

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.25.007

文章编号: 1005-8982 (2018) 25-0032-05

## 冠心病患者外周血中 EMMPRIN 表达量与斑块特征、基质金属蛋白酶含量的关系研究

赵玉军<sup>1</sup>, 李波<sup>2</sup>

(1. 山东省淄博市第一医院 心内一科, 山东 淄博 255200; 2. 山东省淄博市中心医院 心内二科, 山东 淄博 255036)

**摘要:** **目的** 研究冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)患者外周血中细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(EMMPRIN)表达量与斑块特征、基质金属蛋白酶(MMP)含量的关系。**方法** 选取2013年6月-2015年10月诊断为稳定型心绞痛(SAP)的69例患者和急性冠状动脉综合征(ACS)的47例患者分别纳入SAP组和ACS组,选择同期体检的57例健康志愿者纳入对照组,采用冠状动脉成像检查判断冠状动脉粥样斑块的性质,采集外周血并测定EMMPRIN的表达量以及MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14的含量。**结果** SAP组和ACS组外周血单个核细胞表面EMMPRIN的荧光强度以及血清中MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14的含量高于对照组,SAP组外周血单个核细胞表面EMMPRIN的荧光强度以及血清中MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14的含量高于ACS组;SAP组和ACS组患者斑块性质越不稳定,外周血单个核细胞表面EMMPRIN的荧光强度以及血清中MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14的含量越高;外周血单个核细胞表面EMMPRIN的荧光强度与血清中MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14的含量呈正相关。**结论** 冠心病患者外周血中EMMPRIN表达量上调与粥样斑块性质不稳定、MMPs含量增加有关。

**关键词:** 冠状动脉粥样硬化性心脏病; 斑块性质; 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子; 基质金属蛋白酶  
**中图分类号:** R541.4 **文献标识码:** A

## Relationships of peripheral blood EMMPRIN expression with plaque characteristics and MMPs content in patients with coronary heart disease

Yu-jun Zhao<sup>1</sup>, Bo Li<sup>2</sup>

(1. The First Department of Cardiology, the First Hospital of Zibo City, Zibo, Shandong 255200, China;  
2. The Second Department of Cardiology, Central Hospital of Zibo City, Zibo, Shandong 255036, China)

**Abstract: Objective** To study the relationships of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) expression in peripheral blood of the patients with coronary heart disease with plaque characteristics and content of matrix metalloproteinases (MMPs). **Methods** In this study, 69 patients diagnosed as stable angina pectoris (SAP) and 47 patients diagnosed as acute coronary syndrome (ACS) from June 2013 to October 2015 were separately enrolled into the SAP group and the ACS group, 57 cases of healthy volunteers during the same period were enrolled in the control group. Characteristics of coronary atherosclerotic plaque were judged by coronary artery imaging; peripheral blood was collected, EMMPRIN expression and the content of MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-14 were determined. **Results** EMMPRIN fluorescence intensity of peripheral blood mononuclear cells and serum levels

of MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-14 of the SAP group and the ACS group were significantly higher than those of the control group, EMMPRIN fluorescence intensity of peripheral blood mononuclear cells and serum levels of MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-14 of the ACS group were significantly higher than those of the SAP group. The less stable the plaque properties, the higher the EMMPRIN fluorescence intensity of peripheral blood mononuclear cells and serum levels of MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-14 of the SAP group and the ACS group. EMMPRIN fluorescence intensity of peripheral blood mononuclear cells was positively correlated with serum levels of MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-14. **Conclusions** Up-regulation of EMMPRIN expression in peripheral blood of the patients with coronary heart disease is related to the unstable atherosclerotic plaque and the increase of MMPs content.

**Keywords:** coronary atherosclerotic heart disease; plaque properties; extracellular matrix metalloproteinase inducer; matrix metalloproteinase

冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)是临床上最常见的心血管系统疾病之一,冠状动脉粥样斑块形成、管腔狭窄是冠心病的病理基础。冠心病患者中稳定型心绞痛的斑块性质稳定、临床症状较轻,急性冠状动脉综合征患者的斑块性质不稳定、斑块破裂会造成冠状动脉内血栓形成并引起心肌发生缺血缺氧性损伤。目前,引起动脉粥样斑块性质改变的关键分子尚未明确。细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN)是近年来新发现的免疫球蛋白超家族成员,已有离体研究证实 EMMPRIN 与基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)的表达具有相关性并且能够影响粥样斑块的性质<sup>[1-2]</sup>。但是,关于冠心病患者体内 EMMPRIN 的表达量及其与粥样斑块性质、MMPs 含量的关系尚不明确。在下列研究中,笔者分析了冠心病患者外周血中 EMMPRIN 表达量与斑块特征、基质金属蛋白酶含量的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2013 年 6 月-2015 年 10 月在山东省淄博市第一医院确诊为稳定型心绞痛(stable angina pectoris, SAP)的 69 例患者和急性冠状动脉综合征(acute coronary syndromes, ACS)的 47 例患者作为研究对象。纳入标准:①经冠状动脉造影明确存在主要冠状动脉直径狭窄超过 50%, 确诊为冠心病;②符合美国心脏病学会 SAP 和 ACS 的诊断标准;③病历资料完整、血液标本均已留取。排除标准:①合并恶性肿瘤的患者;②合并慢性肝脏疾病和肝纤维化的患者;③合并慢性肾脏疾病的患者;④合并糖尿病的患者。选择

同期在本院体检的 57 例健康志愿者作为研究的对照组,均无心脑血管疾病病史。SAP 组中男性 42 例,女性 27 例,年龄( $51.3 \pm 6.6$ )岁;ACS 组中男性 29 例,女性 18 例,年龄( $50.4 \pm 6.2$ )岁;对照组中男性 35 例,女性 22 例,年龄( $49.7 \pm 6.1$ )岁。3 组受试者一般资料的比较差异无统计学意义。

### 1.2 斑块性质的评估方法

采用 64 层螺旋 CT 扫描机进行冠状动脉成像检查,方法如下:经右侧肘静脉以 5.0 ml/s 的速度注射碘海醇 50 ~ 60 ml,完成后以相同速度注射生理盐水 40 ml,嘱患者吸气后屏气,从气管分叉到肝脏上缘进行扫描。获取三维重建图像后对冠状动脉粥样斑块的 CT 值进行测量,按照下列方法判断斑块性质:CT 值 <60 HU 为软斑块、CT 值 60 ~ 129 HU 为纤维斑块、CT 值  $\geq 130$  HU 为钙化斑块。

### 1.3 外周血中 EMMPRIN 表达量的检测方法

冠状动脉成像检查前采集外周静脉血 3 ml,枸橼酸钠抗凝后加入淋巴细胞分离液、密度梯度离心后分离外周血单个核细胞,用流式细胞仪检测液重悬细胞并调节密度值  $1 \times 10^6$  个/L,而后分别赋予 PE 标记的 CD14 荧光抗体、FITC 标记的 EMMPRIN 荧光抗体,20 min 后用 PBS 缓冲液洗涤、离心 2 遍,最后在流式细胞仪上测定外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的平均荧光强度。

### 1.4 血清中 MMPs 含量的检测方法

冠状动脉成像检查前采集外周静脉血 3 ml,室温静置 20 min 后在离心机中 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清后采用酶联免疫吸附试剂盒测定血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量。

### 1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件,计量资料以

均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间分析采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD- $t$  检验, 相关性采用 Pearson 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的表达量及血清中 MMP 的含量比较

3组外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的平均荧光强度以及血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 10.382$ 、 $7.086$ 、 $9.494$ 、 $17.594$ 、 $12.373$  和  $14.451$ , 均  $P = 0.000$ )。进一步两两比较显示, 与对照组比较, SAP 组外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的平均荧光强度以及血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量均增高 ( $t = 10.382$ 、 $7.086$ 、 $9.494$ 、 $17.594$ 、 $12.373$  和  $14.451$ , 均  $P = 0.000$ ), ACS 组外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的平均荧光强度以及血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量均增高 ( $t = 16.731$ 、 $10.362$ 、 $12.781$ 、 $21.385$ 、 $15.589$  和  $17.448$ , 均  $P = 0.000$ ); 与 SAP 组比较, ACS 组外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的平均荧光强度以及血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量均增高 ( $t = 12.351$ 、 $9.262$ 、 $8.385$ 、 $15.132$ 、 $11.782$  和  $13.672$ , 均  $P = 0.000$ )。见表 1。

### 2.2 SAP 组和 ASC 组患者中不同斑块类型与外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 表达量、血清中 MMP 含量的关系

SAP 组和 ASC 组中软斑块、纤维斑块、钙化斑块患者外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的平均荧光强度以及血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 8.935$ 、 $7.767$ 、 $12.585$ 、 $15.485$ 、 $13.472$  和  $17.680$ , 均  $P = 0.000$ )。进一步两两比较显示, 与钙化斑块患者比较, 纤维斑块患者外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的平均荧光强度以及血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量均增高 ( $t = 7.521$ 、 $6.624$ 、 $8.523$ 、 $12.452$ 、 $9.521$  和  $11.365$ , 均  $P = 0.000$ ), 软斑块患者外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的平均荧光强度以及血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量均增高 ( $t = 13.352$ 、 $8.362$ 、 $8.523$ 、 $14.785$ 、 $11.385$  和  $13.929$ , 均  $P = 0.000$ ); 与纤维斑块患者比较, 软斑块患者外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的平均荧光强度以及血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量均增高 ( $t = 11.781$ 、 $9.982$ 、 $12.378$ 、 $12.152$ 、 $12.352$  和  $10.523$ , 均  $P = 0.000$ )。见表 2。

### 2.3 EMMPRIN 表达量与 MMP 含量的相关性

Pearson 检验显示, 外周血单个核细胞表面

表 1 3组 EMMPRIN 表达量及 MMP 含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	EMMPRIN/ (MFI)	MMP-1/ (ng/ml)	MMP-2/ (ng/ml)	MMP-3/ (ng/ml)	MMP-9/ (ng/ml)	MMP-14/ (ng/ml)
SAP 组 ( $n = 69$ )	$9.34 \pm 0.95^{1)}$	$1.03 \pm 0.13^{1)}$	$203.46 \pm 26.71^{1)}$	$93.42 \pm 10.34^{1)}$	$263.45 \pm 31.35^{1)}$	$89.54 \pm 10.34^{1)}$
ACS 组 ( $n = 47$ )	$13.54 \pm 1.92^{1)2)}$	$1.76 \pm 0.22^{1)2)}$	$334.54 \pm 42.58^{1)2)}$	$175.75 \pm 22.41^{1)2)}$	$436.54 \pm 56.71^{1)2)}$	$142.32 \pm 15.59^{1)2)}$
对照组 ( $n = 57$ )	$5.57 \pm 0.67$	$0.58 \pm 0.08$	$142.36 \pm 17.65$	$53.67 \pm 7.86$	$176.88 \pm 22.52$	$38.79 \pm 5.52$
$F$ 值	10.382	7.086	9.494	17.594	12.373	14.451
$P$ 值	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 1) 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与 SAP 组比较,  $P < 0.05$

表 2 不同斑块类型患者的 EMMPRIN 表达量及 MMP 含量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

斑块类型	EMMPRIN/ (MFI)	MMP-1/ (ng/ml)	MMP-2/ (ng/ml)	MMP-3/ (ng/ml)	MMP-9/ (ng/ml)	MMP-14/ (ng/ml)
软斑块	$16.79 \pm 2.23^{1)2)}$	$1.95 \pm 0.24^{1)2)}$	$394.12 \pm 53.52^{1)2)}$	$215.54 \pm 25.78^{1)2)}$	$513.42 \pm 65.68^{1)2)}$	$193.54 \pm 22.34^{1)2)}$
纤维斑块	$11.04 \pm 1.58^{1)}$	$1.34 \pm 0.17^{1)}$	$274.59 \pm 35.23^{1)}$	$143.12 \pm 15.58^{1)}$	$332.57 \pm 42.69^{1)}$	$104.31 \pm 13.17^{1)}$
钙化斑块	$8.63 \pm 0.93$	$0.91 \pm 0.12$	$175.38 \pm 22.15$	$80.48 \pm 7.78$	$234.51 \pm 29.51$	$69.36 \pm 8.35$
$F$ 值	8.935	7.767	12.585	15.485	13.472	17.680
$P$ 值	0.001	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 1) 与钙化斑块患者比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与纤维斑块患者比较,  $P < 0.05$

EMMPRIN 的荧光强度与血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量呈正相关 ( $r=0.752$ 、 $0.592$ 、 $0.661$ 、 $0.703$  和  $0.638$ ,  $P=0.005$ 、 $0.007$ 、 $0.002$ 、 $0.009$  和  $0.008$ )。

### 3 讨论

EMMPRIN 是近年来新发现的一类高糖基化跨膜蛋白, 属于免疫球蛋白超家族, 是 MMPs 分子表达的上游调控因子。近年来, MMPs 表达异常与心脑血管疾病、动脉粥样硬化的关系受到了越来越多的重视, 多种 MMP 分子被证实能够造成动脉粥样斑块纤维帽降解、引起斑块性质改变及斑块破裂, 加速冠心病的病理进程并增加心肌梗死的发生风险<sup>[3-4]</sup>。与动脉粥样斑块性质改变有关的 MMP 分子众多, 但是引起多种 MMPs 分子含量改变的上游机制却仍未明确, EMMPRIN 是否通过调节 MMPs 的表达来参与冠心病的发生和发展也尚未得到证实。本研究通过分析 SAP 患者和 ACS 患者外周血中 EMMPRIN 的表达量发现, SAP 组和 ACS 组外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的荧光强度高于对照组且 ACS 组外周血中 EMMPRIN 的荧光强度高于 SAP 组。这就说明外周血中 EMMPRIN 的高表达参与了冠心病病情的发展和发生, 在 SAP 患者和 ACS 患者体内均发现 EMMPRIN 表达上调; 并且在 SAP 发展为 ACS 的过程中, EMMPRIN 的表达进一步增多。

动脉粥样硬化是冠心病患者最基本的病理变化, 冠状动脉内粥样斑块形成会造成管腔狭窄、血供减少, 进而出现心肌缺血的临床症状和体征。粥样斑块的性质是决定冠心病病情严重程度的关键病理因素, SAP 患者的粥样斑块稳定、患者仅在过度劳累后出现心绞痛的症状; ACS 患者的粥样斑块性质不稳定、纤维帽较薄甚至破裂, 冠状动脉内血栓形成并且会造成心肌发生缺血性坏死。为明确 SAP 患者和 ACS 患者外周血中 EMMPRIN 表达量改变与冠状动脉粥样斑块性质变化的关系, 本课题组通过冠状动脉 CT 成像对斑块性质进行判断并分析不同斑块性质对 EMMPRIN 表达量的影响。钙化斑块、纤维斑块以及软斑块的 CT 值呈逐步增加趋势<sup>[5-6]</sup>, 外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的荧光强度呈现出软斑块 > 纤维斑块 > 钙化斑块的趋势。表明 SAP 患者和 ACS 患者外周血中 EMMPRIN 表达量的改变与冠状动脉斑块性质的改变有关, EMMPRIN 表达量越高、斑块性质越不稳定, 患

者发生斑块破裂以及心肌缺血性坏死的风险也随之增大。

近年来关于 EMMPRIN 功能的研究主要集中在肿瘤学, 多项研究证实<sup>[7-8]</sup>, EMMPRIN 能够增加多种恶性肿瘤细胞中 MMPs 的表达、促进细胞外基质及基底膜的降低。在心脑血管疾病领域, SCHULZ<sup>[1]</sup> 的研究证实, EMMPRIN 和 MMP-9 均在颈动脉粥样斑块的纤维帽结构中高表达且两者高表达的区域较为一致。但是, 冠心病患者体内受到 EMMPRIN 调控的 MMPs 分子种类并不明确。MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 是目前已经证实与冠状动脉粥样硬化病理进程相关的 MMPs 分子, 对粥样斑块纤维帽中的细胞外基质具有水解作用, 能够造成纤维帽变薄并增加斑块破裂的风险<sup>[9-12]</sup>。本课题组通过对血清中上述 MMPs 分子含量的分析发现, SAP 组和 ACS 组患者的血清 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 含量均升高, 且斑块性质越不稳定血清中上述 MMPs 分子的含量越高。为明确冠心病患者体内 EMMPRIN 对 MMPs 表达的调控作用, 本研究分析 EMMPRIN 表达量与 MMPs 的相关性, 结果显示, 外周血单个核细胞表面 EMMPRIN 的荧光强度与血清中 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 的含量呈正相关。这就说明冠心病患者体内高表达的 EMMPRIN 参与了 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-14 生成增多的过程。

综上所述, 冠心病患者外周血中 EMMPRIN 表达量上调与粥样斑块性质不稳定、MMPs 含量增加有关。

### 参 考 文 献:

- [1] SCHULZ C, VON BRÜHL M L, BAROCKE V, et al. EMMPRIN (CD147/basigin) mediates platelet-monocyte interactions in vivo and augments monocyte recruitment to the vascular wall[J]. *J Thromb Haemost*, 2011, 9(5): 1007-1019.
- [2] 张忠, 黄若兰, 莫入, 等. 动脉粥样硬化易损斑块与内质网应激相关机制的研究进展[J]. *海南医学院学报*, 2016, 22(9): 934-936.
- [3] 李凤, 李淮玉. 颈动脉粥样硬化斑块易损性的临床评估手段[J]. *中国脑血管病杂志*, 2015, 12(8): 443-448.
- [4] IYER R P, JUNG M, LINDSEY M L. MMP-9 signaling in the left ventricle following myocardial infarction[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 311(1): 190-198.
- [5] 冯少仁, 邹卫兵, 肖琼, 等. 64 层螺旋 CT 对隐匿型冠状动脉粥样硬化性心脏病冠状动脉粥样斑块性质的诊断价值[J]. *中国现代医学杂志*, 2014, 24(32): 56-59.
- [6] MUNNUR R K, NERLEKAR N, WONG D T. Imaging of coronary atherosclerosis in various susceptible groups[J]. *Cardiovasc Diagn*



- Ther, 2016, 6(4): 382-395.
- [7] XU Q, CAO X, PAN J, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) remodels the extracellular matrix through enhancing matrix metalloproteinases (MMPs) and inhibiting tissue inhibitors of MMPs expression in HPV-positive cervical cancer cells[J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2015, 36(5): 539-545.
- [8] YUAN Y, SHEN N, YANG S Y, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer and matrix metalloproteinase-2 overexpression is associated with loss of hormone receptor expression and poor prognosis in endometrial cancer[J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(1): 342-348.
- [9] 李强, 郑颖, 羊慧君, 等. 基线血浆基质金属蛋白酶 -1 含量与冠状动脉造影术患者全死因死亡率的相关性分析 [J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 26(3): 76-81.
- [10] CAVUSOGLU E, MARMUR J D, KASSOTIS J T, et al. Usefulness of plasma matrix metalloproteinase-3 levels to predict myocardial infarction in men with and without acute coronary syndrome[J]. *Am J Cardiol*, 2016, 117(6): 881-886.
- [11] 肖宪杰, 纪焕春. 冠状动脉粥样硬化性心脏病患者血清 MMP-2、-9 及 IL-6 水平及意义 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(22): 6314-6315.
- [12] 李宇, 高阅春, 任学军, 等. 冠状动脉粥样硬化斑块与 MMP2、MMP9 水平的关系 [J]. *海南医学院学报*, 2014, 20(1): 38-40.
- (张蕾 编辑)