

[文章编号] 1007-3949 (2011) 19-02-0135-04

· 临床研究 ·

冠心病患者血浆 periostin 蛋白与血管内皮生长因子的相关性

杨 余¹, 丁志坚¹, 朱傲霜¹, 刘小宇¹, 马玲娣², 王芳芳¹

(南京医科大学附属常州第二医院 1. 心内科, 2. 中心实验室, 江苏省常州市 213003)

[关键词] 冠心病; 血浆 periostin 蛋白; 血管内皮生长因子

[摘要] **目的** 测定冠心病患者血浆 periostin 蛋白和血管内皮生长因子水平, 分析 periostin 蛋白与血管内皮生长因子之间的关系并探讨其临床意义。**方法** 采用酶联免疫吸附法测定 180 例冠心病患者 (其中急性心肌梗死患者 58 例, 陈旧性心肌梗死患者 30 例, 不稳定型心绞痛患者 40 例, 稳定型心绞痛患者 52 例) 和 52 例健康体检者血浆 periostin 和血管内皮生长因子水平, 比较各组间的差异有无统计学意义。**结果** 急性心肌梗死组、陈旧性心肌梗死组、不稳定型心绞痛组和稳定型心绞痛组血浆 periostin 蛋白及血管内皮生长因子水平显著高于对照组。在不同类型冠心病患者中, 血浆 periostin 蛋白水平除在陈旧性心肌梗死组与稳定型心绞痛组之间以及不稳定型心绞痛组与陈旧性心肌梗死组之间比较差异无显著性外, 其余各组之间两两比较均有统计学差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且在急性心肌梗死组 > 不稳定型心绞痛组 > 陈旧性心肌梗死组 > 稳定型心绞痛组; 在不同类型冠心病患者中, 血浆血管内皮生长因子水平在各组之间两两比较均具有统计学差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且在急性心肌梗死组 > 不稳定型心绞痛组 > 陈旧性心肌梗死组 > 稳定型心绞痛组。冠心病患者血浆 periostin 水平与血管内皮生长因子水平呈显著正相关 ($r = 0.593, P < 0.01$)。**结论** 血浆 periostin 蛋白与冠心病有密切关系, periostin 蛋白水平增高可能是冠心病发病危险的一个生物指标。冠心病患者血浆 periostin 与血管内皮生长因子呈正相关, periostin 很有可能通过血管生长调节等途径导致粥样硬化斑块的生长及不稳定性进而参与冠心病的发生与发展。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Association of Plasma Periostin Protein and Vascular Endothelial Growth Factor in the Patients with Coronary Heart Disease

YANG Cuan¹, DING Zhi-Jian¹, ZHU Ao-Shuang¹, LIU Xiao-Yu¹, MA Ling-Di², and WANG Fang-Fang¹

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Laboratory Center, Changzhou No. 2 People's Hospital, Affiliated to Nanjing Medical University, Changzhou, Jiangsu 213003, China)

[KEY WORDS] Coronary Heart Disease; Plasma Periostin Protein; Vascular Endothelial Growth Factor

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the plasma levels of periostin protein and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the patients with coronary heart disease (CHD), and to analyse the relationship and clinical significance between periostin protein and VEGF. **Methods** Plasma levels of periostin protein and VEGF in CHD patients ($n = 180$) and healthy controls ($n = 52$) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

The patients with CHD were divided into four groups: acute myocardial infarction (AMI) group ($n = 58$), old myocardial infarction (OMI) group ($n = 30$), unstable angina pectoris (UAP) group ($n = 40$) and stable angina pectoris (SAP) group ($n = 52$).

Results The plasma levels of periostin were not only significantly higher in CHD patients compared to healthy controls in the order of AMI group > UAP group > OMI group > SAP group > healthy controls, but also had statistical significance except OMI group vs SAP group and UAP group vs OMI group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The plasma levels of VEGF were significantly higher in CHD patients compared to healthy controls in the order of AMI group > UAP group > OMI group > SAP group > healthy controls ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The plasma levels of periostin was positively correlated with VEGF ($r = 0.593, P < 0.01$).

Conclusions The plasma levels of periostin significantly correlated with CHD. The increase in plasma levels of periostin may be one of the pathogenesis of coronary heart disease, and periostin may promote

[收稿日期] 2010-12-09

[作者简介] 杨余, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向为心血管病学, E-mail 为 yangcuan82@yahoo.com.cn。朱傲霜, 博士, 主治医师。通讯作者丁志坚, 主任医师, 副教授, 研究方向为心血管病学。

microvessels formation in atherosclerotic plaque via upregulation of VEGF, which was involved in the development and progression of coronary heart disease.

periostin 蛋白最初是在小鼠成骨细胞系中发现的一种粘附蛋白^[1],起初认为其只特异表达于骨组织,最近研究发现,periostin 表达水平与肿瘤组织内小血管的生成密切相关^[2,3],其可通过调节肿瘤内血管内皮生长因子(VEGF)表达及其介导的 VEGF/KDR 信号通路促进肿瘤中小血管的形成从而参与肿瘤的发生、发展和转移^[4-6]。近年来因与心血管病的关系而备受关注,研究显示,periostin 蛋白与动脉粥样硬化关系密切^[7,8],但它在动脉粥样硬化病变中的作用及其确切机制尚不清楚。在动脉粥样硬化斑块中 VEGF 可通过促进动脉粥样斑块中小血管的形成从而促进粥样斑块的生长及不稳定性进而导致冠心病的发生与发展,且有研究表明 VEGF/KDR 信号通路的调节对动脉粥样硬化的发生发展起到重要作用^[9],由此推测 periostin 蛋白也可通过调节粥样斑块内 VEGF 的表达及其介导的 VEGF/KDR 信号通路促进冠心病的发生与发展。然而,目前关于 periostin 蛋白与冠心病之间的研究都仅限于 periostin 在急性心肌梗死动物模型左心室重构及心肌梗死后修复方面,为此本研究观察了冠心病不同类型患者血浆 periostin 蛋白和 VEGF 水平,并探讨它们之间的关系及临床意义。

1 对象和方法

1.1 研究对象

经冠状动脉造影术确诊的冠心病患者 180 例,男 96 例,女 84 例,年龄 63.87 ± 10.90 岁。选自同期在医院健康体检的正常人群 52 例,男 25 例,女 27 例,年龄 61.85 ± 9.86 岁,心电图、胸片、心脏超声、腹部超声及肝肾功能均正常。两组性别、年龄差异均无统计学意义,均衡可比。两组人群均为苏皖地区汉族人,且均对检测知情同意。入选标准:根据 1979 年 WHO 对冠心病的诊断标准来确定研究对象,经冠状动脉造影证实至少有一支主要冠状动脉狭窄 50% 以上。依据 2007 年中华医学会心血管病分会和中华心血管病杂志编辑委员会制定的《心血管病治疗指南和建议》将全部冠心病患者分为四组:稳定型心绞痛(SAP)组、不稳定型心绞痛(UAP)组、急性心肌梗死(AMI)组和陈旧性心梗(OMI)组,其中 SAP 52 例、UAP 40 例、AMI 58 例、OMI 30 例,OMI 中病程最短 3 个月,最长 29 年,平均 8.5 年。

排除标准:排除 1 月内有手术或创伤史、心力衰竭、周围血管疾病、瓣膜病、风心病、肺心病、肿瘤、结缔组织病、骨折以及严重肝肾功能不全患者。

1.2 基线资料收集

详细询问每人的疾病史、家族史、个人史、吸烟史,测量身高、体重和血压等人群基线资料,并作好记录。

1.3 样本采集

所有研究对象均在禁食 12 h 后于清晨采肘静脉血 2 mL,32 g/L 柠檬酸钠抗凝,分离血浆, -70℃ 保存备用。

1.4 血浆 periostin 蛋白和血管内皮生长因子水平检测

采用 ELISA 检测血浆 periostin 蛋白和 VEGF 水平。periostin 蛋白检测试剂盒由上海亚培生物科技有限公司提供,VEGF 检测试剂盒由上海维克特生物有限公司提供。ELISA 试剂盒批内和批间变异系数均低于 10%。

1.5 统计学方法

主要统计指标均进行正态性及方差齐性检验,服从正态分布的连续变量资料用以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量指标组间比较用单变量方差分析(ANOVA),采用偏相关分析矫正性别、年龄等混杂因素后进行数据的相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床基线资料比较

与对照组相比,冠心病组高血压、糖尿病、吸烟者多,体质指数(BMI)、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平偏高,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平则偏低(表 1, Table 1)。

2.2 血浆 periostin 蛋白和 VEGF 水平比较

AMI 组、OMI 组、UAP 组和 SAP 组血浆 periostin 蛋白及 VEGF 水平均显著高于对照组。在不同类型冠心病患者中,血浆 periostin 蛋白水平除在 OMI 组与 SAP 组之间以及 UAP 组与 OMI 组之间比较无统计学差异之外,在其余各组之间两两比较均有统计学差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且在 AMI 组 $>$ UAP 组 $>$ OMI 组 $>$ SAP 组;在不同类型冠心病患者中,血浆 VEGF 水平在各组两两比较均具有统计学差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且在 AMI 组 $>$ UAP 组 $>$ OMI 组 $>$ SAP 组(表 2, Table 2)。

表 1. 冠心病组与对照组临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Comparison of the clinical datas between coronary heart disease group and control group

项 目	对照组 (n=52)	AMI 组 (n=58)	OMI 组 (n=30)	UAP 组 (n=40)	SAP 组 (n=52)
男/女(例)	25/27	34/24	16/14	18/22	28/24
年龄(岁)	61.85 ± 9.86	64.6 ± 10.2	64.8 ± 11.4	63.9 ± 10.7	62.1 ± 11.3
BMI(kg/m ²)	22.42 ± 2.12	25.75 ± 1.96 ^a	23.6 ± 1.89	24.6 ± 2.24	23.8 ± 2.10
高血压史(例)	21(40.4%)	30(51.7%) ^b	15(50.0%) ^b	21(52.5%) ^b	26(50.0%) ^b
糖尿病史(例)	6(11.5%)	13(22.4%) ^b	7(23.3%) ^b	9(22.5%) ^b	11(21.2%) ^b
吸烟史(例)	19(36.5%)	25(43.1%) ^{bc}	13(43.3%) ^{bc}	17(42.5%) ^b	21(40.4%) ^a
HDLC(mmol/L)	1.41 ± 0.36	1.04 ± 0.28 ^a	1.23 ± 0.31	1.15 ± 0.24	1.21 ± 0.32
LDLC(mmol/L)	2.21 ± 0.73	2.59 ± 0.73 ^a	2.30 ± 0.64	2.31 ± 0.68	2.42 ± 0.62
TG(mmol/L)	1.47 ± 1.22	1.99 ± 1.52 ^b	1.84 ± 1.46 ^a	1.93 ± 1.50 ^b	1.90 ± 1.49 ^b

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 SAP 组比较。

表 2. 血浆 periostin 蛋白和 VEGF 水平 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

Table 2. Plasma levels of periostin protein and VEGF

分组	例数	periostin 蛋白	VEGF
AMI 组	58	159.9 ± 50.8 ^{bcdf}	163.3 ± 27.8 ^{bcfg}
OMI 组	30	125.8 ± 48.1 ^b	129.9 ± 23.3 ^{bc}
UAP 组	40	137.1 ± 46.0 ^{bc}	144.0 ± 25.0 ^{bed}
SAP 组	52	110.0 ± 43.4 ^a	115.6 ± 21.9 ^b
对照组	52	90.4 ± 41.0	100.9 ± 19.6

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; c 为 $P < 0.01$, 与 SAP 组比较; d 为 $P < 0.05$, e 为 $P < 0.01$, 与 OMI 组比较; f 为 $P < 0.05$, g 为 $P < 0.01$, 与 UAP 组比较。

2.3 相关性分析

采用偏相关分析将年龄、性别、BMI、高血压史、糖尿病史以及吸烟史做为控制变量校正后对血浆 periostin 蛋白与 VEGF 进行相关性分析, 结果发现, 冠心病患者血浆 periostin 蛋白与 VEGF 水平呈显著正相关 ($r = 0.593$, $P < 0.01$)。

3 讨 论

粥样斑块内的血管新生是动脉粥样硬化进展的重要伴随现象, 随着粥样硬化的进展, 新生血管的检出率增加。这种新生血管没有成熟的管腔, 其内皮间的空间较大, 可使炎症细胞和脂蛋白浸润到粥样斑块中, 同时新生血管破裂易引起斑块内出血, 从而加速斑块的生长甚至破裂^[10]。病理研究发现, 新生的血管密度和斑块稳定性密切相关, 易损斑块的新生血管密度明显高于稳定斑块^[11]。临床研究也证实, 斑块内新生血管形成与斑块破裂、血管壁出血和 UAP 高度相关^[12]。VEGF 家族及其受体是斑块内

新生血管的重要介导因子, 其促血管形成活性主要通过血管内皮细胞特异表达的高亲和力的跨膜受体 VEGFR-2 (又称 KDR 或 Flk-1) 起作用, 且通过 VEGF/KDR 信号通路来完成的。这和肿瘤中小血管的形成促进肿瘤生长的情形类似, 对动脉粥样硬化中不稳定性斑块的形成起着关键性的作用^[13,14]。

periostin 是 1993 年日本学者 Takeshita 等从小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 cDNA 文库中克隆出的一种分泌型的可溶解性的黏附分子, 曾命名为成骨细胞特异因子 2 (OSF-2), 为细胞外基质 (ECM) 蛋白的一种。2004 年在骨膜和牙周韧带中被发现并重新命名为 periostin, 简称 POSTN^[15]。人类 periostin 蛋白基因位于 13 号染色体上, 在染色体位置图上位于 13q13.3, 由 835 个氨基酸编码, 分子量 90 kDa。功能方面, 以前认为 periostin 蛋白仅特异性表达于骨组织, 与骨、牙等矿化组织的形成与再生有关, 后来发现其与肿瘤关系密切, 它可以促进乳腺癌、肺癌、口腔癌、卵巢癌等病灶内小血管的形成^[2,3,6]。进一步研究证实, periostin 可通过整合素 $\alpha v \beta 3$ -FAK 途径上调血管内皮细胞 VEGF 受体 KDR 的表达水平进而激活 VEGF/KDR 信号通路来促进小血管生成进而导致肿瘤的生长及转移, 且 periostin 的血管生成活性与 VEGF 的表达量成正相关^[4,6]。近年来研究发现 periostin 蛋白与动脉粥样硬化之间的关系密切, Lindner 等^[7]发现大鼠球囊损伤的血管内膜中 periostin 的 mRNA 和蛋白表达量明显上调, Bagnato 等^[8]通过蛋白质组学发现 periostin 蛋白存在于人的动脉粥样硬化斑块中, 尤其是在损伤的血管内膜及不稳定性斑块中。然而 periostin 蛋白在动脉粥样硬化中的具体作用及机制目前仍然不清楚。

本研究中, 冠心病各亚组血浆 periostin 蛋白水

平均显著高于对照组;在不同类型冠心病患者中,血浆 periostin 蛋白水平除 OMI 组高于 SAP 组、UAP 组高于 OMI 组但无统计学差异之外,其余各组 periostin 蛋白水平两两比较均有统计学差异,且在 AMI 组 > UAP 组 > OMI 组 > SAP 组;而冠心病各亚组间血浆 VEGF 水平两两比较均有统计学差异。此外,冠心病患者血浆 periostin 蛋白与 VEGF 呈显著正相关。提示 periostin 蛋白与动脉粥样硬化之间存在着密切的关系,血浆 periostin 蛋白水平的高低与冠心病的严重性有关。而 OMI 组血浆 periostin 水平增高,考虑心肌梗死后 periostin 蛋白在梗死区及其周围的心肌细胞中参与修复及左心室重构而导致表达增高^[16,17],因此,高 periostin 血浆水平可能是冠心病的危险性生物标志物之一。由于动脉粥样硬化的发生发展过程中 VEGF/ KDR 信号通路的调节具有非常重要的作用^[9],而肿瘤中 periostin 蛋白可激活 VEGF/ KDR 信号通路来促进小血管生成进而导致肿瘤的生长及转移,因此有理由推测 periostin 蛋白水平的增加可能也上调了 VEGF-KDR 信号系统,从而通过血管生长调节等途径导致粥样硬化斑块的生长及不稳定性进而参与冠心病的发生与发展,periostin 与 VEGF 及其介导的 VEGF-KDR 信号通路有望成为抗动脉粥样硬化治疗的新的分子靶点。

综上所述,periostin 蛋白与冠心病之间有密切关系,冠心病患者 periostin 血浆水平与 VEGF 水平呈显著正相关,这一结果表明 periostin 很有可能通过血管生长调节等途径导致粥样硬化斑块的生长及不稳定性进而参与冠心病的发生与发展。

[参考文献]

- [1] Litvin J, Zhu S, Norris R, et al. Periostin family of proteins: therapeutic targets for heart disease [J]. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 2005, 287 (2) : 1 205-212.
- [2] Contié S, Voorzanger-Rousselot N, Litvin J, et al. Increased expression and serum levels of the stromal cell-secreted protein periostin in breast cancer bone metastases [J]. *Int J Cancer*, 2011, 128 (2) : 352-360.
- [3] Hong L, Sun H, Lv X, et al. Expression of periostin in the serum of NSCLC and its function on proliferation and migration of human lung adenocarcinoma cell line (A549) in vitro [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37 (5) : 2 285-293.
- [4] Rong Shao, Xing Guo. Human microvascular endothelial cells immortalized with human telomerase catalytic protein: a model for the study of in vitro angiogenesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 321 (4) : 788-794.
- [5] Puglisi F, Puppini C, Pegolo E, et al. Expression of periostin in human breast cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2008, 61 (4) : 494-498.
- [6] Ruan K, Bao S, Ouyang G. The multifaceted role of periostin in tumorigenesis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66 (14) : 2 219-230.
- [7] Lindner V, Wang Q, Conley BA, et al. Vascular injury induces expression of periostin: implications for vascular cell differentiation and migration [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25 (1) : 77-83.
- [8] Bagnato C, Thumar J, Mayya V, et al. Proteomics analysis of human coronary atherosclerotic plaque: a feasibility study of direct tissue proteomics by liquid chromatography and tandem mass spectrometry [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2007, 6 (6) : 1 088-102.
- [9] Wang Y, Zheng Y, Zhang W, et al. Polymorphisms of KDR gene are associated with coronary heart disease [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 50 (8) : 760-767.
- [10] Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25 (10) : 2 054-061.
- [11] Moreno PR, Purushothaman KR, Sirol M, et al. Neovascularization in human atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2006, 113 (18) : 2 245-252.
- [12] 刘录山, 杨永宗. 动脉壁血管发生与动脉粥样硬化 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2000, 8 (2) : 182-184.
- [13] Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF) / VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2005, 109 (3) : 227-241.
- [14] Kranz A, Rau c, Kochs M, et al. Elevation of vascular endothelial growth factors-A serum levels following acute myocardial infarction. Evidence for its origin and functional significance [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2000, 32 (1) : 65-72.
- [15] Kruzynska-Frejtak A, Wang J, Maeda M, et al. Periostin is expressed within the developing teeth at the sites of epithelial-mesenchymal interaction [J]. *Dev Dyn*, 2004, 229 (4) : 857-868.
- [16] Oka T, Xu J, Kaiser RA, et al. Genetic manipulation of periostin expression reveals a role in cardiac hypertrophy and ventricular remodeling [J]. *Circ Res*, 2007, 101 (3) : 313-321.
- [17] Iekushi K, Taniyama Y, Azuma J, et al. Novel mechanisms of valsartan on the treatment of acute myocardial infarction through inhibition of the antiadhesion molecule periostin [J]. *Hypertension*, 2007, 49 (6) : 1 409-414.

(此文编辑 文玉珊)