

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.15.021

文章编号: 1005-8982(2016)15-0110-04

血清亲环素 A 与颈动脉不稳定斑块 及脑梗死的相关性研究

聂善静, 李丹, 王宏

(石河子大学医学院第一附属医院 神经内科, 新疆 石河子 832000)

摘要:目的 通过检测颈动脉硬化不稳定斑块伴动脉粥样硬化脑梗死(ACI)患者(ACI组)、颈动脉硬化不稳定斑块患者(单纯斑块组)及健康体检者(对照组)血清亲环素 A(CyPA)、脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)水平,探讨观察者血清 CyPA、Lp-PLA2 水平与斑块不稳定性及 ACI 的关系。**方法** 颈动脉粥样硬化斑块经颈部血管彩色超声检查确定;采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定观察者血清 CyPA、Lp-PLA2 水平。**结果** 患者的血清 CyPA 水平 ACI 组(2.031 ± 0.679)ng/ml> 斑块组(3.790 ± 0.943)ng/ml> 对照组(5.113 ± 1.568)ng/ml, 差异有统计学意义($P < 0.05$);血清 Lp-PLA2 水平 ACI 组(1.949 ± 0.666)ng/ml> 斑块组(1.703 ± 0.541)ng/ml> 对照组(1.426 ± 0.406)ng/ml, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。Logistic 回归分析显示, CyPA 是不稳定斑块患者发生脑梗死的独立危险因素($OR=2.71, 95\%CI: 1.52, 4.83, P=0.01$)。以 CyPA、Lp-PLA2 为双变量行相关分析显示两者呈正相关($r=0.343$)。**结论** 血清 CyPA、Lp-PLA2 水平可作为颈动脉不稳定斑块的临床标志物;联合检测血清 CyPA、Lp-PLA2 水平可能会预测 ACI 的发生。

关键词: 颈动脉不稳定斑块;动脉粥样硬化脑梗死;血清亲环素 A;脂蛋白相关磷脂酶 A2

中图分类号: R543.5;R743.33

文献标识码: B

Correlation of cyclophilin A with unstable carotid plaques and atherosclerotic cerebral infarction

Shan-jing Nie, Dan Li, Hong Wang

(Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, School of Medicine,
Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

Abstract: Objective To investigate the relationships of plasma levels of cyclophilin A (CyPA) and lipoprotein-association phospholipase A2 (Lp-PLA2) with the instability of carotid plaques and atherosclerotic cerebral infarction (ACI). **Methods** Carotid atherosclerotic plaques were defined by cervical vascular color ultrasonic inspection. The plasma levels of CyPA and Lp-PLA2 were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in patients with unstable carotid atherosclerosis plaques and ACI (ACI group), patients with unstable carotid atherosclerosis plaques (simple plaque group) and in healthy people (control group). **Results** The plasma level of CyPA in the ACI group [2.031 ± 0.679 ng/ml] was significantly higher than that in the simple plaque group [3.790 ± 0.943 ng/ml], which was in turn higher than that in the control group [5.113 ± 1.568 ng/ml] ($P < 0.05$). The plasma level of Lp-PLA2 in the ACI group [1.949 ± 0.666 ng/ml] was significantly higher than that in the simple plaque group [1.703 ± 0.541 ng/ml], which was in turn higher than that in the control group [1.426 ± 0.406 ng/ml] ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that CyPA was the independent risk factor for cerebral infarction in the patients of unstable plaques ($OR= 2.71; 95\% CI: 1.52, 4.83; P= 0.01$). Correlation analysis showed CyPA and Lp-PLA2 were in a positive correlation ($r= 0.343$). **Conclusions** Plasma CyPA and Lp-PLA2 levels can be used as clinical markers of unstable carotid plaques. Joint detection

收稿日期: 2015-10-29

[通信作者] 王宏, E-mail: wang832000@sina.com

of CyPA and Lp-PLA2 could predict the occurrence of ACI.

Keyword: atherosclerotic cerebral infarction; carotid artery unstable plaque; cyclophilin A; lipoprotein-associated phospholipase A2

脑梗死的发生严重威胁着人们的健康,加重人们的生活负担,其中动脉粥样硬化性脑梗死(atherosclerosis cerebral infarction, ACI)是最常见的类型^[1]。动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)是慢性炎症过程,炎症反应、氧化应激贯穿 AS 起始、不稳定斑块形成和斑块破裂整个过程^[2]。近年来血清亲环素 A(CypA)、脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)作为一种新型炎症标志物,被证实与斑块的不稳定性相关^[3-4]。CypA 与内皮功能、AS 的发生、发展及斑块的稳定性有密切关系,但尚未有研究报道其在单纯不稳定斑块及 ACI 患者血浆中的水平变化,故本研究主要通过测定 Lp-PLA2 的水平来评估不稳定斑块的严重程度及炎症水平,比较单纯颈不稳定斑块及 ACI 患者血清 CypA、Lp-PLA2 水平的变化,以探讨 CypA、Lp-PLA2 与颈动脉不稳定斑块及 ACI 之间的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2014 年 11 月~2015 年 8 月于石河子大学医学院第一附属医院神经内科的脑梗死患者,行颈动脉彩色 B 超确定合并有不稳定斑块者 50 例,作为斑块合并脑梗死组(ACI);同期选体检中心健康人群,经颈动脉彩色 B 超确定有不稳定斑块者 50 例作为单纯斑块组,经颈动脉彩色 B 超确定无斑块者 50 例作为正常对照组。

病例组纳入排除标准:所有脑梗死患者均符合 2012 年缺血性脑卒中诊断和诊疗质量控制行业标准,且符合 TOASJ 分型等 LAA 型;均经神经系统查体、头颅 CT 和(或)MRI、颈动脉彩色多普勒超声、心电图等检查确诊。排除标准:①非大动脉粥样硬化性脑梗死;②急性冠状动脉综合征、心力衰竭及其他周围血管病;③自身免疫性疾病及其他炎症疾病;④肿瘤、严重肝肾功能损害等疾病;⑤3 个月内手术及外伤史。

对照组纳入标准:年龄、性别与病例组相匹配,既往无脑血管病病史,头颅磁共振证实无卒中。

颈动脉斑块分组:稳定斑块组(包括硬斑和扁平斑);不稳定斑块组(软斑和溃疡斑)。同时存在稳定及不稳定斑块的均归为不稳定斑块。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 对照组、单纯斑块组、ACI 组分别采取空腹静脉血 2 ml,采血后均立即加入 EDTA 抗凝管中,以 3 000 r/min 离心 15 min 后,收集上清液,将标本置入 -80℃ 冰箱冷冻保存待测。为减少批间误差和测量误差,全部标本采集完成后一次性检测。

1.2.2 检测方法 采用 ELISA 法测定标本中 CypA、Lp-PLA2 水平,流程严格按照试剂盒说明书进行操作,人 CypA 及人 Lp-PLA2 酶联免疫试剂盒均购于上海西唐生物科技有限公司。其余常规生化实验室检查由本院检验科完成。

1.2.3 颈动脉彩色多普勒超声检查 采用飞利浦 IE33 型彩色多普勒超声诊断仪,探头频率 7~11 MHz,患者取平卧位,头偏向一侧,沿颈动脉走向,将探头自上而下进行连续纵横切面扫描双侧颈总、颈内、颈外动脉,观察斑块形态及回声特点。将颈动脉粥样硬化斑块^[5]定义为内膜中层不连续性、不均匀性增厚并凸入管腔,边界光滑,病变厚度是邻近部位内-中层厚度的 1.5 倍或彩色多普勒显示血管腔某处彩色血流缺损,缺损处面积 $\geq 10 \text{ mm}^2$ 。斑块分型方法:①内膜不光滑,回声增强、增厚,局部轻微隆起为扁平斑;②斑块凸出管腔,回声强弱不均,表面光滑连续为软斑;③斑块较大,基底较宽,表面出现凹凸,边缘回声较低为溃疡斑;④斑块高低不平,强回声,后伴声影为硬斑。将扁平斑、硬斑归为稳定斑块组,软斑、溃疡斑归为不稳定斑块组。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,正态分布计量资料用方差分析,非正态分布的计量资料用非参数检验,计数资料用 χ^2 检验;血浆 CypA、Lp-PLA2 水平比较用方差分析两两比较法;脑梗死的相关危险因素用 Logistic 回归分析,以比值比(odds ratio, OR)及 95% 可信区间(confidence interval, CI)表示;相关分析用双变量线性相关分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组一般资料比较

经分析 3 组观察者性别、年龄、吸烟史、体重指

数(BMI)比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 3 组之间血清 CyPA、Lp-PLA2 水平比较

ACI 组血清 CyPA、Lp-PLA2 水平与对照组和斑块组的比较,经方差分析,差异有统计学意义($P<0.05$),ACI 组血清 CyPA、Lp-PLA2 水平高于对照组与斑块组。CyPA3 组间两两比较,对照组与斑块组,对照组与 ACI,斑块组与 ACI 比较,差异有统计学意义(均 $P=0.000$);Lp-PLA23 组间两两比较,对照组与斑块组比较,差异有统计学意义($P=0.013$),对照组与 ACI 比较,差异有统计学意义($P=0.000$),斑块组与 ACI 比较,差异有统计学意义($P=0.001$)。见表 2。

表 1 3 组一般资料比较 ($n=50$)

组别	男 / 女 / 例	吸烟例 (%)	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$)	体重指数 / ($\text{kg}/\text{m}^2, \bar{x} \pm s$)
对照组	28/22	11(22)	63.060 \pm 9.898	24.174 \pm 3.179
斑块组	22/28	9(18)	66.740 \pm 9.971	24.741 \pm 3.247
ACI 组	27/23	14(28)	64.400 \pm 11.008	25.341 \pm 3.015
χ^2/F 值	1.655	1.445	1.633	1.710
P 值	0.437	0.485	0.199	0.184

表 2 3 组间血清 CyPA、Lp-PLA2 水平的比较 ($\text{ng}/\text{ml}, \bar{x} \pm s$)

组别	例数	CypA	Lp-PLA2
对照组	50	2.031 \pm 0.679	1.426 \pm 0.406
斑块组	50	3.790 \pm 0.943 ¹⁾	1.703 \pm 0.541 ¹⁾
ACI 组	50	5.113 \pm 1.568 ¹⁾²⁾	1.949 \pm 0.666 ¹⁾²⁾
F 值		94.136	13.523
P 值		0.000	0.000

注:1)与对照组比较, $P<0.05$;2)与斑块组比较, $P<0.05$

2.3 ACI 相关危险因素分析

以不稳斑块组是否发生脑梗死为因变量,以性别、年龄、吸烟史、BMI、三酰甘油(TG)、血清总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL-C)、高密度脂蛋白(HDL-C)、同型半胱氨酸(HCY)、糖化血红蛋白(HbA1c)、C 反应蛋白(CRP)、CyPA、Lp-PLA2 为协变量,分别进行单因素 Logistic 回归分析,结果 TG、TC、LDL-C、HCY、HbA1c、CRP、CyPA、Lp-PLA2 差异有统计学意义($P<0.05$)。将有统计学差异的指标为协变量进行多因素 Logistic 回归分析,提示 CyPA 是颈动脉不稳定斑块发生脑梗死的独立危险因素($OR=2.71, 95\%CI: 1.52, 4.83, P=0.01$)。

2.4 观察者血清 CyPA、Lp-PLA2 的相关性分析

绘制散点图后,发现 CyPA 与 Lp-PLA2 有相关

趋势,经 Spearman 相关分析,观察者血浆 CyPA 与 Lp-PLA2 浓度呈正相关($r=0.343, P=0.000$)。

3 讨论

动脉粥样硬化是脑血管事件发生的主要病理基础^[6]。1986 年美国华盛顿大学医学院 ROSS 教授首次明确提出 AS 是一种炎症性疾病。斑块的不稳定性是评价血管事件发生、复发的危险因素,陈莉等认为斑块的危险性在于其不稳定性^[7],而炎症反应影响斑块的稳定性^[8],斑块内炎症是引起斑块不稳定的关键因素,斑块破裂及斑块糜烂与炎症共存,不稳定状态时斑块内炎症总是上调^[9]。近期与斑块不稳定性相关的炎性标志物受到学者的关注,目前得到普遍认可的炎性标志物^[10]如 CRP、金属基质蛋白酶(MMP9)等是 AS 的敏感检测指标,但炎症反应是一个复杂的过程,在 AS 不同阶段,炎症因子的水平各有差异,然而单项指标特异性较差,需要寻找不同阶段的炎性指标结合超声等影像学检查,更早、更全面地揭示 AS 的发展及严重程度。

Lp-PLA2 又被称为血小板活化因子乙酰水解酶,人血清 Lp-PLA2 主要由炎症细胞合成分泌,它是与 AS 密切相关的磷脂酶家族分子,可预测斑块不稳定性及炎症水平^[11],在国外研究中也是较公认的反应内斑块不稳定性的新标志物之一。本研究表明,观察者血清 Lp-PLA2 水平为 ACI 组 > 单纯斑块组 > 对照组,说明 Lp-PLA2 反应斑块的不稳定性,ACI 组 Lp-PLA2 水平稍高,可能为 ACI 组的炎症程度较高。Lp-PLA2 水解氧化型低密度脂蛋白胆固醇(OXLDL-C)生成游离的氧化脂肪酸和溶血卵磷脂^[12],这两种物质是强烈的致炎因子,最终影响斑块不稳定性。KOLOGDIE 等也发现在斑块坏死中心、易损及破裂斑块周围 Lp-PLA2 高度表达,但在正常对照及稳定斑块中难以检测到。另外,白小涓等研究^[9]表明,与传统炎症因子 C-反应蛋白比较,Lp-PLA2 有较高的血管内特异性,是独立于全身炎症之外的血管内炎性标志物。

CyPA 是一种在生物界广泛存在、高度保守的蛋白质,它可以存在于细胞内,也可因细胞凋亡和炎症反应向细胞外分泌,发挥类似于细胞因子的作用^[13]。在 AS 形成中 CyPA 主要通过以下方面发挥作用:①唐振旺等认为^[14],其通过调控细胞因子和炎症分子而参与内皮细胞的损害及整个过程;②趋化单核细胞移行,促进巨噬细胞分泌 MMP-9 和巨噬细胞集落刺

激因子,增加斑块的不稳定性^[5];③激活 ERK1/2、JNK (Jun N-terminal kinase)、核转录因子(NF- κ B)和 p38MAPK 等信号通路,加重对内皮细胞的损害,增加 AS 斑块不稳定性^[16]。本研究在剔除感染性疾病、恶性肿瘤、自身免疫性疾病等因素的影响后发现观察者血清 CypA 水平为单纯斑块组 > 对照组,提示 CypA 水平与斑块的不稳定性有一定关系,对于 ACI 组 > 单纯斑块组,不仅能说明炎症反应参与不稳定斑块的发展及脑梗死的发病过程,还能反映不稳定斑块发展的严重程度,提示高水平的 CypA 更容易合并脑梗死,可能与 ACI 患者斑块炎症程度较高有关。NIGRO 研究也表明,在 AS 斑块中 CypA 大量表达,是检测炎症和斑块活动的有效指标^[3]。CypA 可能会成为预测不稳定斑块发展的生物学指标。

本研究以不稳定斑块患者是否发生脑梗死为因变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示 CyPA、LDL-C、HbA1c 有统计学意义,提示除 LDL-C、HbA1c 传统影响因素外,CyPA 是颈动脉不稳定斑块发生脑梗死的独立危险因素(OR=2.71)。双变量相关分析结果显示,观察者血清 CypA 和 Lp-PLA2 浓度在 AS 进展中呈正相关,提示 CypA 和 Lp-PLA2 具有协同正向作用,两者之间可能存在通路,其协同作用的机制尚不明确,需要更多研究来证实。

综上所述,CypA 和 Lp-PLA2 为不稳定斑块的特异性炎症标志物,联合检测它们的含量可能对 AS 的早期发现、判断斑块局部炎症发展的严重程度、预防血管事件发生及临床干预有重要意义。

参 考 文 献:

- [1] AZARPAZHOOH M R, MOBARRA N, PARIZADEH S M, et al. Serum high-sensitivity C-reactive protein and heat shock protein 27 antibody titers in patients with stroke and 6-month prognosis[J]. *Angiology*, 2010, 61(6): 607-612.
- [2] LI X, DEROIDE N, MALLAT Z. The role of the inflammasome in cardiovascular diseases[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92(4): 307-309.
- [3] NIGRO P, SATOH K, DELL M R, et al. Cyclophilin A is an inflammatory mediator that promotes atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *J Exp Med*, 2011, 208(1): 53-66.
- [4] GARG P K, MCCLELLAND R L, JENNY N S, et al. Association of lipoprotein-associated phospholipase A (2) and endothelial function in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA)[J]. *Vascular Medicine*, 2011, 16(4): 247-252.
- [5] COPPOLA G, CORRADO E, PIRAINO D, et al. Carotid intima-media thickness and endothelial function in young patients with history of myocardial infarction[J]. *International Journal of Angiology*, 2009, 28(2): 120-126.
- [6] 李召晨,杜瑞艳,王洪娟,等. 颈动脉粥样硬化与急性脑梗死关系的研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2013(6): 89-93.
- [7] 陈莉,吴婷,李慎义,等. 超声检测颈动脉斑块与冠心病的相关性研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2013(3): 48-51.
- [8] 胡蓉,方先松,江丽霞,等. 冠心病患者血清 Lp-PLA2 及 hs-CRP 水平与冠状动脉粥样硬化易损斑块的相关性[J]. *中国老年学杂志*, 2015(1): 74-75.
- [9] 白小涓. 内皮祖细胞在动脉粥样硬化易损斑块中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011(7): 543-546.
- [10] MORROW D A, DELEMOS J A, SABATINE M S, et al. Clinical relevance of C-reactive protein during follow up of patients with acute coronary syndromes in the Aggrastat-to-Zocor Trail [J]. *Circulation*, 2006, 114(4): 281-288.
- [11] 刘军妮,徐冬玲,杜贻萌,等. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与易损斑块的相关性研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2010(4): 669-675.
- [12] TAKAHASHI M, YAGYU H, TAZOE F, et al. Macrophage lipoprotein lipase modulates the development of atherosclerosis but not adiposity[J]. *Lipid Res*, 2013, 54(4): 1124-1134.
- [13] 张田田,张俊峰. 亲环素 A 及其受体 CD147 对动脉粥样硬化的影响[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2011(12): 1778-1781.
- [14] 唐振旺. Cyclophilin A 基因多态性及其介导的炎症反应在冠心病中的作用[D]. 南华大学, 2012(6): 11-77.
- [15] 王茂林,汪恩焕,周钟阳,等. 血清亲环素 A 与急性动脉粥样硬化性脑梗死关系研究[J]. *淮海医药*, 2014(3): 221-222.
- [16] 袁伟,严金川,梁仪,等. 亲环素 A 启动单核细胞炎症性募集的机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013(9): 791-796.

(申海菊 编辑)