

大动脉粥样硬化性脑梗死患者趋化因子 CXCL16 水平与微栓子检测的相关性

马翠苓 潘旭东 马爱军 宋双 王琨

摘要: **目的** 探讨大动脉粥样硬化性脑梗死患者急性期血清趋化因子 CXCL16 (CXCL16) 水平及其与微栓子之间的关系。 **方法** 纳入 61 例颈内动脉或大脑中动脉供血区的动脉粥样硬化性脑梗死急性期的患者, 根据微栓子信号 (MES) 的检测结果, 分为 MES 阳性组 (17 例) 与 MES 阴性组 (44 例); 对照组 74 例为同期健康体检人群。应用 ELISA 法检测所有受试者血清 CXCL16 的水平, 两组之间进行比较。采用多元 Logistic 相关回归分析显示大动脉粥样硬化性脑梗死患者的危险因素。 **结果** ①脑梗死患者的血清 CXCL16 水平 (2.3 ± 0.4) $\mu\text{g/L}$ 高于对照组 (2.0 ± 0.5) $\mu\text{g/L}$, 差异有统计学意义 ($t = 4.258, P < 0.01$)。②MES 阳性组患者的血清 CXCL16 水平 (2.6 ± 0.4) $\mu\text{g/L}$ 高于 MES 阴性组 (2.3 ± 0.4) $\mu\text{g/L}$ 和对照组, MES 阴性组的血清 CXCL16 水平高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。③多元 Logistic 回归分析显示, CXCL16 水平 ($OR = 7.542, 95\% CI: 2.470 \sim 23.031$)、三酰甘油 ($OR = 4.471, 95\% CI: 1.646 \sim 12.145$)、高血压 ($OR = 0.295, 95\% CI: 0.120 \sim 0.725$) 是大动脉粥样硬化性脑梗死的独立危险因素。 **结论** 血清 CXCL16 水平在脑梗死急性期升高, MES 阳性组血清 CXCL16 水平最高。血清 CXCL16 水平升高是大动脉粥样硬化性脑梗死的独立危险因素。

关键词: 脑梗死; 动脉粥样硬化; 趋化因子 CXCL16; 超声检查, 多普勒, 经颅

doi: 10.3969/j.issn.1672-5921.2012.03.002

Correlation study between the chemokine CXCL16 level and microembolic signal monitoring in patients with large artery atherosclerotic cerebral infarction MA Cui-ling, PAN Xu-dong, MA Ai-jun, SONG Shuang, WANG Kun. Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College (East Area), Qingdao 266000, China

Corresponding author: PAN Xu-dong, Email: drpan022@163.com

Abstract: Objective To investigate the correlation between the acute serum chemokine CXCL16 level and microemboli in patients with large artery atherosclerotic cerebral infarction. **Methods** A total of 61 patients with acute atherosclerotic cerebral infarction in the internal carotid artery or middle cerebral artery regions were included in the study. According to the results of microembolic signals (MES) detection, they were divided into a MES positive group ($n = 17$) and a MES negative group ($n = 44$). 74 healthy individuals were collected as the control group. The serum CXCL16 levels in all the subjects were assayed using enzyme-linked immunorbent assay (ELISA), and they were compared between two groups. The risk factors for large artery atherosclerotic cerebral infarction were revealed using multivariate logistic regression analysis. **Results** ①The serum CXCL16 level $2.3 \pm 0.4 \mu\text{g/L}$ in the patient groups were significantly higher than $2.0 \pm 0.5 \mu\text{g/L}$ in the control group. There was significant difference ($t = 4.258, P < 0.01$). ②The serum CXCL16 level $2.6 \pm 0.4 \mu\text{g/L}$ in the MES positive group was higher than $2.3 \pm 0.4 \mu\text{g/L}$ in the MES negative group and the control group. The serum CXCL16 level in the MES negative group was higher than that in the control group. There was significant difference ($P < 0.05$). ③Multivariate logistic

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2011HM087)

作者单位: 266000 青岛大学医学院附属医院东区神经内科

通讯作者: 潘旭东, Email: drpan022@163.com

regression analysis showed that the CXCL16 level (OR: 7.542, 95% CI: 2.470 - 23.031), high triacylglycerol (OR: 4.471, 95% CI: 1.646 - 12.145), and hypertension (OR: 0.295, 95% CI: 0.120 - 0.725) were the independent risk factors for large artery atherosclerotic cerebral infarction.

Conclusion The serum CXCL16 level increased in the acute phase of cerebral infarction. The serum CXCL16 level in the MES positive group was the highest. The increased serum CXCL16 level is an independent risk factor for large artery atherosclerotic cerebral infarction.

Key words: Brain infarction; Atherosclerosis; Chemokine CXCL16; Ultrasonography, Doppler, transcranial

动脉粥样硬化 (Sclerosis, AS), 斑块破裂后栓子脱落造成的动脉到动脉的栓塞是急性脑梗死的重要发病机制, 已成为研究的热点。通过经颅多普勒超声 (TCD) 监测微栓子信号 (microembolic signals, MES) 能够提示斑块的不稳定性^[1]。有研究显示, 炎症反应在动脉粥样硬化发病机制中发挥着重要的作用^[2], 是动脉粥样硬化性卒中的独立危险因素^[3-4]。近年来, 趋化因子 CXCL16 (chemokine CXC ligand 16, CXCL16) 在动脉粥样硬化研究领域受到了广泛的重视, 国内外多项研究表明, 血清 CXCL16 水平的升高与冠心病、冠状动脉狭窄程度以及颈动脉粥样硬化密切相关^[5-7]。本研究主要分析缺血性卒中的微栓子监测与 CXCL16 的关系, 为临床上预测卒中事件的发生、发展提供新的依据。

1 对象与方法

1.1 对象

纳入 2010 年 11 月—2011 年 7 月于青岛大学医学院附属医院神经内科住院的 61 例大动脉粥样硬化性急性脑梗死患者, 其中男 44 例, 女 17 例; 年龄为 40~81 岁, 平均 (65 ± 11) 岁。纳入标准: ①所有患者均符合第四届全国脑血管病会议修订的诊断标准, 经头部 CT 或 MRI 确诊为颈内动脉或大脑中动脉供血区脑梗死。②根据类肝素药物治疗急性缺血性卒中试验 (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treat-

ment, TOAST) 病因分型确定为大动脉粥样硬化性脑梗死^[8]。其判定标准为: 颈动脉超声检查发现颈动脉闭塞或狭窄 (狭窄率 ≥ 50%); 磁共振血管成像 (MRA)、CT 血管成像 (CTA) 或 DSA 检查显示相关的颅内或颅外动脉主干及其分支动脉闭塞或狭窄 (狭窄率 ≥ 50%)。③均于发病 72 h 内入院。④病情允许且能配合检查, TCD 的颞窗透声良好。根据 MES 的检测结果, 分为 MES 阳性组 (17 例) 和 MES 阴性组 (44 例)。

对照组为同时期于我院健康体检者, 共 74 名, 其中男 43 名, 女 31 名; 年龄为 39~85 岁, 平均 (66 ± 12) 岁。入选标准: ①无脑梗死或明显脑缺血。②经血管超声检查无明显颅内外动脉狭窄。脑梗死患者的高血压比例、三酰甘油 (TG) 水平、低密度脂蛋白 (LDL) 高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 其他指标两组差异无统计学意义。见表 1。

排除标准: ①CT 显示存在脑出血。②患自身免疫性疾病或服用免疫抑制剂。③有明显的心、肝、肾功能不全及恶性肿瘤。④近 4 周有感染征象或应用抗生素和激素。⑤近 4 周有外科手术史、外伤史和外伤。⑥近半个月服用抗血小板聚集、他汀类降脂药物和既往有脑梗死病史。⑦存在心房颤动等严重心律失常。⑧心源性栓塞所致的卒中。

1.2 受试者观察指标的标准

详细追问患者的既往史、个人史及家族史。急

表 1 脑梗死组与对照组的人口学特征和卒中危险因素的比较

组别	例数	例数及率 (%)					$\bar{x} \pm s, \text{mmol/L}$				
		男性	高血压	糖尿病	冠心病	吸烟	饮酒	TG	TC	HDL	LDL
脑梗死组	61	44 (72.1)	47 (77.0)	19 (31.1)	17 (27.9)	20 (32.8)	19 (31.1)	1.8 ± 0.6	4.9 ± 1.2	1.27 ± 0.22	2.8 ± 0.9
对照组	74	44 (59.5)	32 (43.2)	19 (25.7)	19 (25.7)	26 (35.1)	16 (21.6)	1.4 ± 0.4	4.5 ± 1.0	1.31 ± 0.31	2.5 ± 0.7
χ^2/t 值		2.366	15.742	0.495	0.082	0.082	1.580	4.053	1.972	-0.942	2.360
P 值		0.148	0.000	0.565	0.846	0.856	0.240	0.000	0.051	0.348	0.020

性脑梗死的危险因素包括年龄、高血压、糖尿病、冠心病、吸烟(到确诊时为止患者吸烟≥10支/d,并>5年或已戒烟但<5年)、饮酒(平均每日摄入乙醇24g以上)及高脂血症: TG≥2.3 mmol/L、总胆固醇(TC)≥5.2 mmol/L、高密度脂蛋白(HDL)≤1.0 mmol/L和 LDL≥2.6 mmol/L为血脂异常标准,具有以上任何一项者定义为高脂血症。

1.3 血清 CXCL16 的检测

于清晨空腹抽取所有受试者前臂静脉血(脑梗死患者于入院后次日凌晨采血)3 ml,置于普通生化管,室温固定2h,常温下离心2500 r/min,10 min,收集上清液,-70℃冻存待测。采用酶联免疫吸附法检测CXCL16浓度,操作步骤严格按照说明书进行。试剂盒为美国R&D公司产品,灵敏度可达10 ng/L。

1.4 MES 的检查

采用德力凯 EMS-9EBx2P TCD 检测仪,于患者入院当天进行MES检测,检测时间为1h。患者取仰卧位,于安静休息状态下,采用2 MHz探头取得症状侧大脑中动脉清晰的血流信号,固定Spencer头架,深度取50~60 mm,两点之间距离≥6 mm,取样容积为6~12 mm,MES相对强度阈值为4 dB,尽可能降低增益值,确保频谱清晰。通过2006专业经颅多普勒软件V1.3.3记录处理结果。检测过程由同一经过系统培训的专人操作。检测完毕后回放每个MES信号,以除外伪差和干扰,并经2名神经内科医师同时确认。MES识别标准^[9]:①时间短暂,持续时间<300 ms。②信号强度较背景血流信号≥3 dB。③单向出现于血流频谱中。④音频信号表现为“劈啪”或“鸟鸣”声。⑤于心动周期内随意出现。⑥在两个检测深度存在时间延迟。

1.5 统计学分析

应用SPSS 15.0软件包进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以频数表示,两组间比较用独立t检验或 χ^2 检验;脑梗死发病与危险因素的相关性分析采用多元Logistic回归分析,以是否发生脑梗死为因变量,血脂、高血压、糖尿病、CXCL16等为自变量。

2 结果

2.1 两组患者血清 CXCL16 水平的比较

脑梗死组患者入院时的血清CXCL16水平(2.3±0.4)μg/L高于对照组(2.0±0.5)μg/L,差异有统计学意义(t=4.258,P<0.01)。MES阳性组

患者的血清CXCL16水平(2.6±0.4)μg/L高于MES阴性组(2.3±0.4)μg/L和对照组,MES阴性组的血清CXCL16水平高于对照组,差异均有统计学意义,P<0.05。

2.2 急性脑梗死的多元 Logistic 回归分析结果

多元 Logistic 回归分析显示,CXCL16水平(OR=7.542,95%CI:2.470~23.031)、三酰甘油(OR=4.471,95%CI:1.646~12.145)、高血压(OR=0.295,95%CI:0.120~0.725)是大动脉粥样硬化性脑梗死的独立危险因素。见表2。

表2 大动脉粥样硬化性脑梗死危险因素的多元 Logistic 分析

因素	β	P 值	OR 值	95% CI
三酰甘油	1.498	0.003	4.471	1.646 ~ 12.145
总胆固醇	-0.141	0.682	0.868	0.441 ~ 1.707
高密度脂蛋白	-1.160	0.213	0.314	0.051 ~ 1.945
低密度脂蛋白	0.806	0.074	2.239	0.925 ~ 5.417
高血压	-1.222	0.008	0.295	0.120 ~ 0.725
糖尿病	-0.251	0.633	0.778	0.277 ~ 2.185
冠心病	-0.047	0.923	0.954	0.367 ~ 2.481
吸烟	0.581	0.231	1.787	0.691 ~ 4.619
饮酒	-0.786	0.128	0.455	0.166 ~ 1.253
CXCL16	2.020	0.000	7.542	2.470 ~ 23.031

3 讨论

目前认为,AS是一种血管壁的慢性炎症反应性疾病。血管内皮受损是启动因素,黏附分子表达于内皮细胞,介导白细胞吸附、单核细胞迁移,细胞浸润分化并分泌多种炎症细胞因子,通过基质金属蛋白酶(MMP)进一步激活内皮细胞,促进平滑肌细胞增殖和斑块进展,最终导致斑块的破裂^[10]。

3.1 CXCL16 在 AS 中的作用

CXCL16是近年新发现的一种趋化因子,以膜结合型和分泌型两种形式存在。CXCL16参与AS的病理基础主要如下^[11-12]:①作为清道夫受体,表达于巨噬细胞表面,不断吞噬氧化型LDL,转变为泡沫细胞沉积于内膜下,成为AS斑块的脂质核心。②作为趋化因子,与T细胞表面的配体结合,促发AS的炎症反应。③CXCL16能够促进平滑肌细胞增殖及细胞间的黏附,加速AS斑块的进程。此外,体外实验证实,CXCL16促进人脐静脉内皮细胞的增殖、迁

移和管腔形成,是一种新的促血管生成因子^[13]。因此,CXCL16结合清道夫受体、趋化因子、黏附分子三种功能参与 AS 的形成和发展,通过改变纤维帽的厚度及炎性反应的过程影响斑块的稳定性。作为一种血管源性因子,致内膜新生血管形成,易造成破裂出血,从而引发临床心脑血管事件的发生。

本研究结果显示,急性期脑梗死患者血清 CXCL16 水平高于对照组,与国内的研究结果一致^[14-15]。提示大动脉粥样硬化性脑梗死急性期的患者血清 CXCL16 水平升高可作为一种炎性标志物,这可能与脑梗死后继发的炎性及免疫损伤反应相关。同时,Logistic 多元回归分析显示,高血脂、高血压是大动脉粥样硬化性脑梗死的相关危险因素,与以往研究大致符合^[16]。故调脂降压等治疗有助于控制脑血管病的发病率。

3.2 CXCL16 与 MES

AS 不稳定斑块是脑梗死发生的独立危险因素,炎性反应与 AS 斑块的不稳定性密切相关。Yi 等^[17]在 CXCL16 在斑块稳定性的动物实验研究中表明,血浆 CXCL16 水平的升高促进稳定斑块转变为不稳定斑块。2008 年,欧洲卒中组织执行委员会和写作委员会共同完成了《缺血性卒中和短暂性脑缺血发作治疗指南 2008》^[18],指出 TCD 是检测脑血流中 MES 的唯一方法。TCD 检测到 MES 阳性是 AS 斑块不稳定性和动脉到动脉栓塞的可靠证据,对了解脑梗死的发病机制及识别卒中复发的高危人群,具有重要的临床价值。对于大动脉粥样硬化性卒中,推荐将其作为常规检查项目之一^[19]。

心房颤动、心瓣膜病、细菌性心内膜炎、AS 斑块等都是微栓子的来源^[20]。本研究主要是针对颈内动脉系统粥样硬化斑块的栓子脱落。对 61 例患者进行 MES 检测,其中 MES 阳性者 17 例,阳性率为 27.9%,较欧美国家研究报道的阳性率低,考虑可能与种族、地域差异、纳入患者的情况、检测仪器及检测软件等客观因素有关。

然而,目前 CXCL16 在 AS 病变中的作用仍存在争议。Aslanian 和 Charo^[21]的研究表明,CXCL16 缺陷鼠(CXCL16^{-/-})的巨噬细胞结合内含氧化 LDL 的能力显著减少,而 CXCL16^{-/-}/LDLR^{-/-} 双缺陷鼠的动脉粥样硬化病变进展加重加速。体内 CXCL16 发挥的内吞氧化 LDL 清道夫的作用可能具有抗 AS 的作用。迄今的研究显示,CXCL16 可能在 AS 病变中具有双向调节功能,进一步加深对其结构

和功能的认识,为阐明 CXCL16 与 AS 及其相关性疾病的认识提供更多的依据。

本研究探讨了大动脉粥样硬化性脑梗死患者急性期血清 CXCL16 水平的变化及其与 MES 的关系,但仍需作进一步探究:①CXCL16 水平随病程延长的动态变化。②MES 的检测对脑梗死的发病机制及临床缺血事件预测具有什么样的重要意义。

综上所述,血清 CXCL16 水平升高,可能导致 AS 斑块不稳定,造成血流中栓子的形成,与脑梗死的发生密切相关,并参与了脑梗死后的一系列炎性及免疫损伤反应。检测颈动脉系统微栓子能够反映颈动脉斑块是否具有稳定性,有助于指导治疗策略。因此,血清 CXCL16 水平与 TCD 微栓子的检测,对临床尽早发现不稳定性斑块,及时采取干预措施,从而降低缺血性卒中的危险性可能会有一定的帮助。

参考文献

- [1] Gao S, Wong KS, Hansberg T, et al. Microembolic signal predicts recurrent cerebral ischemic events in acute stroke patients with middle cerebral artery stenosis [J]. Stroke, 2004, 35(12):2832-2836.
- [2] Stoll G, Bendszus M. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization [J]. Stroke, 2006, 37(7):1923-1932.
- [3] Cao JJ, Thach C, Manolio TA, et al. C-reactive protein, carotid intima-media thickness, and incidence of ischemic stroke in the elderly: The Cardiovascular Health Study [J]. Circulation, 2003, 108(2):166-170.
- [4] Hashimoto H, Kitagawa K, Hougaku H, et al. C-reactive protein is an independent predictor of the rate of increase in early carotid atherosclerosis [J]. Circulation, 2001, 104(1):63-67.
- [5] Yi GW, Zeng QT. Circulating CXCL16 is Related to the Severity of Coronary Artery Stenosis [J]. Arch Med Res, 2008, 39(5):531-535.
- [6] Yang HL, Xu YY, Du LF, et al. Chemokine SR-PSOX/CXCL16 expression in peripheral blood of patients with acute coronary syndrome [J]. Chin Med J, 2008, 121(2):112-117.
- [7] Sun Y, Chang Z, Zhang S. Increased serum CXCL16 level is a marker for acute coronary syndromes [J]. Arch Med Res, 2008, 39(3):332-337.
- [8] Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment [J]. Stroke, 1993, 24(1):35-41.

- [9] Wong KS, Chen C, Fu J, et al. for CLAIR study investigation. Clopidogrel plus aspirin versus aspirin alone for reducing embolisation in patients with acute symptomatic cerebral or carotid artery stenosis(CLAIR study): a randomised, open-label, blinded-endpoint trial[J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(5):489-497.
- [10] Koenig W, Khuseynova N. Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(1):15-26.
- [11] Wilbanks A, Zondlo SC, Murphy K, et al. Expression cloning of the STRL33/BONZO/TYMSTR ligand reveals elements of CC, CXC, and CX3C chemokines[J]. *J Immunol*, 2001, 166(8):5145-5154.
- [12] Abel S, Hundhausen C, Mentlein R, et al. The transmembrane CXC chemokine ligand 16 is induced by INF-gamma and TNF alpha and shed by the activity of disintegrin-like metalloproteinase ADAM10[J]. *J Immunol*, 2004, 172(10):6362-6372.
- [13] Zhuge X, Murayama T, Arai H, et al. CXCL16 is a novel angiogenic factor for human umbilical vein endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 331(4):1295-1300.
- [14] 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[J]. *国际脑血管病杂志*, 2010, 18(11):818-822.
- [15] Wang KD, Liu ZZ, Wang RM, et al. Chemokine CXC Ligand 16 serum concentration but not A181V genotype is associated with atherosclerotic stroke[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(19/20):1447-1451.
- [16] 茅翼亭, 方堃, 董强, 等. 缺血性脑卒中的病因分型与危险因素的回溯性研究[J]. *中华脑血管病杂志*, 2009, 3(2):68-75.
- [17] Yi GW, Zeng QT, Mao XB, et al. Overexpression of CXCL16 promotes a vulnerable plaque phenotype in Apolipoprotein E-Knockout Mice[J]. *Cytokine*, 2011, 53(3):320-326.
- [18] European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee, ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2008, 25(5):457-507.
- [19] 高山. 动脉到动脉栓塞的直接证据: 脑血流微栓子监测[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2008, 6(8):495-498.
- [20] Azarpazhooh MR, Chambers BR. Clinical application of transcranial Doppler monitoring for embolic signals[J]. *J Clin Neurosci*, 2006, 13(8):799-810.
- [21] Aalanian AM, Charo IF. Targeted disruption of the scavenger receptor and chemokine CXCL16 accelerates atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2006, 114(6):583-590.

(收稿日期:2011-12-09)

(本文编辑:吴迪)

· 国外新信息 ·

脑室内注入尼卡地平治疗蛛网膜下腔出血相关性 脑血管痉挛 90 天的预后评估

迟发型脑动脉痉挛是动脉瘤性蛛网膜下腔出血(aSAH)致死、致残的主要原因。Mayo 诊所的研究者对患者脑室内注入尼卡地平(nifedipine)治疗 aSAH 引起的血管痉挛的疗效进行了评价,并将结果与对照人群进行了对比。他们对 Mayo 诊所 2009—2011 年间接受尼莫地平治疗的 aSAH 患者进行了回顾性的病例对照研究,对照组患者在年龄、性别和 Fisher 分级与病例组均衡。研究采用颅内出血发生率和感染率评价尼卡地平的安全性,在治疗后 30、90 d,采用格拉斯哥预后评分评价预后,经颅多普勒(TCD)评价尼卡地平对血管痉挛的疗效。

13 例 aSAH 和 1 例动静脉畸形相关性 SAH 患者接受尼卡地平治疗,另 14 例 aSAH 患者未接受尼卡地平治疗作为对照组。使用尼卡地平平均剂量(中位数)为 4 mg(3 ~ 7 mg),

治疗平均次数(中位数)为 7 次(1 ~ 17 次)。使用尼卡地平治疗后,左、右侧大脑中动脉血流平均流速分别从 101.6、120.2 cm/s 降为 72.8、82.0 cm/s。治疗后 30、90 d 病例组和对照组间的预后差异无统计学意义(*P* 值分别为 0.443 和 0.153)。在总计 111 次尼卡地平注射中,无出血或感染发生。

研究者认为,从 TCD 结果来看,尼卡地平治疗是相对安全和有效的,但两组间治疗后 30 d 和 90 d 的预后差异无统计学意义。尼卡地平对抗血管痉挛的疗效,尚需要进行大样本的研究。

译自 *Neurocrit Care*, In press 2011.