

[文章编号] 1007-3949(2009)17-05-0391-04

• 临床研究 •

## 血浆基质金属蛋白酶 2和组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2水平变化与急性冠状动脉综合征的关系

唐其东, 吴平生, 侯玉清, 郭志刚, 周忠江, 黄 铮, 修建成, 王月刚

(南方医科大学南方医院心内科, 广东省广州市 510515)

[关键词] 急性冠状动脉综合征; 心肌梗死; 不稳定型心绞痛; 冠状动脉慢性完全闭塞; 基质金属蛋白酶; 组织型基质金属蛋白酶抑制剂

[摘 要] 目的 探讨不同类型冠心病患者基质金属蛋白酶 2、组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 水平及其比值变化, 分析其在急性冠状动脉综合征中的临床意义。方法 经冠状动脉造影的 118 例心内科住院患者, 依据其临床表现和冠状动脉造影结果分组: 急性冠状动脉综合征患者 49 例, 其中包括不稳定型心绞痛患者 30 例、急性心肌梗死患者 19 例; 非急性冠状动脉综合征冠心病患者 44 例, 包括稳定型心绞痛患者 23 例、冠状动脉慢性完全闭塞患者 21 例; 25 例冠状动脉正常患者为对照组。采用夹心酶联免疫吸附法检测动脉血浆基质金属蛋白酶 2 和组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 水平。结果 急性冠状动脉综合征和非急性冠状动脉综合征患者血浆基质金属蛋白酶 2、组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 水平均明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且基质金属蛋白酶 2/组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 比值均显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ); 与非急性冠状动脉综合征患者比较, 急性冠状动脉综合征患者基质金属蛋白酶 2、组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 水平及基质金属蛋白酶 2/组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 比值均显著增高 ( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ ); 与对照组比较, 不稳定型心绞痛组、急性心肌梗死组和冠状动脉慢性完全闭塞组基质金属蛋白酶 2 水平明显增高 ( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ ), 不稳定型心绞痛组、稳定型心绞痛组和冠状动脉慢性完全闭塞组组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 显著增高 ( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ )。结论 动脉粥样硬化斑块的演变与血基质金属蛋白酶 2、组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 水平及基质金属蛋白酶 2/组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 比值变化和失衡密切相关, 基质金属蛋白酶 2 水平和基质金属蛋白酶 2/组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 比值显著升高提示动脉粥样硬化斑块的不稳定性, 有可能作为急性冠状动脉综合征病情严重程度的有效预测指标之一。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Plasma Levels of Matrix Metalloproteinase-2 and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-2 and Its Relationship with Acute Coronary Syndrome

TANG Qidong, WU Ping-Shen, HOU Yurqing, GUO Zhigang, ZHOU Zhongjiang, HUANG Zhen, XIU Jian-Cheng and WANG Yue-Gang

(Department of Cardiology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[KEY WORDS] Acute Coronary Syndrome, Myocardial Infarction, Unstable Angina Pectoris, Chronic Total Occlusion, Matrix Metalloproteinase, Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the changes of plasma matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 (TIMP-2) level and MMP-2/TIMP-2 ratio in patients with different types of coronary heart disease (CHD), and discuss clinical significances. **Methods** A total of 118 patients were divided cardiolangiographically and clinically into following groups: acute coronary syndrome (ACS) group with 49 cases including unstable angina pectoris (UAP) subgroup with 30 cases and acute myocardial infarction (AMI) with 19 cases; non-ACS group with 44 cases including stable angina pectoris (SAP) with 23 cases and chronic total occlusion of coronary artery (CTO) with 21 cases; and normal coronary artery group as a control with 25 cases. The plasma levels of MMP-2 and TIMP-2 were assayed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with normal coronary artery group, remarkably elevated plasma MMP-2 level was observed in ACS group and non-ACS group (both  $P < 0.05$ ), and the increasing of MMP-2/TIMP-2 ratio was significant ( $P < 0.01$ ) in both ACS and non-ACS groups. MMP-2 and TIMP-2 level and MMP-2/TIMP-2 ratio were obviously higher in ACS group than that in non-ACS group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). MMP-2 level was increasing more in UAP subgroup ( $P < 0.05$ ), AMI subgroup ( $P < 0.05$ ), and CTO subgroup ( $P < 0.01$ ) compared with normal coronary artery group, respectively. Comparison between normal coronary artery group with each subgroup, conce-

[收稿日期] 2009-02-12

[修回日期] 2009-05-05

[作者简介] 唐其东, 博士研究生, 研究方向为冠心病介入治疗, E-mail为 ttangqd@yahoo.com。通讯作者吴平生, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病、高血压和高脂血症, E-mail为 wp@fimmu.com。侯玉清, 主任医师, 教授, 研究方向为冠心病介入治疗。

centration of MMP-2 was higher in UAP subgroup ( $P < 0.05$ ), SAP subgroup ( $P < 0.001$ ), and CTO subgroup ( $P < 0.01$ ), respectively. **Conclusion** The developing of atherosclerosis plaque was associated with plasma MMP-2 level. MMP-2 level and imbalance of MMP-2/TIMP-2 proportion in CHD patients. The increased MMP-2 level and imbalance of MMP-2/TIMP-2 proportion in patients with CHD suggested instability of atherosclerotic plaque and might be viewed as one of predictable biomarkers for occurrence of ACS event.

急性冠状动脉综合征 (ACS) 是冠心病的最常见类型之一, 是以冠状动脉粥样硬化斑块破裂, 继发不完全或完全闭塞性血栓形成为其病理基础的一组临床综合征, 包括不稳定型心绞痛 (UAP)、急性心肌梗死 (AMI) 或猝死。动脉粥样硬化斑块的稳定与破裂将直接影响 ACS 转归, 导致冠心病的不同预后。包括细胞外基质、斑块纤维帽的厚薄、炎症因子等多因素决定了动脉粥样硬化斑块的破裂与否<sup>[1]</sup>。基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 可以降解动脉细胞外基质 (ECM) 引起动脉粥样硬化斑块不稳定, 组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 (TIMP-2) 可以阻止降解过程的进展; MMP-2 在动脉粥样硬化斑块处, 特别在斑块的肩部区域表达明显增强, 同时, 分泌 MMP-2 的细胞也可以分泌 TIMP-2, TIMP-2 结合 MMP-2 协同调节 ECM 的合成与降解<sup>[2,3]</sup>。因此, 二者的水平及二者间的平衡对动脉粥样硬化斑块的稳定性具有重要的作用。已有的报道对 MMP-2 与冠心病研究较多, 但对 TIMP-2 及 MMP-2/TIMP-2 平衡的研究极少。本研究观察不同类型冠心病患者 MMP-2 和 TIMP-2 水平及其平衡性, 从而对斑块稳定性进行探讨, 以利于 ACS 的早期诊断和及时正确治疗。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

选自本院心内科住院并行冠状动脉造影检查患者 118 例, 据临床表现和冠状动脉造影结果进行不同分组: ACS 患者 49 例, 其中包括 UAP 患者 30 例、AMI 患者 19 例; 非 ACS 冠心病患者 44 例, 包括稳

定型心绞痛 (SAP) 患者 23 例、冠状动脉慢性完全闭塞 (CTO) 患者 21 例; 25 例冠状动脉正常患者为对照组。冠心病诊断参照 1979 年 WHO 关于缺血性心脏病的诊断标准, 即冠状动脉血管直径狭窄  $\geq 50\%$  为标准; UAP 诊断参照 ACC/AHA 诊断标准<sup>[4]</sup>, AMI 诊断参照 ESC 标准<sup>[5]</sup>, CTO 按 ACC 定义为心肌梗死  $> 3$  月或造影资料证实闭塞  $> 3$  月, TIMI 血流 0 级<sup>[6]</sup>。所有研究对象均排除肿瘤、肝脏疾病、感染性疾病、自身免疫性疾病或外周动脉粥样硬化性疾病, 并一年内未做过手术者。

### 1.2 研究方法

所有患者完成常规冠状动脉造影后经鞘管抽取动脉血, 置于含肝素抗凝试管中, 于  $4^{\circ}\text{C}$ 、3000 r/min 离心 10 min, 分离血浆, EP 管中  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。用夹心酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定 MMP-2 及 TIMP-2 水平, 人 MMP-2 和 TIMP-2 检测试剂盒为美国 R&D System 公司提供。操作步骤按照试剂盒说明进行。

### 1.3 统计学分析

应用 SPSS13.0 软件进行数据处理, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用两独立样本  $t$  检验、方差分析及卡方检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般情况比较

各组间年龄、性别构成、体质指数 (BMI)、空腹血糖 (FPG)、高血压患病率及吸烟率无明显差异 (表 1)。

表 1 一般情况比较

指 标	对照组 ( $n=25$ )	UAP 组 ( $n=30$ )	AMI 组 ( $n=19$ )	SAP 组 ( $n=23$ )	CTO 组 ( $n=21$ )
年龄 (岁)	$62.1 \pm 8.3$	$60.4 \pm 10.6$	$61.9 \pm 11$	$64.4 \pm 7.2$	$58.7 \pm 10.5$
男/女 (例)	10/15	13/17	9/10	11/12	8/13
BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$23.7 \pm 3.7$	$25.1 \pm 2.3$	$24.6 \pm 3.1$	$25.8 \pm 3.4$	$25.5 \pm 2.9$
LDL ( $\text{mmol}/\text{L}$ )	$4.5 \pm 0.6$	$5.1 \pm 0.8$	$5.3 \pm 1.2$	$4.9 \pm 0.7$	$5.0 \pm 0.6$
FPG ( $\text{mmol}/\text{L}$ )	$6.3 \pm 1.1$	$6.8 \pm 1.4$	$7.2 \pm 1.6$	$6.5 \pm 0.7$	$6.6 \pm 1.2$
高血压 [例 (%) ]	6 (24.0%)	8 (26.7%)	6 (31.6%)	5 (21.7%)	7 (33.3%)
吸烟 [例 (%) ]	8 (32.0%)	7 (23.3%)	4 (21.1%)	6 (26.1%)	5 (23.8%)

## 2.2 血浆基质金属蛋白酶 2、组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 水平及其比值变化

ACS组和非 ACS冠心病组外周血 MMP-2 和 TMP-2 水平均较对照组显著升高 ( $P < 0.05$ )。ACS 组 MMP-2 和 TMP-2 水平与非 ACS 冠心病组比较明显降低 ( $P < 0.01$ ), MMP-2/TMP-2 比值则明显增

大。与对照组比较,血浆 TMP-2 水平在 AMI 组无明显改变外,其余各组均明显升高,尤以 SAP 组和 CTO 组升高最为明显 ( $P < 0.01$ ); 除 SAP 组外, MMP-2 水平和 MMP-2/TMP-2 比值在其余各组均明显升高,以 CTO 组升高显著 ( $P < 0.01$ ; 表 2)。

表 2 血浆基质金属蛋白酶 2、组织型基质金属蛋白酶抑制剂 2 水平及其比值变化 ( $\mu\text{g/L}$ )

分 组	例数	TMP-2	MMP-2	MMP-2/TMP-2
对照组	25	295.1 ± 26.7	336.2 ± 64.3	1.13 ± 0.12
ACS 组	49	308.6 ± 26.6 <sup>ac</sup>	476.2 ± 75.6 <sup>b</sup>	1.53 ± 0.09 <sup>bc</sup>
UAP 组	30	309.8 ± 27.3 <sup>a</sup>	468.4 ± 62.6 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.08 <sup>b</sup>
AMI 组	19	306.7 ± 26.2	483.9 ± 74.2 <sup>a</sup>	1.57 ± 0.12 <sup>b</sup>
非 ACS 冠心病组	44	365.6 ± 39.0 <sup>b</sup>	524.4 ± 167.1 <sup>a</sup>	1.38 ± 0.13 <sup>b</sup>
SAP 组	23	374.1 ± 40.4 <sup>b</sup>	378.2 ± 71.6	1.01 ± 0.10
CTO 组	21	356.3 ± 36.0 <sup>b</sup>	670.5 ± 102.0 <sup>b</sup>	1.87 ± 0.12 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; c 为  $P < 0.01$ , 与非 ACS 冠心病组比较。

## 3 讨论

冠状动脉粥样硬化斑块破裂导致继发不完全或完全性闭塞性血栓形成是 ACS 发生的基础病变,动脉粥样硬化斑块的稳定与破裂将直接影响 ACS 转归和预后。因而,对动脉粥样硬化斑块性质的及时正确评估,明显影响冠心病的后续治疗原则。动脉粥样硬化斑块的稳定与否是血管长期重塑的结果,是 ECM 合成与降解的动态平衡改变的结果,受许多因素的影响主要包括细胞外基质积聚与降解、斑块纤维帽的厚薄、炎症因子等<sup>[1-3]</sup>。MMP-2 促进动脉 ECM 降解,引起动脉粥样硬化斑块纤维帽变薄,导致斑块不稳定和破裂,也即易损斑块的形成; TMP-2 为 MMP-2 特异性内源性抑制物,可以有效阻止 MMP-2 对 ECM 及动脉粥样硬化斑块纤维帽的降解过程,对斑块具有稳定和保护作用<sup>[7-8]</sup>。因此,动脉粥样硬化斑块的稳定与破裂的演化过程主要表现为 MMP 及 TMP 这一矛盾体的协同调节过程<sup>[7-9]</sup>。

多种细胞包括内皮细胞、成纤维细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞、中性粒细胞可以合成并分泌 MMP-2,在  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  参与下,降解包括 ③型胶原在内的 ECM,而 ④型胶原是动脉粥样硬化斑块基底膜和纤维帽的重要组成部分, MMP-2 对 ECM 降解加速了动脉粥样硬化斑块向易损斑块的进程<sup>[8-10]</sup>。而 TMP 多以共价键的方式结合成 1:1 的 TMP-MMP 复合物,特异性地抑制对应的 MMP<sup>[3]</sup>。TMP-2 为 MMP-2 的内源性特异性抑制因子,以结合或非结合

形式伴随 MMP-2 的分泌而分泌,能阻断激活的 MMP-2 水解酶活性,抑制 ECM 降解<sup>[11-12]</sup>。因而, MMP-2/TMP-2 的动态平衡对动脉粥样硬化斑块具有重要的调节作用。动脉粥样硬化斑块肩部的胶原成分很少,是最易发生破裂的斑块部位<sup>[13]</sup>。研究表明, MMP-2 在动脉粥样硬化斑块的肩部区域表达明显增强,而相应的 TMP-2 表达稍增<sup>[12-3]</sup>。这种 MMP-2、TMP-2 表达增加的非同步性导致斑块肩部区域胶原的大量降解,打破了动脉粥样硬化斑块 ECM 的合成与降解的平衡,形成易损斑块,诱发 ACS 的发生。在 AMI 患者中的研究也表明血浆 MMP-2 水平增高明显大于 TMP-2 水平的增高,使 MMP-2/TMP-2 比值显著增大<sup>[14]</sup>。

本研究中,ACS 和非 ACS 冠心病患者血 MMP-2 和 TMP-2 水平较正常冠状动脉患者均有显著性增高,且二者的水平在非 ACS 冠心病患者中较 ACS 冠心病者更高。而以前的报道指出 MMP-2 水平在 ACS 患者较非 ACS 患者明显升高,增高的血 MMP-2 水平可以作为 ACS 患者的有效诊断指标<sup>[15-16]</sup>。这与本研究中非 ACS 患者 MMP-2 水平高于 ACS 是明显相矛盾的。矛盾的结果促使我们通过进一步的亚组分析,结果发现 CTO 患者 MMP-2 水平增高最明显,将其合并入非 ACS 冠心病组是导致 ACS 患者的 MMP-2 水平较非 ACS 患者低的原因。排除 CTO 患者后,包括 UAP 组和 AMI 组 ACS 患者其血 MMP-2 水平较 SAP 组明显增高,与 Kai 等<sup>[15]</sup>及孟晓萍等<sup>[16]</sup>的研究报道相一致。分析 MMP-2/TMP-2 比

值可以清楚地显示 ACS 冠心病患者较非 ACS 冠心病患者显著性增高, 似乎不受 CTO 患者的影响, 提示 MMP-2/TMP-2 比值是一个较单一 MMP-2 更好的 ACS 诊断标志物。对于亚分组结果的仔细分析, 仍然可见 CTO 患者较其它亚组具有较高的 MMP-2/TMP-2 比值。因而, 对于 CTO 亚组患者来说, 无论是 MMP-2 还是 MMP-2/TMP-2 比值均可很好地提示 CTO 病变。已经知道, CTO 病变是以冠状动脉血管完全闭塞、闭塞病变由大量增生的纤维组织、粥样硬化斑块以及含有炎症细胞的机化血栓成分组成伴有丰富的新生血管桥的形成作为特征<sup>[4]</sup>。引起 CTO 患者 MMP-2 增高的机制可能是一个复杂的过程, 但可形成新生血管的活化内皮细胞、增殖的成纤维细胞、炎症细胞能够合成并分泌大量的 MMP-2<sup>[17]</sup>, 促进 ECM 降解, 以利于血管细胞的迁移形成新生血管, 则可能是其循环水平的明显升高的重要因素, 同时, 大量的 MMP-2 分泌反馈性地导致 TMP-2 的分泌增加, 在新的水平达到新的平衡。

本研究中, SAP、UAP、AMI 和 CTO 患者血浆 MMP-2 水平及 MMP-2/TMP-2 比值逐步递增, 而 TMP-2 水平表现的则基本相反。提示 MMP-2 和 TMP-2 水平及 MMP-2/TMP-2 比值与动脉粥样硬化斑块的不稳定性明显相一致。表明 MMP-2 水平随动脉粥样硬化斑块不稳定性增加而增加时, 血浆中其特异性内源性抑制剂 TMP-2 的水平并没能平衡地相应增加, 使血 MMP-2 水平明显升高而 TMP-2 水平降低, 引起 MMP-2、TMP-2 协同调节失衡, 导致动脉粥样硬化斑块水解增强, 促使易损斑块形成, 最终诱发 ACS 发生。MMP-2 水平、MMP-2/TMP-2 比值在 ACS 及 CTO 患者中明显高于 SAP 组和正常对照组, 可以作为 ACS 以及 CTO 患者诊断的有效血清生物学标志物。研究也表明, MMP-2 水平及 MMP-2/TMP-2 比值与 ACS 的发生关系密切, 在 ACS 的发生发展中起着重要作用, 在结合临床其他资料以排除 CTO 后, 可将其增高作为 ACS 的一个危险信号, 从而为我们对 ACS 进行早期预防和治疗提供一些新的思路。

#### [参考文献]

- [1] Newby AC. Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture [J]. *Physiol Rev* 2005 **85** (1): 1-31.
- [2] Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly [J]. *Circ Res* 2002 **90**: 251-262.
- [3] Brew K, Dinakarpandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function [J]. *Biochim Biophys Acta* 2000 **1477**: 267-283.
- [4] Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, et al. ACC/AHA guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST segment elevation myocardial infarction [J]. *Circulation* 2002 **106**: 1893-900.
- [5] Van de Werf F, Ardissino D, Betriu A, et al. The task force on the management of acute myocardial infarction of european society of cardiology. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation [J]. *Europ Heart J* 2003 **24**: 28-66.
- [6] Ith SC Jr, Fekkan TE, Hirschfeld JW Jr, et al. ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention [J]. *Circulation* 2006 **113**: 156-175.
- [7] 张玉平, 李建军, 刘颖, 等. 氯沙坦对球囊成形术后兔血管内膜增生和基质金属蛋白酶 2 及其抑制剂表达的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2003 **11** (1): 63-67.
- [8] Bode W, Maskos K. Structural basis of the matrix metalloproteinases and their physiological inhibitors: the tissue inhibitors of metalloproteinases [J]. *Biol Chem* 2003 **384** (6): 863-872.
- [9] Aoki T, Kataoka H, Moriaki T, et al. Role of TMP-1 and TMP-2 in the progression of cerebral aneurysms [J]. *Stroke* 2007 **38**: 2337-345.
- [10] Van Hinsbergh VWM, Engelse MA, Quax HJA, et al. Pericellular proteases in angiogenesis and vasculogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006 **26**: 716-728.
- [11] Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry [J]. *Circ Res* 2003 **92** (8): 827-839.
- [12] Seo DW, Li H, Guedez L, et al. TMP-2 mediated inhibition of angiogenesis: an MMP-2 independent mechanism [J]. *Cell* 2003 **114** (2): 171-180.
- [13] Davies M, Richardson P, Woolf N, et al. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular matrix, macrophage and smooth muscle cell content [J]. *Br Heart J* 1993 **69** (5): 377-381.
- [14] Hojo Y, Ikeda U, Ueno S, et al. Expression of matrix metalloproteinases in patients with acute myocardial infarction [J]. *JP Circ* 2001 **65** (2): 71-75.
- [15] Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes [J]. *J Am Coll Cardiol* 1998 **32** (2): 368-372.
- [16] 孟晓萍, 王超, 孙健, 等. 急性冠状动脉综合征患者血清基质金属蛋白酶 2 水平的检测 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006 **15** (4): 339-342.
- [17] Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases in angiogenesis: a moving target for therapeutic intervention [J]. *J Clin Invest* 1999 **103**: 1237-241.

(此文编辑 文玉珊)