

血清可溶性 CD40 配体与急性脑梗死患者颈动脉斑块的关系

邹美娜¹, 许小扬¹, 毕国荣², 卢迪³

1. 沈阳医学院附属中心医院, 辽宁 沈阳 110024

2. 中国医科大学附属盛京医院, 辽宁 沈阳 110022

3. 沈阳市第一人民医院, 辽宁 沈阳 110041

摘要:目的 探讨血清可溶性 CD40 配体 (sCD40L) 水平与急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块的关系。方法 选取 2018 年 5 月至 2019 年 5 月在中国医科大学附属盛京医院神经内科住院的急性脑梗死患者 108 例。根据颈部动脉超声结果分为无斑块组和斑块组, 斑块组根据斑块性质进一步分为稳定斑块组和不稳定斑块组。应用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定血清 sCD40L 水平; 分析血清 sCD40L 水平与颈动脉粥样硬化斑块的关系。结果 颈动脉斑块组患者高血压 ($P=0.026$)、空腹血糖 ($P=0.045$)、三酰甘油 ($P=0.027$)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-c) ($P=0.005$) 和 sCD40L 水平 ($P<0.001$) 均高于无斑块组。高血压 ($OR=2.598$, $P=0.028$)、LDL-C ($OR=4.247$, $P=0.006$) 和 sCD40L 水平 ($OR=1.079$, $P=0.009$) 是急性脑梗死患者存在颈动脉粥样硬化斑块的危险因素。颈动脉不稳定斑块组患者高血压 ($P=0.031$)、白细胞计数 ($P=0.002$)、低密度脂蛋白胆固醇 ($P=0.003$) 和 sCD40L 水平 ($P<0.001$) 均高于稳定斑块组。不稳定颈动脉斑块组患者, 高血压 ($OR=2.918$, $P=0.033$) 和 sCD40L 水平 ($OR=2.712$, $P<0.001$) 是急性脑梗死患者颈动脉斑块不稳定性的危险因素。结论 急性脑梗死患者血清 sCD40L 水平的升高与颈动脉粥样硬化斑块的发生和发展相关, 亦与颈动脉斑块的不稳定性相关。

关键词: 急性脑梗死; 颈动脉斑块; 可溶性 CD40 配体

中图分类号: R743.33

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2020.04.007

Association of the serum level of soluble cluster of differentiation 40 ligand with carotid plaque in patients with acute cerebral infarction

ZOU Mei-Na¹, XU Xiao-Yang¹, BI Guo-Rong², LU Di³. 1. Affiliated Central Hospital, Shenyang Medical College, Shenyang, Liaoning 110024, China; 2. Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110022, China; 3. Shenyang First People's Hospital, Shenyang, Liaoning 110041, China

Corresponding author: XU Xiao-Yang, Email: 366936616@qq.com

Abstract: Objective To investigate the association of the serum level of soluble cluster of differentiation 40 ligand (sCD40L) levels with carotid atherosclerotic plaque in patients with acute cerebral infarction. **Methods** A total of 108 patients with acute cerebral infarction who were admitted to Department of Neurology, Shengjing Hospital of China Medical University, from May 2018 to May 2019 were enrolled. According to the findings of carotid artery ultrasound, they were divided into non-plaque group and plaque group, and the plaque group was further divided into stable plaque group and unstable plaque group according to the nature of plaque. ELISA was used to measure the serum level of sCD40L, and the association between serum sCD40L level and carotid atherosclerotic plaque was analyzed. **Results** Compared with the non-plaque group, the plaque group had a significantly higher proportion of patients with hypertension ($P=0.026$), as well as significantly higher levels of fasting blood glucose ($P=0.045$), triglyceride ($P=0.027$), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ($P=0.005$), and sCD40L ($P<0.001$). Hypertension (odds ratio [OR] = 2.598, $P=0.028$),

基金项目: 沈阳医学院科技基金项目(20182041)

收稿日期: 2019-11-28; 修回日期: 2020-07-08

作者简介: 邹美娜 (1990-), 女, 医师, 硕士, 主要从事脑血管病临床与基础研究。

通信作者: 许小扬 (1968-), 女, 医师, 硕士, 主要从事脑血管病、癫痫、脑炎等研究。Email: 366936616@qq.com。

LDL-C ($OR=4.247$, $P=0.006$), and serum sCD40L level ($OR=1.079$, $P=0.009$) were independent risk factors for the presence of carotid atherosclerotic plaque in patients with acute cerebral infarction. Compared with the stable plaque group, the unstable plaque group had a significantly higher proportion of patients with hypertension ($P=0.031$), as well as significantly higher levels of white blood cell count ($P=0.002$), LDL-C ($P=0.003$), and serum sCD40L level ($P<0.001$). In the unstable plaque group, hypertension ($OR=2.918$, $P=0.033$) and serum sCD40L level ($OR=2.712$, $P<0.001$) were independent risk factors for unstable carotid plaques. **Conclusions** In patients with acute cerebral infarction, the increase in serum sCD40L level might be associated with the development and progression of carotid atherosclerotic plaque and the instability of carotid plaque.

Key words: acute cerebral infarction; carotid plaque; soluble cluster of differentiation 40 ligand

脑卒中是神经科常见的疾病,其中急性脑梗死占有所有脑卒中的 69.6% ~ 77.8%^[1],其高发病率、高致残率、高复发率和高死亡率给家庭的经济和生活带来沉重的负担^[2]。颈动脉粥样硬化斑块形成是急性脑梗死最常见的病因,约 30% 的缺血性卒中由颈动脉病变所致^[3]。目前认为动脉粥样硬化是一种长期慢性的炎症性病理过程,炎症反应是参与动脉粥样硬化发生、发展以及粥样斑块形成、性质改变、破裂的重要病理环节^[4,5]。已有研究表明^[6],颈动脉斑块的稳定性与急性脑血管病密切相关。相比较稳定性斑块而言,不稳定性斑块的动脉粥样硬化患者其发生血栓及供血障碍的风险进一步增加,故及时判定动脉粥样硬化的存在以及其斑块的稳定性具有重要的临床意义^[7]。CD40 配体 (CD40 ligand, CD40L) 是肿瘤坏死因子家族的一种新的炎性跨膜蛋白。CD40L 及其可溶性形式 (soluble CD40 ligand, sCD40L) 均表达于多种细胞类型中,包括活化的 T 细胞,而且他们可能在炎症和动脉粥样硬化之间起着重要的关联作用。本研究旨在分析急性脑梗死患者血清 sCD40L 水平与颈动脉粥样硬化斑块及其稳定性的关系,评估该血清学指标是否具有临床价值,为急性脑梗死的早期防治提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择 2018 年 5 月至 2019 年 5 月于中国医科大学附属盛京医院神经内科就诊的急性脑梗死患者。

纳入标准:①符合美国心脏协会卒中委员会、美国卒中协会更新的最新脑梗死诊断标准^[8],并经颅脑 MRI 证实;②入院时间为发病 24 h 内,病史资料完整;③完成血液生化、尿、便常规检查;④完成双侧颈动脉超声检查。

排除标准:①有明显肝肾疾病;②严重心肺疾病;③全身感染性疾病、恶性肿瘤、代谢免疫性疾

病或长期服用激素、非甾体类抗炎药、免疫抑制剂药物的患者。

本研究已取得盛京医院伦理委员会同意(伦理编号:2016PS258K),并签署知情同意书。

1.2 颈动脉超声检查

由超声科专业医师采用彩色多普勒超声对患者进行检查。患者取仰卧位,头转向检查侧的对侧,充分暴露颈部,沿胸锁乳突肌外侧缘,由下而上依次检查颈总动脉、颈内动脉及颈外动脉。强回声斑块呈强回声,后方伴声影;弱回声斑块呈低回声,无声影,结构疏松;混合回声斑块回声表现多样,多见表面或斑块内有强回声斑点附着。根据颈动脉超声检查结果,将患者分为斑块组和无斑块组,并根据斑块性质将弱回声斑块和混合回声斑块归为不稳定斑块组,强回声斑块归为稳定斑块组。若同时存在稳定斑块和不稳定斑块则归为不稳定斑块组。

1.3 临床资料的收集

收集入组患者的具体信息,包括年龄、性别、吸烟史、高血压病史、糖尿病病史、白细胞计数 (white blood count, WBC)、空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG)、纤维蛋白原 (fibrinogen, FIB)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 和高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、三酰甘油 (triacylglycerol, TAG)。

1.4 sCD40L 检测方法

入组患者于入院次日清晨抽取空腹肘静脉血 5 mL。置于加促凝剂的试管中,以 3 000 转/min 离心 15 min,分离血清并收集血清置于子弹头试管,于 -80℃ 低温冰箱保存,等待应用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 成批检测血清 sCD40L 浓度。该试验使用的人血清 sCD40L 试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司。批内差 CV% < 8%,批间差 CV% < 10%。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计分析软件进行数据分析。正态分布的计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料用例 (%) 表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用多因素 logistic 回归分析颈动脉粥样硬化斑块和不稳定斑块的危险因素。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

研究期间共选择急性脑梗死患者 108 例,男性 51 例,女性 57 例;平均年龄 70.2 ± 12.6 岁。无斑块组 34 例 (31.5%),斑块组 74 例 (68.5%),其中 26 例为稳定斑块,48 例为不稳定斑块。

2.1 颈动脉斑块组与无斑块组一般资料比较

颈动脉斑块组患者高血压、FPG、TG、LDL-C 和 sCD40L 水平均高于无斑块组,差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$),其余指标均无明显差异。见表 1。

表 1 颈动脉斑块组与无斑块组一般资料比较 [n(%); ($\bar{x} \pm s$)]

指标	斑块组 (n=74)	无斑块组 (n=34)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	69.3±10.2	71.8±9.3	1.215	0.227
男性	33(44.6)	18(52.9)	0.651	0.420
高血压	41(55.4)	11(32.4)	4.959	0.026
糖尿病	29(39.2)	10(29.4)	0.965	0.326
吸烟	32(43.2)	9(26.5)	2.783	0.095
白细胞计数(109/L)	6.71±1.12	6.23±1.31	1.959	0.053
纤维蛋白原(g/L)	3.23±0.73	2.98±0.62	1.730	0.087
总胆固醇(mmol/L)	4.57±1.09	4.38±1.13	0.832	0.407
三酰甘油(mmol/L)	2.05±1.68	1.32±1.31	2.238	0.027
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	3.13±0.81	2.69±0.52	2.901	0.005
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	1.08±0.37	1.21±0.26	1.848	0.067
空腹血糖(mmol/L)	6.16±1.37	5.52±1.81	2.031	0.045
sCD40L(mg/L)	5.56±1.42	3.91±1.03	6.074	<0.001

2.2 颈动脉斑块危险因素的 logistic 回归分析

将表 1 中差异有统计学意义的指标作为自变量,将存在颈动脉斑块作为因变量,通过多因素 logistic 回归分析,结果显示,高血压、LDL-C 和 sCD40L 水平是急性脑梗死患者存在颈动脉粥样硬化斑块的危险因素 (均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 颈动脉斑块危险因素的 logistic 回归分析

自变量	B	SE	P	OR	95% CI
高血压	0.955	0.435	0.028	2.598	1.108 ~ 6.092
空腹血糖	1.038	0.579	0.062	2.816	0.705 ~ 6.163
三酰甘油	0.738	0.426	0.091	2.556	0.805 ~ 7.112
低密度脂蛋白胆固醇	1.59	0.571	0.006	4.247	1.471 ~ 11.517
sCD40L	0.051	0.002	0.009	1.079	1.024 ~ 1.148

2.3 颈动脉不稳定斑块组与稳定斑块组一般资料比较

颈动脉不稳定斑块组患者高血压、WBC、LDL-C 和 sCD40L 水平均显著高于稳定斑块组,差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$),其余指标均无明显差异。具体内容见表 3。

表 3 颈动脉不稳定斑块组与稳定斑块组一般资料比较 [n(%); ($\bar{x} \pm s$)]

指标	不稳定斑块组 (n=48)	稳定斑块组 (n=26)	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁)	68.7±12.5	67.8±10.6	0.311	0.757
男性	22(45.8)	11(42.3)	0.085	0.771
高血压	31(64.6)	10(38.5)	4.658	0.031
糖尿病	20(41.7)	9(34.6)	0.352	0.553
吸烟	21(43.8)	11(42.3)	0.014	0.905
白细胞计数(109/L)	6.82±1.03	6.03±0.98	3.203	0.002
纤维蛋白原(g/L)	3.31±1.12	2.97±1.28	1.185	0.240
总胆固醇(mmol/L)	4.69±1.03	4.36±0.83	1.404	0.165
三酰甘油(mmol/L)	1.76±1.81	1.41±1.19	0.886	0.378
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	3.15±0.75	2.61±0.68	3.053	0.003
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	1.12±0.21	1.17±0.37	0.743	0.460
空腹血糖(mmol/L)	6.15±2.13	5.91±1.65	0.519	0.605
sCD40L(mg/L)	5.63±1.12	4.11±1.08	5.643	<0.001

2.4 颈动脉斑块不稳定性的多因素 logistic 回归分析

将表 3 中差异有统计学意义的指标作为自变量,将存在不稳定颈动脉斑块作为因变量,经过多因素 logistic 回归分析,结果显示,高血压和 sCD40L 水平是急性脑梗死患者颈动脉斑块不稳定性的危险因素 (均 $P < 0.05$)。见表 4。

表 4 颈动脉斑块不稳定性的多因素 logistic 回归分析

自变量	B	SE	P	OR	95% CI
高血压	1.071	0.504	0.033	2.918	1.087 ~ 7.828
白细胞计数	1.234	0.690	0.126	2.056	0.807 ~ 5.125
低密度脂蛋白胆固醇	0.161	0.139	0.140	3.058	0.529 ~ 10.264
sCD40L	0.839	0.257	<0.001	2.712	1.063 ~ 2.915

3 结论

急性脑梗死的发生主要是因为动脉粥样硬化斑块破裂和血栓形成,而这些情况几乎都发生在不稳定斑块中。因此,早期识别颈动脉斑块的稳定性并在缺血性事件发生前给予有效的干预已成为研究的热点。

本研究结果显示,颈动脉斑块组高血压、LDL-C 水平均显著高于无斑块组,且高血压、LDL-C 是

动脉粥样硬化斑块的危险因素,该结论与以往的研究结果一致^[9-10]。此外,本研究显示,高血压除了与颈动脉粥样硬化的发生有关,与颈动脉斑块的不稳定性也密切相关。在急性脑梗死患者中,存在颈动脉斑块的血清 sCD40L 水平显著高于无颈动脉斑块的患者,sCD40L 水平与颈动脉粥样硬化的发生密切相关。这些数据表明,sCD40L 在颈动脉粥样硬化的形成中发挥了重要作用。

CD40 是肿瘤坏死因子家族中的一员,属于 I 型跨膜糖蛋白,CD40 为 CD40L 的受体。CD40/CD40L 结合后通过调节下游炎症反应和免疫应答来产生相应的生物学效应^[11]。临床研究显示,CD40-CD40L 系统在导致动脉粥样硬化形成的相关炎症反应和凝血过程中起着尤为关键的作用^[12],而 sCD40L 属于 CD40-CD40L 系统中的成员之一。国内外研究报道显示,sCD40L 可刺激巨噬细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞等产生如白介素、细胞黏附因子等多种与动脉粥样硬化斑块形成相关的生物学因子,从而加速斑块的形成,当其表达水平越高时,其斑块形成速度越快^[13-14]。

在本研究的急性脑梗死患者中,颈部为不稳定性斑块的患者血清 sCD40L 水平明显高于颈部为稳定斑块的患者,sCD40L 水平与斑块稳定性呈负相关,从而证实血清 sCD40L 水平的确与颈动脉斑块的不稳定性密切相关。究其原因可能是,sCD40L 可通过 CD40、 α II b β 3 以及 Mac-1 等重要炎症信号通路配体促进血小板以及白细胞等的黏附、聚集以及炎症因子的分泌,从而介导结缔组织降解、清除和重建,破坏纤维帽中的胶原蛋白,促使 sCD40L 在动脉粥样硬化疾病中发挥重要作用,促进动脉粥样硬化斑块的形成和破裂^[15-16]。而对于斑块形成后的稳定性,主要取决于脂质核心和纤维帽厚度,核心越小和厚度越大,则稳定性较好^[17]。

有试验证实^[18],大鼠颈动脉 AS 斑块内 CD40、CD40L 和 MMPs 表达上调,随着 AS 的进展,斑块内的 CD40/CD40L 表达逐渐增高,其高表达与斑块的不稳定性密切相关。Esther 等^[19]通过向小鼠身上注射抗 CD40L 抗体以阻断 CD40/CD40L 的信号通路,结果发现其动脉粥样硬化斑块面积减小,斑块内脂质含量降低,胶原含量升高,斑块稳定性增强。CD40L 的升高可能预示着动脉粥样硬化斑块从稳定型向不稳定型或趋于破裂类型的转变^[20],最终导致急性脑缺血或其复发。

综上,本研究发现,血清 sCD40L 水平与急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块的发生和颈动脉斑块不稳定性密切相关。血清 sCD40L 可能是存在颈动脉斑块的预测因素,也可能是颈动脉斑块稳定性的预测因素。

参 考 文 献

- [1] 葛安岩,丁晶,汪昕,等. 甲状腺疾病与缺血性脑卒中发病关系的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学, 2019, 46(1): 117-121.
- [2] 郑海建,刘广岚,王丽,等. 脑梗死患者血清 sCD40L 和 IL-6 水平的表达及意义[J]. 江苏医药, 2019, 45(1): 98-99.
- [3] Femandes M, Keerthiraj B, Mahale AR, et al. Evaluation of carotid arteries in stroke patients using color Doppler sonography: A prospective study conducted in a tertiary care hospital in South India[J]. Int J Appl Basic Med Res, 2016, 6(1): 38-44.
- [4] Karapanayiotides T, Kouskouras K, Ioannidis P, et al. Internal carotid artery floating thrombus in relapsing polychondritis[J]. J Neuroimaging, 2015, 25(1): 142-144.
- [5] 邹青,尤连峰,李伟,等. 血清可溶性 CD40 配体和 IL-18 水平与脑梗死的关系分析[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(13): 1361-1364.
- [6] Makris GC, Nicolaides AN, Xu XY, et al. Introduction to the biomechanics of carotid plaque pathogenesis and rupture: review of the clinical evidence[J]. Br J Radiol, 2010, 83(993): 729-735.
- [7] 潘洪川,刘海燕,张月超,等. lncRNA TUG1 在冠状动脉粥样硬化性心脏病患者血清中的表达及意义[J]. 岭南心血管病杂志, 2017, 23(2): 151-154.
- [8] Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, et al. An Updated Definition of Stroke for the 21st Century: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association[J]. Stroke, 2013, 44(7): 2064-2089.
- [9] 李蒙蒙,朱明肃,李红闪,等. 缺血性脑卒中患者糖化血红蛋白与血浆致动脉粥样硬化指数的相关性研究[J]. 国际神经病学神经外科学, 2019, 46(1): 74-77.
- [10] Buljan K, Soldo SB, Janculjak D, et al. Relationship between age and thickness of carotid arteries in a population without risk factors for atherosclerosis[J]. Coll Antropol, 2015, 39(3): 779-784.
- [11] Maniskas ME, Roberts JM, Trueman RT, et al. Intra-arterial nitroglycerin as directed acute treatment in experimental ischemic stroke[J]. Neurointerv Surg, 2018, 10(1): 29-33.

- [12] Pateisky P, Pils D, Kuessel L, et al. The serum levels of the soluble factors sCD40L and CXCL1 are not indicative of endometriosis [J]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 2857161.
- [13] 崔荣荣,孙静,李鹏飞,等. 分泌型卷曲相关蛋白1基因多态性及吸烟与大动脉粥样硬化型脑梗死的关系[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(1): 14-20.
- [14] 张作念,王志晔,倪梦园,等. 急性缺血性卒中患者血清促炎性细胞因子水平与颈动脉粥样硬化斑块稳定性的相关性[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(9): 6-9.
- [15] 朱振国,黄艳君,陈艳艳,等. 脑梗死伴颅内动脉粥样硬化性狭窄的影响因素分析[J]. 浙江医学, 2016, 38(13): 1066-1068.
- [16] 李凤,朱余友,杨孙凤,等. 血清五聚素3、超敏C反应蛋白、脂蛋白相关磷脂酶水平以及微栓子信号与大动脉粥样硬化型急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块稳定性的相关研究[J]. 临床神经病学杂志, 2016, 29(2): 95-100.
- [17] 徐东升,王引明,殷晓菁,等. 缺血性脑血管病患者血清RBP水平与颈动脉粥样硬化斑块的相关性研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2017, 34(2): 115-118.
- [18] Fang ZY, Lin R, Yuan BX, et al. Tanshinone IIA downregulates the CD40 expression and decreases MMP-2 activity on atherosclerosis induced by high fatty diet in rabbit [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 115(2): 217-222.
- [19] 李丽辉. 动脉粥样硬化相关炎性因子的研究进展[J]. 中国现代医生杂志, 2017, 1(55): 157-161.
- [20] Lutgens E, Cleutjens KB, Heeneman S, et al. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(13): 7464-7469.