

急性冠状动脉综合症患者血浆溶血磷脂酸及基质金属蛋白酶-9水平的检测及意义

刘建华¹ 尚桂莲² 董明国¹ 李小好² 叶青跃¹

(1 武汉市科技大学附属天佑医院检验科 湖北 武汉 430064 2 武汉市科技大学附属天佑医院急诊科 湖北 武汉 430064)

摘要 目的 探讨急性冠状动脉综合症(acute coronary syndromes,ACS)患者血浆溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid LPA)及基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9,MMP-9)水平的变化,探讨其在 ACS 中可能的临床意义。方法:入选 100 例 ACS 患者,根据病情将其分为急性心肌梗死(AMI)组 50 例,不稳定型心绞痛(UAP)组 50 例,并入选 40 例健康者作为对照组,分别用无机磷定量法和酶联免疫吸附测定法测定血浆 LPA、MMP-9 水平。结果:AMI 组血浆 LPA、MMP-9 水平显著高于 UAP 组 (LPA 3.29 ± 0.42 vs 2.67 ± 0.37 μ MMP-9 481.7 ± 86.5 vs 237.85 ± 65.34 $P < 0.01$) 并且两组均显著高于对照组 (LPA: 1.82 ± 0.31 ; MMP-9: 87.42 ± 23.85 $P < 0.01$); LPA 与 MMP-9 水平呈正相关($r=0.224$ $P < 0.05$)。结论:LPA 与 MMP-9 可能是提示不稳定斑块的形成、破裂,进而导致急性冠状动脉综合症的危险信号。

关键词 急性冠状动脉综合症 溶血磷脂酸 基质金属蛋白酶-9

中图分类号 R541.4 文献标识码 A 文章编号:1673-6273(2011)10-1956-03

Detection and Significance of Lysophosphatidic Acid and Matrix Metalloproteinase-9 Levels in Patients with Acute Coronary Syndrome

LIU Jian-hua¹, SHANG Gui-lian², DONG Ming-guo¹, LI Xiao-hao², YE Qing-yue¹

(1 Department of clinical laboratory, Tian You Hospital affiliated to Wuhan university of science and technology, 430064, Wuhan China;

2 Department of emergency, Tian You Hospital affiliated to Wuhan university of science and technology, 430064, Wuhan China)

ABSTRACT Objective: To investigate the level of plasma lysophosphatidic acid(LPA) and matrix metalloproteinase-9(MMP-9) in patients with acute coronary syndromes(ACS) and to explore the potential clinical significance. **Method:** A total of 100 patients with ACS were divided into two groups:group AMI(AMI) 50 and group unstable angina (UAP) 50, and 40 healthy persons served as control. Plasma LPA and MMP-9 were determined by inorganic phosphours quantitative method and enzyme-linked immunosorbent assay. **Result:** LPA and MMP-9 levels were significantly higher in AMI than in UAP (LPA 3.29 ± 0.42 vs 2.67 ± 0.37 μ MMP-9 481.7 ± 86.5 vs 237.85 ± 65.34 $P < 0.01$), and in both group were higher than in control group (LPA: 1.82 ± 0.31 ; MMP-9: 87.42 ± 23.85 $P < 0.01$); LPA level was positive correlated with MMP-9 ($r=0.224$ $P < 0.05$). **Conclusion:** LPA and MMP-9 may serve as a potential risk signal to hint the formation and rupture of unstable atherosclerotic plaque of ACS.

Key words: Acute coronary syndrome; lysophosphatidic acid; Matrix metalloproteinase-9

Chinese Library Classification(CLC): R541.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)10-1956-03

急性冠状动脉综合征是以冠状动脉粥样斑块破溃、继发性血栓形成为病理基础的一组临床综合征,包括不稳定型心绞痛、急性心肌梗死和心源性猝死。近年的研究发现,溶血磷脂酸与心脑血管的关系密切,它不但可以作为预警因子反映血小板的活化程度,而且可以作为致病因子促进粥样斑块的发生、发展,并加速血栓的形成^[1-4],而基质金属蛋白酶-9是降解细胞外基质、使斑块纤维帽变薄的重要炎症因子,在动脉粥样硬化斑块内细胞外基质的降解及不稳定斑块的形成过程中起着重要的作用^[5,6]。本研究通过对 ACS 患者血浆 LPA、MMP-9 水平的检测进一步探讨它们在 ACS 中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

作者简介 刘建华(1972-) 男 主管技师 本科 主要研究方向 生化检验与免疫检验。E-mail wtyyxxzx@163.com
(收稿日期 2011-02-03 接受日期 2011-02-28)

从 2009 年 2 月~2010 年 4 月共入选 100 例 ACS 患者,根据病情将其分为 AMI 组 50 例,男 35 例,女 15 例,平均年龄(60.70 ± 11.15)岁;UAP 组 50 例,男 30 例,女 20 例,平均年龄(58.35 ± 10.45)岁;并入选 40 例健康者作为对照组,其中男 25 例,女 15 例,平均年龄(51.87 ± 12.48)岁。排除急性慢性感染、创伤或近期手术者;并发急性脑血管疾病、严重肝肾功能不全、糖尿病、肿瘤、胰腺及甲状腺、恶性肿瘤、慢性结缔组织疾病或免疫性疾病等疾患的患者;以及应用炎症抑制药物者。AMI 组入选标准:发病时间在 12h 内,症状持续时间至少 30min,至少在两个相邻导联 ST 段抬高超过 0.2mV,血清肌酸激酶同工酶水平升高超过正常值水平上限 2 倍以上,肌钙蛋白阳性。UAP 组入选标准:心绞痛诊断标准按世界卫生组织分型,有劳累性心绞痛和(或)静息性心绞痛。

1.2 方法

全部病例均于症状发作后 24h 内空腹采取静脉血 5ml,采血前避免高脂饮食及饮酒,不包括发热、免疫接种、外伤、妊娠

或月经期的患者。LPA 测定 :采取全血后置于抗凝管中 ,于 30 min 内离心分离血小板血浆 ,溶血磷脂酸测定套装试剂盒购自北京泰福仕科技开发公司 ,严格参照试剂盒说明操作。主要步骤为 :脂类抽提采用 Dyer—Bligh 法 ;磷脂的抽提采用正丁醇法 ,溶血磷脂酸纯化采用过滤层析技术 ,最终的溶血磷脂酸含量测定采用改良的无机磷定量方法。浓缩、分离后 ,于 90℃水浴显色 5 min ,取出置室温冷却 35 min。

MMP-9 测定 :采取全血后离心取上清液 ,标本 -20℃保存待测 ,采用酶联免疫吸附测定法检测血清基质金属蛋白酶 -9 (matrix metalloproteinase-9,MMP-9)水平(试剂盒购自美国 R&D

公司 ,自动酶标仪和自动洗板机购自芬兰 Labsystems Dragon 公司)。

1.3 统计学处理

所有数据均用均数±标准差($\bar{x}\pm S$)表示 ,采用 SPSS10.0 统计软件包 ,应用单因素方差分析和 χ^2 检验。

2 结果

2.1 各组 LPA、MMP-9 血浆水平比较

AMI 组血浆 LPA、MMP-9 水平显著高于 UAP 组 ,并且两组均显著高于对照组(表 1)。

表 1 3 组 LPA、MMP-9 血浆水平比较

Table 1 Comparison of the LPA and MMP-9 levels in different groups

组别(Group)	例数(n)	LPA $\mu\text{mol/L}$	MMP-9 ng/ml
心肌梗死组(AMI)	50	3.29± 0.42* Δ	481.7± 86.5* Δ
不稳定心绞痛组(UAP)	50	2.67± 0.37*	237.85± 65.34*
对照组(Control)	40	1.82± 0.31	87.42± 23.85

* 与对照组相比 $P<0.01$, Δ 与 UAP 组相比 $P<0.01$
 $P<0.01$ compared with the control; $\Delta P<0.01$ compared with the Group UAP.

2.2 LPA 与 MMP-9 水平相关性分析

Person 相关分析表明 ACS 患者 LPA 与 MMP-9 水平呈正相关 $r=0.224$ $P<0.05$

3 讨论

溶血磷脂酸是目前已知的体内结构最简单的水溶性甘油磷脂 ,是具有多种生物学作用的磷脂信使 ,其与细胞膜上 G 蛋白偶联受体结合调控细胞的生长、增殖、分化、细胞内信息传递等多种作用^[7,8]。近来研究发现 ,因 LPA 可引起诸如促进血小板聚集、诱导血管平滑肌收缩、刺激血管平滑肌细胞增殖等许多血管反应 ,故认为 LPA 也是一种血管活性物质 ,具有促进动脉硬化和血栓形成的作用^[9,10] ,其过度生成对高血压、动脉粥样硬化、心脑血管卒中等疾病的发生意义重大^[11,12]。

MMP-9 是由中性粒细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞分泌 ,在粥样斑块易损区过度表达的一种 MMP ,对血管壁的基底膜和细胞外成分具有清除作用 ,使纤维帽崩溃影响斑块的稳定性。所以 ,MMP-9 不仅能促进动脉粥样硬化的发展 ,并且是粥样硬化斑块不稳定的主要因素^[13,14]。

关于 ACS 的病理机制目前还未完全明确 ,不稳定斑块破裂并继发血栓是其病理基础。动脉粥样硬化斑块由纤维帽和脂质核心组成 ,其稳定性主要由纤维帽的厚度决定。基质金属蛋白酶(MMP)是降解细胞外基质、导致纤维帽不稳定或破裂的主要酶系。LPA 能活化单核细胞和 T 淋巴细胞 ,促进其表达和分泌 MMP^[15] ,而后的表达和活化是 LPA 导致斑块不稳定或破裂的主要因素之一^[16]。LPA 诱导淋巴细胞迁移和 MMP 的分泌若发生于动脉粥样硬化斑块的肩部 ,则可加速纤维帽降解 ,最终导致斑块破裂。此外 ,LPA 还可通过上调炎性细胞因子、黏附分子的表达及促进炎症细胞的迁移和浸润、抑制巨噬细胞和 T 淋巴细胞的凋亡等途径使斑块不稳定性增加。

本研究显示 ,AMI 组与 UAP 组血浆 LPA、MMP-9 水平显著高于对照组 ,并且 AMI 组显著高于 UAP 组 ,提示患者血浆 LPA、MMP-9 水平与不稳定斑块的形成与破裂密切相关。这可能是由于动脉粥样硬化斑块的脂质核心中含有最高浓度的 LPA^[17] ,当斑块纤维帽破裂后 ,便暴露其中的 LPA ,从而导致局部栓子形成 ,临床上便表现为一过性心肌缺血的症状 ,甚至发生急性心肌梗死。另一方面 ,当斑块破裂局部栓子形成时又可产生更多的 LPA ,从而形成 LPA 产生的正反馈通路 ,即动脉粥样硬化及斑块稳定性的程度决定着血浆中溶血磷脂酸的含量 ,同时 LPA 能活化单核细胞和 T 淋巴细胞 ,促进其表达和分泌 MMP-9 ,故最终导致 ACS 患者血浆 LPA、MMP-9 水平显著增高 ,并且与病情严重程度相关。

此外 ,本研究显示 ACS 患者 LPA 与 MMP-9 水平呈正相关 ,有研究表明^[18] ,大鼠粥样硬化斑块模型中 ,LPA 和 MMP-9 水平均显著升高 ,且两者呈正相关。LPA 具有促内皮损伤 ,增加细胞粘附和内皮素释放等作用 ,所以 ,其可能作为血管壁炎性反应的主要启动因子 ,诱导 AS 的启动 ,并通过促进包括 TNF- α 等炎性因子的释放和增强炎症反应促进 AS 的形成。而炎性因子可以增强 MMP-9 的表达和活性 ,并由此影响 AS 斑块的稳定性。

综上所述 ,LPA 与 MMP-9 可能是提示不稳定斑块的形成、破裂 ,进而导致急性冠状动脉综合征的危险信号 ,联合检测 LPA 与 MMP-9 对临床上识别和预测不稳定斑块并指导治疗可能具有重要意义。

参考文献(Reference)

[1] Noh JY, Lim KM, Bae ON, et al. Procoagulant and prothrombotic activation of human erythrocytes by phosphatidic acid [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2010,299(2):H347-355
[2] Saulnier-Blache JS. Lysophosphatidic acid: a "bioactive" phospholip-

- id [J]. Med Sci (Paris), 2004, 20(8-9): 799-803
- [3] Seewald S, Sachinidis A, Dusing R, et al. Lysophosphatidic acid and intracellular signalling in vascular smooth muscle cells[J]. Atherosclerosis, 1997, 130(1-2): 121-131
- [4] Gennero I, Xuereb JM, Simon MF, et al. Effects of lysophosphatidic acid on proliferation and cytosolic Ca^{++} of human adult vascular smooth muscle cells in culture[J]. Thromb Res, 1999, 94(5): 317-326
- [5] Konstantino Y, Nguyen TT, Wolk R, et al. Potential implications of matrix metalloproteinase-9 in assessment and treatment of coronary artery disease[J]. Biomarkers, 2009, 14(2): 118-129
- [6] Loftus IM, Naylor AR, 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
- [7] Noguchi K, Herr D, Mutoh T. Lysophosphatidic acid (LPA) and its receptors[J]. Curr Opin Pharmacol, 2009, 9(1): 15-23
- [8] Choi JW, Herr DR, Noguchi K. LPA receptors: subtypes and biological actions[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2010, 50: 157-186
- [9] Berk BC. Vascular smooth muscle growth: autocrine growth mechanisms[J]. Physiol. Rev, 2001, 81(3): 999-1030
- [10] Bot M, Bot I, Lopez-Vales R, et al. Atherosclerotic lesion progression changes lysophosphatidic acid homeostasis to favor its accumulation [J]. Am J Pathol. 2010, 176(6): 3073-3084
- [11] Zhang JC, Kim S, Helmke BP, et al. Analysis of SM22(alpha)-deficient mice reveals unanticipated insights into smooth muscle cell differentiation and function[J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(4): 1336-1344
- [12] Xu YJ, Aziz OA, Bhugra P, et al. Potential role of lysophosphatidic acid in hypertension and atherosclerosis [J]. Can J Cardiol, 2003, 19(13): 1525-1536
- [13] Lim CS, Shalhoub J, Gohel MS, et al. Matrix metalloproteinases in vascular disease-a potential therapeutic target? [J]. Curr Vasc Pharmacol, 2010, 8(1): 75-85
- [14] Jones CB, Sane DC, Herrington DM. Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome[J]. Cardiovasc Res, 2003, 59(4): 812-823
- [15] 周志斌, 罗立波, 王思鸿等. 溶血磷脂酸对基质金属蛋白酶-9表达及活性的影响[J]. 中国微循环, 2009, 13(5): 337-340
- Zhou Zhi-Bin, Luo Li-Bo, et al. The Effect of Lysophosphatidic Acid on the Gene Expression and Activity of Matrix Metalloproteinases-9 in THP-1 Cell Line[J]. Journal of Chinese Microcirculation, 2009, 13(5): 337-340
- [16] Siess W, Tigyi G. Thrombogenic and atherogenic activities of lysophosphatidic acid[J]. J Cell Biochim, 2004, 92(6): 1086-1094
- [17] Siess W, Zangl KJ, Essler M, et al. Lysophosphatidic acid mediates the rapid activation of platelets and endothelial cells by mildly oxidized low density lipoprotein and accumulates in human atherosclerotic lesions[J]. Proc Natl Acad Sci US, 1999, 96(12): 6931-6936
- [18] 刘俊艳, 沈宏锐. 阿托伐他汀抗动脉粥样硬化的分子机制研究[J]. 脑与神经疾病杂志, 2006, 14(2): 99-101
- Liu Jun-yan, Shen Hong-rui. Molecular mechanisms for atorvastatin against atherosclerosis [J]. Journal of Brain and Nervous Diseases, 2006, 14(2): 99-101

(上接第 1960 页)

- [10] Nishikawa H, Miura S, Zhang B, et al. Statins induce the regression of left ventricular mass in patients with angina [J]. Circ J, 2004, 68(2): 121-125
- [11] Lee TM, Chou TF, Tsai CH. Effects of pravastatin on cardiomyocyte hypertrophy and ventricular vulnerability in normolipidemic rats after myocardial infarction [J]. J Mol Cell Cardiol, 2003, 35(12): 1449-1459
- [12] Ichiki T, Takeda K, Tokunou T, et al. Downregulation of angiotensin type 1 receptor by hydrophobic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in vascular smooth muscle cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21(12): 1896-1901
- [13] Nahrendorf M, Hu K, Hiler KH, et al. Impact of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibition on left ventricular remodeling after myocardial infarction: all experimental serial cardiac magnetic resonance imaging study [J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 40(9): 1695-1700
- [14] Ogata Y, Takahashi M, Takeuchi K, et al. Fluvastatin induces apoptosis in rat neonatal cardiac myocytes: a possible mechanism of statin-attenuated cardiac hypertrophy [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2002, 40: 907-915
- [15] Irukayama, Tamobe Y, Miyauchi T, Sakai S, et al. Endothelin-1-induced cardiac hypertrophy is inhibited by activation of peroxisome proliferator-activated receptor partly via blockade of endothelin receptor
- NH2-teminal kinase pathway [J]. J Circulation, 2004, 109(7): 904-910
- [16] Rosamond W, Flegal K, Friday G, et al. Heart disease and stroke statistics-2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee[J]. Circulation, 2007, 115(5): 169-171
- [17] Leri A, Kajstura J, Anversa P, et al. Myocardial regeneration and stem cell repair[J]. Curr Probl Cardiol, 2008, 33(3): 101-103
- [18] Zhou B, Ma Q, Rajagopal S, et al. Epicardial progenitors contribute to the cardiomyocyte lineage in the developing heart [J]. Nature, 2008, 454(7): 109-113
- [19] Cai CL, Martin JC, Sun Y, et al. Amyocardial lineage derives from Tbx18 epicardial cells[J]. Nature, 2008, 454(7): 104-108
- [20] Suzuki J, Watanabe F, Takenaka K, et al. New subtype of apical hypertrophic cardiomyopathy identified with nuclear magnetic resonance imaging as an underlying cause of markedly inverted T waves [J]. J Am Coll Cardiol, 2003, 22(4): 1176-1181
- [21] 张月军, 杨承健, 徐欣, 等. 急性心肌梗死患者溶栓后不同肝素抗凝疗效分析[J]. 中国微循环, 2008, 12(6): 368-369
- ZHANG Yue ju, YANG Cheng jian, XU Xin, et al. Effectiveness of Unfractionated Heparin and a Low-Molecular-Weight Heparin Following rt-PA Thrombolytic Therapy on Patients with Acute Myocardial Infarction[J]. J Chin Microcirc, 2008, 12(6): 368-369