

# 血清骨桥蛋白对冠状动脉支架植入术后再狭窄的预测价值

江珊<sup>1</sup>, 于洪伟<sup>1</sup>, 王伟<sup>2</sup>

(锦州市中心医院 1. 心内科, 2. 骨外科, 辽宁省锦州市 121000)

[关键词] 经皮冠状动脉介入治疗; 支架内再狭窄; 骨桥蛋白

[摘要] **目的** 探讨经皮冠状动脉介入治疗(PCI)后患者血清骨桥蛋白(OPN)水平对支架内再狭窄(ISR)的预测价值。**方法** 收集我院接受PCI后随访1年、复查冠状动脉造影检查的患者120例,其中男68例,女52例,平均年龄为 $59.38 \pm 11.13$ 岁。根据冠状动脉造影结果分为再狭窄组和无再狭窄组,复查冠状动脉造影时检测两组患者血清OPN等生物化学指标,比较两组临床资料、OPN等生物化学指标水平。**结果** 再狭窄组患者血清OPN水平显著高于无再狭窄组,差异有统计学意义( $4.79 \pm 1.09 \mu\text{g/L}$ 比 $3.11 \pm 1.13 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.01$ )。Logistic多因素回归分析显示,OPN升高是PCI后ISR发生的独立危险因素( $\text{OR} = 3.034$ , 95% CI为 $1.532 \sim 6.007$ ,  $P < 0.01$ )。在OPN预测ISR能力的ROC曲线中,其曲线下面积为 $0.872$ , 95% CI为 $0.770 \sim 0.975$ ,  $P < 0.01$ ;当OPN取 $4.16 \mu\text{g/L}$ 时,其阳性预测价值为 $56.5\%$ , 阴性预测价值为 $95.9\%$ , 敏感性为 $76.5\%$ , 特异性为 $89.3\%$ , 准确性为 $88.3\%$ 。**结论** PCI后患者血清OPN水平与ISR密切相关,血清OPN的水平对ISR的发生具有一定的预测价值,尤其是其阴性预测价值高。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

## The Predictive Value of Serum Osteopontin on Restenosis after Coronary Artery Stent Implantation

JIANG Shan<sup>1</sup>, YU Hong-Wei<sup>1</sup>, and WANG Wei<sup>2</sup>

(1. Department of Cardiology, 2. Bone Surgery, The Central Hospital of Jinzhou City, Jinzhou, Liaoning 121000, China)

[KEY WORDS] Percutaneous Coronary Intervention; In-stent Restenosis; Osteopontin

[ABSTRACT] **Aim** To explore the predictive value of serum osteopontin (OPN) level on in-stent restenosis (ISR) after percutaneous coronary intervention (PCI). **Methods** A total of 120 patients (68 males and 52 females) with acute coronary syndrome or stable angina pectoris successfully treated with PCI were collected, who were followed-up for 1 year and reexamined with coronary angiography (CAG). The average age of the patients was  $59.38 \pm 11.13$ . According to the results of CAG, study subjects were divided into ISR group and non-ISR group. Clinical data, serum OPN and other biochemical parameters were analyzed and compared between two groups. **Results** The level of serum OPN was significantly higher in ISR group than that in non-ISR group ( $4.79 \pm 1.09 \mu\text{g/L}$  vs  $3.11 \pm 1.13 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.01$ ). Multivariate Logistic regression analysis revealed that high serum OPN was an independent risk factor of ISR ( $\text{OR} = 3.034$ , 95% CI:  $1.532 \sim 6.007$ ,  $P < 0.01$ ). Area under the receiver operating characteristic curve (ROC) for OPN in evaluating prognosis of ISR patients was  $0.872$  (95% CI:  $0.770 \sim 0.975$ ,  $P < 0.01$ ). The optimal cut-off value of OPN was  $4.16 \mu\text{g/L}$ , at that point, the positive predictive rate for ISR was  $56.5\%$ , negative rate was  $95.9\%$ , sensitivity was  $76.5\%$ , specificity was  $89.3\%$ , and accuracy was  $88.3\%$ . **Conclusions** Serum OPN level is closely related with ISR after PCI. It has a certain predictive value for the occurrence of ISR, and its negative rate is especially high.

经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)已成为治疗冠心病最为有效的手

段之一,术后冠状动脉支架内再狭窄(in-stent restenosis, ISR)一直是PCI的难题及研究热点,而且,有

[收稿日期] 2014-06-18

[修回日期] 2014-10-19

[基金项目] 辽宁省高等学校创新团队项目(LT2012016)

[作者简介] 江珊, 硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管内科学, E-mail 为 jiangshan\_j@aliyun.com。于洪伟, 博士研究生, 副主任医师, 研究方向为介入心脏病学, E-mail 为 phyhw@163.com。通讯作者王伟, 博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为医学组织工程, E-mail 为 weiwang\_ly@yahoo.com.cn。

近 50% ISR 患者并无心绞痛症状。因此,如何早期判断 ISR 的发生,以便及时调整治疗方案,使 PCI 后患者能最大程度获益,一直是人们关注的问题。冠状动脉造影(coronary angiography, CAG)是诊断 ISR 的金标准,但因其有创性及费用昂贵难以广泛开展。骨桥蛋白(osteopontin, OPN)为细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中一种重要的功能性蛋白,研究发现其在血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)迁移、增殖过程中发挥着重要的作用,被认为是血管损伤重塑过程中重要的始动因素<sup>[1-2]</sup>。本研究通过分析 PCI 后患者血清 OPN 水平,探讨血清 OPN 对 PCI 后 ISR 预测的可行性。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

收集 2012 年 2 月至 2013 年 4 月在本院成功施行 PCI 并自愿随访 CAG 的患者 120 例。包括稳定型心绞痛 49 例,急性冠状动脉综合征 71 例,其中男 68 例,女 52 例,平均年龄为  $59.38 \pm 11.13$  岁。排除如下患者:既往有过急性心肌梗死病史、PCI 史及冠状动脉搭桥史;严重左心功能不全(左心室射血分数  $<40\%$ );合并肝、肾、肺、脑等重要脏器功能不全;结缔组织疾病、自身免疫性疾病或恶性肿瘤;术后未能规范服药者。

### 1.2 一般资料的采集

记录入选患者年龄、性别、是否有糖尿病病史、高血压病病史等一般临床资料,将适合行 PCI 的患者按常规方法植入雷帕霉素药物洗脱支架。将冠状动脉病变分为单支病变或多支病变、单部位病变或多部位病变,记录植入支架直径、长度、个数等。术后随访 1 年,记录是否规范服药:包括长期口服阿司匹林、波立维至少 1 年,以及调脂药、 $\beta$ 受体阻滞剂等的情况。

### 1.3 再狭窄的判断

随访过程中,如患者胸痛反复发作,及时复查 CAG;无胸痛发作者,术后 1 年复查 CAG。依据 CAG 对 ISR 的判断标准:支架内及支架前后 5 mm 范围内狭窄  $\geq 50\%$  参考管腔直径,即为 ISR;根据有无 ISR 将研究人群分为再狭窄组和无再狭窄组。

### 1.4 实验室检测

所有患者于复查 CAG 当日空腹 12 h,清晨采集静脉血,置于 10 mL 肝素抗凝管中,以 2000 r/min 离心 10 min,取上层血清分装于 EP 管,部分置于  $-70^\circ\text{C}$  冰箱保存备用,统一测定 OPN 及血清 B 型利钠肽(B-

type natriuretic peptide, BNP),采用 ELISA 法,试剂盒购自美国 ARD 公司。另一部分行血常规、生物化学指标如血糖、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等检测。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析。正态分布资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示;BNP 呈非正态分布,取对数转化成正态分布后进行分析,并以中位数及四分位数表示;分类变量用百分比表示。两组间的比较采用 *t* 检验;计数资料以百分数表示,采用  $\chi^2$  检验;多变量采用 Logistic 回归分析,变量间的相对危险性以 95% 可信区间(95% confidence interval, 95% CI)代表的优势比(odds ratio, OR)表示;运用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)对筛选指标进行评价。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者一般临床情况比较

再狭窄组患者糖尿病患病率、累及前降支比例及 3 支病变比例均明显高于无再狭窄组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ;表 1),而支架直径明显小于无再狭窄组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ;表 1)。两组患者平均年龄、性别比例、高血压患病率、吸烟比例及植入支架长度的比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 1. 两组患者一般临床资料比较

Table 1. The comparison of clinical data of patients in two groups

项 目	再狭窄组 ( <i>n</i> = 17)	无再狭窄组 ( <i>n</i> = 103)	<i>P</i> 值
年龄(岁)	61.47 ± 8.25	59.04 ± 11.96	0.420
男性(例)	9(52.94%)	59(57.28%)	0.738
糖尿病(例)	12(70.59%)	41(39.81%)	0.018
高血压(例)	10(58.82%)	53(51.46%)	0.573
吸烟(例)	11(64.71%)	49(47.57%)	0.191
累及前降支(例)	11(64.71%)	40(38.83%)	0.046
3 支病变(例)	5(29.41%)	10(9.71%)	0.013
支架长度(mm)	27.38 ± 5.24	25.31 ± 4.14	0.069
支架直径(mm)	3.01 ± 0.26	3.24 ± 0.39	0.019

### 2.2 两组患者实验室指标比较

再狭窄组患者血清 LDLC、OPN、CRP 及 BNP 水

平明显高于无再狭窄组,差异均有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ ;表 2)。两组患者血清 TG 及 HDLC 水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.3 Logistic 多因素回归分析

选择单因素分析中有统计学差异的糖尿病患者率、累及前降支比例、3 支病变、支架直径、血清 LDLC、OPN、CRP 及 BNP 水平为自变量,以术后 ISR 为因变量,进行 Logistic 多元回归分析,结果显示支架直径、血清 OPN 及 CRP 水平均进入回归方程,其中血清 OPN 及 CRP 水平对支架术后再狭窄有独立的预测价值,而较大的支架直径为保护性因素( $P <$

表 3. Logistic 多因素回归分析结果

Table 3. Multivariate Logistic regression analysis

变 量	偏回归系数	标准误	Wald $\chi^2$ 值	OR	95% CI	P 值
支架直径	-0.275	0.165	2.778	0.759	0.481 ~ 0.906	0.037
OPN	1.110	0.348	10.142	3.034	1.532 ~ 6.007	0.001
CRP	0.703	0.329	4.559	2.019	1.059 ~ 3.850	0.033

### 2.4 ROC 曲线评价相关因素的诊断价值

根据是否发生 ISR,作血清 OPN 及 CRP 对 ISR 预测能力的 ROC 曲线,其曲线下面积分别为 0.872 (95% CI 为 0.770 ~ 0.975,  $P < 0.01$ )、0.701 (95% CI 为 0.560 ~ 0.841,  $P < 0.01$ ),当 OPN 取 4.16  $\mu\text{g/L}$ 时,其阳性预测价值为 56.5%,阴性预测价值为 95.9%,敏感性为 76.5%,特异性为 89.3%,准确性为 88.3% (图 1)。

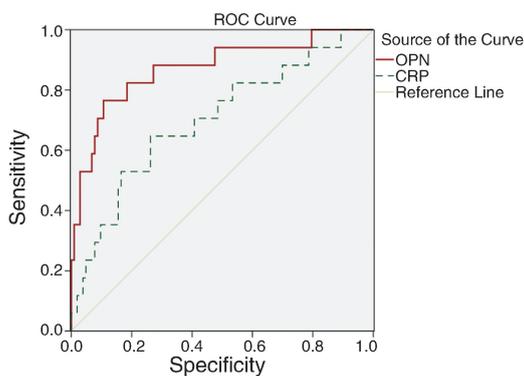


图 1. OPN 及 CRP 水平对 ISR 预测的 ROC 曲线图

Figure 1. ROC curve of the predictive value of OPN and CRP on ISR

## 3 讨论

随着人民生活水平的提高,冠心病的发病率正逐年上升,已经成为威胁人类健康的最重要疾病之一,其主要的病理生理机制是冠状动脉粥样硬化、

0.05,  $P < 0.01$ ;表 3)。

表 2. 两组患者实验室资料比较

Table 2. The comparison of laboratory data of patients in two groups

项 目	再狭窄组 ( $n=17$ )	无再狭窄组 ( $n=103$ )	P 值
TG (mmol/L)	1.40 ± 0.53	1.36 ± 0.36	0.688
TC (mmol/L)	5.28 ± 1.78	4.63 ± 1.27	0.069
LDLC (mmol/L)	3.59 ± 1.20	2.95 ± 0.95	0.016
HDLC (mmol/L)	1.25 ± 0.28	1.31 ± 0.36	0.583
OPN ( $\mu\text{g/L}$ )	4.79 ± 1.09	3.11 ± 1.13	0.000
CRP (mg/L)	8.26 ± 2.24	6.64 ± 2.15	0.005
BNP (ng/L)	216.51 (66.10, 340.12)	183.19 (89.96, 232.36)	0.034

狭窄或闭塞所致的心肌缺血、坏死。PCI 是在药物治疗基础上的一大进步,目前已广泛应用于临床。然而,ISR 严重影响了 PCI 的治疗效果,成为困扰 PCI 的难题。随着医疗技术的进步和器械的发展,尤其是药物涂层支架的广泛应用,ISR 的发生率明显降低,但仍有 5% ~ 10% 的再狭窄率<sup>[3-4]</sup>。ISR 一旦出现,可以引起缺血症状,增加医疗费用,甚至危及患者生命,因此,对 ISR 的筛查及早期诊断尤为重要。

近年来,随着对 ISR 发生发展机制的深入研究,普遍认为中膜处的 VSMC 向内膜下迁移、增殖是 PCI 后 ISR 发生的主要原因和病理生理基础<sup>[5-6]</sup>。其病理发生过程为:PCI 后血管内皮受损,内膜下胶原组织及基质暴露于血流中,引起血小板黏附、聚集及纤维素的沉积,形成富含血小板的血栓,同时伴有各种炎性细胞的浸润,产生和释放血管内皮生长因子、转化生长因子  $\beta$  等多种细胞因子<sup>[7-10]</sup>。在多种炎症介质、细胞因子和生长因子的刺激下,中膜处 VSMC 被激活,发生表型转换并移行至内膜。研究表明,正常情况下, VSMC 呈收缩表型,没有增殖和迁移能力,从收缩表型转变为合成表型是 VSMC 黏附、增殖、迁移的必要条件。被激活的 VSMC 合成和分泌多种生长因子和细胞因子,产生大量胶原、纤维连接蛋白、弹力蛋白、多糖等 ECM,导致血管内膜增生,引起再狭窄<sup>[11-12]</sup>。在血管损伤后,同内膜和中膜一样,血管外膜也被激活,启动修复过程,而且,这一过程的发生先于内膜增生;其意

义可能在于向血管壁输送成纤维细胞(adventitial fibroblast, AF)、炎症介质、细胞因子以及血管祖细胞等成分,从而促进损伤血管的内膜增生<sup>[13]</sup>。

OPN 是一种磷酸化糖蛋白,是 ECM 中一种重要的功能性蛋白,可由破骨细胞、VSMC、血管内皮细胞、巨噬细胞等多种细胞表达<sup>[14]</sup>,参与骨代谢、肿瘤的生长转移、炎症与免疫等过程<sup>[15-17]</sup>。近来,其与心血管方面的研究成为新的热点。研究发现,OPN 是 VSMC 表型转化的标志基因,可与 VSMC 表面整合素受体结合,在 VSMC 黏附、增殖、迁移中起重要作用,被认为是血管损伤修复过程中重要的始动因素<sup>[1]</sup>。新近研究表明,OPN 还可促进外膜 AF 的迁移,与促进 VSMC 迁移相似,OPN 介导的 AF 迁移是通过与细胞表面  $\alpha v \beta 3$  整合素受体结合而发挥其作用的。当血管损伤后,其内膜可释放多种生长因子及细胞因子,促进 AF 转化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MF),而 MF 在细胞内可表达 OPN 并迁移至内膜后分泌 OPN,OPN 又可进一步促进 MF 和 VSMC 向内膜迁移,共同参与了新生内膜的形成,导致血管重塑及 ISR。尽管人们对 OPN 与 ISR 的相关性有了一定认识,但大都局限于动物及细胞水平,缺乏临床证据。而本研究通过对行 PCI 术后患者随访 CAG,同时检测患者血清 OPN 等生物化学指标,发现除支架直径、CRP 与 ISR 相关外,OPN 升高是 PCI 后 ISR 发生的独立危险因素。在 OPN 预测 ISR 能力的 ROC 曲线中,其曲线下面积为 0.872,95% CI 为 0.770~0.975,  $P=0.000$ ;当 OPN 取 4.16  $\mu\text{g/L}$  时,敏感性为 76.5%,特异性为 89.3%,准确性为 88.3%。该结果进一步证实 OPN 与 ISR 的发生密切相关。

总之,ISR 是多重危险因素作用的结果,其机制复杂。本研究发现 OPN 可作为 ISR 发生的一个无创的预测因素,其准确性可达 88.3%,有望成为临床预测 ISR 发生的可靠指标。但本研究样本量偏少,尚需更大样本量的研究来判断 OPN 水平预测 ISR 的准确性以及预测的界值,以便及早进行干预治疗。

#### [参考文献]

[1] Momiyama Y, Ohmori R, Fayad ZA, et al. Associations between plasma osteopontin levels and the severities of coronary and aortic atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 210(2): 668-670.

[2] Remus EW, Lyle AN, Weiss D, et al. miR181a protects against angiotensin II-induced osteopontin expression in vascular smooth muscle cells[J]. *Atherosclerosis*, 2013, 228(1): 168-174.

[3] Vaquerizo B, Serra A, Miranda-Guardiola F, et al. One-year out-

comes with angiographic follow-up of paclitaxel-eluting balloon for the treatment of in-stent restenosis: insights from Spanish multicenter registry[J]. *Interv Cardiol*, 2011, 24(6): 518-528.

- [4] 杨蕾, 王丽娟. 冠状动脉支架内再狭窄的相关性因素分析[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(5): 449-453.
- [5] Oshero AB, Gotha L, Cheema AN, et al. Proteins mediating collagen biosynthesis and accumulation in arterial repair: novel targets for anti-restenosis therapy[J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 91(1): 16-26.
- [6] 徐健, 冯丰, 刘闰男. 骨桥蛋白特异性 siRNA 抑制大鼠球囊损伤动脉内膜的增生[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(11): 2597-601.
- [7] Liu D, Cui W, Liu B, et al. Atorvastatin protects vascular smooth muscle cells from TGF- $\beta 1$ -stimulated calcification by inducing autophagy via suppression of the  $\beta$ -catenin pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 33(1): 129-141.
- [8] Liu QF, Yu HW, You L, et al. Apelin-13-induced proliferation and migration induced of rat vascular smooth muscle cells is mediated by the upregulation of Egr-1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 439(2): 235-240.
- [9] Goncharova EA, Khavin IS, Goncharov DA, et al. Differential effects of formoterol on thrombin and PDGF-induced proliferation of human pulmonary arterial vascular smooth muscle cells[J]. *Respir Res*, 2012, 13(1): 109-120.
- [10] 刘志江, 石蓓, 许官学, 等. 血管内皮生长因子预防血管成形术后再狭窄的机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(1): 22-27.
- [11] Kang SJ, Mintz GS, Park DW, et al. Mechanisms of in-stent restenosis after drug-eluting stent implantation: intravascular ultrasound analysis[J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2011, 4(1): 9-14.
- [12] Guildford AL, Stewart HJ, Morris C, et al. Substrate-induced phenotypic switches of human smooth muscle cells: an in vitro study of in-stent restenosis activation pathways[J]. *J R Soc Interface*, 2011, 8(58): 641-649.
- [13] Li XD, Chen J, Ruan CC, et al. Vascular endothelial growth factor-induced osteopontin expression mediates vascular inflammation and neointima formation via Flt-1 in adventitial fibroblasts[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(9): 2250-2258.
- [14] Fu GX, Xu CC, Zhong Y, et al. Aldosterone-induced osteopontin expression in vascular smooth muscle cells involves MR, ERK, and p38 MAPK[J]. *Endocrine*, 2012, 42(3): 676-683.
- [15] Hsu BR, Fu SH, Hsu S, et al. Interleukin-1 receptor antagonist enhances islet engraftment without impacting serum levels of nitrite or osteopontin[J]. *Transplant Proc*, 2009, 41(5): 1781-1785.
- [16] Zhou Y, Wang JY, Feng H, et al. Overexpression of cIq/tumor necrosis factor-related protein-3 promotes phosphate-induced vascular smooth muscle cell calcification both in vivo and in vitro[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(5): 1002-1010.
- [17] Wang Y, Zhang F, Yang W, et al. Nicotine induces pro-inflammatory response in aortic vascular smooth muscle cells through a NF- $\kappa B$ /osteopontin amplification loop-dependent pathway[J]. *Inflammation*, 2012, 35(1): 342-349.

(此文编辑 曾学清)