

论著·基础研究

RCAN1 及 CnA 在下肢闭塞性动脉硬化支架术后再狭窄组织中的表达及意义

谢 锐, 冯洋洋, 温跃桃, 任 为

重庆医科大学附属第一医院血管外科, 重庆 400016

[摘要] **目的**·观察钙调神经磷酸酶调节因子 1 (RCAN1)、钙调神经磷酸酶 A (CnA) 在下肢闭塞性动脉硬化介入术后支架内再狭窄组织中的表达, 探讨其与支架内再狭窄的相关性。**方法**·收集 2013 年 9 月至 2016 年 6 月重庆医科大学附属第一医院血管外科中心下肢闭塞性动脉硬化股浅动脉支架内再狭窄血管标本 15 例, 取支架狭窄段、支架近端、支架远端血管组织, 采用 H-E 及 Masson 染色观察组织形态学变化; Western blotting 检测 RCAN1、CnA、增殖细胞核抗原 (PCNA) 的表达; 免疫组化及免疫荧光检测 RCAN1、CnA 蛋白的表达及分布; 免疫共沉淀检测 RCAN1 蛋白和 CnA 蛋白的相互作用。**结果**·RCAN1 在支架远端组织的表达水平显著高于在支架近端组织和支架狭窄段组织的表达水平 ($P<0.05$), RCAN1 在支架近端组织的表达水平显著高于在支架狭窄段组织的表达水平 ($P<0.05$); CnA 和 PCNA 在支架狭窄段组织的表达水平显著高于在支架近端组织、支架远端组织的表达水平 ($P<0.05$); 免疫组化及免疫荧光染色结果显示 RCAN1 和 CnA 主要在血管平滑肌细胞质中表达; 免疫共沉淀结果显示 RCAN1 与 CnA 在血管组织中存在相互作用。**结论**·RCAN1 的低水平表达与 CnA 的表达水平增高可能与支架内再狭窄发生有关。

[关键词] 闭塞性动脉硬化; 支架内再狭窄; 钙调神经磷酸酶调节因子 1; 钙调神经磷酸酶 A

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2017.03.005 **[中图分类号]** R654.4 **[文献标志码]** A

Expression of RCAN1 and CnA in tissues of in-stent restenosis after intervention of lower extremity arteriosclerosis obliterans and its significance

XIE Rui, FENG Yang-yang, WEN Yue-tao, REN Wei

Department of Vascular Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

[Abstract] **Objective**·To investigate the expression of the regulator of calcineurin 1 (RCAN1) and calcineurin A (CnA) in tissues of in-stent restenosis after intervention of arteriosclerosis obliterans (ASO), and to explore the relationship between their expression levels and the occurrence of in-stent restenosis. **Methods**·Superficial femoral arterial tissues were collected from 15 ASO patients undergoing lower extremity amputation for in-stent restenosis in Department of Vascular Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from September 2013 to June 2016. H-E staining and Masson staining were performed on the stenosis tissues, as well as on the proximal and distal tissues, and the morphological changes of these tissues were observed under optical microscope. Western blotting was used to detect the protein levels of RCAN1, CnA and proliferating cell nuclear antigen (PCNA). The distribution of RCAN1 and CnA proteins was observed by immunohistochemistry and immunofluorescence methods. In addition, co-immunoprecipitation was used to validate the protein-protein interaction between RCAN1 and CnA in vascular tissues. **Results**·The expression of RCAN1 in the distal tissues was significantly elevated compared with the proximal tissues and the stenosis tissues ($P<0.05$). The expression of RCAN1 in the proximal tissues was higher than that in the stenosis tissues ($P<0.05$). The expression of CnA and PCNA in the stenosis tissues was significantly elevated compared with the proximal tissues and the distal tissues ($P<0.05$). Immunohistochemistry and immunofluorescence analyses showed that RCAN1 and CN proteins were mainly expressed in the cytoplasm of vascular smooth muscle cells. Co-immunoprecipitation analysis showed there is protein-protein interaction between RCAN1 and CnA in arterial tissues. **Conclusion**·The low expression of RCAN1 and the high expression of CnA are probably related to the occurrence of in-stent restenosis.

[Key words] arteriosclerosis obliterans; in-stent restenosis; regulator of calcineurin 1; calcineurin A

下肢闭塞性动脉硬化 (arteriosclerosis obliterans, ASO) 是由动脉粥样硬化引起的动脉狭窄、闭塞性疾病, 是导致下肢截肢的重要原因。血管内支架成形术可明显改善 ASO 患者肢体的缺血症状, 但支架内再狭窄 (in-stent restenosis, ISR) 严重影响患者的临床预后^[1-2]。研究报道股浅动脉支

架植入术后 1 年内再狭窄发生率高达 20% ~ 30%^[3], 对 ISR 机制的研究有益于改善 ASO 患者的临床预后。

血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 异常增殖和迁移是 ISR 发生的主要原因之一, 是支架植入术后血管内皮细胞功能失调、炎症反应发生、血流动

[基金项目] 国家临床重点专科建设项目 (卫办医政函【2012】649) (National Key Clinical Specialist Construction Program of China, 2012-649)。

[作者简介] 谢 锐 (1989—), 男, 硕士生; 电子信箱: xierui0313@163.com。

[通信作者] 任 为, 电子信箱: renwei9771@foxmail.com。

力学改变等因素共同作用的结果^[4-5]。抑制 VSMC 的增殖和迁移是目前预防 ISR 的主要措施之一。钙调神经磷酸酶 (calcineurin, CN) 是受 Ca^{2+} /钙调蛋白 (calmodulin, CaM) 依赖的丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶, 由催化亚基 calcineurin A (CnA) 和调节亚基 calcineurin B (CnB) 组成。细胞及动物实验证明了 CN/活化 T 细胞核因子 (nuclear factor of activated T-cells, NFATc) 通路的激活可促进 VSMC 增殖进而导致内膜增生^[6-8]。钙调神经磷酸酶调节因子 1 (regulator of calcineurin 1, RCAN1) 为 CN 调节家族一员, 其通过抑制 CN 活性参与调节肿瘤生长、炎症及脑缺血再灌注损伤等多种病理过程^[9]。近年来研究发现 RCAN1 在血管疾病中也发挥着重要作用。RCAN1 通过抑制血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 减少内皮细胞迁移和血管形成; RCAN1 还可抑制血管损伤诱导的血管平滑肌细胞表型转换; 此外, RCAN1 能促进早期动脉粥样硬化形成^[10-12]。但 RCAN1 是否参与人体 ISR 的调节, 尚未见报道。

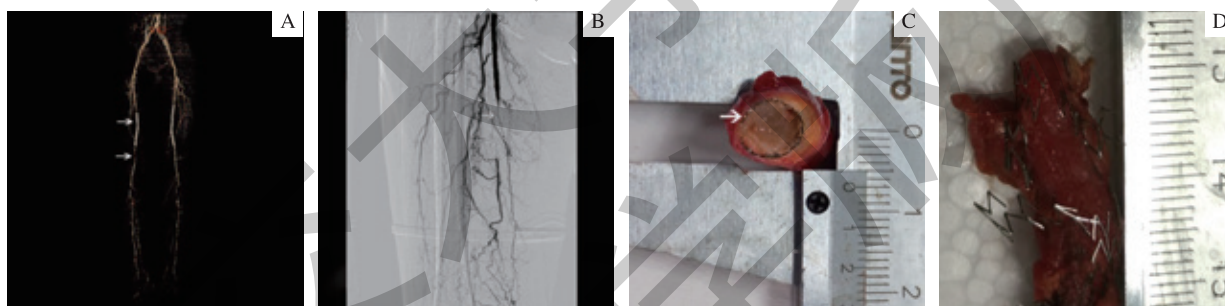
本研究通过收集下肢 ISR 患者的血管组织标本, 观察 RCAN1、CnA 在 ISR 的支架狭窄段、支架近端、支架

远端的表达水平的差异, 探讨 CnA 和 RCAN1 蛋白表达跟 ISR 发生的相关性, 为 ISR 的预防提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集 2013 年 9 月至 2016 年 6 月重庆医科大学附属第一医院血管外科中心 ASO 股浅动脉 ISR 截肢患者动脉血管 15 例, 男性 9 例, 女性 6 例, 平均 (76.06 ± 6.91) 岁。其中 ISR 发生于支架植入术后 3 月内再狭窄截肢 4 例, 支架植入术后 3 ~ 6 个月再狭窄截肢 8 例, 支架植入 6 个月以上再狭窄截肢 3 例。所有 ISR 截肢患者术前均行下肢动脉 CT 或动脉造影检查, 确定支架部位, 影像资料如图 1 所示。患者行截肢手术后收集肢体血管, 按照支架的部位分为支架狭窄段血管、支架近端血管及支架远端血管 3 组。新鲜标本分为 2 份, 1 份经 4% 多聚甲醛固定、石蜡包埋保存, 另 1 份保存于 -80°C 冰箱。本研究经重庆医科大学附属第一医院伦理委员会批准, 术前患者均签署知情同意书。



注: A. 下肢动脉 CT 检查影像学图片; B. 下肢动脉造影影像学图片; C. 股浅动脉 ISR 血管组织图片; D. 股浅动脉 ISR 支架内组织图片。

图 1 临床股浅动脉 ISR 影像学及病理组织资料

Fig 1 Clinical imaging and pathological tissue of ISR superficial femoral artery

1.2 主要试剂

RCAN1 兔抗人多克隆抗体、平滑肌肌动蛋白 (smooth muscle actin, SMA) 兔抗人多克隆抗体 (abcam, 美国), CnA 兔抗人多克隆抗体、PCNA 兔抗人多克隆抗体、Cy3 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L) (proteintech, 美国), Western blotting 抗体剥离缓冲液 (货号 21059, Thermo Fisher Scientific, 美国), SP 免疫组化试剂盒 (货号 SP-9000, 北京中杉金桥生物技术有限公司)、DAB 显色液 (北京中杉金桥生物技术有限公司), Masson 染色试剂盒 (货号 DC0033, 北京雷根生物技术有限公司), BCA 蛋白定量试剂盒、配胶试剂盒、ECL 显影试剂盒、Alexa Fluor 647 标记山羊抗兔 IgG (H+L) (上海碧云天生物技术有限公司), 琼脂糖蛋白 (A+G) (货号 P2012, 上海碧云天生物技术有限公司)。

1.3 血管形态学观察

石蜡包埋标本 $4\mu\text{m}$ 连续切片, 苏木精-伊红 (H-E) 及 Masson 染色后, 光学显微镜下观察血管内膜、中膜等形态学变化。

1.4 Western blotting 检测 RCAN1、CnA、PCNA 蛋白的表达

常规方法进行组织蛋白提取后, BCA 法测定蛋白浓度。蛋白上样于 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电转至聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜后, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h。加入相应一抗 (RCAN1, 1:1 000; CnA, 1:500; β -actin, 1:2 000), 4°C 摇床孵育过夜。次日 TBST 洗膜, 二抗室温孵育 1 h。再次洗膜后, ECL 发光液显影。蛋白 RCAN1 条带显影后使用 Western blotting 抗体剥离缓冲液洗涤, 重新孵育一

抗 PCNA (1:500)、二抗, 再次 ECL 发光液显影。采用 Fusion 软件进行图像扫描和灰度值分析。以 β -actin 为内参, 计算目的蛋白的相对表达水平。

1.5 免疫组织化学染色及免疫荧光检测 RCAN1、CnA 蛋白表达

免疫组化采用链霉抗生物素蛋白 - 过氧化物酶 (SP) 3 步染色法。石蜡切片脱蜡后参照免疫组化试剂盒说明书依次进行染色, 其中 RCAN1、CnA、PCNA、SMA 一抗的稀释度分别为 1:200、1:100、1:100、1:200; DAB 显色后, 分别于 100 倍、200 倍光学显微镜下拍照, 通过 Image-Pro Plus 6.0 软件分析 RCAN1、CnA 及 PCNA 的平均光密度。

免疫荧光选用冰冻切片, 4% 多聚甲醛固定, 蔗糖梯度脱水后切片, 常规 0.01 mol/L 枸橼酸盐微波抗原修复、5% 山羊血清封闭后加入一抗 RCAN1 (1:50)、SMA (1:100), CnA (1:100); 4 ℃ 过夜后加入 Alexa Fluor 647 标记山羊抗兔 IgG (H+L) (1:50), Cy3 标记山羊抗小鼠 IgG (H+L) (1:50), 血清封闭、DAPI 染色后在激光共聚焦显微镜下进行观察与采集图片。

1.6 免疫共沉淀检测 RCAN1 和 CnA 蛋白的相互作用

取出冻存的血管组织加入含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 蛋白裂解液, 充分研磨后至于冰上 30 min, 4 ℃ 离心 15 min 后, 取上清液, 加入琼脂糖蛋白 (A+G) 并加入一定量的兔抗 IgG, 4 ℃ 摇动混匀 1 h 后, 4 ℃ 离心。取上清液分装于 4 个离心管中, 取一管作为阳性对照组 (input), 其余 3 管分别加入 4 μ L RCAN1、CnA 抗体和兔抗 IgG, 4 ℃ 摇动混匀过夜, 加 40 μ L 琼脂糖蛋白 (A+G) 于不同离心管中摇动 3 h。4 ℃ 离心后弃上清, 每管中加入 500 μ L PBS 后, 重复离心, 漂洗液清洗树脂 3 次后加入 50 μ L 1 \times SDS 上样缓冲液, 沸水变性后, 进行 Western blotting 检测。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计学分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

共收集 ASO 股浅动脉支架植入术后 ISR 截肢患

者动脉血管组织 15 例, 其中男性、吸烟史、糖尿病史、高血压病史患者比率 $>50\%$, 具体临床特征如表 1 所示。

表 1 患者的一般临床资料
Tab 1 General clinical information of patients

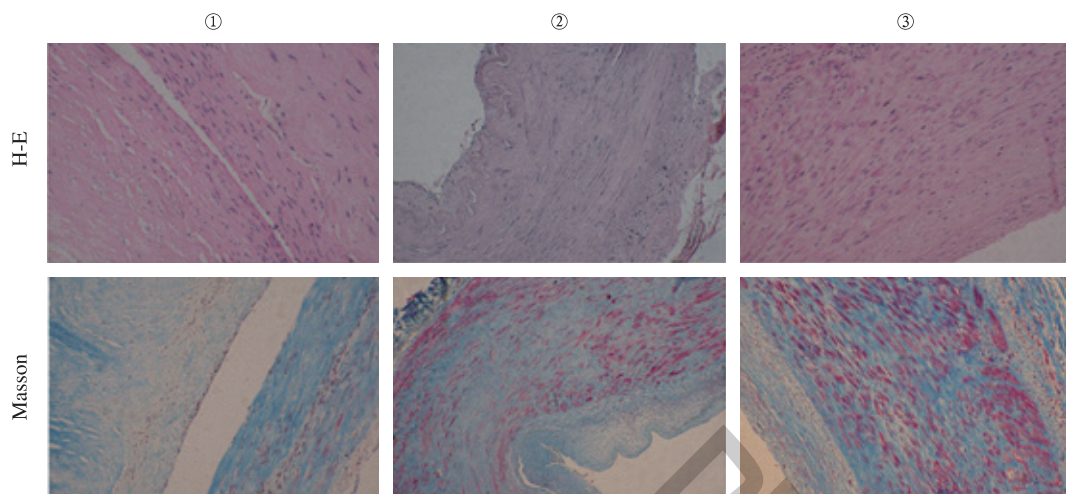
临床特征	例数 /n	百分比 /%
性别		
男性	9	60.00
女性	6	40.00
饮酒史	5	33.33
吸烟史	8	53.33
糖尿病史	8	53.33
高血压史	10	66.67
房颤史	2	13.33
支架植入时间 / 月		
<3	4	26.67
3 ~ 6	8	53.33
>6	3	20.00

2.2 血管形态学观察

血管组织 H-E 及 Masson 染色光镜下可见 3 类组织均伴有不同程度的内膜增生。在支架狭窄段, 支架腔内长满新生组织, 管腔严重闭塞, 腔内增生组织中可见明显的 VSMC 增殖和迁移; 支架近端组织可见内弹力板下内膜增生, 内弹力板附近有大量梭形核的 VSMC, 排列紊乱, 局部平滑肌纵向排列, 呈向内膜方向增长趋势, 内膜明显增厚; 支架远端组织血管内膜稍增厚, 内弹力板连续清晰, 可见排列的内皮细胞。

2.3 Western blotting 检测 RCAN1、CnA、PCNA 蛋白的表达

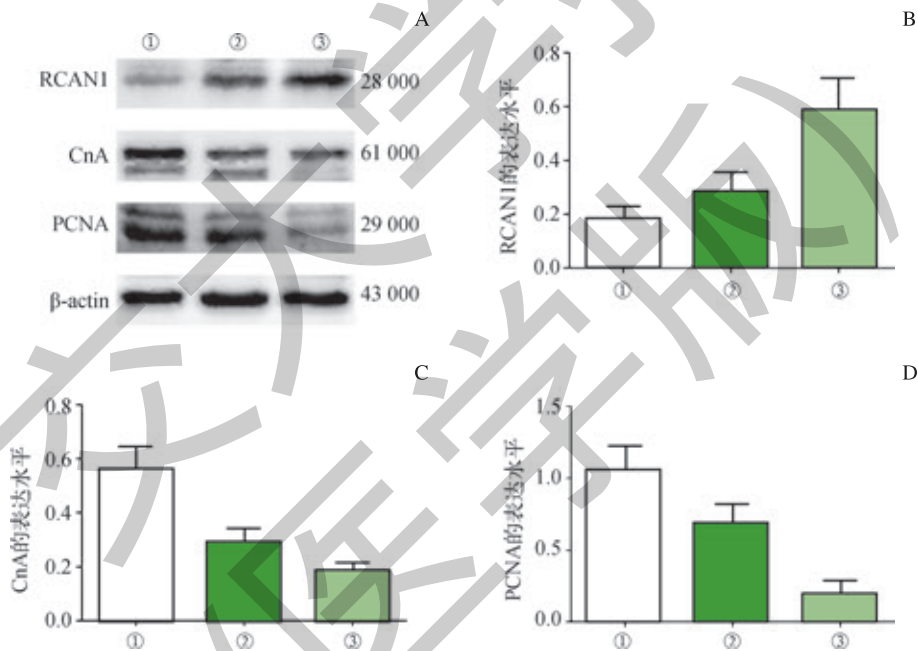
Western blotting 结果 (图 3) 显示, RCAN1 在支架远端组织中的表达水平与支架近端组织相比显著增高 ($P=0.000$), 在支架近端组织中的表达水平显著高于支架狭窄段组织 ($P=0.032$); CnA 在支架狭窄段血管组织的表达水平与支架近端组织相比显著增高 ($P=0.000$), 在支架近端血管组织中的表达水平高于支架远端血管组织 ($P=0.018$); PCNA 在支架狭窄段血管组织中的表达水平显著高于支架近端血管组织 ($P=0.003$), 在支架近端血管组织的表达水平显著高于支架远端血管组织 ($P=0.000$)。



注: ① 支架狭窄段组织, ② 支架近端组织, ③ 支架远端组织。

图 2 组织学分析支架狭窄段、支架近端、支架远端组织 $\times 100$

Fig 2 Histological analysis of restenosis tissues, proximal tissues and distal tissues $\times 100$



注: A. RCAN1、CnA、PCNA 蛋白的 Western blotting 检测结果; B. RCAN1 蛋白表达水平的相对定量结果; C. CnA 蛋白表达水平的相对定量结果; D. PCNA 蛋白表达水平的相对定量结果; ① 支架狭窄段组织, ② 支架近端组织, ③ 支架远端组织。

图 3 支架狭窄段、支架近端、支架远端组织中 RCAN1、CnA、PCNA 蛋白的表达 ($n=8$)

Fig 3 Expression of RCAN1, CnA and PCNA protein in restenosis tissues, proximal tissues and distal tissues ($n=8$)

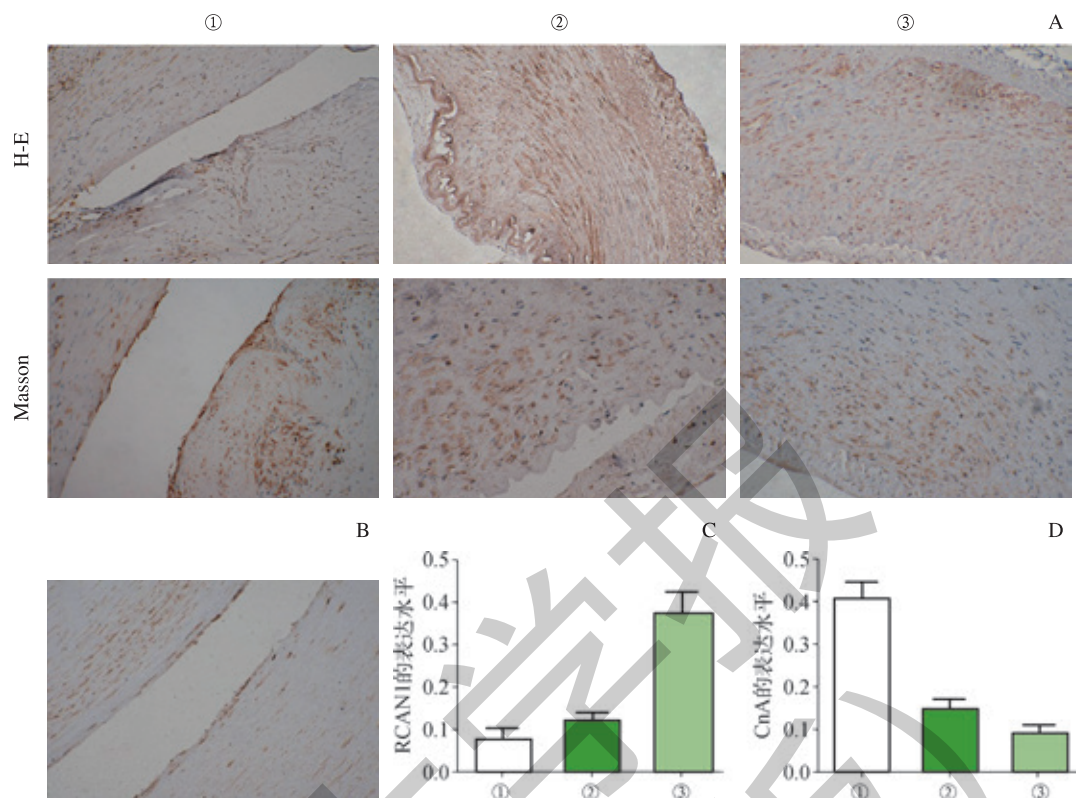
2.4 RCAN1、CnA 在血管组织中的分布

免疫组化结果 (图 4) 显示 RCAN1、CnA 蛋白在 VSMC 及内皮细胞中均有分布, 主要在细胞质表达 (图 4A); SMA 蛋白在支架狭窄段增生的组织中表达 (图 4B)。RCAN1 在支架狭窄段中的表达水平明显低于支架远端组织的表达水平 ($P=0.000$), 在支架近端组织中的表达水平低于支架远端组织的表达水平 ($P=0.040$)。CnA 在支架狭窄段组织中的表达水平高于支架远端组织的表达水平

($P=0.000$), 在支架近端组织中的表达水平高于支架远端组织的表达水平 ($P=0.005$)。

2.5 RCAN1、CnA 与 SMA 在血管组织中的共表达特点

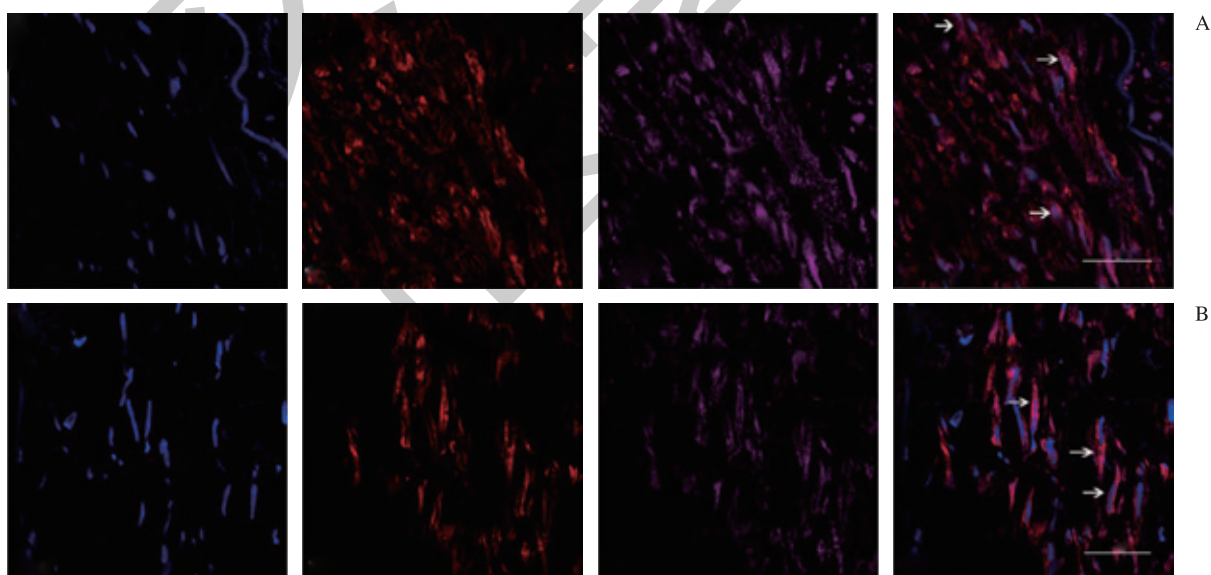
免疫荧光结果 (图 5) 显示, 在 ASO 血管平滑肌组织中 RCAN1 蛋白 (紫色) 与血管平滑肌标志物 SMA 蛋白 (红色) 呈共表达; 同时 CnA 蛋白 (紫色) 与血管平滑肌标志物 SMA (红色) 也呈共表达。



注: A. RCAN1、CnA 蛋白在各组组织中表达的代表图片; B. SMA 蛋白在再狭窄组织增生组织中表达的代表图片; C. RCAN1 表达水平的定量统计结果; D. CnA 表达水平的定量统计结果; ① 支架狭窄段组织, ② 支架近端组织, ③ 支架远端组织。

图 4 RCAN1、CnA、SMA 在血管组织中的表达 $\times 100$

Fig 4 Expression of RCAN1, CnA and SMA in vascular tissues $\times 100$



注: A. CnA 蛋白的免疫荧光染色结果, 从左至右依次为 DAPI 染色、SMA 蛋白、CnA 蛋白和融合图像 (Merge); B. RCAN1 蛋白的免疫荧光染色结果, 从左至右依次为 DAPI 染色、SMA 蛋白、RCAN1 蛋白和 Merge。标尺: 50 μm 。

图 5 RCAN1 和 CnA 及血管平滑肌细胞标志物 (SMA) 在 ASO 血管组织中的共表达 $\times 400$

Fig 5 Co-expression of RCAN1 and CnA with SMA in the artery of ASO patients $\times 400$

2.6 CnA 蛋白与 RCAN1 蛋白在血管组织中相互作用

免疫共沉淀结果显示在股浅动脉 ISR 支架狭窄段血管组织中 RCAN1 蛋白与 CnA 蛋白可以互相沉淀下来, 发生直接相互作用 (图 6)。

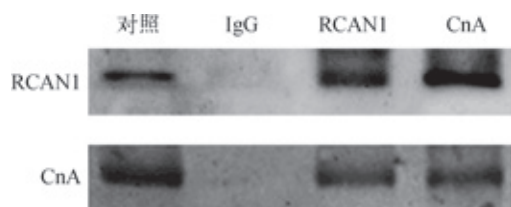


图 6 免疫共沉淀检测 RCAN1 与 CnA 蛋白之间的相互作用

Fig 6 Co-immunoprecipitation showing the interaction between RCAN1 and CnA proteins

3 讨论

ASO 是致残率极高的外周血管性疾病之一, 其发病率随年龄增加逐渐升高。ISR 的发生已成为 ASO 患者支架植入术后所面临的最大难题。近年来以雷帕霉素、紫杉醇等药物洗脱支架 (drug eluting stent, DES) 新型材料预防再狭窄的研究取得了重要进展, 但相关临床研究报道 DES 具有延迟血管内膜再内皮化作用, 其远期 ISR 发生率较高, 术后仍有 8% ~ 17% 患者发生血管闭塞^[13-14], 因此再狭窄仍然是支架植入术后临床预后不良的高危因素。

目前研究认为 VSMC 异常增殖与迁移在血管内膜增生及 ISR 中发挥着关键作用^[15]。已有研究显示在猪冠状动脉支架再狭窄模型中, 支架段血管组织内膜显著增厚^[16]。本实验通过人体股浅动脉 ISR 血管形态学观察发现支架段血管内膜显著增厚, 血管腔严重狭窄。PCNA 又称周期蛋白, 是一种与细胞增殖周期有关的核内蛋白, 其表达与细胞增殖活性呈正相关。PCNA 在支架狭窄段组织表达显著增高, 表明 ISR 与细胞增殖有关; 此外免疫组化染色显示 SMA 在支架内新生组织中表达, 提示增殖的细胞主要为 VSMC, 证明了 VSMC 增殖和迁移是 ISR 的主要原因。我们发现 CN 的催化亚基 CnA 在支架植入术后 3 ~ 6 月截肢的 8 例支架段血管表达明显增高, 这与 Hamada 等^[16]在支架再狭窄动物模型中的研究是一致的。Hamada 等研究发现支架段血管 VSMC 中 CN 表达量显著增高, 而使用 CN 抑制剂环孢菌素 A (cyclosporine, CyA) 及他克莫司 (tacrolimus, FK506) 后, 球囊实验组内膜增生较对照组明显降低^[16-18], 表明在支架再狭窄的形成过程中, CN/NFATs 信号通路对内膜增生的形成发挥重要促进作用。本实验通过 Western blotting 检测发现 CnA 在支架狭窄段组织表达显著高于支架近端组织及支架远端组织; 免疫荧光证实 CnA 与 VSMC 标记物 SMA 共表达, 进一步证

实了 CnA 与内膜增生及再狭窄有着密切联系, CnA 表达上调可能与 ISR 发生有关。ASO 支架植入术后, 在血管内膜的机械性损伤、炎症反应、血流动力学改变等多种因素刺激作用下, 通过 CN/NFATc 信号通路, 释放多种生物活性物质作用于 VSMC 增殖调节, 导致内膜增厚及再狭窄的发生。

CN 的表达以及活性受到诸多内源性和外源性因素的调节, CN 的外源性抑制剂 CyA、FK506、伏环孢素因免疫抑制等不良反应大, 限制了其临床应用^[19]。RCAN1 作为 CN 内源性调节因子, 对 CN 调节起双重作用, 一方面 RCAN1 对 CN 具有抑制作用, 通过抑制 CN/NFATc 信号通路参与肿瘤生长、血管生成, 心肌肥厚、炎症, 心肌缺血再灌注损伤等多种疾病的病理过程^[20]; 另一方面 RCAN1 可活化 CN 信号通路, 这与 RCAN1 磷酸化及泛素化降解途径有关^[21-22]。近年来研究显示 RCAN1 对 VSMC 及内皮细胞发挥重要的调节作用。本研究通过免疫组化及免疫荧光显示 RCAN1 主要在人体股浅动脉及再狭窄组织 VSMC 及增生的内膜组织存在表达。Western blotting 结果提示 RCAN1 在 ISR 组织中表达降低, 在支架远端组织中的表达显著高于支架狭窄段组织及支架近端组织。实验结果表明 RCAN1 低表达可能与支架植入术后再狭窄密切相关, 其机制可能与 CN 信号通路过度激活有关。Lee 等^[12]在体外细胞实验研究发现 RCAN1 过表达明显地减弱了 VSMC 中 NFATs 的转录活性, 相反 RCAN1 基因敲除后增强了 VSMC 中 NFATc 的转录活性。本实验结果与 Lee 等在体外研究结果一致, RCAN1 蛋白表达升高对 CN/NFATc 信号通路起着抑制作用, 表明 RCAN1 可能通过抑制 CN 活性参与 VSMC 增殖调节。另有研究报道在小鼠动脉损伤模型中在 AngII 刺激下, RCAN1 表达升高可促进 VSMC 增殖^[10], 其可能与 RCAN1 对 CN 活性的调节与细胞、组织的种类, 不同刺激及疾病的进展程度及其他信号通路参与调节有关^[12], 其机制还有待于我们进一步研究。本研究发现在 ISR 狭窄组织中 CnA 表达增高, 而 RCAN1 表达降低。CnA 表达增高可能与 RCAN1 表达降低, 对 CnA 抑制作用减弱有关。此外本实验通过免疫共沉淀技术证明了 RCAN1 蛋白与 CnA 蛋白在 ISR 组织存在相互作用, 进一步说明 RCAN1 可能通过抑制 CN/NFATc 信号通路参与支架植入术后 VSMC 增殖的调节, 提示 RCAN1 在 ISR 中起着重要作用。

综上所述, 本研究证明 RCAN1、CnA 蛋白在 ASO 支架植入术后 ISR 周围组织的平滑肌中均有异常表达。我们推测支架植入术后血管平滑肌细胞中 RCAN1 表达降低、CnA 表达增加诱导其异常增殖从而导致 ASO 支架植入术后血管狭窄的发生。本研究为临床 ISR 治疗及预防提供新的方向, 具体机制有待进一步探讨。

参·考·文·献

- [1] Maurel B, Chai F, Maton M, et al. In stent restenosis and thrombosis assessment after EP224283 injection in a rat model[J]. *Atherosclerosis*, 2013, 229(2): 462-468.
- [2] Forte A, Rinaldi B, Berrino L, et al. Novel potential targets for prevention of arterial restenosis: insights from the pre-clinical research[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2014, 127(11): 615-634.
- [3] Kinstner C M, Lammer J, Willforthehringer A, et al. Paclitaxel-eluting balloon versus standard balloon angioplasty in in-stent restenosis of the superficial femoral and proximal popliteal artery: 1-year results of the PACUBA trial[J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2016, 9(13): 1386-1392.
- [4] Weintraub WS. The pathophysiology and burden of restenosis[J]. *Am J Cardiol*, 2007, 100(5A): 3K-9K.
- [5] Tang L, Pei H, Yang Y, et al. The inhibition of calpains ameliorates vascular restenosis through MMP2/TGF- β 1 pathway[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 29975.
- [6] 涂玲辉, 刘海朋, 骆静. 钙调神经磷酸酶调节因子 RCANs 的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2010, 37(1): 22-28.
- [7] Guo X, Zhou C, Sun N, et al. The neuropeptide catestatin promotes vascular smooth muscle cell proliferation through the Ca^{2+} -calcineurin-NFAT signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 407(4): 807-812.
- [8] Holmes K, Chapman E, See V, et al. VEGF stimulates RCAN1. 4 expression in endothelial cells via a pathway requiring Ca^{2+} /calcineurin and protein kinase C- δ [J]. *Plos One*, 2010, 5(7): 1129-1133.
- [9] Sobrado M, Ramirez BG, Neria F, et al. Regulator of calcineurin 1 (Rcan1) has a protective role in brain ischemia/reperfusion injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 48.
- [10] Esteban V1, Méndez-Barbero N, Jiménez-Borreguero LJ, et al. Regulator of calcineurin 1 mediates pathological vascular wall remodeling[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(10): 2125-2139.
- [11] Méndez-Barbero N, Esteban V, Villahoz S, et al. A major role for RCAN1 in atherosclerosis progression[J]. *EMBO Mol Med*, 2013, 5(12): 1901-1917.
- [12] Lee MY, Garvey SM, Baras AS, et al. Integrative genomics identifies DSCR1 (RCAN1) as a novel NFAT-dependent mediator of phenotypic modulation in vascular smooth muscle cells[J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(3): 468-479.
- [13] Alfonso F, Byrne RA, Rivero F, et al. Current treatment of in-stent restenosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(24): 2659-2673.
- [14] Pfisterer M, Brunner-La Rocca HP, Buser PT, et al. Late clinical events after clopidogrel discontinuation may limit the benefit of drug-eluting stents: an observational study of drug-eluting versus bare-metal stents[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 48(12): 2584-2591.
- [15] Wang JN, Shi N, Xie WB, et al. Response gene to complement 32 promotes vascular lesion formation through stimulation of smooth muscle cell proliferation and migration[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(8): 19-26.
- [16] Hamada N, Miyata M, Eto H, et al. Tacrolimus-eluting stent inhibits neointimal hyperplasia via calcineurin/NFAT signaling in porcine coronary artery model[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 208(1): 97-103.
- [17] Hussner J, Sünwoldt J, Seibert I, et al. Pimecrolimus increases the expression of interferon-inducible genes that modulate human coronary artery cells proliferation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 784: 137-146.
- [18] 熊龙根, 黎德恩, 董硕. 环孢菌素 A 对大鼠腹主动脉球囊损伤后内膜增生的抑制作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(9): 1687-1691.
- [19] Cooper JE, Wiseman AC. Novel immunosuppressive agents in kidney transplantation[J]. *Clin Nephrol*, 2010, 73(5): 333-343.
- [20] Peters U, Solominidou E, Korkmaz Y, et al. Regulator of calcineurin 1 in periodontal disease[J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 5475821.
- [21] Kim SS, Lee EH, Lee K, et al. PKA regulates calcineurin function through the phosphorylation of RCAN1: Identification of a novel phosphorylation site[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 459(4): 604-609.
- [22] Hong A, Lee JE, Chung KC. Ubiquitin-specific protease 22 (USP22) positively regulates RCAN1 protein levels through RCAN1 de-ubiquitination[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(7): 1651-1660.

[收稿日期] 2016-09-06

[本文编辑] 崔黎明

学术快讯

上海交通大学附属第一人民医院消化科团队完成国内首例 MUSE™ 内镜下胃底折叠术治疗胃食管反流病

2017年3月4日,上海交通大学附属第一人民医院消化科团队为1位罹患胃食管反流病7年的患者实施了国内首例 MUSE™ 内镜下胃底折叠术。该手术通过内窥镜缝合器将患者的胃底分3处折起并订合在食管下端,重塑了胃与食管部的“阀门”,以达到阻止胃酸反流的目的。

胃底折叠术是为治疗胃食管反流病进行的外科手术。以往通过开腹或腹腔镜实施手术,手术时间与康复周期较长。而 MUSE™ 内镜胃底折叠术手术系统与常规胃镜检查相同,内窥镜经口腔通过食管到达胃部,无需切开腹腔,也没有任何切口。操作者直接在内镜下将胃底绕于食管下端,选择2个以上位置将胃底钉合到食管下端,从而恢复 His 角和胃食管瓣膜,建立阻止胃食管反流的有效屏障。其效果与腹腔镜下手术相似,但手术时间从2~3 h 缩短至1 h 内,患者住院时间从7~14 d 缩短至2 d 内,依从性大大提高,总体费用也有所降低。

目前胃食管反流病患者占全球人口的比例为5%~7%,其中约30%的患者只能通过手术治疗。此次国内首例 MUSE™ 内镜下胃底折叠术的成功实施有望为这部分患者带来更安全、方便的治疗选择。