

## Rho/ROCK 信号通路与脑动脉硬化患者血液流变学的相关性研究

许忠波<sup>1</sup>, 杜婷婷<sup>1</sup>, 冯欣<sup>3</sup>, 金桂林<sup>2</sup>

(江西中医药大学附属医院 1.急诊科,2.检验科,3.江西省妇幼保健院健康教育科,江西省南昌市 330006)

[关键词] Rho/ROCK 信号通路; 脑动脉硬化; 血液流变学; 相关性

[摘要] **目的** 探讨 Rho/ROCK 信号通路与脑动脉硬化(CAS)患者血液流变学之间的关系。**方法** 选择 CAS 患者 80 例及健康体检者 80 例,收集血液样本,检测相应生物化学指标、Ras 同族体基因家族成员 A(RhoA)、Rho 激酶 2(ROCK2)水平及血细胞比容、全血表观黏度(高切、低切)、血浆黏度。比较 2 组血液流变学指标、RhoA、ROCK2 水平;分析 CAS 患者 RhoA、ROCK2 水平与血液流变学指标的相关性。**结果** CAS 组吸烟比例、体质指数、空腹血糖、餐后 2 h 血糖、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯、血清同型半胱氨酸均高于对照组( $P < 0.05$ )。CAS 组血细胞比容、全血表观黏度(高切、低切)、血浆黏度、ROCK2、RhoA 水平均高于对照组( $P < 0.05$ )。Pearson 相关分析及多重线性回归分析显示,ROCK2 水平与血细胞比容、全血表观黏度高切、低切、血浆黏度呈正相关;RhoA 水平与全血表观黏度(高切、低切)呈正相关。**结论** Rho/ROCK 信号通路与 CAS 患者血液流变学的异常密切相关,可能参与了 CAS 的发生发展。

[中图分类号] R743.1;R5

[文献标识码] A

### Study on the correlation between Rho/ROCK signal pathway and hemorheology in patients with cerebral arteriosclerosis

XU Zhongbo<sup>1</sup>, DU Tingting<sup>1</sup>, FENG Xin<sup>3</sup>, JIN Guilin<sup>2</sup>

(1.Emergency Department, 2.Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, 3.Health Education Department, Maternal and Child Health Hospital of Jiangxi Province, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

[KEY WORDS] Rho/ROCK signal pathway; cerebral arteriosclerosis; hemorheology; correlation

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between Rho/ROCK signal pathway and hemorheology in patients with cerebral arteriosclerosis (CAS). **Methods** Blood samples were collected from 80 CAS patients and 80 healthy persons. The biochemical parameters, the levels of Ras homolog gene family member A (RhoA) and Rho-associated kinase 2 (ROCK2), blood cell-specific volume, whole blood apparent viscosity (high shear and low shear) and plasma viscosity were measured. Hemorheological indexes, RhoA and ROCK2 levels were compared between the two groups. The correlations between RhoA, ROCK2 levels and hemorheological parameters were analyzed in CAS patients. **Results** The smoking rate, body mass index, fasting plasma glucose, 2-hour postprandial plasma glucose, high density lipoprotein cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, triglyceride and serum homocysteine in CAS group were higher than those in control group ( $P < 0.05$ ). The blood cell-specific volume, whole blood apparent viscosity (high shear and low shear), plasma viscosity, ROCK2 and RhoA levels in CAS group were higher than those in control group ( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis and multiple linear regression analysis showed that serum ROCK2 level was positively correlated with blood cell-specific volume, whole blood apparent viscosity (high shear and low shear) and plasma viscosity; RhoA level was positively correlated with whole blood apparent viscosity (high shear and low shear). **Conclusion** Rho/ROCK signal pathway is closely related to abnormal hemorheology in CAS patients, and it may be involved in the occurrence and development of CAS.

[收稿日期] 2018-05-15

[修回日期] 2018-07-03

[基金项目] 江西省卫生计生委中医药科研课题(2016B074);江西省卫生计生委科技计划资助项目(20175334)

[作者简介] 许忠波,硕士研究生,主治医师,讲师,研究方向为脑血管疾病的中西医诊治、循证医学,E-mail 为 aime703@qq.com。通信作者杜婷婷,主治医师,讲师,研究方向为脑血管疾病的中西医诊治,E-mail 为 tingting.du@163.com。

随着我国人口老龄化的进程,脑血管疾病已成为我国居民“第一杀手”,脑动脉硬化(cerebral arteriosclerosis, CAS)的危害性越来越突出<sup>[1]</sup>。CAS作为全身动脉硬化的一部分,特发于脑部的多发性动脉硬化,是脑缺血等急性脑循环障碍的主要发病基础,其发病过程十分复杂,认为主要与吸烟、高血压、血糖血脂代谢异常等危险因素有关<sup>[2]</sup>。CAS起病缓慢,且发病隐匿,缺乏特异性临床表现,多到中年时可有病变出现,随年龄的增长动脉硬化程度呈进行性扩散加重。近年来有研究显示,Rho/ROCK信号通路在动脉粥样硬化发生发展过程中扮演着重要的角色,Rho/ROCK信号通路参与血管通透性、组织收缩和生长等功能有关,能促使细胞迁移、重组细胞骨架和应力纤维形成<sup>[3]</sup>。外国学者通过实验发现,血管壁受到损伤刺激时,激活Rho/ROCK,致肌球蛋白轻链磷酸酯酶磷酸化,内皮细胞功能发生紊乱,一氧化氮合成减少,下调内皮细胞内皮型一氧化氮合酶的表达,诱导效应分子激活核因子 $\kappa$ B通路引起炎症因子的生成,导致细胞膜通透性增加、细胞骨架收缩、血管内皮损伤<sup>[4]</sup>。在CAS起病过程中Rho/ROCK信号通路异常活化可能发挥重要的作用。目前血液流变学检测广泛应用于心、脑血管疾病诊断及治疗上。陈剑飞<sup>[5]</sup>证实血液流变学中相应指标在CAS患者中有明显的改变,血液流变学异常被认为是CAS发生的独立因素。本研究以Rho/ROCK信号通路为靶点,探讨CAS患者Ras同族体基因家族成员A(Ras homolog gene family member A, RhoA)、Rho激酶2(Rho-associated kinase 2, ROCK2)水平与血液流变学指标的相关性。

## 1 资料和方法

### 1.1 研究对象

选择2017年1月至2017年12月于我院就诊的CAS患者80例为CAS组,其中男57例,女23例,年龄56~76岁,平均 $(65.0 \pm 4.3)$ 岁,符合CAS诊断标准<sup>[6]</sup>,排除脑梗死、脑出血、颅内肿瘤等其他脑血管疾病。选取本院同期年龄相仿的健康体检者80例为对照组,其中男44例,女36例,年龄52~72岁,平均 $(64.1 \pm 5.6)$ 岁。本研究通过我院伦理委员会的同意,所有受试者均签署知情同意书。

### 1.2 一般资料收集

收集、记录2组人员身高、体质指数(body mass index, BMI)、动脉血压、心率、吸烟史等;吸烟定义为每天吸卷烟1支以上,连续1年以上。

### 1.3 生物化学指标检测

所有受试者被告知空腹8 h以上,取清晨静脉血10 mL,送至我院检验科,使用日立生物化学自动分析仪(7600-020型)检测空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、餐后2 h血糖(2 hour postprandial plasma glucose, 2hPPG)、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)、血清同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)。

### 1.4 血液流变学指标及RhoA、ROCK2检测

所有受试者,均晨取空腹肘静脉血3 mL, 3000 r/min离心15 min,分别收集血浆及血清。收集样本后送至检验科,血浆使用全自动血流变测试仪(SA-9000型)检测血细胞比容、全血表观黏度(高切、低切)、血浆黏度。血清采用酶联免疫吸附测定法检测RhoA、ROCK2水平。严格按照说明书步骤操作,试剂盒由上海将来实业股份有限公司提供。

### 1.5 统计学方法

研究数据由SPSS 23.0软件处理,采用构成比、 $\bar{x} \pm s$ 进行统计描述。对各计量资料进行正态性检验及方差齐性检验,若服从正态分布且方差齐,采用两独立样本 $t$ 检验,计数资料采用 $\chi^2$ 检验。两变量间相关性采用Pearson直线相关分析。采用多重线性回归分析探讨CAS患者血清ROCK2、RhoA与血液流变学指标间的依存关系。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 研究对象一般资料比较

2组吸烟、BMI、FPG、2hPPG、HDLc、LDLC、TG、Hcy相比差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ;表1);其他项目差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.2 2组血液流变学指标及RhoA、ROCK2水平

CAS组血细胞比容、全血表观黏度(高切、低切)、血浆黏度、RhoA、ROCK2水平均高于对照组( $P < 0.05$ ;表2)。

### 2.3 CAS患者RhoA、ROCK2水平与血液流变学指标的相关性

Pearson直线相关分析显示,CAS组血清RhoA水平与全血表观黏度高切( $r = 0.270, P = 0.016$ )、低切( $r = 0.223, P = 0.047$ )呈正相关,血清ROCK2水平与血细胞比容( $r = 0.263, P = 0.018$ )、全血表观黏度高切( $r = 0.361, P = 0.001$ )、低切( $r = 0.231, P =$

0.039)、血浆黏度( $r=0.234, P=0.037$ )均呈正相关(表3)。

表 1. 2 组一般资料比较

Table 1. Comparison of general data between two groups

项 目	CAS 组 ( $n=80$ )	对照组 ( $n=80$ )	$P$ 值
年龄(岁)	65.0±4.3	64.1±5.6	0.130
身高(cm)	168.0±6.3	170.0±5.2	0.561
心率(次/分)	72±11	68±10	0.671
吸烟[例(%)]	56(70.0)	40(50.0)	<0.001
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	24.28±3.22	23.42±3.21	<0.001
SBP(mmHg)	138±19	122±10	0.026
DBP(mmHg)	75±11	69±7	0.005
FPG(mmol/L)	6.92±2.34	4.32±1.32	<0.001
2hPPG(mmol/L)	12.87±5.40	9.02±2.42	<0.001
TC(mmol/L)	4.92±1.12	4.88±0.66	0.051
TG(mmol/L)	1.81±0.98	1.14±0.42	<0.001
LDLC(mmol/L)	3.94±1.84	2.48±1.52	<0.001
HDLc(mmol/L)	1.12±0.30	1.42±0.22	<0.001
Hcy(mmol/L)	22.3±9.6	10.2±3.4	<0.001

表 2. 2 组血液流变学指标、RhoA、ROCK2 水平比较

Table 2. Comparison of hemorheological indicators, RhoA and ROCK2 levels between two groups

项 目	CAS 组 ( $n=80$ )	对照组 ( $n=80$ )
血细胞比容(%)	49.23±4.31 <sup>a</sup>	44.71±2.31
全血表观黏度高切( $\text{mPa}/\text{s}$ )	6.34±0.36 <sup>a</sup>	4.64±0.15
全血表观黏度低切( $\text{mPa}/\text{s}$ )	13.80±1.31 <sup>a</sup>	11.60±0.31
血浆黏度( $\text{mPa}/\text{s}$ )	1.87±0.16 <sup>a</sup>	1.68±0.11
RhoA( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	1.76±0.31 <sup>a</sup>	0.97±0.06
ROCK2( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	3.21±0.65 <sup>a</sup>	1.24±0.11

a 为  $P<0.05$ , 与对照组比较。

表 3. 血清 RhoA、ROCK2 水平与血液流变学指标的相关性  
Table 3. Correlation between serum RhoA, ROCK2 levels and hemorheological parameters

项 目	RhoA		ROCK2	
	$r$	$P$	$r$	$P$
血细胞比容	0.137	0.226	0.263	0.018
全血表观黏度高切	0.270	0.016	0.361	0.001
全血表观黏度低切	0.223	0.047	0.231	0.039
血浆黏度	0.018	0.872	0.234	0.037

## 2.4 CAS 患者 ROCK2、RhoA 与血液流变学指标的回归分析

将 ROCK2 设为因变量,以血细胞比容、全血表观黏度高切、低切、血浆黏度为自变量,选用逐入法,血细胞比容、全血表观黏度高切、低切、血浆黏度均纳入模型( $F=7.598, P<0.001$ ),最终拟合结果显示,全血表观黏度高切、全血表观黏度低切、血浆黏度、血细胞比容是导致 CAS 患者血清 ROCK2 升高的影响因素。如上法以 RhoA 为因变量,全血表观黏度高切、低切纳入模型( $F=5.534, P=0.006$ ),最终拟合结果显示,全血表观黏度高切、全血表观黏度低切是导致 CAS 患者血清 RhoA 升高的影响因素。上述结果提示变量各项的偏回归系数均有统计学意义,且容差均 $>0.2$ ,VIF 均 $<10$ ,提示各变量间不存在共线性(表4、表5)。

表 4. ROCK2 与血液流变学指标的多重线性回归分析

Table 4. Multiple linear regression analysis of ROCK2 and hemorheological indicators

项 目	B 值	标准差	$t$ 值	$P$ 值	容差	VIF
红细胞比容	0.027	0.011	2.418	0.018	0.935	1.069
全血表观黏度高切	0.546	0.180	3.029	0.003	0.948	1.055
全血表观黏度低切	0.109	0.042	2.598	0.011	0.994	1.006
血浆黏度	0.716	0.292	2.449	0.017	0.982	1.018

表 5. RhoA 与血液流变学指标的多重线性回归分析

Table 5. Multiple linear regression analysis of RhoA and hemorheological indicators

项 目	B 值	标准差	$t$ 值	$P$ 值	容差	VIF
全血表观黏度高切	0.320	0.124	2.590	0.011	0.999	1.001
全血表观黏度低切	0.064	0.030	2.160	0.034	0.999	1.001

## 3 讨 论

Rho/ROCK 通路对动脉粥样硬化的形成起到了重要的作用,包括从内皮细胞的结构功能改变到斑块的形成与破裂<sup>[7]</sup>。该信号通路关键信号分子包括 Rho 蛋白、Rho 激酶和肌球蛋白磷酸酶,具有分子开关功能和信息传递的作用<sup>[8]</sup>。Rho 蛋白为小分子鸟苷酸结合蛋白,具有三磷酸鸟苷酶活性,能介导细胞增生、凋亡和基因表达等功能<sup>[9]</sup>。Rho 激酶又被称为 ROCK,是 Rho 蛋白的下游靶效应分子,ROCK 具有调节细胞收缩、迁移、黏附和增殖等多种功能<sup>[10]</sup>。ROCK 具有 2 个亚型 ROCK1 和 ROCK2,ROCK1 主要分布在心、肝、脾、肺、肾等组织中,

ROCK2 主要存在神经系统、心血管系统等<sup>[11]</sup>。ROCK2 参与了许多心脑血管疾病,如高血压、动脉粥样硬化、心肌梗死、缺血再灌注损伤等。

脑动脉硬化是脑缺血发作的主要发病基础,是各种因素导致的脑动脉管壁变性和硬化的总称。CAS 以动脉粥样硬化为主,临床上脑动脉狭窄及闭塞多是由于脑动脉粥样硬化造成的,包括大、中、小动脉硬化、微小动脉玻璃样变<sup>[12]</sup>。血脂异常是动脉粥样硬化形成的主要因素。本研究显示 CAS 组的 TG、HDL-C、LDL-C 均高于对照组,Hcy 作为预测心脑血管事件发生的风险指标,同样也高于对照组。目前血液流变学检测广泛应用在心、脑血管疾病诊断及治疗上,对 CAS 的诊疗具有一定指导性作用。其中血细胞比容被认为是影响全血表观黏度的决定因素之一,该指数的增高常导致全血表观黏度的增高,影响心、脑血流量灌注。有研究证实,CAS 伴有血细胞比容增高的患者,其脑梗死的发病率高于血细胞比容正常的 CAS 患者<sup>[13]</sup>。全血表观黏度(高切、低切)及血浆黏度均能够直接反应血液黏度。本研究结果显示 CAS 组血液流变学指标均高于对照组,证实 CAS 患者血液黏度高于健康人群。

Rho 激酶拮抗剂法舒地尔可干预 Rho/ROCK 信号通路的激活,抑制动脉内皮细胞炎症反应,起到一定抗动脉粥样硬化的作用<sup>[14]</sup>。本研究结果显示 CAS 患者血清 RhoA、ROCK2 含量要高于健康人群,提示 CAS 患者可能存在 Rho/ROCK 信号通路的激活。Pearson 相关性分析显示,CAS 患者血细胞比容、全血表观黏度(高切、低切)、血浆黏度与血清 ROCK2 呈正相关;全血表观黏度(高切、低切)与 RhoA 呈正相关。本研究通过多重线性回归分析进一步证实,血细胞比容、全血表观黏度(高切、低切)、血浆黏度与 CAS 患者血清中 RhoA、ROCK2 血清含量关系密切,是导致其升高的影响因素。

综上所述,本研究认为 Rho/ROCK 信号通路与 CAS 患者血液流变学的异常密切相关,参与了 CAS 的发生发展,调控该信号通路可能对 CAS 具有一定防治作用,为 CAS 病因及诊治研究提供了新的思路。由于本研究为小样本量的病例对照研究,未来仍需要多中心、大样本的前瞻性研究,以及基础实验对其机制的深入研究,为 CAS 的防治开辟新的

道路。

#### [参考文献]

- [1] 王拥军. 中国脑血管病防治面临的特殊问题[J]. 科学通报, 2016, 61(18): 2020-2026.
- [2] 王玉珍, 何奕涛. 经颅多普勒超声对脑动脉硬化症诊断价值研究[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2013, 16(9): 17-19.
- [3] 李南南, 张军平, 仲爱芹, 等. RhoA/ROCK 信号通路在动脉粥样硬化发生中的作用[J]. 基础医学与临床, 2014, 34(10): 1422-1425.
- [4] Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2006, 290(3): C661-C668.
- [5] 陈剑飞. 脑动脉硬化与血脂及血液流变学关系的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2010; 9.
- [6] 史玉泉. 实用神经病学[M]. 第3版. 上海: 上海科学技术出版社, 2004; 954-956.
- [7] Chen ZY, Yao WJ. Role of Rho/ROCK in the migration of vascular smooth muscle cells[J]. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan, 2013, 44(4): 269-274.
- [8] Li N, Chen J, Zhao J, et al. MicroRNA-3188 targets ETS-domain protein 4 and participates in RhoA/ROCK pathway to regulate the development of atherosclerosis[J]. Pharmacazie, 2017, 72(11): 687-693.
- [9] 韩佳寅, 易艳, 梁爱华, 等. Rho/ROCK 信号通路研究进展[J]. 药理学, 2016, 51(6): 853-859.
- [10] Amano M, Nakayama M, Kaibuchi K. Rho-kinase/ROCK: A key regulator of the cytoskeleton and cell polarity[J]. Cytoskeleton (Hoboken), 2010, 67(9): 545-554.
- [11] Zhou Q, Gensch C, Liao JK. Rho-associated coiled-coil-forming kinases (ROCKs): potential targets for the treatment of atherosclerosis and vascular disease[J]. Trends Pharmacol Sci, 2011, 32(3): 167-173.
- [12] 韩星伟. 慢性缺血性脑血管病与脑动脉硬化性狭窄的关系[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2017, 20(11): 130-131.
- [13] 毛江洪, 汪青山, 钮心怡, 等. 临床血液流变学的研究现状[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(5): 148-151.
- [14] 武多娇, 张怡, 高平进, 等. 法舒地尔抗动脉粥样硬化作用及其机制[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 19(2): 69-74.

(此文编辑 曾学清)