

• 临床研究 •

不稳定性心绞痛患者基质金属蛋白酶-1与
细胞分化抗原 40 配体的研究

胡天勇 刘鹏 解金红 关怀敏

【摘要】 目的 探讨白细胞分化抗原 40 配体(CD40L)介导基质金属蛋白酶-1(MMP-1)的表达与分泌在不稳定性心绞痛(UA)发病机制中所起的作用,以及 MMP-1 在 UA 患者危险度分层及预后价值中的作用。方法 选择 UA 患者组 64 例,并按 Braunwald 分级分为 I、II、III 级,选择稳定性心绞痛(SA)患者组 56 例及健康对照组 40 例,采用酶联免疫吸附法分别测定各组血清可溶性 CD40L(sCD40L)、MMP-1 的水平,分析 UA 组 MMP-1 与 sCD40L 之间的相关性,同时分析 MMP-1 水平与心血管事件发生率的相关性。结果 (1)UA 患者组 MMP-1 水平($53.53 \pm 18.25 \mu\text{g/L}$)显著高于 SA 患者组($31.28 \pm 13.64 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$)及对照组($11.58 \pm 9.83 \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$);sCD40L 水平($3.21 \pm 2.78 \mu\text{g/L}$)显著高于 SA 患者组($1.83 \pm 1.37 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$)及对照组($1.19 \pm 1.05 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$)。(2)UA 患者组 MMP-1 与 sCD40L 水平之间呈显著正相关($r = 0.642$, $P < 0.01$)。(3)UA 患者组 MMP-1 水平升高组发生心血管事件明显高于 MMP-1 水平低者组($P < 0.01$)。结论 (1)UA 患者外周血 sCD40L、MMP-1 水平升高,MMP-1 与 CD40L 之间呈显著正相关,提示冠状动脉粥样硬化斑块的破裂可能与 CD40L 介导 MMP-1 的表达与分泌有关。(2)UA 患者 MMP-1 水平与心血管事件发生率之间呈正相关性,提示 MMP-1 可作为 UA 患者危险度分层及预后有价值的生化指标。

【关键词】 心绞痛,不稳定性;抗原,CD;基质金属蛋白酶-1;危险性评估

The relationship between level of matrix metalloproteinase-1
and soluble CD40 ligand in patients with unstable angina

HU Tianyong, LIU Peng, XIE Jinhong, et al

Department of Cardiology, Henan Provincial Chest Hospital, Zhengzhou 450052, China

【Abstract】 Objective To explore the role of expression and secretion of matrix metalloproteinase(MMP-1) mediated by CD40 ligand(CD40L) in pathogenesis in patient with unstable angina(UA) and to investigate the prognostic value and risk stratification of MMP-1 in UA. Methods Concentration of serum soluble CD40L and MMP-1 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay in 64 UA patients, 56 patients with stable angina (SA) and 40 controls. The 64 UA patients were divided into Braunwald's grades I, II and III. The correlations between MMP-1 and CD40L, and between MMP-1 levels and occurrence of cardiovascular events were analyzed. Results (1) Serum levels of MMP-1 were significantly higher in UA patients [$(53.53 \pm 18.25) \mu\text{g/L}$] than in SA patents [$(31.38 \pm 13.64) \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$] and controls [$(11.58 \pm 9.83) \mu\text{g/L}$, $P < 0.05$]; serum levels of CD40L were significantly higher in UA patients [$(3.21 \pm 2.78) \mu\text{g/L}$] than in SA patients [$(1.83 \pm 1.37) \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$] and controls [$(1.19 \pm 1.05) \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$]. (2) MMP-1 level was positively correlated with CD40L level in UA patients ($r = 0.642$, $P < 0.01$), MMP-1 was strongly correlated with CD40L. (3) The incidences of cardiovascular events were significantly higher in patients with elevated MMP-1 levels than in patients with low levels of MMP-1. Conclusion (1) The blood levels of CD40L and MMP-1 were high in UA patients, suggesting that the elevated MMP-1 level may be mediated by CD40L in the rupture of coronary artery plaque. (2) The levels of MMP-1 were pos-

收稿日期:2006-05-12

作者单位:450008 郑州市,河南省胸科医院心内科

作者简介:胡天勇,男,1957年11月生,河南省博爱县人,医学学士,副主任医师。Tel:0371-65280830, E-mail: hutianyong@yahoo.com.cn

itively correlated with the occurrence of cardiovascular events in UA patients, suggesting that the level of MMP-1 is a highly sensitive and specific biochemical marker for assessing risk stratification and prognosis.

【Key words】 angina pectoris, unstable; antigen, CD; matrix metalloproteinase-1; risk assessment

不稳定性心绞痛(unstable angina pectoris, UA)患者的预后一直是临床研究的重点,因此,寻找高敏感、特异性的新的反映斑块不稳定的生化指标具有重要的临床意义。但临床上测定基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)水平与 UA 患者组的危险度分层以及预测发生心血管事件方面是否具有良好的相关性尚缺乏探索。

本研究观察 UA 患者外周血可溶性白细胞分化抗原 40 配体(soluble cluster of differentiation 40 ligand, sCD40L)、MMP-1 水平的变化,探讨 MMP-1 在 UA 患者中升高的临床意义及 CD40L 介导的 MMPs 表达与分泌在 UA 发病机制中所起的作用,为临床识别冠脉粥样斑块破裂寻找敏感的、特异的血清学标志物作一探索,并探讨 MMP-1 的血清学水平在预测 UA 患者预后及危险度分层方面的临床价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择 2004 年 1 月至 12 月在河南省胸科医院心血管内科住院确诊的冠心病患者 120 例,其中 UA 组 64 例,男 38 例,女 26 例;年龄(56.8 ± 13.2)岁,稳定性心绞痛(stable angina, SA)组 56 例,男 34 例,女 22 例,年龄(55.8 ± 14.3)岁,两组病例在年龄、血压、吸烟史、体重、血脂水平以及入院前服用小剂量阿司匹林方面均无统计学差异,对照组为同期正常体检者 40 例,男 24 例,女 16 例,其基本情况与两组病例组无统计学差异。

1.2 病例入选和剔除标准 (1)UA 诊断标准:2002 年 ACC/AHA 不稳定性心绞痛/非 ST 段抬高心肌梗死治疗指南。至少包括以下一项:①静息心绞痛,超过 20min;②新发的心绞痛(CCS Ⅲ级以上);③恶化的心绞痛,持续时间延长、更频繁,发作阈值更低。(2)SA 患者诊断标准:2002 年 ACC/AHA SA 治疗指南。心绞痛反复发作持续 2 个月以上,且发作性质基本稳定。(3)所有 UA 组病例在入选时均按 Braunwald 分级分为 I、II、III 级:I 级:新发生的严重心绞痛或心绞痛恶化,但无静息痛;II 级:过去 1 个月有,但近 48h 内无静息心绞痛;III 级:近 48h 内有静息心绞痛。(4)所有研究对象排除下列情况:急性感染性疾病,恶性肿瘤,风湿类疾病及自身免疫性疾病,应用非甾体消炎药,皮质激素

等药物以及射血分数 $<40\%$ 等。

1.3 研究方法 (1)标本采集与处理:UA 组及 SA 组在入院 24h 内空腹于入院后次日清晨取肘静脉血 3~4ml,在 0~8℃ 冰箱中静置 60min 内离心(3000r/min),离心 10min,取血清分装 3 支冷冻管于 -80℃ 冷冻待测 sCD40L、MMP-1、IL-1 β 。(2)采用酶联免疫吸附法(ELISA)分别测定 sCD40L(Bender Medsystems)、MMP-1、IL-1 β 的血清水平,采用全自动酶标仪(Labsystem, Dragon)进行测定,严格按照试剂盒操作步骤进行操作,同时测定 C-反应蛋白(速率散射比浊法)、血脂、血糖。(3)观察住院期间心血管事件发生率(包括急性心肌梗死、顽固性心绞痛)以及接受血运重建治疗情况。

1.3.1 主要实验仪器设备、试剂 超低温冰箱,酶标仪(Labsystems Dragon Finland),低速离心机(1000~4000r/min 800B 上海),恒温箱(37℃ 上海医疗器械厂),sCD40L(Bender Medsystems),MMP-1(武汉博士德生物工程公司)。

1.3.2 实验方法 血浆指标的 ELISA 检测按照试剂盒说明书操作。

1.4 统计学分析 应用 SPSS10.0 软件包进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料采用单因素方差分析,直线相关法分析指标间相关性, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 MMP-1、sCD40L 的变化 UA 组患者血清 MMP-1、sCD40L 水平显著高于正常对照组($P < 0.01$)及 SA 组($P < 0.01$),SA 组与对照组间差异不显著,MMP-1 水平变化与 sCD40L 水平变化相类似(表 1)。

表 1 3 组间 sCD40L、MMP-1 水平测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	sCD40L($\mu\text{g/L}$)	MMP-1($\mu\text{g/L}$)
UA 组 ($n=64$)	$3.21 \pm 2.78^{*}$	$55.53 \pm 18.25^{*}$
SA 组 ($n=56$)	1.83 ± 1.37	31.28 ± 13.64
对照组 ($n=40$)	1.19 ± 1.05	11.58 ± 9.83

注:与 SA 组比较, $^{*}P < 0.01$,与对照组比较, $^{*}P < 0.01$

2.2 UA 组患者外周血 MMP-1 水平与 sCCD40L 的相关性 MMP-1 与 sCD40L 水平呈显著正相关 ($r=0.642, P<0.01$), 见图 1。

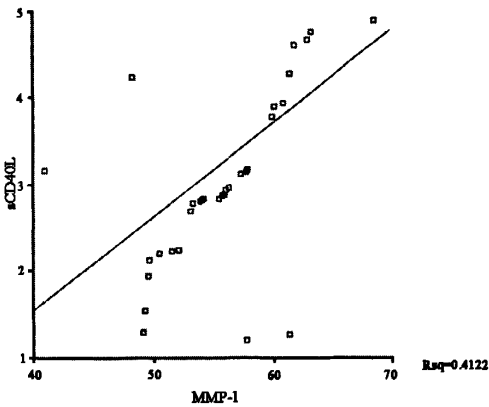


图 1 UA 组 MMP-1 与 sCD40L 的相关性分析

2.3 UA 组 MMP-1 水平与 Brunwald 分级 32 例 UA 患者按血清 MMP-1 水平分为两组。低水平组 36 例, $MMP-1<11.87\mu g/L$; 高水平组 28 例, $MMP-1>11.87\mu g/L$, 高水平组中 Braunwald III 级 16 例, 与低水平组中 4 例相比差异有显著性 ($P<0.01$), 而高水平组中 Braunwald I 级者却比低水平组中低 (4:24, $P<0.01$)。见表 2。

表 2 UA 组 MMP-1 水平与 Braunwald 分级的关系

MMP-1 水平	n	Braunwald 分级		
		I	II	III
$<11.78\mu g/L$	36	24	8	4
$>11.78\mu g/L$	28	4	8	16

注: χ^2 检验, $P=0.005<0.01$

2.4 UA 组患者 MMP-1 水平与心血管事件发生率 随访 3 个月后, $MMP-1<11.78\mu g/L$ 者中急性心肌梗死 2 例, 顽固性心绞痛 6 例, 需血运重建者 4 例; $MMP-1>11.78\mu g/L$ 者中, 急性心肌梗死 6 例, 顽固性心绞痛 16 例, 需血运重建者 12 例, 两组之间心血管事件发生率、需血运重建者差异显著 (分别 $P=0.005<0.01, P=0.022$

<0.01), 见表 3。

3 讨论

冠状动脉粥样硬化斑块的急性破裂常常导致 UA、急性心肌梗死、猝死等急性冠脉综合征, 斑块纤维帽的完整性是冠状动脉粥样硬化斑块是否稳定的一个重要的决定因素, 斑块表面结构的完整性主要依赖于细胞外基质, 特别是纤维状胶原的降解可能是削弱纤维帽承受机械张力的重要因素^[1]。

MMPs 是降解胶原的主要蛋白酶, 间质胶原酶 (interstitial collagenase) 是降解 I、II、III、IV、V、IX 等成分的起始酶和限速酶, 其中对 I、III 类胶原蛋白有重要作用。粥样斑块中的巨噬细胞可分泌多种 MMPs, 降解斑块中的细胞外基质, 使斑块变得容易破裂, 斑块中的平滑肌细胞可表达各种具有免疫活性的 MMPs, 而 MMPs 通过降解细胞外基质又可进一步促进血管平滑肌的迁移和增殖^[2,3], 新近的研究发现, 功能性的 CD40L/CD40 可表达在动脉粥样硬化斑块的內皮细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞表面, 并诱导黏附分子、炎性细胞因子、MMPs、组织因子等明显增加; 而且激活的 T 淋巴细胞经 CD40L/CD40 诱导单核/巨噬细胞、內皮细胞、血管平滑肌细胞表达 MMPs^[4]。

在动脉粥样硬化的发展过程中, 冠状动脉内不稳定斑块的破裂是触发心血管事件的重要因素^[5], 而 MMPs 在破坏粥样斑块的组织结构的完整性、促发斑块破裂导致不稳定冠状动脉疾病方面可能发挥着关键性的作用^[2]。

近年的研究发现, CD40L 可表达在动脉粥样硬化斑块的內皮细胞、血管平滑肌细胞及巨噬细胞表面, 且表达在激活的血小板表面^[7]。笔者研究显示, UA 组患者与对照组及 SA 组相比, 外周血 sCD40L、MMP-1 水平显著升高, 且 MMP-1 与 sCD40L 呈显著正相关, 提示 CD40L 可能是调节 MMPs 表达和分泌的重要调节因子。

表 3 UA 组患者 MMP-1 水平与心血管事件发生率

MMP-1	n	心血管事件发生率			
		急性心肌梗死	顽固性心绞痛	血运重建	总计
$<11.78\mu g/L$	36	2	6	4(11.1%)	8(22.2%)
$>11.78\mu g/L$	28	6	16	12(50%)	22(78.6%)
总计	64	8	22	16	30

注: 2 组间总的心血管事件发生率的比较, χ^2 检验, $P=0.005<0.01$; 需血运重建者的比较, χ^2 检验, $P=0.022<0.01$

笔者研究还发现,UA 组按 Braunwald 分级的严重程度与 MMP-1 升高的水平一致,表明血清 MMP-1 水平可能与 UA 的严重程度有关,更进一步提示血清 MMP-1 水平可能是 UA 临床危险分层的独立预测因子,对这部分患者应该更积极地进行药物干预或介入治疗。MMPs 的检测有助于反映斑块内巨噬细胞的活跃程度,亦是斑块内炎症反应强弱的一种临床血清学标志。

参考文献

- [1] Shah PK. Molecular mechanisms of plaque instability. *Curr Opin Lipidol*, 2007, 18: 492-499.
- [2] Johnson JL. Matrix metalloproteinases; influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2007, 5:265-282.
- [3] Liu P, Sun M, Sader S. Matrix metalloproteinases in cardiovascular disease. *Can J Cardiol*, 2006, 22 (Suppl B): 25B-30B.
- [4] San Miguel Hernández A, Inglada-Galiana L, García Iglesias R, et al. Soluble CD40 ligand; a potential marker of cardiovascular risk. *Rev Clin Esp*, 2007, 207: 418-421.
- [5] Davies MJ. Coronary disease—the pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart*, 2000, 83: 361-366.
- [6] Chakrabarti S, Blair P, Freedman JE. CD40-40L signaling in vascular inflammation. *J Biol Chem*, 2007, 282: 18307-18317.
- [7] Noelle RJ, Ledbetter JA, Araff A. CD40 and its ligand, an essential ligand-receptor pair for thymus-dependent B-cell activation. *Immunol Today*, 1992, 13: 431-433.
- [8] Buchel C, Price C, Friston K. A multimodal language region in the ventral visual pathway. *Nature*, 1998, 394:274-277.
- [9] Reis A, Castro-Caldas A. Illiteracy; a cause for biased cognitive development. *J Int Neuropsychol Soc*, 1997, 3:444-450.
- [10] Bookheimer SYZT, Blaxton T, Gaillard T, et al. Regional cerebral blood flow during object naming and word reading. *Hum Brain Mapp*, 1995, 3: 93-106.
- [11] Wagner AD, Schacter DL, Rotte M, et al. Building memories; remembering and forgetting of verbal experiences as predicted by brain activity. *Science*, 1998, 281:1188-1191.
- [12] Buckner RL, Koutstaal W. Functional neuroimaging studies of encoding, priming, and explicit memory retrieval. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95:891-898.
- [13] Owen AM, Doyon J, Petrides M, et al. Planning and spatial working memory; a positron emission tomography study in humans. *Eur J Neurosci*, 1996, 8: 353-364.
- [14] Baltes PB, Lindenberger U. Emergence of a powerful connection between sensory and cognitive functions across the adult life span; a new window to the study of cognitive aging? *Psychol Aging*, 1997, 12: 12-21.
- [15] Logan JM, Sanders AL, Snyder AZ, et al. Under-recruitment and nonselective recruitment; dissociable neural mechanisms associated with aging. *Neuron*, 2002, 33:827-840.
- [16] Reuter-Lorenz PA, Jonides J, Smith EE, et al. Age differences in the frontal lateralization of verbal and spatial working memory revealed by PET. *J Cogn Neurosci*, 2000, 12:174-187.

(上接第 116 页)