

冠心病患者冠状动脉血中 ADAMTS4 变化及经皮冠状动脉介入治疗对冠状动脉 ADAMTS4 的影响

赵传艳¹, 王昕², 张春梅¹, 童雨田¹

(1.山东省潍坊市益都中心医院心内二科,山东省潍坊市 262500;2.山东省青州市人民医院,山东省青州市 262500)

[关键词] 含凝血酶敏感素 4 型基序的解聚素金属蛋白酶; 高敏 C 反应蛋白; 冠心病; 经皮冠状动脉介入治疗

[摘要] **目的** 从冠心病患者冠状静脉窦中取血检验含凝血酶敏感素 4 型基序的解聚素金属蛋白酶 (ADAMTS4) 及高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP), 评估经皮冠状动脉介入治疗 (PCI) 对 ADAMTS4 及 hs-CRP 水平的影响。**方法** 根据冠状动脉造影结果, 将 81 例患者分为对照组、简单病变组及复杂病变组, 其中 30 例患者接受了 PCI 治疗。血液检测标本从冠状静脉窦获得。ADAMTS4 及 hs-CRP 值分别通过 ELISA 及免疫浊度法检测。**结果** 复杂病变组 ADAMTS4 及 hs-CRP 值明显高于对照组及简单病变组 ($P < 0.001$)。所有研究对象及冠心病患者的 ADAMTS4 水平均与 hs-CRP 水平相关 ($r_1 = 0.73, r_2 = 0.76, P < 0.01$)。PCI 后 ADAMTS4 值高于 PCI 前 ($P < 0.001$), hs-CRP 亦表现出相似结果 ($P = 0.025$)。**结论** 冠心病患者冠状动脉 ADAMTS4 及 hs-CRP 水平升高。PCI 后冠状动脉 ADAMTS4 及 hs-CRP 升高, 可能由 PCI 过程中球囊扩张或支架植入的机械挤压致冠状动脉斑块破裂释放而出。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Coronary ADAMTS4 Level of Different Coronary Stenosis and Effect of PCI on ADAMTS4

ZHAO Chuan-Yan, WANG Xin, ZHANG Chun-Mei, and TONG Yu-Tian

(The Second Department of Cardiology, Yidu Central Hospital of Weifang, Weifang, Shandong 262500, China)

[KEY WORDS] A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs; High Sensitivity C-reactive Protein; Coronary Artery Disease; Percutaneous Coronary Intervention

[ABSTRACT] **Aim** To detect the level of a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 4 (ADAMTS4) and high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) using coronary sinus sampling and to assess the effect of PCI on ADAMTS4 and hs-CRP levels. **Methods** The 81 subjects were classified according to their coronary angiographic findings into control, simple, and complex groups. PCI was performed in 30 patients. Blood samples were taken from the coronary sinus. ADAMTS4 and hs-CRP levels were measured by ELISA and turbidometry respectively. **Results** ADAMTS4 showed a higher level in complex group ($100.1 \pm 41.3 \mu\text{g/L}$) than in control ($55.9 \pm 17.9 \mu\text{g/L}$) and simple group ($79.5 \pm 34.8 \mu\text{g/L}$). The ADAMTS4 level showed a positive correlation with the hs-CRP level whether from all patients or from patients with CAD ($r_1 = 0.73, r_2 = 0.76$). The ADAMTS4 value was higher after PCI than before PCI ($108.9 \pm 39.5 \mu\text{g/L}$ vs $84.4 \pm 35.3 \mu\text{g/L}$, $P < 0.001$), and the same was found regarding hs-CRP ($3.1 \pm 1.4 \text{ mg/L}$ vs $2.6 \pm 1.2 \text{ mg/L}$, $P < 0.001$). **Conclusion** Coronary ADAMTS4 level elevated in patients with CAD. The increase of ADAMTS4 and hs-CRP levels after PCI might be attributed to their release from the coronary atheroma.

含凝血酶敏感素 4 型基序的解聚素金属蛋白酶
(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin

motifs, ADAMTS4) 是最近发现的金属蛋白酶家族成员^[1]。以往研究发现在 LDLR^{-/-} ApoB100/100 小鼠

[收稿日期] 2015-12-30

[修回日期] 2016-02-28

[基金项目] 山东省潍坊市卫生局科研项目(2013025)

[作者简介] 赵传艳, 博士, 副主任医师, 主要研究方向为冠心病, E-mail 为 chuanyan_jinan@163.com。王昕, 硕士, 副主任医师, 研究方向为动脉粥样硬化。张春梅, 副主任医师, 研究方向为冠心病。

中随着动脉硬化的发展 ADAMTS4 的表达上调,其为炎症调节酶,在人类动脉硬化的颈动脉斑块及冠状动脉不稳定斑块的巨噬细胞区域表达^[2]。李蕾等^[3]发现血管内皮生长因子(VEGF)刺激血管内皮细胞,引起 ADAMTS5、ADAMTS4、MMP-9 基因及蛋白表达上调,进而有可能促进动脉粥样硬化斑块内基质降解,引起斑块破裂,提示 ADAMTS5、ADAMTS4、MMP-9 在动脉粥样硬化发生及进展中可能发挥重要作用。有研究显示心衰大鼠心肌中 ADAMTS4 表达升高,且应用 ADAMTS4 抑制剂可改善左心室功能^[4]。我们曾经报道冠心病患者的血浆 ADAMTS4 水平比无冠心病者高,且 ADAMTS4 水平与冠心病严重程度相关^[5]。我们还发现与对照组及稳定型心绞痛患者比较,急性冠状动脉综合征患者的单核细胞 ADAMTS4 mRNA 表达明显升高($P < 0.001$),且单核细胞及血浆中 ADAMTS4 的表达与冠状动脉病变复杂程度相关^[6]。这些发现提示:ADAMTS4 可以作为一种预示斑块不稳定及急性冠状动脉综合征严重程度的指标。经皮冠状动脉介入治疗(PCI)过程可以看作机械挤压诱导斑块破裂的模型,因此研究 PCI 过程中的炎症反应或许可以为斑块不稳定机制提供线索。既然 ADAMTS4 已被证明是炎症调节酶且与动脉硬化的发展及斑块不稳定相关,我们猜测在冠心病患者冠状动脉循环中 ADAMTS4 水平可能升高且受 PCI 手术影响。本研究拟从冠状静脉窦中取血检验 ADAMTS4 及高敏 C 反应蛋白(high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)水平并评估 ADAMTS4 与 hs-CRP 的关联性,评估 PCI 对 ADAMTS4 及 hs-CRP 水平的影响。

1 对象与方法

1.1 研究对象入选及排除标准

自 2013 年 6 月至 2014 年 6 月共入选 81 例患者,入选标准为临床诊断为稳定型心绞痛、无症状心肌缺血或有胸痛症状可疑冠心病的患者,均于我院行冠状动脉造影。排除标准为急性心肌梗死、不稳定型心绞痛、既往冠状动脉介入治疗或冠状动脉搭桥史、体温 $\geq 38.0^{\circ}\text{C}$ 、炎症性疾病(如感染、自身免疫性疾病)、肿瘤、严重肝肾疾病及近期大手术。

1.2 冠状动脉造影及分组

冠状动脉造影采用右桡动脉入路,应用 6F 造影导管。用 Judkins 法进行选择左、右冠状动脉造影,多体位投照,至少由 2 位心内科介入医师对造影

结果进行判定。据 ACC/AHA 病变分型标准,冠状动脉管腔直径狭窄 $\geq 75\%$ 定义为明确病变,冠状动脉病变分为 A、B1、B2 及 C 型病变。根据冠状动脉造影结果将研究对象分为对照组(冠状动脉无明显狭窄)、简单病变组(A 型或 B1 型病变)、复杂病变组(B2 或 C 型病变)。30 名冠状动脉明显狭窄的患者接受了 PCI 治疗并植入支架,手术成功标准为靶病变残余狭窄 $< 10\%$,靶血管 TIMI 血流 3 级,无重要分支闭塞、限血流的夹层、远端栓塞或血栓形成。

1.3 血液采集和酶联免疫检测

冠状动脉造影前,由左锁骨下静脉途径插入美国强生公司 5F MP A1 造影导管至冠状静脉窦备用,冠状动脉造影完成后或 PCI 术前及术后即刻,抽取血液标本 5 mL,加入含有 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ (最终浓度 0.1%)试管里。血样被立即以 3000 r/min 速度在 4°C 条件下离心 10 min,收集血清保存于 -80°C 冰箱里待检测。ADAMTS4 检测采用美国 Usclife 公司生产的 ADAMTS4 ELISA 试剂盒检测(按说明书步骤进行操作)。hs-CRP 浓度检测采用 Boehringer Mannheim 公司生产的超敏 CRP 试剂盒检测。

1.4 统计学分析

用 SPSS13.0 软件包进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以数目及百分比表示。1-sample Kolmogorov-Smirnov 检验分析资料的分布。定量变量分析采用单因素方差分析,分类变量比较用 χ^2 检验,相关性分析采用 Pearson 相关分析检验。配对 t 检验用来分析 PCI 术前及术后差异。以 $P < 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 临床特点

患者的临床基线特征如表 1。各组间在年龄、性别方面差异无统计学意义,复杂病变组吸烟率、糖尿病及高血压患病率均高于其余两组,但无统计学差异,简单病变组高血脂发生率低于其余两组,但无统计学差异。

2.2 ADAMTS4 及 hs-CRP 检验结果

简单病变组和复杂病变组 ADAMTS4 水平显著高于对照组,且复杂病变组 ADAMTS4 水平高于简单病变组,组间两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。简单病变组和复杂病变组 hs-CRP 水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),复杂病变组 hs-CRP 水平高于简单病变组,但差异无统计学意义(表 2)。

表 1. 研究对象基线特征

Table 1. Baseline characteristics of the study population

危险因素	对照组 (n=21)	简单病变组 (n=32)	复杂病变组 (n=28)
年龄(岁)	63.0 ± 11.3	60.3 ± 10.1	61.8 ± 8.6
性别(例)	15(71.4%)	24(75.0%)	18(64.3%)
吸烟(例)	8(38.1%)	13(40.6%)	14(50.0%)
糖尿病(例)	3(14.3%)	8(25.0%)	10(35.7%)
高血压(例)	12(57.1%)	15(46.9%)	18(64.3%)
总胆固醇 >220 mg/dL(例)	4(19.6%)	2(6.3%)	5(17.9%)

2.3 ADAMTS4 与 hs-CRP 的相关性

所有患者的 ADAMTS4 与 hs-CRP 均存在相关性,其中冠心病(简单病变及复杂病变组)患者的 ADAMTS4 与 hs-CRP 相关性更为显著(图 1)。对照组 ADAMTS4 与 hs-CRP 无相关性。

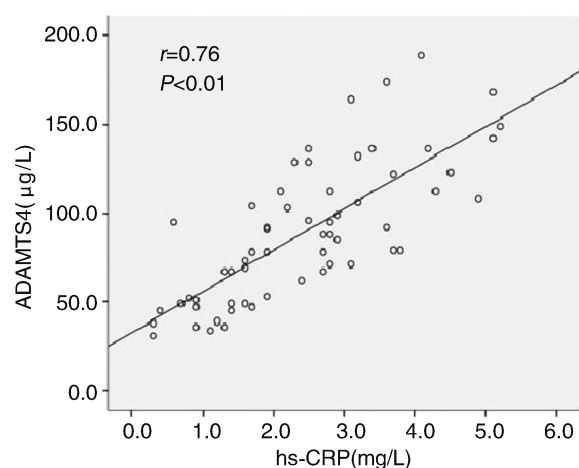
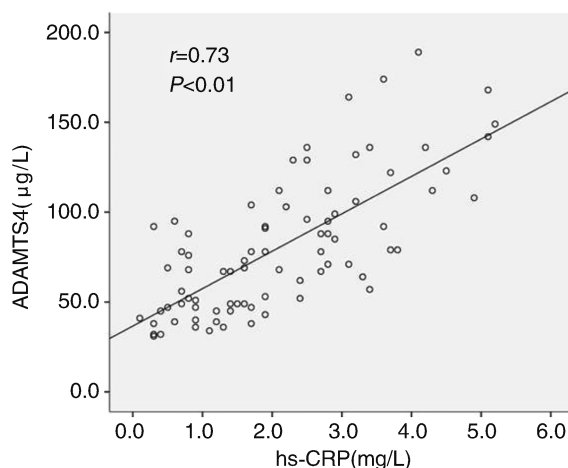


图 1. 所有患者(左图, n=81)及冠心病患者(右图, n=60)冠状动脉 ADAMTS4 与 hs-CRP 的相关性

Figure 1. Correlation between coronary ADAMTS4 and hs-CRP of all patients (left, n=81) and patients with CHD (right, n=60)

3 讨论

细胞外基质的完整性在维持冠状动脉粥样硬化斑块的稳定方面起着重要作用。作为细胞外基质的组成成分,多功能蛋白聚糖(versican)在脂质核心与细胞纤维毗邻区域维持斑块的结构稳定, Versican 降解可导致局部网络结构疏松使纤维帽薄弱,易于破裂而使血栓形成^[7]。ADAMTS4 可降解血管内的 Versican, ADAMTS4 可在 Glu441-Ala442/Glu1428-Ala1429 位点裂解 V1 及 V0 型 Versican,在人类动脉粥样硬化斑块处发现了此种裂解产物^[8]。

2.4 PCI 对 ADAMTS4 及 hs-CRP 水平的影响

冠状动脉造影发现冠状动脉重度狭窄的 30 名患者接受了 PCI 治疗,PCI 术后 ADAMTS4 水平较 PCI 术前升高(108.9 ± 39.5 µg/L 比 84.4 ± 35.3 µg/L),hs-CRP 水平 PCI 术后亦比 PCI 术前显著升高(3.1 ± 1.4 mg/L 比 2.6 ± 1.2 mg/L),差异有统计学意义(P<0.01)。

表 2. 各组 ADAMTS4 及 hs-CRP 水平

Table 2. The ADAMTS4 and hs-CRP levels in patients of control, simple and complex groups

指标	对照组 (n=21)	简单病变组 (n=32)	复杂病变组 (n=28)
ADAMTS4(µg/L)	55.9 ± 17.9	79.5 ± 34.8 ^a	100.1 ± 41.3 ^{bc}
hs-CRP(mg/L)	1.2 ± 0.9	2.2 ± 1.2 ^b	2.7 ± 1.4 ^b

a 为 P<0.05, b 为 P<0.01, 与对照组比较; c 为 P<0.05, 与简单病变组比较。

ADAMTS4 在小鼠模型中随着动脉硬化的发展表达上调,且在人类动脉硬化的颈动脉斑块及冠状动脉不稳定斑块的富巨噬细胞区域表达^[2]。以上这些发现提示 ADAMTS4 可能通过降解 Versican 而使动脉粥样硬化斑块破裂。我们之前的研究发现随着冠心病从稳定型心绞痛至 ST 段抬高型心肌梗死的临床严重程度的升高,ADAMTS4 水平渐进性升高。ADAMTS4 水平的升高与急性冠状动脉综合征(ACS)存在相关性,ROC 曲线下面积是 0.753 (P<0.001)^[5]。这些数据提示 ADAMTS4 可以作为一个预示斑块不稳定的指标。然而,我们之前的研究是

采用外周血标本进行检测,获得的数据不能明确说明 ADAMTS4 是否来源于冠状动脉。在本研究中,我们尝试通过导管在尽可能接近冠状动脉处抽取血液样本,从而使检测的血液样本值最大可信度地代表冠状动脉 ADAMTS4 及 CRP 水平。我们发现复杂病变组冠状静脉窦 ADAMTS4 水平明显高于简单病变组,同样的,虽然无统计学意义,冠状动脉 CRP 水平也表现出相同趋势。这些结果提示 ADAMTS4 与冠心病严重程度相关。许多研究已经证明冠状动脉造影显示的复杂病变代表不稳定斑块^[9-10],因此复杂病变组高 ADAMTS4 水平提示 ADAMTS4 涉及冠状动脉斑块的不稳定。

我们研究显示冠心病患者冠状动脉内 ADAMTS4 水平与 hs-CRP 水平相关,与以往报道一致^[6]。这种相关性提示冠状动脉粥样斑块是同时产生这两种标志物的重要来源,或许 ADAMTS4 水平的升高是以炎症标志物 hs-CRP 升高所反应的局部炎症反应的结果。我们的研究结果还显示 PCI 后冠状动脉 ADAMTS4 及 hs-CRP 水平高于 PCI 前。有报道显示 PCI 引发了系统性炎症反应,由炎症标志物 CRP、IL-6、血清淀粉样蛋白(SAA)及单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)在血浆中水平升高可反应^[11-13]。另有研究显示经冠状静脉窦取血,PCI 后 IL-6 及 CRP 水平明显升高^[14]。鉴于目前还没有关于 PCI 对 ADAMTS4 水平影响的报道,我们检测了 PCI 术前及术后冠状动脉 ADAMTS4 及 hs-CRP 水平,意在确证 PCI 术后 ADAMTS4 及 CRP 的冠状动脉来源,通过尽可能接近冠状动脉循环的冠状静脉窦取血,排除了这两种介质除冠状动脉外的其它来源。PCI 术中,球囊扩张或支架植入所致的直接机械挤压可导致冠状动脉斑块破裂,而我们发现 PCI 术后 ADAMTS4 及 hs-CRP 明显升高,因此,我们考虑,二者的明显升高可能来源于 PCI 所致的破裂斑块,进一步证明冠状动脉斑块中存在 ADAMTS4 及 hs-CRP。

综上所述,冠心病患者冠状动脉 ADAMTS4 及 hs-CRP 水平升高,且随病变复杂程度增加而升高。PCI 后冠状动脉 ADAMTS4 及 hs-CRP 水平升高,其可能由 PCI 过程中球囊扩张或支架植入的机械挤压导致冠状动脉斑块破裂释放而出。

[参考文献]

[1] Porter S, Clark IM, Kevorkian L, et al. The ADAMTS metalloproteinases [J]. *Biochem J*, 2005, 386(Pt 1): 15-27.

- [2] Wagsater D, Bjork H, Zhu C, et al. ADAMTS-4 and -8 are inflammatory regulated enzymes expressed in macrophage-rich areas of human atherosclerotic plaques [J]. *Atherosclerosis*, 2008, 196(2): 514-522.
- [3] 李蕾,陈黎明,赵传艳,等. 血管内皮生长因子对血管内皮细胞 ADAMTS5、ADAMTS4 及 MMP-9 表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(19): 4 759-761.
- [4] Vistnes M, Aronsen JM, Lunde IG, et al. Pentosan polysulfate decreases myocardial expression of the extracellular matrix enzyme ADAMTS4 and improves cardiac function in vivo in rats subjected to pressure overload by aortic banding [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e89 621.
- [5] Zha Y, Chen Y, Xu F, et al. ADAMTS4 level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2010, 64(3): 160-164.
- [6] Zha Y, Chen Y, Xu F, et al. Elevated level of ADAMTS4 in plasma and peripheral monocytes from patients with acute coronary syndrome [J]. *Clin Res Cardiol*, 2010, 99(12): 781-786.
- [7] Halpert I, Sires UI, Roby JD, et al. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93(18): 9 748-753.
- [8] Lemire JM, Braun KR, Maurel P, et al. Versican/PG-M isoforms in vascular smooth muscle cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19(7): 1 630-639.
- [9] Sambucetti G, Marini C, Morbelli S, et al. Witnessing ischemia or proofing coronary atherosclerosis: two different windows on the same or on different pathways precipitating cardiovascular events [J]. *J Nucl Cardiol*, 2009, 16(3): 447-455.
- [10] Davies MJ. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995 [J]. *Circulation*, 1996, 94(8): 2 013-020.
- [11] Kazmierczak E, Grajek S, Kowal J, et al. Prognostic usefulness of IL-6 and VEGF for the occurrence of changes in coronary arteries of patients with stable angina and implanted stents [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014, 18(15): 2 169-175.
- [12] Kozinski M, Krzewina-Kowalska A, Kubica J, et al. Percutaneous coronary intervention triggers a systemic inflammatory response in patients treated for in-stent restenosis -- comparison with stable and unstable angina [J]. *Inflamm Res*, 2005, 54(5): 187-193.
- [13] Wang SL, Han YL, Liu LJ, Yet al. Changes of plasma high-sensitive C-reactive protein and monocyte chemoattractant factor-1 following percutaneous coronary interventional procedures in patients with coronary artery disease [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2008, 28(6): 1 073-075.
- [14] Ramadan MM, Kodama M, Mitsuma W, et al. Impact of percutaneous coronary intervention on the levels of interleukin-6 and C-reactive protein in the coronary circulation of subjects with coronary artery disease [J]. *Am J Cardiol*, 2006, 98(7): 915-917.

(此文编辑 许雪梅)