

· 综 述 ·

# 冠状动脉痉挛发病机制的研究进展及法医学应用

阙春杏<sup>1</sup>, 虞逸静<sup>1</sup>, 陈 晗<sup>1</sup>, 史 程<sup>2</sup>, 薛爱民<sup>1,3</sup>

(1. 复旦大学基础医学院法医学系, 上海 200032; 2. 上海市公安局虹口分局刑事科学技术研究所, 上海 200434; 3. 上海市现场物证重点实验室, 上海 200083)

**摘 要:** 冠状动脉痉挛是指局部冠状动脉对各类刺激的过收缩反应。目前缺乏对冠状动脉痉挛导致心脏性猝死的特异性诊断指标。本文总结了目前国内外对冠状动脉痉挛发病机制的研究进展, 介绍血管内皮功能障碍和血管平滑肌兴奋性增高在冠状动脉痉挛过程中的作用, 并对引起血管内皮功能障碍的内源性一氧化氮、内皮素-1, 与血管平滑肌兴奋性增高有关的 MLC2 磷酸化、Rho 激酶及内质网应激的分子作用机制展开阐述, 探讨相关分子在诊断冠状动脉痉挛导致心脏性猝死法医鉴定中的可能性。

**关键词:** 法医病理学; 冠状血管痉挛; 综述; 冠状动脉疾病; 一氧化氮; 内皮素-1; Rho 相关激酶类; 肌球蛋白轻链

中图分类号: DF795.1 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1004-5619.2018.01.012

文章编号: 1004-5619(2018)01-0060-07

## Research Progress and Forensic Application on the Pathogenesis of Coronary Artery Spasm

QUE Chun-xing<sup>1</sup>, YU Yi-jing<sup>1</sup>, CHEN Han<sup>1</sup>, SHI Cheng<sup>2</sup>, XUE Ai-min<sup>1,3</sup>

(1. Department of Forensic Medicine, School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Criminal Science and Technology Institute, Public Security of Hongkou District, Shanghai 200434, China; 3. Shanghai Key laboratory of Crime Scene Evidence, Shanghai 200083, China)

**Abstract:** Coronary artery spasm (CAS) is a hyper-contraction of segmental coronary artery in response to multiple stimuli. At present, it's still in lack of specific diagnostic indicators of sudden cardiac death caused by CAS. This review summarizes current researches on the mechanisms of CAS and describes the roles of vascular endothelial dysfunction and vascular smooth muscle hypersensitivity in the course of CAS. Furthermore, the molecular mechanisms of the endogenous NO and endothelin-1 cause vascular endothelial dysfunction, and the phosphorylation of MLC2, Rho kinase and endoplasmic reticulum stress related to vascular smooth muscle hypersensitivity are discussed. Meanwhile, the possibility of forensic application for the related molecules on the diagnosis of sudden cardiac death caused by CAS are also explored.

**Keywords:** forensic pathology; coronary vasospasm; review; coronary artery disease; nitric oxide; endothelin-1; Rho-associated kinases; myosin light chain

冠状动脉痉挛是指局部冠状动脉对各类刺激的过收缩反应, 其直接结果是冠状动脉部分或完全闭塞, 在变异型心绞痛及其他类型的心绞痛甚至心肌梗死、猝死的发病机制中发挥重要作用。1845年, Latham 就提出了冠状动脉痉挛可导致心绞痛, 直到 1959 年,

PRINZMETAL 等<sup>[1]</sup>学者首次报道了变异型心绞痛, 此类型心绞痛与劳力性心绞痛不同, 常于静息状态下发作, 伴有 ST 段抬高, 同时提出冠状动脉痉挛与其相关。直到 1973 年, OLIVA 等<sup>[2]</sup>通过冠状动脉造影最终证实此假说成立。此后, 冠状动脉痉挛在冠状动脉粥样硬化性心脏病尤其是急性冠脉综合征发病机制中的地位受到越来越广泛的关注和认同。临床上, 冠状动脉痉挛好发于青年女性, 发作时间多为凌晨, ST 段抬高、冠状动脉无病变, 但具有典型临床特征的胸痛患者常常被认为受到冠状动脉痉挛的影响<sup>[3]</sup>。发生痉挛的冠状动脉造成所在供血区域突发缺血, 极易造成心肌梗死发生, 若梗死范围较大或发生在其他重要部

**基金项目:** 上海市现场物证重点实验室开放课题基金资助项目(2014XCWZK13); 复旦大学基础医学院“正谊学者”基金资助项目(S18-14)

**作者简介:** 阙春杏(1996—), 女, 八年制临床医学专业学生, 主要从事心血管疾病研究; E-mail: 13301050310@fudan.edu.cn

**通信作者:** 薛爱民, 男, 主任法医师, 主要从事法医病理学心脏性猝死研究; E-mail: amxue@fudan.edu.cn

位,则有导致猝死的风险。2000年,一项日本多中心研究<sup>[4]</sup>表明,日本人群存在冠状动脉痉挛者高达40.9%。2008年,ONG等<sup>[5]</sup>也表明约50%的急性冠脉综合征患者可被乙酰胆碱诱发冠状动脉痉挛。冠状动脉痉挛的发病率也存在种族差异。有学者<sup>[6]</sup>认为,西方人的发病率相对较低,而日本人及韩国人的发病率相对较高,并且日本人中弥漫性冠状动脉痉挛(多支冠状动脉发生冠状动脉痉挛)更为常见。由于受各方面条件限制,我国在此方面的研究较少,本文综合国内外冠状动脉痉挛的研究,就其发病机制和法医学应用进行综述。

## 1 冠状动脉痉挛的诱因

冠状动脉痉挛的诱因主要分为生理因素与药理因素两大类<sup>[7]</sup>。生理因素包括劳累、精神应激、寒冷刺激、瓦尔萨尔瓦动作、过度通气、镁缺乏等,另外冠状动脉痉挛本身也可参与而构成恶性循环。药理因素包括烟、酒、儿茶酚胺、组胺、拟副交感神经药、抗胆碱酯酶药、麦角新碱、 $\beta$ 受体阻滞剂、可卡因、长期应用硝酸甘油者突然撤药等。此两大类因素可分别单独诱发冠状动脉痉挛,若两者并存时,则发病率更高。

## 2 冠状动脉痉挛的分子机制

虽然氧化应激引起的血管收缩、慢性炎症造成的血浆C反应蛋白升高、自主神经兴奋性增高及遗传因素等是冠状动脉痉挛的常见机制<sup>[8]</sup>,但这些因素主要造成血管内皮功能障碍或血管平滑肌兴奋性增高等<sup>[8]</sup>。因此,本文将重点讨论血管内皮功能障碍和平滑肌兴奋性增高在冠状动脉痉挛中的作用,并选取主要的分子标志物,介绍其在介导冠状动脉痉挛中的作用。

### 2.1 血管内皮功能障碍

血管内皮细胞作为全身血管内和血管外成分的重要屏障之一,在血管内环境稳态的维系方面发挥着举足轻重的作用<sup>[9]</sup>。同时,血管张力的维持和调节有赖于内皮细胞产生和释放的血管活性因子,其中主要的血管舒张因子有一氧化氮、前列环素,主要的血管收缩因子有内皮素(endothelin,ET)-1。在生理情况下,血管舒张因子和血管收缩因子处于动态平衡之中。血管舒张剂如乙酰胆碱,通过诱导内皮细胞释放一氧化氮而实现其扩血管作用<sup>[10]</sup>。然而,具有冠状动脉痉挛病变的患者,可被醋甲胆碱或乙酰胆碱诱发冠状动脉痉挛<sup>[11-12]</sup>。有研究<sup>[10,13-15]</sup>发现:乙酰胆碱、5-羟色胺和组胺等,在健康人身上通过促进内皮源性一氧化氮的释放,进而发挥扩张冠状动脉的作用;而在存在动脉粥样硬化病变的患者身上,则诱发冠状动脉痉挛。由此可见,冠状动脉痉挛的患者,存在冠状动脉内皮功能

障碍。

### 2.1.1 内皮源性一氧化氮在冠状动脉痉挛中的作用

1980年,FURCHGOTT等<sup>[16]</sup>发现,内皮细胞能分泌一种内皮源性舒张因子,并确认其为一氧化氮,自此之后,内皮细胞在调节局部血管张力中的作用逐渐被揭示。内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase,eNOS)在催化L-精氨酸生成L-瓜氨酸的反应中产生一氧化氮。硝酸甘油在人体内被分解,释放出一氧化氮,后者激活邻近的平滑肌细胞内的可溶性鸟苷酸环化酶,间接促进环鸟苷酸(cyclic guanosine monophosphate,cGMP)的大量产生<sup>[10]</sup>,从而导致平滑肌舒张,冠状动脉痉挛缓解。当内皮细胞存在eNOS缺陷时,痉挛的冠状动脉对硝酸甘油处于高反应状态<sup>[17]</sup>,硝酸甘油的生理效应更为显著。进一步研究揭示,eNOS抑制剂单甲基-L-精氨酸能导致健康人的冠状动脉显著收缩,但对冠状动脉痉挛患者的冠状动脉无此效应<sup>[18]</sup>。由此可知,一氧化氮的舒张血管作用极有可能仅用于维持血管的基础张力水平,而在痉挛的冠状动脉中无此作用。

现有研究<sup>[19]</sup>发现,eNOS的基因突变可能通过改变一氧化氮的释放量从而参与调节冠状动脉痉挛的发生,不排除其机制与内皮细胞功能障碍相关的可能性。1997年,YOSHIMURA等<sup>[20]</sup>首先在日本人中发现Glu298Asp多态性和冠状动脉痉挛的关系。CHANG等<sup>[21]</sup>在韩国选取102名变异型心绞痛患者进行研究,发现:其中21.5%的人存在eNOS基因的Glu298Asp突变;eNOS基因的Glu298Asp突变可较好地预测冠状动脉痉挛风险( $OR=2.83$ )。尽管Glu298Asp突变与冠状动脉痉挛密切相关,然而,该突变的效应是否通过影响一氧化氮的释放起作用存在争议。SOFOWORA等<sup>[22]</sup>报道了健康人中Glu298Asp突变型较野生型释放更少的一氧化氮。TESAURO等<sup>[23]</sup>和FAIRCHILD等<sup>[24]</sup>则认为Glu298Asp突变与否对一氧化氮的释放无明显影响。此外,在eNOS基因的5'侧翼区的T-786C多态性也被证实与冠状动脉痉挛存在密切关系。研究<sup>[7,25-29]</sup>发现,在日本人、巴西白人和非裔巴西人中,T-786C突变后可通过减少一氧化氮的产生而在一定程度上促进冠状动脉痉挛的发生。GLUECK等<sup>[30]</sup>深入研究发现,美国白人中变异型心绞痛患者的T-786C位点的突变率远高于健康人。

### 2.1.2 ET-1在冠状动脉痉挛中的作用

ET-1主要由血管内皮细胞合成和分泌,是强烈的内源性缩血管物质。LEE等<sup>[31]</sup>曾报道韩国冠状动脉痉挛人群中,血浆ET-1存在基因多态性,并提示血浆ET-1的变化可能由其基因多态性所致。张金霞

等<sup>[32-34]</sup>在中国人群中发现,冠状动脉痉挛患者的血浆 ET-1 水平显著高于健康人群和冠状动脉狭窄的冠状动脉粥样硬化性心脏病患者。LEE 等<sup>[31]</sup>也发现韩国冠状动脉痉挛人群的血浆 ET-1 基因的突变主要在外显子-5 第 5665 位点、外显子-1+138 位点和内含子-4 第 8002 三个位点这三个位点,并且 ET-1 的水平与这三个突变密切相关。曾菁等<sup>[35]</sup>在中国人群中展开研究:一方面发现在上述三个位点的突变与血浆 ET-1 水平关系密切;另一方面,通过对基因组的分析,发现等位基因 4A(在第 8002 位点为 A,在第 5665 位点为 T 的突变)与冠状动脉痉挛的发生具有明显的联系,而等位基因 3A(在第 8002 位点为 G,在第 5665 位点为 G 的突变)则对冠状动脉痉挛的发生起保护作用。目前研究<sup>[36]</sup>提示,血浆 ET-1 水平和冠状动脉痉挛的发生关系密切,而前者与其基因多态性的相关性则有待深入探究。

此外,低密度脂蛋白<sup>[37]</sup>和吸烟<sup>[38]</sup>可以诱导动脉血管平滑肌细胞 ET A 型(ET<sub>A</sub>)受体或 ET B2 型(ET<sub>B2</sub>)受体的表达,使血管敏感性增加,表现为平滑肌高反应性和 ET-1 收缩效应的显著增强,增加冠状动脉痉挛的发生风险。

## 2.2 血管平滑肌兴奋性增高

血管收缩依赖于细胞内 Ca<sup>2+</sup>浓度和平滑肌对 Ca<sup>2+</sup>的敏感程度两个关键因素。当平滑肌细胞受到刺激,细胞内外钙通道打开,胞质内 Ca<sup>2+</sup>浓度升高至激活浓度时,Ca<sup>2+</sup>便与钙调蛋白结合,进而通过一系列反应激活肌球蛋白,并激活其上的 ATP 酶使之分解 ATP 产生能量令横桥扭动,平滑肌收缩。在激活肌球蛋白的过程中,肌球蛋白轻链(myosin light chain,MLC)磷酸化和 Rho 激酶共同参与平滑肌细胞对 Ca<sup>2+</sup>增敏的调节。在缺氧、氧化应激、异常糖基化反应以及钙离子稳态失衡等情况下,血管平滑肌细胞将启动内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS),后者与 MLC 的磷酸化相互影响,介导血管的过度收缩和痉挛,ERS 或为冠状动脉痉挛的重要始动因素。因此,血管平滑肌兴奋性增高可能是冠状动脉痉挛的重要病理生理机制之一。

### 2.2.1 MLC 磷酸化在冠状动脉痉挛中的作用

肌球蛋白为包括 2 个肌球蛋白重链(myosin heavy chain,MHC)和 2 对轻链(MLC1 和 MLC2)的六聚体。其中以 MLC2 为功能代表的肌球蛋白在 Ser19 和 Thr18 位点可被磷酸化<sup>[39-40]</sup>。冠状动脉痉挛与 MLC 磷酸化的增强密切相关<sup>[41]</sup>。Ca<sup>2+</sup>-钙调蛋白活化的 MLC 激酶(myosin light chain kinase,MLCK)及随后发生的 MLC 调节亚基的磷酸化共同启动血管平滑肌的收

缩<sup>[42]</sup>。磷酸化的 MLC 进而活化肌球蛋白的 Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶,从而允许横桥循环的发生,最终导致平滑肌收缩力的产生以及血管收缩<sup>[42]</sup>。在白细胞介素-1(interleukin-1,IL-1) $\beta$  诱导的猪冠状动脉痉挛模型中,冠状动脉痉挛段的 MLC 单磷酸化水平和双磷酸化水平均升高,而正常冠状动脉并未发现 MLC 双磷酸化水平的升高<sup>[43]</sup>。在培养的平滑肌细胞中,MLC 的双磷酸化在活跃生长的平滑肌细胞中具更高水平<sup>[44]</sup>。这些结果提示了 MLC 双磷酸化仅在冠状动脉痉挛区的平滑肌细胞内发生。

### 2.2.2 Rho 激酶在冠状动脉痉挛中的作用

体外实验<sup>[45]</sup>表明,鸟苷三磷酸(guanosine triphosphate,GTP)结合蛋白可以调节受体介导的 MLC 磷酸酶的敏感性。Rho GTP 酶参与调节平滑肌对 Ca<sup>2+</sup>的敏感性<sup>[46-48]</sup>。Rho 通过调节其靶酶 Rho 激酶以及肌球蛋白激酶的肌球蛋白结合亚基(myosin-binding subunit, MBS)来调节 MLC 的磷酸化<sup>[49-50]</sup>。活化的 Rho 可以和 Rho 激酶、MBS 相互作用,从而活化 Rho 激酶并使 MBS 转位。活化的 Rho 激酶随后使 MBS 磷酸化,由此使肌球蛋白磷酸酶失活<sup>[50]</sup>。Rho 激酶本身也可以在 MLCK 磷酸化 MLC 的同一位点将 MLC 磷酸化,从而在体外环境激活肌球蛋白的 ATP 酶<sup>[49]</sup>。活化的 Rho 激酶增强了 MLC 的磷酸化从而诱导平滑肌收缩<sup>[51]</sup>。目前研究<sup>[49]</sup>认为,Rho 激酶通过调节平滑肌对 Ca<sup>2+</sup>的敏感性而诱导平滑肌收缩。小型猪冠状动脉痉挛处的 Rho/Rho 激酶在 mRNA、蛋白质和分子活性水平均显著上调<sup>[52]</sup>,然而采用特异性抑制剂抑制 Rho 激酶活性后,冠状动脉痉挛可显著减少<sup>[53]</sup>。

### 2.2.3 ERS 对冠状动脉痉挛的作用

内质网(endoplasmic reticulum,ER)是真核细胞中蛋白质合成、折叠与分泌的重要细胞器。ERS 是指在缺氧、氧化应激、异常糖基化反应以及钙离子稳态等失衡情况下,内质网未折叠或错误折叠的蛋白质明显增多,当超出内质网处理能力时,将激活转录活化因子 6(transcription factor 6,ATF6)通路、肌醇依赖酶 1(inositol-requiring enzyme 1,IRE1)通路和蛋白激酶 R 样内质网激酶(protein kinase R-like ER kinase, PERK)通路<sup>[54]</sup>,通过一系列相关信号级联反应,来帮助细胞应对条件的变化和维持自身稳态。ERS 直接影响应激细胞的转归,如适应、损伤或凋亡<sup>[55]</sup>。

研究<sup>[56]</sup>发现,ERS 抑制剂牛磺熊去氧胆酸(tauroursodeoxycholic acid,TUDCA)作用于自发性高血压性大鼠后,冠状动脉的肌张力恢复正常。采用另一种 ERS 抑制剂 4-苯基丁酸(4-phenylbutyric acid,4-PBA)连续腹腔注射 1 周后,发现小鼠右心室收缩压

下降 30%,右心室肥厚和肺动脉肌化得到显著改善<sup>[57]</sup>。进一步研究<sup>[58]</sup>揭示,血管平滑肌细胞内异常的 ERS 导致了主动脉血管收缩反应性增高,引起血压升高。ERS 被干扰后,血管平滑肌细胞收缩性显著下降。同时 ERS 对主动脉收缩反应的调节作用不依赖于内皮细胞<sup>[58]</sup>。此外,ERS 的 IRE1 通路与肌球蛋白 II B 有关。肌球蛋白 II B 通过促进 MLC2 磷酸化,介导了 IRE1 $\alpha$  的聚集<sup>[59]</sup>。ERS 激活后,伴随 MLC 的磷酸化增多<sup>[58]</sup>。可见,ERS 是血管收缩的重要因素。

### 3 展 望

冠状动脉痉挛目前被认为是一种由多分子通路介导的急性冠状动脉综合征(表 1)。一方面,血管内皮细胞所释放的血管收缩因子和血管舒张因子的动态平衡,是调控血管张力的重要机制,一旦平衡被打破,如一氧化氮释放减少或 ET-1 释放增加,将导致血管内皮功能障碍,增加冠状动脉痉挛的发生风险。另一方面,血管平滑肌细胞是血管收缩的直接执行者,其对血管张力的调控至关重要。当血管平滑肌细胞发生 MLC 磷酸化、Rho 激酶功能异常以及 ERS 时,血管平滑肌细胞对钙离子处于高度敏感状态,冠状动脉痉挛的发生率大为增高。

表 1 各种分子对冠状动脉痉挛的影响

分子	表达水平	检测部位	作用	文献
一氧化氮	升高	血液	↓	[10,60,61]
ET-1	升高	血液	↑	[32,62]
磷酸化的 MLC	升高	冠状动脉平滑肌	↑	[63]
Rho 激酶	升高	冠状动脉平滑肌	↑	[64]

注:↓抑制冠状动脉痉挛;↑促进冠状动脉痉挛

在法医病理学鉴定实践中,部分心脏性猝死的案例尸体检验时无明显的形态学改变或病变较轻(如冠状动脉粥样硬化,管腔狭窄 I~II 级),同时还存在部分青壮年猝死综合征的案例,其死因也高度怀疑为心源性疾病,是法医学鉴定中的难点。在猝死疾病中,若冠状动脉粥样硬化伴随管腔狭窄 III 级或以上,在排除其他死亡原因后,可作出冠状动脉粥样硬化性心脏病死亡的病理诊断。然而,很多猝死的案例在系统解剖后仅可见冠状动脉轻微病变,管腔狭窄程度低于 II 级。针对这部分案例,有学者<sup>[60]</sup>建议,如果死者生前存在明显诱因(如与人争执、寒冷刺激等),则高度怀疑为生前冠状动脉痉挛导致死亡,但法医病理学鉴定中缺乏有效检测手段。FACTOR 等<sup>[60]</sup>最先发现在 63 例无明显阳性改变的死亡心脏中,47 例(74.6%)案例的冠状动脉中膜层出现明显的血管平滑肌收缩带,并且在这 47 例心脏中,78.7%高度怀疑为冠状动脉痉挛致死。

鉴于血管平滑肌收缩带与冠状动脉痉挛的高度相关性,FACTOR 等<sup>[60]</sup>提出平滑肌收缩带可作为诊断生前冠状动脉痉挛的重要指标。与非冠状动脉疾病相比,内弹力膜和内膜折叠度也被发现在冠状动脉痉挛后显著改变<sup>[67]</sup>。此外,LIN 等<sup>[68]</sup>发现血管平滑肌强直痉挛可伴随其他形态学改变,包括细胞纵向短缩,胞核缩窄、重叠等,并提出这些形态学改变可用于诊断冠状动脉痉挛。这些重要的形态学发现推动了冠状动脉痉挛研究的进展,然而基于形态学的观察存在主观性和观察者的判断差异性。实际检案中,某些案例依旧只能依靠推测,判断冠状动脉痉挛导致心脏性猝死,结论往往容易引起争议<sup>[69]</sup>。研究<sup>[10,32,60-62]</sup>发现,一氧化氮、ET-1、磷酸化的 MLC、Rho 激酶和 ERS 等与冠状动脉痉挛存在密切关系(表 1)。其中,磷酸化的 MLC 和 Rho 激酶在冠状动脉平滑肌细胞中的表达水平升高,可用于预测急性心肌梗死等疾病。此外,在血液中筛选和鉴定一氧化氮和 ET-1 理论上是可行的,并且有研究<sup>[32,60-62]</sup>证实二者在血液中的水平对部分心血管疾病有预测意义。考虑到司法实践中组织样本不易保存和携带,易受腐败影响,而血液方便存取,在濒死期由医疗机构或死亡早期由司法鉴定人员抽取、保存更为容易,因此一氧化氮和 ET-1 有望成为潜在的冠状动脉痉挛诊断指标。对于上述分子与冠状动脉痉挛的关系的探讨,需要更多的科学研究加以佐证,届时将其应用于高度怀疑冠状动脉痉挛致死的案件中,为法医工作者诊断冠状动脉痉挛提供辅助依据。

### 参考文献:

- [1] PRINZMETAL M, KENNAMER R, MERLISS R, et al. Angina pectoris. I. A variant form of angina pectoris; preliminary report[J]. *Am J Med*,1959,27: 375-388.
- [2] OLIVA P B, POTTS D E, PLUSS R G. Coronary arterial spasm in Prinzmetal angina. Documentation by coronary arteriography[J]. *N Engl J Med*,1973, 288(15):745-751.
- [3] JCS Joint Working Group. Guidelines for diagnosis and treatment of patients with vasospastic angina (Coronary Spastic Angina) (JCS 2013)[J]. *Circ J*, 2014,78(11):2779-2801.
- [4] YASUE H, SASAYAMA S, KIKUCHI K, et al. The study on the role of coronary spasm in ischemic heart disease[C]. Osaka: Annual report of the research on cardiovascular diseases, 2000.
- [5] ONG P, ATHANASIADIS A, HILL S, et al. Coronary artery spasm as a frequent cause of acute coronary syndrome: The CASPAR (Coronary Artery Spasm in Patients With Acute Coronary Syndrome) Study[J]. *J Am Coll Cardiol*,2008,52(7):523-527.

- [6] PRISTIPINO C, BELTRAME J F, FINOCCHIARO M L, et al. Major racial differences in coronary constrictor response between Japanese and Caucasians with recent myocardial infarction[J]. *Circulation*,2000, 101(10):1102-1108.
- [7] YASUE H, NAKAGAWA H, ITOH T, et al. Coronary artery spasm--clinical features, diagnosis, pathogenesis, and treatment[J]. *J Cardiol*,2008, 51(1):2-17.
- [8] 马贵洲,徐荣和,余丹青,等. 冠状动脉痉挛临床研究进展[J].*广东医学*,2009,30(12):1769-1771.
- [9] CAHILL P A, REDMOND E M. Vascular endothelium - Gatekeeper of vessel health[J]. *Atherosclerosis*, 2016,248:97-109.
- [10] MONCADA S, PALMER R M, HIGGS E A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology[J]. *Pharmacol Rev*,1991,43(2):109-142.
- [11] YASUE H, HORIO Y, NAKAMURA N, et al. Induction of coronary artery spasm by acetylcholine in patients with variant angina: possible role of the parasympathetic nervous system in the pathogenesis of coronary artery spasm[J]. *Circulation*,1986,74(5): 955-963.
- [12] YASUE H, TOUYAMA M, SHIMAMOTO M, et al. Role of autonomic nervous system in the pathogenesis of Prinzmetal's variant form of angina[J]. *Circulation*,1974,50(3):534-539.
- [13] MATSUYAMA K, YASUE H, OKUMURA K, et al. Effects of H1-receptor stimulation on coronary arterial diameter and coronary hemodynamics in humans[J]. *Circulation*,1990,81(1):65-71.
- [14] BASSENGE E. Endothelium-mediated regulation of coronary tone[J]. *Basic Res Cardiol*,1991,86(S2):69-76.
- [15] IGNARRO L J. Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein[J]. *Circ Res*,1989,65(1):1-21.
- [16] FURCHGOTT R F, ZAWADZKI J V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine[J]. *Nature*,1980, 288(5789):373-376.
- [17] MONCADA S, REES D D, SCHULZ R, et al. Development and mechanism of a specific supersensitivity to nitrovasodilators after inhibition of vascular nitric oxide synthesis *in vivo*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,1991,88(6):2166-2170.
- [18] KUGIYAMA K, OHGUSHI M, MOTOYAMA T, et al. Nitric oxide-mediated flow-dependent dilation is impaired in coronary arteries in patients with coronary spastic angina[J]. *J Am Coll Cardiol*,1997, 30(4):920-926.
- [19] 王元,向定成. 一氧化氮合酶基因多态性与冠状动脉痉挛的相关性[J].*岭南心血管病杂志*,2015,21(1):123-125.
- [20] YOSHIMURA M, YASUE H, NAKAYAMA M, et al. A missense Glu298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in the Japanese[J]. *Hum Genet*,1998,103(1): 65-69.
- [21] CHANG K, BAEK S H, SEUNG K B, et al. The Glu298Asp polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene is strongly associated with coronary spasm[J]. *Coron Artery Dis*,2003, 14(4):293-299.
- [22] SOFOWORA G, DISHY V, XIE H G, et al. In-vivo effects of Glu298Asp endothelial nitric oxide synthase polymorphism[J]. *Pharmacogenetics*,2001, 11(9): 809-814.
- [23] TESAURO M, THOMPSON W C, ROGLIANI P, et al. Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2000,97(6):2832-2835.
- [24] FAIRCHILD T A, FULTON D, FONTANA J T, et al. Acidic hydrolysis as a mechanism for the cleavage of the Glu<sup>298</sup>→ASP variant of human endothelial nitric-oxide synthase[J]. *J Biol Chem*,2001, 276(28):26674-26679.
- [25] KANEDA H, TAGUCHI J, KUWADA Y, et al. Coronary artery spasm and the polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene[J]. *Circ J*,2006, 70(4):409-413.
- [26] NAKAYAMA M, YOSHIMURA M, SAKAMOTO T, et al. Synergistic interaction of T-786←C polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene and smoking for an enhanced risk for coronary spasm[J]. *Pharmacogenetics*,2003,13(11):683-688.
- [27] NISHIJIMA T, NAKAYAMA M, YOSHIMURA M, et al. The endothelial nitric oxide synthase gene -786T/C polymorphism is a predictive factor for reattacks of coronary spasm[J]. *Pharmacogenet Genomics*,2007,17(8):581-587.
- [28] JIA C, LIU T, LIU Z, et al. Joint effects of eNOS gene T-786C and ADH2 Arg47His polymorphisms on the risk of premature coronary artery disease[J]. *Thromb Res*,2007,120(5):679-684.
- [29] NAKAYAMA M, YOSHIMURA M, SAKAMOTO T, et al. A -786T>C polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene reduces serum nitrite/nitrate levels from the heart due to an intracoronary injection of acetylcholine[J]. *Pharmacogenet Genomics*,2006,16(5):339-345.
- [30] GLUECK C J, VALDES A, BOWE D, et al. The endothelial nitric oxide synthase T-786c mutation, a treatable etiology of Prinzmetal's angina[J]. *Transl*

- Res,2013,162(1):64-66.
- [31] LEE J, CHEONG S S, KIM J. Association of endothelin-1 gene polymorphisms with variant angina in Korean patients[J]. Clin Chem Lab Med,2008,46(11):1575-1580.
- [32] 张金霞,向定成,邱建,等. 冠状动脉痉挛前后循环血中内皮素含量的变化及其意义[J].实用医学杂志,2008,24(1):60-62.
- [33] 谢振宏,向定成,张金赫,等. 冠状动脉痉挛患者201TI心肌灌注显像反向再分布与血管内皮功能紊乱的关系[J].中国循环杂志,2010,25(4):263-266.
- [34] 向定成,张金霞,阮云军,等. 冠状动脉痉挛患者血脂与血管内皮功能的相关性研究[J].中国循环杂志,2006,21(4):270-272.
- [35] 曾菁,易绍东,龚志华,等. 血浆内皮素-1基因多态性与冠状动脉痉挛的相关性研究[J].中国循环杂志,2011,26(3):194-197.
- [36] SAITOH S, MATSUMOTO K, KAMIOKA M, et al. Novel pathway of endothelin-1 and reactive oxygen species in coronary vasospasm with endothelial dysfunction[J]. Coronary Artery Dis,2009,20(6):400-408.
- [37] XU C B, ZHENG J P, ZHANG W, et al. Low density lipoprotein induces upregulation of vasoconstrictive endothelin type B receptor expression[J]. Vascul Pharmacol,2014,60(1):42-48.
- [38] CAO L, ZHANG Y, CAO Y X, et al. Cigarette smoke upregulates rat coronary artery endothelin receptors *in vivo*[J]. PLoS One,2012,7(3):e33008.
- [39] DAVIS J S, HASSANZADEH S, WINITSKY S, et al. The overall pattern of cardiac contraction depends on a spatial gradient of myosin regulatory light chain phosphorylation[J]. Cell,2001,107(5):631-641.
- [40] SCRUGGS S B, SOLARO R J. The significance of regulatory light chain phosphorylation in cardiac physiology[J]. Arch Biochem Biophys,2011,510(2):129-134.
- [41] SHIMOKAWA H. Cellular and molecular mechanisms of coronary artery spasm: lessons from animal models[J]. Jpn Circ J,2000,64(1):1-12.
- [42] SOMLYO A P, SOMLYO A V. Signal transduction and regulation in smooth muscle[J]. Nature,1994,372(6503):231-236.
- [43] KATSUMATA N, SHIMOKAWA H, SETO M, et al. Enhanced myosin light chain phosphorylations as a central mechanism for coronary artery spasm in a swine model with interleukin-1beta[J]. Circulation,1997,96(12):4357-4363.
- [44] SETO M, SAKURADA K, KAMM K E, et al. Myosin light chain diphosphorylation is enhanced by growth promotion of cultured smooth muscle cells[J]. Pflugers Arch,1996,432(1):7-13.
- [45] KITAZAWA T, MASUO M, SOMLYO A P. G-protein-mediated inhibition of myosin light-chain phosphatase in vascular smooth muscle[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1991,88(20):9307-9310.
- [46] GONG M C, IIZUKA K, NIXON G, et al. Role of guanine nucleotide-binding proteins--ras-family or trimeric proteins or both--in Ca<sup>2+</sup> sensitization of smooth muscle[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1996,93(3):1340-1345.
- [47] NODA M, YASUDA-FUKAZAWA C, MORIISHI K, et al. Involvement of rho in GTP gamma S-induced enhancement of phosphorylation of 20 kDa myosin light chain in vascular smooth muscle cells: inhibition of phosphatase activity[J]. Febs Lett,1995,367(3):246-250.
- [48] HIRATA K, KIKUCHI A, SASAKI T, et al. Involvement of rho p21 in the GTP-enhanced calcium ion sensitivity of smooth muscle contraction[J]. J Biol Chem,1992,267(13):8719-8722.
- [49] AMANO M, ITO M, KIMURA K, et al. Phosphorylation and activation of myosin by Rho-associated kinase (Rho-kinase)[J]. J Biol Chem,1996,271(34):20246-20249.
- [50] KIMURA K, ITO M, AMANO M, et al. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase)[J]. Science,1996,273(5272):245-248.
- [51] KUREISHI Y, KOBAYASHI S, AMANO M, et al. Rho-associated kinase directly induces smooth muscle contraction through myosin light chain phosphorylation[J]. J Biol Chem,1997,272(19):12257-12260.
- [52] 关启刚,曾定尹,孙喜琢,等. Rho激酶在小型猪白介素-1β介导的冠状动脉痉挛中的作用机制[J].中华心血管病杂志,2006,34(1):50-53.
- [53] MASUMOTO A, MOHRI M, SHIMOKAWA H, et al. Suppression of coronary artery spasm by the Rho-kinase inhibitor fasudil in patients with vasospastic angina[J]. Circulation,2002,105(13):1545-1547.
- [54] OAKES S A. Endoplasmic reticulum proteostasis: a key checkpoint in cancer[J]. Am J Physiol Cell Physiol,2017,312(2):C93-C102.
- [55] HUANG J, CHEN C, GU H, et al. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor reduces cell apoptosis via upregulating GRP78 in SH-SY5Y cells[J]. Cell Biol Int,2016,40(7):803-811.
- [56] KOYAMA M, FURUHASHI M, ISHIMURA S, et al. Reduction of endoplasmic reticulum stress by 4-phenylbutyric acid prevents the development of hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2014,306(9):H1314-H1323.
- [57] LIANG B, WANG S, WANG Q, et al. Aberrant endoplasmic reticulum stress in vascular smooth

- muscle increases vascular contractility and blood pressure in mice deficient of AMP-activated protein kinase- $\alpha 2$  *in vivo*[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(3):595-604.
- [58] HE Y, BEATTY A, HAN X, et al. Nonmuscle myosin IIB links cytoskeleton to IRE1 $\alpha$  signaling during ER stress[J]. *Dev Cell*, 2012, 23(6):1141-1152.
- [59] RON D, WALTER P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(7):519-529.
- [60] HARMON D, EUSTACE N, GHORI K, et al. Plasma concentrations of nitric oxide products and cognitive dysfunction following coronary artery bypass surgery[J]. *Eur J Anaesthesiol*, 2005, 22(4):269-276.
- [61] LEE M, REY K, BESLER K, et al. Immunobiology of nitric oxide and regulation of inducible nitric oxide synthase[M]// KLOC M. Macrophages: origin, functions and biointervention. Cham: Springer International Publishing, 2017:181-207.
- [62] KOLETTIS T M, BARTON M, LANGLEBEN D, et al. Endothelin in coronary artery disease and myocardial infarction[J]. *Cardiol Rev*, 2013, 21(5):249-256.
- [63] WATARI A, SAKAMOTO Y, HISAIE K, et al. Rebecamycin attenuates TNF- $\alpha$ -induced intestinal epithelial barrier dysfunction by inhibiting myosin light chain kinase production[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(5):1924-1934.
- [64] SHIMOKAWA H, TAKESHITA A. Rho-kinase is an important therapeutic target in cardiovascular medicine[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(9):1767-1775.
- [65] WANG H, YAO Q, ZHU S, et al. The autopsy study of 553 cases of sudden cardiac death in Chinese adults[J]. *Heart Vessels*, 2014, 29(4):486-495.
- [66] FACTOR S M, CHO S. Smooth muscle contraction bands in the media of coronary arteries: a post-mortem marker of antemortem coronary spasm?[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1985, 6(6):1329-1337.
- [67] SVENDSEN E, TINDALL A R. The internal elastic membrane and intimal folds in arteries: important but neglected structures?[J]. *Acta Physiol Scand Suppl*, 1988, 572:1-71.
- [68] LIN C S, GOLDFISCHER M, SICULAR A, et al. Morphodynamics and pathology of blood vessels II-I-comparative morphologic study of contraction of smooth muscle cells of hollow viscera and its application to vasoconstriction and vasospasm[J]. *Angiology*, 1998, 49(7):503-522.
- [69] 周伟, 王斐, 秦启生, 等. 早期心肌梗死与冠状动脉痉挛致心肌肌红蛋白缺失的实验研究[J]. *法医学杂志*, 1997, 13(3):133-134.

(收稿日期:2017-08-31)

(本文编辑:张建华)