

高原地区缺血性脑卒中患者血清基质金属蛋白酶-9、低氧诱导因子-1 α 表达及临床意义

张冬,解战兵

西宁市第二人民医院卒中中心,青海 西宁 810003

摘 要:目的 探究高原地区缺血性脑卒中患者血清基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 表达水平及意义。方法 选取 2017 年 9 月 1 日至 2019 年 11 月 1 日该院收治的高原地区急性缺血性脑卒中患者 60 例(观察组)和健康者 60 例(对照组)。采用 ELISA 法检测血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平,分析二者与急性缺血性脑卒中患病程度及预后关系。结果 观察组血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平均明显高于对照组($P=0.000$; $P=0.000$)。不同损伤程度、梗死面积和预后患者血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。MMP-9、HIF-1 α 高表达水平是不良预后的独立危险因素($P<0.05$)。结论 高原地区缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平均明显升高,其表达与患者脑损伤程度、脑梗死面积大小及预后有关,可能对患者预后评估有一定价值。

关键词:缺血性脑卒中;高原地区;基质金属蛋白酶-9;低氧诱导因子-1 α

中图分类号:R743.3

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2020.03.012

Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase-9 and hypoxia-inducible factor-1 α in serum of patients with acute ischemic stroke at high altitude

ZHANG Dong, XIE Zhan-Bing. Stroke Center, The Second People's Hospital of Xining, Xining, Qinghai 810003, China

Corresponding author: XIE Zhan-Bing, Email: 927154878@qq.com

Abstract: Objective To investigate the expression levels and significance of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in the serum of patients with acute ischemic stroke at high altitude. **Methods** A total of 60 patients with acute ischemic stroke in high altitude who were admitted to our hospital from September 1, 2017 to November 1, 2019 were enrolled as observation group, and 60 healthy individuals were enrolled as control group. ELISA was used to measure the expression of MMP-9 and HIF-1 α in serum, and the association of these two factors with the severity and prognosis of acute ischemic stroke was analyzed. **Results**

The observation group had significantly higher expression of MMP-9 and HIF-1 α in serum than the control group (both $P=0.000$). There were significant differences in the expression of MMP-9 and HIF-1 α in serum between the patients with different degrees of injury, infarct areas, and prognoses ($P<0.05$). The high expression levels of MMP-9 and HIF-1 α were independent risk factors for poor prognosis ($P<0.05$). **Conclusions** There are significant increases in the expression levels of MMP-9 and HIF-1 α in serum in patients with acute ischemic stroke at high altitude, which are associated with the degree of brain injury, cerebral infarct area, and prognosis, and therefore, they may have a certain value in evaluating the prognosis of patients.

Key words: acute ischemic stroke; high altitude area; matrix metalloproteinase-9; hypoxia-inducible factor-1 α

由于寒冷、缺氧环境,高原地区脑卒中发病率明显高于平原地区^[1-2]。急性缺血性脑卒中是脑卒中常见类型之一,占全部脑卒中 60%~80%^[3],且

发病率和病死率均较高且呈上升趋势^[3]。探寻预测其预后相关的生物标志物,对临床控制病情进展、改善患者预后有重要意义。Lekic 等^[4]研究发

收稿日期:2020-01-10;修回日期:2020-04-20

作者简介:张冬(1984-),男,本科,主治医师,研究方向:神经介入。

通信作者:解战兵(1969-),男,大专,副主任医师,研究方向:脑血管病、神经介入。Email:927154878@qq.com。

现,动脉粥样硬化患者和颈动脉狭窄患者尿液中基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 水平明显升高,与免疫活性和血管生成有关,也许可作为预测动脉粥样硬化发展的生物标志物。Wu 等^[5]研究表明,血管内皮细胞中低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 水平升高与血管重塑和动脉粥样硬化进展密切相关。本研究通过检测高原地区急性缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平,分析二者与疾病严重程度和患者预后关系,探究二者在急性缺血性脑卒中的表达及其临床意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2017 年 9 月 1 日—2019 年 11 月 1 日本院收治的高原地区(海拔在 2 200 ~ 3 000 m)急性缺血性脑卒中患者 60 例作为观察组,其中男性 34 例,女性 26 例;年龄(45 ~ 75)岁,平均年龄(58.34 \pm 18.26)岁;病程 7 ~ 14 d。

纳入标准:①根据《中国急性缺血性脑卒中诊治指南》中诊断标准^[6]和颅脑 CT 和 MRI 检查,确诊为急性缺血性脑卒中。②临床资料完整。

排除标准:①患有严重脑外伤、免疫系统疾病者。②患有恶性肿瘤者。③合并患有其他心脑血管疾病。④心、肾、肝脏等器官严重病变者及严重精神疾病患者。⑤妊娠期、哺乳期患者。

根据美国国立卫生研究院脑卒中量表(National Institute of Health Stroke Scale, NIHSS)评估神经功能缺损程度^[7],将入组患者分为:轻度损伤(NIHSS 评分在 0 ~ 4 分)11 例;中度损伤(NIHSS 评分在 5 ~ 15 分)33 例;重度损伤(NIHSS 评分在 16 分以上)16 例。根据脑梗死面积^[8]将入组患者分为:小面积梗死(病灶直径 \leq 1.5 cm)8 例;中面积梗死(1.5 cm < 病灶直径 \leq 5.0 cm 或 1/3 大脑中动脉供血区域)38 例;大面积梗死(病灶直径 > 5.0 cm 或 1/3 大脑中动脉供血区域)14 例。使用 Rankin 量表(mRS)对患者第 90 天功能恢复情况进行预后

评分,0 ~ 2 分为预后良好组(13 例);3 ~ 6 分为预后不良组(47 例)^[9]。

另选取同期在本院体检显示正常的健康者 60 例作为对照组,其中男性 32 例,女性 28 例;年龄 43 ~ 76 岁,平均年龄(57.92 \pm 17.85)岁。对照组纳入体检健康且资料完整、无心脑血管疾病史的体检者。

所有受试者对本研究知情并签署知情同意书。本研究经本院医学伦理委员会批准同意(批准文号:2017-0812)。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 所有受试者于入组时早晨(7:00 ~ 9:00)空腹采集外周静脉血 5 mL,在 4℃、3 000 r/min 条件下离心 20 min 后,取上清液分装于无菌 EP 管中,于 -80℃ 保存。

1.2.2 血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平检测 采用酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测所有受试者血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平,所用试剂盒购自上海晶抗生物工程有限公司,严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,方差分析有统计学意义者再进一步采用 LSD- t 检验;计数资料用[$n(\%)$]表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 logistic 回归模型分析影响急性缺血性脑卒中患者不良预后发生的危险因素。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组与对照组一般资料比较

观察组与对照组年龄、性别比例、BMI、白细胞计数(white blood cell, WBC)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察组患者空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)水平明显高于对照组($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 观察组与对照组一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	观察组($n=60$)	对照组($n=60$)	t/χ^2 值	P 值
性别(男/女)	34/26	32/28	0.135	0.714
年龄(岁)	58.34 \pm 18.26	57.92 \pm 17.85	0.127	0.899
BMI(kg/m ²)	23.14 \pm 3.15	22.63 \pm 3.01	0.907	0.366
病程(d)	10.87 \pm 3.53			
FPG(mmol/L)	7.81 \pm 1.65	4.72 \pm 1.14	11.935	0.000
WBC($\times 10^9/L$)	7.16 \pm 2.34	6.93 \pm 2.17	1.650	0.102

2.2 观察组与对照组血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平比较

观察组血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平均明显高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 观察组与对照组血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MMP-9(μg/L)	HIF-1α(pg/mL)
观察组	60	84.17 ± 23.12	162.18 ± 42.73
对照组	60	13.05 ± 4.16	38.36 ± 10.29
<i>t</i> 值		23.451	21.822
<i>P</i> 值		0.000	0.000

2.3 不同病变程度患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平比较

重度损伤急性缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平明显高于中度损伤和轻度损伤组患者 ($P < 0.05$)。中度损伤组患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平明显高于轻度损伤组患者 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 不同病变程度患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MMP-9(μg/L)	HIF-1α(pg/mL)
轻度损伤	11	66.31 ± 15.37	118.24 ± 38.52
中度损伤	33	87.95 ± 22.14 ^a	161.39 ± 49.13 ^a
重度损伤	16	103.52 ± 29.16 ^{ab}	198.33 ± 52.12 ^{ab}
<i>F</i> 值		8.353	9.031
<i>P</i> 值		0.001	0.000

注:a 为与轻度损伤组比较, $P < 0.05$; b 为与中度损伤组比较, $P < 0.05$

2.4 不同脑梗死面积患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平比较

大面积梗死组急性缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平明显高于中面积梗死和小面积梗死组患者 ($P < 0.05$) , 中面积梗死组患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平明显高于小面积梗死组患者 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 不同脑梗死面积患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MMP-9(μg/L)	HIF-1α(pg/mL)
小面积梗死	8	63.83 ± 14.01	116.27 ± 35.33
中面积梗死	38	87.57 ± 22.39 ^a	154.94 ± 46.68 ^a
大面积梗死	14	107.64 ± 29.73 ^{ab}	194.09 ± 51.05 ^{ab}
<i>F</i> 值		9.082	7.509
<i>P</i> 值		0.000	0.001

注:a 为与小面积梗死组比较, $P < 0.05$; b 为与中面积梗死组比较, $P < 0.05$

2.5 不同预后患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平比较

预后不良组与预后良好组急性缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 不同预后患者血清 MMP-9、HIF-1α 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MMP-9(μg/L)	HIF-1α(pg/mL)
预后良好组	13	69.94 ± 20.16	136.31 ± 38.35
预后不良组	47	99.57 ± 26.85	185.59 ± 48.45
<i>t</i> 值		4.355	3.379
<i>P</i> 值		0.000	0.001

2.6 急性缺血性脑卒中患者发生不良预后危险因素分析

以本研究资料为样本, 以急性缺血性脑卒中患者是否发生死亡为应变量建立非条件 Logistic 回归模型, 赋值 1 = 预后不良组, 0 = 预后良好组, 纳入 FPG、脑损伤程度、脑梗死面积、MMP-9 水平、HIF-1α 水平 5 个自变量。由于 FPG、MMP-9、HIF-1α 水平为连续变量, 本研究以三者表达水平均值为界, 将其转化为二分类变量。采用逐步后退法进行回归分析, 行 Wald 检验。logistic 回归分析结果可知, FPG 高水平、脑损伤程度及脑梗死面积增加、MMP-9 高水平、HIF-1α 高水平是影响急性缺血性脑卒中患者不良预后发生的独立危险因素 ($P < 0.05$)。见表 6。

表 6 急性缺血性脑卒中患者发生不良预后危险因素分析

因素	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>Wald</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
FPG 水平	1.013	0.297	11.634	0.001	2.754	1.539 ~ 4.929
脑损伤程度	0.952	0.274	12.073	0.001	2.591	1.514 ~ 4.433
脑梗死面积	1.054	0.309	11.626	0.000	2.868	1.565 ~ 5.255
高 MMP-9 水平	0.840	0.305	7.582	0.006	2.316	1.274 ~ 4.211
高 HIF-1α 水平	1.043	0.329	10.045	0.002	2.837	1.489 ~ 5.406

3 讨论

既往研究表明,血管炎症反应、血脑屏障功能受损、动脉粥样硬化等均影响急性缺血性脑卒中发生发展^[10]。MMP-9 属于金属蛋白酶家族,是一种能够降解细胞外基质的蛋白水解酶。Naik 等^[11]研究表明,哮喘患者血清中 MMP-9 表达水平明显升高,可作为气道炎症指标,参与哮喘病情进展。MMP-9 蛋白水平升高可使成年大鼠海马和纹状体血脑屏障通透性增加,促进脑部炎症持续发展^[12]。有研究发现,血清中 MMP-9 表达上调可预示动脉粥样硬化患者病情和炎症加重^[13]。本研究结果显示,观察组血清 MMP-9 表达水平明显高于对照组,提示 MMP-9 表达水平升高可能通过反映患者炎症、血脑屏障功能、动脉粥样硬化水平,预示急性缺血性脑卒中发生发展。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)及受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)与血管功能及血管炎症反应密切相关^[14]。Chen 等^[15]研究报道,EGF 和 EGFR 可协同作用,通过调控脑脊液中 MMP-9 表达,促进肿瘤细胞异常增殖、迁移和侵袭。这提示本研究中 MMP-9 可能通过与 EGF、EGFR 相互作用,从而影响患者血管生成和炎症反应发生,促进急性缺血性脑卒中进展。

HIF-1 α 是一种位于人第 14 号染色体上的核蛋白,具有转录调控和转录激活功能,与机体缺氧适应、炎症反应有关。Sun 等^[16]研究发现,脓毒症急性损伤患者血管内皮细胞中 HIF-1 α 表达上调,与肺部炎症损伤发生有关。早期脑损伤大鼠经治疗后海马组织中 HIF-1 α 表达水平下降,预示血脑屏障功能受破坏程度减轻^[17]。Hajime 等^[18]研究表明,HIF-1 α 在缺氧环境下能上调促炎因子表达和促进动脉粥样硬化进展。本研究结果显示,观察组血清 HIF-1 α 表达水平明显高于对照组,提示血清 HIF-1 α 水平上调可能与急性缺血性脑卒中进展有关。Jeong 等^[19]研究证实,缺氧条件下 EGF 可诱导 HIF-1 α 蛋白表达,促进外胚层细胞增殖。本研究中 HIF-1 α 表达上调可能受 EGF 调控,影响急性缺血性脑卒中发生发展。

本研究还发现,轻度、中度、重度损伤急性缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平依次显著升高,且小面积梗死、中面积梗死、大面积梗死组急性缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平依次显著升高,提示血清 MMP-9、HIF-1 α

表达水平可能与急性缺血性脑卒中严重程度有关。预后不良组急性缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平明显高于预后良好组,且 FPG 高水平、脑损伤程度及脑梗死面积增加、MMP-9 高水平、HIF-1 α 高水平是急性缺血性脑卒中患者不良预后的独立危险因素,提示血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平升高可能通过影响患者脑损伤程度、脑梗死面积,促进患者不良预后的发生。临床应密切关注上述指标变化,以期改善患者预后。

综上所述,高原地区急性缺血性脑卒中患者血清 MMP-9、HIF-1 α 表达水平均明显升高,与患者脑损伤程度、脑梗死面积大小及预后有关。血清 MMP-9、HIF-1 α 也许可作为生物标志物来预测高原地区急性缺血性脑卒中发生发展及预后。但由于本研究纳入样本量较少,研究方法较为简单,MMP-9、HIF-1 α 在急性缺血性脑卒中中作用机制还需进一步纳入样本、进行实验验证和探究。

参 考 文 献

- [1] 周欣,楚世峰,万江帆,等. SDF-1 α /CXCR4 轴在干细胞治疗缺血性脑卒中的研究进展[J]. 药学学报, 2018, 53(7): 1054-1059.
- [2] 张涛,赵玉华,郝渝,等. 拉萨地区脑卒中 464 例分析[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(10): 861-865.
- [3] 中国中西医结合学会急救医学专业委员会. 中国急性缺血性脑卒中中西医结合急诊诊治专家共识[J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30(3): 193-197.
- [4] Lekic A, Brekalo Z, Kvesic A, et al. Crosstalk between enzyme matrix metalloproteinases 2 and 9 and regulatory T cell immunity in the global burden of atherosclerosis[J]. Scand J Immunol, 2017, 86(1): 65-71.
- [5] Wu W, Li J, Zhao M, et al. HIF-1 α mediates visfatin-induced CTGF expression in vascular endothelial cells[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2017, 63(4): 28-32.
- [6] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(4): 246-257.
- [7] 马爽,安乐红,张汝敏,等. 不同严重程度脑梗死患者的心肌损伤程度及预后[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(15): 3746-3747.
- [8] 范秉林,李吕力,韦俊杰,等. 脑梗死后卒中相关性感染的危险因素[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2017, 43(11): 651-655.
- [9] 方丽萍,傅阳俊,彭俊,等. 血管生成素-1 与急性缺血性脑卒中患者预后的关系[J]. 中华神经医学杂志,

- 2018, 17(10): 1041-1044.
- [10] 赵景茹,董立朋,李尧,等. 桂皮醛对脑缺血小鼠的脑保护作用及对 Toll 样受体 6/核因子- κ B 信号通路的影响[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2018, 45(1): 65-69.
- [11] Naik SP, Mahesh PA, Jayaraj BS, et al. Evaluation of inflammatory markers interleukin-6 (IL-6) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in asthma[J]. J Asthma, 2017, 54(6): 584-593.
- [12] Schactae AL, Palmas D, Michels M, et al. Congenital muscular dystrophy 1D causes matrix metalloproteinase activation and blood-brain barrier impairment[J]. Curr Neurovasc Res, 2017, 14(1): 60-64.
- [13] Huang Y, Qi Y, Du JQ, et al. Protosapannin A protects against atherosclerosis via anti-hyperlipidemia, anti-inflammation and NF- κ B signaling pathway in hyperlipidemic rabbits[J]. Iran J Basic Med Sci, 2018, 21(1): 33-38.
- [14] Schreier B, Gekle M, Grossmann C. Role of epidermal growth factor receptor in vascular structure and function[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2014, 23(2): 113-121.
- [15] Chen XC, Wei XT, Guan JH, et al. EGF stimulates glioblastoma metastasis by induction of matrix metalloproteinase-9 in an EGFR-dependent mechanism[J]. Oncotarget, 2017, 8(39): 65969-65982.
- [16] Sun HD, Liu YJ, Chen J, et al. The pivotal role of HIF-1 α in lung inflammatory injury induced by septic mesenteric lymph[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 91(1): 476-484.
- [17] Xu W, Xu R, Li X, et al. Downregulating hypoxia-inducible factor-1 α expression with perfluorooctyl-bromide nanoparticles reduces early brain injury following experimental subarachnoid hemorrhage in rats[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(5): 2114-2126.
- [18] Abe H, Semba H, Takeda N, et al. The roles of hypoxia signaling in the pathogenesis of cardiovascular diseases[J]. J Atheroscler Thromb, 2017, 24(9): 884-894.
- [19] Jeong W, Bazer FW, Song G, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 by trophectoderm cells in response to hypoxia and epidermal growth factor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 469(2): 176-182.