

血管内皮功能对颈动脉支架植入术后再狭窄的影响

王晓光¹, 叶芳余¹, 唐建红²

1.金华市人民医院影像科, 浙江金华 321000; 2.金华市人民医院介入与血管外科, 浙江金华 321000

[摘要] 目的 探讨血管内皮功能对颈动脉支架植入 (carotid artery stenting, CAS) 术后再狭窄的影响。方法 选取 2019 年 1 月至 2022 年 12 月金华市人民医院接受 CAS 的 236 例颈动脉狭窄患者为研究对象, 根据随访过程是否发生支架内再狭窄 (in-stent restenosis, ISR) 将其分为 ISR 组 ($n=41$) 和 non-ISR 组 ($n=195$)。收集并比较两组患者的血脂指标[低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、三酰甘油 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)]、血管内皮指标[血清内皮素 (endothelin-1, ET-1)、血管性血友病因子 (von Willebrand factor, vWF)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1)、血栓素 B2 (thromboxane B2, TXB2)、内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 及一氧化氮 (nitric oxide, NO)]、炎症因子[肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)]和氧化应激指标[丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)]。对 ISR 组和 non-ISR 组患者外周血进行转录组测序。采用多因素 Logistic 回归分析 CAS 术后发生 ISR 的独立影响因素。**结果** ISR 组患者的 TC、TNF- α 、CRP、IL-6、MDA、ET-1、vWF、TXB2、VCAM-1 均显著高于 non-ISR 组 ($P<0.01$), HDL-C、SOD、GSH-Px、NO、eNOS 和 VEGF 水平均显著低于 non-ISR 组 ($P<0.01$)。转录组差异基因富集分析显示炎症反应激活、氧化应激反应、内皮细胞功能障碍等信号通路在 ISR 组显著增强; 多因素 Logistic 回归分析结果显示, TNF- α 、IL-6、ET-1、vWF、VEGF、SOD、GSH-Px 均是 CAS 术后发生 ISR 的独立影响因素 ($P<0.05$)。**结论** 炎症因子、氧化应激指标和血管内皮功能三者共同促进颈动脉狭窄患者 CAS 术后 ISR 的发生发展; TNF- α 、IL-6、ET-1、vWF、VEGF、SOD、GSH-Px 均是 CAS 术后发生 ISR 的独立影响因素。

[关键词] 颈动脉狭窄; 颈动脉支架植入术; 血管内皮功能; 炎症反应; 氧化应激反应

[中图分类号] R543.4 **[文献标识码]** A **[DOI]** 10.3969/j.issn.1673-9701.2024.19.009

Effect of vascular endothelial function on restenosis after carotid artery stenting

WANG Xiaoguang¹, YE Fangyu¹, TANG Jianhong²

1.Department of Imaging, Jinhua People's Hospital, Jinhua 321000, Zhejiang, China; 2.Department of Interventional and Vascular Surgery, Jinhua People's Hospital, Jinhua 321000, Zhejiang, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of vascular endothelial function on restenosis after carotid artery stenting (CAS). **Methods** A total of 236 patients with carotid artery stenosis who received CAS in Jinhua People's Hospital from January 2019 to December 2022 were selected as study objects. According to whether in-stent restenosis (ISR) occurred during follow-up, they were divided into ISR group ($n=41$) and non-ISR group ($n=195$). Blood lipid indexes [low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)], vascular endothelial indexes [endothelin-1 (ET-1), von Willebrand factor (vWF), vascular endothelial growth factor (VEGF), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), thromboxane B2 (TXB2), endothelial nitric oxide synthase (eNOS), nitric oxide (NO)], inflammatory factors [tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), C-reactive protein (CRP)] and oxidative stress indexes [malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD)] were collected and compared between two groups. Transcriptome sequencing was performed on peripheral blood of ISR group and non-ISR group. Multivariate Logistic regression was used to analyze the independent influencing factors of ISR after CAS. **Results** The levels of TC, TNF- α , CRP, IL-6, MDA, ET-1, vWF, TXB2 and VCAM-1 in ISR group were significantly higher than those in non-ISR group ($P<0.01$), and the levels of HDL-C, SOD, GSH-Px, NO, eNOS and VEGF in ISR group were significantly lower than those in non-ISR group ($P<0.01$). Transcriptome differential gene enrichment analysis showed that the signaling pathways such as inflammatory response activation, oxidative stress response, and endothelial cell dysfunction were significantly enhanced in ISR group. Multivariate

基金项目: 浙江省金华市公益性技术应用研究项目 (2022-4-162)

通信作者: 王晓光, 电子信箱: 15967982520@163.com

Logistic regression analysis showed that TNF- α , IL-6, ET-1, vWF, VEGF, SOD, and GSH-Px were independent influencing factors for ISR after CAS ($P < 0.05$). **Conclusion** Inflammatory factors, oxidative stress indexes and vascular endothelial function jointly promoted the occurrence and development of ISR after CAS in patients with carotid artery stenosis. TNF- α , IL-6, ET-1, vWF, VEGF, SOD, GSH-Px were independent risk factors for ISR after CAS.

[Key words] Carotid artery stenosis; Carotid artery stenting; Vascular endothelial function; Inflammatory response; Oxidative stress response

随着中国人口老龄化的加速, 颈动脉粥样硬化发病率逐年增加。颈动脉粥样硬化早期主要表现为内中膜增厚, 之后逐渐生成粥样硬化斑块, 相应的血流动力学发生改变, 最终引发缺血性脑卒中^[1]。根据颈动脉狭窄的症状和程度, 可采用传统的内膜剥脱外科手术或颈动脉支架植入术 (carotid artery stenting, CAS) 治疗^[2]。随着临床外科技术和材料科学的不断发展, CAS 已成为治疗脑卒中的核心手段。CAS 是在局部麻醉下经导管、导丝的配合在颈动脉狭窄处植入支架, 将硬化斑块向四周挤压, 继而扩张颈动脉血管腔, 重建狭窄处血流。然而随着临床的广泛应用, 真实临床中支架内再狭窄 (in-stent restenosis, ISR) 的发生率远高于随机对照试验的结果^[3]。CAS 术后, 由于弹力层损伤、血管壁内皮剥脱或血小板和单核细胞等聚集黏附于受损的血管内皮, 引发炎症级联反应及血管内皮细胞氧化应激, 导致血管内皮功能紊乱^[4-5]。目前, 国内关于 CAS 患者血管内皮功能与术后 ISR 发生的相关性研究较少, 本研究通过检测 CAS 患者血管内皮功能指标及其关联的炎症和氧化应激因子水平, 探讨血管内皮功能与 CAS 术后 ISR 的相关性, 为 CAS 术后 ISR 提供新的预警指标。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2019 年 1 月至 2022 年 12 月金华市人民医院接受 CAS 的 236 例颈动脉狭窄患者为研究对象。纳入标准: ①符合 CAS 治疗指征, 数字减影血管造影显示颈动脉责任斑块致狭窄率 $\geq 70\%$ 或狭窄率 $\geq 50\%$ 并伴一侧肢体感觉障碍、失语、偏瘫及黑矇等相关症状; ②未出现颅内自发出血、大面积脑梗死、心肌梗死; ③患者及家属均知情同意。排除标准: ①伴有重要脏器严重损伤者; ②既往多次接受 CAS 治疗者; ③动脉炎、发育畸形或发育不良等引起颈动脉狭窄者。本研究经金华市人民医院伦理委员会通过 (伦理审批号: 金华市人民医院伦审 2024 研第 035 号)。所有患者均顺利在颈动脉血管狭窄处植入支架, 术后即刻造影, 支架内残余狭窄率均 $< 30\%$ 。术后随访 (10.17 \pm 7.53) 个月 (6~28 个月), 41 例患者诊断为 ISR, 纳入 ISR 组, 其余患者纳入 non-ISR 组 ($n=195$)。两组患者的一般资料比较差异无统计

学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 两组患者的一般资料比较

项目	non-ISR 组 ($n=195$)	ISR 组 ($n=41$)	t/χ^2	P
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	66.58 \pm 7.93	66.32 \pm 7.33	0.193	0.847
男性 [n (%)]	130 (66.67)	28 (68.29)	0.040	0.841
BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	26.18 \pm 3.57	26.17 \pm 3.78	0.016	0.987
饮酒史 [n (%)]	54 (27.69)	12 (29.27)	0.042	0.838
吸烟史 [n (%)]	45 (23.08)	9 (21.95)	0.024	0.877
高血压 [n (%)]	121 (62.05)	24 (58.54)	0.177	0.674

注: BMI 为体质质量指数

1.2 研究方法

收集两组患者的临床资料, 包括基本资料、手术前血脂指标 [低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、三酰甘油 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)]、血管内皮指标 [血清内皮素 (endothelin-1, ET-1)、血管性血友病因子 (von Willebrand factor, vWF)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1)、血栓素 B2 (thromboxane B2, TXB2)、内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 及一氧化氮 (nitric oxide, NO)]、炎症因子 [肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)] 和氧化应激指标 [丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)] 等。同时收集 5 例 ISR 组和 5 例 non-ISR 组患者的晨起空腹静脉血 2ml, 裂红后离心收集细胞沉淀。采用 TRIzol[®] 试剂盒分离提取总 RNA (美国 thermo 公司), 进行转录组测序。

1.3 统计学方法

采用 Prism 8.0 软件进行数据统计分析。计量资料符合正态分布以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用 t 检验。采用多因素 Logistic 回归探究 CAS 术后发生 ISR 的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。转录组测序基因表达矩阵的组间差异分析和通路富

集分析采用 R 软件的“Limma”和“clusterProfiler”包，筛选差异基因的标准为 $|\log_2FC| \geq 1$ & $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 两组患者的血脂水平比较

两组患者的 TG、LDL-C 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，ISR 组患者的 TC 显著高于 non-ISR 组，而 HDL-C 显著低于 non-ISR 组 ($P < 0.05$)，见表 2。

表 2 两组患者的血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	TG	TC	LDL-C	HDL-C
non-ISR 组 (n=195)	2.42±0.31	5.87±0.35	2.61±0.35	1.43±0.59
ISR 组 (n=41)	2.40±0.27	6.12±0.49	2.72±0.42	1.15±0.62
t	0.384	3.853	1.764	2.738
P	0.702	<0.001	0.079	0.007

2.2 两组患者的炎症指标比较

ISR 组患者的 TNF- α 、CRP、IL-6 水平均显著高于 non-ISR 组 ($P < 0.001$)，见表 3。

表 3 两组患者的炎症指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α (ng/L)	CRP (mg/L)	IL-6 (ng/L)
non-ISR 组 (n=195)	17.42±3.03	3.69±0.98	19.15±1.98
ISR 组 (n=41)	20.18±2.69	4.28±1.21	21.32±2.76
t	5.400	3.357	5.920
P	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 两组患者的氧化应激指标比较

ISR 组患者的 MDA 水平显著高于 non-ISR 组，SOD、GSH-Px 水平均显著低于 non-ISR 组 ($P < 0.001$)，见表 4。

表 4 两组患者的氧化应激指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MDA (nmol/ml)	SOD (U/ml)	GSH-Px (μ mol/L)
non-ISR 组 (n=195)	5.32 ± 0.93	23.87 ± 4.36	26.78 ± 4.35
ISR 组 (n=41)	6.19 ± 0.88	20.32 ± 3.41	23.63 ± 4.21
t	5.494	4.905	4.238
P	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 两组患者的血管内皮功能指标比较

ISR 组内皮功能指标 ET-1、vWF、TXB2、VCAM-1 均显著高于 non-ISR 组，NO、eNOS 和 VEGF 均显著低于 non-ISR 组 ($P < 0.001$)，见表 5。

2.5 患者外周血转录组测序分析

转录组测序分析结果显示，与 non-ISR 组相比，ISR 组患者的炎症因子 (TNF- α 、IL-6、COX-2) 均显著上调 ($P < 0.05$)，血管内皮功能相关因子 VCAM-1、TXB2、vWF 均显著上调 ($P < 0.05$)，VEGF 和 eNOS 均显著下调 ($P < 0.01$)，见图 1A。转录组差异基因富集分析显示炎症反应激活、氧化应激反应、活性氧代谢、血管因子内皮生长因子受体激活、内皮细胞功能障碍均为差异富集通路，见图 1B。

表 5 两组患者的血管内皮功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	NO (μ mol/L)	ET-1 (ng/L)	vWF (%)	TXB2(μ g/L)	VCAM-1 (ng/ml)	eNOS (mg/L)	VEGF (ng/L)
non-ISR 组 (n=195)	83.51 ± 5.96	60.59 ± 7.95	104.35 ± 7.65	69.61 ± 4.02	656.72 ± 80.63	12.78 ± 3.43	30.98 ± 4.97
ISR 组 (n=41)	77.59 ± 6.54	80.45 ± 7.89	139.26 ± 8.95	78.71 ± 6.82	790.35 ± 75.68	8.56 ± 2.36	25.21 ± 5.01
t	5.683	14.559	25.761	11.463	9.746	7.507	6.748
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

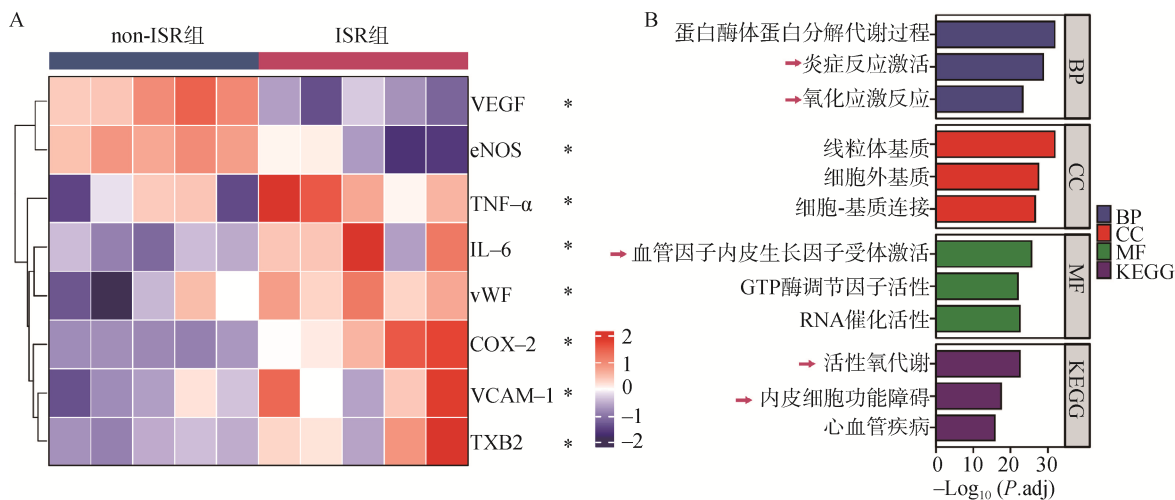


图 1 两组患者外周血转录组测序分析

A. 差异 mRNA 热图；B. 差异 mRNA 通路富集分析

注：与 non-ISR 组比较，* $P < 0.05$

2.6 影响术后再狭窄的多因素 Logistic 回归分析

以是否出现 ISR 为因变量, 将上述有统计学意义的变量纳入多因素 Logistic 回归分析。结果显示, TNF- α 、IL-6、ET-1、vWF、VEGF、SOD、GSH-Px 均是 CAS 术后 ISR 的独立影响因素($P < 0.05$), 见表 6。

表 6 多因素 Logistic 回归分析结果

变量	β	标准误	Wald χ^2	OR (95%CI)	P
TC	0.942	0.525	3.218	2.565 (0.753~8.367)	0.069
HDL-C	-0.652	0.463	1.982	0.521 (0.374~3.472)	0.152
TNF- α	0.831	0.347	5.729	2.295 (1.086~5.783)	0.039
IL-6	0.786	0.265	8.783	2.195 (1.621~3.782)	0.007
CRP	0.631	0.425	2.203	1.879 (0.893~2.853)	0.107
ET-1	0.831	0.279	8.857	2.295 (1.261~6.793)	0.005
vWF	0.675	0.204	10.924	1.964 (1.625~3.483)	<0.001
NO	0.346	0.261	1.756	1.413 (0.657~1.792)	0.265
VCAM-1	0.638	0.341	3.497	1.892 (1.123~4.572)	0.058
TXB2	0.763	0.427	3.191	2.144 (0.954~3.276)	0.072
eNOS	0.488	0.326	2.239	1.629 (0.753~3.762)	0.145
VEGF	-0.725	0.302	5.756	0.484 (0.378~0.647)	0.031
MDA	0.321	0.206	2.431	1.050 (0.620~1.780)	0.153
SOD	-0.393	0.174	5.090	0.675 (0.421~0.899)	0.042
GSH-Px	-0.781	0.215	13.166	0.457 (0.406~0.672)	<0.001

3 讨论

颈动脉狭窄是临床缺血性脑卒中最常见的病因之一, 其病理机制为斑块脱落或内膜增生引发远端动脉栓塞或狭窄, 导致血流低灌注, 造成缺血性脑卒中的发生。CAS 是治疗颈动脉粥样硬化狭窄患者的主要手段, 具有住院时间短、创伤小等优势。CAS 术后患者仍存在较高的 ISR(指支架植入后在支架边缘 5mm 范围内或支架内再次发生的 >50% 的动脉管腔狭窄发生率)^[6]。既往研究报道 CAS 术后 ISR 的发生率为 5%~20%, 而诱发 CAS 术后 ISR 发生的机制尚不完全明确, 其可能机制包括血管弹性回缩、血管平滑肌细胞过度迁移增殖、血小板聚集与黏附、血栓形成、血管重塑和内膜损伤等。由于颈动脉支架属异物, 支架植入可压迫血管内皮, 内皮自我塑造可再次出现狭窄, 加上该手术并未真实去除管壁上的硬化斑块, 存在复发风险^[7]。

颈动脉粥样硬化及狭窄是一种以血管壁蛋白质和脂质氧化为病理特征的氧化应激状态, 氧化应激引发的血管内皮细胞损伤是颈动脉狭窄发病的主要原因。研究表明抑制炎症反应、内皮损伤、氧化应

激和脂质代谢紊乱可对颈动脉狭窄治疗发挥有益作用。MDA 水平间接衡量氧化应激损伤的程度, 是反映脂质过氧化的重要指标。SOD 和 GSH-Px 是机体内的自由基清除剂, SOD 和 GSH-Px 水平高低直接反映机体的自由基清除能力^[8]。本研究结果显示, ISR 组患者的 TNF- α 、CRP、IL-6、MDA 水平显著高于 non-ISR 组, 而 SOD、GSH-Px 水平显著低于 non-ISR 组, 说明 ISR 组患者炎症反应和氧化应激程度显著高于 non-ISR 组, 炎症和氧化应激是诱发患者 CAS 术后发生 ISR 的重要因素。内皮细胞是血管腔内膜表面的一层保护膜, 可维持血液的正常流动, 并分泌合成大量生物活性物质。其中, vWF 为多聚体糖蛋白, 主要源于血管内皮细胞, 当血管内皮细胞发生损伤时, vWF 大量释放进入血液; ET-1 是血管收缩肽, 可升高血压, 缺血、缺氧状态下 ET-1 可迅速合成并被大量释放; VEGF 是促血管内皮细胞生长因子, 具有促进血管形成和内皮细胞增殖等作用; TXB2 由血小板合成, 具有诱发血小板凝聚和收缩血管的作用; VCAM-1 蛋白主要介导单核细胞和淋巴细胞等黏附于血管内皮, 启动炎症和氧化应激反应; eNOS 同样由血管内皮细胞表达, 是诱导合成 NO 的限速酶, NO 是一种脂溶性气体, 可快速作用于平滑肌细胞, 扩张血管^[9]。本研究结果显示, ISR 组患者的 ET-1、vWF、TXB2、VCAM-1 均显著高于 non-ISR 组, NO、eNOS 和 VEGF 均显著低于 non-ISR 组, 揭示血管内皮功能紊乱可能是推动 CAS 术后 ISR 发生的重要因素。转录组测序分析进一步验证炎症反应激活、氧化应激反应、内皮细胞功能障碍等信号通路在 ISR 组患者中显著增强。多因素 Logistic 回归分析结果显示, TNF- α 、IL-6、ET-1、vWF、VEGF、SOD、GSH-Px 均是 CAS 术后发生 ISR 的独立影响因素。

综上所述, 炎症因子、氧化应激指标和血管内皮功能相关指标在颈动脉狭窄患者 CAS 术后 ISR 过程中发挥重要作用, TNF- α 、IL-6、ET-1、vWF、VEGF、SOD、GSH-Px 均是 CAS 术后发生 ISR 的独立影响因素, 可为临床预警、诊断、治疗提供参考。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 贾贤达, 胡晓敏, 时秀文, 等. 超声高精细血流联合弹性成像技术对颈动脉粥样硬化斑块的诊断价值[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(22): 5395-5398.

(下转第 74 页)