

论著 · 临床研究

川崎病患儿血清中 hs-CRP 与基质金属蛋白酶及抑制剂联合检测的临床意义

陈瑞¹, 张爱荣², 赵信喜³, 李战华¹

(河南省驻马店市中心医院 1. 儿科重症科; 2. 检验科; 3. 病理科, 河南 驻马店 463000)

[摘要] **目的** 检测基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9、基质金属蛋白酶抑制剂(TIMP)-1 及 hs-CRP 在川崎病患儿血清中的表达,并探讨其与冠状动脉损伤的关系。**方法** 选取 151 例川崎病患儿作为观察组(无冠状动脉损伤 40 例,有冠状动脉损伤 111 例),60 例健康儿童作为对照组,采用酶联免疫吸附实验(ELISA)检测血清中 MMP-2、MMP-9 和 TIMP-1 含量,应用终点散射比浊法检测血清 hs-CRP 的含量。**结果** MMP-2、MMP-9 及 hs-CRP 含量在冠脉损伤组及无冠脉损伤组与对照组比较差异均有显著性,在冠脉损伤组量最高($P < 0.05$);川崎病患儿中 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 之间的检测量呈正相关($P < 0.05$)。**结论** MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 hs-CRP 在川崎病的发生发展中可能起重要作用,MMP-2、MMP-9 及 hs-CRP 的联合检测可能对判断病变程度有重要帮助。

[中国当代儿科杂志,2009,11(12):989-991]

[关键词] 川崎病;MMP-2;MMP-9;TIMP-1;hs-CRP;儿童
[中图分类号] R725 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)12-0989-03

Roles of matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase and hs-CRP in Kawasaki disease

CHEN Rui, ZHANG Ai-Rong, ZHAO Xin-Xi, LI Zhan-Hua. Zhumadian Central Hospital, Zhumadian, Henan 463000, China (Email: heat_hz@163.com)

Abstract: Objective To examine the expression of matrix metalloproteinases (MMP)-2, -9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP)-1 and hs-CRP, and their relationship with coronary artery in children with Kawasaki disease. **Methods** One hundred and fifty-one children with Kawasaki disease (111 cases with coronary artery damage and 40 cases without) and 60 healthy children were enrolled. The expression of MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 was detected using ELISA, and the hs-CRP concentration was measured using the endpoint nephelometry. **Results** There were significant differences in the level of MMP-2, MMP-9 and hs-CRP between the patients with or without coronary artery damage and the healthy children ($P < 0.05$). The levels of MMP-2, MMP-9 and hs-CRP were the highest in the cardiovascular damage group ($P < 0.05$). There were positive correlations between MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 in children with Kawasaki disease. **Conclusions** MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and hs-CRP may play important roles in the development of Kawasaki disease. The combined measurement of MMP-2, MMP-9 and hs-CRP may be useful in the evaluation of the severity in children with Kawasaki disease. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (12):989-991]

Key words: Kawasaki disease; MMP-2; MMP-9; TIMP-1; hs-CRP; Child

川崎病又称皮肤粘膜淋巴结综合征,是一种原因不明的自身免疫性血管炎性疾病,多侵犯冠状动脉,未治疗的患儿部分可发生冠状动脉瘤,导致缺血性心脏病、心肌梗死或猝死。因此早期判断病变严重程度至关重要。近年来,作为降解细胞外基质的主要蛋白酶,基质金属蛋白酶家族(matrix metalloproteinases, MMPs)在川崎病中的作用引起了人们的重视,而基质金属蛋白酶抑制剂-1(matrix metallo-

proteinase inhibitor-1, TIMP-1)常与明胶酶具有协同作用。超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)是由肝脏合成的一种较典型的急性期蛋白,在创伤、应激反应和冠心病时水平增高。本研究通过检测川崎病患儿血清中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 hs-CRP 的改变,探讨其早期检测的临床意义,旨在为探讨川崎病的发生发展提供理论依据。

[收稿日期]2009-05-26;[修回日期]2009-07-06
[作者简介]陈瑞,男,副主任医师,大学本科。主攻方向:儿科重症与康复。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选取 2001 年 6 月至 2008 年 5 月确诊为川崎病的 151 例患儿作为观察组。病例纳入标准均符合日本川崎病研究委员会第四次修订的诊断标准^[1],均为急性期的患儿。排除 1 周内应用过丙种球蛋白治疗的患儿和有先天性心脏病及严重感染的患儿。其中男 90 例,女 61 例,年龄 5 个月至 7 岁,平均 3.4 ± 1.4 岁。根据彩色超声心动图判断冠状动脉损伤,即:彩色超声心动图显示冠状动脉壁回声毛糙,增厚,内膜呈波浪性改变,冠状动脉内径不规则性增宽(≤ 5 岁, >3.0 mm; >5 岁, >4.0 mm)^[2]。本组中有冠状动脉损伤的患儿 40 例,无冠状动脉损伤的患儿 111 例。同时选取同期健康儿童 60 例作为对照组,其中男 37 例,女 23 例,年龄 5 个月至 6 岁,平均 3.2 ± 1.2 岁。观察组与对照组在年龄、性别构成的比较中差异均无显著性,具有可比性。

1.2 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 hs-CRP 的检测

观察组患儿于确诊后次日早晨空腹抽取静脉血

10 mL 置于枸橼酸钠抗凝试管中,离心 10 min 后取血浆,于 -20°C 冰箱中冻存备用。样本于 4 周内测定。MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 检测采用酶联免疫吸附实验(ELISA),检测步骤严格按照操作说明进行。hs-CRP 的检测应用终点散射比浊法,测定范围为 $0.156 \sim 1\,000$ mg/L。

1.3 统计学方法

实验数据应用 SAS 统计软件进行统计分析,定量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,并进行相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 hs-CRP 的含量

MMP-2、MMP-9 及 hs-CRP 含量在冠脉损伤组及无冠脉损伤组明显高于对照组($P < 0.05$),其中冠脉损伤组的含量明显高于无冠脉损伤组($P < 0.05$)。TIMP-1 在冠脉损伤组、无冠脉损伤组及对照组中的含量差异无显著性($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 hs-CRP 的含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MMP-2 (ng/mL)	MMP-9 (ng/mL)	TIMP-1 (ng/mL)	hs-CRP (mg/L)
对照组	60	134.8 $\pm$ 101.4	173.2 $\pm$ 88.9	132.7 $\pm$ 97.6	2.0 $\pm$ 1.3
无冠脉损伤组	111	151.3 $\pm$ 76.1 ^a	373.2 $\pm$ 76.0 ^a	142.6 $\pm$ 69.1	16.7 $\pm$ 14.6 ^a
冠脉损伤组	40	321.4 $\pm$ 76.1 ^{a,b}	432.3 $\pm$ 122.6 ^{a,b}	161.2 $\pm$ 87.3	35.1 $\pm$ 26.1 ^{a,b}
F 值		92.39	78.43	2.77	23.08
P 值		<0.0001	<0.0001	0.0651	<0.0001

a:与对照组比较, $P < 0.05$;b:与无冠脉损伤组比较, $P < 0.05$

2.2 观察组中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 hs-CRP 含量的关系

观察组中 MMP-2 与 MMP-9 的量呈正相关($r = 0.41$, $P = 0.0013$),MMP-2 与 TIMP-1 含量呈正相关($r = 0.24$, $P = 0.0311$),MMP-9 与 TIMP-1 含量呈正相关($r = 0.36$, $P = 0.0202$),而 MMP-2、MMP-9 和 TIMP-1 与 hs-CRP 含量均无相关性($P > 0.05$)。

3 讨论

川崎病在我国发病逐年增加,好发于婴幼儿,成人罕见,常导致冠状动脉炎,冠状动脉瘤及血栓形成等病变,是儿童后天获得性心脏病的原因之一。临床可表现为血小板计数增加,血沉增快,hs-CRP 增高。近年有研究显示 hs-CRP 可以独立预测心脑血管

管事件的危险因子^[3]。MMPs 是一类由正常组织细胞或肿瘤细胞合成、分泌并必须依赖金属锌离子存在而获得催化活性的锌金属蛋白酶超家族的一个亚族,主要参与细胞外基质的代谢,其量受细胞因子、生长因子、激素、细胞形态改变等因素的调节。MMP-2 和 MMP-9 为其重要成员,在体内可由多种细胞分泌,如结缔组织细胞、内皮细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、胸腺细胞、粒细胞、角质细胞、成纤维细胞等,具有明胶酶的活性,以酶原的形式分泌,激活后主要降解 IV 型胶原、纤维粘连蛋白、弹性蛋白等细胞外基质成分^[4],参与组织重塑及伤口愈合等过程。有研究显示 MMP-2 在川崎病的急性期和恢复期血清浓度升高,认为其可能参与川崎病的免疫发病机制,并在血管损伤的病理发生机制中起重要作用,同时认为 MMP-2 为判断川崎病冠状动脉损伤的

重要指标之一^[5]。TIMP-1可由巨噬细胞和结缔组织细胞产生,广泛存在于组织和体液中,能被多种细胞因子诱导产生。一些研究显示TIMP只与活化的MMPs结合,可潜在形成复合体^[6]。洪华等^[7]通过对30例川崎病患儿进行MMP-9及TIMP-1的检测,认为MMP-9和TIMP-1参与了本病血管炎的发病过程。Chua等^[8]也认为MMP-9和TIMP-1在川崎病动脉瘤形成中起重要作用。

本研究对151例川崎病患儿的血清进行MMP-2、MMP-9、TIMP-1及hs-CRP检测,结果显示MMP-2、MMP-9及hs-CRP在冠脉损伤组中的含量明显高于无冠脉损伤组,也明显高于对照组,提示MMP-2、MMP-9及hs-CRP在川崎病的发生中有重要作用。相关分析表明,MMP-2、MMP-9和TIMP-1三者间存在正相关。提示MMP-2、MMP-9及TIMP-1可能在川崎病病变进展中具有协同作用。由于冠状动脉损伤是川崎病病变严重程度的重要指标,因此,MMP-2、MMP-9及hs-CRP的联合检测对判断病变严重程度具有重要价值。本组检测时间均为川崎病的急性期,未经丙种球蛋白治疗,可以排除经丙种球蛋白治疗后血清中表达的干扰。川崎病的急性期患儿有冠状动脉内皮细胞的损伤,循环血液中增加的MMP-9可通过损伤内皮间隙弥散至内皮下并被激活,造成基底膜屏障、内皮下弹力纤维层的破坏^[9]。而MMP-2、MMP-9的激活,可导致细胞外基质的降解加速,若血管壁细胞外基质的完整性破坏,可导致平滑肌细胞的损伤,血管壁完整性消失,促使其动脉病变的发生。Gavin等^[10]的研究也证明了MMP-2参与血管壁的病变,而MMP-9主要参与动脉瘤的形成。hs-CRP作为评估患儿免疫状况的指标^[11],本研究未发现hs-CRP与MMP-2、MMP-9和TIMP-1存在关联,提示其协同作用机制不明显。而MMP-2、MMP-9和TIMP-1在川崎病中的相互作用可能是病变发展的重要促发因素。

总之,MMP-2、MMP-9及hs-CRP的联合检测可能对判断病变程度有重要帮助,而MMP-2、MMP-9及TIMP-1在川崎病发生发展中可能具有协同作用。

[参 考 文 献]

[1] 杜忠东,于淼. 小儿川崎病的临床诊断标准[J]. 中国临床医生, 2001, 29(3):30-31.

[2] 黄培. 川崎病患儿血清基质金属蛋白酶-1表达的意义[J]. 实用儿科临床杂志, 2007, 22(21):1634-1635.

[3] Hung J, Knuiman MW, Divitini ML, Langton PE, Chapman CL, Beilby JP. C-reactive protein and interleukin-18 levels in relation to coronary heart disease: prospective cohort study from Busselton Western Australia[J]. Heart Lung Circ, 2008, 17(2):90-95.

[4] 刘爱东,庞久玲,刘士生. 胃癌中基质金属蛋白酶-9和CD105表达关系的研究[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(7):886-887.

[5] 尹红,殷思纯,刘颖,罗北京,王玉博. MCP-1, CRP, MMP-2和TIMP-2在川崎病患儿血清中的表达及其意义[J]. 广东医学, 2006, 27(5):688-670.

[6] Senzaki H. The pathophysiology of coronary atery aneurysms in Kawasaki disease: role of matrix metalloproteinases[J]. Arch Dis Child, 2006, 91(10):847-851.

[7] 洪华,邓君,彭茜,梁敏,张玲英. 川崎病患儿血清MMP-9和TIMP-1的水平测定[J]. 江西医学检验, 2005, 23(2):107-109.

[8] Chua PK, Melish ME, Yu Q, Yanaqihara R, Yamamoto KS, Nerurkar VR. Elevated levels of metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 during the acute phase of Kawasake disease[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2003, 10(2):308-314.

[9] 杨世伟,王大为,秦玉明,李军,王凤鸣,左维嵩. 基质金属蛋白酶-9在川崎病外周血表达及其在冠状动脉损伤中的临床意义[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2005, 25(2):87-90.

[10] Gavin PJ, Crawford SE, Shulman ST, Garcia FL, Rowlev AH. Systemic arterial expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in acute Kawasaki disease [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(4):576-581.

[11] 彭茜,吴青,陈昌辉,洪华,张玲英. 血清s-2R、IL-6与hs-CRP水平的测定在川崎病早期诊断中的临床意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(3):208-210.

(本文编辑:黄 榕)