

本文引用: 田丹, 李明飞, 许青, 等. 循环 EphA2、PGRN 与冠状动脉疾病患者内皮炎症及黏附因子的相关性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(1): 49-55, 87. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.01.007.

[文章编号] 1007-3949(2023)31-01-0049-07

· 临床研究 ·

循环 EphA2、PGRN 与冠状动脉疾病患者内皮炎症及黏附因子的相关性

田丹¹, 李明飞², 许青¹, 李晓宇¹, 吕迁洲¹

(复旦大学附属中山医院 1. 药剂科, 2. 心内科, 上海市 200032)

[摘要] **[目的]** 探讨促红细胞生成素产生肝细胞受体 A2 (EphA2)、颗粒蛋白前体 (PGRN) 与冠状动脉疾病 (CAD) 患者内皮炎症及黏附因子的相关性。**[方法]** 入选 2020 年 1 月—12 月复旦大学附属中山医院心内科收治的拟行冠状动脉造影的 73 例 CAD 患者, 入院次日晨空腹采集肘静脉血 5 mL, ELISA 测定血清中 EphA2、PGRN 水平, Premixed Luminex 测定肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 2 (IL-2)、白细胞介素 6 (IL-6)、单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1)、血管细胞黏附分子 1 (VCAM-1) 及 γ 干扰素 (IFN- γ) 水平。**[结果]** 急性冠状动脉综合征 (ACS) 患者血清 EphA2、氨基末端脑钠肽前体 (NT-proBNP)、心肌肌钙蛋白 T (cTnT)、高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 及肌酸激酶同工酶 MB (CK-MB) 心肌损伤标志物水平较慢性冠状动脉综合征 (CCS) 患者升高 6.3 倍、15 倍、161 倍、13 倍、2.5 倍 ($P < 0.001$), 血清 TNF- α 、IL-6 和 VCAM-1 较 CCS 患者升高 37.9%、500.0%、196.6% ($P < 0.01$), 血清 PGRN 水平较 CCS 患者未见明显升高 ($P = 0.051$)。血清 EphA2、PGRN、IL-6、VCAM-1 预测 ACS 的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.932、0.646、0.926 和 0.861。血清 EphA2、VCAM-1、IL-6、TNF- α 、MCP-1 均与 Gensini 评分正相关 ($r = 0.533, P < 0.001; r = 0.549, P < 0.001; r = 0.621, P < 0.001; r = 0.263, P = 0.027; r = 0.264, P = 0.026$)。血清 EphA2 与 IL-6、VCAM-1 呈正相关 ($r = 0.565, P < 0.001; r = 0.474, P < 0.001$)。未见 PGRN 与各炎症因子和黏附因子之间的相关性 ($P > 0.05$)。血清 PGRN、EphA2 与心肌损伤标志物呈正相关 ($P < 0.05$)。**[结论]** 本研究从临床的角度支持 EphA2 参与斑块损伤急性期内皮炎症过程, 同时提示 EphA2、PGRN 有望成为干预内皮炎症与预测动脉粥样硬化病变进展的潜在靶点。

[关键词] 动脉粥样硬化; 急性冠状动脉综合征; 内皮炎症; 黏附因子; 促红细胞生成素产生肝细胞受体 A2; 颗粒蛋白前体

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Correlation between circulating EphA2, PGRN and endothelial inflammatory and adhesion factors in patients with coronary artery disease

TIAN Dan¹, LI Mingfei², XU Qing¹, LI Xiaoyu¹, LÜ Qianzhou¹

(1. Department of Pharmacy, 2. Department of Cardiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the correlation between erythropoietin-producing hepatocellular receptor A2 (EphA2), progranulin (PGRN), and endothelial inflammatory and adhesion factors in patients with coronary artery disease (CAD). **Methods** From January to December 2020, 73 CAD patients who were admitted to the Department of Cardiology of Zhongshan Hospital Affiliated to Fudan University for coronary angiography were selected. 5 mL of elbow vein blood was collected on an empty stomach the next morning after admission. Serum EphA2 and PGRN levels were determined by ELISA, and serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and interferon- γ (IFN- γ) levels were determined by Premixed Luminex. **Results** The levels of serum EphA2, N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiac troponin T (cTnT), high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), creatine kinase isoenzyme-MB (CK-

[收稿日期] 2022-04-25

[修回日期] 2022-07-02

[基金项目] 上海市临床重点专科(临床药学)建设项目 (shslczdk06504)

[作者简介] 田丹, 博士, 主管药师, 研究方向为心血管药理, E-mail: tian.dan@zs-hospital.sh.cn。通信作者吕迁洲, 主任药师, 研究方向为心血管药理和临床药理, E-mail: lv.qianzhou@zs-hospital.sh.cn。

MB) myocardial injury markers in patients with acute coronary syndrome (ACS) were 6.3 times, 15 times, 161 times, 13 times, 2.5 times higher than those in patients with chronic coronary syndrome (CCS) ($P<0.001$), and serum TNF- α , IL-6 and VCAM-1 were 37.9%, 500.0% and 196.6% higher than those in CCS patients ($P<0.01$), and serum PGRN levels were not significantly higher than those in CCS patients ($P=0.051$). The area under curve (AUC) of serum EphA2, PGRN, IL-6, and VCAM-1 in predicting ACS were 0.932, 0.646, 0.926 and 0.861 respectively. Serum EphA2, VCAM-1, IL-6, TNF- α and MCP-1 was positively correlated with Gensini scores ($r=0.533$, $P<0.001$; $r=0.549$, $P<0.001$; $r=0.621$, $P<0.001$; $r=0.263$, $P=0.027$; $r=0.264$, $P=0.026$). Serum EphA2 was positively correlated with IL-6 and VCAM-1 respectively ($r=0.565$, $P<0.001$; $r=0.474$, $P<0.001$). There was no correlation between PGRN and inflammatory factors and adhesion factors ($P>0.05$). Serum PGRN and EphA2 were positively correlated with myocardial injury markers ($P<0.05$).

Conclusions This study supports that EphA2 is involved in the process of endothelial inflammation in the acute stage of plaque injury from a clinical perspective, and suggests that EphA2 and PGRN may be potential targets to intervene in endothelial inflammation and predict the progression of atherosclerotic lesions.

[KEY WORDS] atherosclerosis; acute coronary syndrome; endothelial inflammatory; adhesion factors; erythropoietin-producing hepatocellular receptor A2; progranulin

冠状动脉疾病 (coronary artery disease, CAD) 是全球发病率、死亡率高的主要原因。动脉粥样硬化是引起 CAD、中风和外周动脉疾病等多种重要不良血管事件的原因^[1]。动脉粥样硬化过程作为一个动态演变过程,虽然长期稳定,但随时可能变得不稳定,发生炎症性动脉粥样硬化斑块破裂和血栓并导致急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS)^[2]。据此,2019 年《慢性冠状动脉综合征诊断和治疗指南》将 CAD 分为 ACS 和慢性冠状动脉综合征 (chronic coronary syndrome, CCS)^[3-4]。ACS 是冠状动脉粥样硬化进展的主要表现之一,与内皮功能障碍、炎症和凝血密切相关^[5]。而内皮功能障碍的特征是黏附分子和炎症相关细胞因子的过度表达^[6]。近年来研究发现,促红细胞生成素产生肝细胞受体 A2 (erythropoietin-producing hepatocellular receptor A2, EphA2) 和颗粒蛋白前体 (progranulin, PGRN) 可能参与调节动脉粥样硬化内皮炎症和斑块进展^[7-8]。抑制 EphA2 受体可减轻 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化病变的程度和炎症^[9]。同样, PGRN^{-/-} ApoE^{-/-} 小鼠与 ApoE^{-/-} 小鼠相比发生严重的动脉粥样硬化病变^[10]。基于此,本研究试图评估 CAD 患者血清 EphA2、PGRN 与内皮炎症及黏附因子之间的关联。

1 资料和方法

1.1 研究对象

本研究连续纳入 73 例复旦大学附属中山医院心内科的 CAD 患者。研究周期为 2020 年 1 月—12 月。入选标准:年龄在 40~85 岁之间,行冠状动脉造影术的患者。排除标准:①近 6 个月发生脑血管

病、大动脉疾病、脑梗死的患者;②严重肝肾功能损害、单侧肾切除、恶性肿瘤、自身免疫疾病的患者;③近 3 个月接收外科手术或搭桥的患者;④近 1 个月存在尿路感染、肺部感染等患者;⑤妊娠期哺乳期妇女,拟怀孕的女性患者。本研究经复旦大学附属中山医院伦理委员会批准,对符合标准的患者告知试验方案并签署知情同意书。

1.2 临床数据收集

记录人口学信息和诊疗记录,如姓名、性别、年龄、疾病诊断、伴随疾病、手术过程和药物。通过医院信息管理系统收集患者冠状动脉造影和实验室检测的相关数据。心肌损伤标志物包括氨基末端脑钠肽前体 (N-terminal pro-brain natriuretic peptide, NT-proBNP)、心肌肌钙蛋白 T (cardiac troponin T, cTnT)、高敏 C 反应蛋白 (high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)、肌酸激酶同工酶 MB (creatinine kinase isoenzyme-MB, CK-MB)。计算 Gensini 评分以评估冠状动脉粥样硬化病变的严重程度和复杂性。Gensini 得分等于所有血管分支得分之和 (每个分支得分等于分支加权因子乘以对应的管腔狭窄严重性得分)^[11]。根据血管部位,节段加权系数为 0.5、1、1.5、2.5、5.0。严重程度评分用于反映管腔狭窄的具体百分比,分为 32、16、8、4、2 和 1,分别对应 100%、99%、90%、75%、50% 和 25% 的狭窄。

1.3 样本采集

入院次日清晨,空腹采集患者肘静脉血 5 mL。全血样本于 4℃、3 000 r/min 离心 10 min,收集上清液转移到 2 mL EP 管中,-80℃ 储存。

1.4 EphA2、PGRN 和其他细胞因子水平的测定

使用高灵敏度酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (PGRN

ELISA 试剂盒为 R&D Systems 产品, EphA2 ELISA 试剂盒为 RayBiotech 产品), 根据说明书要求测定 EphA2 和 PGRN 水平。肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素 2 (interleukin-2, IL-2)、单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 和细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 通过 R&D 公司预包被特异性抗体的 Luminex 多因子检测试剂盒测定(试剂盒委托上海优宁维生物科技股份有限公司定制), 450 nm 处测定 OD 值。

1.5 统计学分析

采用 IBM SPSS 22.0 软件分析。分类变量以频数、百分比表示, 采用卡方检验或 Fisher's 精确检验分析其差异。连续变量以 $\bar{x} \pm s$ 或中位数(四分位数)表示, 采用 Shapiro-Wilk 检验评估正态性, 符合正态分布的连续变量采用独立样本 t 检验或方差分析, 否则采用非参数检验中的 Mann-Whitney U 检验。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析所测指标对 ACS 的预测价值。相关性采用 Spearman 或 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线资料比较

一共纳入 73 例患者, 男性 54 例, 女性 19 例, 年龄(64.3 \pm 11.0)岁。ACS 组和 CCS 组人口学特征及危险因素差异无统计学意义($P > 0.05$)。ACS 患者的低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)水平高于 CCS 患者($P < 0.01$)。在合并用药方面, ACS 组血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin-converting enzyme inhibitor, ACEI)/血管紧张素受体拮抗剂(angiotensin receptor antagonist, ARB)和他汀类药物使用比例高于 CCS 组($P < 0.05$; 表 1)。

2.2 冠状动脉造影和心脏超声检查情况

ACS 组 Gensini 评分是 CCS 组的 11.3 倍($P < 0.001$)。ACS 患者三支血管病变程度比 CCS 组严重。心脏超声结果显示, ACS 组左心室收缩期末内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、室间隔厚度(interventricular septal thickness, IVST)较 CCS 组升高 6.7%、10.0% ($P < 0.05$), 左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)较 CCS

组降低 15.4% ($P < 0.001$; 表 2)。

表 1. ACS 组与 CCS 组基线特征、危险因素和实验室检查比较

项目	CCS 组 ($n=36$)	ACS 组 ($n=37$)	P
男性/[例(%)]	23(63.8)	31(83.8)	0.065
年龄/岁	62.8 \pm 10.4	65.8 \pm 11.6	0.252
BMI/(kg/m ²)	24.6 \pm 3.6	25.1 \pm 3.2	0.520
心血管疾病 危险因素/[例(%)]			
高血压	21(58.3)	22(59.5)	1.000
糖尿病	8(22.2)	14(37.8)	0.203
吸烟	11(30.6)	19(51.4)	0.097
饮酒	5(13.9)	5(13.5)	1.000
实验室检查			
血红蛋白/(g/L)	134.7 \pm 16.1	134.9 \pm 17.2	0.893
HbA1c/%	5.8(5.5, 6.1)	5.5(5.4, 5.7)	0.233
尿酸/(μ mol/L)	325.4 \pm 77.7	358.3 \pm 108.5	0.146
BUN/(mg/dL)	5.7 \pm 1.2	5.6 \pm 1.7	0.872
eGFR/[mL/(min \cdot 1.73 m ²)]	87.0 (82.0, 94.0)	73.0 (64.0, 77.5)	0.427
LDL/(mg/dL)	69.3 \pm 27.9	94.2 \pm 31.4	0.001
用药情况/[例(%)]			
抗血小板药物			
0 种	4(11.1)	0(0)	0.059
1 种	27(75.0)	27(73.0)	
2 种	5(13.9)	10(27.0)	
ACEI/ARB	13(36.1)	22(59.5)	0.046
硝酸酯类	11(30.6)	13(35.1)	0.677
他汀类	32(88.9)	37(100)	0.037
β 受体阻滞剂	22(61.1)	19(51.4)	0.401
降糖药	3(8.3)	9(24.3)	0.065

注: BMI: 体质指数; HbA1c: 糖化血红蛋白; BUN: 血尿素氮; eGFR: 估算的肾小球滤过率。

2.3 EphA2、PGRN 和其他细胞因子水平及心肌损伤标志物水平比较

ACS 组 EphA2 水平较 CCS 组升高 6.3 倍($P < 0.001$)。此外, ACS 组血清 TNF- α 、IL-6 和 VCAM-1 水平较 CCS 组分别升高 37.9%、500.0%、196.6% ($P < 0.01$)。ACS 组血清 PGRN、ICAM-1、MCP-1 水平略高于 CCS 组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。ACS 患者的心肌损伤标志物 NT-proBNP、cTnT、hs-CRP、CK-MB 水平较 CCS 患者分别升高 15 倍、161 倍、13 倍、2.5 倍($P < 0.001$; 表 3)。

表 2. ACS 组与 CCS 组患者冠状动脉造影和心脏超声检查结果比较

Table 2. Comparison of coronary angiography and echocardiography results between ACS group and CCS group

项目		CCS 组 (n=36)	ACS 组 (n=37)	P
冠状动脉狭窄程度	LAD/%	20.0(0,40.0)	80.0(40.0,100.0)	<0.001
	CX/%	0(0,10.0)	30.0(0,80.0)	0.001
	RCA/%	0(0,10.0)	90.0(30.0,100.0)	<0.001
	Gensini 评分/分	4.25(1.25,7.5)	48.0(32.0,82.0)	<0.001
超声心动图	AORD/mm	33.3±2.7	34.0±2.8	0.131
	LAD/mm	39.0±3.3	37.8±4.7	0.375
	LVEDD/mm	46.0(43.5,49.5)	49.0(44.0,51.0)	0.422
	LVESD/mm	30.0(28.0,31.0)	32.0(29.0,35.0)	0.017
	IVST/mm	10.0(9.0,11.0)	11.0(10.0,12.0)	0.001
	LVWP/mm	10.0(9.0,10.0)	10.0(9.0,10.0)	0.114
	PASP/mmHg	32.0(30.0,35.0)	32.0(30.0,34.0)	0.568
	LVEF/%	65.0(64.0,67.0)	55.0(49.0,60.0)	<0.001

注: LAD: 左前降支; CX: 回旋支; RCA: 右冠状动脉; AORD: 主动脉根部内径; LAD: 左心房内径; LVWP: 左心室后壁厚度; PASP: 肺动脉收缩压。

表 3. ACS 组与 CCS 组 EphA2、PGRN 和其他细胞因子水平及心肌损伤标志物水平比较

Table 3. Comparison of EphA2, PGRN, other cytokines and myocardial injury markers between ACS group and CCS group

项目	CCS 组 (n=36)	ACS 组 (n=37)	P
PGRN/($\mu\text{g/L}$)	41.9(31.2,50.6)	44.1(40.4,55.4)	0.051
EphA2/(ng/L)	34.9(22.9,88.3)	256.0(173.2,375.0)	<0.001
TNF- α /(ng/L)	6.6(5.4,9.7)	9.1(7.0,12.2)	0.008
IL-6/(ng/L)	1.1(0.8,1.4)	6.6(5.0,12.1)	<0.001
MCP-1/(ng/L)	218.4(173.8,286.2)	283.0(249.0,371.9)	0.063
VCAM-1/($\mu\text{g/L}$)	755.1(520.2,1002.8)	2239.4(1188.7,3116.9)	<0.001
ICAM-1/($\mu\text{g/L}$)	336.6(270.7,452.7)	427.3(288.1,621.3)	0.125
NT-proBNP/($\mu\text{g/L}$)	51.7(34.1,135.1)	846.9(323.3,2185.5)	<0.001
cTnT/($\mu\text{g/L}$)	0.007(0.006,0.010)	1.14(0.45,5.43)	<0.001
hs-CRP/(mg/L)	0.60(0.30,0.90)	8.65(4.65,27.15)	<0.001
CK-MB/(U/L)	15.0(13.0,16.0)	52.0(20.0,133.5)	<0.001

注: IL-2 和 IFN- γ 在测量过程中出现 50% 以上的数据低于最低检测限, 故结果未列出。

2.4 血清 EphA2、PGRN、炎症因子和黏附因子对 ACS 的预测价值

以血清 EphA2、PGRN、炎症因子和黏附因子为检验变量绘制 ROC 曲线, 结果显示, 血清 EphA2、PGRN 预测 ACS 的曲线下面积 (area under curve, AUC) 分别为 0.932 (95% CI: 0.870 ~ 0.994)、0.646 (95% CI: 0.514 ~ 0.779), 截断值分别为 146.7 ng/L、33.4 $\mu\text{g/L}$, 特异度分别为 94.4%、41.7%, 灵敏度分别为 84.8%、97.0%。TNF- α 、IL-6、MCP-1、VCAM-1 和 ICAM-1 预测 ACS 的 AUC 分别为 0.689、0.926、

0.654、0.861 和 0.620, 其中 IL-6、VCAM-1 的特异度分别为 91.7%、91.7%, 灵敏度分别为 90.9%、75.8%, 截断值分别为 2.9 ng/L、1 261.4 $\mu\text{g/L}$ (图 1)。

2.5 EphA2、PGRN 与其他指标的相关性分析

对所有患者血清 EphA2、PGRN 与炎症因子和黏附因子、心肌损伤标志物、Gensini 评分进行相关性分析, 结果显示, 血清 EphA2 与 IL-6、VCAM-1、PGRN 呈正相关 ($r=0.565$, $P<0.001$; $r=0.474$, $P<0.001$; $r=0.281$, $P<0.05$), 但 PGRN 与各类炎症因子

和黏附因子无相关性($P>0.05$)。血清 EphA2 与心肌损伤标志物 NT-proBNP、cTnT、hs-CRP、CK-MB 均呈显著正相关(r 分别为 0.685、0.710、0.462、0.653, $P<0.001$)。血清 PGRN 与 NT-proBNP、cTnT、CK-MB 呈正相关(r 分别为 0.247、0.279、0.307, $P<0.05$)。此外,血清 EphA2 与 Gensini 评分呈正相关($r=0.533, P<0.001$;表 4 和图 2)。

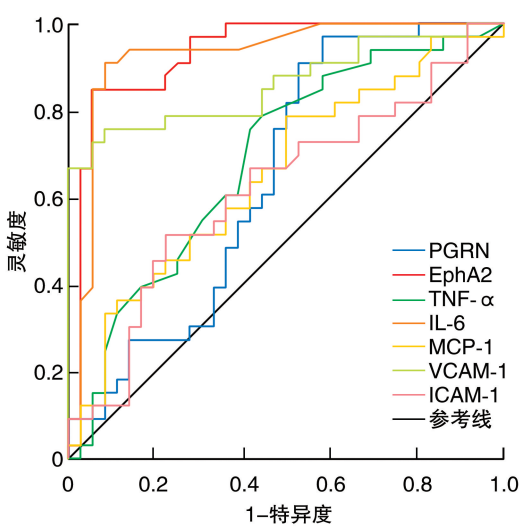


图 1. 血清 EphA2、PGRN、炎症因子和黏附因子对 ACS 的预测价值

Figure 1. Predictive value of serum EphA2, PGRN, inflammatory factors and adhesion factors on ACS

表 4. EphA2、PGRN 与其他指标的相关性分析
Table 4. Correlation of EphA2, PGRN and other indicators

项目	PGRN/($\mu\text{g/L}$)		EphA2/(ng/L)	
	r	P	r	P
TNF- α /(ng/L)	0.036	0.768	0.123	0.316
IL-6/(ng/L)	0.162	0.177	0.565	<0.001
MCP-1/(ng/L)	-0.214	0.073	0.039	0.752
VCAM-1/($\mu\text{g/L}$)	0.175	0.144	0.474	<0.001
ICAM-1/($\mu\text{g/L}$)	0.065	0.592	-0.018	0.882
NT-proBNP/($\mu\text{g/L}$)	0.247	0.035	0.685	<0.001
cTnT/($\mu\text{g/L}$)	0.279	0.017	0.710	<0.001
hs-CRP/(mg/L)	0.184	0.119	0.462	<0.001
CK-MB/(U/L)	0.307	0.008	0.653	<0.001
EphA2/(ng/L)	0.281	0.018	—	—
Gensini 评分/分	0.091	0.443	0.533	<0.001

注:“—”表示无法获得。

2.6 炎症因子和黏附因子与心肌损伤标志物的相关性

血清 TNF- α 与 NT-proBNP、cTnT、hs-CRP 呈正相关($P<0.05$),血清 IL-6、VCAM-1 与 NT-proBNP、cTnT、hs-CRP 及 CK-MB 呈正相关($P<0.001$),而 ICAM-1、MCP-1 与心肌损伤标志物未显示相关性($P>0.05$)。血清 VCAM-1、IL-6、TNF- α 及 MCP-1 均与 Gensini 积分呈正相关($P<0.05$ 或 $P<0.001$;表 5)。

表 5. 炎症因子和黏附因子水平与心肌损伤标志物的相关性

Table 5. Correlation between inflammatory factors, adhesion factors and myocardial injury markers

项目	TNF- α /(ng/L)		IL-6/(ng/L)		MCP-1/(ng/L)		VCAM-1/($\mu\text{g/L}$)		ICAM-1/($\mu\text{g/L}$)	
	r	P	r	P	r	P	r	P	r	P
NT-proBNP/($\mu\text{g/L}$)	0.248	<0.05	0.636	<0.001	0.025	>0.05	0.604	<0.001	0.047	>0.05
cTnT/($\mu\text{g/L}$)	0.255	<0.05	0.767	<0.001	0.113	>0.05	0.612	<0.001	0.049	>0.05
hs-CRP/(mg/L)	0.335	<0.01	0.726	<0.001	0.205	>0.05	0.582	<0.001	0.228	>0.05
CK-MB/(U/L)	0.103	>0.05	0.629	<0.001	0.100	>0.05	0.451	<0.001	-0.055	>0.05
Gensini 评分/分	0.263	<0.05	0.621	<0.001	0.264	<0.05	0.549	<0.001	0.157	>0.05

3 讨论

有证据表明,动脉粥样硬化、神经退行性疾病、关节炎等慢性炎症性疾病的发生发展与促炎介质和促分解介质之间的不平衡有关^[12-13]。对于动脉粥样硬化来讲,早期/稳定斑块的特异性促分解介质/促炎介质比率高于晚期/脆弱斑块^[14]。由此可见,炎症在动脉粥样硬化的发生发展中起着重要的作用,多种炎症因子可作为动脉粥样硬化相关心血

管疾病的预测指标^[15-16]。本研究探究了循环 EphA2、PGRN、内皮炎症因子和黏附因子表达的差异及其相关性,结果发现 ACS 组血清 EphA2 水平较 CCS 组升高。也就是说,对于急性炎症期(斑块破裂、血栓形成),EphA2 表达升高,对于慢性炎症期(通过血运重建、治疗、调整生活方式等使疾病稳定或逐步消退)EphA2 表达逐渐降低,这提示 EphA2 可能与临床上常用的心脏损伤指标类似,可用于提示 CAD 的不同进展阶段。

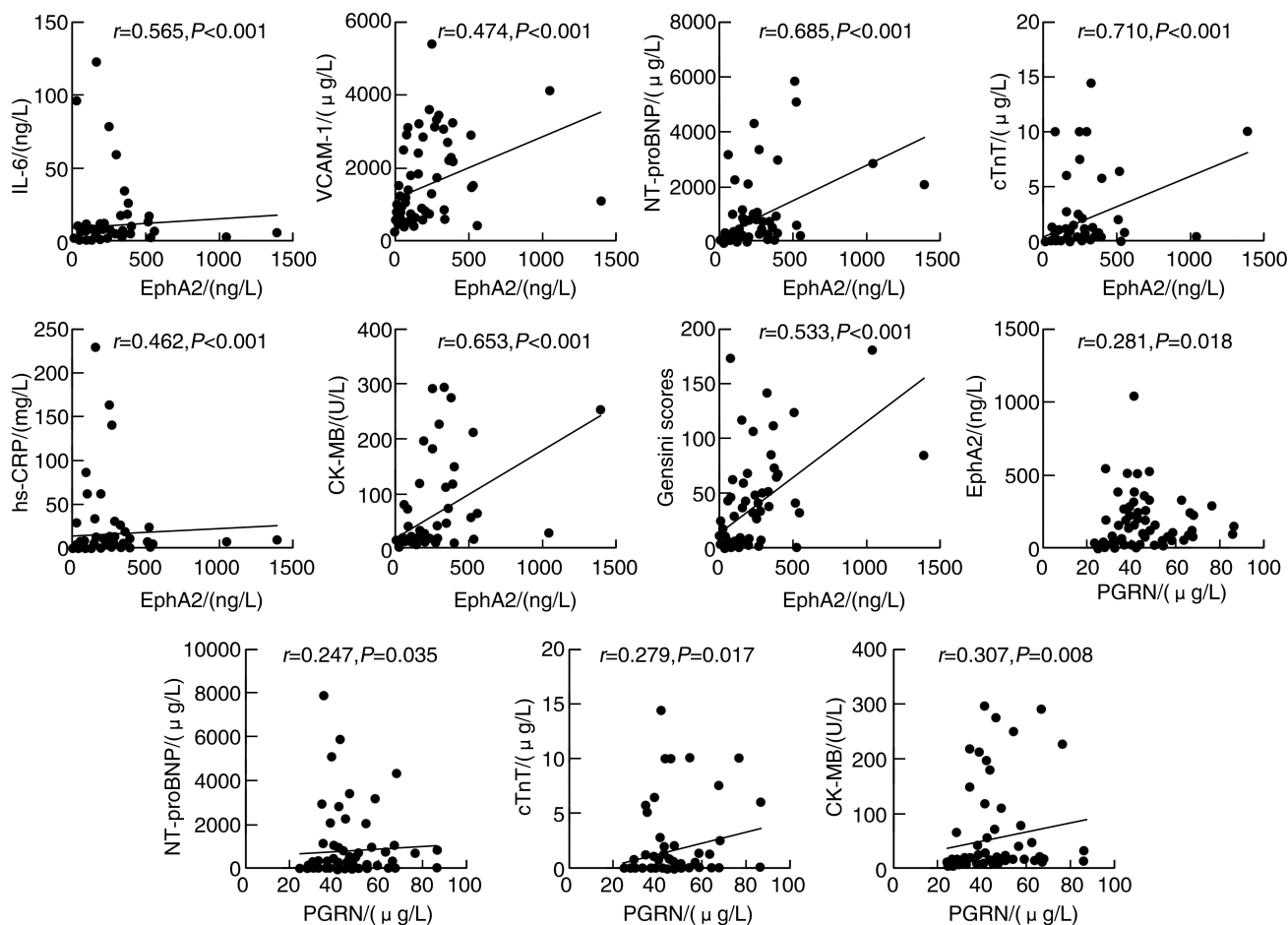


图 2. 血清 EphA2、PGRN 与其他指标的相关性散点图

Figure 2. Scatter diagram of correlations between EphA2, PGRN and other indicators

EphA2 是 Eph/ephrin 系统中的一员,研究发现 Eph/ephrin 信号可介导多种细胞过程,包括血管生成、血管新生、细胞迁移、轴突引导和损伤后修复^[17]。Eph/ephrin 功能失调存在于多种疾病病理过程中,其中就包括动脉粥样硬化^[18]。有学者发现小鼠和人的动脉粥样硬化斑块均显示内皮细胞 EphA2 表达增强,而且 EphA2 受体激活促进内皮细胞炎症反应,抑制 EphA2 受体可减轻 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化病变的程度和炎症^[7,9]。此外,EphA2 基因还存在于与早期心肌梗死相关的人类 1 号染色体(1p36)16 区域及与小鼠动脉粥样硬化易感性增加相关的 4 号染色体区域(athsq1 基因座)^[19-20],这使得 EphA2 有望成为潜在的心肌损伤标志物。王家杰等^[21]发现 PGRN 水平是 ACS 的独立保护因素。但本研究中,ACS 患者的 PGRN 水平与 CCS 患者相比未见明显升高。这可能由于 PGRN 为分泌性蛋白,在体内有多个受体,在慢性炎症中的作用错综复杂^[22];同时 PGRN 可通过蛋白酶水解后释放出单个颗粒蛋白肽,血浆中的载脂蛋白 A1 也可以

与 PGRN 结合而影响循环 PGRN 水平^[23]。

CAD 是一个动态过程,内皮细胞经历炎症激活时,VCAM-1 和 ICAM-1 表达增加促进单核细胞黏附。活化的内皮细胞、T 细胞和泡沫细胞持续释放细胞因子,如 MCP-1^[24]。可见,黏附因子和炎症因子在动脉粥样硬化的发展过程中起着至关重要的作用,也就不难解释 VCAM-1、IL-6 和 MCP-1 水平在 ACS 患者中升高。同时,ROC 曲线显示 EphA2、IL-6 和 VCAM-1 的 AUC 均大于 0.85,预测效果很好,提示 EphA2、PGRN、IL-6 和 VCAM-1 在预测 ACS 方面的潜在价值。

本研究中,EphA2 与 IL-6、VCAM-1 呈正相关,且循环 EphA2、VCAM-1、IL-6、TNF-α、MCP-1 均与 Gensini 评分存在正相关,提示这些因子在评估动脉粥样硬化斑块负荷方面的潜在价值。研究发现,动脉粥样硬化斑块中内皮细胞 EphA2 表达增强,内皮 EphA2 通过促进单核细胞牢固黏附而导致动脉粥样硬化炎症^[7]。与 ApoE^{-/-} 小鼠相比,EphA2^{-/-} ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化斑块形成减少和促炎基因表达

降低^[25]。这些都提示了 EphA2 与 CAD 患者内皮炎症有密切的联系。然而并没有发现 PGRN 与各炎症因子和黏附因子的相关性。这可能是 PGRN 在体内的作用可能因炎症的阶段和微环境而异,比如 PGRN 可逆转炎症性关节炎,但在肥胖和 2 型糖尿病中发挥促炎作用^[22,26-27]。

本研究中,相关性分析显示 EphA2、TNF- α 、IL-6、VCAM-1 分别与心肌损伤标志物 NT-proBNP、cTnT、hs-CRP 和 CK-MB 呈正相关。cTnT 是心肌细胞坏死的特异性标志物,也是 ACS 患者的预后标志物^[28-29]。hs-CRP 血清水平升高从某种程度上反映了强烈的血管炎症反应和心肌损伤。同样,CK-MB 通常在 ACS 发生后 4~6 h 超过正常上限,联合检测 CK-MB、cTnT 和 NT-proBNP 水平对 ACS 的早期诊断非常重要。研究表明,多种细胞因子(IL-1 家族、TNF- α 家族、趋化因子、脂肪因子、干扰素)参与了动脉粥样硬化斑块不稳定的整个过程,导致心肌梗死的发生,尤其是 IL-1 和 TNF- α 家族参与了心肌梗死后炎症细胞聚集、易损斑块形成、血小板聚集、心肌细胞凋亡和不良重塑^[30]。因此,炎症因子与常见心肌损伤标志物的相关性恰恰体现了斑块不稳定性与内膜炎症的密切关系。Postadzhiyan 等^[28]也认为 VCAM-1 的释放实际上先于心肌损伤,即 VCAM-1 的升高早于 cTnT 的升高,通过检测 VCAM-1 水平甚至可以在微血管完全阻塞之前就可识别出不稳定性动脉粥样硬化斑块的形成。

综上所述,本研究初步探究了循环 EphA2 作为 CAD 严重程度的标志物的可能性。从临床的角度支持 EphA2 参与斑块损伤急性期内皮炎症过程,同时提示 EphA2、PGRN 有望成为干预内皮炎症与预测粥样硬化病变进展的潜在靶点。不过本研究样本量较少,未能设置随访周期,在结果解读方面还需要慎重,后续也将通过更大样本、更完善的研究设计来评估两个指标作为疾病标志物的价值。

[参考文献]

- [1] TALEB S. Inflammation in atherosclerosis[J]. Arch Cardiovasc Dis, 2016, 109(12): 708-715.
- [2] KNUUTI J, WIJNS W, SARASTE A, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes[J]. Eur Heart J, 2020, 41(3): 407-477.
- [3] SARASTE A, BARBATO E, CAPODANNO D, et al. Imaging in ESC clinical guidelines; chronic coronary syndromes[J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2019, 20(11): 1187-1197.
- [4] 王 昊, 刘梅林. 《2019 年欧洲心脏病学会慢性冠状动脉综合征诊断和管理指南》——老年慢性冠状动脉综合征管理解读[J].

中国介入心脏病学杂志, 2019, 27(9): 484-485.

- WANG H, LIU M L. 2019 European Society of Cardiology guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndrome: interpretation of the management of chronic coronary syndrome in the elderly[J]. Chin J Intervent Cardiol, 2019, 27(9): 484-485.
- [5] ABBATE R, CIONI G, RICCI I, et al. Thrombosis and acute coronary syndrome[J]. Thromb Res, 2012, 129(3): 235-240.
- [6] GIMBRONE M A J R, GARCÍA-CARDEÑA G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis[J]. Circ Res, 2016, 118(4): 620-636.
- [7] FUNK S D, YURDAGUL A J R, ALBERT P, et al. EphA2 activation promotes the endothelial cell inflammatory response: a potential role in atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(3): 686-695.
- [8] LIU L, SHI Z, JI X, et al. Adipokines, adiposity, and atherosclerosis[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(5): 272.
- [9] JIANG H, LI X, ZHANG X, et al. EphA2 knockdown attenuates atherosclerotic lesion development in ApoE^{-/-} mice[J]. Cardiovasc Pathol, 2014, 23(3): 169-174.
- [10] KAWASE R, OHAMA T, MATSUYAMA A, et al. Deletion of progranulin exacerbates atherosclerosis in ApoE knockout mice[J]. Cardiovasc Res, 2013, 100(1): 125-133.
- [11] BEKLER A, BARUTCU A, TENEKECIOGLU E, et al. The relationship between fragmented QRS complexes and syntax and Gensini scores in patients with acute coronary syndrome[J]. Kardiol Pol, 2015, 73(4): 246-254.
- [12] FREDMAN G, MACNAMARA K C. Atherosclerosis is a major human killer and non-resolving inflammation is a prime suspect[J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(13): 2563-2574.
- [13] AHMAD M A, KAREEM O, KHUSHTAR M, et al. Neuroinflammation; a potential risk for dementia[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(2): 616.
- [14] FREDMAN G, TABAS I. Boosting inflammation resolution in atherosclerosis: the next frontier for therapy[J]. Am J Pathol, 2017, 187(6): 1211-1221.
- [15] 董亚兰, 胡德胜. 动脉粥样硬化的炎症应答特征及运用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(4): 304-312.
- DONG Y L, HU D S. Characteristics and application of inflammatory response in atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(4): 304-312.
- [16] WALLENTIN L, ERIKSSON N, OLSZOWKA M, et al. Plasma proteins associated with cardiovascular death in patients with chronic coronary heart disease: a retrospective study[J]. PLoS Med, 2021, 18(1): e1003513.
- [17] HONG J Y, SHIN M H, DOUGLAS I S, et al. Inhibition of EphA2/ephrinA1 signal attenuates lipopolysaccharide-induced lung injury[J]. Clin Sci(Lond), 2016, 130(21): 1993-2003.
- [18] FUNK S D, ORR A W. Ephs and ephrins resurface in inflammation, immunity, and atherosclerosis[J]. Pharmacol Res, 2013, 67(1): 42-52.

(下转第 87 页)

- vascular smooth muscle cells via regulating miR-214-3p and STIM1[J]. Life Sci, 2020, 259: 118251.
- [55] PENG W, LI T, PI S, et al. Suppression of circular RNA circDHCR24 alleviates aortic smooth muscle cell proliferation and migration by targeting miR-149-5p/MMP9 axis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 529(3): 753-759.
- [56] WANG L, SHEN C, WANG Y, et al. Identification of circular RNA hsa_circ_0001879 and hsa_circ_0004104 as novel biomarkers for coronary artery disease[J]. Atherosclerosis, 2019, 286: 88-96.
- [57] GUO M, YAN R, JI Q, et al. IFN regulatory factor-1 induced macrophage pyroptosis by modulating m6A modification of circ_0029589 in patients with acute coronary syndrome[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 86: 106800.
- [58] WANG X, BAI M. CircTM7SF3 contributes to oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis, inflammation and oxidative stress through targeting miR-206/ASPH axis in atherosclerosis cell model *in vitro*[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2021, 21(1): 51.
- [60] HE Q, SHAO D, HAO S, et al. CircSCAP aggravates oxidized low-density lipoprotein-induced macrophage injury by upregulating PDE3B by miR-221-5p in atherosclerosis[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2021, 78(5): e749-e760.
- [61] XU F, SHEN L, CHEN H, et al. circDENND1B participates in the antiatherosclerotic effect of IL-1 β monoclonal antibody in mouse by promoting cholesterol efflux via miR-17-5p/Abca1 axis[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 652032.
- [62] 瞿媛, 顾宁. 微小RNA在动脉粥样硬化易损斑块中的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(6): 548-552.
- QU Y, GU N. Research progress of microRNA in atherosclerotic vulnerable plaque[J]. Chin J Arterioscler, 2020, 28(6): 548-552.
- [62] 田进伟, 符亚红. 动脉粥样硬化易损斑块快速进展机制与临床治疗进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(4): 277-280.
- TIAN J W, FU Y H. The mechanism of progression and clinical intervention of atherosclerotic vulnerable plaque[J]. Chin J Arterioscler, 2019, 27(4): 277-280.
- [63] YU F, ZHANG Y, WANG Z, et al. Hsa_circ_0030042 regulates abnormal autophagy and protects atherosclerotic plaque stability by targeting eIF4A3[J]. Theranostics, 2021, 11(11): 5404-5417.
- [64] WEI M Y, LV R R, TENG Z. Circular RNA circHIPK3 as a novel circRNA regulator of autophagy and endothelial cell dysfunction in atherosclerosis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(24): 12849-12858.
- (此文编辑 许雪梅)

(上接第 55 页)

- [19] WANG Q, RAO S, SHEN G Q, et al. Premature myocardial infarction novel susceptibility locus on chromosome 1p34-36 identified by genomewide linkage analysis[J]. Am J Hum Genet, 2004, 74(2): 262-271.
- [20] WELCH C L, BRETSCHGER S, LATIB N, et al. Localization of atherosclerosis susceptibility loci to chromosomes 4 and 6 using the LDLR knockout mouse model[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(14): 7946-7951.
- [21] 王家杰, 王永祥, 彭瑜, 等. 血浆颗粒蛋白前体与急性冠状动脉综合征的相关性研究[J]. 临床心血管病杂志, 2021, 37(12): 1090-1094.
- WANG J J, WANG Y X, PENG Y, et al. Correlation between plasma granule protein precursors and acute coronary syndrome[J]. J Clin Cardiol, 2021, 37(12): 1090-1094.
- [22] JIAN J, KONOPKA J, LIU C. Insights into the role of progranulin in immunity, infection, and inflammation[J]. J Leukoc Biol, 2013, 93(2): 199-208.
- [23] OKURA H, YAMASHITA S, OHAMA T, et al. HDL/apolipoprotein A-I binds to macrophage-derived progranulin and suppresses its conversion into proinflammatory granulins[J]. J Atheroscler Thromb, 2010, 17(6): 568-577.
- [24] SZMITKO P E, WANG C H, WEISEL R D, et al. New markers of inflammation and endothelial cell activation: part I[J]. Circulation, 2003, 108(16): 1917-1923.
- [25] FINNEY A C, FUNK S D, GREEN J M, et al. EphA2 expression regulates inflammation and fibroproliferative remodeling in atherosclerosis[J]. Circulation, 2017, 136(6): 566-582.
- [26] TANG W, LU Y, TIAN Q Y, et al. The growth factor progranulin binds to TNF receptors and is therapeutic against inflammatory arthritis in mice[J]. Science, 2011, 332(6028): 478-484.
- [27] LI H, ZHANG Z, FENG D, et al. PGRN exerts inflammatory effects via Sirt1-NF-kappaB in adipose insulin resistance[J]. J Mol Endocrinol, 2020, 64(3): 181-193.
- [28] POSTADZHIYAN A S, TZONTICHEVA A V, KEHAYOV I, et al. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and their association with clinical outcome, troponin T and C-reactive protein in patients with acute coronary syndromes[J]. Clin Biochem, 2008, 41(3): 126-133.
- [29] 唐锴, 帅壮, 李宗宇, 等. 急性冠状动脉综合征生物标志物的研究现状[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(5): 451-455.
- TANG K, SHUAI Z, LI Z Y, et al. Research status of biomarkers for acute coronary syndrome[J]. Chin J Arterioscler, 2021, 29(5): 451-455.
- [30] MOUROUZIS K, OIKONOMOU E, SIASOS G, et al. Pro-inflammatory cytokines in acute coronary syndromes[J]. Curr Pharm Des, 2020, 26(36): 4624-4647.
- (此文编辑 文玉珊)