

·临床研究·

冠心病患者外周血 MMP-9、CRP 的变化及其临床意义

殷 忠¹ 李兰荪^{1,2} 张荣庆¹ 刘安恒¹ 栾荣华¹ 王海昌¹

摘要 目的:观察不同类型冠心病患者外周血基质金属蛋白酶-9(MMP-9)及 C-反应蛋白(CRP)的水平变化,探讨 MMP-9、CRP 与冠心病发生发展的关系。方法:选取我科 2004 年 7 月-2005 年 4 月入院诊断为冠心病且入院后行冠状动脉造影术的患者 73 例,其中最后诊断急性心肌梗死(AMI)22 例、不稳定型心绞痛(UA)17 例;稳定型心绞痛(SA)17 例;对照组 17 例。采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验测定血浆 MMP-9 的水平,CRP 由检验科用免疫散射比浊法检测。结果:①AMI 组、UA 组与 SA 组患者血浆 MMP-9 水平均显著高于对照组($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.05$)。②AMI 组、UA 组患者血浆 CRP 水平均显著高于对照组($P<0.01$, $P<0.01$),而 SA 组与对照组差异无显著性意义。③AMI 组、UA 组患者血浆 MMP-9 水平均显著高于 SA 组($P<0.01$, $P<0.01$)。④AMI 组患者 MMP-9、CRP 水平与 UA 组比较差异均有显著性意义($P<0.01$, $P<0.01$)。⑤急性冠脉综合征(ACS)患者中 MMP-9 和 CRP 水平无明显相关性。结论:冠心病患者 MMP-9、CRP 水平升高。ACS 患者 MMP-9、CRP 水平升高可能提示斑块不稳定。ACS 患者中 MMP-9 和 CRP 水平无明显相关性,提示二者可能通过不同的方面反映了斑块的不稳定性。联合检测血清 MMP-9 及 CRP 水平,对冠心病患者进行筛选分层,应能更有效地预测急性冠脉事件的发生。

关键词 冠心病;急性心肌梗死;不稳定型心绞痛;稳定型劳力性心绞痛;基质金属蛋白酶-9;C 反应蛋白

中图分类号:R493,R541 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2006)-04-0318-04

Changes and implication of peripheral blood levels of matrix metalloproteases-9 and C-reactive protein in patients with coronary artery disease/YIN Zhong, LI Lansun, ZHANG Rongqing, et al.//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2006, 21(4): 318-321

Abstract **Objective:** To investigate whether peripheral blood levels of matrix metalloproteases-9 (MMP-9) and C-reactive protein(CRP) were affected in patients with coronary artery disease (CAD). **Method:** Using ELISA and scatter rate nephelometry, plasma MMP-9 and CRP were measured in 22 patients with acute myocardial infarction (AMI), 17 with unstable angina(UA), 17 with stable angina (SA) and 17 control normal subjects. **Result:** ①The serum levels of MMP-9 in AMI, UA and SA group were significantly higher than the control groups ($P<0.01$, $P<0.05$). ②The serum level of CRP was higher in AMI and UA group than the control group ($P<0.01$), but there were no different significance of CRP's level between SA and control groups. ③The serum levels of MMP-9 in AMI, UA group were markedly higher than SA groups ($P<0.01$). ④the serum level of MMP-9 and CRP were significantly different between UA group than AMI group ($P<0.01$). ⑤There was no obvious correlation between MMP-9 and CRP in ACS group ($P=0.378>0.05$). **Conclusion:** The increased serumal levels of MMP-9 and CRP in patients with coronary artery disease may predict the unstable conditions of plaques. The fact that there was no correlation between MMP-9 and CRP suggests that the different aspects which predict the unstability of plaques. It may be more beneficial to predicting the stability of atherosclerosis plaques and forecasting acute cardiovascular risk by combination detection of serumal levels of MMP-9 and CRP.

Author's address Dept. of Cardiology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shanxi, 710032

Key words coronary artery disease; acute myocardial infarction; unstable angina; stable effort angina; matrix metalloprotease-9; C-reactive protein

急性冠脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 主要包括不稳定型心绞痛 (unstable angina, UA)、急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI)。目前认为冠状动脉粥样硬化斑块破裂继发血栓形成是 ACS 发生的主要原因^[1-2]。斑块破裂包括如下几种病理生理机制:炎症、血液流变学因素、血

管壁应力、血管收缩及斑块组织失稳^[1-2]。近年来,越

1 第四军医大学西京医院心内科,陕西西安,710032

2 通讯作者:李兰荪(第四军医大学西京医院心内科,陕西西安,710033)

作者简介:殷忠,男,硕士

收稿日期:2005-08-09

来越多的证据表明 72-kDa 和 92-kDa 的胶原酶 [MMP(matrix metalloproteinases)-2 和 MMP-9] 特异地作用于基底膜, 降解局部的胶原组织, 在动脉粥样硬化斑块破裂过程中发挥主要作用。再者, MMP-2 和 MMP-9 特异地作用于基底膜成分, 调节细胞和细胞间联系, 在调节粥样硬化病变处 VSMCs 增殖和迁移中起重要作用, 同时激活周围细胞成分, 如: 炎症细胞、内皮细胞和血管平滑肌细胞。研究发现 MMP-2、MMP-9 等在人动脉粥样硬化斑块处表达升高, 尤其在易损斑块的肩部^[3]。郭毅等^[4]也发现 MMP-9 同斑块的稳定性密切相关, MMP-9 是形成不稳定斑块的重要的促进因素。Blankenberg^[5]研究发现血浆 MMP-9 水平升高预示着心血管事件的风险增高。本研究采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验 (ELISA) 测定不同类型冠心病患者血浆 MMP-9 水平, 观察其变化, 进一步探讨 MMP-9 与冠心病发生发展的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

随机选自 2004 年 7 月—2005 年 4 月第四军医大学附属西京医院心内科住院患者或门诊患者, 共 73 例。其中 AMI 组 22 例, UA 组 17 例; 稳定型心绞痛 (stable effort angina, SA) 组 17 例; 正常对照组 17 例 (见表 1)。正常对照组 17 例 (此组患者以胸痛、胸闷入院, 经冠脉造影证实为无冠心病的正常者)。所有受试者剔除肿瘤、肝脏疾病、感染性疾病或自身免疫性疾病; 剔除外周动脉粥样硬化性疾病; 剔除 6 个月内做过手术者。得到所有受试者口头或书面同意。

AMI 入选标准: 典型的长时间的胸痛, 伴有标准 12 导联心电图连续变化, 或 CK 明显升高 (大于正常上限的 2 倍以上), 22 例 AMI 患者胸痛发生 3—9h 收入 CCU, 其中 9 例行直接经皮冠状动脉支架置入术。其余 13 例症状发生后大于 12 小时, 收入院先进行标准联合药物治疗, 包括口服硝酸酯类药物、 β -肾上腺素能受体阻滞剂、钙拮抗剂及阿司匹林, 以及静脉用硝酸酯类和/或肝素。在症状稳定后 4 周内行冠状动脉造影术。

UA 的诊断标准: 近 24 小时内有静息心绞痛发生, 伴心电图一过性明显的缺血性 ST-T 改变, 但是没有明显的 CK 升高 (小于 2 倍正常值上限), 在观察期间出现 ST 段抬高或新的 Q 波者不包括在内。所有 UA 患者给予强化药物治疗。

SA 组: 典型的劳力性心绞痛, 最近 6 个月内没有恶化或静息心绞痛发作。

1.2 血样采集和酶免疫测定法

入院即刻或次日清晨空腹抽取肘静脉血, 置于含肝素抗凝剂的离心管中, 离心 (3000r/min, 10min), 取血浆分装至 EP 管中, -80°C 保存备用。采用 ELISA 法测定 MMP-9 浓度, 试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司, 操作步骤按照试剂盒说明进行。由西京医院检验科同一个技师采用免疫散射比浊法测定 C 反应蛋白含量 (C-reactive protein, CRP)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS10.0 由第四军医大学统计学教研室进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用两独立样本 t 检验方法进行; 计数资料以例数与百分比表示采用 χ^2 检验; 双侧 $P < 0.05$ 差异有显著性意义。

2 结果

2.1 基线特征

各组间年龄、男女比例没有显著差异。在三组患者中, 主要危险因素、药物治疗大致相同。血管造影有意义的狭窄在 SA、UA、AMI 三组间没有明显差别 (见表 1)。

表 1 临床基本特征

项目	对照组 (n=17)	SA 组 (n=17)	UA 组 (n=17)	AMI 组 (n=22)
年龄 (岁)	59.59 $\pm$ 12.12	62.00 $\pm$ 8.82	61.64 $\pm$ 9.37	61.35 $\pm$ 11.4
男/女	9/8	10/7	10/7	14/8
体重指数 (kg/m ²)	24.70 $\pm$ 3.34	24.97 $\pm$ 2.56	25.47 $\pm$ 2.14	25.42 $\pm$ 32.74
高血压病	5	7	6	11
糖尿病	1	3	3	7
吸烟	5	7	6	11
高胆固醇血症	7	6	12	10
曾 SA 史	—	—	6	11
MI 史	—	3	3	5
冠脉造影	17	17	17	22
狭窄 $\geq$ 75% 血管数	0	2.1 $\pm$ 1.0	1.8 $\pm$ 0.8	2.1 $\pm$ 0.8
药物治疗				
硝酸酯类	10	16	11	21
β -blocker	4	4	8	6
CCB	7	12	10	17
阿司匹林	10	15	10	19
肝素	—	—	11	20

2.2 各组之间外周血 MMP-9 和 CRP 的检测水平

正常对照组外周血 MMP-9 和 CRP 的水平分别为 24.15 $\pm$ 10.85ng/mL 和 3.49 $\pm$ 2.01mg/L, 和先前报道^[6-7]的正常健康受试者外周血 MMP-9 及 CRP 的水平相似。AMI 组及 UA 组患者 MMP-9、CRP 水平与正常对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.01$), 同样与 SA 组比较也都具有显著性差异 ($P < 0.01$)。AMI 组患者

MMP-9、CRP 水平与 UA 组比较有显著性差异 ($P<0.01$)。SA 组 MMP-9 水平也高于正常对照组 ($P<0.05$)。而 SA 组与对照组相比 CRP 水平无显著性差异 ($P>0.05$) (见表 2)。

2.3 ACS 组患者外周血 CRP 和 MMP-9 水平

在 UA、AMI 组血浆 MMP-9 水平与正常对照组比较有显著性差异 ($P<0.01, P<0.01$), 在 UA、AMI 组血清 CRP 水平与正常对照组比较有显著性差异 ($P<0.01, P<0.01$)。且 UA 与 AMI 组之间 MMP-9 及 CRP 检测水平也有明显差异 ($P<0.01, P<0.01$) (见表 3)。

2.4 ACS 组患者外周血 CRP 和 MMP-9 检测水平的相关关系

经直线相关与回归分析 ACS 组患者外周血 CRP 和 MMP-9 检测水平的无显著相关关系 ($r=0.145, P>0.05$)

表 2 各组之间外周血 CRP、MMP-9 检测水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CRP(mg/L)	MMP-9(ng/mL)
对照组	17	3.49±2.01	24.15±10.85
AMI 组	22	18.74±10.74 ^{①③④}	49.79±14.43 ^{①③④}
UA 组	17	7.23±2.22 ^{①③}	78.23±10.64 ^{①③}
SA 组	17	4.03±1.96	32.65±10.94 ^②

与对照组比较^① $P<0.01$; ^② $P<0.05$; ^③与 SA 组比较 $P<0.01$; ^④与 UA 组比较 $P<0.01$

表 3 AMI 组与 UA 组外周血 CRP、MMP-9 检测水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CRP(mg/L)	MMP-9(ng/ml)
对照组	17	3.49±2.01	24.15±10.85
AMI 组	22	18.74±10.74 ^{①②}	49.79±14.43 ^{①②}
UA 组	17	7.23±2.22 ^①	78.23±10.64 ^①

①与对照组比较 $P<0.01$; ②与 UA 组比较 $P<0.01$

3 讨论

研究发现 70% 的致命性 AMI 和/或冠心病猝死患者均存在斑块的破裂, 斑块破裂是最常见的斑块并发症。基质金属蛋白酶家族(MMPs)在动脉粥样硬化的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)重构过程中扮演着重要角色。ECM 构成了动脉粥样硬化斑块的纤维帽部分。纤维帽的厚薄直接影响着斑块的稳定性。研究发现 MMP-2、-9 等在人动脉粥样硬化斑块处表达升高, 尤其在易损斑块的肩部^[3]。MMPs 的活性由斑块处的炎症活动驱动, 它们降解纤维帽, 使纤维帽变薄, 促使斑块破裂^[8]。斑块中几乎所有的细胞均能生成 MMPs, 血管平滑肌细胞与巨噬细胞是最主要的来源细胞。它们分泌包括 MMP-9 在内的多种 MMPs^[9-11]。Kai 等^[12]发现, ACS 患者 MMP-2、-9 升高并持续约一周, 明显高于正常组与稳定型心绞痛组。本试验也证明 ACS 组血清 MMP-9 水平明显高于稳定型心绞痛与正常组。与以前研究结

果相符。

CRP 是一种急性期蛋白, CRP 浓度可反应患者体内炎症的活动程度, 当机体有急性炎症时, 它会迅速明显的上升。在心血管方面多项大型临床研究已表明, 在 AS 斑块中可检测到, 主要结合于 oxLDL。CRP 浓度可反应患者体内炎症的活动程度, 当机体有急性炎症时, 它会迅速明显的上升。在心血管方面多项大型临床研究已表明, CRP 反应了 AS 斑块的急性炎症过程, 是预测未来急性心血管事件发生的独立危险因素, 是 ACS 预后的指示剂。Abdelmoutaleb 等^[7]研究了 221 例血浆 CRP 浓度情况, 结果发现 AMI 及 UA 患者 CRP 水平高于 SA 及健康对照。且发现 SA 患者行经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)后 CRP 水平较术前并无增加, 说明斑块破裂本身并不能引起 CRP 增高, 而可能是 CRP 的增高触发了斑块的破裂^[13]。因此这也提示急性炎症反应可能引起或伴随着斑块的破裂, 两者之间有密切的联系。本试验结果与既往所得结果基本相同。进一步说明, 在排除了其他引起 CRP 升高的疾病同时存在的情况下, CRP 水平上升意味着 AS 斑块可能存在急性的炎症反应, 有发生破裂, 形成 ACS 的危险。CRP 应是一个很好的冠心病危险性的预测因子。近年发现高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)能更敏感的预测急性冠心病事件的发生。

本试验发现 ACS 组患者 CRP 与 MMP-9 水平均升高的同时, 两者间的浓度无相关性, 这可能与两者合成部位、调节的方式不同有关。CRP 主要在肝脏由肝细胞合成, 受 IL-6 调节; MMPs 主要在 AS 斑块局部由巨噬细胞、平滑肌细胞等生成, 且 MMPs 的表达和活性涉及到多个水平的调节, 是一个十分复杂的过程, 多种生长因子与细胞因子可刺激 MMPs 的表达与释放^[14]。最近有研究发现 ACS 患者, 入院时在 MMP-9、CRP 及 IL-6 水平显著升高, 尤其是肌钙蛋白 I 阳性的患者, 升高的幅度更大^[15]。Kai^[12]研究发现 ACS 患者中大部分在发病当天 MMP-9 水平升高到最高值, MMP-9 的升高水平与发病当时 CRP 的升高水平无相关性, 与之后的 CRP 峰值水平也无相关性。这说明两者的升高可能从不同方面显示了斑块的不稳定性。可以看到许多研究都显示不同类型冠心病患者, 其 MMP-9 的水平及其变化不同, ACS 患者具有更高的水平, 而病情稳定的患者 MMP-9 水平相对较低。所以检验患者外周血 MMP-9 的水平有利于冠心病患者的危险分层, 有利于监测患者的康复状况。由于病例数的限制, 此结论还需进一步探讨。

参考文献

- [1] 胡大一. 急性冠状动脉综合征的治疗新对策和新模式[J]. 心肺血管病杂志, 2003, 22: 120—121.
- [2] 杨曙光, 张焕峰. 急性冠状动脉综合征的诊断与治疗进展[J]. 实用医药杂志 2002, 19(11): 861—863, 865.
- [3] 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.
- [4] 郭毅, 姜昕, 左彦方, 等. 基质金属蛋白酶 9 和转化生长因子 $\beta 1$ 在人冠状动脉斑块的表达及其与粥样斑块稳定性的关系 [J]. 中国临床康复, 2005, 9(3): 58—60.
- [5] Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease[J]. Circulation, 2003, 107: 1579—1585.
- [6] Fujimoto N, Hosokawa N, Iwata K, et al. A one-step sandwich enzyme immunoassay for inactive precursor and complexed forms of human matrix metalloproteinase 9 (92kDa gelatinase/type IV collagenase, gelatinase B) using monoclonal antibodies[J]. Clinica Acta, 1994, 231: 79—88.
- [7] Abdemoutaleb I, Danchin N. C-reactive protein and coronary artery disease: additional evidence of the implication of an inflammatory process in acute coronary syndromes [J]. Am Heart, 1999, 137(2): 346—351.
- [8] Libby P. Inflammation in atherosclerosis[J]. Nature, 2002, 420: 868—874.
- [9] Sasaguri Y, Murahashi N, Sugama K, et al. Development-related changes in matrix metalloproteinase expression in human aortic smooth muscle cells[J]. Lab Invest, 1994, 71: 261—269.
- [10] Sukhova GK, Schonbeck U, Rabkin E. Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and -3 in vulnerable human atheromatous plaques [J]. Circulation, 1999, 99(19): 2503—2509.
- [11] Herman MP, Sukhova GK, Libby P. Expression of neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase-8) in human atheroma: a novel collagenic pathway suggested by transcriptional profiling [J]. Circulation, 2001, 104(16): 1899—1904.
- [12] Kai H, Ikeda H, Yasukawa H. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndrome [J]. J Am Coll Cardiol, 1998, 32: 368—372.
- [13] Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD. Production of C reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina[J]. Lancet, 1997, 349: 462—466.
- [14] Saren P, Welgus HG, Kovanen PT. TNF- α and IL-1 β selectively induce expression of 92kDa gelatinase by human macrophages[J]. J Immunol, 1996, 157: 159—165.
- [15] Manginas A, Bei E, Chaidaroglou A, et al. Peripheral levels of matrix metalloproteinase-9, interleukin-6, and C-reactive protein are elevated in patients with acute coronary syndromes: correlations with serum troponin I [J]. Clin Cardiol, 2005, 28(4): 182—186.
- [16] DeLee JG, Charnley J. Radiological demarcation of cemented sockets in total hip replacement [J]. Clin Orthop, 1976, 121: 20—32.
- [17] Engh CA, Massin P, Suthers K. Roentgenographic assessment of the biologic fixation of porous-surfaced femoral components[J]. Clin Orthop, 1990, 257: 107—128.
- [18] Huo MH, Brown BS. What's new in hip arthroplasty [J]. J Bone Joint Surg (Am), 2003, 85 (9): 1852—1864.
- [19] Aldinger PR, Tomson M. Cementless Spotorno tapered titanium stems: excellent 10—15-year survival in 141 young patients[J]. Acta Orthop Scand, 2003, 74(3): 253—258.
- [20] Reikeras O, Gunderson RB. Excellent results of HA coating on a grit-blasted stem: 245 patients followed for 8—12 years [J]. Acta Orthop Scand, 2003, 74(2): 140—145.
- [21] Pieringer H, Labek G, Auersperg V, et al. Cementless total hip arthroplasty in patients older than 80 years of age [J]. J Bone Joint Surg (Br), 2003, 85 (B): 641—645.
- [22] Kim YH. Long-term results of the cementless porous-coated anatomic total hip prosthesis[J]. J Bone Joint Surg (Br), 2005, 87 (B): 623—627.
- [23] Grobler GP, Learmonth ID, Bernstein BP, et al. Ten-year results of a press-fit, porous-coated acetabular component [J]. J Bone Joint Surg (Br), 2005, 87 (B): 786—789.
- [24] Aldinger PR, Breusch SJ, Lukoschek M, et al. A 10 to 15 year follow-up of the cementless Spotorno stem [J]. J Bone Joint Surg (Br), 2003, 85(B): 209—214.
- [25] Harris WH. Traumatic arthritis of the hip after dislocation and acetabular fractures: Treatment by mold arthroplasty [J]. J Bone Joint Surg, 1969, 51(A): 737—755.
- [26] Bellamy N, Buchanan W, Goldsmith CH, et al. Validation study of WOMAC: A health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip and the knee[J]. J Rheumatol, 1988, 15: 1833—1840.
- [27] Whitehouse SL, Lingard EA. Development and testing of a reduced WOMAC function scale [J]. J Bone Joint Surg, 2003, 85(B): 706—711.
- [28] Ware JE, Sherbourne CD. The MOS 36-Item Short-Form Health Survey (SF-36) [J]. Med Care, 1992, 30: 473—483.
- [29] 毛宾尧主编. 人工关节外科学[M]. 第 1 版. 北京: 科学出版社, 1998. 768—776.
- [30] Gruen TA, McNeice GM, Amstutz HC. "Mode of failure" of cemented stem-type femoral components: a radio-graphic analysis of loosening[J]. Clin Orthop, 1979, 141: 17—27.

(上接 317 页)

社, 2004. 275—298.