

· 颈动脉疾病研究 ·

急性脑梗死患者巨噬细胞趋化因子配体 16 与颈动脉粥样硬化斑块不稳定性的关系

石志鸿, 辛颖, 刘彬, 张莹, 岳伟, 陆卉, 张雅静, 于德林, 纪勇

摘要:目的 探讨急性脑梗死患者血清可溶性巨噬细胞趋化因子配体 16(CXCL16)水平与颈动脉粥样硬化斑块不稳定性及预后的关系。方法 选择 40 例急性颈内动脉系统脑梗死患者为病例组,其中稳定斑块 9 例和不稳定斑块 31 例,同期健康体检者 40 例为对照组,应用颈动脉超声评估颈动脉粥样硬化斑块的形态学特点,ELISA 法检测 2 组不同时间血清 CXCL16 水平。结果 病例组发病 72 h 血清 CXCL16 水平显著高于对照组 $[5.00 \pm 1.77)$ ng/L vs (4.28 ± 0.74) ng/L, $P < 0.05$];不稳定斑块患者发病 72 h 及 1 周时血清 CXCL16 水平显著高于稳定斑块患者($P < 0.01$);复发患者发病 72 h 及 1 周时血清 CXCL16 水平明显高于未复发患者 $[(6.24 \pm 1.26)$ ng/L vs (4.68 ± 1.92) ng/L, (5.55 ± 1.23) ng/L vs (4.25 ± 1.51) ng/L, $P < 0.05$]。结论 血清 CXCL16 水平在脑梗死急性期升高,与动脉粥样硬化斑块的稳定性密切相关,可能提示预后不良。

关键词:脑梗死;趋化因子类;颈动脉疾病;动脉粥样硬化;超声检查,多普勒,彩色

Relation between CXCL16 and instable carotid atherosclerotic plaques in patients with acute ischemic cerebral stroke

SHI Zhi-hong, XIN Ying, LIU Bin, et al

(Department of Neurology, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300060, China)

Abstract: Objective To study the relation of serum CXCL16 level with instable carotid atherosclerotic plaques in patients with acute ischemic cerebral stroke and their prognosis. **Methods** Forty acute cerebral stroke patients (9 with stable carotid atherosclerotic plaques and 31 with instable carotid atherosclerotic plaques) served as a patients group and 40 subjects undergoing health check served as a control group. The morphological features of their carotid atherosclerotic plaques were assessed by carotid ultrasonography and their serum CXCL16 levels at different time points were measured by ELISA. **Results** The serum CXCL16 level was significantly higher in patients group than in control group at 72 h after onset of the disease (5.00 ± 1.77 ng/L vs 4.28 ± 0.74 ng/L, $P < 0.05$), in patients with instable carotid atherosclerotic plaques than in those with stable carotid atherosclerotic plaques ($P < 0.01$) and in patients with relapse than in those without relapse at 72 h and 1 week after onset of the disease (6.24 ± 1.26 ng/L vs 4.68 ± 1.92 ng/L, 5.55 ± 1.23 ng/L vs 4.25 ± 1.51 ng/L, $P < 0.05$). **Conclusion** The serum CXCL16 level increases in patients with acute cerebral stroke, which is closely related with the instable carotid atherosclerotic plaques and suggests a poor prognosis of the patients.

Key words: brain infarction; chemotactic factors; carotid artery diseases; atherosclerosis; ultrasonography, Doppler, color

脑梗死发病率、致残率高,严重影响人类的健康。在我国脑血管病分类中,颅内、外大血管动脉硬化

性脑梗死是缺血性脑卒中的重要类型。颈动脉粥样硬化不稳定斑块的破裂和脱落,是引发缺血性脑卒中发生的重要机制^[1]。及时了解颈动脉内膜变化和斑块的形成及稳定情况,探索预测斑块易损性的指标,对于预防缺血性脑血管事件的发生具有重要意义。炎症促进了颈动脉粥样硬化斑块的不稳定,

DOI:10.3969/j.issn.1009-0126.2013.02.003

作者单位:300060 天津市环湖医院神经内科(石志鸿,张莹,岳伟,陆卉,张雅静,纪勇),检验科(辛颖),超声科(刘彬,于德林)

通讯作者:纪勇, E-mail:jiyongusa@yahoo.com

栓子脱落,引起脑栓塞事件。另外,梗死脑组织的炎症反应进一步加重组织的破坏,加重临床症状^[2]。化学趋化因子是小分子的肝素结合蛋白,白细胞的迁移、浸润和激活都受化学趋化因子的调节,在炎症和免疫应答过程中起重要作用。血管内环境中,炎症细胞与细胞因子、炎性介质等的相互作用机制极其复杂,趋化因子则是联系炎症与动脉粥样硬化发生的枢纽^[3]。巨噬细胞趋化因子配体 16(CXCL16)是一种跨膜分子,属于 CXC 趋化因子亚家族,包含跨膜区和黏蛋白样结构,以可溶性与结合性 2 种形式存在。它不仅具有趋化因子的功能,而且还具有清道夫受体的作用,能与磷脂酰丝氨酸和氧化型低密度脂蛋白结合,参与炎症和免疫应答过程。目前对 CXCL16 与脑血管病关系的研究较少。可溶性 CXCL16 主要起趋化因子的作用,分布于血液中。通过检测血清 CXCL16 水平,可以反映炎症部位的表达水平,成为动脉粥样硬化斑块不稳定血清中的标记物,提示病情的进展。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择 2009 年 4~10 月在天津市环湖医院住院的急性颈内动脉系统脑梗死患者 40 例为病例组,男 25 例,女 15 例,平均年龄(60.9±8.7)岁,合并高血压 30 例,冠心病 15 例,糖尿病 12 例。均符合 1995 年全国第四届脑血管病学术会议通过的诊断标准,经头颅 CT 或 MRI 证实,均于发病 72 h 内入院。排除标准:心源性栓塞、外伤、动脉炎、血液病、肿瘤、药物、动脉瘤或脑血管畸形等所引起的脑梗死、无症状性脑梗死、梗死后出血和脑出血。选择同期本院健康体检者 40 例为对照组,男 24 例,女 16 例,平均年龄(59.7±9.2)岁。排除标准:严重心、肝、肾、血液病、恶性肿瘤;近 2 周有发热、感染病史,入院后有继发感染,患有自身免疫性疾病,入院前 2 周服用阿司匹林、双嘧达莫、肝素等抗血小板、抗凝药物及他汀类药物,病前 2 个月有手术史。病例组与对照组年龄、性别相匹配,具有可比性。

1.2 方法 所有入选者均常规检测血糖、血脂、血常规、同型半胱氨酸、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)。分析合并冠心病、高血压、糖尿病患者血清 CXCL16 水平是否存在差异。神经功能评分采用美国国立卫生研究院脑卒中量表(NIHSS)。

1.3 检测颈动脉粥样硬化及诊断标准 患者均在入院 12 h 内进行颈动脉彩色超声检查,用美国 GE 公司 Logiq7 全数字彩色多普勒超声诊断仪,由专人分别检测双侧颈总动脉、颈总动脉分叉处及颈内动脉

颅外段,椎动脉椎间段、起始段及双侧锁骨下动脉,测量并记录颈动脉内膜中层厚度、管壁内径、粥样硬化斑块回声强度、数量、部位等。按 AHA 制定的标准,对颈动脉粥样硬化斑块进行分型,Ⅰ~Ⅱ型:接近正常动脉壁厚度,无钙化;Ⅲ型:弥散的内膜增厚或小斑块不伴有钙化;Ⅳ~Ⅴ型:有脂质或坏死的核,被纤维组织围绕,可能伴有钙化;Ⅵ型:复杂斑块,存在表面破裂、出血及血栓形成;Ⅶ型:钙化斑块;Ⅷ型:没有脂质核心的纤维斑块,可有较少钙化。本研究将Ⅰ~Ⅲ、Ⅶ、Ⅷ型定义为稳定斑块(9 例),Ⅳ~Ⅵ型定义为不稳定斑块(31 例),比较稳定斑块与不稳定斑块患者 CXCL16 水平。

同时对患者进行微栓子检测,使用德国 EME 公司的 TC8080 经颅多普勒超声仪,选择双通道模式,以 2 MHz 监护探头监测双侧大脑中动脉,取样容积 10 mm,去除包络线,降低增益,开启自动监护软件,监测 45~60 min,实时记录栓子信号,并在检测结束后,对照分析自动检测系统记录。

对照组于体检时,病例组于发病 72 h 内清晨抽取静脉血 2 ml,置于促凝管,以 4000 r/min 离心 10 min,取上清液,放-70℃低温冰箱保存待测。病例组常规抗血小板、他汀类药物调脂治疗,19 例服用辛伐他汀 40 mg,21 例服用阿托伐他汀 10 mg,每晚 1 次。分别于治疗 1、2 周时,抽取空腹血 2 ml,采用 ELISA 法测定血清 CXCL16 水平,严格按照试剂盒说明操作。同时行 NIHSS 评分。

所有患者门诊预约及电话进行随访,观察复发脑梗死和神经功能恢复情况。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 16.0 统计软件包进行统计分析,先行正态分布检验,符合正态分布的以 $\bar{x} \pm s$ 表示,先采用方差齐性检验,后采用 t 检验,相关性分析用 Pearson 相关检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组与对照组 CXCL16 水平比较 病例组发病 72 h CXCL16 水平较对照明显升高[(5.00±1.77)ng/L vs (4.28±0.74)ng/L, $t = 2.364$, $P = 0.021$],发病 1 周后 CXCL16 为(4.40±1.45)ng/L,发病 2 周后 CXCL16 为(3.80±1.21)ng/L,与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 病例组患者是否伴发疾病 CXCL16 水平比较 患者是否伴发冠心病、糖尿病和高血压发病 72 h,治疗 1、2 周时 CXCL16 水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

表 1 病例组患者是否伴发疾病 CXCL16 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

伴发疾病	例数	发病 72 h	治疗 1 周	治疗 2 周
冠心病				
是	15	4.95 ± 1.77	4.41 ± 1.61	3.94 ± 1.53
否	25	5.02 ± 1.80	4.40 ± 1.38	3.73 ± 1.03
高血压				
是	30	5.05 ± 1.78	4.37 ± 1.49	3.79 ± 1.31
否	10	4.72 ± 1.83	4.55 ± 1.34	3.91 ± 0.42
糖尿病				
是	12	5.16 ± 1.64	4.68 ± 1.52	4.23 ± 1.30
否	28	4.93 ± 1.84	4.28 ± 1.43	3.70 ± 1.99

2.3 病例组不稳定斑块与稳定斑块患者 CXCL16 水平比较 不稳定斑块患者发病 72 h 和治疗 1 周时, CXCL16 水平明显高于稳定斑块患者 ($P < 0.01$), 2 组治疗 2 周时 CXCL16 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 2)。

表 2 病例组不稳定斑块与稳定斑块患者 CXCL16 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

患者	例数	发病 72 h	治疗 1 周	治疗 2 周
不稳定斑块	31	5.46 ± 1.62	4.73 ± 1.42	4.06 ± 1.25
稳定斑块	9	3.41 ± 1.30	3.29 ± 0.96	3.36 ± 1.05
<i>t</i> 值		3.483	2.840	1.410
<i>P</i> 值		0.001	0.007	0.172

只有 3 例患者在脑梗死同侧大脑中动脉检测到微栓子信号, 颈内动脉或颈总动脉存在不稳定斑块, 2 例 CT 血管造影证实存在大血管狭窄, 3 例患者发病 72 h 血清 CXCL16 水平分别为 1.43、1.93 和 2.79 ng/L, 明显低于其他患者及对照组的平均值。

2.4 Pearson 相关性分析 发病 72 h, 治疗 1、2 周时 CXCL16 与入院时 TG、TC、HDL-C、LDL-C 和 hs-CRP 均无明显相关性 ($P > 0.05$)。与入院时 NIHSS 评分亦无明显相关性 ($P > 0.05$, 表 3)。

表 3 Pearson 相关性分析

项目	发病 72 h		治疗 1 周		治疗 2 周	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
TG	0.196	0.208	0.156	0.318	-0.055	0.785
TC	-0.048	0.785	-0.094	0.549	0.019	0.925
HDL-C	-0.291	0.058	-0.203	0.191	-0.008	0.968
LDL-C	-0.067	0.668	-0.102	0.514	0.088	0.662
hs-CRP	-0.156	0.498	-0.252	0.270	-0.170	0.598
NIHSS 评分	0.125	0.449	0.146	0.376	0.287	0.160

2.5 病例组复发与未复发患者 CXCL16 水平比较 患者随访 (24.0 ± 3.4) 个月, 1 例失访, 3 例死亡, 其中 2 例死于脑梗死复发后合并肺感染, 1 例死于冠心病。6 例患者复发脑梗死。复发 (包括死亡) 患

者发病 72 h 及治疗 1 周时 CXCL16 水平明显高于未复发患者 ($P < 0.05$)。但复发患者与未复发患者治疗 2 周时 CXCL16 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 表 4)。

表 4 病例组复发与未复发患者 CXCL16 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

复发与否	例数	发病 72 h	治疗 1 周	治疗 2 周
复发	9	6.24 ± 1.26	5.55 ± 1.23	4.24 ± 1.02
未复发	30	4.68 ± 1.92	4.25 ± 1.51	3.80 ± 1.36
<i>t</i> 值		2.494	2.134	0.672
<i>P</i> 值		0.029	0.046	0.509

3 讨论

目前研究提示, 炎症反应在动脉粥样硬化形成、血管成形后再狭窄和血管重建中发挥重要的作用。CXCL16 是磷脂酰丝氨酸和氧化脂质的清道夫受体和趋化因子, 通过与 CXCR6 结合, 发挥趋化活性。CXCL16 被 γ 干扰素上调, 可能通过吸引 CXCR6 阳性细胞和吞噬氧化的脂质引起动脉粥样硬化。血清可溶性 CXCL16 水平与冠心病的预后密切相关, 但是各项研究结果并不一致^[4-7]。一些研究发现, 在稳定性心绞痛和不稳定性心绞痛、急性冠状动脉综合征患者中, CXCL16 水平均明显降低^[5,8]。其他研究报道, CXCL16 在冠心病中明显升高, 尤其是不稳定性心绞痛患者, 长期应用他汀类药物, 可降低血清 CXCL16^[3,6-7]。大样本研究发现, CXCL16 与冠心病的长期预后明显相关^[9-10]。

本研究结果显示, 病例组患者脑梗死发病 72 h 血清 CXCL16 水平显著高于对照组, 而患者应用他汀类等药物治疗 1 周及 2 周时, 血清 CXCL16 水平逐渐下降到正常水平或以下, 但无统计学差异。提示血清 CXCL16 水平升高与急性脑梗死发生密切相关, 病情稳定后, CXCL16 水平迅速下降。因本研究患者恢复期后未检测 CXCL16 水平, 尚不能证明他汀类药物对 CXCL16 的影响。hs-CRP 作为炎症疾病的非特异性标记物, 不仅是反映机体损伤的重要指标, 也是参与动脉粥样硬化的重要炎症因子, 与急性脑梗死的严重程度密切相关^[11-12]。本研究结果显示, 病例组 CXCL16 水平与入院时 NIHSS 评分及 hs-CRP 无明显相关性。在冠心病的研究中也发现, CXCL16 与 hs-CRP 无明显相关性^[8]。提示 CXCL16 水平不是反映急性脑梗死严重程度的非特异性指标。本研究中, 动脉硬化性脑梗死常见的危险因素, 如是否合并高血压、糖尿病和冠心病患者的 CXCL16 水平无明显差异, 提示 CXCL16 表达水平

不受各危险因素的影响而独立起作用, CXCL16 升高是独立的急性脑梗死的生化指标。

本研究进一步分析显示, 不稳定斑块患者的 CXCL16 水平明显高于稳定斑块患者, 结果提示 CXCL16 与动脉粥样硬化斑块不稳定性明显相关。脑梗死急性期血清 CXCL16 水平高的患者有更多的脑卒中复发, 提示预后不良。最近一些研究也发现, 急性缺血性脑卒中患者较动脉硬化的无脑卒中患者和正常对照者血清 CXCL16 明显升高^[13-14]。Ueland 等^[15]的研究发现, 急性缺血性脑卒中发病前 4 d, CXCL16 明显升高, 6 个月后 CXCL16 明显降低, 与预后不良明显相关。尤其是心血管病导致的死亡明显增加。微栓子出现, 提示不稳定斑块存在, 但同时很难排除心源性栓子的可能。本研究 40 例脑梗死患者中, 只有 3 例患者微栓子阳性, 而且合并颈动脉不稳定斑块, 2 例合并颈部大血管狭窄, 均出现低的 CXCL16 水平, 原因尚不清楚, 是否与一些冠心病的研究结果相一致, 有待于大样本进一步的研究。由于本研究例数较少, 仍需大样本的研究来确定 CXCL16 与脑梗死复发和预后的关系。

目前认为, CXCL16 能够通过促进炎症反应, 脂质沉积和基质降解来加重动脉粥样硬化。虽没有充分的证据, 但仍认为 CXCL16 在急性脑卒中发挥重要的作用。Huang 等^[16]研究发现, CXCL16 的单核苷酸多态性参与 CXCL16 的转录。纯合子携带者血 CXCL16 明显升高, 提示高水平的 CXCL16 与加重动脉粥样硬化具有相关性。本研究结果显示, CXCL16 水平升高与 NIHSS 评分无明显相关性, 但不稳定斑块患者发病 72 h 和治疗 1 周 CXCL16 较稳定斑块患者明显升高。提示 CXCL16 不只是急性缺血的反映, 而是潜在反映这些患者慢性血管炎症和血管重建, 存在斑块破裂, 再发脑梗死的危险, 与疾病的复发密切相关。治疗 2 周患者 CXCL16 迅速下降至正常水平, 是否与应用他汀类调脂药物及抗血小板药物对血管炎症的抑制有关, 仍不清楚, 需要进一步的研究。

本研究结果提示, 脑梗死患者发病早期血清可溶性 CXCL16 明显升高, 血清 CXCL16 水平与颈动脉斑块的不稳定性密切相关, 可能作为脑梗死急性期患者病情不稳定, 容易复发的独立血清学指标, 是颈动脉斑块不稳定的形态学外重要的血清标记物。

参考文献

[1] Virmani R, Ladich EK, Burke AP, et al. Histopathology of carotid atherosclerotic disease. *Neurosurgery*, 2006, 59: s219-

s227.
 [2] Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *J Leukoc Biol*, 2010, 87: 779-789.
 [3] Zernecke A, Shagdarsuren E, Weber C. Chemokines in atherosclerosis: an update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28: 1897-1908.
 [4] Smith C, Halvorsen B, Otterdal K, et al. High levels and inflammatory effects of soluble CXC ligand 16 (CXCL16) in coronary artery disease; down-regulatory effects of statins. *Cardiovasc Res*, 2008, 79: 195-203.
 [5] Sheikine Y, Bang CS, Nilsson L, et al. Decreased plasma CXCL16/SR-PSOX concentration is associated with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 2006, 188: 462-466.
 [6] Lehrke M, Millington SC, Lefterova M, et al. CXCL16 is a marker of inflammation, atherosclerosis, and acute coronary syndromes in humans. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49: 442-449.
 [7] Ludwig A, Weber C. Transmembrane chemokines: versatile 'special agents' in vascular inflammation. *Thromb Haemost*, 2007, 97: 694-703.
 [8] Mitsuoka H, Toyohara M, Kume N, et al. Circulating soluble SR-PSOX/CXCL16 as a biomarker for acute coronary syndrome-comparison with high-sensitivity C-reactive protein. *J Atheroscler Thromb*, 2009, 16: 586-593.
 [9] Jansson AM, Aukrust P, Ueland T, et al. Soluble CXCL16 predicts long-term mortality in acute coronary syndromes. *Circulation*, 2009, 119: 3181-3188.
 [10] Jansson AM, Hartford M, Omland T, et al. Multimarker risk assessment including osteoprotegerin and CXCL16 in acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32: 3041-3049.
 [11] 曹红, 孙长凯, 赵耿毅, 等. C-反应蛋白水平与脑梗死病情及预后的量化研究. *中国现代神经疾病杂志*, 2005, 5: 84-87.
 [12] 张春华, 王炳莲, 田国栋, 等. 高敏 C-反应蛋白与进展性脑梗死相关性的临床观察. *中国现代神经疾病杂志*, 2010, 10: 583-584.
 [13] 张静静, 潘旭东, 马爱军, 等. 急性脑梗死患者血清 CXCL16 水平与卒中亚型的关系. *国际脑血管病杂志*, 2010, 18: 818-822.
 [14] Wang KD, Liu ZZ, Wang RM, et al. Chemokine CXC ligand 16 serum concentration but not A181V genotype is associated with atherosclerotic stroke. *Clin Chim Acta*, 2010, 411: 1447-1451.
 [15] Ueland T, Smedbakken LM, Hallén J, et al. Soluble CXCL16 and long-term outcome in acute ischemic stroke. *Atherosclerosis*, 2012, 220: 244-249.
 [16] Huang M, Han Y, Zhang X, et al. An intron polymorphism in the CXCL16 gene is associated with increased risk of coronary artery disease in Chinese Han population: a large angiography-based study. *Atherosclerosis*, 2010, 210: 160-165.

(收稿日期: 2012-06-27)

(本文编辑: 银燕)