

结缔组织生长因子与冠状动脉粥样硬化性狭窄相关性研究^{*}

张春阳¹, 黄 山^{2△}, 刘志琴² (1. 贵州医科大学研究生院, 贵阳 550001; 2. 贵州省人民医院, 贵阳 550001)

【摘要】 目的 探讨结缔组织生长因子(CTGF)与冠状动脉粥样硬化性狭窄相关性及其临床诊断价值。**方法** 将 197 例行冠状动脉造影的患者按造影结果分为冠心病狭窄组 86 例, 非冠心病狭窄组 64 例, 冠状动脉正常对照组 47 例。采用单因素方差分析探讨各组与对照组间临床基线资料和 CTGF、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 的差异, 采用 Spearman 分析冠状动脉粥样硬化性狭窄程度(Gensini 积分与 CTGF 的相关性, 并绘制 CTGF 的 ROC 曲线, 评价其临床诊断价值)。**结果** 对照组、冠心病与非冠心病冠状动脉狭窄组在吸烟、年龄、性别、高密度脂蛋白胆固醇及细胞因子 CTGF、TGF- β_1 组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$); 血清 CTGF 与 Gensini 积分相关($r = 0.713, P = 0.000$), 通过分析 CTGF 诊断冠状动脉狭窄的 ROC 曲线: 诊断临界值、曲线下面积、敏感度、特异度分别为: 503.65 pg/mL、0.973、92%、94%。**结论** CTGF 与冠状动脉粥样硬化性狭窄相关, 血清 CTGF 水平可作为评估冠状动脉狭窄及严重程度的指标。

【关键词】 冠状动脉粥样硬化性狭窄; 结缔组织生长因子; 相关性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.24.009 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)24-3634-03

The correlation between connective tissue growth factor and coronary artery stenosis^{*} ZHANG Chun-yang¹, HUANG Shan^{2△}, LIU Zhi-qin² (1. Graduate School of Guiyang Medical University, Guiyang, Guizhou 550001, China; 2. People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang, Guizhou 550001, China)

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between connective tissue growth factor (CTGF) and coronary artery stenosis and its clinical diagnostic significance. **Methods** 197 patients were divided into coronary artery stenosis group ($n = 86$), non-coronary artery stenosis group ($n = 64$), and normal control group ($n = 47$), according to their coronary arteriography results. The differences of clinical baseline data, CTGF, and TGF- β_1 among these groups were analyzed by one-way ANOVA. The degree of coronary artery stenosis was assessed by Spearman analysis (the correlation between Gensini score and CTGF). ROC curve was drawn to assess the diagnostic significance of CTGF. **Results** Among coronary artery stenosis group, non-coronary artery stenosis group and normal control group, there were significant differences of smoking history, ages, genders, HDL-C, CTGF and TGF- β_1 . Serum CTGF positively related with Gensini score ($r = 0.713, P = 0.000$). ROC curve showed that the cut-off, AUC, sensitivity and specificity of CTGF for the diagnosis of coronary artery stenosis were respectively 503.65 pg/mL, 0.973, 92% and 94%. **Conclusion** CTGF was correlated with coronary artery stenosis, which could be used as an indicator for the diagnosis of coronary artery stenosis.

【Key words】 coronary artery stenosis; connective tissue growth factor; correlation

近年来,我国心血管疾病发病率和病死率稳居疾病谱的首位,动脉粥样硬化是最重要的致病基础^[1]。结缔组织生长因子(CTGF)是一种生物学作用广泛的富含半胱氨酸的分泌性多肽。正常生理情况下多种组织中均有 CTGF 表达,它参与调节细胞增生、分化、胚胎发育及伤口愈合。在病理情况下,其过度表达与某些增生性或纤维化疾病的发生和发展高度相关^[2]。大量的研究集中在 CTGF 致纤维化、硬化性疾病方面,但是在冠状动脉粥样硬化性疾病方面的系统性研究较少。本研究的目的就是探讨 CTGF 与冠状动脉粥样硬化性狭窄的关系,及其在狭窄诊断中的临床意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取贵州省人民医院 2014 年 5 月至 2015 年 1 月在内心内科病区行冠状动脉造影检查的住院患者 197 例。

纳入标准:左冠状动脉主干、左前降支、左旋支和右主干至少一支狭窄的成年人。按照冠心病诊断标准^[3]将冠状动脉狭窄者分为冠心病狭窄组 86 例,男 66 例,女 20 例;吸烟 42 例,不吸烟 44 例。非冠心病狭窄组 64 例,男 31 例,女 33 例;吸烟 19 例,不吸烟 45 例。冠状动脉造影及体检正常设为冠状动脉正常对照组 47 例,男 17 例,女 30 例,吸烟 8 例,不吸烟 39 例。依据 Gensini 积分^[4]分为轻度狭窄组(0~12 分,64 例)、中度狭窄组(>12~34 分,54 例)重度狭窄组(>34 分,32 例)和冠状动脉正常对照组(47 例)。排除标准:先天性冠状动脉狭窄及畸形,急性心肌梗死,陈旧性心肌梗死病程少于 3 个月,心功能不全(左室射血分数少于 30%),急、慢性炎症反应期患者,自身免疫性疾病,出血性疾病,痛风,肝功能不全(丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶分别高于正常参考值上限的 2

^{*} 基金项目:贵州省省长资金临床应用课题专项研究资助项目[黔省专合字(2012)117 号]。

作者简介:张春阳,男,在读硕士,主管检验师,主要从事动脉粥样硬化及心脏标志物检测。△ 通讯作者, E-mail: huangshan263@sina.com。

倍)、肾功能不全(血肌酐大于 180 $\mu\text{mol/L}$ 和肾小球滤过率小于 90 mL/min),血液透析患者,冠状动脉支架植入后,以及肿瘤患者。对所有纳入研究的人员履行告知义务并签署知情同意书,该研究得到了医院伦理委员会的批准。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 行冠状动脉造影检查术前一天清晨空腹无菌采集肘静脉血,分离血清。

1.2.2 检验方法和试剂 三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、载脂蛋白 A(ApoA)、载脂蛋白 B(ApoB)和脂蛋白 a(LPa)采用奥林巴斯 AU5400 自动生化分析仪(日本)及配套试剂检测;CTGF、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测,试剂盒购于上海瓦兰科技公司,严格按照说明书操作执行。

1.2.3 冠状动脉造影 严格按照 Judkins 法手术操作规程执行,造影结果由 2 位临床经验丰富的医生共同分析诊断,影像诊断医生对研究对象信息并不知晓;依据冠状动脉造影结果参照文献[4]标准计算 Gensini 积分。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计学分析,所

有资料进行正态性(偏度与峰度)和方差齐性 Levene 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;非正态计量变量以中位数(P_{25} 、 P_{75})表示;分类或计数资料以百分数表示;依据检验结果分别采用单因素方差分析、Kruskal-Wallis 秩和检验、 χ^2 检验;正态方差齐变量两两比较采用最小显著差异检验法(LSD 检验),方差不齐变量两两比较采用 DunettT3 法;Spearman 分析用以分析血清 CTGF 水平与 Gensini 积分、TGF- β_1 的相关性;绘制 CTGF 的 ROC 曲线,计算曲线下面积、敏感度,特异度及临界值;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组基线资料和 CTGF 结果比较 见表 1。由表 1 可见,传统危险因素:年龄、性别、吸烟组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。随着年龄、男性占比、吸烟率增长而狭窄程度有增加的趋势;而随着狭窄程度的增加,高密度脂蛋白胆固醇则有下降趋势,组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。这是因为 HDL 是动脉粥样硬化保护性因子;CTGF、TGF- β_1 冠心病组、非冠心病狭窄组与对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 3 组基线资料和 CTGF 结果比较

组别	年龄 (岁)	收缩压 (mm Hg)	舒张压 (mm Hg)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)
冠状动脉正常对照组	57.5±8.9	131±17	78±10	1.69±0.99	4.45±1.1	1.27±0.54	2.56±0.83
非冠心狭窄病组	65.9±10.4*	134±15	77±9	1.79±0.98	4.43±1.0	1.13±0.35*	2.58±0.71
冠心病狭窄组	67.1±10.5*	135±14	78±11	1.92±1.0	4.10±1.1	1.01±0.27*▲	2.46±0.75
F	14.729	1.239	0.228	0.840	2.818	6.894	0.489
P	0.000	0.292	0.796	0.433	0.093	0.001	0.614

续表 1 3 组基线资料和 CTGF 结果比较

组别	ApoA (mmol/L)	ApoB (mmol/L)	CTGF (ng/mL)	TGF- β_1 (ng/mL)	LP (a)(mmol/L)	Gensini 积分
冠状动脉正常对照组	1.28±0.28	0.95±0.25	320.8±127.7	132.8±54.5	79.6(49.6~106.0)	0(0.0~0.0)
非冠心狭窄病组	1.18±0.27*	0.90±0.23	720.3±258.4*	212.8±91.3*	108.7(56.4~150.0)	4.5(3.1~7.0)*
冠心病狭窄组	1.13±0.18*	0.84±0.26	1 036.8±469.1*▲	270.2±138.8*▲	80.9(45.5~150.9)	22.0(17.0~41.3)*▲
F	4.956	2.475	64.557	24.341	—	—
P	0.008	0.266	0.000	0.000	0.102	0.000

注:与冠状动脉正常对照组比较,* $P < 0.05$;与非冠心病狭窄组比较,▲ $P < 0.05$ 。—表示无数据。

2.2 各组 CTGF、TGF- β_1 结果比较 见表 2。以冠状动脉 Gensini 积分,将冠状动脉狭窄者分为轻度狭窄组、中度狭窄组和重度狭窄组。

表 2 各组 CTGF、TGF- β_1 结果比较($\bar{x} \pm s$,pg/mL)

组别	CTGF	TGF- β_1
冠状动脉正常对照组	320.8±127.7	132.8±54.5
冠状动脉狭窄组		
轻度	720.3±258.4*	212.8±91.4*
中度	903.2±377.4*▲	254.7±107.6*▲
重度	1 273.7±525.8*▲#	297.6±180.4*▲
F	60.184	18.013
P	0.00	0.00

注:与冠状动脉正常对照组比较,* $P < 0.05$;与轻度狭窄组比较,▲ $P < 0.05$;与中度狭窄组比较,# $P < 0.05$ 。

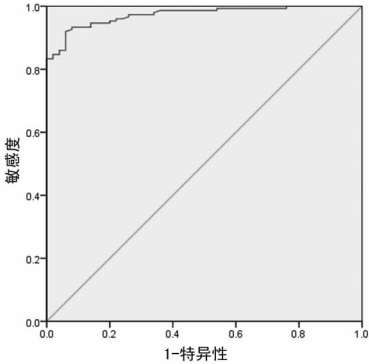


图 1 CTGF 的 ROC 曲线

2.3 CTGF 和 Gensini 积分及 TGF- β_1 相关性分析 经 Spearman 相关分析显示,CTGF 和 Gensini 积分及 TGF- β_1 相关,Gensini 和 TGF- β_1 相关系数(r)分别为 $r = 0.713$, $P =$

0.000; $r=0.778$, $P=0.000$ 。

2.4 CTGF 诊断冠状动脉狭窄的受试者工作曲线(ROC) 见图 1。由 CTGF 工作曲线计算可得到曲线下面积为 0.973, Cut off 值为 503.65 pg/mL, 特异性为 92%, 敏感性为 94%, 诊断指数为 0.86。

3 讨 论

CTGF 是一种富含半胱氨酸的分泌性多肽类生物学功能广泛的生长因子, 正常生理情况下由平滑肌细胞、成纤维细胞和血管内皮细胞合成分泌, 可表现出有丝分裂、调节细胞外基质的产生和血管内膜增厚、调节血管生成并参与机体组织的创伤修复等作用。在动脉粥样硬化斑块形成发展过程中, 血管平滑肌细胞作为粥样组织的重要组成部分, 在 CTGF 作用下血管内膜的完整性遭到破坏, 导致血管平滑肌细胞加速从动脉中膜向内膜迁移, 继而在清道夫膜受体介导下吞噬脂质形成泡沫细胞, 促进动脉粥样硬化发生、发展^[5]。CTGF 过度表达增加血液中单核细胞的趋化性、增加其黏附血管内皮的能力和促进细胞外基质合成, CTGF 的表达调控失衡在动脉粥样硬化等的发生和发展中有十分重要的作用^[6]。在 CTGF 致动脉粥样硬化发生、发展机制中, Ponticos^[6] 和霍晓川等^[7] 从不同方面论证了 CTGF 在动脉粥样硬化形成和发展中的作用。CTGF 的表达量比正常血管中高 50~100 倍, 且在粥样斑块区域表达水平更高, 尤其是纤维帽的肩部, 这样的分布特点可能与易损斑块形成相关。动脉粥样硬化斑块免疫组化分析显示, 血管平滑肌细胞从动脉中膜向内膜迁移形成泡沫细胞是重要环节, 利用 CTGF 干扰核糖核酸重组质粒(CTGF-SiRNA) 内膜的速度明显放缓, 间接延缓了动脉粥样硬化的发展进程, 这也许为治疗动脉粥样硬化提供了新靶标。此外, CTGF 结构功能区有胰岛素样生长因子 1(IGF-1)、sMad2、 α 整合素 $M\beta_2$ 等结合位点, 通过增强基因表达、促进单核细胞黏附等作用, 进而与血管内皮细胞黏附、迁移至内皮下, 吞噬脂质生成单核细胞源性巨噬细胞, 最终形成动脉粥样硬化斑块^[8]。细胞外基质的生成与降解失衡是导致动脉粥样硬化及狭窄的重要原因, 基质金属蛋白酶家族在细胞外基质的平衡维持中发挥重要作用。有研究指出, CTGF 可以增加基质金属蛋白酶的生成, 抑制金属蛋白酶抑制剂的表达, 继而影响细胞外基质的动态平衡, 最终导致血管内膜结构和功能紊乱, 引起血管重构和管腔狭窄^[9]。人基质金属蛋白酶-9(MMP-9) 是一种内切蛋白水解酶, 在动脉粥样硬化的发生、发展及严重程度评估中均发挥作用。罗俊生等^[10] 研究指出, 下调 CTGF 表达, 可以抑制血管平滑肌细胞中 MMP-9 表达, 延缓动脉粥样硬化的发展过程并有望成为预防和治疗的新靶点。细胞外基质的动态平衡被打破也有利于血管平滑肌细胞从中膜迁移至血管内膜下, 加速动脉粥样硬化的形成。本研究中经 Spearman 分析发现, CTGF 与 TGF- β_1 密切相关($r=0.778$, $P=0.000$), CTGF 作为 TGF- β_1 的直接下游效应因子, 其表达受 TGF- β_1 的调节, 并执行 TGF- β_1 介导的相关生物学功能, 刺激细胞外基质合成, 加速血管重构进程, 导致动脉管腔狭窄^[11]。

Gensini 积分是较为权威和系统的冠状动脉狭窄评价体系, 分析显示, CTGF 与 Gensini 积分密切相关($r=0.713$, $P=0.000$), 并且在以积分为依据的分组方案中, 各组间差异有统计学意义($F=60.184$, $P=0.000$), 且随着冠状动脉狭窄程度的增加, 血清 CTGF 水平逐步增高, 且差异有统计学意义($P<0.05$)。Ha 等^[12] 研究认为, 血浆 CTGF 水平可作为评价动脉粥样硬化性疾病发展程度的生物学标志物, 以及危险分层和治

疗的潜在靶点。冠状动脉狭窄在冠心病的发生和发展中占极其重要的地位, 所以对其进行早期诊断十分重要。本文特别分析了 CTGF 的受试者工作曲线, 并计算了相关参数, CTGF 对诊断冠状动脉狭窄的意义重大, 且依据血清表达水平的差异可以评估狭窄程度。

综上所述, 本文认为, 冠状动脉粥样硬化性狭窄是一个多因素相互作用的慢性炎症反应的疾病过程, 血清 CTGF 水平与冠状动脉粥样硬化性狭窄相关, 检测 CTGF 可以有效诊断冠状动脉狭窄及评估冠状动脉狭窄的严重程度。

参考文献

- [1] Hu SS, Kong LZ, Gao RL, et al. Outline of the report on cardiovascular disease in China, 2010 [J]. *Biom Environ Sci*, 2012, 25(3): 251-256.
- [2] Muratoglu SC, Belgrave S, Hampton B, et al. LRP1 protects the vasculature by regulating levels of connective tissue growth factor and HtrA1 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(9): 2137-2146.
- [3] 胡大一. 全国专科医师培训规划教材——心血管内科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 282-336.
- [4] 祝小霞, 丁昂东, 曾胜煌, 等. 冠状动脉狭窄程度与冠心病危险因素的相关性分析 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2014, 16(3): 267-270.
- [5] Hopkins PN. Molecular biology of atherosclerosis [J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(3): 1317-1542.
- [6] Ponticos M. Connective tissue growth factor (CCN2) in blood vessels [J]. *Vascul Pharmacol*, 2013, 58(3): 189-193.
- [7] 霍晓川, 罗俊生, 孙霄云, 等. 结缔组织生长因子腺病毒载体的构建及其对血管平滑肌细胞迁移的影响 [J]. *山东医药*, 2012, 52(4): 30-35.
- [8] Shi WX, Leask A, Abraham D. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN 2 in tissue repair, scarring and fibrosis [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2008, 19(2): 133-144.
- [9] Hall-Glenn F, De Young RA, Huang BL, et al. CCN2/connective tissue growth factor is essential for pericyte adhesion and endothelial basement membrane formation during angiogenesis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30562.
- [10] 罗俊生, 冯旭, 关宁, 等. CTGF-siRNA 转染对血管平滑肌细胞 MMP-2、MMP-9 表达的影响 [J]. *军医进修学院学报*, 2012, 33(9): 960-962.
- [11] Chen C, Wei L, Chen WJ, et al. Serum TGF- β_1 and SMAD3 levels are closely associated with coronary artery disease [J]. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2014, 14(1): 1-7.
- [12] Ha YM, Lee DH, Kim M, et al. High glucose induces connective tissue growth factor expression and extracellular matrix accumulation in rat aorta vascular smooth muscle cells via extracellular signal regulated kinase 1/2 [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2013, 17(8): 307-314.