

引用本文:汪化文,申仑.血清C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白3、C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白9水平与冠状动脉钙化及严重程度的关系[J].安徽医药,2022,26(2):351-355.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.02.034.

◇临床医学◇



血清C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白3、C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白9水平与冠状动脉钙化及严重程度的关系

汪化文¹,申仑²

作者单位:¹邯郸市中心医院老年医学科,河北 邯郸056000;

²邯郸市第一医院神经外科,河北 邯郸056000

摘要: 目的 检测C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白3(CTRP3)、C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白9(CTRP9)在冠状动脉钙化(CAC)病人血清中的表达情况,探讨两者与CAC严重程度的关系。方法 选取2017年8月至2019年7月邯郸市中心医院接收的CAC病人128例,按照冠状动脉钙化积分(CACS)将其分为少量钙化组(28例)、轻度钙化组(32例)、中度钙化组(38例)和重度钙化组(30例),选取同期健康者130例为健康对照组。分别采集两组外周血并分离出血清,利用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中CTRP3、CTRP9的表达水平,使用全自动生化分析仪分析血脂指标三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)以及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平,采用Pearson法分析CAC病人血清中CTRP3、CTRP9水平与TG、TC、HDL-C、LDL-C的相关性,采用多因素logistic回归分析影响CAC发生的因素。结果 与健康对照组相比,CAC组血清中CTRP3[(67.26±7.58)μg/L比(80.05±16.23)μg/L]、CTRP9[(34.15±2.65)μg/L比(39.26±3.12)μg/L]和HDL-C水平[(1.17±0.22)mmol/L比(1.64±0.31)mmol/L]明显下降($P<0.05$),TC[(5.43±0.86)mmol/L比(4.52±0.53)mmol/L]、TG[(1.99±0.41)mmol/L比(1.58±0.27)mmol/L]、LDL-C水平[(3.57±0.34)mmol/L比(3.06±0.19)mmol/L]、收缩压[(134.78±12.63)mmHg比(121.74±11.85)mmHg]、舒张压[(85.42±7.84)mmHg比(70.67±6.01)mmHg]明显升高($P<0.05$);随着少量钙化的发生及CAC病人CACS的升高,CTRP3、CTRP9和HDL-C水平明显下降($P<0.05$),TC、TG、LDL-C水平明显升高($P<0.05$);年龄、收缩压、舒张压在四组不同钙化组中总体呈上升趋势($P<0.05$);CAC病人血清中CTRP3、CTRP9水平与TC、TG水平均明显负相关($P<0.05$),与HDL-C水平均明显正相关($P<0.05$);CTRP3、CTRP9、HDL-C是影响CAC发生的保护因素,TC、TG、LDL-C水平均是影响CAC发生的危险因素。结论 CAC组病人血清中CTRP3、CTRP9表达均明显下调,其表达水平均随着CAC组病人冠状动脉钙化程度的加重而下调,且与部分血脂指标关系密切,是影响CAC发生的保护因素,可作为CAC早期诊断的指标及CAC严重程度的标志物。

关键词: 冠状动脉疾病; C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白3; C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白9; 冠状动脉钙化

The relationships between serum CTRP3, CTRP9 levels and coronary artery calcification and severity in non-diabetic patients

WANG Huawen¹, SHEN Lun²

Author Affiliations:¹Department of Geriatric Medicine, Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056000, China;

²Department of Neurosurgery, the First Hospital of Handan, Handan, Hebei 056000, China

Abstract: **Objective** To detect the expressions of C1q/tumor necrosis factor-related protein 3 (CTRP3) and C1q/tumor necrosis factor-related protein 9 (CTRP9) in serum of non-diabetic patients with coronary artery calcification (CAC), and to explore their relationships with incidence and severity of CAC. **Methods** A total of 128 non-diabetic patients with CAC admitted to Handan Central Hospital from August 2017 to July 2019 were selected and divided into small amount of calcification group (28 cases), mild calcification group (32 cases), moderate calcification group (38 cases) and severe calcification group (30 cases) according to the coronary artery calcification score (CACS), and 130 healthy people in the same period were selected as control group. Peripheral blood samples were collected from non-diabetic CAC patients and healthy people, and hemorrhagic serum was separated, the expression levels of CTRP3 and CTRP9 in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were analyzed by automatic biochemical analyzer, and Pearson method was used to analyze the correlations between serum CTRP3 and CTRP9 levels and TG, TC, HDL-C, LDL-C in non-diabetic patients with CAC, multivariate logistic regression was used to analyze the factors affecting the occurrence of CAC. **Results** Compared with the control group, the levels of serum CTRP3 [(67.26±7.58) μg/L vs. (80.05±16.23)μg/L], CTRP9 [(34.15±2.65)μg/L vs. (39.26±3.12)μg/L] and HDL-C [(1.17±0.22) mmol/L vs. (1.64±0.31) mmol/L] in CAC group decreased significantly ($P<0.05$), while the levels of TC [(5.43±0.86) mmol/L vs. (4.52±0.53) mmol/L], TG[(1.99±0.41) mmol/L vs. (1.58±0.27) mmol/L], LDL-C

[(3.57±0.34) mmol/L vs. (3.06±0.19) mmol/L], systolic blood pressure [(134.78±12.63) mmHg vs. (121.74±11.85) mmHg] and diastolic blood pressure [(85.42±7.84) mmHg vs. (70.67±6.01) mmHg] increased significantly ($P<0.05$). With the occurrence of low CACS and the increase of CACS in non-diabetic CAC patients, the levels of CTRP3, CTRP9 and HDL-C decreased significantly ($P<0.05$), while the levels of TC, TG, LDL-C, age, systolic blood pressure and diastolic blood pressure increased significantly ($P<0.05$). The levels of serum CTRP3 and CTRP9 in non-diabetic CAC patients were negatively correlated with TC and TG levels ($P<0.05$), and positively correlated with HDL-C level ($P<0.05$). CTRP3, CTRP9 and HDL-C were protective factors affecting the occurrence of CAC, while TC, TG and LDL-C levels were risk factors affecting the occurrence of CAC. **Conclusions** The expressions of CTRP3 and CTRP9 in serum of non-diabetic patients with CAC are significantly down-regulated. The expression levels are down-regulated with the increase of coronary artery calcification in non-diabetic patients with CAC, and are closely related to some blood lipid index. They are protective factors affecting the occurrence of CAC and can be used as indicators of early diagnosis of CAC and markers of the severity of CAC.

Key words: Coronary artery disease; C1q/tumor necrosis factor related protein 3; C1q/tumor necrosis factor related protein 9; Coronary artery calcification

动脉粥样硬化是冠心病、心绞痛等心血管疾病的主要原因,冠状动脉钙化(coronary artery calcification, CAC)是动脉粥样硬化的一种类型。研究表明, CAC 程度高的病人发生心血管疾病的概率高于 CAC 程度低的病人,且已发生 CAC 的病人治疗难度远高于未发生 CAC 的病人^[1]。据统计, CAC 在 40~49 岁人群的发生率高达 50%^[2]。因此,寻找与 CAC 发生、钙化加重有关的因子尤为重要。C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白(C1q/tumor necrosis factor related protein, CTRP)3、CTRP9 是新发现 CTRP 家族成员,在脂肪组织中强表达,与糖尿病、冠心病、高血脂、高血压等心血管疾病均有相关,参与炎症反应、物质代谢、血管扩张等多项病理或生理过程^[3-4]。目前,血清 CTRP3、CTRP9 水平在心血管疾病上有所研究,但与 CAC 有关的研究相对较少。因此,本研究通过检测 CAC 病人血清中 CTRP3、CTRP9 表达水平,探讨二者与 CAC 病人冠状动脉钙化病变程度的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 8 月至 2019 年 7 月在邯郸市中心医院收治的 CAC 病人(CAC 组)128 例,男 66 例,女 62 例;年龄(62.48±10.27)岁,范围为 36~88 岁;体质指数(23.84±2.37)kg/m²,范围为 20~28 kg/m²。选取健康者(健康对照组)130 例,男 66 例,女 64 例;年龄(63.64±12.33)岁,范围为 35~89 岁;体质指数(23.86±2.69)kg/m²,范围为 20~27 kg/m²。两组性别、年龄、体质指数比较,均差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

纳入标准:(1)CAC 组冠状动脉 CT 诊断为 CAC 病人,健康对照组体检结果为 CAC 阴性,所有受试者均测定收缩压、舒张压;(2)签署知情同意书。排除标准:(1)活动性出血、贫血、甲状腺疾病、细菌或病毒感染、自身免疫性疾病或长期使用免疫抑制

药物、严重心肺肝肾功能障碍、恶性肿瘤、代谢性疾病、糖尿病者;(2)近期重大创伤或重大手术病人、冠状动脉旁路移植术史、经皮冠状动脉介入治疗病史者、长期酗酒史者;(3)过敏体质或对检查所需试剂过敏者;(4)服用影响 CTRP3、CTRP9 和血脂水平药物者;(5)妊娠期妇女;(6)最近 3 个月内进行其他临床试验者;(7)依从性差、不能按时复诊者;(8)资料不真实或不完整者。

冠状动脉钙化积分(coronary artery calcification score, CACS)分组:待病人心率控制在 90 次/分钟以下时做冠状动脉钙化扫描,使用计算机评分软件 Agatston 根据钙化体积、面积和峰值计算 CACS。根据 CACS 将 CAC 组病人分为 4 组,其中,少量钙化组(28 例):CACS 0~<10 分;轻度钙化组(32 例):CACS 10~<100 分;中度钙化组(38 例):CACS 100~<400 分;重度钙化组(30 例):CACS≥400 分。

1.2 试剂与仪器 所用人 CTRP3 酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法试剂盒购自艾美捷科技,货号 580200-1;所用人 CTRP9 ELISA 试剂盒购自上海恒渡生物科技,货号 HD39923;MODEL550 型酶标仪,美国 Bio-Rad 公司;AU5800 型全自动生化分析仪,美国贝克曼库尔特有限公司。

1.3 血清中 CTRP3、CTRP9 表达水平及血脂水平检测 清晨抽取 CAC 病人及健康体检者空腹外周静脉血 10 mL,置于 EDTA 管中,平均分成两份,一份 4℃低温 3 000 r/min 离心 10 min,吸取 0.5 mL 上层血清于无菌 EP 管,ELISA 法检测病人血清中 CTRP3、CTRP9 的表达水平,试验方法均按照试剂盒说明书进行。酶标仪测定吸光度值,波长为 450 nm,取 3 次重复平均值,绘制标准曲线,得出换算方程,计算 CTRP3、CTRP9 表达水平。

另一份使用全自动生化分析仪检测三酰甘油(triglyceride, TG)水平、总胆固醇(total cholesterol,

TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平以及低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平。

1.4 统计学方法 利用统计学软件SPSS 24.0进行统计分析。计量资料符合正态分布,采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,四/五组组内不同钙化数据行单因素方差分析,两两比较行LSD-*t*检验;计数资料均以例(%)表示,组间比较行 χ^2 检验。Pearson法分析CAC病人血清中CTRP3、CTRP9与TG、TC、HDL-C、LDL-C的相关性。采用多因素logistic回归分析影响CAC发生的因素。当 $P < 0.05$ 时,差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清中CTRP3、CTRP9水平比较 CAC组病人血清中CTRP3、CTRP9水平较健康对照组明显下降($P < 0.05$)。见表1。

表1 冠状动脉钙化(CAC)组与健康对照组血清中C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白(CTRP)3、CTRP9水平比较/($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CTRP3	CTRP9
健康对照组	130	80.05±16.23	39.26±3.12
CAC组	128	67.26±7.58	34.15±2.65
<i>t</i> 值		8.09	14.17
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.2 两组血脂、血压水平比较 与健康对照组相比,CAC组病人TC、TG、LDL-C、收缩压、舒张压水平明显升高,HDL-C水平明显降低($P < 0.05$)。见表2。

2.3 五组血清中CTRP3、CTRP9水平比较 五组血清中CTRP3、CTRP9水平的差异有统计学意义($P < 0.05$)。与健康对照组相比,少量钙化组CAC病人血清中CTRP3、CTRP9水平无明显变化($P > 0.05$),轻度、中度、重度钙化组CAC病人血清中CTRP3、CTRP9水平明显降低($P < 0.05$);与少量钙化组相比,轻度、中度、重度钙化组CAC病人血清中CTRP3、CTRP9水平明显降低($P < 0.05$);与轻度钙化组相比,中度、重度钙化组CAC病人血清中CTRP3、CTRP9水平明显降低($P < 0.05$);与中度钙化组相比,重度钙化组CAC病人血清中CTRP3、CTRP9水平明显降低($P < 0.05$)。见表3。

表2 冠状动脉钙化(CAC)组与健康对照组血脂、血压水平比较/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TG/(mmol/L)	TC/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	收缩压/mmHg	舒张压/mmHg
健康对照组	130	1.58±0.27	4.52±0.53	1.64±0.31	3.06±0.19	121.74±11.85	70.67±6.01
CAC组	128	1.99±0.41	5.43±0.86	1.17±0.22	3.57±0.34	134.78±12.63	85.42±7.84
<i>t</i> 值		9.50	10.25	14.02	14.84	8.55	16.98
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: TG为三酰甘油, TC为总胆固醇, HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇, LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇。

表3 冠状动脉钙化(CAC)不同积分组与健康对照组血清中C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白(CTRP)3、CTRP9水平比较/($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CTRP3/($\mu\text{g/L}$)	CTRP9/($\mu\text{g/L}$)
健康对照组	130	80.05±16.23	39.26±3.12
少量钙化组	28	77.84±10.76	38.84±3.02
轻度钙化组	32	70.35±9.48 ^{①②}	36.91±2.86 ^{①②}
中度钙化组	38	64.32±6.57 ^{①②③}	33.84±2.57 ^{①②③}
重度钙化组	30	57.82±6.05 ^{①②③④}	27.23±2.48 ^{①②③④}
<i>F</i> 值		25.25	115.64
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注: ①与健康对照组相比较, $P < 0.05$ 。②与少量钙化组相比较, $P < 0.05$ 。③与轻度钙化组相比较, $P < 0.05$ 。④与中度钙化组相比较, $P < 0.05$ 。

2.4 五组血脂水平比较 五组血脂水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与健康对照组相比, 少量钙化组CAC病人TG、TC、HDL-C水平无明显变化($P > 0.05$), LDL-C水平明显升高($P < 0.05$), 轻度、中度、重度钙化组CAC病人TC、TG、LDL-C水平明显升高($P < 0.05$), HDL-C水平明显降低($P < 0.05$);与少量钙化组相比, 轻度、中度、重度钙化组CAC病人TC、TG、LDL-C水平明显升高, HDL-C水平明显降低($P < 0.05$);与轻度钙化组相比, 中度、重度钙化组CAC病人TC、TG、LDL-C水平明显升高, HDL-C水平明显降低($P < 0.05$);与中度钙化组相比, 重度钙化组CAC病人TC、TG、LDL-C水平明显升高, HDL-C水平明显降低($P < 0.05$)。见表4。

2.5 CAC不同积分组年龄、血压比较 CAC不同积分组年龄、血压比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与少量钙化组相比, 轻度、中度、重度钙化组CAC病人年龄、收缩压、舒张压明显升高($P < 0.05$);与轻度钙化组相比, 中度、重度钙化组年龄、收缩压、舒张压均明显升高($P < 0.05$);与中度钙化组相比, 重度钙化组年龄、收缩压、舒张压明显升高($P < 0.05$)。见表5。

2.6 CAC病人血清中CTRP3、CTRP9水平与血脂水平的相关性分析 CAC病人血清中CTRP3、CTRP9水平与TC、TG水平均明显负相关($P < 0.05$), 与HDL-C水平均明显正相关($P < 0.05$), 与LDL-C水平均相关性不明显($P > 0.05$)。见表6。

表4 冠状动脉钙化(CAC)不同积分组与健康对照组血脂比较/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)					
组别	例数	TG	TC	HDL-C	LDL-C
健康对照组	130	1.58±0.27	4.52±0.53	1.64±0.31	3.06±0.19
少量钙化组	28	1.61±0.29	4.67±0.56	1.59±0.30	3.17±0.16 ^①
轻度钙化组	32	1.81±0.31 ^{①②}	5.22±0.64 ^{①②}	1.31±0.27 ^{①②}	3.46±0.18 ^{①②}
中度钙化组	38	2.11±0.47 ^{①②③}	5.65±0.88 ^{①②③}	1.06±0.21 ^{①②③}	3.68±0.27 ^{①②③}
重度钙化组	30	2.43±0.52 ^{①②③④}	6.12±0.92 ^{①②③④}	0.80±0.19 ^{①②③④}	3.92±0.33 ^{①②③④}
F值		47.09	50.38	76.55	133.45
P值		0.000	0.000	0.000	0.000

注: TG为三酰甘油, TC为总胆固醇, HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇, LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇。
①与健康对照组相比较, $P<0.05$ 。②与少量钙化组相比较, $P<0.05$ 。③与轻度钙化组相比较, $P<0.05$ 。④与中度钙化组相比较, $P<0.05$ 。

表5 冠状动脉钙化(CAC)不同积分组年龄、血压比较/ $\bar{x} \pm s$				
组别	例数	年龄/岁	收缩压/mmHg	舒张压/mmHg
少量钙化组	28	40.15±8.26	124.62±12.22	80.15±6.47
轻度钙化组	32	55.28±8.86 ^①	131.24±12.57 ^①	83.61±6.82 ^①
中度钙化组	38	67.72±9.27 ^{①②}	137.55±12.88 ^{①②}	86.92±6.88 ^{①②}
重度钙化组	30	84.37±8.33 ^{①②③}	144.52±13.11 ^{①②③}	90.39±7.24 ^{①②③}
F值		135.51	13.25	12.09
P值		0.000	0.000	0.000

注: ①与少量钙化组相比较, $P<0.05$ 。②与轻度钙化组相比较, $P<0.05$ 。③与中度钙化组相比较, $P<0.05$ 。

表6 冠状动脉钙化(CAC)血清中C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白(CTRP)3、CTRP9水平与血脂水平的相关性分析				
类别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
CTRP3				
r值	-0.451	-0.516	0.418	-0.217
P值	<0.001	<0.001	<0.001	0.178
CTRP9				
r值	-0.442	-0.507	0.612	-0.275
P值	<0.001	<0.001	<0.001	0.216

注: TG为三酰甘油, TC为总胆固醇, HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇, LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇。

2.7 影响CAC发生的多因素分析 将是否患CAC作为因变量, CTRP3、CTRP9、TG、TC、HDL-C及LDL-C水平为自变量, 进行多因素logistic回归分析, 结果显示CTRP3、CTRP9、HDL-C是影响CAC的保护因素, TC、TG、LDL-C水平均是影响CAC发生的危险因素。见表7。

3 讨论

CAC是血管钙化的一种, 是钙盐在冠状动脉壁上积聚导致的病理损害, CACS增高则冠状动脉狭窄加剧, 血管壁脆性和僵硬增加, 易导致血管壁破裂、出血和血栓形成, 最终增加不良心血管事件发生风险^[5]。目前, 我国心血管疾病死亡率较高, 占所有疾病总死亡率的40%以上, 且患病率和死亡率还在持续上升, 而CAC作为冠状动脉硬化病变标志, 对心血管疾病的发生具有较高的预测价值^[6-7]。目前临床上应用冠状动脉CT、血管内超声或冠状动

表7 影响冠状动脉钙化(CAC)发生的多因素分析						
影响因素	B值	SE值	Wald χ^2 值	P值	OR值	95%CI
CTRP3	-0.368	0.142	6.71	0.001	0.692	0.485~0.988
CTRP9	-0.588	0.258	5.20	0.000	0.555	0.333~0.926
TG	0.377	0.221	2.92	0.011	1.459	1.134~1.876
TC	0.454	0.277	2.68	0.004	1.574	1.246~1.988
HDL-C	-0.577	0.342	2.85	0.015	0.561	0.377~0.836
LDL-C	0.515	0.284	3.29	0.000	1.674	1.312~2.137

注: CTRP3为C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白3, CTRP9为C1q/肿瘤坏死因子相关蛋白9, TG为三酰甘油, TC为总胆固醇, HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇, LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇。

脉血管造影等影像学手段预测CAC发生并判断钙化程度, 一些实验室指标同样具有预测判断意义^[8]。近年来对其发病机制和影响因素研究表明, CAC的发生机制复杂且可调控, 其发生与动脉粥样硬化程度显著相关, 且其发生主要可归因于血管平滑肌细胞表型的转化^[9]。

CTRP3在脂肪、心脏、血管平滑肌细胞等多种组织和细胞中均有表达, 能调控心肌纤维化、血管新生等过程^[10]。研究表明, CTRP3通过激活ROS-ERK1/2-Runx2信号通路, 上调骨标志物的表达, 降低收缩表型的表达, 使血管平滑肌细胞由收缩表型向成骨表型转换, 进而促进血管钙化^[11]。但刘海玲发现, CAC病人血清CTRP3水平与非冠状动脉钙化组相比有所降低, 但差异无统计学意义, 认为循环中CTRP3水平可能不能代表血管钙化部位CTRP3的表达水平^[12]。CTRP9可通过调节AdipoR1/AMPK/eNOS/NO信号通路, 减轻血管损伤, 改善内皮细胞功能, 促进主动脉血管内皮产生NO, 诱导血管舒张, 抑制平滑肌细胞增殖, 调节脂质代谢、葡萄糖等过程, 发挥抗动脉粥样硬化及稳定斑块作用^[13]。吴爱成研究CTRP9发现, 其在无症状冠状动脉粥样硬化病人血清中的表达明显低于健康对照组, 认为CTRP9可作为早期诊断依据^[14]。CTRP3、CTRP9在调节脂质代谢和保护心血管调节途径中均有参

与^[15]。在本研究中,CAC组病人血清 CTRP3、CTRP9水平明显低于健康对照组,其表达水平均随着CAC组病人冠状动脉钙化程度的加重而下调;提示CTRP3、CTRP9与CAC的关系密切,随着疾病严重而下调明显;CTRP3表达结果与刘海玲的研究有所差异,可能是由于刘海玲的对照组为有胸痛症状的非冠状动脉钙化病人,而本研究对照组为健康体检者,或是两个研究选用的样本都不够大,产生的结果不够稳定所致。血脂指标TC、TG、LDL-C水平明显升高,HDL-C水平明显降低,其表达水平均随着CAC组病人动脉钙化程度的加重而异常表达加剧,提示血脂指标TC、TG、LDL-C、HDL-C参与CAC组病人的动脉钙化过程,与动脉钙化程度紧密相关。相关性分析结果显示,CAC组病人血清中CTRP3、CTRP9表达水平与TC、TG水平均明显负相关,与HDL-C水平均明显正相关;多因素回归分析表明,CTRP3、CTRP9、HDL-C是影响CAC发生的保护因素,TC、TG、LDL-C水平均是影响CAC发生的危险因素。提示CTRP3、CTRP9与部分血脂水平关系密切,且均为影响CAC发生的保护因素,其下调可促进冠状动脉钙化,可通过调控血脂异常表达进而导致CAC发生、发展。

综上所述,CAC病人血清CTRP3、CTRP9水平下调,且与部分血脂指标水平相关性明显,可能通过血脂水平影响疾病的发生发展,是CAC发生的保护因素,可作为CAC早期诊断的依据及钙化程度的判断依据。但本研究存在不足:样本量略小,可进一步扩大样本。

参考文献

- [1] ZHU L, LIU J, GAO C, et al. Comparison of coronary plaque, coronary artery calcification and major adverse cardiac events in Chinese outpatients with and without type 2 diabetes[J]. Springer Plus, 2016, 5(1):1678-1686.
- [2] 冯纪讷,陈雪,赵倩倩,等.血清miR-297a、FGF23水平与高血压患者冠状动脉钙化的相关性研究[J].现代仪器与医疗, 2019, 25(4):55-60.
- [3] 杨铠榕,周静,宋延彬. CTRP3在冠心病相关疾病中的研究进展[J].心血管病学进展, 2018, 39(1):109-112.
- [4] 李瑶,王天册,朱丽雯,等. CTRP9对心血管保护作用的研究进展[J].心脏杂志, 2019, 31(4):470-473, 478.
- [5] 樊丹平,郭晴晴,李静,等.雷公藤甲素对胶原诱导关节炎大鼠缺氧诱导因子-1 α 和血管内皮生长因子表达影响[J].辽宁中医药大学学报, 2016, 18(1):27-29.
- [6] 马丽媛,吴亚哲,王文,等.《中国心血管病报告2017》要点解读[J].中国心血管杂志, 2018, 23(1):3-6.
- [7] MCCLELLAND RL, JORGENSEN NW, BUDOFF M, et al. 10-Year coronary heart disease risk prediction using coronary artery calcium and traditional risk factors: derivation in the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) with validation in the HNR (Heinz Nixdorf Recall) study and the DHS (Dallas Heart Study)[J]. J Am Coll Cardiol, 2015, 66(15):1643-1653.
- [8] 梁杉. 冠状动脉钙化及其狭窄程度 CCTA 诊断的初步研究[D]. 大连:大连医科大学, 2016, 18-21.
- [9] 刘海玲,冯景辉. 血管平滑肌细胞与血管钙化相关机制的研究进展[J].中国循证心血管医学杂志, 2017, 9(11):1398-1400.
- [10] 薛丹. CTRP3在糖脂代谢及心血管保护作用中的研究进展[J].心血管病学进展, 2018, 39(3):435-437.
- [11] FADAEI R, MORADI N, BARATCHIAN M, et al. Association of C1q/TNF-Related Protein-3 (CTRP3) and CTRP13 serum levels with coronary artery disease in subjects with and without type 2 diabetes mellitus[J/OL]. PLoS One, 2016, 11(12):e0168773. DOI: 10.1371/journal.pone.0168773.
- [12] 刘海玲,徐炳柱,郭兆文,等.血清维生素K2、补体C1q肿瘤坏死因子相关蛋白3和核心结合因子 α 1与冠状动脉钙化的相关性研究[J].中国心血管杂志, 2019, 24(2):143-147.
- [13] 黄承敏. CTRP9对动脉粥样硬化斑块进展的作用及机制研究[D]. 山东大学, 2017, 36-38.
- [14] 吴爱成,唐恒锋,黄国清.血清hsCRP、MCP-1、CTRP9、APN、Lp-PLA2、Fractalkine和RANTES因子水平与无症状冠状动脉粥样硬化的关系[J].心血管康复医学杂志, 2018, 27(5):534-536.
- [15] YANG Y, LI Y, MA Z, et al. A brief glimpse at CTRP3 and CTRP9 in lipid metabolism and cardiovascular protection[J]. Prog Lipid Res, 2016, 64(10):170-177.

(收稿日期:2019-08-20,修回日期:2019-10-07)

引用本文:余超,李晟,曾永庆,等.基于 Oncomine 数据库研究钙黏附蛋白 11 基因在胃癌中的表达及意义[J].安徽医药,2022,26(2):356-359.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.02.035.

◇临床医学◇



基于 Oncomine 数据库研究钙黏附蛋白 11 基因在胃癌中的表达及意义

余超,李晟,曾永庆,程元光,何磊

作者单位:安徽医科大学第三附属医院(合肥市第一人民医院)胃肠外科,安徽 合肥 230061

摘要: **目的** 研究钙黏附蛋白 11 (Cadherin11, CDH11) 基因在胃癌中的表达并探讨其表达差异与预后的关系。**方法** 通过 Oncomine 数据库探索 CDH11 在胃癌中的表达变化;应用在线数据库及分析工具“the Kaplan Meier plotter”(KM plotter)数据库探索 CDH11 在胃癌的预后评判价值。**结果** Oncomine 数据库中共有 445 个涉及不同种类类型肿瘤的研究结果。其中有 66 项研究结果关于 CDH11 表达差异有统计学意义($P < 0.05$), 59 项研究结果显示 CDH11 的表达增高, 7 项研究结果显示 CDH11 的表达降低。共有 85 项研究, 8 个数据子集涉及 CDH11 在胃癌和正常组织中的表达, 共 478 个样本, 均显示 CDH11 在胃癌中的表达较正常组织明显增高。另外, KM plotter 数据库的分析显示 CDH11 水平与胃癌病人的总生存时间呈负相关。**结论** 与正常组织比较, CDH11 的表达水平在胃癌组织中明显增高, 且与胃癌病人生存预后相关, CDH11 有望成为胃癌靶向治疗药物的重要靶点。

关键词: 钙黏着糖蛋白类; 胃肿瘤; Oncomine 数据库; 钙黏附蛋白 11; Kaplan-Meier plotter 数据库

Expression of CDH11 and its prognostic role in gastric cancer: analysis based on Oncomine database mining

YU Chao, LI Sheng, ZENG Yongqin, CHENG Yuanguang, HE Lei

Author Affiliation: Department of Gastrointestinal Surgery, The Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University (The First People's Hospital of Hefei), Hefei, Anhui 230061, China

Abstract: **Objective** To study the expression and significance of Cadherin11 (CDH11) in gastric cancer and explore the relationship between its expression difference and prognosis. **Methods** The change of CDH11 expression in gastric cancer was explored by Oncomine database. The judgment value of CDH11 for prognosis of gastric cancer was explored by online database and analysis tool-“the KaplanMeier plotter” (KM plotter) database. **Results** Oncomine database contained 445 studies involved in different types of tumors. Among 66 studies, the difference of CDH11 expression was statistically significant ($P < 0.05$), and 59 studies showed increased expression of CDH11, 7 studies showed decreased expression of CDH11. A total of 85 studies, 8 data subsets involved the expression of CDH11 in gastric cancer and normal tissues. A total of 478 samples showed that the expression of CDH11 in gastric cancer was significantly higher than that in normal tissues. In addition, analysis of KM plotter database showed the level of CDH11 was negatively correlated with overall survival in gastric cancer patients. **Conclusion** Compare with normal tissue, the level of CDH11 expression is significantly higher in gastric cancer, and it was correlated with the prognosis of gastric cancer. CDH11 may be clinically used as an important target of medication for gastric cancer.

Key words: Cadherins; Stomach neoplasms; Oncomine database; Cadherin11; Kaplan-Meier plotter database

胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一。据 2018 全球癌症统计数据,在世界范围内,胃癌每年约有 100 万以上的新发病例,且在癌症相关病死率方面排名第三^[1]。由于饮食习惯及结构的改变,我国胃癌的发病率和死亡率均位于所有恶性肿瘤的第二位^[2]。由于早期症状不典型,大部分胃癌一旦发现已属于进展期,此时即便经过有效治疗,其复发转移的风险仍较高,治疗效果不理想。迄今临床上仍缺乏有效的用于胃癌早期诊断和判断预后的

生物学标记,因此,研究胃癌发生发展的相关因素,识别与发现和胃癌进展相关的特异性分子靶标对于胃癌的预防及治疗具有重要意义^[3]。钙黏附蛋白 11(CDH11)是钙黏蛋白家族的一员,属于 II 型钙黏附蛋白家族,其实质为一种钙离子依赖性介导细胞-细胞间黏附的单链跨膜糖蛋白。CDH11 在介导细胞黏附中发挥重要作用,在胚胎发育、组织形成和分化、细胞信号转导以及肿瘤浸润转移等多个方面具有重要的生物学效应^[4]。多项研究表明 CDH11

与乳腺癌、头颈部肿瘤及结直肠癌等多种肿瘤的发生发展有密切关系,在肿瘤组织及正常组织中呈差异表达,而且其在肿瘤组织中的表达水平与肿瘤恶性程度及病人预后存在相关性^[5-7],但其表达水平在胃癌中的相关研究少,临床意义尚不明确。本研究自2019年5—8月利用并深度挖掘 Oncomine 数据库中有 CDH11 基因的相关信息,并利用 Kaplan-Meier Plotter(KM plotter)数据库分析其与胃癌预后的关系,以期了解 CDH11 基因在胃癌中的表达及其与病人预后相关关系,并且为寻找胃癌的治疗靶点提供思路。

1 资料和方法

1.1 Oncomine 数据库 Oncomine 数据库是当前世界上最大的肿瘤基因芯片数据库和数据挖掘平台之一,整合了来自 GEO、TCGA 以及已发表文献来源的多种数据样本,可以根据个人的需求设定筛选和挖掘数据的条件得到可靠的分析结果。本研究当中,我们设定的筛选条件为:①“Cancer Type: Gastric cancer”;②“Gene: CDH11”;③“Analysis Type: Cancer vs Normal Analysis”;④“Data Type: mRNA”;⑤临界值设定条件(P value<1E-4, fold change>2, gene rank=top 10%)。

1.2 KM plotter 数据库 通过 KM plotter 数据库(<http://kmplot.com/analysis/>)的 Gastric Cancer 数据集进行病人在线生存分析并绘图得到结果,利用针对 CDH11 的三个探针进行分析。本研究设定的条件:①“Cancer: Gastric Cancer”;②“Gene symbol: CDH11”;③“Affy ID: 207172_s_at、207173_x_at 和 236179_at”;④“Survival: overall survival (OS)”;⑤“Stage: all”;⑥“Lauren classification: all”。以生存曲线图的形式展现基因表达水平与病人预后的关系。

1.3 统计学方法 本研究中所用统计学分析方法均为数据库内匹配的统计学方法。 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CDH11 在常见肿瘤中的表达结果 Oncomine 数据库中共收集了 455 项不同类型恶性肿瘤的研究结果,关于 CDH11 表达差异有统计学意义($P<0.05$)的研究结果有 66 项,其中 CDH11 表达升高的研究有 59 项,表达降低的研究有 7 项。在胃癌中,有 8 项研究均发现 CDH11 基因表达上调。见图 1。

2.2 CDH11 在胃癌中的表达结果 通过进一步分析 CDH11 在胃癌中的高表达,我们发现,自 2000 年开始,共有 85 项研究,8 个数据子集涉及了 CDH11 在胃癌组织和正常组织中的表达检测,共有 478 个样本,包括了胃癌 lauren 分型中的肠型、弥漫型及混

Disease Summary for CDH11

Analysis Type by Cancer	Cancer vs. Normal
Bladder Cancer	3
Brain and CNS Cancer	4
Breast Cancer	6
Cervical Cancer	
Colorectal Cancer	10
Esophageal Cancer	5
Gastric Cancer	8
Head and Neck Cancer	1
Kidney Cancer	1
Leukemia	1
Liver Cancer	3
Lung Cancer	1
Lymphoma	8
Melanoma	
Myeloma	
Other Cancer	5
Ovarian Cancer	1
Pancreatic Cancer	2
Prostate Cancer	1
Sarcoma	5
Significant Unique Analyses	59
Total Unique Analyses	445

图1 Oncomine 数据库中 CDH11 在所有肿瘤研究中的表达

合型胃癌与正常组织的比较。文章分别发表于 Mol Biol Cell^[8], Clin Cancer Res^[9], Nucleic Acids Res^[10], Eur J Cancer^[11], 和 Med Oncol^[12]。在 Oncomine 数据库中对这 8 个数据子集进行 Meta 分析发现,与对照组相比,CDH11 基因在所有差异表达基因中其中位数排名为 65, $P<0.001$,提示 CDH11 在胃癌中高表达。见图 2,表 1。

Comparison of CDH11 Across 8 Analyses
Over-expression

Median Rank	p-Value	Gene
65.0	2.40E-9	CDH11

Legend

1. Diffuse Gastric Adenocarcinoma vs. Normal
Chen Gastric, Mol Biol Cell, 2003
2. Gastric Intestinal Type Adenocarcinoma vs. Normal
Chen Gastric, Mol Biol Cell, 2003
3. Gastric Mixed Adenocarcinoma vs. Normal
Chen Gastric, Mol Biol Cell, 2003
4. Diffuse Gastric Adenocarcinoma vs. Normal
Cho Gastric, Clin Cancer Res, 2011
5. Gastric Cancer vs. Normal
Cui Gastric, Nucleic Acids Res, 2011
6. Gastric Intestinal Type Adenocarcinoma vs. Normal
D'Errico Gastric, Eur J Cancer, 2009
7. Gastric Mixed Adenocarcinoma vs. Normal
D'Errico Gastric, Eur J Cancer, 2009
8. Gastric Cancer vs. Normal
Wang Gastric, Med Oncol, 2010

图2 CDH11 在 Oncomine 数据库中胃癌中表达情况:1~8 分别表示 8 个数据子集结果,颜色越深表示 CDH11 基因在该芯片中表达越高

2.3 CDH11 在不同的胃癌研究芯片中的表达差异 Oncomine 数据库中,以箱线图的形式分析 CDH11 在不同的胃癌研究芯片中的表达,分别在 Wang 等^[12]、Cui 等^[10]、D'Errico 等^[11]、Chen 等^[8]和 Cho

表1 CDH11 基因在 8 个数据子集中的高表达情况

作者	肿瘤类型	正常组织	胃癌组织	P 值	差异倍数
Wang 等 ^[12]	胃癌	15	12	0.000	3.284
Cui 等 ^[10]	胃癌	80	80	0.000	2.042
DErrico 等 ^[11]	胃混合腺癌	31	4	0.000	4.962
	胃肠型腺癌	31	26	0.000	5.529
Chen 等 ^[8]	胃肠型腺癌	29	63	0.000	2.219
	弥漫性胃腺癌	29	13	0.000	2.200
	胃混合腺癌	29	7	0.000	4.087
Cho 等 ^[9]	弥漫性胃腺癌	19	31	0.000	2.540

等^[9]这 5 项研究,8 个研究数据子集中,CDH11 在胃癌组的表达量均高于正常组,差异有统计学意义(均 $P<0.001$)。

2.4 CDH11 与胃癌病人预后的关系 为进一步探究 CDH11 与胃癌病人预后生存的关系,我们在 KM plotter 数据库对符合要求的 876 个样本进行生存预后分析,结果显示,在 3 个针对 CDH11 基因的不同探针(207172_s_at、207173_x_at 和 236179_at)中,CDH11 表达水平对病人的总生存时间均差异有统计学意义($P<0.001$)。与低表达组相比,CDH11 高表达组胃癌病人的总生存时间明显降低(图 3)。

3 讨论

Oncomine 是目前世界上最大的癌基因芯片数据库和整合数据挖掘平台,旨在挖掘癌症的基因信息^[13]。该数据库整合了来自 GEO、TCGA 和各种已发表文献的数据文献并提供在线分析工具以解读这些高质量标准的肿瘤组织芯片差异,同时也拥有全面的癌症突变谱、基因表达数据及相关临床信息,对发现新的生物标记物或新的治疗靶点有重要作用。KM plotter 数据库是一个专门用来分析基因在肿瘤的预后评判价值的数据库,目前收录了各基因在胃癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌四种癌症的预后判断的数据。本研究通过 oncomine 数据库发现

CDH11 在胃癌组织中高表达,进一步通过 KM plotter 数据库研究发现 CDH11 高表达与胃癌的预后显著相关。

目前一致认为细胞黏附分子有五大类型,它们分别是钙黏附分子(Cadherin)、选择素、整合素、黏蛋白样家族、免疫球蛋白超家族,虽然在功能上它们略有差异,但当某些关键基因出现突变导致其黏附作用出现异常时,就会出现细胞的异常聚集、侵袭及转移,最终导致并促进恶性肿瘤的形成及转移。人 CDH11 基因位于 16q21,含有 18 个外显子,编码的 CDH11 蛋白介导钙依赖性细胞-细胞的黏附。CDH11 蛋白是 II 型钙黏附分子蛋白家族的一员,其结构包括胞外结构域、跨膜区、胞内结构域及 N 端的信号序列。CDH11 在多种恶性肿瘤细胞中高表达,并且表达情况与肿瘤的恶性程度及预后有关。Pishvaian 等^[14]发现 CDH11 与乳腺癌细胞恶性程度呈正相关,表达越高,乳腺癌细胞转移侵袭能力越高,并推论其可以作为乳腺癌恶性程度的分子标志物。Li 等^[15]的研究结果提示 HOXC8 通过上调 CDH11 的表达促进乳腺癌的侵袭转移,CDH11 在乳腺癌中高表达,进一步的生存分析提示 CDH11 高表达与预后不良密切相关,提示在乳腺癌中 CDH11 有强的致癌功能。在口腔鳞癌的研究中发现,CDH11

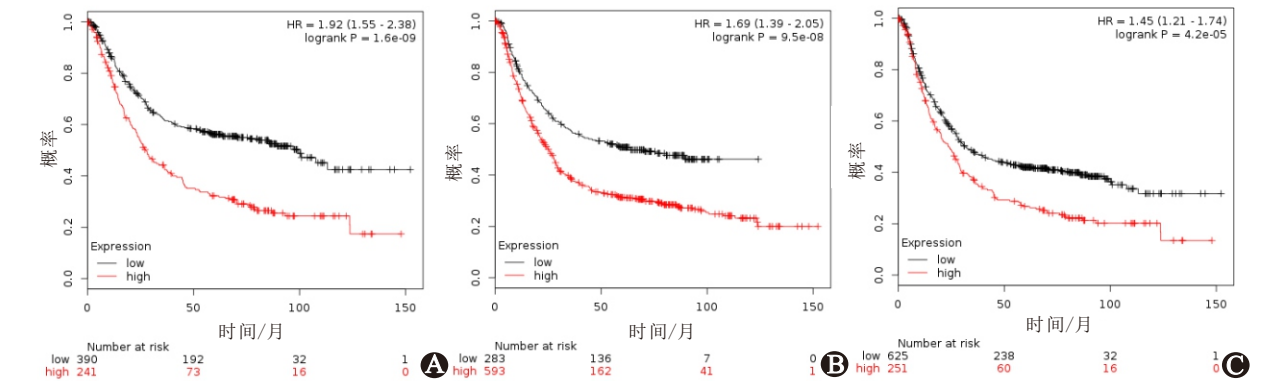


图3 Kaplan-Meier Plotter 数据库中,CDH11 表达水平与胃癌病人预后之间的关系:A 为针对 CDH11 基因的 236179_at 探针;B 为针对 CDH11 基因的 207172_s_at 探针;C 为针对 CDH11 基因的 207173_x_at 探针

可能通过 MAPK 及 PI3K/Akt 信号通路,从而影响肿瘤的淋巴转移,在分期较晚的病人及淋巴转移的病人中 CDH11 表达明显升高,CDH11 的表达可能作为肿瘤进展及转移的一个预测因素^[16]。

我们通过 Oncomine 数据库的研究,同样发现 CDH11 在多种恶性肿瘤中表达增高。首先通过 Oncomine 数据库挖掘 CDH11 基因在食管癌、结直肠癌、乳腺癌等常见肿瘤表达信息,结果发现,在有统计学差异的 66 项研究中,59 项研究表明 CDH11 在常见肿瘤中处于高表达状态。进一步利用 Oncomine 数据库分析了胃癌芯片检测结果,同样表明在 478 例的胃癌标本中,CDH11 在胃癌组织中呈高表达。为了进一步明确 CDH11 与胃癌病人的总生存期之间的关系,我们在 The KaplanMeier Plotter 数据库中选取了关于 CDH11 的三个不同探针(207172_s_at、207173_x_at 和 236179_at),对 876 个胃癌病人进行 CDH11 表达量与病人的预后生存(OS)分析。结果显示,CDH11 的表达量与胃癌总体预后水平明确相关,CDH11 高表达病人的总生存时间显著降低。由于综合了多个高质量的研究样本,我们的研究样本足够大,增加了研究结论的可信度。

综上,CDH11 可能作为一种潜在的肿瘤标记物,其可以促进胃癌的发生发展,异常增高的 CDH11 蛋白提示病人预后差,可作为胃癌病人预后不良的指标,但具体机制有待进一步研究。在临床上是否能作为胃癌早期诊断或判断预后不良的指标,以及是否可以作为胃癌的分子靶向治疗的相关靶点,为临床治疗提供一定的理论依据,需要我们进一步的探索。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] 王静,王亚明,田云霄,等.胃癌患者血清 E-钙黏蛋白和膜联蛋白 A7 水平及临床意义 [J]. 安徽医药, 2018, 22(4): 671-674.
- [4] YAGI T, TAKEICHI M. Cadherin superfamily genes: functions, genomic organization, and neurologic diversity [J]. Genes Dev, 2000, 14(10): 1169-1180.
- [5] POHLODEK K, TAN YY, SINGER CF, et al. Cadherin-11 expression is upregulated in invasive human breast cancer [J]. Oncol Lett, 2016, 12(6): 4393-4398.
- [6] PIAO S, INGLEHART RC, SCANLON CS, et al. CDH11 inhibits proliferation and invasion in head and neck cancer [J]. J Oral Pathol Med, 2017, 46(2): 89-97.
- [7] ZHU Q, WANG Z, ZHOU L, et al. The role of cadherin-11 in microcystin-LR-induced migration and invasion in colorectal carcinoma cells [J]. Oncol Lett, 2018, 15(2): 1417-1422.
- [8] CHEN X, LEUNG SY, YUEN ST, et al. Variation in gene expression patterns in human gastric cancers [J]. Mol Biol Cell, 2003, 14(8): 3208-3215.
- [9] CHO JY, LIM JY, CHEONG JH, et al. Gene expression signature-based prognostic risk score in gastric cancer [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(7): 1850-1857.
- [10] CUI J, CHEN Y, CHOU WC, et al. An integrated transcriptomic and computational analysis for biomarker identification in gastric cancer [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39(4): 1197-1207.
- [11] D'ERRICO M, DE RINALDIS E, BLASI MF, et al. Genome-wide expression profile of sporadic gastric cancers with microsatellite instability [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(3): 461-469.
- [12] WANG Q, WEN YG, LI DP, et al. Upregulated INHBA expression is associated with poor survival in gastric cancer [J]. Med Oncol, 2012, 29(1): 77-83.
- [13] RHODES DR, KALYANA-SUNDARAM S, MAHAVISNO V, et al. Oncomine 3.0: genes, pathways, and networks in a collection of 18,000 cancer gene expression profiles [J]. Neoplasia, 2007, 9(2): 166-180.
- [14] PISHVAIAN MJ, FELTES CM, THOMPSON P, et al. Cadherin-11 is expressed in invasive breast cancer cell lines [J]. Cancer Res, 1999, 59(4): 947-952.
- [15] LI Y, CHAO F, HUANG B, et al. HOXC8 promotes breast tumorigenesis by transcriptionally facilitating cadherin-11 expression [J]. Oncotarget, 2014, 5(9): 2596-2607.
- [16] MA C, ZHAO JZ, LIN RT, et al. Combined overexpression of cadherin 6, cadherin 11 and cluster of differentiation 44 is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in oral squamous cell carcinoma [J]. Oncol Lett, 2018, 15(6): 9498-9506.

(收稿日期:2019-12-28,修回日期:2020-02-05)