

基质金属蛋白酶-1 基因多态性与动脉粥样硬化性脑梗死相关性研究*

张晋霞¹, 张志勇², 刘 斌¹, 史富华³, 李绍彩⁴, 张文彦¹, 张 蕊¹ (河北联合大学附属医院: 1. 神经内科, 2. 神经外科, 河北唐山 063000; 遵化市人民医院: 3. 神经内科, 4. 心内科, 河北遵化 064200)

【摘要】 目的 研究基质金属蛋白酶-1(MMP-1)基因多态性与动脉粥样硬化性脑梗死(ACI)的相关性。**方法** 检测 95 例 ACI 患者(不稳定斑块组 51 例、稳定斑块组 44 例)和 58 例体检健康者外周血 MMP-1 水平及 MMP-1 基因启动子区上游-1 607 bp 处 1G 或 2G 单核苷酸多态性, 比较不同 MMP-1 基因型频率和外周血 MMP-1 水平。**结果** 不稳定斑块组 2G/2G 基因型频率和 2G 等位基因频率显著高于稳定斑块组, 二者 2G/2G 基因型频率与 2G 等位基因频率均显著高于对照组, 且不稳定斑块组和稳定斑块组外周血 MMP-1 水平均高于对照组($P < 0.05$)。**结论** MMP-1 基因多态性和外周血 MMP-1 水平均与 ACI 具有相关性。

【关键词】 动脉粥样硬化; 基质金属蛋白酶-1; 基因多态性; 脑梗死

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.12.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)12-1491-02

Relationship between matrix metalloproteinase-1 gene polymorphism and atherosclerotic cerebral infarction* ZHANG Jin-xia¹, ZHANG Zhi-yong², LIU Bin¹, SHI Fu-hua³, LI Shao-cai⁴, ZHANG Wenyan¹, ZHANG Rui¹ (1. Department of Neurology, 2. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Hebei United University, Tangshan, Hebei 063000, China; 3. Department of Neurology, 4. Department of Cardiology, People's Hospital of Zunhua, Zunhua, Hebei 064200, China)

【Abstract】 Objective To study the relevance of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) gene polymorphism and atherosclerotic cerebral infarction (ACI). **Methods** 95 patients with ACI, including 51 cases for unstable plaques group and 44 cases for stable plaques group, and 58 cases of healthy subjects (control group) were detected for 1G or 2G single nucleotide polymorphisms at -1 607 bp in upstream of MMP-1 gene promoter region and peripheral blood level of MMP-1. All results were compared between the three groups. **Results** The 2G/2G genotype and 2G allele frequency in unstable plaque group were significantly higher than those in stable plaque group, those in the two patient groups were significantly higher than in control group, and MMP-1 levels in the two patient groups were higher than that in control group ($P < 0.05$). **Conclusion** MMP-1 gene polymorphism and blood MMP-1 level might be associated with the incidence of ACI.

【Key words】 atherosclerosis; matrix metalloproteinase-1; gene polymorphism; cerebral infarction

颈动脉粥样硬化导致动脉粥样硬化脑梗死(ACI)的病理机制主要包括血管腔狭窄致使脑组织缺血和斑块脱落造成栓塞, 超过 60% 的 ACI 患者由后者所致^[1]。因此, 斑块不稳定性研究对预防 ACI 尤其重要。基质金属蛋白酶-1(MMP-1)基因转录起始点的插入或缺失突变, 对 MMP-1 表达有不同影响, 使其对动脉粥样硬化斑块的降解作用不同, 影响动脉粥样硬化发展^[2]。本研究分析了 ACI 患者 MMP-1 基因突变和外周血 MMP-1 水平的关系, 旨在为颈动脉斑块的破溃、脱落及斑块内出血等引起 ACI 提供预防治疗参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 河北联合大学附属医院 2010 年 10 月至 2012 年 10 月收治的 ACI 患者 95 例, 均符合全国第四届脑血管病学术会议《各类脑血管疾病诊断要点》中的诊断标准, 并经颈动脉超声检查证实存在颈动脉硬化; 所有患者无外伤、动脉炎症、血液疾病、囊肿、药物和脑血管畸形导致的脑梗死; 根据颈动脉超声检查结果分为不稳定斑块组 51 例和稳定斑块组 44 例。不稳定斑块组患者中, 男 28 例、女 23 例, 年龄 48~76 岁, 平均 54.6 岁; 稳定斑块组患者中, 男 29 例、女 15 例, 年龄 47~81 岁, 平均 56.3 岁。同期于该院体检健康者 58 例纳入对照组, 男 37 例、女 21 例, 年龄 49~73 岁, 平均 61.45 岁, 均

无主要脏器系统疾病, 颈动脉无硬化现象, 无脑梗死家族史和病史。性别、年龄各组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 MMP-1 基因多态性检测 采集受检者静脉血 3 mL, 酚抽提法提取白细胞 DNA; 5% 琼脂糖凝胶电泳荧光法估测 DNA 浓度, 稀释至 20 $\mu\text{g/L}$ ^[3]; 采用 PerKin-Elme 公司聚合酶链反应扩增仪扩增 MMP-1 基因特异片段, 上游引物: 5'-TCG TGA GAA TGT CTT CCC ATT-3', 下游引物: 5'-TCT TGG ATT GAT ITG AGA TAA GTG AAA TC-3', 反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 35 个循环; 取 5 μL 产物与 2 μL 10 $\times$ NE 缓冲液、0.2 μL 牛血清清蛋白、0.3 μL XmnI、2.5 μL 超纯水混匀, 静置 3.0 h^[4]; 聚丙烯酰胺凝胶电泳混匀液, EB 染色后紫外灯下观察。

1.2.2 外周血 MMP-1 水平检测 体检健康者于体检时、患者于发病后第 1、3、7 天采集肘静脉血 3 mL, 采用酶联免疫吸附法试剂盒(武汉博士德)测定 MMP-1 水平^[5]。

1.3 统计学处理 采用 Excel2003 建立数据库, 以 SPSS18.0 软件分析数据; 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验; 计数资料以百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 显著性检验水准为 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

* 基金项目: 河北省卫生厅医学重点课题(项目编号: 20110169)。

2 结 果

不稳定斑块组 2G/2G 基因型频率和 2G 等位基因频率显著高于稳定斑块组 ($P<0.05$); 不稳定斑块组和稳定斑块组 2G/2G 基因型频率与 2G 等位基因频率均显著高于对照组 ($P<0.05$), 见表 1。不稳定斑块组和稳定斑块组外周血 MMP-1 浓度比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); 不稳定斑块组和稳定斑块组各时间点外周血 MMP-1 浓度均高于对照组 ($P<0.05$), 见表 2。

表 1 MMP-1 基因型频率分布[%(n)]

组别	n	基因型频率		
		2G/2G	2G/1G	1G/1G
不稳定斑块组	51	60.78(31)	31.37(16)	7.84(4)
稳定斑块组	44	38.64(17)	31.82(14)	29.55(13)
对照组	58	20.69(12)	37.93(22)	41.38(24)

表 2 外周血 MMP-1 水平比较(μg/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	第 1 天	第 3 天	第 7 天
不稳定斑块组	51	1.321±0.225	1.613±0.372	1.816±0.485
稳定斑块组	44	1.301±0.236	1.594±0.364	1.828±0.501
对照组	58	0.842±0.053*	—	—

注: * 表示健康者体检当日检测结果; — 表示无数据。

3 讨 论

颈动脉粥样硬化斑块内覆盖的纤维帽将斑块内的成血性物质与血液隔开, 是决定斑块是否稳定的关键, 如果纤维帽受损或破裂, 可导致斑块内物质进入血液, 促使血栓形成, 引发动脉阻塞诱发 ACI^[6]。MMP-1 是基质金属蛋白酶家族中表达量最高的胶原酶, 能够降解血管内膜和粥样斑块纤维帽的主要组成蛋白, 即 I 型和 III 型胶原蛋白。有研究证实, 颈动脉粥样硬化斑块边缘和泡沫细胞积聚处 MMP-1 浓度较高, 说明 MMP-1 通过降解 I 型和 III 型胶原蛋白使纤维帽变薄, 促进粥样斑块进入不稳定状态^[7]。MMP-1 基因位于染色体 11q22-q23, 有 10 个外显子和 9 个含子, 1 607 bp 位点为转录因子结合位点, 该位点出现单个 G 核苷酸插入或缺失, 可导致单核苷酸多态性的出现, 影响 MMP-1 基因的表达^[8]。

本研究通过检测 ACI 患者 MMP-1 基因多态性和外周血 MMP-1 水平, 并结合超声检查, 从斑块形态学上探讨了 MMP-

1 基因多态性、外周血 MMP-1 水平、颈动脉粥样硬化斑块稳定性和 ACI 的关系, 结果证实 MMP-1 基因多态性影响外周血 MMP-1 水平, 而颈动脉斑块的不稳定能够预示发生 ACI 的可能。

总之, MMP-1 基因多态性及外周血 MMP-1 水平均与 ACI 具有相关性, MMP-1 基因型检测联合颈动脉斑块超声影像学检查, 有利于及早发现不稳定斑块, 尽早采取干预措施, 降低 ACI 发病率。

参考文献

[1] 谢明剑, 薛伟新, 邱楚雄, 等. 脑梗死病人梗死面积与 MMP1, MMP9, TIMP1 的关系探讨[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2011, 9(2): 173-174.

[2] 姜红菊, 张梅, 李大庆, 等. 冠心病患者基质金属蛋白酶-1 基因多态性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 13(5): 589-592.

[3] 侯旭敏, 刘华, 关韶峰, 等. 基质金属蛋白酶-1 与冠状动脉斑块稳定性的相关研究[J]. 中国心血管病研究, 2007, 5(12): 889-891.

[4] 张志毅, 梅轶芳, 赵彦萍. 益气活血化痰法中药对泡沫细胞基质金属蛋白酶 1/2mRNA 表达的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2007, 12(4): 238-241.

[5] 谢明剑, 邱楚雄, 薛伟新, 等. 脑梗死患者基质金属蛋白酶 1, 9 及其组织抑制因子 1 与血脂关系的研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2009, 7(10): 1168-1169.

[6] 杨世杰. 基质金属蛋白酶在心血管疾病中的作用[J]. 辽宁医学院学报, 2007, 28(2): 49-50.

[7] 王浩坤, 赵洛沙, 周帅, 等. 河南省汉族人群基质金属蛋白酶-1 基因-519A/G 多态性及其血浆水平与急性冠状动脉综合征的相关性分析[J]. 临床心血管病杂志, 2010, 26(5): 371-374.

[8] 方勤, 王启贤. 基质金属蛋白酶-1 与冠心病[J]. 长江大学学报, 2011, 3(2): 319-321.

(收稿日期: 2012-12-21 修回日期: 2013-02-12)

(上接第 1490 页)

性结果。故本研究诱导表达的 GST-UBRPS27a 融合蛋白为采用 GST pull down 试验验证 UBRPS27a 与 CK2α' 亚基的相互作用准备了条件, 也为后续研究 UBRPS27a 结构与功能及其在肿瘤发生发展过程的分子调控机制奠定了基础。

参考文献

[1] Kirschner LS, Stratakis CA. Structure of the human ubiquitin fusion gene Uba80(RPS27a) and one of its pseudo-genes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 270(3): 1106-1110.

[2] Ganger DR, Hamilton PD, Klos DJ, et al. Differential expression of metalloproteinase/S27 ribosomal protein in hepatic regeneration and neoplasia [J]. Cancer Detect Prev, 2001, 25(3): 231-236.

[3] Mafune K, Wong JM, Staniunas RJ, et al. Ubiquitin hybrid protein gene expression during human colon cancer progression[J]. Arch Surg, 1991, 126(4): 462-466.

[4] Wong JM, Mafune K, Yow H, et al. Ubiquitin-ribosomal

protein S27a gene overexpressed in human colorectal carcinoma is an early growth response gene[J]. Cancer Res, 1993, 53(8): 1916-1920.

[5] Revenkova E, Masson J, Koncz C, et al. Involvement of Arabidopsis thaliana ribosomal protein S27 in mRNA degradation triggered by genotoxic stress[J]. EMBO J, 1999, 18(2): 490-499.

[6] Fatima G, Mathan G, Kumar V. The HBx protein of hepatitis B virus regulates the expression, intracellular distribution and functions of ribosomal protein S27a[J]. J Gen Virol, 2012, 93(4): 706-715.

[7] Trembley JH, Chen Z, Unger G, et al. Emergence of protein kinase CK2 as a key target in cancer therapy[J]. Biofactors, 2010, 36(3): 187-195.

[8] 黄功华, 梁景耀, 陈碧, 等. 用酵母双杂交系统筛选泛素/核糖体蛋白 S27a[J]. 癌症, 2005, 24(1): 40-46.

(收稿日期: 2012-12-01 修回日期: 2013-01-26)