论著

文章编号:1000-5404(2007)18-1812-03

颈动脉斑块类型与MMP-9的相关性研究

成 勇[1],李朝武[1],涂明义[1],聂海岭[1],帅 杰[2] ([1]中国人民解放军161医院神经内科,武汉 430000;[2]第三军医大学新桥医院神经内科,重庆 400037)

提 要: 目的 通过对不同类型颈动脉斑块患者进行分型并检测其血浆基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)水平,来观察颈动脉斑块易损性与MMP-9的相关性。**方法** 对64例颈动脉斑块患者行颈部血管B超、TCD、头颅CT、MRI、DSA检查及神经功能评分(NIHSS),对患者颈动脉斑块进行分型,并检测其血浆MMP-9、C-反应蛋白(CRP)水平。**结果** 血浆MMP-9水平与斑块易损性呈正相关($r=0.92$, $P<0.01$),即血浆MMP-9水平越高,斑块的稳定性越低。CRP在实验组显著高于对照组,实验组中B、C组显著高于A组($P<0.01$),而B组和C组比较无统计学意义($P>0.05$),提示CRP在颈动脉斑块的患者会升高,但它与颈动脉斑块的易损性的相关性不如MMP-9。**结论** 颈动脉斑块易损性与血浆MMP-9水平呈正相关。我们可以通过影像学及临床检查结合血浆MMP-9水平来判断颈动脉斑块易损性。MMP-9作为易损斑块的潜在血清标志物,在缺血性脑血管病的预防、诊断和治疗上有积极的临床意义。

关键词: 缺血性脑血管病; 基质金属蛋白酶-9; C-反应蛋白

中图法分类号: R345;R446.112;R543.5 **文献标识码**: A

Relationship between MMP-9 and different types of carotid plaque

CHENG Yong[1], LI Chao-wu[1], TU Ming-yi[1], NIE Hai-ling[1], SHUAI Jie[2] ([1]Department of Neurology, No. 161 Hospital of PLA, Wuhan 430000; [2]Department of Neurology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To observe blood plasma matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) of the patients with different types of carotid plaque and investigate the relationship between MMP-9 and carotid plaque vulnerability. **Methods** Totally 64 patients were examined by CDI, TCD, cranium CT, MRI, DSA and nerves function score (NIHSS) to judge their types of carotid plaque. Their plasma levels of MMP-9 and C-reactive protein (CRP) were detected. **Results** Plasma MMP-9 had direct correlation with plaque vulnerability ($r=0.92$, $P<0.01$), viz, the higher blood plasma MMP-9 level, the more vulnerable of the plaque was. Plasma CRP in carotid plaque group was significantly higher than those in health individuals, and those of patients with vulnerable and to-be-vulnerable plaque were higher than those of patients with non-vulnerable plaque ($P<0.01$), but there was no statistically significant between the former 2 groups. **Conclusion** There is a direct correlation of plasma MMP-9 with carotid plaque vulnerability. Carotid plaque vulnerability can be decided by imageology, clinical examination as well as plasma MMP-9 level. MMP-9 can be regarded as latent serum marker of vulnerable plaque, and has clinical significance in synteresis, diagnosis, and therapy of ischemic cerebrovascular disease.

Key words: ischemic cerebrovascular disease; matrix metalloproteinase-9; C-reactive protein

病理研究表明[1,2],粥样硬化斑块基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)表达增多,纤维成分大量降解,使斑块破溃而形成附壁血栓,并容易脱落,从而导致脑梗死等疾病的发生。在脑梗死患者中,基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的表达高于其他MMPs类型[3]。本研究通过各项临床检查手段对不同类型的颈动脉斑块患者进行分组,采用ELISA法测定各组患者血浆MMP-9水平,探讨MMP-9与颈动脉斑块易损性之间的关系,为易损斑块的及时诊断、手术治疗指征提供一项有意义的血浆检测。

作者简介:成 勇(1976-),男,湖北省武汉市人,硕士,主治医师,主要从事缺血性脑血管病的血管内介入诊断及治疗方面的研究。电话:(027)50169064,E-mail: chengyong94@163.com

通讯作者:帅 杰,电话:(023)68774013,E-mail: cerebrosj@yahoo.com.cn

收稿日期:2006-11-21;修回日期:2007-05-10

1　材料与方法

1.1　研究对象

2005 年 3 -9 月我科住院患者中,对所有诊断为缺血性脑血管病(ischemic cerebrovascular disease,ICVD)的患者行颈部血管 B 超检查,B 超证实有颈动脉斑块的患者纳入实验组,共 64 例,男性 49 例,女性 15 例,年龄 43 ~ 83 (64 ± 19)岁。有明显的肝、肾或心功能衰竭,严重全身感染及风湿性心脏病患者均排除在外。

对照组由 20 例健康体格检查者组成,男性 15 例,女性 5 例,年龄 45 ~ 70 (63 ± 9)岁。

1.2　主要仪器及试剂来源

彩色多普勒(ATL 公司 HDI 3000 彩超),经颅多普勒(Elica Century' s Star 脑血流仪),全脑血管造影(Siemens, Pandors1200A 型血管造影机,配置 Dalong, EBH3000 数字减影系统),MMP-9 ELISA 试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),CRP 试剂盒(BD Bioscience 公司)。

1.3　实验分组

对实验组患者完善头颅 CT、MRI、TCD、DSA 等检查,进行神经功能评分(NIHSS)。根据上述检查结果,进行斑块易损性分组。A 组(非易损斑块组):DSA 为 MoriA 型病变[4],且 B 超证实为硬斑,头颅 CT、MRI 无明显病灶或为陈旧性病灶,脑缺血症状轻,NIHSS 评分 <4 分且稳定(共 25 例,男性 18 例,女性 7 例)。B 组(易损斑块组):DSA 为 MoriB-C 型病变,且 B 超证实为软斑或混合斑,头颅 CT、MRI 证实有新鲜病灶,有反复发作 TIA 或有进展性卒中表现者,NIHSS 评分进行性恶化(共 22 例,男性 18 例,女性 4 例)。C 组:斑块性质、临床症状介于 A、B 两组之间者(共 17 例,男性 13 例,女性 4 例)。

1.4　血浆 MMP-9、CRP 检测

CRP 检测送检验科完成,血浆 MMP-9 检测:所有对象均清晨空腹抽取静脉血 3 ml,肝素抗凝,1 000 × g 离心 30 min,-20 ℃冷冻保存。采用 ELISA 法检测 MMP-9 水平。

1.5　统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件行方差分析、t 检验和相关分析。

2　结果

2.1　血浆 MMP-9、CRP 检测结果

ELISA 法测定患者血浆 MMP-9 标准曲线的回归方程:$y = 0.086 + 0.180\,6x$,y 为吸光度值,x 为浓度(ng),按样品 1∶15 稀释计算,$x = 2.709y - 0.231$。各组血浆 MMP-9、CRP 检测结果见表 1。

表 1　各组血浆 MMP-9、CRP 检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-9(ng/ml)	CRP(mg/L)
A 组	25	281.45 ± 120.34^{b}	6.84 ± 4.26^{a}
B 组	22	549.93 ± 153.12^{bde}	10.02 ± 3.43^{ac}
C 组	17	394.36 ± 132.55^{bd}	8.97 ± 3.78^{ac}
对照组	20	68.24 ± 22.87	3.25 ± 1.19

a:$P < 0.05$, b:$P < 0.01$,与对照组比较; c:$P < 0.05$, d:$P < 0.01$,与 A 组比较; e:$P < 0.01$,与 C 组比较

2.2　相关性分析

通过各组间的比较(表 1),可见血浆 MMP-9 水平与斑块易损性呈正相关($r = 0.92$,$P < 0.01$),即血浆 MMP-9 水平越高,斑块的易损性越高。CRP 在实验组显著高于对照组,实验组中 B、C 组显著高于 A 组($P < 0.01$),而 B 组和 C 组比较无统计学意义($P > 0.05$),提示 CRP 在颈动脉斑块的患者升高,但它与颈动脉斑块的易损性的相关性不如 MMP-9。

3　讨论

3.1　颈动脉斑块易损性研究的临床价值

近年来,随着 ICVD 诊断和治疗的飞速发展,特别是脑血管介入治疗的蓬勃开展,颈动脉斑块易损性的研究正在成为广大神经内外科、血管外科和介入放射科等多科医师关注的新热点。目前颈动脉支架成形术(CAS)的手术指针基本参照北美症状性颈动脉内膜切除试验(NASCET)[5],即颈动脉狭窄 >50% 的症状性患者和颈动脉狭窄 >70% 的无症状患者。而在临床工作中我们经常遇到颈动脉狭窄 <50% 的患者发生严重的缺血性卒中,而有些颈动脉狭窄 >70% 的患者由于侧支循环代偿而长期处于无临床症状状态。所以,大家认识到,仅凭颈动脉的狭窄程度来确定 CAS 的手术指征至少是不全面的。

研究表明,稳定斑块与易损斑块是动脉粥样硬化斑块存在的两种状态。大量研究[6]也表明,动脉粥样硬化斑块的稳定与否是高危事件的决定因素,而非动脉管腔的狭窄程度。动脉硬化粥样斑块的存在状态与动脉管腔的狭窄程度并不呈正相关,其稳定性主要由其自身结构所决定。斑块主要由纤维帽及脂核组成,纤维帽的厚度,脂核的大小、流动性决定了斑块的稳定性。纤维帽越厚,脂核越小,斑块通常越稳定。纤维帽越薄,脂核越大,斑块稳定性往往越差。本实验通过颈部血管 B 超对患者颈动脉斑块性质进行区分(软斑、硬斑、混合斑),再通过 TCD、头颅 CT、MRI、DSA 等影像学指标,结合患者的临床症状来判断斑块易损性。这种方法已为广大临床神经介入医师所接受,即根据"罪犯"血管病变的性质来确定手术方案,而非单纯根据血管的狭窄程度。与 NASCET 的标准相比,易损斑块的手术指征是否应该放得更宽一些呢?

我们提出:CAS 的手术指征应首先参照的是颈动脉斑块的易损性,而不是单纯依靠 NASCET 所提的颈动脉狭窄程度。当然,这需要多中心大样本的随机对照实验来证实。

3.2　颈动脉斑块易损性与 MMP-9 的相关性

文献[7]报道,易损斑块内含有大量激活的淋巴

细胞和泡沫样细胞，激活的T淋巴细胞和肥大细胞也明显增多，平滑肌细胞明显减少，表明炎症反应在斑块的破裂中起重要作用。斑块中活化的巨噬细胞、肥大细胞分泌大量的细胞因子，并促使MMPs的分泌增加，MMPs是一类对细胞外基质具有降解活性的蛋白酶超家族，可降解斑块的细胞外基质成分而削弱斑块的强度，在斑块的稳定性中起重要作用[8]。研究表明，MMP-9的活性增强是造成斑块不稳定的主要酶，是影响斑块稳定性的主要因素。Reynolds等[9]采用ELISA方法分析223例急性卒中患者及214例正常人血浆，共检测了超过50种蛋白标志物，有5种蛋白质对脑梗死的特异性及敏感性较高，MMP-9是其中之一。Kalela等[10,11]观察血浆MMP-9水平与冠状动脉造影结果，提出MMP-9与病情呈正相关，MMP-9水平越高，狭窄越严重，提示血浆MMP-9可以作为动脉粥样硬化及脑梗死等病情活跃的标志物，并可作为随访指标。MMP-9降解血管基膜，使内皮通透性增加，白细胞、脂质成分、细胞因子等侵入内膜下，促进动脉粥样硬化的发生和发展。Loftus等[3]分析斑块内MMPs表达水平对临床和经颅多普勒超声微栓子检测结果的关系，发现斑块内MMP-9水平越高，微栓子检测的阳性率越大。提示MMP-9为一种炎性指标，反映动脉粥样硬化的活跃状态。MMP-9水平增高，导致斑块不稳定，易脱落形成栓子，是脑梗死发生及再发的危险因素之一。因此，本研究主要测定了64例颈动脉斑块患者及20例正常人血浆MMP-9水平。我们发现血浆MMP-9水平与斑块易损性呈正相关，即血浆MMP-9水平越高，斑块的稳定性越低。同时我们也检测了另一种炎性标志物CRP；在实验组显著高于对照组，实验组中B、C组显著高于A组，而B组和C组比较无统计学意义（$P>0.05$），提示CRP在颈动脉斑块的患者会升高，但它与颈动脉斑块的易损性的相关性不如MMP-9。

3.3 MMP-9检测的临床应用价值

本实验结果显示，血浆MMP-9水平与颈动脉斑块易损性相关，而且可以影响斑块易损性。测定血浆MMP-9水平可帮助寻找具有不稳定性斑块的易损人群。检测血清MMP-9水平并结合颈动脉斑块的超声影像学改变，对于临床上及早发现易损斑块，及时采取干预措施进而降低缺血性脑卒中危险性可能会有一定的帮助。MMP-9活性受酶基因表达、酶原激活组织及抑制剂抑制3个水平的调控。在转录水平，许多生长因子和组织因子，如白细胞介素-1、血小板源性生长因子、肿瘤坏死因子等，均可诱导MMP-9合成增加；而转化生长因子β、肝素、可的松等，则抑制MMP-9的合成。组织金属蛋白酶抑制剂（TIMP）是内源性MMP-9抑制剂，可阻止MMP-9的活化，抑制或削弱其降解细胞外基质的能力[12]。Rosenbery等应用合成的MMPs抑制剂BB-1101，通过阻止内皮细胞表达MMP-9，抑制了血-脑屏障的早期开放和脑水肿，从而减轻了缺血性脑损伤。Yushchenko等[13]用干扰素β1b治疗原发性进展性多发性硬化性患者，发现干扰素β1b可降低血浆MMP-9水平，缓解病情。从不同水平选择性抑制MMP-9，可显著减轻其对病灶局部的损伤作用。因此，在ICVD的预防和治疗中，抑制MMP-9的表达，应该成为新的靶点及重要的有效途径。

参考文献：

[1] Libby P. Changing concepts of atherogenesis[J]. J Intern Med, 2000, 247(3): 349-358.

[2] 单 岩，徐 析，单 菲. 血清MMP-2，MMP-9水平对急冠脉综合征的诊断及预后判断价值[J]. 第三军医大学学报，2005，27(18)：1909.

[3] Loftus I M, Naylor A R, Goodall S, *et al*. Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques. A potential role in acute plaque disruption[J]. Stroke, 2000, 31(1): 40-47.

[4] Mori T, Fukuoka M, Kazita K, *et al*. Follow-up study after intracranial percutaneous transluminal cerebral balloon angioplasty[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 1998, 19(8): 1525-1533.

[5] Jimenez C, Duong H, Olarte M, *et al*. Recurrent abrupt occlusion after transluminal angioplasty for basilar artery stenosis: case report[J]. Neurosurgery, 1999, 44(1): 210-215.

[6] Beaudeux J L, Giral P, Bruckert E, *et al*. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives[J]. Clin Chem Lab Med, 2004, 42(2): 121-131.

[7] Crisby M, Nordin-Fredriksson G, Shah P K. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization[J]. Circulation, 2001, 103(7): 926-933.

[8] Ferroni P, Basili S, Mattini F, *et al*. Serum metalloproteinase 9 levels in patients with coronary artery disease: a novel marker of inflammation[J]. J Investig Med, 2003, 51(5): 295-300.

[9] Reynolds M A, Kirchick H J, Dahlen J R, *et al*. Early biomarkers of stroke[J]. Clin Chem, 2003, 49(10): 1733-1739.

[10] Kalela A, Koivu T A, Sisto T, *et al*. Serum matrix metalloproteinase-9 concentration in angiographically assessed coronary artery disease[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2002, 62(5): 337-342.

[11] 李胜利，党瑜华，邱春光. 急性冠脉综合征患者血清基质金属蛋白酶-9检测[J]. 郑州大学学报：医学版，2005，40(5)：876-877.

[12] 赵长霖，谢汉平. 蚕蚀性角膜溃疡MMPs/TIMPs表达的研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(15)：1595-1597.

[13] Yushchenko M, Mader M, Elitok E, *et al*. Interferon-beta-1 b decreased matrix metalloproteinase-9 serum levels in primary progressive multiple sclerosis[J]. J Neurol, 2003, 250(10): 1224-1228.

（编辑 王小寒）