

动脉粥样硬化易损斑块的动物模型和检测技术

陈文强, 张 运

(山东大学齐鲁医院, 山东省济南市 250012)

[专家简介] 通讯作者张运, 中国工程院院士、美国心脏病学院 Fellow (FACC)、美国超声心动图学会荣誉 Fellow (FASE)、欧洲心脏病学会 Fellow (FESC)、山东大学终身教授、香港中文大学荣誉教授。现任教育部和卫生部心血管重构与功能研究重点实验室主任、山东省心血管病临床医学中心主任、山东大学齐鲁医院心内科主任, 兼任亚太超声心动图学会副主席、国务院学位委员会学科评议组召集人、国家科技进步奖内科学评审组副组长、教育部科学技术委员会和生物与医学学部委员、中华医学会超声医学分会主任委员、中国医师协会心血管病医师分会副会长等学术团体职务、担任 *Nature Review Cardiology*、*JACC*、*JACC Cardiovascular Imaging*、*Heart* 等 6 种 SCI 收录杂志的国际编委、《中华超声影像学杂志》总编辑、《中华心血管病杂志》副总编辑等国内 20 多个杂志的总编辑、副总编辑、常务编委或编委。主要研究方向是动脉粥样硬化, 承担国家“863”重大项目课题、国家“973”项目课题、国家“十一五”、“十二五”科技支撑计划、国家自然科学基金创新研究群体科学基金、国家自然科学基金重点项目等 30 余项国家和省部级科研课题, 迄今发表 SCI 收录论文 290 余篇, 部分论文发表在 *N Engl J Med* (IF 54.42)、*Lancet* (IF 36.427)、*JAMA* (IF 30.387)、*Nat Med* (IF 26.441)、*Pharmacol Rev* (IF 22.114)、*Cell Metab* (IF 17.551)、*JACC* (IF 13.71)、*Eur Heart J* (IF 11.991)、*PNAS* (IF 10.583)、*Diabetes* (IF 8.661)、*Autophagy* (IF 8.503)、*ATVB* (IF 6.986) 等国际高水平的杂志。主编专著 13 部, 参编专著 33 部。发表论著被国内外文献引用 5000 余次。获国家级科技进步二等奖 1 项、三等奖 3 项, 何梁何利基金科学与技术进步奖 1 项、山东省科学技术最高奖 1 项、省部级科技进步一等奖 6 项, 山东省十大成果奖 1 项, 省部级科技进步二等奖 25 项、三等奖 14 项。他多次代表中国赴美国、日本、加拿大等国家主持国际会议并发表讲座, 多次应邀赴香港中文大学讲学, 在国际学术界具有重要影响。获得美国心脏病学院“国际交流奖”、亚太心脏协会“学术领袖奖”、国家级有突出贡献的中青年专家、国家“百千万人才工程”首批第一、二层次入选者、全国有突出贡献的回国留学人员、全国卫生系统先进工作者、首届中国医师奖、全国首届中青年医学科技之星等荣誉奖励 20 余项, E-mail 为 yunzhang@163.com。



[关键词] 动脉粥样硬化; 易损斑块; 动物模型; 影像学; 炎症

[摘要] 动脉粥样硬化易损斑块破裂、血栓形成是急性冠状动脉综合征的发病机制已成为共识。由于缺乏理想的易损斑块的动物模型, 对斑块破裂前的血清学及影像学特征研究较少, 尚缺乏能够早期识别易损斑块及预防斑块破裂的最佳方法。本实验室已成功构建家兔和 ApoE^{-/-}小鼠的易损斑块模型。易损斑块的检测技术主要包括非侵入性及侵入性的影像学检测及功能学检测技术。对易损斑块的早期准确识别以便及时干预具有十分重要的临床意义。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Animal Models and Detection Technologies of Vulnerable Atherosclerotic Plaques

CHEN Wen-Qiang, and ZHANG Yun

(Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Vulnerable Plaque; Animal Model; Imaging; Inflammation

[收稿日期] 2016-03-20

[修回日期] 2016-04-30

[作者简介] 陈文强, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 中华医学会冠心病与动脉粥样硬化学组委员, 山东省医师协会胸痛专业委员会副主任委员, 山东省医学会心脏介入病学分会委员, 山东省医学会心血管病学分会秘书长, 山东省医师协会心血管介入分会委员。美国肯塔基大学访问学者。主持国家自然科学基金 2 项, 山东省自然科学基金 1 项, 山东省卫生厅课题一项。作为第一作者或通讯作者发表论文 30 余篇, 其中 SCI 14 篇。获得国家科技进步二等奖 1 项。主要从事冠心病介入治疗, E-mail 为 chenwenqiang33@sina.com。

[**ABSTRACT**] Vulnerable atherosclerotic plaque rupture leading to thrombosis is the major cause of acute coronary syndromes. While early detection or prevention the vulnerable plaque would be the only way to reduce the risk of this catastrophic life-threatening event, there is frustratingly little progress in either. Lack of suitable animal models has considerably hampered the research progress in understanding the mechanisms occurring in the development of plaque rupture. This review summarizes the currently available vulnerable plaque animal models and invasive and noninvasive imaging modalities used to detect vulnerable plaques, including high frequency duplex ultrasound, coronary tomographic angiography (CTA), magnetic resonance imaging (MRI), intravascular ultrasound (IVUS), optical coherence tomography (OCT), intravascular ultrasound elastography, and inflammatory markers.

进入 21 世纪以来,我国心脑血管疾病的死亡率已超过肿瘤,成为严重危害人民健康的第一位杀手。动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是导致急性心脑血管事件的病理学基础,探讨防治动脉粥样硬化的有效方法是大幅度降低心脑血管疾病发病率和死亡率的根本途径。研究发现,导致急性心血管事件的主要原因是局部 As 斑块破裂和血栓形成,后者取决于 As 斑块的易损性(vulnerability),稳定性斑块可不产生任何症状或仅有劳力性心绞痛,而易损斑块(vulnerable plaque)可出现斑块破裂和血栓形成,从而导致猝死、急性心肌梗死和不稳定型心绞痛^[1-2]。显然,对于预防急性心血管事件稳定斑块比消退斑块更为重要。因此,在易损斑块性破裂前进行早期识别并进行及时有效的干预是预防急性心血管事件的重要方法,已成为近年国际心脏病学界的研究热点。

然而,目前在 As 易损斑块的研究领域中仍存在着许多重大问题:(1)尚未成功构建理想的与人类易损斑块相似的动物模型,以往构建的多为 As 稳定斑块的动物模型,对研究易损斑块和斑块破裂的形态学、生物化学指标和分子生物学机制十分困难,因此成功建立易损斑块的动物模型,为易损斑块提供适宜的研究对象,具有十分重要的意义;(2)急性冠状动脉综合征(ACS)中的斑块破裂和血栓形成主要来自回顾性的观察,斑块稳定性与斑块破裂及血栓形成的关系无前瞻性的研究证实。鉴于临床上对易损斑块认识的日益深入,如何在急性心血管事件发生前早期和准确地识别出易损斑块极易损患者并进行积极有效的干预已成为迫切的问题。

1 易损斑块动物模型的建立

为了进一步明确易损斑块的分子机制,需要建立与人类相似的理想的动物模型。理想的易损斑块动物模型应基本具备以下特征:①所选动物适于 As 的研究;②As 的发展进程在组织学上与人的病

变发展一致;③衡量斑块易损的标准与人类病变一致,如帽/核比值,细胞成分,胶原含量等;④斑块易发生破裂,并且破裂处形成富含血小板和纤维蛋白的血栓;⑤动物模型对治疗试验具有反应性,并且同样的治疗也可用于人体试验。构建具备上述特征动物模型成为 As 一个新的研究领域。

多年来国外学者已开始探索易损斑块动物模型的方法学。1961 年 Constantinides 等^[3]在高脂喂养的家兔中,给予鲁塞尔蝥蛇毒(RVV)和组胺后,发现有斑块破裂及血栓形成的现象,但发生率很低。1995 年 Abela 等^[4]应用改进的 Constantinides 动物模型研究斑块破裂,他们利用球囊损伤腹主动脉内皮后给予高胆固醇饲料喂养的方法在新西兰家兔中建立稳定粥样斑块模型,然后给予鲁塞尔蝥蛇毒、组胺药物触发,成功地建立了药物诱发斑块破裂和血栓形成的动物模型。1998 年 Rekhter 等^[5]给予雄性新西兰白兔高胆固醇饲料喂养 1 周后,应用球囊机械损伤胸主动脉内膜,然后置入覆有静脉基质的球囊,术后继续高脂喂养 1 月后球囊周围斑块形成,给球囊内注射蒸馏水,人为造成斑块破裂,以充盈球囊的压力代表诱发斑块破裂的机械牵张力,建立了压力诱发斑块破裂的动物模型。以上试验主要是人为手段诱使斑块破裂的急性模型,与 ACS 发生前的急性应激事件较为相似。然而,这些方法触发斑块破裂的几率较低,对于研究细胞凋亡、脂质的沉积及细胞外基质的丢失等具有一定的局限性。载脂蛋白 E 以及 LDL 基因敲除小鼠的出现为构建与人类相似的易损斑块动物模型带来了希望。2000 年 Johnson 等^[6]在载脂蛋白 E 基因缺陷(ApoE^{-/-})小鼠中通过长期高脂喂养建立了 As 斑块慢性破裂的动物模型,但这一方法存在喂养时间过长(1 年以上)、动物死亡率高、斑块破裂发生率低、不利于观察干预效果等缺点。2002 年, von der Thsen 等在 ApoE^{-/-}小鼠的斑块部位注入携带野生型 p53 基因的重组型腺病毒载体(Ad5-CMV.p53)的悬液,发现斑块中胶原含量明显减少,纤维帽的 VSMC

显著减少,与人类的易损斑块极为相似。虽然自发性斑块破裂率较低,但注射苯肾上腺素后斑块破裂率明显增加^[7]。此模型大大缩短了试验周期,并可在预定的动脉节段中形成与人类相似的破裂斑块,是值得借鉴的动物模型。但这一方法的缺点是动物死亡率高、模型复制较为困难,并且由于小鼠动脉细小无法进行在体斑块物理学和生物化学指标的测定,难以动态观察干预治疗的效果。

本实验室成功构建了斑块易损、出血和破裂的兔、小鼠、仓鼠、大鼠动物模型,成为国际上易损斑块动物模型最完善和最系统的实验室之一,为易损斑块的机制和干预研究提供了适宜对象^[8]。

1.1 新西兰兔易损斑块模型

陈文强等在雄性新西兰兔中采用球囊损伤腹主动脉内皮+高脂喂养+斑块内注入 p53 基因+药物触发的方法,建立了斑块易损和破裂的兔模型。该研究首次建立的血管内超声引导下由血管外膜向斑块内注射基因的新方法,大大提高了基因转染效率,避免了副作用。结果显示,基因局部转染组的斑块破裂率高达 80%,这是国际文献中斑块破裂率最高的报道,这对于研究斑块破裂的预防和治疗措施提供了理想的研究对象^[9-10]。晚近,张蕾等^[11]采用血管球囊损伤+高胆固醇喂养+P53 基因斑块外膜注射的方法,构建了斑块破裂的家兔模型,表明 p53 基因过表达导致斑块不稳定的主要机制是细胞凋亡加重的炎症反应而非人们设想的细胞凋亡本身。同时,改进的模型创伤小,转染病毒量易于控制,转染效率及靶向性较高。

1.2 新西兰兔斑块内出血模型

在雄性新西兰兔中采用球囊损伤腹主动脉内皮+高脂喂养+斑块内注入自体红细胞的方法,建立了斑块内出血的兔模型,发现红细胞可剂量依赖性地诱导斑块不稳定,证明斑块内出血导致斑块不稳定的主要机制不仅仅是红细胞膜脂质在斑块内的沉积,更重要的是红细胞破裂所导致的氧化应激和炎症反应的增强^[12]。

1.3 ApoE^{-/-}小鼠斑块易损和破裂模型

在雄性 Apo E 小鼠采用高脂饮食+颈动脉套管+精神应激的方法,成功地建立了斑块自发破裂的小鼠模型,这种应激小鼠血液 NE、纤维蛋白原升高和 hs-CRP 浓度显著升高,斑块内炎症细胞和炎性细胞因子表达明显增多。与人类在应激状态下斑块自发破裂的情况十分相似^[13]。

上述有关易损斑块动物模型的研究,在国内外学术界产生了重要影响。美国生理学杂志发表述

评指出“这些模型提出了未来可能预测冠心病事件高危患者的令人兴奋的新方法。应用本文动物模型,通过检测血液和动脉壁的变化,可能发现易损斑块的生物标记物,为今后的临床研究奠定了基础”^[14]。Hopkins 教授^[15]在评价上述动物模型时指出:“这些模型中血管湍流所导致的内皮细胞激活可能加速动脉粥样硬化形成和血栓形成的易感性”“近期发表的与人类疾病相关的动物模型的综述提到这些模型的限制性,但也强调了这些模型对于理解常见信号通路的普遍意义”。

2 易损斑块的检测技术

斑块破裂和血栓形成主要来自回顾性的观察,如何在急性心血管事件发生前早期和准确地识别出易损斑块及易损患者并进行积极有效的干预已成为迫切的问题。由于 As 斑块从稳定变为易损的过程涉及到炎症免疫、增殖凋亡、损伤应激、生物力学等多个环节,单纯显示动脉管腔或斑块形态的诊断技术已不能满足临床的需要。为了准确判断斑块的易损性,早期识别出易损患者,需要建立包括基因学、分子标记以及影像学的早期综合预警指标。

2.1 As 易损斑块的早期基因预警

将人类基因组研究成果及相关技术应用于 As 研究,从分子水平寻找 As 的易感基因,成为目前早期预警 As 易损斑块最重要的问题。

国内外学者进行 As 斑块易损的治病基因的相关研究。2003 年 Wang 等^[16]采用全基因组扫描方法,在一个有 13 名心肌梗死的家系发现 MEF2A 基因是心肌梗死潜在的致病基因。目前用家系连锁分析方法已经定位了近 30 个基因位点。Ozaki 等^[17]应用高通量的多重 PCR-INVADER 检测方法,采用 13738 个基因的 92788 个 SNPs 标记,发现淋巴瘤毒素- α 的基因变异是心肌梗死的易感基因。2005 年,美国 CELERA 研究小组采用分层分析方法从 6891 个基因的 11 053 个 SNPs 中筛选出 4 个心肌梗死易感基因。2009 年加拿大 Sonia S. Anand 领衔的研究小组,应用基因连锁分析在 328 名南亚人、302 名中国人和 268 名高加索人群中分析了 5000 多 SNP,发现组蛋白去乙酰化酶 4 (HDAC4) SNP rs3791398 以及钠利尿肽 A (NPR1) SNP rs10082235 与亚临床动脉粥样硬化密切相关。德国学者 Patrick Linsel-Nitschke^[18]新近发表文章表明,在发生了 4 287 次临床事件和 7 572 次对比事件的 6605 名人群中,应用基因功能连锁分析发现 1p13.3

SNP rs599839 与低 LDL-C 和低冠心病密切相关。2009 年,西班牙学者 Joan Montaner^[19]在 Atherosclerosis 撰文,通过在 531 名白人缺血性脑卒中和 268 名正常对照人群中分析发现 KCNK17 rs10947803 SNP ($P = 0.012$) 和 IMPA2 SNP rs7506045 ($P = 0.040$) 和缺血性脑卒中密切相关,而前者是缺血性脑卒中的独立危险因素。2009 年 Elliott 在 JAMA 发表的文章很快引起了大家的关注,研究发现 LEPR SNP rs6700896, IL6R SNP rs4537545, 和 APOE-CII SNP rs4420638 都是动脉粥样硬化的高危因素,这项研究样本量大($n = 17\ 967$)而且又有另外的大样本($n = 13\ 615$)验证^[20]。2009 年以来已经有报道 ADAM8、MCP-1、IL18R1、CD14、IL18RAP 以及 CRP 等多个基因不同的 SNP 位点是动脉粥样硬化的易感基因。

在国内我们较早的开展了动脉粥样硬化易感基因的研究。2005 年,我们通过分析 93 名小样本人群发现,MMP-1 在-1607 bp 处鸟嘌呤(G)插入/缺失的不同与冠心病发病密切相关,而且与动脉粥样硬化的严重程度相关。2009 年,我们在 3 号染色体上采用间隔为厘摩遗传距离的 23 个微卫星遗传标记,分别对 156 例冠心病患者和 450 名正常对照者的 DNA 混合池样本进行基因组扫描,发现山东地区冠心病患者群体中存在与 3 号染色体 q13.31 和 p14.2 区域的关联,提示动脉粥样硬化的致病基因或调控因子可能位于其附近。我们最新的研究显示 BDNF 基因变异对于不稳定性心绞痛的发病有重要作用。随着国际上 SNP 研究的进展,近年来在中国人群中陆续有报道提示 ITGA2、CD36、VCAM1、ABCA1、PPAR γ 以及脂连素等基因的 SNP 表型差异与动脉粥样硬化发病高度相关。但这些研究都有一个明显的问题就是目前的报道都是在小样本基础上的研究结果,对于中国这个庞大的样本已经得出的结论是否正确尚有待商榷。

上述研究虽然发现了一些动脉粥样硬化的易感基因,但是目前绝大多数研究人群都是欧美人群,其研究成果是否可以推及中国人群还是一个未知数。有研究证实不同人群其基因表型存在比较大的差异,同时,目前已有的动脉粥样硬化易感基因研究结果大都是小样本人群的结果,其结论是否可以推广到中国这个超大样本人群中也是一个亟待解决的问题。因此,在中国人群中有必要开展动脉粥样硬化易感基因的研究。

2.2 As 易损斑块的功能学检测——生化标志物

随着血清中越来越多的炎性因子的发现,通过

检测血清中敏感炎性标志物预测斑块的易损性成为可能。

2.2.1 高敏 C 反应蛋白(hs-CRP) hs-CRP 是全身炎症反应的敏感标志物,是肝脏在 IL-1、IL-6 的刺激下产生的,它不仅是一种炎性标志物,而且直接参与了 As 的形成和发展。hs-CRP 是目前发现的最重要的 ACS 的炎性标记物。研究发现当 ACS 患者血清中的 hs-CRP >3.0 mg/L 时提示预后不良^[21-23]。陈文强等发现不稳定性心绞痛患者血清 hs-CRP 水平明显高于稳定性心绞痛患者^[24-25]。基础研究中发现在 As 易损斑块家兔模型的破裂组中 hs-CRP 水平明显高于斑块未破裂组^[10]。

2.2.2 脂蛋白相关的磷脂酶 A2 脂蛋白相关的磷脂酶 A2 与炎症反应关系密切,是 ACS 重要的血清敏感预测因子,已越来越引起人们的重视。研究发现磷脂酶 A2 是冠心病的较强的危险因素,并且不受年龄、血压、血脂水平的影响。Wilensky 等发现抑制脂蛋白相关的磷脂酶 A2,可以减轻复合性冠状动脉斑块的进展。

2.2.3 核转录因子 NF- κ B NF- κ B 可作为斑块破裂的标志物,通过调节多种炎症因子基因的转录而在斑块的破裂中发挥重要作用。研究表明,在不稳定型心绞痛中 NF- κ B 的活性明显高于稳定型心绞痛。

2.2.4 纤维蛋白原 纤维蛋白原在 ACS 急性期直接参与了血栓形成,其预后价值已在不稳定型心绞痛和非 Q 波心肌梗死患者中得到证实,血中纤维蛋白原水平升高预示自发性缺血、心肌梗死和死亡的危险增加。

2.2.5 其他 妊娠相关蛋白 A、可溶性黏附分子(sICAM-1、sP-选择素、sE-选择素、sVCAM-1)、趋化因子(MCP-1、RANTES、Fractalkine)等在预测 ACS 的发生和预后方面具有十分重要的作用。最近发现通过检测影响脂质代谢的蛋白酶基因突变产物可以预测冠心病的危险性。王颖等利用特殊的冠状动脉血栓抽吸导管,建立了在冠状动脉斑块上游和下游抽血,测量系列炎症和凝血因子浓度梯度的方法学,发现不稳定性心绞痛患者的髓过氧化物酶(MPO)、sCD40L 和组织因子(TF)冠脉浓度梯度显著升高,这些浓度梯度与周围血 hs-CRP 水平显著相关,提示当冠脉血流流经不稳定斑块后,血中的炎症和凝血因子浓度明显升高,从而为不稳定斑块的临床检测和治疗决策提供了一个简便可行的新方法^[26]。目前对于血清中高滴度的斑块源性标记物以反应不稳定斑块的全身负荷水平如白细胞介

素 6(IL-6)和基质金属蛋白酶 9(MMP-9)均有报道,但其临床价值仍有争议。由于 As 是多因素疾病,多个标记物的联合检测理论上更具有预测价值。

2.3 As 易损斑块的影像学检测

影像学技术在 As 预警中的作用主要是根据已有的器质性病变预测临床事件发生的可能性^[27-28]。

2.3.1 非侵入性技术 (1)颈动脉超声:颈动脉超声检出颈动脉斑块与冠状动脉造影检出的狭窄病变具有较好的相关性,颈动脉斑块的易损性可预示冠状动脉斑块的易损性^[29]。陈文强等在不稳定心绞痛患者中的研究发现,颈动脉内膜-中层厚度、血清 hs-CRP 和冠状动脉重构指数是预测冠状动脉斑块破裂的独立指标,表明斑块重构和炎症指标是导致人体斑块破裂的主要危险因素^[24]。这些指标为预测人类斑块破裂和血栓形成提供了有价值的生物和影像学标记物。丁士芳等^[30]首次提出了颈动脉斑块形态与缺血性脑卒中的关系:在病例对照研究中,发现颈动脉斑块的不规则形态和回声强度以及血清炎症因子水平与缺血性脑卒中密切相关,该研究被作为唯一的循证医学证据写入欧洲血管外科学会的颈动脉狭窄介入治疗指南,该指南基于本研究提出了如下的治疗意见:“在介入治疗之前,所有患者均应进行颈动脉斑块形态学的评价,并采用可靠的影像学技术或生物标记物检出介入治疗前后具有栓塞危险的斑块。倪梅等^[13]在 ApoE^{-/-}小鼠的易损斑块模型中前瞻性的研究发现,颈动脉斑块的内膜-中层厚度和最大血流速度是预测斑块破裂的独立指标,表明在这一模型中,应激是斑块破裂的主要危险因素。张鹏飞等^[31]首次发现斑块体积应变预测易损斑块的价值:目前的超声影像学技术只能观察斑块的大小和密度,对于易损斑块的检测价值有限。通过颈动脉斑块的三维超声影像学的研究,发现斑块在心动周期中的体积压缩比可独立预测缺血性脑卒中,预测价值大于传统的临床危险因素和斑块影像学的其他指标,这一研究为研究颈动脉斑块的弹性力学和检出缺血性脑卒中高危患者提供了无创性的新方法。

(2)冠状动脉 CTA:电子束计算机断层显像(EBCT)和螺旋 CT 对冠状动脉内钙化的容积的定量最为准确。最近推出的非 EBCT 系统,如心电图门控的多排探测器(multi-detector)CT 技术对于评价冠状动脉狭窄和重构具有高达 90%的敏感性和特异性,对斑块钙化容积的定量与 EBCT 也有很好的相关性。研究表明 CTA 上低密度斑块和管腔的正性重构两个因素与 ACS 发生的相关性最大,CTA

测定的斑块负荷是心肌缺血的最强预测指标。CTA 对 ACS 患者的不稳定病变的阳性值、阴性预测值及准确性分别为 95%, 60%, 及 70%。多数研究也表明 CTA 对斑块无创性检测有助于冠心病的危险分层,并对监测冠状动脉斑块的进展或回缩有很大潜力。CTA 还可以准确地评价冠状动脉分叉角度及几何形态,有研究表明左冠状动脉的分叉角度可以影响到管壁剪切应力,并随之影响到斑块的发生和发展^[32-41]。

(3)磁共振显像(MRI):随着 1.5T MRI 技术分辨率的提高,已可根据 T1、T2 及 PD 加权显像中各种信号强弱的组合来识别斑块纤维帽、脂核和钙化成分并进行定量分析。根据不同序列图像中信号强弱的不同可以区分纤维帽的厚度和完整性^[42]。Yuan 等证实三维 ToF 和 T1 加权图像联合分析可以区分出脂质核心的坏死和斑块内出血,敏感性和特异性均在 90%以上^[43]。9T 以上高分辨率磁共振的出现更加提高了对纤维帽厚度的识别精度。利用血栓中的高铁血红素作为天然对比剂,实现了 T1 加权的 MRI 直接血栓显像,并可以区分出新形成的血栓、陈旧性血栓等不同阶段的血栓。被巨噬细胞摄取的超顺磁性氧化铁纳米微粒(SPIO)在磁共振显像技术中可作为一种靶标对比剂用于斑块炎症活动的检测^[44-46]。

2.3.2 侵入性技术 (1)血管内超声(IVUS)技术弥补了传统的冠状动脉造影(CAG)只能反映血管内径的不足,可准确显示斑块的大小和质地,根据回声信号强弱的不同可以区分脂质型、纤维型和钙化型斑块,对钙质成分的识别尤为准确,根据内膜回声的连续性可以显示斑块表面的破裂和溃疡^[47-49]。根据 IVUS 结果将 114 例心绞痛患者分为斑块破裂组与未破裂组,对破裂的斑块进行定量分析,认为脂质核 $>1\text{ mm}^2$,脂质核/斑块 $>20\%$,且纤维帽厚度 $<0.7\text{ mm}$ 者易于破裂。Schoenhagen 等^[50]研究发现,不稳定型心绞痛的冠脉主要为正性重构,而稳定型心绞痛主要为负性重构,正性重构虽可使冠脉血流增加,心肌缺血症状减轻,但斑块的不稳定性增加,易于破裂。负性重构虽然使心肌缺血症状加重,但斑块的稳定性增加。陈文强等^[10,24,51]在易损斑块的动物模型和临床患者中,综合应用影像学 and 血清学技术,筛选可预测斑块破裂的新方法和新指标。在兔的易损斑块模型中前瞻性的研究发现,IVUS 测得的斑块偏心指数及斑块面积与血清高敏 CRP 和斑块声学密度是预测斑块破裂的独立指标,表明斑块重构和炎症指标是斑块破裂的主要危

险因素。陈文强等利用 IVUS 分别对稳定和不稳定型心绞痛血管狭窄部位进行检查,发现易损斑块具有以下特征:①偏心分布的脂质斑块;②具有较大的斑块面积;③具有较大的脂质核和较薄的纤维帽;④斑块分布处的血管呈现出明显的正性重构。Logistic 回归分析的结果显示,冠状动脉斑块易损性的危险因素主要为 IVUS 测值 PA、颈动脉超声测值 IMT、IVUS 测值 RI 以及血清学指标 hs-CRP 等,这说明冠状动脉内斑块的大小与斑块的易损性密切相关,是导致斑块破裂的重要因素之一。

(2) 血管内超声弹性图 (elastogram): 在 IVUS 基础上发展起来的血管内超声弹性图可用于斑块力学特性的评价。在弹性图中,易损斑块的表面为高应变区,与其相邻的两侧均为低应变区,应用此种方法检测易损斑块的敏感性和特异性分别为 88% 和 89%。此外,纤维帽的应变值与巨噬细胞的含量呈高度正相关,与平滑肌细胞的含量呈负相关。de Korte 等利用 IVUS 图像研制出血管内超声弹性图,可区分钙化、纤维化及脂质等不同组织,从而可判断斑块的性质^[52]。张鹏飞等^[31]在血管内超声和颈动脉超声图像的基础上,建立了可准确反映人体血管组织弹性的理论模型,完善了血管内超声弹性算法,建立了实时二维 IVUS 弹性图,实现了真实血管走行轨迹的三维血管超声重建,构建了动态虚拟内窥镜弹性图,建立了集管壁弹性信息、虚拟内窥镜与虚拟组织显像于一体的综合显像技术,可对多种弹性显像技术检测易损斑块的价值进行对比。

(3) 激光相干断层显像 (OCT): OCT 的分辨率是 IVUS 的 10 倍,可达到 10 μm ,接近于组织病理学,因此,已越来越多地应用于易损斑块研究中,对于发现 TCFA 具有非常高的检测价值。OCT 对于分辨厚度 < 65 μm 的纤维帽的敏感性与特异性均为 100%。OCT 对于检测脂质核心、钙化和巨噬细胞浸润与病理结果高度相关,敏感性与特异性均在 90% 以上,对斑块内巨噬细胞的含量尚可进行定量分析,同时可以分辨出斑块内的微血管及胆固醇结晶等成分、能够发现斑块破裂及血栓形成^[53-54]。研究者等对稳定性心绞痛、不稳定性心绞痛和 ST 段抬高的心肌梗死患者进行 OCT 成像研究,结果显示不稳定性心绞痛患者的巨噬细胞密度、纤维斑块和富含脂质斑块明显增加,罪犯病变部位巨噬细胞密度大于非罪犯病变,破裂斑块部位的巨噬细胞密度大于非破裂斑块^[55]。研究报道应用 OCT 对 20 例急性心肌梗死、20 例 ACS 和 17 例稳定性心绞痛患者

的冠脉粥样斑块特征进行分析,结果显示急性心肌梗死和 ACS 患者与稳定性心绞痛相比,其斑块的脂质含量较高而纤维帽明显变薄^[56]。Tian 等联合利用 OCT 和 IVUS 对 ACS 的易损斑块进行研究,结果发现,与单纯的 TCFA 相比较,罪犯血管部位破裂斑块的纤维帽更薄,斑块负荷更大而管腔面积更小。当斑块纤维帽 < 52 μm 时在诊断斑块破裂上具有较高的相关性(曲线下面积 $\text{AUC} = 0.857$, $P < 0.001$)^[57-58]。

(4) 冠状动脉内血管镜:可观察到冠脉内富含脂质的黄色斑块、斑块糜烂和溃疡、内膜撕裂、白色的血小板血栓和红色的纤维蛋白血栓,是目前最为准确的观察血栓的手段。随着纤维帽的变薄,富含脂质斑块逐渐变为发亮的黄色,这一现象对于斑块破裂倾向的监测具有很高的敏感性。Lehmann 等^[59]利用三刺激比色法 (tristimulus colorimetry) 提高了冠状动脉血管镜检测血小板聚集和血栓的准确性以及检查的可重复性。但应用这一技术无法对细小血管进行检查,也无法显示血管壁的信息,对冠脉血流的暂时阻断可能引起严重的不良后果,这些问题尚需解决。

(5) 温度导丝、pH 值和乳酸生成量检测^[60-61]: 局部炎性活动的强弱是判断斑块易损性的重要指标,研究表明斑块温度可预测斑块破裂与血栓形成。虽然不同研究中所采用的温度测量导丝和硬件系统不尽相同,但结论基本一致:热斑块 (hot plaque) 的温度平均升高 0.1 $^{\circ}\text{C}$ ~ 0.3 $^{\circ}\text{C}$ 左右,斑块温度的升高与炎性细胞的密度成正比而与细胞簇与血管内膜的距离及平滑肌细胞的密度成反比。研究者发现温度图测量的斑块温度与炎性标记物之间呈高度相关性。根据斑块与正常血管壁之间温度的差异可以预测近期可能破裂的斑块,这非常有利于斑块易损性的检测。Naghavi 等应用冠脉内温度导丝测定斑块温度变化,发现与稳定性心绞痛患者相比,在急性心肌梗死和不稳定性心绞痛患者中斑块温度明显升高。此外,斑块 pH 值和乳酸生成量检测法、拉曼光谱学检查等方法可较好地反映斑块大小、组成成分、质地等,对于检测斑块的易损性同样具有美好的发展前景。

[参考文献]

- [1] Burke AP, Farb A, Malcom GT, et al. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly [J]. *N Engl J Med*, 1997, 336(18): 1 276-282.
- [2] Davies MJ. The pathophysiology of acute coronary syndromes [J]. *Heart*, 2000, 83(3): 361-366.
- [3] Constantinides P, Chakravarti RN. Rabbit arterial thrombosis pro-

- duction by systemic procedures [J]. Arch Pathol, 1961, 72: 197-208.
- [4] Abela GS, Picon PD, Friedl SE, et al. Triggering of plaque disruption and arterial thrombosis in an atherosclerotic rabbit model [J]. Circulation, 1995, 91(3): 776-784.
- [5] Rekhater MD, Hicks GW, Brammer DW, et al. Animal model that mimics atherosclerotic plaque rupture [J]. Circ Res, 1998, 83(7): 705-713.
- [6] Johnson JL, Jackson CL. Atherosclerotic plaque rupture in the apolipoprotein E knockout mouse [J]. Atherosclerosis, 2001, 154(2): 399-406.
- [7] von der Th sen JH, van Vlijmen BJM, Hoebe RC, et al. Induction of atherosclerotic plaque rupture in apolipoprotein E^{-/-} mice after adenovirus-mediated transfer of p53 [J]. Circulation, 2002, 105(17): 2064-070.
- [8] Ni M, Chen WQ, Zhang Y. Animal models and potential mechanisms of plaque destabilization and disruption [J]. Heart, 2009, 95(17): 1393-398.
- [9] Chen WQ, Zhang Y, Zhang M, et al. Establishing an animal model of unstable atherosclerotic plaques [J]. Chin Med J (Engl), 2004, 117(9): 1293-298.
- [10] Chen WQ, Zhang L, Liu YF, et al. Prediction of atherosclerotic plaque ruptures with high-frequency ultrasound imaging and serum inflammatory markers [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 293(5): 2836-844.
- [11] Zhang L, Liu Y, Lu X, et al. Intraplaque injection of Ad5-CMV-p53 aggravates local inflammation and leads to plaque instability in rabbits [J]. J Cell Mol Med, 2009, 13(8B): 2713-723.
- [12] Lin HL, Xu XS, Lu HX, et al. Pathological mechanisms and dose dependency of erythrocyte-induced vulnerability of atherosclerotic plaques [J]. J Mol Cell Cardiol, 2007, 43(3): 272-280.
- [13] Ni M, Zhang M, Ding SF, et al. Micro-ultrasound imaging assessment of carotid plaque characteristics in apolipoprotein-E knockout mice [J]. Atherosclerosis, 2008, 197(1): 64-71.
- [14] Karalliedde LD, Kappagoda CT. The challenge of traditional Chinese medicines for allopathic practitioners [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 297(6): H1967-969.
- [15] Hopkins PN. Molecular biology of atherosclerosis [J]. Physiol Rev, 2012, 93(3): 1317-542.
- [16] Wang L, Fan C, Topol SE, et al. Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease [J]. Science, 2003, 302(2650): 1578-581.
- [17] Ozaki K, Tanaka T. Genome-wide SNP association study to identify genes related to myocardial infarction and their functional analyses [J]. Tanpakushitsu Kakusan Koso, 2004, 49(14): 2215-221.
- [18] Linsel-Nitschke P, Heeren J, Aherrahrou Z, et al. Genetic variation at chromosome 1p13.3 affects sortilin mRNA expression, cellular LDL-uptake and serum LDL levels which translates to the risk of coronary artery disease [J]. Atherosclerosis, 2010, 208(1): 183-189.
- [19] Domingues-Montanari S, Fernández-Cadenas I, Del Río-Espinola A, et al. KCNK17 genetic variants in ischemic stroke [J]. Atherosclerosis, 2010, 208(1): 203-209.
- [20] Elliott P, Chambers JC, Zhang W, et al. Genetic Loci associated with C-reactive protein levels and risk of coronary heart disease [J]. JAMA, 2009, 302(1): 37-48.
- [21] Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A in severe unstable angina [J]. N Engl J Med, 1994, 331(7): 417-424.
- [22] Rubin J, Chang H-J, Nasir K, et al. Association between high-sensitivity C-reactive protein and coronary plaque subtypes assessed by 64-slice coronary computed tomography angiography in an asymptomatic population [J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2011, 4(3): 201-209.
- [23] Sabatine MS, Morrow DA, Jablonski KA, et al. Prognostic significance of the Centers for Disease Control/ American Heart Association high-sensitivity C-reactive protein cut points for cardiovascular and other outcomes in patients with stable coronary artery disease [J]. Circulation, 2007, 115(12): 1528-536.
- [24] Chen WQ, Zhang M, Ji XP, et al. Usefulness of high-frequency vascular ultrasound imaging and serum inflammatory markers to predict plaque rupture in patients with stable and unstable angina pectoris [J]. Am J Cardiol, 2007, 100(9): 1341-346.
- [25] Zhang Y. Reply [J]. Am J Cardiol, 2008, 101(10): 1519.
- [26] Wang Y, Li L, Tan HW, et al. Transcoronary concentration gradient of sCD40L and hsCRP in patients with coronary heart disease [J]. Clin Cardiol, 2007, 30(2): 86-91.
- [27] Vancraeynest D, Pasquet A, Roelants V, et al. Imaging the vulnerable plaque [J]. J Am Coll Cardiol, 2011, 57(20): 1961-979.
- [28] Fleg JL, Stone GW, Fayad ZA, et al. Detection of high-risk atherosclerotic plaque: report of the NHLBI Working Group on current status and future directions [J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2012, 5(9): 941-955.
- [29] Huibers A, de Borst GJ, Wan S, et al. Non-invasive carotid artery imaging to identify the vulnerable plaque: current status and future goals [J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2015, 50(5): 563-572.
- [30] Ding S, Zhang M, Zhao Y, et al. The role of carotid plaque vulnerability and inflammation in the pathogenesis of acute ischemic stroke [J]. Am J Med Sci, 2008, 336(1): 27-31.
- [31] Zhang PF, Su HJ, Yao GH, et al. Plaque volume compression ratio, a novel biomechanical index, is independently associated with ischemic cerebrovascular events [J]. J Hypertens, 2009, 27(2): 348-356.
- [32] Sun Z, Xu L. Coronary CT angiography in the quantitative assessment of coronary plaques [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 346-380.
- [33] Motoyama S, Kondo T, Anno H, et al. Multi-slice computed tomographic characteristics of coronary lesions in acute coronary syndromes [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 50(4): 319-326.
- [34] Motoyama S, Sarai M, Harigaya H, et al. Computed tomographic angiography characteristics of atherosclerotic plaques subsequently resulting in acute coronary syndrome [J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(1): 49-57.
- [35] Kodama T, Kondo T, Oida A, et al. Computed tomographic angiography-verified plaque characteristics and slow-flow phenomenon during percutaneous coronary intervention [J]. JACC Cardiovasc Interv, 2012, 5(6): 636-643.

- [36] Inoue K, Motoyama S, Sarai M, et al. Serial coronary CT angiography-verified changes in plaque characteristics as an end-point; evaluation of effect of statin intervention[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2010, 3(7): 691-698.
- [37] Motoyama S, Kondo T, Sarai M, et al. Multislice computed tomographic characteristics of coronary lesions in acute coronary syndromes[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 50(4): 319-326.
- [38] Nakazato R, Shalev A, Doh JH, et al. Quantification and characterisation of coronary artery plaque volume and adverse plaque features by coronary computed tomographic angiography; a direct comparison to intravascular ultrasound [J]. *European Radiology*, 2013, 23(8): 2 109-117.
- [39] Papadopoulou S, Neeftjes LA, Schaap M. et al. Detection and quantification of coronary atherosclerotic plaque by 64-slice multidetector CT: a systematic head-to-head comparison with intravascular ultrasound[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219(1): 163-170.
- [40] Voros S, Rinehart S, Qian Z. et al. Prospective validation of standardized, 3-dimensional, quantitative coronary computed tomographic plaque measurements using radiofrequency backscatter intravascular ultrasound as reference standard in intermediate coronary arterial lesions; results from the ALTANTA (Assessment of Tissue Characteristics, Lesion Morphology, and Hemodynamics by Angiography with Fractional Flow Reserve, Intravascular Ultrasound and Virtual Histology, and Noninvasive Computed Tomography in Atherosclerotic Plaques) I Study [J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2011, 4(2): 198-208.
- [41] Gao D, Ning N, Guo Y, et al. Computed tomography for detecting coronary artery plaques: a meta-analysis [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219(2): 603-609.
- [42] Cai J, Hatsukami TS, Ferguson MS, et al. In vivo quantitative measurement of intact fibrous cap and lipid-rich necrotic core size in atherosclerotic carotid plaque: comparison of high-resolution, contrast-enhanced magnetic resonance imaging and histology [J]. *Circulation*, 2005, 112(22): 3 437-444.
- [43] Yuan C, Zhang SX, Polissar NL, et al. Identification of fibrous cap rupture with magnetic resonance imaging is highly associated with recent transient ischemic attack or stroke [J]. *Circulation*, 2002, 105(2): 181-185.
- [44] Chu B, Kampschulte A, Ferguson MS, et al. Hemorrhage in the atherosclerotic carotid plaque: a high-resolution MRI study [J]. *Stroke*, 2004, 35(5): 1 079-084.
- [45] Kampschulte A, Ferguson MS, Kerwin WS, et al. Differentiation of intraplaque versus juxtaluminal hemorrhage/thrombus in advanced human carotid atherosclerotic lesions by in vivo magnetic resonance imaging[J]. *Circulation*, 2004, 110(20): 3 239-244.
- [46] Kerwin WS, O'Brien KD, Ferguson MS, et al. Inflammation in carotid atherosclerotic plaque: a dynamic contrast-enhanced MR imaging study[J]. *Radiology*, 2006, 241(2): 459-468.
- [47] Gyongyosi M, Yang P, Hassan A, et al. Intravascular ultrasound predictor of major adverse cardiac events in patients with unstable angina[J]. *Clin Cardiol*, 2000, 23(7): 507-515.
- [48] Di Mario C, The SH, Madretsma S, et al. Detection and characterization of vascular lesions by intravascular ultrasound; an in vitro study correlated with histology[J]. *J Am Soc Echocardiogr*, 1992, 5(2): 135-146.
- [49] Kotani J, Mintz GS, Castagna MT, et al. Intravascular ultrasound analysis of infarct-related and non-infarct-related arteries in patients who presented with an acute myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2003, 107(23): 2 889-893.
- [50] Yamagishi M, Terashima M, Awano K, et al. Morphology of vulnerable coronary plaque; insights from follow-up of patients examined by intravascular ultrasound before an acute coronary syndrome [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2000, 35(1): 106-111.
- [51] Chen WQ, Zhong L, Zhang L, et al. Oral Rapamycin attenuates inflammation and enhances stability of atherosclerotic plaques in rabbits independent of serum lipid levels [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 156(6): 941-951.
- [52] de Korte CL, Pasterkamp G, van der Steen AFW, et al. Characterization of plaque components using intravascular ultrasound elastography in human femoral and coronary in vitro [J]. *Circulation*, 2000, 102(6): 617-623.
- [53] Ma YF, Fam JM, Zhang BC. Critical analysis of the correlation between optical coherence tomography versus intravascularultrasound and fractional flow reserve in the management of intermediate coronary artery lesion [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5): 6 658-667.
- [54] Uemura S, Ishigami K, Soeda T, et al. Thin-cap fibroatheroma and microchannel findings in optical coherence tomography correlate with subsequent progression of coronary atheromatous plaques[J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(1): 78-85.
- [55] Kato K, Yonetsu T, Jia H, et al. Nonculprit coronary plaque characteristics of chronic kidney disease. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2013, 6(3): 448-456.
- [56] Kitabata H, Tanaka A, Kubo T, et al. Relation of microchannel structure identified by optical coherence tomography to plaque vulnerability in patients with coronary artery disease [J]. *Am J Cardiol*, 2010, 105(12): 1 673-678.
- [57] Tian J, Hou J, Xing L, et al. Significance of intraplaque neovascularisation for vulnerability: optical coherence tomography study[J]. *Heart*, 2012, 98(20): 1 504-509.
- [58] Tian J, Ren X, Vergallo R, et al. Distinct morphological features of ruptured culprit plaque for acute coronary events compared to those with silent rupture and thin-cap fibroatheroma; a combined optical coherence tomography and intravascular ultrasound study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(21): 2 209-216.
- [59] Lehmann KG, van Suylen RJ, Stibbe J, et al. Composition of human thrombus assessed by quantitative colormetric angioscopic analysis[J]. *Circulation*, 1997, 96(9): 3 030-041.
- [60] Naghavi M, Madjid M, Gul K, et al. Thermography basket catheter: in vivo measurement of the temperature of atherosclerotic plaques for detection of vulnerable plaques [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2003, 59(1): 52-59.
- [61] Naghavi M, John R, Naguib S, et al. pH heterogeneity of human and rabbit atherosclerotic plaques; a new insight into detection of vulnerable plaque[J]. *Atherosclerosis*, 2002, 164(1): 27-35.

(此文编辑 李小玲)