

• 论 著 •

# VCAM-1 和 E 选择素在血栓闭塞性脉管炎患者血管壁中的表达及其临床意义

罗 成<sup>1</sup>, 郭 轶<sup>2△</sup>

(1. 重庆医科大学附属第一医院老年科 400016; 2. 重庆市中医院普外科 400021)

**摘要:**目的 探讨血管内皮细胞黏附分子-1(VCAM-1)和 E 选择素(E-selectin)在血栓闭塞性脉管炎(TAO)患者血管壁中的表达及其临床意义。方法 取因血栓闭塞性脉管炎行截肢手术的 18 例患者和因非血管疾病行截肢手术的 16 例患者的血管组织,采用免疫组织化学法检测组织中 VCAM-1 和 E 选择素的表达并与临床资料进行相关性分析。结果 TAO 患者血管壁中 VCAM-1 阳性表达率为 77.8%(14/18),E 选择素阳性表达率为 72.2%(13/18),明显高于对照组的 6.3%(1/16)和 6.3%(1/16),差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。VCAM-1 和 E 选择素的阳性率与患者年龄、吸烟量、吸烟时间、药物使用情况没有相关性( $P > 0.05$ )。结论 VCAM-1 和 E 选择素的表达与 TAO 的发生、发展关系密切,检测 VCAM-1 和 E 选择素表达可以作为 TAO 的诊断指标。

**关键词:**血管内皮细胞黏附分子-1; E 选择素; 血栓闭塞性脉管炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.10.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)10-1347-03

## Expression and clinical significance of VCAM-1 and E-selectin in thromboangiitis obliterans

LUO Cheng<sup>1</sup>, GUO Yi<sup>2△</sup>

(1. Department of Geriatrics, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

2. Department of General Surgery, Chongqing Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400021, China)

**Abstract:** Objective To investigate the expression of VCAM-1 and E-selectin in vessel walls of the patients with thromboangiitis obliterans(TAO). **Methods** The vessel tissues were taken from 18 cases of amputation operation due to TAO and 16 cases of amputation operation due to non-vascular diseases. The expression of VCAM-1 and E-selectin were assessed by the immunohistochemical method. **Results** The positive expression rate of VCAM-1 in vessel wall of the patients with TAO was 77.8%(14/18), which of E-selectin was 72.2%(13/18); both of them were obviously higher than 6.3%(1/16) and 6.3%(1/16) in the control group. The positive rate of VCAM-1 and E-selectin had no correlation with the age, smoking amount, smoking time and drug use ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The expression of VCAM-1 and E-selectin have close correlation with the occurrence and development of TAO. Detecting the expression of VCAM-1 and E-selectin can serve as a diagnostic indicator of TAO.

**Key words:** vascular cell adhesion molecule-1; E-selectin; thromboangiitis obliterans

血栓闭塞性脉管炎(TAO)是一种节段性、炎症性和闭塞性疾病,主要影响中、小型动静脉和神经,其病因尚不明确<sup>[1]</sup>。近期许多研究指出 TAO 是一种与吸烟密切相关的自身免疫性疾病<sup>[2]</sup>,自身免疫性血管损伤是导致 TAO 发病的主要因素,也是 TAO 患者靶血管的主要病理改变<sup>[3]</sup>。血管内皮细胞黏附分子-1(VCAM-1)和 E 选择素(E-selectin)是诱导血管内皮细胞黏附的主要因子,其诱导的炎性细胞黏附作用参与了多种自身免疫性炎症<sup>[4-5]</sup>。本文对 TAO 患者血管壁中 VCAM-1 和 E 选择素的表达进行检测,并结合临床病例特征进行综合分析,以期阐明 VCAM-1 和 E 选择素表达与 TAO 发病的相关性。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 18 例 TAO 患者标本为 2014 年 3 月至 2016 年 9 月重庆医科大学附属第一医院和重庆市中医院因 TAO 导致截肢的血管组织标本,均为下肢,其中男性 18 例,女性 0 例,年龄 32~51 岁,平均 41.2 岁。16 例对照组为同期重庆医科大学附属第一医院和重庆市中医院因非血管疾病导致截肢的患者,均为下肢,其中男性 10 例,女性 6 例,年龄 21~48 岁,平均 34.5 岁。

**1.2 主要试剂** VCAM-1 抗体和 E 选择素抗体购自 Santa cruz 公司;免疫组化 SP 试剂盒、免疫组化二抗和 DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥公司。

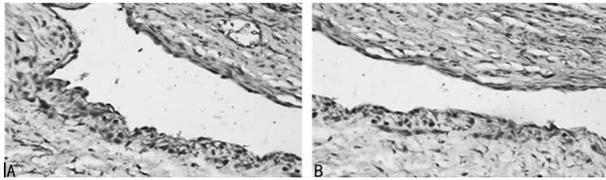
**1.3 方法** 采用免疫组织化学法检测组织中 VCAM-1 和 E 选择素的表达。免疫组织化学法检测按试剂盒说明书操作。VCAM-1 抗体和 E 选择素抗体按 1:25 稀释,以 PBS 代替一抗作阴性对照。阳性结果判定:VCAM-1 和 E 选择素阳性染色主要表现细胞质和细胞膜出现棕黄色信号。同一切片按染色强度分级评分:0 分(无染色),1 分(轻度染色),2 分(中度染色),3 分(强染色);按细胞染色比率评分:0 分(0%),1 分(1%~25%),2 分(26%~50%),3 分(51%~75%),4 分(76%~100%)。结果判定标准:两者相加低于 4 分者判为阴性,两者相加大于等于 4 分者判为阳性。

**1.4 统计学处理** 应用 SPSS18.0 统计软件对数据进行  $\chi^2$  检验和 Fisher 精确检验,以  $P < 0.05$  判为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 VCAM-1 和 E 选择素在 TAO 患者中的表达** 在 TAO 患者血管壁组织中,VCAM-1 主要表达于内皮和肌层细胞的细胞膜和细胞质(图 1A),阳性率 77.8%(14/18),明显高于对

对照组中的 6.3%(1/16), 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。在 TAO 患者血管壁组织中, E 选择素同样主要表达于内皮和肌层细胞的细胞膜和细胞质(图 1B), 阳性率 72.2%(13/18), 明显高于对照组中的 6.3%(1/16), 差异也有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。



注: A 表示 VCAM-1 在 TAO 患者血管壁组织中高表达; B 表示 E 选择素在 TAO 患者血管壁组织中高表达。

图 1 VCAM-1 和 E 选择素在 TAO 患者中的表达 ( $\times 200$ )

**2.2 VCAM-1 和 E 选择素的表达与 TAO 患者临床病例特征的相关性** 在 TAO 患者血管壁中, VCAM-1 和 E 选择素的表达与患者年龄、吸烟量、吸烟时间及药物使用情况均没有相关性 ( $P > 0.05$ ), 见表 1。

表 1 VCAM-1 和 E 选择素表达与 TAO 患者临床特征的相关性 (n)

临床特征	n	VCAM-1		P	E 选择素		P
		+	-		+	-	
患者年龄				>0.05			>0.05
<40 岁	8	6	2		6	2	
>40 岁	10	8	2		7	3	
吸烟量				>0.05			>0.05
<20 支/天	6	5	1		4	2	
>20 支/天	12	9	3		9	3	
吸烟时间				>0.05			>0.05
<10 年	6	5	1		4	2	
>10 年	12	9	3		9	3	
抗凝药物				>0.05			>0.05
使用药物	10	8	2		7	3	
未使用药物	8	6	2		6	2	
抗血小板药物				>0.05			>0.05
使用药物	13	10	3		9	4	
未使用药物	5	4	1		4	1	

**3 讨 论**

虽然距 TAO 首次报道已经超过了 1 个世纪, 但 TAO 的发病机制仍未阐明, 仍缺乏有效的治疗手段, 截肢仍是绝大多数 TAO 患者的最终结局<sup>[3,6]</sup>。近期许多研究证实, 自身免疫性炎症是 TAO 发病的主要因素, 但其具体机制尚未阐明<sup>[6]</sup>。自身免疫性炎症是复杂的分子生物过程, 多种免疫相关性因子参与其中<sup>[7]</sup>, 多种因子介导的白细胞黏附是炎症反应最主要的表现之一<sup>[8]</sup>。本研究选择了 2 种与血管炎性损伤密切相关的细胞黏附分子 VCAM-1 和 E 选择素为研究指标, 探讨了两者在 TAO 患者血管壁中的表达及其意义。

自身免疫炎性介导的血管损伤是复杂分子生物过程<sup>[9]</sup>; 首先多种免疫复合物与血管内皮细胞结合, 导致血管内皮细胞黏

附力增强, 致使许多炎性细胞与血管内皮细胞黏附并且侵袭损伤血管内皮细胞; 然后血管内皮下纤维暴露, 导致炎性细胞及血小板等在此处聚集; 进而导致血管壁炎性损伤和血管内血栓形成<sup>[10]</sup>。因此, 血管内皮细胞黏附能力增强在血管炎性损伤的过程中起重要作用<sup>[11-12]</sup>。VCAM-1 是由 VCAM-1 基因编码产生的相对分子质量为  $(100 \sim 110) \times 10^3$  的跨膜糖蛋白, 其主要表达于活化的神经元细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、树突状细胞等<sup>[13]</sup>。当受到细胞因子(如 IL-1、TNF- $\alpha$ 、IL-13)和细胞外基质(ECM)分子的诱导时 VCAM-1 的表达增加, 并与其他细胞黏附分子一起协同参与白细胞或淋巴细胞与其他细胞相互作用, 引导白细胞或淋巴细胞穿过血管壁进入组织, 发挥炎性损伤作用<sup>[13-14]</sup>。E 选择素是选择素家族的三大成员之一, 其主要表达于内皮细胞, 细胞活化后合成并转运至细胞表面并介导白细胞与内皮细胞的识别和结合, 参与白细胞越过血管进入炎症组织的过程<sup>[15-16]</sup>。两者是参与血管内皮细胞炎性损伤的主要细胞因子, 与血管损伤相关性疾病的发生密切相关。

本研究结果显示, 在 TAO 患者血管壁中 VCAM-1 和 E 选择素的表达明显高于对照组 ( $P < 0.01$ )。而且 VCAM-1 和 E 选择素的表达与患者年龄、吸烟量、吸烟时间及药物使用情况没有相关性(表 1)。这些结果显示 VCAM-1 和 E 选择素的表达与 TAO 的相关的血管免疫损伤密切相关, 证实两者在 TAO 的发病过程中可能起重要作用; 同时 VCAM-1 和 E 选择素是免疫炎症重要的特异性指标, 因此进一步证实了自身免疫性炎症与 TAO 发病的相关性, 针对炎症的特异性抑制可能是治疗 TAO 的有效途径之一。

本研究发现 VCAM-1 和 E 选择素高表达与 TAO 的发病密切相关, 其可能机制是 VCAM-1 和 E 选择素参与自身炎性损伤过程; VCAM-1 和 E 选择素检测可以作为诊断 TAO 指标。但是 VCAM-1 和 E 选择素在 TAO 发病过程中的具体作用机制仍有待进一步的研究。

**参考文献**

- [1] Akar AR, İnan MB, Baran Ç. Thromboangiitis obliterans[J]. Cur Treatment Options Rheumatol, 2016, 2(2): 178-195.
- [2] Seebald J, Gritters L. Thromboangiitis obliterans (Buerger disease)[J]. Radiol Case Rep, 2015, 10(3): 9-11.
- [3] Bucci F, Sangrigoli F, Fiengo L. Thromboangiitis Obliterans[M]//Dieter RS, Dieter RA, Dieter RA Jr, et al. Critical Limb Ischemia; Switzerland: Springer International Publishing, 2017.
- [4] Yu GI, Jun SE, Shin DH. Associations of VCAM-1 gene polymorphisms with obesity and inflammation markers [J]. Inflamm Res, 2017, 66(3): 217-225.
- [5] Berthelot L. Immune and inflammatory mechanisms[J]. Nephrol Dialysis Transplant, 2016, 30(10 Suppl): S3-S8.
- [6] Malecki R, Kluz J, Przewdziecka-Dolyk JA. The pathogenesis and diagnosis of thromboangiitis obliterans: is it still a mystery? [J]. Adv Clin Exp Med, 2015, 24(6): 1085-1097.
- [7] Gupta B, Hawkins RD. Epigenomics of autoimmune diseases[J]. Immunol Cell Biol, 2015, 93(3): 271-276.
- [8] Reglero-Real N, Colom B, Bodkin JV, (下转第 1351 页)

平变化与 TSH 水平变化呈负相关,而与 FT4 与 FT3 水平变化呈现为正相关。进一步对实验结果进行分析可知,与血清 TSH 及 FT3 水平相比,Graves 病甲亢患者的 APN 水平提升与其 FT4 指标水平升高的关联性更为密切,因此 FT4 在这一变化的过程中的影响可能更大。有研究发现,在正常情况下,随着年龄的增长,机体中血清 APN 的水平不断减少,而冠心病的发生率却也不断升高,因此推测血清 APN 的含量在动脉粥样硬化的发生发展过程中起到了非常重要的作用<sup>[14]</sup>。APN 水平下降,可能会造成动脉硬化疾病的发生、发展,而甲亢患者体内甲状腺激素水平的升高反馈调节使得其 APN 水平升高,进而可能导致甲减患者较甲亢患者冠心病发生风险增高,但这一论点仍需后续实验加以验证分析。

综上所述,未经治疗时,Graves 病甲亢患者的 APN 水平远超正常水平,但经过药物治疗之后,其表达水平呈现出显著的下降趋势,且其水平变化与 Graves 病甲亢患者血清甲状腺激素水平的变化密切相关,其中以 FT4 尤为突出。APN 有着提升胰岛素敏感程度和抗动脉硬化的双重效果,其水平变化和那些因素存在关联性,甲状腺激素对 APN 的作用机制等问题尚需进一步探究。

#### 参考文献

[1] 中华医学会内分泌学分会《中国甲状腺疾病诊治指南》编写组. 中国甲状腺疾病诊治指南——甲状腺功能亢进症[J]. 中华内科杂志, 2007, 46(10): 876-882.

[2] Weetman AP. Graves' disease[J]. N Engl J Med, 2000, 343(17): 1236.

[3] 赵冬静. 初发 Graves 病患者<sup>131</sup>I 治疗前后血清 CXCL10、CCL22 水平变化及相关研究[D]. 济南: 山东大学, 2012.

[4] 高妍. Graves 病诊治中的几个问题[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2001, 17(4): 193-194.

[5] 周朋, 邱娟, 王朋等. 167 例精细个体化<sup>131</sup>I 治疗中老年 Graves 甲亢疗效观察[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22

(2): 125-128.

[6] 李强, 张贵利, 李友生, 等. 慢性乙型肝炎患者  $\alpha$ -干扰素治疗前后血清脂联素水平的变化[J]. 现代医院, 2012, 24(1): 32-34.

[7] 焦路阳, 王宇, 袁宇. 冠心病患者血清内脂素和脂联素水平的变化及临床意义[J]. 检验医学, 2012, 27(5): 349-351.

[8] 鲍缦夕, 邹大进, 鲁谨. 不同甲状腺功能状态下人体血清脂联素水平的变化[J]. 中国临床康复, 2006, 10(36): 86-88.

[9] 陈青, 赵家军, 郑冬梅, 等. 甲状腺功能与血脂关系的临床分析[J]. 军事医学科学院院刊, 2010, 34(4): 364-366.

[10] Marique L, Senou M, Craps J, et al. Oxidative stress and upregulation of antioxidant proteins, including adiponectin, in extraocular muscular cells, orbital adipocytes, and thyrocytes in Graves' disease associated with orbitopathy[J]. Thyroid, 2015, 25(9): 1033-1042.

[11] 孙继红, 张艳, 路海荣, 等. 脂联素等脂类指标与中老年人甲状腺功能紊乱的相关性分析[J]. 检验医学, 2016, 31(7): 549-552.

[12] 郭莲, 张先祥. Graves 病患者<sup>131</sup>I 治疗前后血清 TNF- $\alpha$  和 TRAb 水平的变化及其相关性研究[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(14): 1528-1530.

[13] 朱四民, 王会芳, 华美霞, 等. Graves 甲亢患者治疗前后血清抵抗素水平的变化[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2013, 27(6): 487-489.

[14] 卢晓婷, 杜文华, 梁翠格, 等. 初诊 Graves 病患者<sup>131</sup>I 治疗前后血清 CXCL10、IL-6 水平变化及意义[J]. 山东医药, 2014, 54(47): 80-82.

(收稿日期: 2017-01-11 修回日期: 2017-03-11)

(上接第 1348 页)

et al. Endothelial cell junctional adhesion molecules: role and regulation of expression in inflammation[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2016, 36(10): 2048-2057.

[9] Doria A, Zen M, Bettio S, et al. Autoinflammation and autoimmunity: Bridging the divide [J]. Autoimmun Rev, 2012, 12(1, SI): 22-30.

[10] Wang C, Qin S, Ping LI. Research progress of inflammation and vascular endothelial injury[J]. Adv Cardiovascul Dis, 2015, 26(1): 28-36.

[11] Kulkarni M, Bowman E, Gabriel J, et al. Altered monocyte and endothelial cell adhesion molecule expression is linked to vascular inflammation in human immunodeficiency virus infection[J]. Open Forum Infect Dis, 2016, 3(4): ofw224.

[12] Weber C, Fraemohs L, Dejama E. The role of junctional adhesion molecules in vascular inflammation[J]. Nat Rev

Immunol, 2007, 7(6): 467-477.

[13] Koni PA, Joshi SK, Temann UA, et al. Vascular cell adhesion molecule-1[M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2004.

[14] Wang LF, Ding YJ, Guo XQ, et al. Role and mechanism of vascular cell adhesion molecule-1 in the development of rheumatoid arthritis[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(3): 1229-1233.

[15] Sato M, Shibata Y, Inoue S, et al. E-selectin as a prognostic factor of patients who hospitalized for respiratory inflammation diseases; a single institutional study[J]. Eur Respir J, 2016, 48(suppl 60): PA628.

[16] Li QH, Wayman A, Lin JG, et al. Flow-Enhanced stability of rolling adhesion through E-Selectin[J]. Biophys J, 2016, 111(4): 686-699.

(收稿日期: 2017-01-13 修回日期: 2017-03-12)