

CMTM5 基因与冠心病患者支架内再狭窄发生风险

刘腾飞, 林 涛, 任利辉, 李广平, 彭建军[△]

(首都医科大学附属北京世纪坛医院心血管内科, 北京 100034)

[摘要] 目的:探讨趋化素样因子超家族成员 5 (CKLF-like marvel transmembrane domain containing member, *CMTM5*) 基因与冠心病患者支架内再狭窄 (in-stent restenosis, ISR) 发生风险及该基因对血管内皮细胞 (endothelial cells, ECs) 增殖和迁移作用及其机制。**方法:**选择 2015 年 1 月至 2016 年 12 月在首都医科大学附属北京世纪坛医院心血管内科接受住院治疗并行经皮冠状动脉介入治疗手术的冠心病患者, 共计 124 例, 采用光学比浊法测定血小板聚集率并进行血小板高反应性分组; 冠脉造影术明确患者支架内再狭窄发生; RT-PCR 法测定 *CMTM5* 基因表达; 构建 *CMTM5* 基因过表达、敲减及对对照组内皮细胞系, 采用细胞计数法、MTT 法、BrdU 掺入实验和流式细胞术检测 ECs 增殖能力, 刮伤和 Transwell 实验检测 ECs 迁移能力, Western-blot 检测信号通路表达。**结果:***CMTM5* 基因在血小板高反应性 (high on aspirin platelet reactivity, HAPR) 组表达量为非血小板高反应性 (no-high on aspirin platelet reactivity, No-HAPR) 组表达量的 1.72 倍 ($P < 0.05$)。HAPR 组 ISR 发生率为 25.8% (8 例), No-HAPR 组 ISR 发生率为 9.7% (9 例), HAPR 组患者 ISR 的发生率高于 No-HAPR 组的发生率 ($P = 0.04$, $OR = 2.95$, $95\% CI: 1.16 \sim 7.52$), 表明该基因与冠心病患者支架术后支架内再狭窄发生风险显著相关 ($P < 0.05$)。*CMTM5* 基因过表达抑制 ECs 增殖和迁移能力 ($P < 0.05$), PI3K/Akt 信号通路参与该基因对内皮细胞增殖和迁移调控作用。**结论:***CMTM5* 基因与冠心病患者支架内再狭窄事件发生风险可能存在相关性, *CMTM5* 基因通过 PI3K/Akt 信号通路参与调控 ECs 增殖和迁移。

[关键词] 趋化素样因子超家族成员 5; 内皮细胞; 血小板反应性; 心血管事件

[中图分类号] R543.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2020)05-0856-07

doi:10.19723/j.issn.1671-167X.2020.05.010

Association of *CMTM5* gene expression with the risk of in-stent restenosis in patients with coronary artery disease after drug-eluting stent implantation and the effects and mechanisms of *CMTM5* on human vascular endothelial cells

LIU Teng-fei, LIN Tao, REN Li-hui, LI Guang-ping, PENG Jian-jun[△]
(Department of Cardiology, Shijitan Hospital, Beijing 100034, China)

ABSTRACT Objective: To elucidate the correlation between CKLF-like marvel transmembrane domain containing member (*CMTM5*) gene and the risk of in-stent restenosis (ISR) with coronary artery disease (CAD) patients and to detect the effects and mechanisms of *CMTM5*-stimulated genes on human vascular endothelial cells (ECs) proliferation and migration. **Methods:** A total of 124 hospitalized patients in Shijitan Hospital were enrolled in this study. All the CAD patients were detected with platelet reactivity and grouped into two groups according to platelet reactivity; ISR was conformed by coronary angiography; RT-PCR method was used to detect *CMTM5* gene expression; The *CMTM5* over expression, reduction and control EC lines were established; Cell count, MTT, BrdU and flow cytometry methods were used to detect the proliferation of ECs, scratch and transwell experiments to test the migration of ECs, Western blot was used to detect signal path expressions. **Results:** *CMTM5* gene expression in HAPR (High on aspirin platelet reactivity) group was 1.72 times compared with No-HAPR group, which was significantly higher than No-HAPR group. HAPR group ISR rate was 25.8% (8 cases), the incidence of No-HAPR ISR group was 9.7% (9 cases), and the results showed that in HAPR group, the incidence of ISR was significantly higher than that in No-HAPR group ($P = 0.04$, $OR = 2.95$, $95\% CI = 1.16 - 7.52$), which showed that *CMTM5* gene was significantly correlated with the risk of ISR. In HAPR group ISR rate was 25.8% (8 cases), the incidence of ISR in No-HAPR group was 9.7% (9 cases), and the results

基金项目: 中国铁路总公司科技研究开发计划课题 (J2017Z608)、首都医科大学附属北京世纪坛医院青年基金 (2017-q27) 和中心实验室开放课题 (2019-KF28) Supported by Foundation of Research and Development Plan of China Railway Corporation (J2017Z608), and Youth Foundation (2017-q27) and Open Research Funding (2019-KF28) of Central Laboratory of Beijing Shijitan Hospital Affiliated to the Capital Medical University
[△] Corresponding author's e-mail, pjj1972@sina.com

网络出版时间:2020-6-22 10:22:25 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20200622.0858.002.html>

showed that the risk of ISR in HAPR group was significantly higher than that in No-HAPR group. All the results showed that *CMTM5* was significantly correlated with the risk of ISR in CAD patients ($P < 0.05$). *CMTM5* overexpression inhibited the proliferation and migration ability of ECs ($P < 0.05$), PI3K/Akt signaling pathways were involved in the role of regulation on ECs. **Conclusion:** Our results revealed that *CMTM5* gene was closely related with ISR, *CMTM5* overexpression may repress ECs proliferation and migration through regulating PI3K-Akt signaling.

KEY WORDS Platelet reactivity; CKLF-like marvel transmembrane domain containing member 5; Coronary artery diseases; In-stent restenosis

经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)的广泛应用挽救了大量急性冠脉综合征患者的生命,金属裸支架的应用伴随着术后支架内再狭窄(in-stent restenosis, ISR)问题的出现,一度成为心内科医生和介入操作者关注的焦点,据文献报道发生率在10%~60%^[1]。随着药物涂层支架的广泛应用,ISR问题得到了部分解决,药物涂层支架能够有效地抑制损伤血管内皮细胞和平滑肌细胞的增殖,与金属裸支架相比能够显著降低ISR发生率,但ISR发生率仍在10%以上^[2-5]。

内皮细胞(endothelial cells, ECs)完整性的损伤及功能缺陷是动脉粥样硬化损伤和血管损伤后新生内膜形成最初的始动因素^[6-7],目前多数研究都在强调药物涂层支架优于金属裸支架,具有显著降低PCI术后ISR的优点,而新生内膜的形成影响了PCI的术后效果,最终导致了ISR,但目前内皮细胞完整性保护和损伤后修复的研究尚少见报道,而保护血管内皮细胞的完整性和在血管损伤后加速血管内皮细胞的修复被看成是降低损伤,从而形成重要的靶向治疗策略。

*CMTM5*是趋化素样因子家族的第5个成员,由6个外显子和5个内含子组成,广泛表达于正常成人和胎儿组织内^[8]。Voora等^[9]的研究发现,*CMTM5*基因表达量的变化与心血管事件的发生风险紧密相关。本课题组既往的研究结果表明*CMTM5*基因与冠心病患者(coronary artery disease, CAD)支架术后血小板高反应性(high on aspirin platelet reactivity, HAPR)显著相关,该基因与CAD患者支架术后虽规律服用阿司匹林仍有部分患者发生心血管事件相关^[10-11]。

*CMTM5*基因目前在心血管领域的研究仍处于探索阶段,本研究旨在探讨*CMTM5*基因表达量是否与中国CAD患者PCI术后支架内再狭窄的发生存在相关性,以内皮细胞的完整性的损伤作为切入点,聚焦于基因与内皮细胞完整性修复方面,进一步探讨*CMTM5*基因与人血管内皮细胞功能的关系。

1 资料与方法

1.1 病例资料及相关指标定义

选择2015年1月至2016年12月在首都医科大学附属北京世纪坛医院心血管内科接受住院治疗,并行PCI手术的冠心病患者,共计124例。

本研究遵循伦理和赫尔辛基宣言,研究开始前已经首都医科大学附属北京世纪坛医院伦理委员会审查批准,所有参与研究的患者本人及其家属均签署知情同意书。

入选标准:(1)年龄 ≥ 50 岁;(2)经冠状动脉造影确诊为冠心病,均实行了PCI手术,术后均规律服用双联抗血小板治疗至少6个月,并已调整成单药阿司匹林100 mg/d治疗的心血管疾病患者。

排除标准:(1)裸金属支架置入者;(2)有阿司匹林或氯吡格雷使用禁忌者;(3)血小板计数小于 $100 \times 10^9/L$ 者;(4)血液系统疾病者;(5)严重肝肾疾病者;(6)恶性肿瘤者;(7)应用GP IIb/IIIa拮抗剂、华法林或非甾体类抗炎药者;(8)近期有消化性溃疡导致胃肠出血者;(9)依从性不良者。

置入支架后6个月行冠脉造影,支架内再狭窄指PCI术后冠脉管腔出现狭窄直径 $\geq 50\%$ 可以伴或不伴临床症状。

1.2 分组及*CMTM5*基因表达检测

血小板聚集率测定采用光学比浊法,分组方法同本课题组前期研究^[10-11],将入选患者分为HAPR组和非血小板高反应性(no-high on aspirin platelet reactivity, No-HAPR)组,其中HAPR组31例和No-HAPR组93例;提取采集外周血标本RNA,采用RT-PCR方法检测样本中*CMTM5*基因表达量。

1.3 细胞培养及转染

本实验选取EA.hy926血管内皮细胞系,人脐静脉内皮细胞融合细胞,与原代脐静脉内皮细胞的生物学功能相似。培养条件为10% (质量分数) DMEM, 37 °C 5% (体积分数) CO₂ 培养箱, 0.25% (质量分数) 胰蛋白酶 37 °C 消化, 1:3 进行传代。采用山东维真生物科技有限公司包被过表达*CMTM5*的慢病毒,北京普瑞金生物科技有限公司包被低表达*CMTM5*的慢病毒,在六孔板每孔中接种 1×10^5 ECs,当ECs融合度接近70%时,12 h后转染目的质粒,24 h后在荧光显微镜下观察转染效率,

转染效率 > 70% 用于下一步实验。

1.4 细胞迁移和增殖能力的检测

将实验细胞分为正常内皮细胞组 (non-infected endothelial cells, EN)、过表达 *CMTM5* 内皮细胞组 (*CMTM5* overexpression endothelial cells, EO)、过表达对照组 (ad-mock infected endothelial cells, EO-mock)、低表达 *CMTM5* 内皮细胞组 (*CMTM5* suppression endothelial cells, ES) 和低表达对照组 (lenti-mock infected endothelial cells, ES-mock) 共 5 组。

细胞刮伤法检测 ECs 的横向迁移能力, Transwell 法检测 ECs 的纵向迁移能力, 细胞计数法、MTT、BrdU 掺入实验和流式细胞术 (flow cytometry, FCM) 检测 ECs 的增殖能力, 以上实验重复次数 ≥ 3 次。

1.5 Western-blot 检测信号通路蛋白表达

提取各实验组蛋白, BCA 法测定的蛋白浓度后进行 SDS-PAGE 电泳, 80 V 垂直电泳约 30 min, 120 V 电泳直至溴酚蓝泳道的最底部; 根据目的蛋白的相对分子质量大小进行切胶; 转膜, 转膜时间为 200 mA 约 2 h; 5% (质量分数) 牛奶进行封闭室温 2 h 或 4 ℃ 过夜, 一抗室温 2 h 或 4 ℃ 过夜, TBST 洗 3

次, 每次 5 min, 二抗孵育室温 1 h, 增强化学发光试剂显色后, 暗室曝光化学发光。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 计量资料以均数 \pm 标准差表示, 组间比较采用 *t* 检验, 计数资料用百分数表示, 组间比较采用卡方检验。Image pro plus 5.0 分析蛋白条带显影强度, COX 回归模型分析危险因素和目的基因在不良心血管事件发生中所占的风险比例, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 基本资料

根据实验室检查结果符合 HAPR 诊断标准者共 31 例 (14.7%), 两组患者的基线资料仅吸烟的组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 1)。对所有患者进行出院后随访观察, 在本研究中未出现失访患者, 共有 17 例患者发生 ISR, 占 13.7%, HAPR 组有 8 例患者发生 ISR, 发生率为 25.8%, 而 No-HAPR 组有 9 例患者发生 ISR, 发生率为 9.7%。

表 1 HAPR 组和 No-HAPR 组的临床基线资料

Table 1 Baseline characteristics of the patients in HAPR and No-HAPR groups

Variables	HAPR ($n = 31$)	No-HAPR ($n = 93$)	<i>P</i>
Age/years, $\bar{x} \pm s$	76.3 \pm 7.3	74.8 \pm 8.9	0.063
Male, n (%)	27 (87.1)	72 (77.4)	0.308
BMI/(kg/m ²), $\bar{x} \pm s$	26.1 \pm 3.3	24.5 \pm 3.1	0.451
Hypertension, n (%)	25 (80.6)	66 (71.0)	0.354
Diabetes, n (%)	12 (38.7)	32 (34.4)	0.670
Current smoking, n (%)	11 (35.5)	15 (16.1)	0.039*
Hyperlipidemia, n (%)	27 (87.1)	75 (80.6)	0.589
Essential medicines, n (%)	14 (45.2)	55 (59.1)	0.212
ACEI/ARB	22 (70.9)	61 (65.6)	0.663
β -blocker	12 (38.7)	45 (48.4)	0.408
CCB	13 (41.9)	31 (33.3)	0.395
Nitrates	24 (77.4)	81 (87.1)	0.249
Stains	27 (87.1)	72 (77.4)	0.308
Cardiovascular events, n (%)	8 (25.8)	9 (9.7)	0.037

HAPR, high on aspirin platelet reactivity; BMI, body mass index; ACEI, angiotensin converse enzyme inhibitor; ARB, angiotensin receptor inhibitor; CCB, calcium channel blocker. * $P < 0.05$.

2.2 *CMTM5* 基因与血小板反应性及心血管事件发生风险

CMTM5 基因在 HAPR 组的表达量是 No-HAPR 组表达量的 1.72 倍, 该基因表达量在 HAPR 组显著高于 No-HAPR 组 ($P < 0.05$), 与 HAPR 的发生存在

显著相关性。HAPR 组有 8 例患者发生 ISR, 发生率为 25.8% (表 1), 而 No-HAPR 组有 9 例患者发生 ISR, 发生率为 9.7%, 发现 HAPR 组患者 ISR 的发生率显著高于 No-HAPR 组的发生率 ($P = 0.04$, $OR = 2.95$, 95% CI : 1.16 ~ 7.52)。

COX 回归分析将年龄、性别、BMI、吸烟史、高脂血症、合并糖尿病等传统心血管疾病危险因素及 *CMTM5* 基因纳入回归模型(表 2), $\Delta\text{Ct } CMTM5$ 和吸烟因素是再狭窄事件发生的独立危险因素,其中吸烟因素每增加 1,再狭窄事件的发生会增加 1.998 倍, $\Delta\text{Ct } CMTM5$ 每增加 1,再狭窄事件发生率会降低至原来的 8.6%,即 *CMTM5* 基因表达量降低,再狭窄事件发生率降低至原来的 8.6%,反之 *CMTM5* 基因表达量增加,再狭窄事件的发生风险则会增加。

表 2 COX 回归分析影响心血管事件发生的危险因素

Table 2 COX regression analysis for the potential risk factors of cardiovascular events

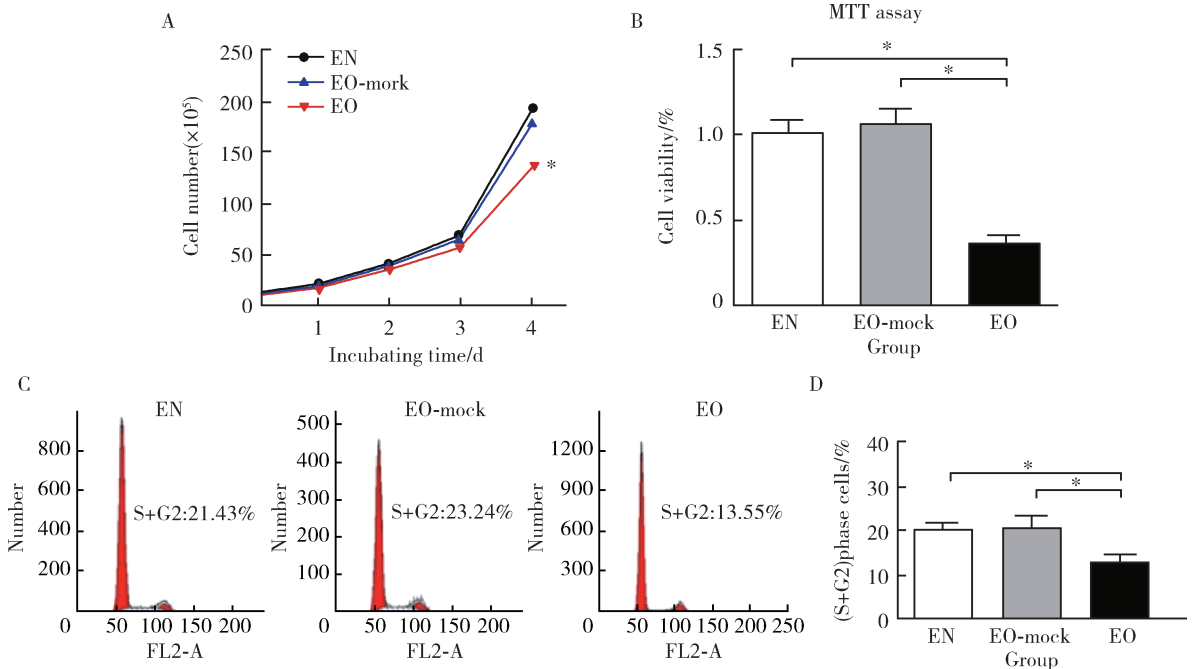
Risk factors	HR	95% CI	P
$\Delta\text{Ct } CMTM5$	0.086	0.053 - 0.099	0.010
Current smoking	1.998	1.050 - 3.802	0.035

2.3 *CMTM5* 过表达抑制内皮细胞增殖能力

采用细胞计数、MTT、FCM 法检测 *CMTM5* 过表达对血管内皮细胞增殖能力的影响(图 1),细胞连

续培养至第 4 天计数,EO 组细胞计数(128 ± 17)显著低于 EO-mock 组(195 ± 16)和 EN 组(201 ± 17)(P 均 < 0.05 ,图 1A);MTT 结果提示 EO 组 ECs 增殖速度和数量显著低于 EO-mock 组和 EN 组(P 均 < 0.05 ,图 1B);FCM 法检测提示 EO 组中细胞处于 S + G2 分裂期状态 ECs 数量占总体的 13.55%,显著低于 EO-mock 组(23.24%)和 EN 组(21.43%)(P 均 < 0.05 ,图 1C 和 1D)。

CMTM5 基因低表达对内皮细胞增殖能力影响研究发现(图 2),连续培养内皮细胞至第 4 天,ES 组细胞计数(233 ± 20)显著高于 ES-mock 组(148 ± 19)和 EN 组(146 ± 18 , P 均 < 0.05 ,图 2A);MTT 实验结果提示 ES 组的 ECs 增殖速度和数量显著高于 ES-mock 组和 EN 组(P 均 < 0.05 ,图 2B);BrdU 掺入实验显示 ES 组中 BrdU 掺入到细胞核中的数量高于 ES-mock 组和 EN 组(P 均 < 0.05 ,图 2C 和 2D);FCM 分析结果提示 ES 组处于细胞 S + G2 分裂期 ECs 数量占总体的 40.98%,显著高于 ES-mock 组(22.82%)和 EN 组(20.63%, P 均 < 0.05 ,图 2E 和 2F)。



* $P < 0.05$, $n \geq 3$. A and B, cell counting and MTT assay revealed that overexpression of *CMTM5* inhibited the proliferation of ECs; C and D, FCM assay showed the percentage of S + G2 phase cells was significantly lower than that in EN and EO-mock groups ($P < 0.05$). EN, non-infected endothelial cells; EO, *CMTM5* overexpression endothelial cells; EO-mock, ad-mock infected endothelial cells.

图 1 *CMTM5* 过表达抑制血管内皮细胞增殖能力

Figure 1 Overexpression of *CMTM5* attenuated the proliferation of ECs *in vitro*

2.4 *CMTM5* 过表达抑制内皮细胞迁移能力

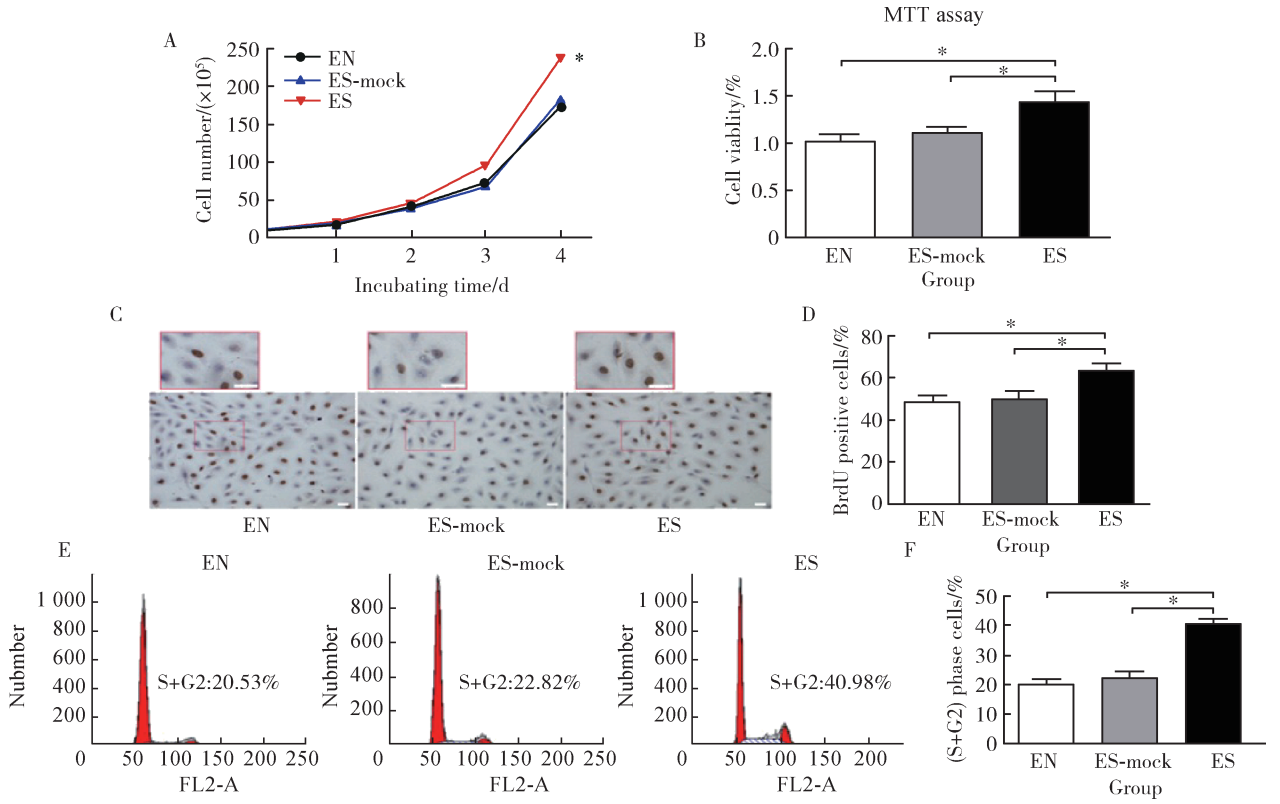
采用刮伤实验和 Transwell 实验检测 *CMTM5* 基因过表达对内皮细胞迁移能力影响。观察刮伤后 24 h 和 48 h 内皮细胞向中线迁移数量(图 3),发现刮伤后 48 h 细胞迁移数量 ES 组 ECs 迁移细胞数

(313 ± 38)明显高于 ES-mock 对照组(220 ± 30)和 EN 组(215 ± 32 , P 均 < 0.05 , $n \geq 3$),而 EO 组 ECs 迁移细胞数(181 ± 26)显著低于 EO-mock 对照组(240 ± 37)和 EN 组(P 均 < 0.05 , $n \geq 3$),可能 ES 组刮伤区域 ECs 横向迁移能力显著高于 EO 组

(P 均 $< 0.05, n \geq 3$)。

培养内皮细胞 6h 后固定染色,倒置显微镜下观察 Transwell 小室膜上面的 ECs 向膜下面迁移的数量(图 4), ES 组 ECs 迁移数量(89 ± 11)显著

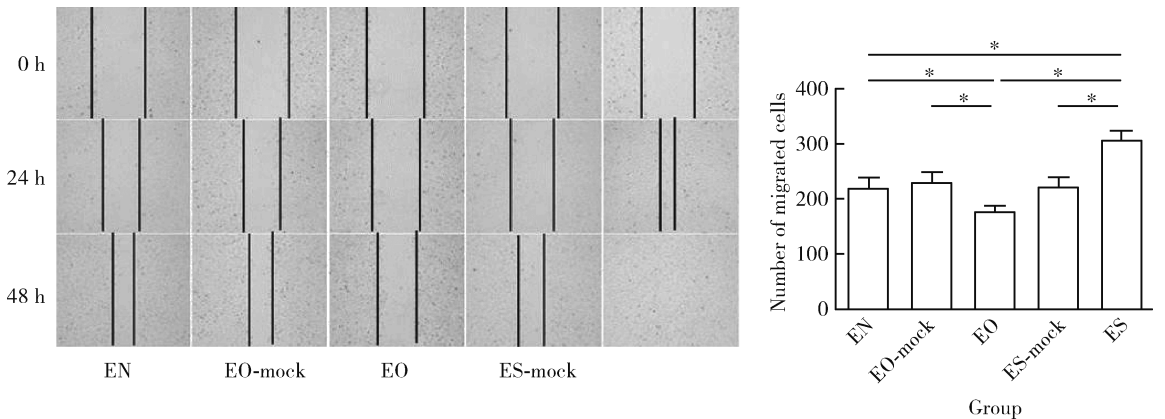
高于 ES-mock (62 ± 9) 和 EN 组 ($59 \pm 7, P$ 均 $< 0.05, n \geq 3$); EO 组 ECs 迁移数量(27 ± 5)显著低于 EO-mock (61 ± 7) 和 EN 组 (P 均 $< 0.05, n \geq 3$)。



* $P < 0.05, n \geq 3$. A and B, cell counting and MTT assay showed that *CMTM5* suppression facilitated the growth of ECs; C and D, BrdU incorporation assay revealed the proliferation-promoting effect of *CMTM5*; E and F, using FCM assay, the percentage of S + G2 phase cells in ES group was significantly higher than that in EN and ES-mock group ($P < 0.05$). EN, non-infected endothelial cells; ES, *CMTM5* suppression endothelial cells; ES-mock, lenti-mock infected endothelial cells.

图 2 *CMTM5* 低表达促进血管内皮细胞增殖能力

Figure 2 *CMTM5* inhibition promoted the proliferation of ECs *in vitro*



* $P < 0.05, n \geq 3$. EN, non-infected endothelial cells; EO, *CMTM5* overexpression endothelial cells; EO-mock, ad-mock infected endothelial cells; ES, *CMTM5* suppression endothelial cells; ES-mock, lenti-mock infected endothelial cells.

图 3 *CMTM5* 基因对人血管内皮细胞横向迁移能力的影响

Figure 3 Effects of *CMTM5* changes on the migration of ECs

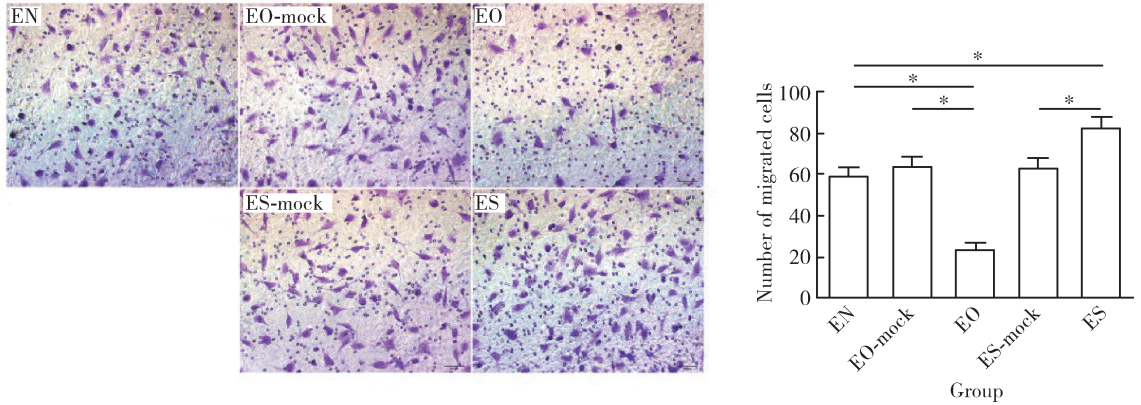
2.5 *CMTM5* 过表达抑制内皮细胞迁移能力

PI3K、Akt 的表达量在 ES 组、ES-mock 组和 EN

组之间无明显变化,而 p-Akt 在 ES 组中的表达量高于 EO-mock 组和 EN 组,ES 组中 p-Akt 的表达量与

EO-mock 组和 EN 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 5), p-Akt 在 EO 组中的表达量低于 EO-mock 组和 EN 组, EO 组中 p-Akt 与 EO-mock 组

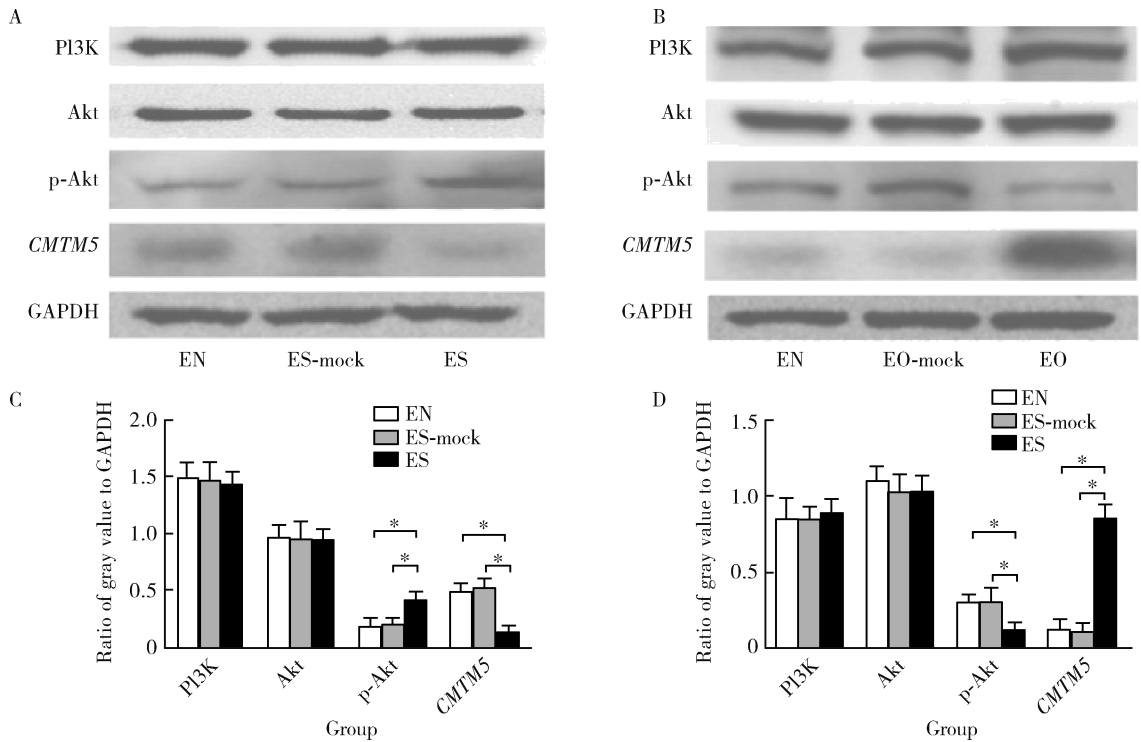
和 EN 组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明磷酸化信号通路蛋白在 ES 组中的表达量显著高于 EO 组。



* $P < 0.05$, $n \geq 3$. EN, non-infected endothelial cells; EO, CMTM5 overexpression endothelial cells; EO-mock, ad-mock infected endothelial cells; ES, CMTM5 suppression endothelial cells; ES-mock, lenti-mock infected endothelial cells.

图 4 Transwell 实验-观察 CMTM5 对血管内皮细胞纵向迁移能力影响

Figure 4 Effects of CMTM5 on ECs migration



* $P < 0.05$, $n \geq 3$. A and B, The protein levels of p-Akt in ES group was significantly higher than than in EN and ES-mock groups ($P < 0.05$); C and D, the protein levels of p-Akt in EO group were significantly lower than that in EN and EO-mock groups ($P < 0.05$). EN, non-infected endothelial cells; EO, CMTM5 overexpression endothelial cells; EO-mock, ad-mock infected endothelial cells; ES, CMTM5 suppression endothelial cells; ES-mock, lenti-mock infected endothelial cells.

图 5 Western blot 检测信号通路蛋白的表达

Figure 5 The effects of CMTM5 levels on the PI3K/Akt pathway proteins

3 讨论

PCI 术的开展让越来越多的 CAD 患者受益,但金属裸支架导致的高 ISR 发生率限制了介入手术给患者带来的获益,药物涂层支架的应用降低了金属

裸支架术后 ISR 发生率,使得 ISR 发生率降低了 10% 左右^[12],但研究表明 ISR 发生率仍有 3% ~ 25%,以及同时存在的迟发支架内血栓的问题也困扰着介入医生们。

ECs 的结构损伤以及功能障碍是 ISR 发生的始

动环节,ECs 损伤后释放炎症因子、黏附分子促进了炎症反应和血栓形成,协同平滑肌细胞增殖迁移参与血管重塑^[13]。药物涂层支架的应用虽然能够延缓平滑肌细胞增生导致的再狭窄,但也延迟了支架覆盖血管部位的内皮化,并使正常 ECs 的功能受到影响。因此,在药物涂层的基础上,研发出能加快再内皮化进程的新的生物制剂是目前研究的焦点。

本研究发现低表达的 *CMTM5* 能够促进损伤 ECs 增殖和迁移的能力,促进损伤的 ECs 完整性的修复,使再内皮化的速度加快,维持了内皮细胞的完整性和稳态,从而减低 ISR 和迟发支架内血栓的形成。*CMTM5* 基因编码的产物与血小板表面 GP II b/III a 整合素结合形成复合物,能够影响整合素依赖的细胞生物学功能^[8]。同时,该基因也是重要的血管生成因子,与血管生成的生理学和病理学存在紧密的联系。在肿瘤细胞中该基因通过 PI3K/Akt 信号通路抑制肿瘤的生物学行为^[14]。本研究结果提示 *CMTM5* 基因通过 PI3K/Akt 信号通路的活化参与了 *CMTM5* 基因调控 ECs 增殖和迁移的过程,此信号通路蛋白磷酸化的作用促进了 ECs 的增殖和迁移,解释了 ES 组 ECs 增殖和迁移的能力高于 EO 组,与该基因调控肿瘤细胞增殖和迁移的信号通路相似。以上几点共同解释了 HAPR 组患者 ISR 发生风险显著高于 No-HAPR 组的原因,因此,假设包被低表达 *CMTM5* 基因的病毒可被看成是新的生物学制剂,具有潜在的治疗价值,*CMTM5* 基因的低表达有可能成为 PCI 术后防治心血管事件发生的有效药物。

综上所述,本研究在中国人群中探讨了阿司匹林反应性相关基因 *CMTM5* 与老年冠心病患者支架术后 ISR 的相关性,从内皮细胞完整性角度解释 *CMTM5* 基因与 ISR 的相关关系,从研究机制层面上探讨 PI3K/Akt 信号通路的活化参与了 *CMTM5* 基因调控 ECs 增殖和迁移的过程。

参考文献

[1] Kokkinidis DG, Waldo SW, Armstrong EJ. Treatment of coronary

artery in-stent restenosis[J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2017, 15(3): 191-202.

[2] Kuchulakanti PK, Chu WW, Torguson R, et al. Correlates and long-term outcomes of angiographically proven stent thrombosis with sirolimus- and paclitaxel-eluting stents [J]. *Circulation*, 2006, 113(8): 1108-1113.

[3] Philip F. Duration of triple therapy in patients requiring oral anticoagulation after drug-eluting stent implantation[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 66(9): 1088-1089.

[4] Byrne RA, Joner M, Kastrati A. Stent thrombosis and restenosis: what have we learned and where are we going? The andreas grunzig lecture ESC 2014 [J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(47): 3320-3331.

[5] Moliterno DJ. Healing achilles; sirolimus versus paclitaxel[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(7): 724-727.

[6] Virmani R, Farb A. Pathology of in-stent restenosis [J]. *Curr Opin Lipidol*, 1999, 10(6): 499-506.

[7] Ma X, Hibbert B, McNulty M, et al. Heat shock protein 27 attenuates neointima formation and accelerates reendothelialization after arterial injury and stent implantation; importance of vascular endothelial growth factor up-regulation[J]. *FASEB J*, 2014, 28(2): 594-602.

[8] Li H, Guo X, Shao L, et al. CMTM5-v1, a four-transmembrane protein, presents a secreted form released via a vesicle-mediated secretory pathway[J]. *BMB Rep*, 2010, 43(3): 182-187.

[9] Voora D, Cyr D, Lucas J, et al. Aspirin exposure reveals novel genes associated with platelet function and cardiovascular events [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(14): 1267-1276.

[10] Liu TF, Zhang JW, Chen XH, et al. Comparison between urinary 11-dehydrothromboxane B2 detection and platelet light transmission aggregometry (LTA) assays for evaluating aspirin response in elderly patients with coronary artery disease[J]. *Gene*, 2015, 571(1): 23-27.

[11] 刘腾飞, 张婧薇, 陈夏欢, 等. *CMTM5* 基因 rs723840 单核苷酸多态性与阿司匹林治疗下血小板高反应性的相关性研究 [J]. *北京大学学报(医学版)*, 2015, 47(6): 905-909.

[12] Teirstein P, Reilly JP. Late stent thrombosis in brachytherapy: the role of long-term antiplatelet therapy [J]. *J Invasive Cardiol*, 2002, 14(3): 109-114.

[13] Schmierer RE. Endothelial dysfunction; how can one intervene at the beginning of the cardiovascular continuum [J]. *J Hypertens Suppl*, 2006, 24(Suppl 2): S31-35.

[14] Xiao Y, Yuan Y, Zhang Y, et al. CMTM5 is reduced in prostate cancer and inhibits cancer cell growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Clin Transl Oncol*, 2015, 17(6): 431-437.

(2018-11-15 收稿)

(本 文 编 辑 : 王 蕾)