

[文章编号] 1007-3949(2008)16-11-0873-04

· 实验研究 ·

冠状动脉妊娠相关血浆蛋白 A 的表达与急性冠状动脉综合征和冠状动脉狭窄的关系

于霄¹, 赵俊军¹, 李静¹, 王波¹, 郭静², 孙喜琢³, 郑仁恕¹, 刘志双⁴, 孙雷¹(1. 大连医科大学中日临床病理中心, 辽宁省大连市 116044; 2 大连市抚顺矿业集团总医院病理科;
3 大连市中心医院; 4 房店市公安局技术科)

[关键词] 病理学与病理生理学; 妊娠相关血浆蛋白 A; 急性冠状动脉综合征; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 观察妊娠相关血浆蛋白 A 在粥样硬化冠状动脉局部的表达及其与急性冠状动脉综合征的发生和冠状动脉狭窄程度的关系。方法 选取 2002 年~2006 年尸检中符合急性冠状动脉综合征标本 15 例、无心肌梗死标本 18 例及有陈旧性心肌梗死标本 17 例, 自主动脉根部左、右冠状动脉窦口起取其左、右冠状动脉, 做间隔为 1 cm 的连续横断取材。应用弹力纤维染色及 NH Scion Image 软件分析系统, 测算其狭窄程度, 并据此将急性冠状动脉综合征组冠状动脉标本分为四个亚组 (< 25% 组、25% ~ 50% 组、50% ~ 75% 组及 > 75% 组)。通过标记平滑肌细胞对妊娠相关血浆蛋白 A 进行定位。用免疫组织化学法检测平滑肌细胞妊娠相关血浆蛋白 A 在冠状动脉局部的表达。结果 妊娠相关血浆蛋白 A 在发生斑块破裂冠状动脉的残存内皮细胞及邻近冠状动脉内皮细胞中强表达, 而其余冠状动脉标本中内皮细胞基本无表达。斑块破裂处妊娠相关血浆蛋白 A 表达强于周围组织。急性冠状动脉综合征组妊娠相关血浆蛋白 A 在不同狭窄程度冠状动脉平滑肌表达的阳性率分别为 93.3%、74.5%、78.3% 及 50.0%, 妊娠相关血浆蛋白 A 的表达强度有随着冠状动脉狭窄程度增加而减小的趋势。急性冠状动脉综合征组妊娠相关血浆蛋白 A 在冠状动脉平滑肌表达的阳性率为 80.4%, 无心肌梗死组为 66.9%, 陈旧性心肌梗死组为 56.8%。急性冠状动脉综合征组妊娠相关血浆蛋白 A 的表达明显高于无心肌梗死组和陈旧性心肌梗死组, 且无心肌梗死组妊娠相关血浆蛋白 A 的表达强于陈旧性心肌梗死组。结论 妊娠相关血浆蛋白 A 参与急性冠状动脉综合征的发生。妊娠相关血浆蛋白 A 的表达强度有随着冠状动脉狭窄程度增加而减小的趋势。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Expression of Pregnancy Associate Plasma Protein-A in Coronary Artery and Its Relationship with Acute Coronary Syndrome Coronary Artery Stenosis

YU Xia, ZHAO Jun-Jun, LI Jing, WANG Bo, GUO Jing, SUN Xi-Zhuo, ZHENG Ren-Shu, LIU Zhi-Shuang, SUN Lei
(China-Japanese Clinical Pathology Centre of Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

[KEY WORDS] Pregnancy Associate Plasma Protein-A; Acute Coronary Syndrome; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the expression of pregnancy associate plasma protein-A (PAPP-A) in coronary artery of patients with acute coronary syndrome (ACS) and fix PAPP-A masculine location by labelling smooth muscle cell

Methods There were 15 autopsied cases which were consistent with the judge standard of ACS, 18 coronary artery autopsied cases without myocardial infarction and 17 coronary artery autopsied cases with old myocardial infarction were chosen as control groups. Sequence section of the right-left coronary artery was made from beginning to the ending with an interval about 1 cm. The coronary artery degrees of stenosis of ACS group were measured and calculated with elastic fibers stain and NH Scion Image analytical system. The arteries of ACS group were divided into 4 subgroups according to the degree of stenosis (< 25% group, 25% ~ 50% group, 50% ~ 75% group and > 75% group). Immunohistochemistry was used to detect the presence of smooth muscle cell and to examine the expression of PAPP-A. **Results**

In ACS group, the PAPP-A rate of masculine in coronary artery smooth muscle of different degrees of stenosis subgroup were 93.3%, 74.5%, 78.3% and 50.0%. In ACS group, the expression of PAPP-A was found strongly in rupture area and endothelial cells which were remnant in ruptured plaque and adjacent coronary artery. PAPP-A expression in coronary artery showed a tendency to decrease with degree of stenosis increasing. The PAPP-A rate of masculine of ACS group was 80.4%, no myocardial infarction group was 66.9%, old myocardial infarction group was 56.8%. PAPP-A was more detectable in ACS group than in the other two groups. **Conclusions** PAPP-A are involved in the occurrence of ACS.

In coronary artery, the expression of PAPP-A has no definite relevance to the degree of stenosis. PAPP-A expression in coronary artery showed a tendency to decrease with degree of stenosis increasing.

[收稿日期] 2008-02-28 [修回日期] 2008-06-20

[作者简介] 于霄, 助教, Email 为 yuqi17@yahoo.com.cn. 通讯作者孙雷, 教授, 主要研究方向为动脉粥样硬化发生机制, Email 为 sunlei00@yahoo.com.cn.

急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndromes ACS)是由粥样硬化斑块的损伤、破裂引发的血栓、不稳定型心绞痛、急性心肌梗死等一系列临床症状^[1,2]。研究表明,除血栓形成外冠状动脉局部痉挛导致的供血不足亦可引起 ACS^[3]。随着相关研究的增多,1974年发现于孕妇血清中的妊娠相关血浆蛋白 A (pregnancy associate plasma protein-A, PAPP-A)逐渐被纳入人们的视线^[3,4]。临床研究证明,ACS患者血清 PAPP-A 含量明显升高,并且越来越多的学者认为 PAPP-A 可作为斑块不稳定性的评价指标^[5,6],预测心脏不良事件的独立因子^[5]。众多研究提示 PAPP-A 与斑块的破损及局部冠状动脉痉挛有关^[7,8],从而参与 ACS 的发生。本研究应用免疫组织化学检测技术、弹力纤维染色及 NH Scion Image 软件分析系统,通过与对照组的比较分析 PAPP-A 在冠状动脉的表达情况及其与 ACS 发生的关系以及 ACS 发生时不同狭窄程度冠状动脉表达 PAPP-A 的情况。

1 材料和方法

1.1 材料

50例 2002年~2006年间的尸检冠状动脉蜡块标本,年龄 24~75岁,平均年龄为 53.2岁。将 50例分为三组:ACS组 15例,无心肌梗死组 18例,陈旧性心肌梗死组 17例。

1.2 方法

选定标本经常规福尔马林液固定,对 50例标本冠状动脉做间隔为 1 cm 连续取材,共获 1 265块蜡块。脱水、透明、石蜡包埋。将所有冠状动脉标本切片,片厚 4 μm ,常规脱蜡、水化后进行 HE 及 PAPP-A、 α -actin 免疫组织化学染色,其中 ACS 组切片附加弹力纤维染色。PAPP-A 免疫组织化学试剂购自 Dako Cytomation 公司, α -actin 及 SP 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。PAPP-A 工作液浓度 1:150。步骤按照 SP 法进行。

1.3 免疫组织化学结果判定

依据 SM α -actin 染色判定平滑肌表达 PAPP-A 情况。PAPP-A 阳性结果判定参照许良中等^[9]的免疫组织化学反应结果的判定标准,综合考虑切片中阳性细胞占所观察同类细胞数的百分比。阳性细胞百分比分为 4 级: $\leq 5\%$ 为 0 分, $6\% \sim 25\%$ 为 1 分, $26\% \sim 50\%$ 为 2 分, $> 51\%$ 为 3 分。根据显色程度判定阳性强度:基本不着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。将每张切片着色程度得分与着色细胞百分率得分相乘为最后得分。最后得分 0~1 分为阴性, 2~3 分为弱阳性, 4~6 分为中等阳性, 6 分以上为强阳性。

1.4 组织形态学测量及血管狭窄程度分级

弹力纤维染色切片用于血管组织学形态测量,应用 NH Scion Image 6.0.1 软件系统,分别测量内弹力板周长和内腔面周长。正常血管内膜由单层内皮细胞及其下的内弹力板构成,本研究以内弹力板周长构成的面积为正常血管内腔面积。据狭窄程度将 ACS 组分为四个亚组: $< 25\%$ 组、 $25\% \sim 50\%$ 组、 $50\% \sim 75\%$ 组和 $> 75\%$ 组。

1.5 统计学分析

ACS 组四个亚组间的比较用秩和检验,ACS 组与两个对照组之间的比较用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急性冠状动脉综合征组妊娠相关血浆蛋白 A 的表达

在发生斑块破裂冠状动脉的残存内皮细胞及邻近冠状动脉内皮细胞 PAPP-A 表达强阳性,而其余冠状动脉内皮细胞 PAPP-A 基本无表达。斑块破裂处局部 PAPP-A 表达强于周围组织 (图 1)。冠状动脉平滑肌 PAPP-A 的表达强度随着冠状动脉狭窄程度增加而减小的趋势 (表 1)。



图 1. 妊娠相关血浆蛋白 A 的表达 ($\times 400$) 左为在内皮细胞的表达,中为在平滑肌细胞的表达,右为在破裂斑块局部的表达。

表 1 急性冠状动脉综合征组不同狭窄程度冠状动脉妊娠相关血浆蛋白 A 的表达 (例)

狭窄程度	n	阴性	弱阳性	中等阳性	强阳性	阳性率
< 25% 组	119	8	52	43	16	93.3% ^a
25% ~ 50% 组	55	14	19	17	5	74.5%
50% ~ 75% 组	85	18	26	28	13	78.3% ^b
> 75% 组	42	19	16	5	2	50.0%

a为 $P < 0.01$, 与 25% ~ 50% 组和 > 75% 组比较; b为 $P < 0.01$, 与 > 75% 组比较。

2.2 急性冠状动脉综合征组和对照组冠状动脉平滑肌妊娠相关血浆蛋白 A 的表达

ACS组冠状动脉平滑肌 PAPP-A 表达的强度高于无心肌梗死组和陈旧性心肌梗死组 (表 2)。

表 2 急性冠状动脉综合征组和对照组冠状动脉平滑肌妊娠相关血浆蛋白 A 的表达 (例)

分 组	n	阴性	弱阳性	中等阳性	强阳性	阳性率
陈旧性心肌梗死组	206	89	106	11	0	56.8%
ACS组	301	59	113	93	36	80.4% ^a
无心肌梗死组	332	110	158	56	8	66.9%

a为 $P < 0.05$ 与无心肌梗死组和陈旧性心肌梗死组比较。

3 讨论

大量的临床实验证实, 在 ACS 患者血浆中许多特异性因子有明显升高^[1, 2, 10, 11], 其中一部分已经作为临床诊断和预后的观测指标, 其中包括 PAPP-A。1974年 Lin 等^[4]于孕妇血液内发现 PAPP-A 这一锌金属结合蛋白酶。2005年 2月 Qin 等通过研究证实 ACS 患者体内的 PAPP-A 与最初发现的孕妇血液内的 PAPP-A 不同。孕妇血液内的 PAPP-A 与其抑制因子嗜酸粒细胞大分子碱性蛋白前体 (proform of eosinophil major basic protein, proMBP) 以 2: 2 的 PAPP-A /proMBP 复合体形式存在。而 ACS 患者体内 PAPP-A 则以非复合体形式存在, 此时的 PAPP-A 更加“自由”的发挥着它的生物活性^[12, 13]。这一发现为许多临床现象及研究结果提供了理论依据。PAPP-A 通过降解胰岛素样生长因子结合蛋白 (insulin like growth factor binding protein, IGFBP) 释放胰岛素样生长因子 (insulin like growth factor, IGF) 来发挥生物学作用^[10]。随后的研究指出 PAPP-A 与 ACS 的发生有着一定的关系。

本研究中, ACS 组在部分发生斑块破裂冠状动脉残存的内皮细胞及邻近冠状动脉内皮细胞中检测

到 PAPP-A 强表达, 而其余冠状动脉标本中内皮细胞 PAPP-A 基本无表达。Balaram 等^[8]经体外培养内皮细胞证实 PAPP-A 的作用产物之一 IGF-1 可增加内皮细胞与单核细胞间的粘附力、激活内皮细胞核因子 κB , 核因子 κB 的激活可引起一系列反应导致斑块破损。可见 PAPP-A 在内皮细胞的高表达与斑块破裂的发生有着一定的联系。

有研究指出, 斑块的破裂与斑块的稳定程度有关, 部分斑块破裂不是发生在粥样硬化病变冠状动脉最狭窄处。本研究发现, 冠状动脉中膜平滑肌 PAPP-A 的表达强度随着冠状动脉狭窄程度的增加呈降低趋势。PAPP-A 可通过激活核因子 κB 刺激 COX-2 的生成^[14], 导致前列腺素 E₂ (PGE₂) 增加。而 PGE₂ 能够引起平滑肌收缩乃至痉挛。因此, PAPP-A 与血管平滑肌的收缩、痉挛有关。动脉粥样硬化病变随着斑块的增大, 冠状动脉狭窄程度的增加, 中膜平滑肌由于受斑块的挤压、向内膜的迁移及迁移过程中表型的改变, 其收缩能力逐渐下降。因此在 ACS 组内, 平滑肌收缩能力较强的 A 组 PAPP-A 的表达高于 B、D 两组, 进一步说明 PAPP-A 通过复杂的途径可导致冠状动脉局部的痉挛。本研究中, 斑块破裂局部 PAPP-A 的表达明显高于冠状动脉的其他部位, 尤其在组织被掀起的破裂处及其周围的小区域内, 提示 PAPP-A 与斑块的破裂有关。以上结果证实, ACS 发生时 PAPP-A 引发冠状动脉局部痉挛^[3]及斑块破裂, 参与 ACS 的发生。

本研究结果发现, ACS 组与两个对照组中 ACS 发生时冠状动脉平滑肌 PAPP-A 表达最强, 尚未发生心肌梗死的无心肌梗死组冠状动脉平滑肌 PAPP-A 已有表达, 虽弱于正在发生 ACS 的 ACS 组, 但强度高于发生过心肌梗死的陈旧性心肌梗死组。即未发生心肌梗死时冠状动脉平滑肌已有一定强度的 PAPP-A 表达, 并逐渐增加, 至 ACS 发生时达顶峰, 随后进入陈旧性心肌梗死状态, 冠状动脉平滑肌表达 PAPP-A 强度下降至低于未发生心肌梗死时。可假设这是一个 PAPP-A 在冠状动脉局部表达, 随着表达量的积累, 最终引发 ACS, 随后又下降趋于平稳的过程。既往文献报道在稳定型心绞痛患者血清内也可有 PAPP-A 含量的升高^[15], 血清中 PAPP-A 的含量可作为稳定型心绞痛患者发生 ACS 的预测指标^[16]。本研究结果可为临床的一些研究结果作出进一步解释。

PAPP-A 在冠状动脉局部导致 ACS 发生的具体机理虽尚未清楚, 但通过本研究的分析可知 PAPP-A 在冠状动脉局部的出现是引发 ACS 的复杂过程中

的重要环节。

[参考文献]

- [1] Marco L, Rossi Nicola, Marziliano et al. Different quantitative apoptotic traits in coronary atherosclerotic plaques from patients with stable angina pectoris and acute coronary syndromes [J]. *Circulation*, 2004 **110**: 1767-773
- [2] Lytynen OI, Kopitsa MP, Petyunina OV. Interaction between inflammation and thrombosis in acute coronary syndrome [J]. *Kardiologia Pol* 2004 **61** (8): 110-116
- [3] Gronhokdt ML, Dalager-Pedersen S, Falk E. Coronary atherosclerosis: determinants of plaque rupture [J]. *Eur Heart J*. 1998 **19**: 24-29
- [4] Lin TM, Gilbert SP, Kiefer D, et al. Characterization of four human pregnancy-associated plasma protein A [J]. *Am J Obstet Gynecol* 1974 **118** (2): 223-236
- [5] Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A levels in patients with acute coronary syndromes: comparison with markers of systemic inflammation, platelet activation, and myocardial necrosis [J]. *J Am Coll Cardiol* 2005 **45** (2): 229-237.
- [6] Qin QP, Wittboth S, Pettersson K. Measurement and clinical significance of circulating PAPP-A in ACS patients [J]. *Clin Chim Acta*, 2007 **380** (1-2): 59-67.
- [7] Resch ZI, Chen BK, Bale LK. Pregnancy-associated plasma A gene expression as a target of inflammatory cytokines [J]. *Endocrinology*; 2004 **145** (3): 1124-129.
- [8] Balaran SK, Agrawal DK, Edwards JD. Insulin like growth factor-1 activates nuclear factor-kappaB and increases transcription of the intercellular adhesion molecule-1 gene in endothelial cells [J]. *Cardiovasc Surg*, 1999 **7** (1): 91-97.
- [9] 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判定标准 [J]. *中国癌症杂志*, 1996 **6**: 229-231.
- [10] 杨智勇, 李晓东, 毛颖, 等. 急性冠状动脉综合征患者妊娠相关血浆蛋白 A 浓度的变化 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005 **13** (2): 156-158
- [11] 朱靖, 葛志明. 急性冠状动脉综合征患者血清可溶性细胞间粘附分子 1 和妊娠相关血浆蛋白 A 的变化 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006 **14** (4): 347-350
- [12] Qiu-Ping Qin, Saara Kokkala, Juha Lund, et al. Molecular distinction of circulating pregnancy-associated plasma protein A in myocardial infarction and pregnancy [J]. *Clinical Chemistry*; 2005 **51** (1): 75-83
- [13] Qin QP, Kokkala S, Lund J, et al. Immunoassays developed for pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in pregnancy may not recognize PAPP-A in acute coronary syndromes [J]. *Clin Chem*, 2006 **52** (3): 398-404
- [14] Shishir Shishodia, Aggarwal BB. Cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor celecoxib abrogates activation of cigarette smoke-induced nuclear factor (NF)- κ B by suppressing activation of I κ B kinase in human non-small cell lung carcinoma: correlation with suppression of cyclin D1, COX-2, and matrix metalloproteinase-9 [J]. *Cancer Research*, 2004 **64**: 5004-012
- [15] Cosin-Sales J, Kaski JC, Christiansen M, et al. Relationship among pregnancy associated plasma protein-A levels, clinical characteristics, and coronary artery disease extent in patients with chronic stable angina pectoris [J]. *Eur Heart J*, 2005 **26** (20): 2093-098
- [16] Lippi G, Montagnana M, Salvagno GL, et al. Potential value for new diagnostic markers in the early recognition of acute coronary syndromes [J]. *CJEM*, 2006 **8** (1): 27-31.

(此文编辑 文玉珊)