

基质金属蛋白酶 9 及其组织型抑制剂 1 水平与老年脑梗死患者颈动脉粥样硬化程度的关系

刘庆萍, 吴岩峰, 王 辉

(南京医科大学第二附属医院神经内科, 江苏 南京 210003)

[摘要] 目的: 探讨基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 及组织基质金属蛋白酶抑制剂 1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1) 与老年脑梗死患者颈动脉粥样硬化程度的相关性。方法: 选择老年脑梗死患者 260 例, 应用高分辨超声测量颈动脉内膜中层厚度(intimated thickness, IMT)及斑块情况。患者分为 4 组: IMT 正常组(24 例)、IMT 增厚组(62 例)、稳定性斑块组(110 例)和不稳定性斑块组(64 例)。测定血清生化指标、MMP-9、TIMP-1 水平并行组间比较。结果: IMT 正常组、IMT 增厚组、稳定性斑块组和不稳定性斑块组血清 MMP-9、TIMP-1 水平依次增高, 不稳定性斑块组 MMP-9/TIMP-1 比值明显高于其他 3 组 ($P < 0.01$)。以颈动脉是否存在斑块为因变量, 与其相关的因素为自变量, Logistic 回归分析显示, 颈动脉斑块形成与体质指数(body mass index, BMI)、收缩压、甘油三酯(triglycerides, TG)、lgMMP-9 呈正相关。以颈动脉斑块稳定性为因变量, 与其相关的因素为自变量, Logistic 回归分析显示, 颈动脉斑块的稳定性与 BMI、TG、lgMMP-9 呈正相关。结论: 老年脑梗死患者血清 MMP-9 水平、TIMP-1 水平与颈动脉斑块及其稳定性密切相关。

[关键词] 脑梗死; 颈动脉粥样硬化; 基质金属蛋白酶 9; 组织基质金属蛋白酶 1 抑制剂

[中图分类号] R743.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)11-1570-05

Relation of matrix metalloproteinase-9 and its inhibitor with carotid artery atherosclerosis in aged patients with cerebral infarction

LIU Qing-ping, WU Yan-feng, WANG Hui

(Department of Neurology, the Second Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210003, China)

[Abstract] **Objective:** To study the relation of serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) with carotid artery atherosclerosis in elderly patients with cerebral infarction. **Methods:** Two hundred and sixty patients with cerebral infarction were divided into normal intimated thickness (IMT) group ($n = 24$), increased IMT group ($n = 62$), stable plaque group ($n = 110$) and unstable plaque group ($n = 64$). Their IMT and carotid plaques were detected by high resolution B mode ultrasonography. And their serum levels of biochemical indicators, MMP-9 and TIMP-1, were measured and compared. **Results:** The serum MMP-9 and TIMP-1 levels increased gradually in the 4 groups and were higher in the unstable plaque group than in the other three groups ($P < 0.01$). Logistic regression analysis showed that the carotid artery atherosclerosis was positively correlated with the body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP), triglycerides (TG), and lgMMP-9 of patients with cerebral infarction. And the stability of carotid plaque was positively correlated with the BMI, TG and lgMMP-9. **Conclusion:** Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are closely related with stability of carotid plaque in aged patients with cerebral infarction.

[Key words] cerebral infarction; carotid artery atherosclerosis; matrix metalloproteinase 9; tissue inhibitor of metalloproteinase-1

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(11): 1570-1574]

基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 是一组由结缔组织细胞分泌的参与细胞外基质降解的内肽酶, 基质金属蛋白酶组织抑制剂 1 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP-1) 是体内调节 MMPs 活性的一组多功能因子, 是其内源

性抑制物, 二者平衡在细胞外基质合成及降解过程中起重要作用^[1]。细胞外基质的动态平衡异常与机体多种病理过程, 如血管病变、动脉粥样硬化等关系密切^[2-3]。国外研究发现, MMP9 在动脉粥样硬化病变处表达增强, 并能促进动脉粥样硬化斑块破裂^[2]。

近年来,血清 MMP-9、TIMP-1 与糖尿病、冠心病等患者颈动脉粥样硬化程度相关性的报道逐渐增多^[4-5],但在老年脑梗死群体中,类似研究较少。本研究通过探讨 MMP-9、TIMP-1 与老年脑梗死患者颈动脉病变程度的相关性,为脑血管的病因研究提供临床依据。

1 对象与方法

1.1 对象

选择 2011 年 5 月~2012 年 5 月南京医科大学第二附属医院神经内科的脑梗死患者 260 例,其中男 132 例,女 128 例,年龄 60~84 岁,平均(68.97 ± 6.07)岁。所有病例均符合 1995 年全国第四届脑血管病学术会议制定的诊断标准,经过头部 CT 和(或)磁共振成像(MRI)证实,并排除以下疾病者:合并心房颤动、心肌梗死、肝肾功能衰竭,合并感染性疾病应用炎症抑制药物,合并自身免疫性疾病应用免疫抑制剂。根据高分辨血管外超声法测量的颈动脉内膜中层厚度(intimated thickness, IMT)及斑块情况,将患者分为 4 组。IMT 正常组(IMT < 1.0 mm) 24 例,男 12 例,女 12 例,62~83 岁,平均(69.50 ± 6.65)岁;IMT 增厚组(1.0 mm ≤ IMT < 1.3 mm) 62 例,男 32 例,女 30 例,60~82 岁,平均(69.69 ± 5.95)岁;稳定性斑块组 110 例,男 54 例,女 56 例,60~83 岁,平均(69.89 ± 5.66)岁,斑块性质为硬斑;不稳定性斑块组 64 例,男 34 例,女 30 例,60~84 岁,平均(70.55 ± 6.72)岁,斑块性质为软斑和混合斑。4 组间性别和年龄差异无统计学意义。

1.2 方法

1.2.1 实验室检查

用 BECKMAN LX20 全自动生化仪(美国 Beckman Coulter 公司)测血糖、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)。所有患者均测量体质指数(body mass index, BMI)。

1.2.2 MMP-9 和 TIMP1 测定

入选患者清晨空腹,采集肘静脉血约 5ml,采用 ELISA 法,试剂盒由英国 Immunodiagnostic Systems Limited 提供。

1.2.3 颈动脉检测

应用 IU22 彩色多普勒超声仪(荷兰 Philips 公司)测量颈动脉 IMT,探头频率为 5~12 MHz,由专

人操作。患者取低枕仰卧位,肩部垫高,颈后仰,探头置于胸锁乳突肌前缘或后缘,横纵向观察颈总动脉,选取颈动脉膨大下 1 cm 或以颈动脉壁 IMT 最厚处、近心 1 cm、远心 1 cm 3 个点的厚度,左右两侧 6 个点的均值作为平均 IMT 值。同时观察血管腔内有无斑块,将 IMT > 1.3 mm 或局限性回声结构突出管腔(回声可不均匀或伴声影),其高度超过周围 IMT 的 50% 定义为斑块。根据斑块的回声强度分为 3 种类型:①硬斑:表现为强回声伴有声影,与周围外膜组织中的纤维回声相似或更强;②软斑:斑块明显突入管腔内,表现为不同强度的混合性回声,较周围外膜组织中的纤维回声低,表面有连续的回声轮廓及光滑的纤维帽;③混和斑:斑块表面不平,具有软斑和硬斑的 2 种回声特征。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件。计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用单因素方差分析,两两检验采用 LSD-*t* 法。计数资料用百分数表示,采用卡方检验。回归分析采用 Logistic 回归分析。所有的统计检验均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组患者一般临床资料比较

IMT 正常组、IMT 增厚组、稳定性斑块组、不稳定性斑块组 BMI、TG、TC、LDL-C、MMP-9、TIMP-1 水平逐渐增高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);与 IMT 正常组比较,不稳定性斑块组 BMI ($P < 0.01$)、TG ($P = 0.01$)、TC ($P < 0.01$)、MMP-9 ($P < 0.01$)、TIMP-1 ($P < 0.01$)、MMP-9/TIMP-1 比值 ($P < 0.01$) 明显增高;与 IMT 增厚组比较,不稳定性斑块组 BMI ($P < 0.01$)、TG ($P < 0.01$)、TC ($P < 0.01$)、MMP-9 ($P < 0.01$)、TIMP-1 ($P < 0.01$)、MMP-9/TIMP-1 比值 ($P < 0.01$) 明显增高;与稳定性斑块组比较,不稳定性斑块组 BMI ($P = 0.02$)、TG ($P < 0.01$)、TC ($P < 0.01$)、LDL-C ($P < 0.01$)、MMP-9 ($P < 0.01$)、TIMP-1 ($P < 0.01$)、MMP-9/TIMP-1 比值 ($P < 0.01$) 明显增高(表 1)。

2.2 颈动脉粥样硬化程度的 Logistic 回归分析

按是否发生颈动脉粥样硬化斑块分组,无斑块组 86 例,斑块组 174 例,进行 Pearson 相关分析。以颈动脉是否存在斑块为因变量,与其相关的因素 BMI、收缩压、TG、LDL-C、MMP-9、MMP-9/TIMP-1 为自变

表1 4组患者一般临床资料比较

Table 1 The clinical characteristics of patients in 4 groups ($\bar{x} \pm s$)

项目	IMT 正常组 (n = 24)	IMT 增厚组 (n = 62)	稳定性斑块组 (n = 110)	不稳定性斑块组 (n = 64)	F/ χ^2 值	P 值
年龄(岁)	69.50 ± 6.65	69.69 ± 5.95	69.89 ± 5.66	70.55 ± 6.72	0.29	0.84
BMI	22.63 ± 4.27	23.53 ± 3.03	24.69 ± 3.00	25.82 ± 2.74 ^{*#Δ}	9.06	< 0.01
收缩压(mmHg)	137.21 ± 20.24	131.26 ± 17.38	139.31 ± 17.79	136.45 ± 18.60	2.29	0.08
舒张压(mmHg)	80.13 ± 10.58	77.69 ± 9.52	80.46 ± 12.03	83.34 ± 12.77	2.52	0.06
尿酸(mmol/L)	280.79 ± 63.45	297.14 ± 75.03	305.07 ± 81.77	306.61 ± 65.32	0.87	0.46
TG(mmol/L)	1.34 ± 1.31	1.45 ± 1.06	1.60 ± 0.92	2.93 ± 4.39 ^{*#ΔΔ}	5.91	< 0.01
TC(mmol/L)	4.52 ± 0.78	4.43 ± 1.03	4.43 ± 0.89	4.94 ± 1.16 ^{*#ΔΔ}	4.19	0.01
HDL-C(mmol/L)	1.36 ± 0.41	1.10 ± 0.34	1.06 ± 0.32	1.12 ± 0.34	5.64	0.29
LDL-C(mmol/L)	2.27 ± 0.68	2.29 ± 0.65	2.31 ± 0.67	2.49 ± 0.77 ^{*#ΔΔ}	1.26	< 0.01
空腹血糖(mmol/L)	5.58 ± 1.06	5.35 ± 1.15	5.31 ± 1.15	5.52 ± 1.05	0.67	0.57
MMP-9($\mu\text{g/L}$)	519.92 ± 1.38	522.02 ± 2.12	534.83 ± 1.92	569.67 ± 2.28 ^{*#ΔΔ}	7 208	< 0.01
TIMP-1($\mu\text{g/L}$)	1 464.75 ± 1.85	1 479.88 ± 2.07	1 496.49 ± 2.36	1 528.42 ± 1.73 ^{*#ΔΔ}	7 998	< 0.01
MMP-9/TIMP-1 比值	0.36	0.35	0.36	0.37 ^{*#ΔΔ}	2 428	< 0.01

与IMT正常组比较,*P < 0.01;与IMT增厚组比较,*P < 0.01;与稳定斑块组比较,ΔP < 0.05,ΔΔP < 0.01。

量, Logistic 回归分析显示 BMI、收缩压、TG、lgMMP-9 每个指标各增加一个单位, 颈动脉粥样硬化斑块形成的危险度分别增加 0.21 倍、0.02 倍、0.37 倍及 1.02 倍(表 2)。

表2 影响颈动脉粥样硬化斑块形成因素的 Logistic 回归分析

Table 2 The Logistic analysis of the factors influenced carotid artery atherosclerosis development

指标	B	SE	Wald	P 值	OR 值 (95%CI)
BMI	0.19	0.05	17.41	< 0.01	1.21(1.11~1.32)
收缩压	0.02	0.01	4.56	0.03	1.02(1.11~1.03)
TG	0.32	0.14	5.41	0.02	1.37(1.05~1.79)
lgMMP-9	0.71	0.13	28.58	< 0.01	2.02(1.86~2.78)

2.3 Pearson 相关分析结果

按颈动脉斑块是否稳定分组, 对稳定斑块组(110 例), 不稳定斑块组(64 例)进行 Pearson 相关分析。以颈动脉斑块稳定性为因变量, 与其相关的因素 BMI、TG、TC、MMP-9、MMP-9/TIMP-1 为自变量, Logistic 回归分析显示 BMI、TC、lgMMP-9 每个指标各增加一个单位, 颈动脉斑块不稳定的风险度分别增加 0.14 倍、0.66 倍及 0.72 倍(表 3)。

表3 影响斑块稳定性因素的 Logistic 回归分析

Table 3 The Logistic analysis of the factors influenced the stability of atherosclerosis

指标	B	SE	Wald	P 值	OR 值 (95%CI)
BMI	0.13	0.06	5.78	0.02	1.14(1.03~1.28)
TC	0.51	0.17	9.40	< 0.01	1.66(1.20~2.29)
lgMMP-9	0.54	0.16	11.87	< 0.01	1.72(1.21~2.45)

3 讨论

动脉粥样硬化是脑梗死发生的重要影响因素^[6]。在动脉粥样硬化发生发展过程中, 动脉内膜是最早累及的部位。血脂代谢异常、晚期糖基化终产物、氧化应激、内皮功能紊乱、高胰岛素血症和胰岛素抵抗等对大血管损害的早期表现为大血管壁内膜中层增厚, 管壁形成不规则的粥样斑块, 进而导致管腔狭窄。由于颈动脉位置表浅, 易于超声检查, 可作为反映全身动脉粥样硬化的窗口。且大量临床研究证实颈动脉 IMT 是动脉粥样硬化的早期形态学改变, 是全身动脉粥样硬化的早期标志^[7]。斑块的不稳定是脑梗死、心肌梗死等临床疾病的高危因素^[5]。本研究以老年脑梗死患者为研究对象, 颈动脉正常者仅占 9.2%, 其余患者均出现不同程度的动脉粥样硬化斑块, 粥样硬化斑块的发生率为 66.9%, 其中不稳定斑块占 24.6%。这与国内老年高血压人群中颈动脉粥样硬化斑块的发生率大体一致^[8]。这就提示, 颈动脉粥样硬化斑块是心脑血管疾病的高危因素, 对这一群体粥样硬化斑块的监测及防治有着重要的临床意义。

MMP 是一族 Zn²⁺依赖性内肽酶, 在细胞外基质(extracellular matrix, ECM) 降解和组织修复中起着重要作用。在正常组织中, MMP 含量较低且其活性受其天然抑制物——组织金属蛋白酶抑制剂的影响。在病理条件下, MMP 含量明显增高致 ECM 过度降解, 削弱了纤维帽结构, 在斑块破裂过程中起着重要作用^[9]。国内外多项研究表明 MMP-9 与动脉粥样

硬化斑块不稳定性相关。在不稳定斑块中,特别是易发生破裂的斑块肩部区域,MMP-9 含量较高,酶活性明显增高,是造成斑块不稳定的主要因素^[10-11]。在不稳定性斑块中,覆盖于斑块表面纤维帽中的炎性细胞表达并产生 MMP-9,破坏纤维帽,使斑块容易发生破裂,造成心脑血管事件^[12]。既往报道急性冠状动脉综合征患者 MMP-9、TIMP-1 表达水平及 MMP-9/TIMP-1 比值明显高于稳定性心绞痛患者和对照组,提示两者的异常表达和比例失衡将导致粥样硬化斑块易于破裂,引发急性冠脉事件的发生^[13]。

本研究结果示颈动脉粥样硬化斑块组血清 MMP-9、MMP-9/TIMP1 比值的水平明显高于 IMT 正常组,这提示 MMP-9 参与了动脉粥样硬化的形成,血清 MMP-9 水平可作为动脉粥样硬化斑块形成的一个重要标志物。此外,本研究还发现随着脑梗死患者颈动脉粥样硬化程度的加重,血清 MMP-9、TIMP-1 浓度也逐渐增高,并且不稳定斑块(混合斑、软斑)患者血清浓度显著高于稳定斑块(硬斑)和内膜增厚者。这提示 MMP-9、TIMP1 可作为反映颈动脉粥样硬化程度的预测因素,其活性升高可能是急性斑块破裂的预警信号。一项研究中入组 30 例行颈动脉内膜剥离术的患者,根据有无临床症状分为有症状组和无症状组,结果发现 MMP-9 与 TIMP-1 在动脉粥样硬化发生的各个阶段均存在,其中有症状组含量高于对照组及无症状组^[14]。

在相关分析中,本研究发现 BMI、TC、MMP-9 及 TIMP-1 与动脉粥样硬化斑块及其稳定性呈正相关。进一步的回归分析显示,MMP-9、TIMP-1 及其比值同颈动脉粥样硬化斑块的存在及是否稳定独立相关。然而 MMP-9 水平与动脉粥样硬化及脑梗死的关系非常复杂,可能互为因果,MMP-9 水平升高加速了动脉硬化的发生发展,易导致斑块破裂发生脑梗死,而急性脑梗死进一步促使 MMP-9 的上调^[9]。同时 MMP-9、TIMP-1 与动脉粥样硬化斑块的形成与稳定性的关系还受其他因素的影响,比如 BMI、收缩压、舒张压、TG、TC 等^[15]。BMI 每增加一个单位,粥样硬化斑块形成的危险度增加 0.21 倍,而斑块不稳定性增加 0.14 倍。BMI 是目前国际上常用的衡量人体胖瘦程度以及是否健康的一个标准。BMI 本身受多种因素影响,如高血压、低 HDL-C、高 LDL-C、高血糖和吸烟。也就是说通过 BMI 这一指标可以间接反映出机体代谢因素对动脉粥样硬化斑块及其稳定性的影响。

总之,MMP-9 及 TIMP-1 参与了动脉粥样硬化的形成及斑块的不稳定性、破裂及继发脑血栓形成。MMP-9 及 TIMP-1 可能是不稳定性粥样硬化斑块及脑梗死的潜在血清标志物。然而 MMP-9 及 TIMP-1 在多种疾病中均有表达,如肿瘤、心血管疾病、关节炎、眼科疾病、免疫系统疾病、妇科疾病、皮肤病等,特异性并不高,结合本研究结果,若将血清 MMP-9 及 TIMP-1 与颈部血管超声联合检测,能更准确地预测脑血管疾病的风险,对预防脑梗死的发生及复发有着重要的临床意义。

[参考文献]

- [1] Gaubatz JW, Ballantyne CM, Wasserman BA, et al. Association of circulating matrix metalloproteinases with carotid artery characteristics: the Atherosclerosis Risk in Communities Carotid MRI Study[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(5): 1034-1042
- [2] Romero JR, Vasan RS, Beiser AS, et al. Association of carotid artery atherosclerosis with circulating biomarkers of extracellular matrix remodeling: the Framingham Offspring Study[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2008, 17(6): 412-417
- [3] Raffetto JD, Khali RA. Matrix metalloproteinase and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease[J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(2): 346-359
- [4] Kadoglou NP, Vrabas IS, Sailer N, et al. Exercise ameliorates serum MMP-9 and TIMP-2 levels in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Metab*, 2010, 36(2): 144-151
- [5] Szymanowski A, Nijm J, Kristenson M, et al. Elevated levels of circulating matrix metalloproteinase-9 are associated with a dysregulated cortisol rhythm: A case-control study of coronary artery disease[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2011, 36(1): 139-143
- [6] 刘俊洁, 黄金忠, 陈应柱, 等. 动脉粥样硬化性脑梗死患者 MMP-2、3、9 动态变化及与颈部斑块关系研究[J]. *中国血液流变学杂志*, 2010, 20(4): 567-570
- [7] 曹茂红, 柯开富, 周冉冉, 等. 脑梗死患者颈动脉斑块与相关因素分析[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2011, 13(1): 62-64
- [8] 宝辉, 刘杰, 李卫, 等. 基质金属蛋白酶 9 及其抑制剂与老年高血压患者颈动脉粥样硬化程度的相关性[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2012, 14(3): 290-293
- [9] Brunner S, Kim JO, Methe H. Relation of matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio in peripheral circulating CD14⁺ monocytes to progression of coronary artery disease[J]. *Am J Cardiol*, 2010, 105(4): 429-434

[10] Lin RT, Chen CH, Tsai PC, et al. Sex-specific effect of matrix metalloproteinase-9 functional promoter polymorphism on carotid artery stiffness[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 223(2):416-420

[11] Loftus IM, Naylor AR, Goodall S, et al. Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaque. A potential role on acute plaque disruption[J]. *Stroke*, 2003, 31(1):40-47

[12] Graheim CA, Chan RW, Chan DY, et al. Matrix metalloproteinase-9 mRNA: an early prognostic marker for patients with acute stroke[J]. *Clin Biochem*, 2012, 45(4-5):352-355

[13] 张绍洁, 吴黎明. 冠心病患者外周血单个核细胞基质金属蛋白酶 9/组织型金属蛋白酶抑制剂 1 及磷酸化 c-Jun 蛋白表达改变与冠状动脉病变特征的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(3):209-212

[14] V Baroncini LA, Nakao LS, Ramos SG, et al. Assessment of MMP-9, TIMP-1, and COX-2 in normal tissue and in advanced symptomatic and asymptomatic carotid plaques[J]. *Thromb J*, 2011, 9(1):6

[15] Hermus L, Lefrandt J D, Tio R A, et al. Carotid plaque formation and serum biomarkers[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 213(1):21-29

[收稿日期] 2012-09-12

科技出版物中阿拉伯数字的书写规则

1. 为使多位数字便于阅读, 可将数字分成组, 从小数点起, 向左或向右每 3 位分成 1 组, 组间留空隙(约为一个汉字的 1/4), 不得用逗号、圆点或其他方式。
2. 纯小数必须写出小数点前用以定位的“0”。
3. 阿拉伯数字不得与除万、亿及法定计量单位词头外的汉字数字连用。如 453 000 000 可写成 45 300 万或 4.53 亿或 4 亿 5 300 万, 但不能写成 4 亿 5 千 3 百万; 三千元写成 3 000 元或 0.3 万元, 但不能写成 3 千元。
4. 一个用阿拉伯数字书写的数值, 包括小数与百分数, 不能拆开转行。
5. 表示用阿拉伯数字书写的数值范围, 使用波浪号“~”。如 10%~20%, (2~6)×10³ 或 2×10³~6×10³, 30~40 km。

(本刊编辑: 接雅俐)