



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.022  
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract4144.shtml

· 简要论著 ·

# 大隐静脉组织 Nelin 与 TIMP-2 表达在下肢静脉曲张血管重塑中的作用

贾胜荣

(湖北省襄阳市中医院 检验科, 湖北 襄阳 441000)

## 摘要

**目的:** 探讨大隐静脉组织 Nelin 与基质金属蛋白酶抑制物 2 (TIMP-2) 表达在下肢静脉曲张血管重塑中的作用。

**方法:** 选取大隐静脉移植术后患者 94 例, 根据是否合并下肢静脉曲张将其分为两组, 研究组 (合并下肢静脉曲张, 48 例), 对照组 (未合并下肢静脉曲张, 46 例)。术中采集大隐静脉组织, 采用免疫组化方法检测 Nelin 与 TIMP-2 表达, Masson 染色显微镜下观察静脉重塑情况。

**结果:** 与对照组比较, 研究组 Nelin 阳性率明显降低, TIMP-2 阳性率明显增高, 两组比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 研究组平滑肌细胞增生, 胶原纤维大量沉积; 对照组血管壁结构完整, 平滑肌细胞和胶原纤维均匀, 排列规则; 且研究组静脉壁厚度明显高于对照组, 两组比较具有统计学差异 ( $P < 0.05$ ); Nelin 阴性组静脉壁厚度明显高于 Nelin 阳性组, 而 TIMP-2 阳性组静脉壁厚度明显高于 TIMP-2 阴性组, 组间差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**结论:** 大隐静脉组织通过下调 Nelin 或上调 TIMP-2 阳性表达促进下肢静脉曲张血管重塑的平滑肌细胞和胶原纤维异常改变。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(12):1707-1710]

## 关键词

隐静脉; Nelin; TIMP-2; 静脉曲张; 血管重塑

中图分类号: R654.3

下肢静脉曲张是常见的血管外科疾病, 但目前对于静脉曲张疾病发生机制尚未完全清楚<sup>[1]</sup>。相关文献报道显示, 静脉曲张的病理生理基础为血管重塑, 其中血管平滑肌细胞表型变化对血管重塑过程发挥重要作用<sup>[2]</sup>。但关于下肢静脉曲张组织 Nelin 与基质金属蛋白酶抑制物 2 (TIMP-2) 表达在血管重塑中的作用研究甚少, 现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

选取我院 2011 年 1 月—2014 年 9 月期间大隐静脉移植术后患者 48 例作为研究组, 其中男 30 例, 女 18 例, 年龄: 36~71 岁, 平均年

龄 ( $48.21 \pm 5.64$ ) 岁, 纳入标准: 符合下肢静脉曲张诊断标准<sup>[3]</sup>, 静脉通畅; 排除内分泌代谢性疾病、免疫系统疾病、深静脉血栓形成和炎症性疾病, 手术前 3 个月无激素治疗史。同期选取未合并下肢静脉曲张的大隐静脉移植术患者 46 例作为对照组, 纳入标准: 符合下肢动脉硬化闭塞症、截肢诊断标准。其中男 34 例, 女 12 例; 年龄 38~67 岁, 平均年龄 ( $46.92 \pm 5.04$ ) 岁。两组患者在性别、年龄等一般资料间的比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。

### 1.2 检测指标与方法

(1) 试剂与仪器: 兔抗人 Nelin 多克隆抗体购自 Sigma 公司; 兔抗人 TIMP-2 多克隆抗体购自武汉博士德生物公司; 免疫组织化学检测试剂盒、DAB 显色剂购自北京中杉金桥公司; 磷酸盐缓冲液 (PBS) 及其他试剂均为国产分析纯级。(2) 操作步骤: 术中采集大隐静脉组织标本, 常规固定、脱水、透明、石蜡包埋、连续切片, 制成石蜡组织切片, 采用免疫组化方法检测大隐静脉组织

收稿日期: 2014-10-08; 修订日期: 2014-11-19。

作者简介: 贾胜荣, 湖北省襄阳市中医院主管检验师, 主要从事临床检验基础方面的研究。

通信作者: 贾胜荣, Email: jiashengrong11@163.com

Nelin、TIMP-2 表达, 采用 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液 (pH=6.0) 高温高压抗原修复 15 min, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温下孵育 5 min, PBS 缓冲液洗涤 2 min × 3 次, 滴入兔抗人 Nelin 多克隆抗体 (1:150) 或兔抗人 TIMP-2 多克隆抗体 (1:200), 4 °C 过夜, PBS 缓冲液洗涤 2 min × 3 次, 滴入 Polymer Helper, 室温下孵育 15 min, PBS 缓冲液洗涤 2 min × 3 次, 滴入 poly-HRP anti-Rabbit IgG, 室温下孵育 15 min, PBS 缓冲液洗涤 2 min × 3 次, 采用 DAB 显色剂经显微镜辅助下控制显色, 自来水冲洗, 复染, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片。显微镜下观察 Nelin、TIMP-2 蛋白。(3) 免疫组化结果判定: Nelin、TIMP-2 阳性染色为细胞质呈棕黄色或棕褐色均匀颗粒状物质, 随机选取 10 个高倍镜视野计算阳性细胞数目, 其中 ≤ 25% 为阴性, 25%~50% 为弱阳性, 50%~75% 为阳性, >75% 为强阳性。(4) 静脉血管壁厚度测定: 电脑识别图像辅助下沿血管径方向划线, 划线直线距离即为静脉壁实际厚

度, 重复测量 6 次, 取平均值, 考虑外膜取材分离容易出现脱落现象, 本研究只测量内膜、中膜厚度。采用 Masson 染色显微镜下观察静脉壁平滑肌细胞 (红色) 和胶原纤维 (绿色) 分布情况。

### 1.3 统计学处理

本研究数据采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析, 两组间的计量资料采用 *t* 检验, 数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间的计数资料采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组 Nelin、TIMP-2 蛋白表达比较

研究组 Nelin 阳性率明显低于对照组, 两组比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (表 1); 研究组 TIMP-2 阳性率明显高于对照组, 两组比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (表 2) (图 1)。

表 1 两组 Nelin 蛋白表达比较 [n (%)]

组别	n	阴性	弱阳性	阳性	强阳性	阳性率 (%)
研究组	48	41 (85.4)	3 (6.3)	2 (4.2)	2 (4.2)	14.6
对照组	46	5 (10.9)	10 (21.7)	15 (32.6)	16 (34.8)	89.1
$\chi^2$	—	—	—	—	—	6.15
P	—	—	—	—	—	<0.05

表 2 两组 TIMP-2 蛋白表达比较 [n (%)]

组别	n	阴性	弱阳性	阳性	强阳性	阳性率 (%)
研究组	48	15 (31.3)	9 (18.8)	10 (20.8)	14 (29.2)	68.8
对照组	46	34 (73.9)	6 (13.0)	4 (8.7)	2 (4.3)	26.0
$\chi^2$	—	—	—	—	—	5.01
P	—	—	—	—	—	<0.05

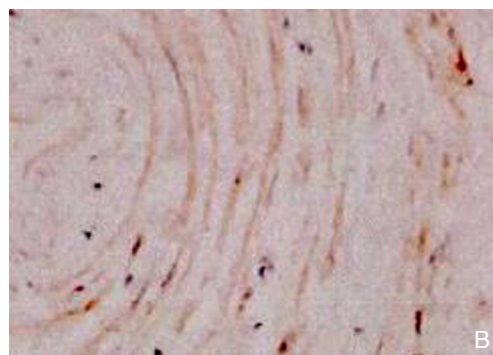
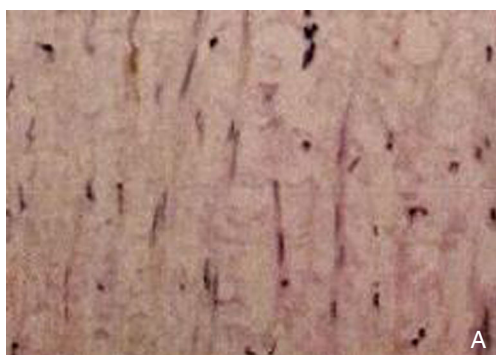


图 1 大隐静脉组织中 Nelin 与 TIMP-2 表达免疫组化检测 (×200) A: Nelin 表达, B: TIMP-2 表达

### 2.2 两组静脉壁厚度比较

研究组静脉壁内膜增生, 中膜肥大融合且排列紊乱, 外膜呈肌团样增生, 平滑肌细胞增殖, 胶原

纤维大量沉积; 对照组血管壁结构完整, 平滑肌细胞和胶原纤维均匀, 排列规则 (图 2); 研究组静脉壁内膜厚度和静脉壁中膜厚度明显高于对照组,

两组比较差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。

### 2.3 不同 Nelin、TIMP-2 表达对静脉壁厚度的影响

Nelin 阴性组静脉壁内膜厚度和静脉壁中膜厚度均明显高于 Nelin 阳性组, 两组比较差异有统计学

意义 ( $P < 0.05$ ) (表 4); TIMP-2 阳性组静脉壁内膜厚度和静脉壁中膜厚度均明显高于 TIMP-2 阴性组, 两组比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (表 5)。

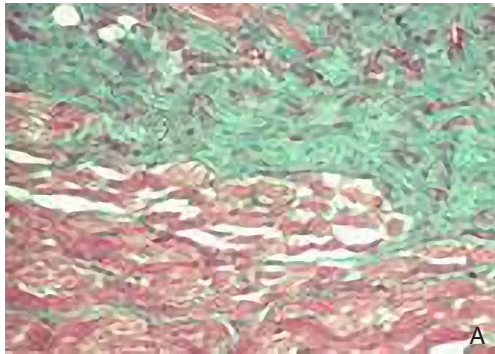
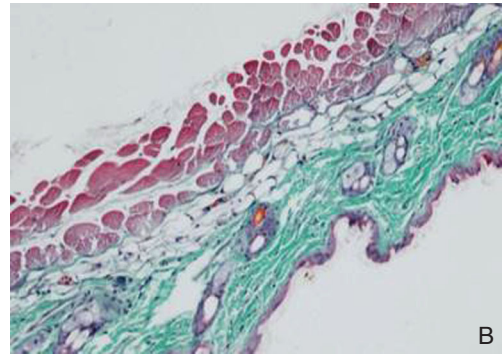


图 2 Masson 染色结果 ( $\times 200$ )



A: 曲张大隐静脉组织, B: 正常大隐静脉组织

表 3 两组静脉壁厚度比较 ( $\mu\text{m}$ )

组别	n	内膜厚度	中膜厚度
研究组	48	105.26 $\pm$ 18.64	315.24 $\pm$ 34.69
对照组	46	26.58 $\pm$ 2.87	201.37 $\pm$ 10.27
t		4.16	5.01
P		<0.05	<0.05

表 4 不同 Nelin 表达对静脉壁厚度的影响 ( $\mu\text{m}$ )

组别	n	内膜厚度	中膜厚度
Nelin 阴性组	48	103.58 $\pm$ 17.99	314.28 $\pm$ 29.88
Nelin 阳性组	46	30.54 $\pm$ 2.91	213.54 $\pm$ 9.67
t		3.87	4.68
P		<0.05	<0.05

表 5 不同 TIMP-2 表达对静脉壁厚度的影响 ( $\mu\text{m}$ )

组别	n	内膜厚度	中膜厚度
TIMP-2 阴性组	48	27.41 $\pm$ 3.05	208.67 $\pm$ 13.24
TIMP-2 阳性组	46	104.28 $\pm$ 18.05	316.28 $\pm$ 35.09
t		3.94	4.15
P		<0.05	<0.05

## 3 讨 论

Nelin 基因是从正常人 cDNA 克隆获取的新型基因之一, 定位于染色体中, cDNA 全长约 2736 bp, 编码 448 分氨基酸残基蛋白质, 其中包括卷曲螺旋样功能结构域、与 F 肌动蛋白相结合性功能结构域和免疫蛋白样功能结构域。因此, Nelin 是新型肌动蛋白结合蛋白之一, F-actin 与 Nelin 融合蛋白共同作用并定位于细胞基质内, 其可能与细胞骨架和细胞外基质间的信息传递发挥重要的作

用<sup>[4]</sup>。同时, 相关研究还显示, Nelin 参与血管平滑肌表型转化过程, 其与细丝蛋白羧基末端免疫球蛋白样结构相互结合, 细丝蛋白是一种常见的骨架蛋白, 通过结合整合素及其肌动蛋白结合蛋白<sup>[5]</sup>。因此, Nelin 可能通过细胞膜-细胞骨架连接蛋白作用抑制血管重塑过程。TIMPs 是基质金属蛋白酶相关性内源性抑制剂, 具有调节细胞外基质代谢功能, 静脉曲张血管壁基质金属蛋白酶含量和功能上均发生变化, 导致血管平滑肌细胞外基质重塑, 促进静脉血管壁结构和功能上的异常改变<sup>[6]</sup>。但关于大隐静脉组织 Nelin、TIMPs 的表达在下肢静脉曲张血管重塑中的作用研究甚少。

本研究结果显示, 下肢静脉曲张患者的大隐静脉组织 Nelin 阳性表达明显减弱, 而 TIMP-2 阳性表达明显增强。正常大隐静脉壁具有丰富平滑肌细胞和胶原纤维, 平滑肌细胞发挥有效收缩功能, 使大隐静脉保持良好弹性; 胶原纤维则确保血管壁结构的完整性<sup>[7]</sup>。因此, 正常静脉平滑肌细胞和胶原纤维排列规整, 而曲张静脉和正常静脉形态学观察发现曲张静脉血管腔扩张, 血管壁异常改变, 平滑肌结构不均匀, 胶原纤维粗细不均, 排列紊乱, 出现明显的血管重塑现象, 最终导致曲张静脉内膜厚度和中膜厚度均明显大于正常静脉, Nelin 阴性患者静脉内膜厚度增加更显著, 而 TIMP 阳性患者静脉厚度增加更显著。Nelin 在静脉、动脉、骨骼肌和心脏中具有时空特异性表达, 是肌肉组织特异性表达的新型基因。Nelin 具有调节细胞黏附、迁移与运动功能。同时, 基质金属蛋白酶在下肢

静脉曲张发生和发展具有重要的作用<sup>[8]</sup>。因此,曲张静脉组织 Nelin 阳性表达显著下降, TIMP 阳性表达明显增强;同时下调 Nelin 或上调 TIMP 阳性表达增加了下肢静脉曲张血管重塑风险,两者预示下肢静脉曲张血管重塑过程。Nelin 同时在维持血管平滑肌细胞完整性和细胞膜-细胞骨架连接中具有重要意义,体现在正常大隐静脉组织 Nelin 阳性表达明显高于曲张大隐静脉<sup>[9]</sup>。TIMP 对基质金属蛋白酶溶蛋白具有明显抑制作用,促进基质金属蛋白酶原活化,并参与血管胶原纤维的降解过程,导致胶原纤维大量沉积;此外, TIMP 具有促进血管平滑肌细胞增生,导致血管内膜厚度和中膜厚度明显增加,重塑血管。因此,血管重塑是下肢静脉曲张疾病发生的病理生理学重要机制,而 Nelin 阴性表达、TIMP-2 阳性表达则促进曲张血管重塑过程<sup>[10]</sup>。

综上所述,大隐静脉组织通过下调 Nelin 或上调 TIMP-2 阳性表达促进下肢静脉曲张血管重塑的平滑肌细胞和胶原纤维异常改变。

#### 参考文献

- [1] 裴长安,秦士勇,陈士辉,等. 下肢静脉曲张患者外周血 Nelin 水平测定及意义 [J]. 山东大学学报:医学版, 2013, 51(9):64-66.
- [2] 殷恒伟,潘福顺,黄雪玲,等. 超声监测下泡沫硬化剂治疗严重下肢静脉曲张患者的疗效分析 [J]. 中华医学杂志, 2013, 93(43):3438-3440.
- [3] 王刃,李悦萌. 泡沫硬化剂治疗下肢静脉曲张的疗效 [J]. 中国老

- 年学杂志, 2014, 34(7):1940-1941.
- [4] Wang W, Zhang W, Han Y, et al. NELIN, a new F-actin associated protein, stimulates HeLa cell migration and adhesion [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 330(4):1127-1131.
- [5] Li XH, Peng J, Tan N, et al. Involvement of asymmetric dimethylarginine and Rho kinase in the vascular remodeling in monocrotaline-induced pulmonary hypertension [J]. Vascul Pharmacol, 2010, 53(5/6):223-229.
- [6] 张祥满,徐红梅,竺挺,等. 下肢静脉曲张与基质金属蛋白酶-9/基质金属蛋白酶抑制剂-2 启动子区域基因多态性的关系 [J]. 中华实验外科杂志, 2012, 29(9):1716-1717.
- [7] 王建丽,张晓明. 血管外膜与血管重塑 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(9):10086-10088.
- [8] 马玉亮,时德,任培土. MMP-1、MMP-13、TIMP-1 在下肢静脉曲张血管中的表达及意义 [J]. 浙江医学, 2008, 30(10):1061-1063.
- [9] 于晓强,秦士勇,陈士辉,等. 新基因 nelin 在下肢曲张静脉中的表达及其意义 [J]. 中国现代普通外科进展, 2010, 13(12):929-932.
- [10] 唐金元,张廷国,褚海波,等. 基质金属蛋白酶与下肢静脉曲张血管重塑 [J]. 中国血管外科杂志:电子版, 2012, 4(3):188-191.

( 本文编辑 姜晖 )

本文引用格式: 贾胜荣. 大隐静脉组织 Nelin 与 TIMP-2 表达在下肢静脉曲张血管重塑中的作用 [J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(12):1707-1710. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.022  
 Cite this article as: JIA SR. Role of Nelin and TIMP-2 expression in great saphenous vein tissues on vascular remodeling of varicose veins of lower extremities [J]. Chin J Gen Surg, 2014, 23(12):1707-1710. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.12.022

## 《中国普通外科杂志》2013 年主要学术指标居本学科期刊前茅

据《2014 年版中国科技期刊引证报告(核心版)》报告,《中国普通外科杂志》主要学术水平衡量指标均居本学科期刊前茅。

报告显示,在与普通外科学相关的外科学类 17 种期刊中,《中国普通外科杂志》2013 年核心总被引用频次第 1,综合评价总分第 5,核心影响因子第 8,这三大指标为对科技期刊学术质量评估的主要指标。此外,杂志的即年指标、引用刊数、扩散因子、权威因子、被引半衰期等指标也达本学科前列。

中国普通外科杂志编辑部