

急性冠状动脉综合征患者颈动脉斑块与血浆基质金属蛋白酶的相关性

刘金来¹, 关良劲², 朱承明³, 陈 璘¹

(中山大学附属第三医院 1. 心内科, 3. 超声科; 2. 广州市天河区中医院急诊科, 广东省广州市 510630)

[关键词] 内科学; 颈动脉斑块与血浆基质金属蛋白酶的相关性; 高分辨率超声; 急性冠状动脉综合征; 基质金属蛋白酶; 内膜中膜厚度

[摘要] 目的 研究急性冠状动脉综合征患者颈动脉斑块与血浆基质金属蛋白酶的相关性。方法 采用高分辨率超声, 测定 30 例急性冠状动脉综合征患者、29 例稳定型心绞痛患者和 17 例正常对照者的颈动脉内膜中膜厚度及斑块积分, 同时采用夹心酶联免疫分析法测定血浆基质金属蛋白酶 9 和组织型金属蛋白酶抑制因子 1 的变化。结果 三组间的年龄、性别、总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇无显著性差异。急性冠状动脉综合征组血浆基质金属蛋白酶 9、组织型金属蛋白酶抑制因子 1、基质金属蛋白酶 9/组织型金属蛋白酶抑制因子 1 及颈动脉内膜中膜厚度、总斑块积分、软斑块积分和硬斑块积分显著高于稳定型心绞痛组和正常对照组。基质金属蛋白酶 9 与颈动脉内膜中膜厚度、总斑块积分、软斑块积分呈正相关 ($r = 0.468, P < 0.01$; $r = 0.592, P < 0.01$; $r = 0.677, P < 0.01$); 组织型金属蛋白酶抑制因子 1 与颈动脉内膜中膜厚度、总斑块积分、软斑块积分、硬斑块积分呈正相关 ($r = 0.449, P < 0.01$; $r = 0.493, P < 0.01$; $r = 0.435, P < 0.01$; $r = 0.227, P < 0.05$); 基质金属蛋白酶 9/组织型金属蛋白酶抑制因子 1 与颈动脉内膜中膜厚度、总斑块积分、软斑块积分呈正相关 ($r = 0.253, P < 0.05$; $r = 0.431, P < 0.01$; $r = 0.547, P < 0.01$)。去除年龄因素后, 偏相关分析显示颈动脉内膜中膜厚度与基质金属蛋白酶 9 ($r = 0.461, P < 0.001$)、组织型金属蛋白酶抑制因子 1 ($r = 0.441, P < 0.001$)、基质金属蛋白酶 9/组织型金属蛋白酶抑制因子 1 ($r = 0.241, P < 0.01$) 呈正相关关系。结论 急性冠状动脉综合征患者血浆基质金属蛋白酶 9、组织型金属蛋白酶抑制因子 1、基质金属蛋白酶 9/组织型金属蛋白酶抑制因子 1 及颈动脉内膜中膜厚度、总斑块积分、软斑块积分和硬斑块积分显著高于稳定型心绞痛患者和正常对照。血浆基质金属蛋白酶 9、组织型金属蛋白酶抑制因子 1、基质金属蛋白酶 9/组织型金属蛋白酶抑制因子 1 与颈动脉内膜中膜厚度、总斑块积分、软斑块积分呈正相关关系。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Relationships Between Carotid Plaque and Plasma Matrix Metalloproteinase in Patients with Acute Coronary Syndrome

LIU Jin-Lai, GUAN Liang-Jin, ZHU Cheng-Ming, and CHEN Lin

(Department of Cardiology, the Third Affiliated Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510630, China)

[KEY WORDS] Acute Coronary Syndrome; Matrix Metalloproteinase; Intima-Media Thickness, Tissue Inhibitor Metalloproteinase 1; Plaque Score

[ABSTRACT] **Aim** To study the relationships between carotid plaque and plasma matrix metalloproteinase and tissue inhibitor metalloproteinase in patients with acute coronary syndrome (ACS). **Methods** Using high-resolution ultrasonic instrument the intima-media thickness (IMT) and plaque score in carotid artery were detected in 30 patients with ACS, 29 patients with stable angina pectoris (SAP) and 17 control subjects, and the plasma concentration of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and tissue inhibitor metalloproteinase 1 (TIMP-1) were measured by sandwich enzyme immunoassay technique. **Results** Compared with SAP group and control group, plasma MMP-9, TIMP-1, MMP-9/TIMP-1, and IMT, whole plaque score, soft plaque score and hard plaque score in carotid artery in ACS group were significantly increased ($P < 0.01$). MMP-9 had positive relationship with IMT, whole plaque score and soft plaque score in carotid artery ($r = 0.468, P < 0.01$; $r = 0.592, P < 0.01$; $r = 0.677, P < 0.01$), respectively. TIMP-1 had positive relationship with IMT, whole plaque score, soft plaque score and hard plaque score in carotid artery ($r = 0.449, P < 0.01$; $r = 0.493, P < 0.01$; $r = 0.435, P < 0.01$; $r = 0.227, P < 0.05$), respectively. MMP-9/TIMP-1 had positive relationship with IMT, whole plaque score and soft plaque score in carotid artery ($r = 0.253, P < 0.05$; $r = 0.431, P < 0.01$; $r = 0.547, P < 0.01$), respectively. Removing age factor, partial correlation analysis showed IMT had positive relationship with MMP-9 ($r = 0.461, P < 0.001$), TIMP-1 ($r = 0.441, P < 0.001$), MMP-9/

[收稿日期] 2005-02-26

[修回日期] 2005-11-10

[作者简介] 刘金来, 医学硕士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病和超声心动图的临床与研究, E-mail 为 ljlai@medmail.com.cn。关良劲, 医学硕士, 主治医师, 主要从事内科临床研究。朱承明, 主管技师, 主要从事超声工作。

TIMP-1 ($r = 0.241, P < 0.01$), respectively.

Conclusions Plasma MMP-9, TIMP-1, MMP-9/TIMP-1, and IMT, whole plaque score, soft plaque score and hard plaque score in carotid artery in ACS group are significantly higher than those in SAP group and control group. Plasma MMP-9, TIMP-1, MMP-9/TIMP-1 have positive relationship with IMT, whole plaque score and soft plaque score in carotid artery, respectively.

急性冠状动脉综合征患者为易损病人^[1], 它的病理生理基础是易损斑块、易损血液和易损心肌。如何识别易损斑块、进而识别易损病人是近年来的研究热点。基于共同的发病机制, 颈动脉斑块检测可作为冠状动脉粥样硬化的窗口^[2]。有研究发现易损斑块中基质金属蛋白酶的表达增加^[3]。本文研究了ACS患者循环中血浆基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)及组织型金属蛋白酶抑制剂1(tissue inhibitor metalloproteinase-1, TIMP-1)与颈动脉斑块和内膜中膜厚度(intima-media thickness, IMT)的关系, 以探讨其在识别易损病人中易损斑块的意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

急性冠状动脉综合征患者30例, 男21例, 女9例, 年龄 62.3 ± 9.4 岁, 其中急性心肌梗死25例, 不稳定型心绞痛5例。稳定型心绞痛患者29例, 男14例, 女15例, 年龄 58.6 ± 6.8 岁。正常对照17例, 男10例, 女7例, 年龄 57.7 ± 8.1 岁。正常对照为健康的健康体检人员, 经体检和实验室检查, 其血压、血脂均正常, 且无冠心病、糖尿病、高血压病史, 无吸烟史, 自愿参加研究。急性心肌梗死按世界卫生组织诊断标准, 不稳定型心绞痛和稳定型心绞痛按美国心脏病学会/美国心脏协会标准。排除急性感染、严重肝肾疾病、严重心力衰竭、恶性肿瘤、1个月内有外伤或手术史、脑卒中、妊娠及风湿病。

1.2 颈动脉内膜中膜厚度与斑块检测

采用Agilent Sonos 5500彩色多普勒超声显像仪, 线阵探头, 探头频率11-3L变频(7.0 MHz), 探查深度4 cm。受检者取仰卧位, 从锁骨内侧端横向扫描颈总动脉, 将探头沿其行走方向向头侧移动, 分别检查颈动脉分叉处、颈内动脉及颈外动脉。然后再将探头转动90°, 沿血管行走方向分别显示其纵切面, 测定两侧颈动脉分叉处1 cm前后壁的颈总动脉IMT, 取其平均值, 再观察有无斑块形成。向血管腔突出超过1.3 mm的突起定义为斑块。斑块分型^[4]: 软斑块为斑块突出管腔内局部呈不同强度的混合性回声, 表面有连续的回声轮廓及光滑的纤维帽; 硬斑块为局部回声增强, 后方伴声影或较明显的声衰减。采用Crouse方法^[5]进行斑块积分: 不考虑各斑块的

长度, 而分别将同侧颈总动脉、颈动脉分叉处、颈内动脉及颈外动脉各个孤立性动脉粥样硬化斑块的最大厚度进行相加, 从而得到该侧颈动脉的斑块积分, 两侧颈动脉斑块积分之和, 为其斑块总积分。

1.3 血浆基质金属蛋白酶9和组织型金属蛋白酶抑制剂1的测定

急性心肌梗死患者发病后24 h内采血, 不稳定型心绞痛和稳定型心绞痛患者于入院后次日清晨采血, 正常对照者于清晨采血。采静脉血4 mL, 肝素抗凝, 3 000 r/min离心15 min, 取血浆, 置于-20℃以下保存备用。夹心酶免疫定量分析技术测定MMP-9和TIMP-1。采用MMP-9酶联免疫分析试剂盒(DMP900, 美国Quantikine公司)和TIMP-1酶联免疫分析试剂盒(DTM100, 美国Quantikine公司), 分光光度以Biotec酶标仪(A450nm, 芬兰)测定。在微反应板孔上预先包被MMP-9或TIMP-1单克隆抗体, 注入标准物和样品, MMP-9或TIMP-1和固定抗体结合, 形成特异性MMP-9或TIMP-1酶联多克隆抗体复合物, 反应终止时, 样品中MMP-9或TIMP-1和复合物量成一定比例, 经洗涤去除杂质, 加入底物, 底物即被反应孔内的酶催化变成有色产物, 根据标准管光密度值制定标准曲线, 由标准曲线计算标本MMP-9或TIMP-1含量。

1.4 血脂测定

清晨空腹抽血测定血脂。血清总胆固醇采用三联酶终点比色法、甘油三酯采用4-氯酚比色法, 高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇采用直接法, 通过全自动生化分析仪测定。

1.5 统计学处理

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。资料经方差齐性检验, 不呈正态性分布者, 进行数据对数转换后再进行分析。三组比较用单因素方差分析, 两组间比较用LSD-*t*检验。计数资料用 χ^2 检验。单元线性相关和偏相关分析指标间的相关性, 相关系数采用*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。应用SPSS11.0统计软件包进行统计分析。

2 结果

2.1 一般临床资料

三组间年龄、性别及总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平无显著

性差异($P > 0.05$)。见表 1(Table 1)。

表 1. 三组一般临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Comparison of general indices among three groups

指 标	急性冠状动脉 综合征组 ($n=30$)	稳定型心绞痛组 ($n=29$)	正常对照组 ($n=17$)
年龄 (岁)	62.3 \pm 9.4	58.6 \pm 6.8	57.7 \pm 8.1
男/女 (例)	21/9	14/15	10/7
总胆固醇 (mmol/L)	4.36 \pm 0.77	4.42 \pm 0.80	4.04 \pm 0.62
甘油三酯 (mmol/L)	1.35 \pm 0.64	1.34 \pm 0.61	1.21 \pm 0.54
HDLc (mmol/L)	1.13 \pm 0.39	1.13 \pm 0.37	1.00 \pm 0.22
LDLc (mmol/L)	2.34 \pm 0.47	2.36 \pm 0.51	2.23 \pm 0.41

2.2 血浆基质金属蛋白酶 9 和组织型金属蛋白酶抑制剂 1 及其比值以及颈动脉超声指标比较

急性冠状动脉综合征组 MMP-9、TIMP-1 及其比值显著高于稳定型心绞痛组和正常对照组, IMT、总斑块积分、软斑块积分也显著高于稳定型心绞痛组和正常对照组($P < 0.01$)。见表 2(Table 2)。

表 2. 三组血浆基质金属蛋白酶 9 和组织型金属蛋白酶抑制剂 1 及其比值以及颈动脉超声指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Comparison of plasma MMP-9, TIMP-1, MMP-9/TIMP-1, and ultrasonographic results among three groups

指 标	急性冠状动脉 综合征组 ($n=30$)	稳定型心绞痛组 ($n=29$)	正常对照组 ($n=17$)
MMP-9 (μg/L)	13.15 \pm 9.80 ^{ac}	2.21 \pm 2.00	1.66 \pm 1.27
TIMP-1 (μg/L)	1.36 \pm 0.61 ^{ac}	0.69 \pm 0.39	0.58 \pm 0.42
MMP-9/TIMP-1	10.01 \pm 7.20 ^{ac}	3.25 \pm 1.99	5.17 \pm 7.42
IMT (mm)	1.01 \pm 0.21 ^{bd}	0.83 \pm 0.12 ^a	0.66 \pm 0.08
总斑块积分	4.47 \pm 1.90 ^{bd}	2.24 \pm 1.70 ^a	0.31 \pm 0.89
软斑块积分	2.30 \pm 2.21 ^{bd}	0.40 \pm 0.69 ^a	0.00 \pm 0.00
硬斑块积分	2.17 \pm 1.56 ^b	1.84 \pm 1.60 ^a	0.31 \pm 0.89

a 为 $P < 0.01$, b 为 $P < 0.001$, 与正常对照组比较; c 为 $P < 0.01$, d 为 $P < 0.001$, 与稳定型心绞痛组比较。

2.3 多因素相关分析

三组资料合并后单元线性相关分析显示, MMP-9 与 IMT、总斑块积分、软斑块积分呈正相关性($r = 0.468, P < 0.01$; $r = 0.592, P < 0.01$; $r = 0.677, P < 0.01$); TIMP-1 与 IMT、总斑块积分、软斑块积分、硬斑块积分呈正相关性($r = 0.449, P < 0.01$; $r = 0.493, P < 0.01$; $r = 0.435, P < 0.01$; $r = 0.227, P < 0.05$); MMP-9/TIMP-1 与 IMT、总斑块积分、软斑块积分呈正相关性($r = 0.253, P < 0.05$; $r = 0.431, P < 0.01$; $r = 0.547, P < 0.01$)。去除年龄因素后, 偏相关分析显示 IMT 与 MMP-9($r = 0.461, P < 0.001$)、

TIMP-1($r = 0.441, P < 0.001$)、MMP-9/TIMP-1($r = 0.241, P < 0.01$)呈正相关关系。

3 讨论

急性冠状动脉综合征患者是易损病人^[1], 通常指在冠状动脉粥样硬化的基础上, 斑块破裂, 继而血小板粘附聚集和血栓形成, 引起完全或不完全的血管阻塞, 导致不稳定型心绞痛、非 ST 段抬高心肌梗死、ST 段抬高心肌梗死及猝死。由于动脉粥样硬化是一全身性的疾病, 颈动脉粥样硬化与冠状动脉粥样硬化有着共同的病理生理学基础和危险因素。国内外学者通过尸解证实, 颈动脉病变和冠状动脉病变之间存在相关性, 两者常常并存^[6]。本文研究结果发现, 在急性冠状动脉综合征患者中, 不但存在冠状动脉的斑块破裂, 而且还存在颈动脉 IMT、总斑块积分、软斑块积分、硬斑块积分显著高于稳定型心绞痛组和对照组, 提示急性冠状动脉综合征患者颈动脉斑块(尤其是软斑块)的检出, 可以在一定程度上反映冠状动脉斑块的情况。Tanaka 等^[7]的研究结果也发现, 如果以 IMT 大于 0.85 mm 和(或)出现粥样斑块来预测冠心病, 其特异性达 71.6%, 敏感性 85%, 阳性预测率 89.8%。许竹梅等^[8]的研究也显示颈总动脉 IMT 与颈动脉局限性动脉粥样硬化斑块显著相关。

基质金属蛋白酶 9(MMP-9)由活化的巨噬细胞、中性细胞等以蛋白酶原前体形式从细胞内分泌到细胞外, 其作用底物有明胶、Ⅲ型和Ⅰ型胶原等, MMP-9 活性增强可导致胶原裂解增加; TIMP-1 由巨噬细胞和结缔组织细胞产生, 是 MMP 的抑制剂。斑块内胶原的分解与否取决于 MMP-9 与 TIMP-1 之间的平衡。研究发现急性心肌梗死患者采用普伐他汀治疗 3 天可使 MMP-9 显著降低^[9], 因此本研究只选取急性心肌梗死发病 24 h 内的患者进行研究, 以排除其它治疗因素的干扰。本研究结果发现急性冠状动脉综合征组患者血浆 MMP-9、TIMP-1、MMP-9/TIMP-1 及颈动脉 IMT、总斑块积分、软斑块积分、硬斑块积分显著高于稳定型心绞痛组患者和正常对照, 与 I-nokubo 等^[10]报道的急性冠状动脉综合征患者血浆 MMP-9 升高相一致。进一步相关分析显示, MMP-9 与 IMT、总斑块积分、软斑块积分呈正相关性; TIMP-1 与 IMT、总斑块积分、软斑块积分、硬斑块积分呈正相关性; MMP-9/TIMP-1 与 IMT、总斑块积分、软斑块积分呈正相关性。在去除年龄因素后, 偏相关分析显示 IMT 与 MMP-9、TIMP-1、MMP-9/TIMP-1 呈正相

关关系。MMP-9、MMP-9/TIMP-1 与软斑块积分的相关关系更强。本研究结果提示易损病人中易损斑块的破裂与 MMP-9 与 TIMP-1 的失衡有关,其失衡不是因为 TIMP-1 的减少,而是由于 MMP-9 的过度升高,以致代偿性增高的 TIMP-1 无法抑制过度升高的 MMP-9 的活性,最终导致细胞外基质的降解、斑块的破裂。而颈动脉超声检测到软斑块结合 MMP-9、MMP-9/TIMP-1 的升高,可进一步反映斑块的不稳定性。Salonen 等^[11]对 1 257 例男性受检者的颈动脉超声资料与发生心肌梗死的临床资料相比较,认为有颈动脉病变者发生急性心肌梗死的危险性高 3 倍,颈动脉 IMT 每增加 0.1 mm,急性心肌梗死的危险性就增加 11%。郭毅等^[12]发现脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块发生率高达 72.5%,且以多发斑块、双侧斑块多见。梗死侧颈动脉软斑发生率(32.9%)高于非梗死侧(16.9%),软斑组和硬斑组 MMP-9 水平均显著高于无斑块组,而软斑组 MMP-9 水平又高于硬斑组($P < 0.05$)。

总之,急性冠状动脉综合征患者血浆 MMP-9、TIMP-1、MMP-9/TIMP-1 及颈动脉 IMT、总斑块积分、软斑块积分、硬斑块积分显著高于稳定型心绞痛患者和正常对照者。血浆 MMP-9、TIMP-1、MMP-9/TIMP-1 与颈动脉 IMT、总斑块积分、软斑块积分呈正相关。颈动脉超声联合血浆 MMP-9、MMP-9/TIMP-1 的测定,对易损斑块的检测有较大的临床价值。

[参考文献]

- [1] Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*, 2003, **108** (14): 1 664-672
- [2] Prisant LM, Zemel PC, Nichols FT, Zemel MB, Sowers JR, Carr AA, et al. Carotid plaque associations among hypertensive patients. *Arch Intern Med*, 1993, **153** (4): 501-506
- [3] Kaartinen M, van der Wal AC, van der Loos CM, Piek JJ, Koch KT, Becker AE, et al. Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *J Am Coll Cardiol*, 1998, **32** (3): 606-612
- [4] Hennerici M, Reifschneider G, Trockel U, Aulick A. Detect of early atherosclerotic lesions by duplex scanning of the carotid artery. *J Clin Ultrasound*, 1984, **12** (8): 455-463
- [5] Crouse JR, Harpold GH, Kahl FR, Toole JF, McKinnery WM. Evaluation of a scoring system for extracranial carotid atherosclerosis extent with B-mode ultrasound. *Stroke*, 1986, **17** (2): 270-275
- [6] Chimowitz MI, Weiss DG, Cohen SL, Starling MR, Hobson RW 2nd. Cardiac prognosis of patients with carotid stenosis and no history of coronary artery disease. *Stroke*, 1994, **25** (4): 759-765
- [7] Tanaka H, Nishino M, Ishida M, Fukunaga R, Sueyoshi K. Progression of carotid atherosclerosis in Japanese patients with coronary artery disease. *Stroke*, 1992, **23** (7): 946-951
- [8] 许竹梅,赵水平,范平. 超声测量颈动脉内膜中膜厚度与颈动脉斑块的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (2): 165-168
- [9] 李江,赵水平,彭道泉,许竹梅,胡敏. 急性心肌梗死早期普伐他汀治疗对血浆 CD40L、金属蛋白酶 9 及 C 反应蛋白的影响. *中华心血管病杂志*, 2003, **31** (3): 165-168
- [10] Inokubo Y, Hanada H, Ishizaka H, Fukushi T, Kamada T, Okumura K. Plasma levels of matrix metalloproteinases-9 and tissue inhibitor metalloproteinase-1 are increased in patients with acute coronary syndrome. *Am Heart J*, 2001, **141** (2): 211-217
- [11] Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation*, 1993, **87** (Suppl): II56-65
- [12] 郭毅,周志斌,李富康,马可夫,王晓萍. 脑梗死患者颈动脉斑块及其稳定性. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (2): 186-188

(此文编辑 文玉珊)