	7.141
P值		0.128	0.467	0.224	0.111	0.187	0.561	0.008

注:符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示;不符合正态分布或方差不齐的计量资料以中位数( $P_{25}, P_{75}$ )表示。HSP27为热休克蛋白 27(低水平、高水平截点为130.31  $\mu$ g/L);HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇;LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇;NT-proBNP为氨基末端脑利尿钠肽前体;CRP为C反应蛋白;ACEI为血管紧张素转换酶抑制剂;ARB为血管紧张素受体阻滞剂;MACE为主要不良心血管事件。总胆固醇、甘油三酯、HDL-C、LDL-C缺失4例。

表3 不同pHSP27水平的急性心力衰竭患者的基线资料

pHSP27	例数	年龄(岁)	男性[例(%)]	体重指数(kg/m <sup>2</sup> )	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	吸烟[例(%)]	高血压[例(%)]
低水平	121	73.13±12.15	71(58.7)	23.41±3.30	130.93±22.71	74.45±14.44	35(28.9)	88(72.7)
高水平	17	62.53±16.58	9(52.9)	24.66±3.58	120.35±25.81	69.06±14.34	3(17.6)	13(76.5)
$\chi^2/t/U$ 值		3.211	0.201	-1.058	1.769	1.444	0.950	
P值		0.002	0.654	0.293	0.079	0.151	0.399	>0.999*
pHSP27		糖尿病[例(%)]	白细胞计数( $\times 10^9/L$ )	中性粒细胞计数( $\times 10^9/L$ )	嗜酸性粒细胞计数( $\times 10^9/L$ )	血红蛋白(g/L)	红细胞分布宽度(%)	血小板计数( $\times 10^9/L$ )
低水平		42(34.7)	6.89±2.57	4.50(3.55, 5.70)	0.90(0.04, 0.16)	121.54±27.03	13.60(13.00, 15.45)	203.80±108.45
高水平		7(41.2)	7.51±2.21	4.80(3.60, 7.00)	0.11(0.06, 0.28)	124.06±27.14	14.50(13.45, 16.05)	242.47±101.30
$\chi^2/t/U$ 值		0.272	-0.953	1 168.000	1 246.000	-0.360	1 221.000	-1.387
P值		0.602	0.342	0.366	0.158	0.719	0.212	0.168
pHSP27		总胆固醇(mmol/L)	甘油三酯(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	肌酐( $\mu$ mol/L)	NT-proBNP(ng/L)	CRP(mg/L)
低水平		3.77±1.10	0.98(0.77, 1.42)	1.10±0.33	2.25±0.91	94.0(74.0, 129.5)	3 373(2 171, 7 079)	9.90(3.60, 25.40)
高水平		3.91±1.05	1.12(1.00, 1.35)	0.99±0.24	2.50±0.95	122.0(69.5, 145.0)	6 712(2 405, 12 415)	13.30(5.91, 24.58)
$\chi^2/t/U$ 值		-0.491	1 149.500	1.304	-1.049	1 145.500	1 219.500	430.500
P值		0.624	0.300	0.195	0.296	0.448	0.171	0.645
pHSP27		ACEI/ARB[例(%)]	$\beta$ 受体阻滞剂[例(%)]	醛固酮受体拮抗剂[例(%)]	抗血小板药[例(%)]	抗凝药[例(%)]	他汀类药物[例(%)]	MACE[例(%)]
低水平		77(63.6)	63(52.1)	73(60.3)	48(39.7)	77(63.6)	64(52.9)	20(16.5)
高水平		7(41.2)	11(64.7)	9(52.9)	8(47.1)	8(47.1)	9(52.9)	10(58.8)
$\chi^2/t/U$ 值		3.157	0.958	0.338	0.338	1.732	<0.001	15.673
P值		0.076	0.328	0.561	0.561	0.188	0.997	<0.001

注:符合正态分布的计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示;不符合正态分布或方差不齐的计量资料以中位数( $P_{25}, P_{75}$ )表示。pHSP27为磷酸化热休克蛋白 27(低水平、高水平截点为43.06  $\mu$ g/L);HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇;LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇;NT-proBNP为氨基末端脑利尿钠肽前体;CRP为C反应蛋白;ACEI为血管紧张素转换酶抑制剂;ARB为血管紧张素受体阻滞剂;MACE为主要不良心血管事件。总胆固醇、甘油三酯、HDL-C、LDL-C缺失4例。\*采用Fisher精确检验。

表 4 HSP27 及其磷酸化对急性心力衰竭患者 MACE 影响的单因素 Cox 分析(n=138)

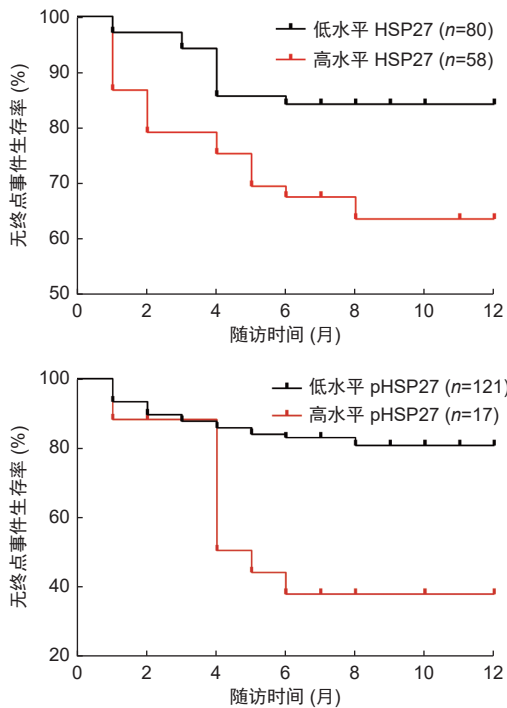
变量	B	SE	Wald $\chi^2$	P	HR	95%CI
HSP27	0.009	0.003	8.736	0.003	1.009	1.003~1.016
pHSP27	0.076	0.021	13.225	<0.001	1.079	1.036~1.124

注: HSP27为热休克蛋白 27; pHSP27为磷酸化热休克蛋白27; MACE为主要不良心血管事件。赋值, MACE, 是=1, 否=0; 连续变量以原始数值进行分析。

表 5 HSP27 及其磷酸化对急性心力衰竭患者 MACE 影响的多因素 Cox 分析(n=138)

变量	B	SE	Wald $\chi^2$	P	HR	95%CI
HSP27	0.009	0.003	7.695	0.006	1.009	1.003~1.016
pHSP27	0.083	0.024	12.153	<0.001	1.078	1.037~1.139

注: 校正性别、年龄、嗜酸性粒细胞计数、血小板计数及氨基末端脑利钠肽前体(NT-proBNP)。HSP27为热休克蛋白 27; pHSP27为磷酸化热休克蛋白27; MACE为主要不良心血管事件。赋值, MACE发生, 是=1, 否=0; 性别, 男=1, 女=0; NT-proBNP进行对数转换; 连续变量以原始数值进行分析。



注: HSP27 为热休克蛋白 27; pHSP27 为磷酸化热休克蛋白 27。

图 3 不同 HSP27 和 pHSP27 水平急性心力衰竭患者的生存曲线

### 3 讨论

近年来,对心血管疾病的深入研究发现,炎症在疾病过程中起到重要作用。急性心力衰竭是心血管疾病中的重要病种,其发病率、致死率明显高于其他疾病,影响心血管疾病患者的生存。Canakinumab 抗炎性血栓形成结果研究(the Canakinumab anti-inflammatory thrombosis outcomes study, CANTOS)发现,卡纳单抗能够减少既往心肌梗死患者(高敏 CRP $\geq 2$  mg/L)的住院心力衰竭发生和死亡,并且与剂量相关<sup>[10]</sup>,该研究印证了炎症在急性心力衰竭中的重要作用,而且提出了

抗炎治疗在心血管疾病中的可能。机械应激是心力衰竭患者免疫激活的触发因素,其所致的左心室超负荷可导致心肌炎,表现为促炎细胞因子释放和白细胞的浸润<sup>[11]</sup>。在心脏重塑中心肌细胞通过分泌炎症细胞因子、趋化因子和损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMP)对刺激作出反应,通过结合 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs),激活 Nod 样受体家族含 pyrin 结构域蛋白 3(Nod-like receptor family pyrin domain-containing protein 3, NLRP3),导致炎症细胞因子的释放,从而诱导心肌肥大,触发心肌纤维化和重塑<sup>[2-3,11]</sup>。炎症反应在早期心肌损伤后修复、心脏重构中起积极作用,但心血管损伤的病理状态,会致使组织中的炎症状态持续存在,称为副炎症状态(para-inflammation)。副炎症状态在生理状态下能够恢复左心室结构和功能,而炎症的进展对心肌细胞和细胞外基质产生不良影响,导致进行性左心室重构和功能障碍<sup>[3,12]</sup>。针对心力衰竭的传统药物在改善心室重构的同时,在心血管损伤过程中具有抗炎作用。Fliser 等<sup>[13]</sup>发现,奥美沙坦治疗的患者高敏 CRP、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和白细胞介素 -6(interleukin, IL-6)浓度分别降低 21.1%、13.6%和 18.0%。Ohtsuka 等<sup>[14]</sup>研究表明, $\beta$ 受体阻滞剂的使用与 TNF- $\alpha$ 浓度的显著降低有关。而盐皮质激素受体的激活,导致 IL-6 和 TNF- $\alpha$ 等促炎细胞因子的表达,激活核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)途径,并使巨噬细胞极化为促炎的 M1 表型。动物实验发现,盐皮质激素受体拮抗剂可以减弱细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)、TNF- $\alpha$ 、IL-6 和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)等促炎介质的表达,减少心肌巨噬细胞的浸润<sup>[15-16]</sup>。

HSP27 作为不依赖 ATP 的分子伴侣,在血管平滑肌和内皮细胞上有不同程度的表达,参与细胞对各种刺激的应激反应。HSP27 的磷酸化位点主要包括丝氨

酸 15(serine 15, ser15)、丝氨酸 78(serine 78, ser78)和丝氨酸 82(serine 82, ser82)。在机体应激状态下, HSP27 能够在蛋白激酶的作用下在不同位点发生磷酸化, 从而发生结构改变, 参与到心血管炎症中。磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB, Akt)信号通路和 p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路是诱导 HSP27 磷酸化的重要信号通路, HSP27 磷酸化参与血管内皮细胞、平滑肌细胞的增殖, 影响其迁移、凋亡过程。本研究检测的 pHSP27 的磷酸化位点为 ser82。本研究发现, 血清 HSP27、pHSP27 水平在急性心力衰竭患者中明显高于对照组。临床研究指出, 在慢性心力衰竭患者中循环 HSP27 水平升高, 与 LVEF 呈负相关<sup>[17-18]</sup>, 提示 HSP27 可能在心力衰竭患者疾病的发生发展中发挥作用。

早期基础实验提示, HSP27 在心力衰竭小鼠模型中发挥保护作用, 与线粒体相关的氧化应激和细胞凋亡相关<sup>[19-20]</sup>。然而, 近年研究发现 HSP27 对 MACE 的发生具有预测价值, 高水平 HSP27 可能与不良事件的发生相关<sup>[17-18, 21-23]</sup>。本研究发现高水平 HSP27 与急性心力衰竭患者 MACE 的发生相关, 与目前研究结果一致。HSP27 在心力衰竭患者中发挥的作用, 仍有待进一步研究。

本研究证实了 HSP27 及其磷酸化在急性心力衰竭中的水平差异, 提示 HSP27 及其磷酸化可能影响急性心力衰竭的疾病过程及预后。但仍存在一定的局限性: 首先, 本研究为单中心研究, 受限于本单位收治的患者病种分布的特点, 对照组以高血压患者为主, 样本来源受限, 样本量不足; 其次, 采用电话随访失访率偏高, 存在信息缺失的可能; 最后, 研究结果还有待进一步基础实验及临床研究证实。

#### 本主题国内外已有的结论

• 炎症在心力衰竭疾病过程中起到重要作用, HSP27 及其磷酸化参与了心血管炎症反应, 高水平 HSP27 可能与不良心血管事件的发生相关。

#### 本文特色与见解

• 急性心力衰竭患者血清 HSP27、pHSP27 水平均明显升高。高水平 HSP27 及其磷酸化与不良预后的发生密切相关。

#### 参考文献

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2020 概要[J]. 中国循环杂志, 2021, 36(6): 521-545.
- [2] Murphy SP, Kakkar R, McCarthy CP, et al. Inflammation in heart failure: JACC state-of-the-art review[J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 75(11): 1324-1340.

- [3] Adamo L, Rocha-Resende C, Prabhu SD, et al. Reappraising the role of inflammation in heart failure[J]. Nat Rev Cardiol, 2020, 17(5): 269-285.
- [4] Wolf D, Ley K. Immunity and inflammation in atherosclerosis[J]. Circ Res, 2019, 124(2): 315-327.
- [5] Ghayour-Mobarhan M, Saber H, Ferns GA. The potential role of heat shock protein 27 in cardiovascular disease[J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(1/2): 15-24.
- [6] Inia JA, O'Brien ER. Role of heat shock protein 27 in modulating atherosclerotic inflammation[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2021, 14(1): 3-12.
- [7] McDonagh TA, Metra M, Adamo M, et al. 2021 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure[J]. Eur Heart J, 2021, 42(36): 3599-3726.
- [8] Shimokawa H, Suda A, Takahashi J, et al. Clinical characteristics and prognosis of patients with microvascular angina: an international and prospective cohort study by the coronary vasomotor disorders international study(COVADIS) group[J]. Eur Heart J, 2021, 42(44): 4592-4600.
- [9] Moazzami K, Wittbrodt MT, Lima BB, et al. Higher activation of the rostromedial prefrontal cortex during mental stress predicts major cardiovascular disease events in individuals with coronary artery disease[J]. Circulation, 2020, 142(5): 455-465.
- [10] Everett BM, Cornel JH, Lainscak M, et al. Anti-inflammatory therapy with canakinumab for the prevention of hospitalization for heart failure[J]. Circulation, 2019, 139(10): 1289-1299.
- [11] Zhang Y, Bauersachs J, Langer HF. Immune mechanisms in heart failure: heart failure and immune mechanisms[J]. Eur J Heart Fail, 2017, 19(11): 1379-1389.
- [12] Mann DL. Innate immunity and the failing heart: the cytokine hypothesis revisited[J]. Circ Res, 2015, 116(7): 1254-1268.
- [13] Fliser D, Buchholz K, Haller H, et al. Antiinflammatory effects of angiotensin II subtype 1 receptor blockade in hypertensive patients with microinflammation[J]. Circulation, 2004, 110(9): 1103-1107.
- [14] Ohtsuka T, Hamada M, Hiasa G, et al. Effect of beta-blockers on circulating levels of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in patients with dilated cardiomyopathy[J]. J Am Coll Cardiol, 2001, 37(2): 412-417.
- [15] Bauersachs J, López-Andrés N. Mineralocorticoid receptor in cardiovascular diseases-clinical trials and mechanistic insights[J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(13): 3119-3134.
- [16] Miura R, Nakamura K, Miura D, et al. Anti-inflammatory effect of spironolactone on human peripheral blood mononuclear cells[J]. J Pharmacol Sci, 2006, 101(3): 256-259.
- [17] 孟晓京, 项宁, 刘亚军. 载脂蛋白 E、热休克蛋白 27 在慢性心力衰竭患者中表达及临床意义[J]. 心脑血管病防治, 2019, 19(1): 57-60.
- [18] 陈伟, 左小淑, 侯果. 慢性心力衰竭患者血清热休克蛋白 27 和可溶性糖蛋白 130 水平与近期预后的相关性[J]. 中国心血管杂志, 2017, 22(4): 248-252.
- [19] 刘莉, 张小进, 钱波, 等. 热休克蛋白 27 对小鼠实验性心力衰竭的保护作用[J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(7): 595-598.
- [20] 刘莉, 张小进, 钱波, 等. 热休克蛋白 27 改善实验性小鼠心力衰竭的机制研究[J]. 中华心血管病杂志, 2008, 36(11): 1021-1026.
- [21] Liu S, Iskandar R, Chen W, et al. Soluble glycoprotein 130 and heat shock protein 27 as novel candidate biomarkers of chronic heart failure with preserved ejection fraction[J]. Heart Lung Circ, 2016, 25(10): 1000-1006.
- [22] Traxler D, Lainscak M, Simader E, et al. Heat shock protein 27 acts as a predictor of prognosis in chronic heart failure patients[J]. Clin Chim Acta, 2017, 473: 127-132.
- [23] Traxler D, Zimmermann M, Simader E, et al. The inflammatory markers sST2, HSP27 and hsCRP as a prognostic biomarker panel in chronic heart failure patients[J]. Clin Chim Acta, 2020, 510: 507-514.