

血清高迁移率族蛋白 2 与冠状动脉支架内再狭窄的关系研究

陈秋静 何玉虎 丁风华 陆林

【摘要】 目的:探讨血清高迁移率族蛋白 2(HMGB2)与冠状动脉支架内再狭窄(ISR)的关系。 方法:在行经皮冠状动脉介入术并于约 1 年后行冠脉动脉造影复查的 2 513 例患者中,262 例为 ISR 患者(ISR 组),于剩余患者中随机入选 298 例无 ISR 的冠心病患者作为对照(无 ISR 组)。检测患者血清 HMGB2 水平及生化指标,并收集患者的临床资料。多变量 logistic 回归分析发生 ISR 的独立危险因素。 结果:ISR 组血清 HMGB2 水平显著高于无 ISR 组($P < 0.001$)。与无 ISR 组相比,ISR 组患者的吸烟率及糖尿病、高脂血症和心肌梗死的发生率更高,血清肌酐、总胆固醇、高敏 C 反应蛋白、低密度脂蛋白胆固醇水平更高,使用胰岛素治疗更多,冠状动脉病变更严重,累及的血管更多,肾小球滤过率、血清高密度脂蛋白胆固醇、左室射血分数更低,使用双重抗血小板治疗及他汀类药物治疗更少,支架直径更小(P 均 < 0.05)。HMGB2 水平按三分位数分组,多变量 logistic 回归分析在校正了可能的混杂因素后,血清 HMGB2 高水平组发生 ISR 的风险是低水平组的 6.532 倍($OR = 6.532, 95\% CI: 3.605 \sim 11.834, P < 0.001$),中水平组发生 ISR 的风险是低水平组的 2.175 倍($OR = 2.175, 95\% CI: 1.207 \sim 3.919, P = 0.010$)。 结论:血清 HMGB2 水平与 ISR 的发生相关,是 ISR 的独立危险因素。

【关键词】 高迁移率族蛋白 2;支架内再狭窄;内膜增生

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.05.015

Association of serum HMGB2 levels with in-stent restenosis CHEN Qiuqing, HE Yuhu, DING Fenghua, LU Lin. Department of Cardiology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

【Abstract】 Objective: To investigate the association of serum high-mobility group box-2 (HMGB2) levels with in-stent restenosis (ISR). **Methods:** From 2 513 patients undergoing percutaneous coronary artery intervention and follow-up angiography at approximately one year, 262 patients were diagnosed with ISR, while 298 patients without ISR were randomly included as controls. Serum HMGB2 levels and biochemical indexes were examined. General clinical data of the study subjects were collected. Multivariable logistic regression was used to analyze the independent risk factors of ISR. **Results:** Serum HMGB2 levels were significantly higher in patients with ISR than those without ISR ($P < 0.001$). Patients with ISR had higher rates of smoking, diabetes mellitus, hyperlipidemia and history of myocardial infarction, higher values of serum creatinine, total cholesterol, LDL cholesterol and hsCRP, lower values of GFR, serum HDL cholesterol and left ventricular ejection fraction, more insulin treatment, more involved vessels, severer lesions in coronary arteries, less treatment of double antiplatelet and statin, and smaller stent diameter, as compared with patients without ISR (all $P < 0.05$). We further divided the patients based upon the tertile distribution of HMGB2. Multivariable

基金项目:国家自然科学基金(81400215)

作者单位:200025 上海交通大学医学院附属瑞金医院心内科

通信作者:陆林,Email:rjlulin1965@163.com

logistic regression analysis showed that HMGB2 level was an independent determinant of ISR with an odds ratio of 6.532 (95% CI: 3.605~11.834, $P<0.001$) and 2.175 (95% CI: 1.207~3.919, $P=0.010$) for tertile 3 and 2 compared with tertile 1 after correction of possible confounding factors. **Conclusion:** Serum HMGB2 level is associated with the presence of ISR, and it is an independent risk factor of ISR.

【Key words】 High-mobility group box-2; In-stent restenosis; Neointimal hyperplasia

药物洗脱支架的使用降低了经皮冠状动脉(冠脉)介入术(PCI)后支架内再狭窄(ISR)的发生率。但是,当患者合并糖尿病或冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)的危险因素时,仍有 3%~20%使用药物洗脱支架的患者发生 ISR^[1-2]。另外,使用药物洗脱支架后需要延长并联合使用抗血小板药物,这使患者的出血风险增加,对于有消化道出血病史的患者常使用金属裸支架,但会使 ISR 的发生率增加^[3]。

高迁移率族蛋白(high-mobility group box, HMGB)家族由 HMGB1~4 组成。HMGB1 在心血管疾病的病理生理学中发挥作用,如动脉粥样硬化和血管损伤后的内膜增生,并与 ISR 有相关性^[4-6]。HMGB2 与 HMGB1 的氨基酸序列高度相似(相似度>80%)^[7],但有关 HMGB2 在心血管疾病中的作用研究较少,本研究通过检测 ISR 患者血清 HMGB2 水平,评估血清 HMGB2 水平与 ISR 发生的相关性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

在 2010 年 1 月至 2013 年 5 月于瑞金医院行 PCI 并在约 1 年后行冠脉造影复查的 2 513 例患者中,排除肿瘤、心力衰竭(射血分数<45%)、肾功能不全[肾小球滤过率估计值<60 mL/(min·1.73 m²)],有 262 例患者诊断为 ISR,设为 ISR 组,从剩余患者中随机入选 298 例性别、年龄匹配的冠心病患者作为无 ISR 组。ISR 的诊断标准为冠脉造影复查时,支架节段、支架近端及远端 5 mm 内血管内径再次狭窄>50%。

1.2 方法

采集患者空腹血,检测血糖、血尿素氮、肌酐、尿酸、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇和三酰甘油等指标。血清 HMGB2 的检测采用自制的双抗体夹心酶联免疫吸附试验试剂盒。链霉亲和素包被的加样孔加入生物素化的单克隆抗 HMGB2 抗体(H00003148-M03, Abnova 公司)孵育 1 h,洗涤后,加样孔加入 100 μ L HMGB2 标准品或用缓冲液(含 0.5% 牛血清白蛋白、5 mmol/L 乙二胺四乙酸和 0.001% 抑肽酶的

50 mmol/L 磷酸钠溶液, pH = 7.4)稀释的血清样本,室温孵育 1 h 后,用多克隆 HMGB2 抗体(1:5 000, Sigma-Aldrich 公司)检测捕获的 HMGB2 分子,孵育 1 h 后,加入辣根过氧化物酶(HRP)底物和羊抗兔 IgG-HRP 孵育 30 min,硫酸终止显色反应。在 450 nm 和 620 nm 波长处测定吸光度值,每个标本测定 3 次。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 15.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差表示,组间比较采用方差分析,并以 Bonferroni 校正来评估。计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用卡方检验。多因素 logistic 回归分析 ISR 的危险因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床基线资料比较

ISR 组和无 ISR 组患者的基线特征比较见表 1。与无 ISR 组相比,ISR 组患者的吸烟率及糖尿病、高脂血症和心肌梗死的发生率更高,血清肌酐、总胆固醇、高敏 C 反应蛋白、低密度脂蛋白胆固醇、HMGB2 水平更高,使用胰岛素治疗者更多,冠状动脉病变更严重,累及血管更多;肾小球滤过率、血清高密度脂蛋白胆固醇水平、左室射血分数更低,使用双重抗血小板治疗及他汀类药物治疗更少,支架直径更小(P 均<0.05)。两组在性别、年龄、体质量指数、血压、高血压发生率、糖化血红蛋白、空腹血糖、三酰甘油、使用 β 受体阻滞剂治疗、使用血管紧张素转换酶抑制剂/血管紧张素 II 受体拮抗剂治疗、PCI 治疗前冠脉狭窄程度、支架置入数和支架长度方面差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

2.2 Logistic 回归分析

多变量 logistic 回归分析结果见表 2。HMGB2 水平按三分位数分组,在校正了性别、年龄、体质量指数、冠心病危险因素、生化指标、肾小球滤过率、左室射血分数、药物治疗、冠脉病变严重程度、冠脉病变特点、支架直径、支架长度等可能的混杂因素后,血清 HMGB2 高水平组发生 ISR 的风险是低水平组的 6.532 倍(OR = 6.532, 95% CI: 3.605~11.834, $P<0.001$),中水平组发生 ISR 的风险是低

水平组的 2.175 倍(OR = 2.175, 95% CI: 1.207~3.919, $P=0.010$),说明 HMGB2 是 ISR 的独立危险因素,血清 HMGB2 水平与 ISR 的发生相关。糖尿病、高脂血症、吸烟、心肌梗死病史、总胆固醇/高密度脂蛋白胆固醇、低肾小球滤过率、高敏 C 反应

蛋白、低左室射血分数、未使用双重抗血小板治疗、未使用他汀类药物治疗、多支血管病变、B2/C 型病变、慢性完全闭塞病变、分叉病变和较小的支架直径也是 ISR 的独立危险因素。

表 1 两组患者的基线特征及血清 HMGB2 水平

项目	无 ISR 组($n=298$)	ISR 组($n=262$)	P 值
男性/例(%)	217 (72.8)	189 (72.1)	0.857
年龄/岁	66.20 \pm 9.96	65.74 \pm 9.26	0.573
体质量指数/kg \cdot m ⁻²	25.09 \pm 3.20	25.26 \pm 3.07	0.529
收缩压/mmHg	135.70 \pm 19.00	135.30 \pm 20.30	0.798
舒张压/mmHg	76.90 \pm 11.40	77.00 \pm 12.30	0.972
吸烟/例(%)	68(22.8)	98(37.4)	<0.001
高血压/例(%)	234(78.5)	206(78.6)	0.976
糖尿病/例(%)	84(28.2)	124(47.3)	<0.001
高脂血症/例(%)	33(11.1)	50(19.1)	0.037
心肌梗死病史/例(%)	57(19.1)	80(30.5)	0.002
血清肌酐/ μ mol \cdot L ⁻¹	81.40 \pm 21.80	86.80 \pm 17.00	0.001
肾小球滤过率/mL \cdot (min \cdot 1.73 m ²) ⁻¹	95.23 \pm 27.04	85.75 \pm 20.20	<0.001
糖化血红蛋白/%	6.36 \pm 1.04	6.51 \pm 1.22	0.111
空腹血糖/mmol \cdot L ⁻¹	5.58 \pm 1.56	5.68 \pm 1.75	0.499
三酰甘油/mmol \cdot L ⁻¹	1.55 \pm 0.88	1.50 \pm 0.78	0.473
总胆固醇/mmol \cdot L ⁻¹	3.55 \pm 0.87	3.85 \pm 1.27	0.002
高密度脂蛋白胆固醇/mmol \cdot L ⁻¹	1.08 \pm 0.29	1.01 \pm 0.25	0.005
低密度脂蛋白胆固醇/mmol \cdot L ⁻¹	1.96 \pm 0.65	2.23 \pm 0.96	<0.001
高敏 C 反应蛋白/mg \cdot L ⁻¹	3.01 \pm 6.98	7.13 \pm 12.36	<0.001
HMGB2/ μ g \cdot L ⁻¹	4.38 \pm 3.71	7.37 \pm 5.25	<0.001
左室射血分数/%	63.21 \pm 6.39	58.89 \pm 7.33	<0.001
药物治疗/例(%)			
双重抗血小板治疗	278(93.3)	215(82.1)	<0.001
血管紧张素转换酶抑制剂/血管紧张素 II 受体拮抗剂	230(77.2)	206(78.6)	0.681
β 受体阻滞剂	263(88.3)	219(83.6)	0.111
他汀类药物	274(91.9)	217(82.8)	0.001
胰岛素	20(6.7)	42(16.0)	<0.001
冠脉病变血管/例(%)			
左主干	11(3.7)	25(9.5)	0.005
左前降支	208(69.8)	206(78.6)	0.018
左回旋支	139(46.6)	145(55.3)	0.040
右冠脉	144(48.3)	152(58.0)	0.022
冠心病严重程度/例(%)			
1 支病变	146(49.0)	77(29.4)	<0.001
2 支病变	97(32.5)	111(42.4)	0.016
3 支病变	55(18.5)	74(28.2)	0.006
多支血管病变	152(51.0)	185(70.6)	<0.001
冠脉病变特征/例(%)			
B2/C 型病变	149(50.0)	181(69.1)	<0.001
分叉病变	57(19.1)	82(31.3)	0.001
慢性完全闭塞病变	20(6.7)	34(13.0)	0.012
PCI 治疗前冠脉狭窄/%	84.46 \pm 8.31	85.70 \pm 8.77	0.087
支架置入数	1.72 \pm 0.88	1.65 \pm 0.77	0.327
支架直径/mm	3.08 \pm 0.76	2.84 \pm 0.35	<0.001
支架长度/mm	42.91 \pm 24.73	44.52 \pm 23.19	0.429

表 2 ISR 的多因素 logistic 回归分析

变量	OR 值 (95%可信区间)	P 值
按三分位数分组的 HMGB2		< 0.001
低水平组	1 (ref.)	/
中水平组	2.175 (1.207 ~ 3.919)	0.010
高水平组	6.532 (3.605 ~ 11.834)	< 0.001
糖尿病	2.364 (1.318 ~ 4.240)	0.004
高脂血症	2.133 (1.076 ~ 4.226)	0.030
吸烟	2.282 (1.333 ~ 3.907)	0.003
心肌梗死病史	1.786 (1.039 ~ 3.068)	0.036
总胆固醇/高密度脂蛋白胆固醇	1.250 (1.027 ~ 1.521)	0.026
肾小球滤过率	0.989 (0.979 ~ 0.999)	0.036
高敏 C 反应蛋白	1.057 (1.016 ~ 1.100)	0.006
左室射血分数	0.912 (0.881 ~ 0.944)	< 0.001
双重抗血小板治疗	0.311 (0.140 ~ 0.693)	0.004
他汀类药物治疗	0.314 (0.148 ~ 0.664)	0.002
多支血管病变	2.190 (1.258 ~ 3.813)	0.006
B2/C 型病变	1.982 (1.227 ~ 3.201)	0.005
慢性完全闭塞病变	4.164 (1.921 ~ 9.024)	< 0.001
分叉病变	2.135 (1.262 ~ 3.612)	0.005
支架直径	0.288 (0.152 ~ 0.546)	< 0.001

3 讨论

HMGB 家族成员广泛分布于真核细胞,具有调节 DNA 转录、复制和修复的功能^[8],并参与调节固有免疫^[8-9]。HMGB1 和 HMGB2 有超过 80% 的氨基酸序列相同,均含有 2 个 DNA 结合域和 1 个长酸性尾端。HMGB1 和 HMGB2 大量存在于免疫细胞中^[7],推测与免疫反应相关。研究显示, HMGB1 能加重损伤导致的内膜增生,抗 HMGB1 抗体或 HMGB1 抑制剂能抑制上述病理改变^[4-6]。Takaishi 等^[10]研究表明, HMGB2 与肠炎的发病有关。Kwon 等^[11]研究表明, HMGB2 表达增加与肝癌不良预后相关。本研究发现, ISR 组血清 HMGB2 水平显著高于无 ISR 组, HMGB2 与 ISR 的发生相关,是 ISR 的独立危险因素。HMGB 家族成员 HMGB1 和 HMGB2 均可能在 ISR 的发生中发挥作用。

然而, HMGB2 是否与 ISR 有直接因果关系,其对 ISR 发生的作用途径和机制尚不清楚。HMGB1 通过与糖基化终产物受体(RAGE)、Toll 样受体 2 (TLR2) 和 Toll 样受体 4 (TLR4) 的相互作用来激活炎性细胞因子和趋化因子^[6,12]。研究证实, HMGB1 可通过结合 TLR4,造成血管损伤,导致血管炎症和内膜增生^[5]。活性氧(ROS)在许多心血管疾病如动脉粥样硬化的发病中发挥作用,可介导动物模型血管损伤后的内膜增生^[13]。Liu 等^[14]研究发现, HMGB2 通过激活 RAGE 增加 ROS 的产生,

促进大鼠心肌缺血损伤和低氧处理的 H9C2 心肌细胞的损伤。我们推测 HMGB2 可能通过 ROS 促进 ISR 的发生,但需进一步研究 HMGB2 通过何种途径发挥作用,以及 HMGB1 和 HMGB2 对 ISR 的作用途径是否不同。

本研究尚存在不足之处, HMGB2 与 ISR 相关的临床数据采用横断面研究,样本量偏少,因此不能用于疾病风险的预测,且未进行基础实验探讨 HMGB2 对疾病发生的确切机制。今后,需要进一步大规模前瞻性研究来证实 HMGB2 与疾病的相关性及对疾病风险的预测价值。

参 考 文 献

[1] Dangas GD, Claessen BE, Caixeta AA, et al. In-stent restenosis in the drug-eluting stent era [J]. J Am Coll Cardiol, 2010, 56(23):1897-1907.

[2] Kaul U, Bangalore S, Seth A, et al. Paclitaxel-eluting versus everolimus-eluting coronary stents in diabetes [J]. N Engl J Med, 2015, 373(18):1709-1719.

[3] Alfonso F, Byrne RA, Rivero FA. Current treatment of in-stent restenosis [J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 63 (24): 2659-2673.

[4] Cai J, Wen J, Bauer E, et al. The role of HMGB1 in cardiovascular biology: danger signals [J]. Antioxid Redox Signal, 2015, 23(17):1351-1369.

[5] Cai J, Yuan H, Wang Q, et al. HMGB1-driven inflammation and intimal hyperplasia after arterial injury involves cell-specific actions mediated by TLR4 [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2015, 35(12):2579-2593.

CTA 结果选择无夹层累及的股动脉侧沿真腔直接穿刺置入导丝。引导猪尾巴导管到升主动脉,边推造影剂边前进导管,确定是否位于真腔。对于复杂夹层,可穿刺左侧肱动脉,沿夹层真腔向远从股动脉切口引出,然后沿此路径导入猪尾巴导管,交换超硬导丝。本组病例均能有效判断出真、假腔,无将支架置入假腔的情况。

内漏也是主动脉夹层腔内修复术后常见的并发症,发生率 5%~30%^[9]。对于少量内漏可用球囊扩张或随访观察,随着血栓机化大部分可封闭;对于严重内漏需再次进行置入覆膜支架等处理。截瘫是支架腔内修复的严重并发症之一,主要是由于支架将脊髓主要滋养血管(T8~L1 肋间动脉或腰动脉)封闭引起,覆膜支架长度过长、假腔内血栓机化等原因也可引起,应注意避免。

参 考 文 献

- [1] Feezor RJ, Martin TD, Hess PJ, et al. Early outcomes after endovascular management of acute, complicated type B aortic dissection[J]. J Vasc Surg, 2009, 49(3):561-567.
- [2] Dake MD, Kato N, Mitchell RS, et al. Endovascular stent-graft placement for the treatment of acute aortic dissection [J]. N Engl J Med, 1999, 340(20):1546-1552.
- [3] 景在平, 梅志军. 主动脉瘤腔内修复术 20 年:回顾与展望

[J]. 外科理论与实践, 2011, 16(2):109-111.

- [4] 张明明, 伊力哈木江·克尤木, 吴元元, 等. 主动脉夹层急诊行外科治疗的临床探讨[J]. 中国心血管病研究, 2015, 13(11):1029-1032.
- [5] 胡楦, 曹勇, 刘超, 等. 主动脉覆膜血管内支架治疗 Debakey III型主动脉夹层的临床疗效[J]. 中国心血管病研究, 2015, 13(1):79-81.
- [6] Hagan PG, Nienaber CA, Isselbacher EM, et al. The international registry of acute aortic dissection (IRAD): new insights into an old disease [J]. JAMA, 2000, 283(7):897-903.
- [7] Trimarchi S, Nienaber CA, Rampoldi V, et al. Role and results of surgery in acute type B aortic dissection: insights from the International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD)[J]. Circulation, 2006, 114(1 Suppl):I357-I364.
- [8] 舒畅, 罗明尧, 李全明, 等. 合并严重并发症的 Stanford B 型主动脉夹层内治疗[J]. 中国修复重建外科杂志, 2010, 24(9):1044-1046.
- [9] Cao P, De Rango P, Verzini F, et al. Endoleak after endovascular aortic repair: classification, diagnosis and management following endovascular thoracic and abdominal aortic repair[J]. J Cardiovasc Surg (Torino), 2010, 51(1):53-69.

(收稿:2017-06-12 修回:2017-07-30)

(本文编辑:丁媛媛)

(上接第 308 页)

- [6] Kang R, Chen R, Zhang Q, et al. HMGB1 in health and disease[J]. Mol Aspects Med, 2014, 40:1-116.
- [7] Barreiro-Alonso A, Lamas-Maceiras M, Rodríguez-Belmonte E, et al. High mobility group B proteins, their partners, and other redox sensors in ovarian and prostate cancer[J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2016:5845061.
- [8] Yanai H, Ban T, Taniguchi T. High-mobility group box family of proteins: ligand and sensor for innate immunity[J]. Trends Immunol, 2012, 33(12):633-640.
- [9] Yanai H, Ban T, Wang Z, et al. HMGB proteins function as universal sentinels for nucleic-acid-mediated innate immune responses[J]. Nature, 2009, 462(7269):99-103.
- [10] Takaishi H, Kanai T, Nakazawa A, et al. Anti-high mobility group box 1 and box 2 non-histone chromosomal proteins (HMGB1/HMGB2) antibodies and anti-saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA): accuracy in differentially diagnosing UC and CD and correlation with inflammatory bowel disease phenoty [J]. J Gastroenterol, 2012, 47(9):969-977.

- [11] Kwon JH, Kim J, Park JY, et al. Overexpression of high-mobility group box 2 is associated with tumor aggressiveness and prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(22):5511-5521.
- [12] Yang H, Tracey KJ. Targeting HMGB1 in inflammation[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1799(1/2):149-156.
- [13] Montezano AC, Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular Noxs, and hypertension: focus on translational and clinical research[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(1):164-182.
- [14] Liu ZH, Dai DP, Ding FH, et al. Association of serum HMGB2 level with MACE at 1 mo of myocardial infarction: aggravation of myocardial ischemic injury in rats by HMGB2 via ROS[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2017, 312(3):H422-H436.

(收稿:2017-03-23 修回:2017-06-23)

(本文编辑:胡晓静)