

脑梗死后出血性转换与基质金属蛋白酶

李壬子, 王秀艳, 袁建新

(华北煤炭医学院附属开滦医院神经内科, 河北省唐山市 063000)

[关键词] 神经内科; 出血性转换; 基质金属蛋白酶; 脑梗死

[摘要] 脑梗死后出血性转换为急性缺血性脑卒中的常见并发症, 其发病率受多种因素影响, 溶栓治疗后的脑梗死后出血性转换严重影响了溶栓的疗效性和安全性。基质金属蛋白酶与脑缺血再灌注后血管壁破坏和血脑屏障通透性增高、完整性破坏密切相关。在缺血性卒中早期, 监测血浆基质金属蛋白酶水平有助于脑梗死后出血性转换的预测。早期应用基质金属蛋白酶抑制剂能显著降低溶栓后的出血发病率和严重程度。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

1 脑梗死后出血性转换的危险因素及其发生机制

脑梗死后继发出血性转换 (hemorrhagic transformation, HT)是指脑梗死后由于缺血区血管重新恢复血流灌注, 导致梗死区内继发性出血, 脑计算机断层成像 (computed tomography, CT)或磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI)显示原有低密度区内出现散在的局限的高密度影, 是急性缺血性卒中常见并发症, 同时也可以被认为是脑梗死的自然转归之一, 而高龄、高血压、抗凝、溶栓、抗血小板治疗及大面积脑梗死均可增加出血性转换的发病率。溶栓作为独立的危险因素, 可明显增加出血性转换的发病率。有证据表明, 急性脑梗死后自发出血性转换的发病率为 10% ~ 43%, 应用组织型纤溶酶原激活物 (tissue plasminogen activator, t-PA)或链激酶溶栓后出血性转化率提高 2~3 倍^[1-3]。溶栓作为急性缺血性脑血管病有效的治疗手段, 而溶栓后出血性转换的发生是影响溶栓疗效和安全性的主要因素, 因此如何有效降低溶栓后出血性转换的发生为人们所关注。

研究证实, 缺血、缺氧和再灌注损伤导致血脑屏障通透性增高以及血脑屏障完整性破坏是脑梗死后出血性转换的主要机制。应用动物模型对再灌注损伤机制的研究中发现, 脑缺血局部氧自由基增多、白细胞浸润、血管扩张以及异常的细胞外蛋白水解是出血性转换潜在的病理学基础^[4]。有证据表明, 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP)在此病理过程中起着非常重要的作用。尤其是 MMP-9 的活性增高, 可以促进缺血脑组织毛细血管破坏, 特别是血脑屏障微血管基底膜, 从而导致脑缺血后出血性转换的发生。

血脑屏障是一种介于血液和脑之间的通透性较低的有选择性通透能力的动态界面, 包括毛细血管至中枢神经组织间的所有结构。由血管内皮细胞的紧密连接和基底膜构成。前者为调节水和可溶性分子物质转运的主要结构, 后者可以

阻止大分子物质及血液细胞成分进入脑组织。在脑缺血、缺氧早期, 内皮细胞屏障受损导致水和其他小分子物质渗出, 脑组织水肿。若此时基底层的屏障作用被降解, 则可能导致出血的发生。而 MMP 正是通过降解血管基质的主要成分, 破坏基底和开放血脑屏障而引起脑水肿和出血。

2 基质金属蛋白酶的生物学特性

MMP 是哺乳动物除 tPA 之外的另一种重要的蛋白水解酶系统, 能够活化降解基质和基底膜, 是一组锌依赖性蛋白酶, 来自中性粒细胞、胶质细胞、发育中的星形胶质细胞、神经元以及血管内皮细胞。目前已发现 26 种 MMP 家族成员, 其中大多数以无活性酶原形式由细胞分泌^[5], 其生物学活性受基因转录、酶原活性、酶抑制剂等多种因素调控。正常稳态组织中, MMP 表达量极少, 而在涉及人体多种生理、病理学过程, 如炎症、新生血管形成和肿瘤侵袭转移时, 其表达量明显增多。MMP 家族依其组织特异性可分为胶原酶、明胶酶、间质溶解素、膜型 MMP 和其他成员。所有 MMP 均有以下共同特点: ① 锌离子为酶活性所必需的辅助因子; ② 含有两个钙离子, 参与酶的激活, 并为酶的稳定性所必需; ③ 以酶原形式分泌, 在细胞内外或细胞表面发挥蛋白溶解的作用;

通过蛋白水解去除氨基末端而激活; ④ 被金属蛋白酶组织抑制剂 (tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP) 特异性抑制。其中 MMP-9 与缺血性脑损伤关系密切^[6]。MMP-9 主要受纤溶酶原激活物的调节, 其底物包括明胶、IV、V 型胶原和弹性蛋白^[7]。MMP 在脑缺血再灌注后表达上升, MMP 几乎可以降解细胞外基质的所有成分; tPA 引起再灌注后 MMP 激活, MMP 降解脑血管的重要成分, 包括基底层的胶原蛋白和层粘连蛋白以及和血脑屏障相关的紧密连接蛋白 (zonula occludens-1, ZO-1)^[8,9], 破坏血管壁和血脑屏障的完整性, 导致出血。

3 基质金属蛋白酶与出血性转换

MMP 是脑梗死病理学改变的重要介质, 缺血后 MMP 表达上调, 并随后使血脑屏障和神经血管外基质 (extracellular

[收稿日期] 2008-08-01 [修回日期] 2008-09-05

[作者简介] 李壬子, 主治医师, 研究方向为脑血管病, Email为 xywang118@yahoo.com.cn; 王秀艳, 硕士, 主任医师, 教授, 研究方向为缺血性脑血管病; 袁建新, 硕士, 主任医师, 教授, 研究方向为缺血性脑血管病。

matrix, ECM)成分降解。ECM 存在于细胞之间,由胶原、蛋白聚糖及糖蛋白等大分子物质构成,构成细胞生活的微环境,具有支持、连接、营养和防御作用,是构成基底膜的主要成分。ECM 与细胞的完整性有关,是维持血管壁功能的重要结构。研究表明,脑缺血和再灌注损伤时可诱导 MMP 的表达, MMP 通过降解血管基质主要成分,破坏基底和导致血脑屏障开放而引起脑水肿和梗死后出血发生。Gursoy-Ozdemir 等^[10]通过动物实验证实, MMP-9 参与了早期血脑屏障的破坏机制。而 Kim 等^[11]研究认为 MMP-9 的早期表达和激活与早期血脑屏障的破坏有关。Rosenberg 等^[12]研究显示,血脑屏障的破坏分两个阶段,一是与脑缺血后再灌注 3 h 时与 MMP-2 相关的短暂时破坏,二是脑缺血后再灌注 48 h 时与 MMP-9 相关的更严重的损伤。如果预先给予 MMP 抑制剂 BB-94 可以明显减少血脑屏障的破坏和继发性脑水肿,这些结果显示 MMP-9 在脑缺血后血脑屏障损伤和继发性脑水肿中起重要作用。Montaner 等^[13]研究认为基础 MMP-9 水平可预测迟发性出血性转换的发生, 24 h MMP-9 水平升高往往预示出现实质性血肿。而 Castellanos 等^[14]研究表明,出血性转换组基础 MMP-9 水平较高,血浆 MMP-9 $\geq 140 \mu\text{g/L}$ 者可发生出血性转换,血浆 MMP-9 水平升高是所有类型卒中出血性转换的独立预测因素。许宏伟等^[15]在有关大鼠脑出血后 MMP-9 表达的研究中发现,在出血后 24~48 h 达高峰,与脑含水量成正相关,提示其可能促进出血后血管源性脑水肿的形成。曹心慧等^[16]研究发现,出血性转换组血浆 MMP-9 水平高于无出血性转换组,也认为 MMP-9 可能是出血性转换的独立危险因素。

MMP 与溶栓治疗后出血性转换的发生有关: t-PA 溶栓治疗时血管再通,发生缺血后再灌注损伤,氧自由基产生并发炎症反应, MMP 与 TIMP 失衡, MMP 活性增强; ④ t-PA 本身与 MMP 相互作用, t-PA 可上调 MMP 的表达; ⑤ t-PA 为纤溶酶原激活剂,使纤溶酶原水平上升,增强 MMP 活性,从而导致出血并发症的发生。业已证实,啮齿类动物发生局灶性脑缺血后,应用 t-PA 能使 MMP-9 水平增高,但不能使 MMP-2 增高;相反,用 MMP 抑制剂能降低 t-PA 治疗后出血并发症的发病率和严重程度。这些研究表明, MMP-9 参与了 t-PA 溶栓治疗后的出血性转换^[17-19]。在临床上, MMP-9 有可能作为一种分子标志物,通过预示出血并发症的发生预测溶栓治疗的效果。同时,国外实验证实, MMP-9 基线水平能预示 rt-PA 治疗后脑实质出血的发生情况^[20]。因此,检测发病早期 MMP-9 浓度可预测溶栓治疗的安全性。

4 基质金属蛋白酶抑制剂对出血性转换的影响

TIMP 是天然的 MMP 特异性抑制剂,分泌 MMP 的细胞同时也分泌 TIMP,在脑血管基底膜的代谢调节中, TIMP 是与 MMP 对应的负性调节剂,对维持 ECM 稳态有重要作用。临床试验证明,短期应用 MMP 抑制剂可以在脑损伤的急性期减少血脑屏障的损伤,并阻止血管受损^[6]。而且, MMP 抑制剂 BB-94 可减少实验性脑栓塞后出血的发生率^[17]。TIMP 共分为 4 型,以 1:1 与活性 MMP 结合,并抑制其活性。正

常生理过程有赖于 MMP 与 TIMP 的控制和协调作用。TIMP 通过在以下环节抑制 MMP 的作用:阻碍 MMP 介导的内皮细胞移动;抑制基质中促血管生成因子的释放,进而抑制血管的生成,防止 ECM 降解。在脑缺血再灌注损伤的病理过程中, TIMP 通过抑制 MMP 活性,从而在降低脑微血管通透性、减少血脑屏障的破坏、减少炎症细胞浸润等方面起着非常重要的作用,降低出血性转换的发生率。

在溶栓治疗中, TIMP 可能对溶栓后出血有防治作用。Pfefferkorn 等^[21]研究发现,重组组织型纤溶酶原激活物 (recombinant tissue plasminogen activator rt-PA) 引起迟发性出血与血脑屏障早期开放有关。在用 rt-PA 溶栓之前应用 MMP-9 抑制剂 BB-94 可明显降低血脑屏障的通透性,减少迟发性出血的发生。Rosenberg 等^[22]研究认为, TIMP 可以阻止血脑屏障的首次开放和再灌注后 24 h 的脑水肿。Lapchak 等^[17]研究认为, TIMP 可减少 t-PA 诱导的脑出血发生。Sumini 等^[19]研究认为, TIMP 可显著减少出血体积及死亡率。因此早期应用 TIMP 可以逆转 MMP-2 和 MMP-9 引起的血脑屏障开放,保持血管壁和血脑屏障的完整性,降低溶栓后的死亡率及出血发生率,从而增加溶栓治疗的安全性。综上所述,通过了解脑梗死后出血性转换发生机制, MMP 和 TIMP 在脑缺血再灌注损伤及溶栓治疗中发挥的作用,提示脑缺血后降低 MMP 活性,协调 MMP 与 TIMP 之间的平衡。溶栓对脑组织的损伤意义至关重要,同时也为更加有效地治疗缺血性脑血管病,降低溶栓治疗后出血发生率和死亡率,从而增加溶栓治疗的安全性方面提供了一条新的治疗途径。

[参考文献]

- Berger C, Fiorelli M, Steiner T, et al. Hemorrhagic transformation of ischemic brain tissue: asymptomatic or symptomatic [J]. *Stroke* 2001; **32** (6): 1330-335
- Gilligan AK, Markus R, Read S, et al. Baseline blood pressure but not early computed tomography changes predicts major hemorrhage after streptokinase in acute ischemic stroke [J]. *Stroke* 2002; **33** (9): 2236-242
- Motto C, Ciccone A, Aritze E, et al. Hemorrhage after an acute ischemic stroke [J]. *Stroke* 1999; **30** (4): 761-764
- Wang X, Lo EH. Triggers and mediators of hemorrhagic transformation in cerebral ischemia [J]. *Mol Neurobiol* 2003; **28** (3): 229-244
- Hanacher S, Matern S, Roeb E, et al. Extracellular matrix--from basic research to clinical significance: An overview with special consideration of matrix metalloproteinases [J]. *Dtsch Med Wochenschr* 2004; **129** (38): 1976-980
- Pfefferkorn T, Rosenberg GA. Closure of the blood-brain barrier by matrix metalloproteinase inhibition reduces rt-PA mediated mortality in cerebral ischemia with delayed reperfusion [J]. *Stroke* 2003; **34** (8): 2025-030
- Hashimoto T, Wen G, Lawton MT, et al. Abnormal expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in brain arteriovenous malformations [J]. *Stroke* 2003; **34** (4): 925-931
- Heo JH, Lucero J, Abumiyah T, et al. Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia [J]. *Cereb Blood Flow Metab* 1999; **19** (6): 624-633
- Asahi M, Wang X, Mori T, et al. Effects of matrix metalloproteinase-9 gene knock-out on the proteolysis of blood-brain barrier and white matter components after cerebral ischemia [J]. *J Neurosci* 2001; **21** (19): 7724-732

(下转第 840 页)

(上接第 795 页)

- [10] Cursoy-Ozdemir Y, Qin J, Matsuoka N, et al. Cortical spreading depression activates and upregulates MMP-9 [J]. *Clin Invest* 2004 **113** (10): 1447-455
- [11] Kim GW, Gasche Y, Grzeschik S, et al. Neurodegeneration in striatum induced by the mitochondrial toxin 3-nitropropionic acid: role of matrix metalloproteinase-9 in early blood-brain barrier disruption [J]. *Neuroscience* 2003 **23** (25): 8733-742
- [12] Rosenberg GA, Esterada EY, Dencoff JE, et al. Matrix metalloproteinase and TIMPs are associated with blood-brain barrier opening after reperfusion in rat brain [J]. *Stroke* 1998 **129** (7): 2189-195
- [13] Montaner J, Alvarez-Sabin J, Molina CA, et al. Matrix metalloproteinase-9 expression is related to hemorrhagic transformation after cardioembolic stroke [J]. *Stroke* 2001 **32** (12): 2762-767.
- [14] Castellanos M, Leira R, Serena J, et al. Plasma metalloproteinase-9 concentration predicts hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke [J]. *Stroke* 2003 **34** (1): 40-46
- [15] 许宏伟, 何双英, 张乐, 等. 大鼠脑出血后血管内皮生长因子和基质金属蛋白酶 9 的表达及七叶皂苷钠的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006 **14** (7): 604-606
- [16] 曹心慧, 刘鸣, 吴波. 血浆基质金属蛋白酶 9 与缺血性卒中出血转化关系的系统评价 [J]. *中国循征医学杂志*, 2006 **6** (5): 361-369
- [17] Lapchak PA, Chapman DF, Zivin JA. Metalloproteinase inhibition reduces thrombolytic (tissue plasminogen activator)-induced hemorrhage after thromboembolic stroke [J]. *Stroke* 2000 **31** (12): 3034-040
- [18] Sehba FA, Mostafa G, Knopman J, et al. Acute alterations in microvascular basal lamina after subarachnoid hemorrhage [J]. *Neurosurg*, 2004 **101** (4): 633-640
- [19] Sun HT, Lo EH. Involvement of matrix metalloproteinase in thrombolysis-associated hemorrhagic transformation after embolic focal ischemia in rats [J]. *Stroke* 2002 **33** (3): 831-836
- [20] Montaner J, Molina CA, Monasterio J, et al. Matrix metalloproteinase-9 pretreatment level predicts intracranial hemorrhagic complications after thrombolysis in human stroke [J]. *Circulation*, 2003 **107** (4): 598-603
- [21] Pfefferkorn T, Rosenberg GA. Closure of the blood-brain barrier matrix metalloproteinase inhibition reduce rPA mediated mortality in cerebral ischemia with delayed reperfusion [J]. *Stroke* 2003 **34** (8): 2025-030
- [22] Rosenberg GA, Cunningham LA, Wallace J, et al. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases in reperfusion injury to rat brain: activation of MMP-9 linked to stromelysin-1 and microglia in cell cultures [J]. *Brain Res* 2001 **893** (1-2): 104-112

(此文编辑 文玉珊)