

•临床研究•

[文章编号] 1007-3949(2006)14-09-0802-03

## 急性脑梗死患者血清可溶性白细胞分化抗原 40 配体水平变化及临床意义

刘志辉, 耿建红, 刘美萍, 吴春艳, 李丰玲

(山东潍坊医学院附属医院神经内科, 山东省潍坊市 261031)

[关键词] 神经病学; 脑梗死; 可溶性白细胞分化抗原 40 配体; 血清; 血脂; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 探讨急性脑梗死患者血清中可溶性白细胞分化抗原 40 配体的变化及临床意义。方法 应用双抗夹心酶联免疫吸附法分别对 62 例急性脑梗死患者和 30 例健康对照者血清中可溶性白细胞分化抗原 40 配体水平进行检测。结果 急性脑梗死患者在发病 72 h 内血清中可溶性白细胞分化抗原 40 配体的水平明显高于健康对照组( $2.32 \pm 1.29 \mu\text{g/L}$  比  $0.68 \pm 0.56 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.01$ )。脑梗死患者可溶性白细胞分化抗原 40 配体水平与载脂蛋白 B100 和甘油三酯呈正相关( $r = 0.267$  和  $r = 0.254$ ,  $P$  均  $< 0.05$ ), 与高密度脂蛋白胆固醇呈负相关( $r = -0.272$ ,  $P < 0.05$ )。结论 急性脑梗死患者血清中可溶性白细胞分化抗原 40 配体水平显著升高, 可能与急性脑梗死的发生有关。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

### Measurement of Serum Soluble Cell Differentiation Antigen 40 Ligand Level and Its Clinical Value in Patients with Acute Cerebral Infarction

LIU Zhi-Hui, GENG Jian-Hong, LIU Mei-Ping, WU Chun-Yan, and LI Feng-Ling

(Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang 261031, China)

[KEY WORDS] Cerebral Infarction; Soluble Cell Differentiation Antigen 40 Ligand; Serum; Serum Lipid; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To explore the serum soluble cell differentiation antigen 40 ligand (sCD40L) level and its significance in patients with acute cerebral infarction. **Methods** Serum sCD40L level was measured by two-layer antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in 62 patients with acute cerebral infarction and 30 healthy controls matched in sex and age. **Results** Serum sCD40L level was significantly higher in patients with acute cerebral infarction than that in control [ $(2.32 \pm 1.29) \mu\text{g/L}$  vs  $(0.68 \pm 0.56) \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.01$ ]. Serum sCD40L level in patients with acute cerebral infarction was positively related to apolipoprotein B100 (ApoB100) ( $r = 0.267$ ,  $P < 0.05$ ) and triglyceride (TG) ( $r = 0.254$ ,  $P < 0.05$ ) and negatively related to high density lipoprotein cholesterol (HDL) ( $r = -0.272$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusions** The sCD40L level was significantly elevated in acute cerebral infarction patients within 72 h of onset, which may be related to the pathogenesis of acute cerebral infarction.

越来越多的研究显示炎症与免疫在动脉粥样硬化的发生、发展中起重要作用, 并且提示动脉粥样硬化可能是一种慢性炎症性疾病, 炎症反应的激活可导致斑块不稳定, 从而引起心脑血管病的发生<sup>[1]</sup>。体内及体外研究均显示, 白细胞分化抗原 40 (cell differentiation antigen 40, CD40) 信号通路参与动脉粥样硬化斑块主要细胞成分如血管内皮细胞、血管平滑肌细胞及巨噬细胞等炎症反应的调节<sup>[2]</sup>, 在 CD40 信号途径中, 白细胞分化抗原 40 配体 (cell differenti-

ation antigen 40 ligand, CD40L) 是激活这一途径的主要配体, 它与 CD40 结合产生一系列炎性反应, 包括促进粘附分子、细胞因子、金属蛋白酶、组织因子等物质的产生<sup>[3]</sup>。然而, 有关急性脑梗死患者血清可溶性 CD40L (soluble CD40L, sCD40L) 水平变化的研究较少, sCD40L 与血脂各组份的关系尚未见报道, 本文旨在观察急性脑梗死患者血清中 sCD40L 水平的变化及其与血脂各组份的关系。

### 1 对象与方法

#### 1.1 临床资料

收集 2004 年 1 月至 2005 年 12 月我科住院的急性脑梗死患者 62 例作为病例组, 其中男 33 例, 女 29 例, 年龄 48~70 岁, 平均  $(60.7 \pm 6.6)$  岁。纳入标

[收稿日期] 2006-03-14 [修回日期] 2006-09-10

[作者简介] 刘志辉, 学士, 副教授, 主要从事脑血管疾病的诊治与预防研究, E-mail 为 wendaoshi@sohu.com。耿建红, 硕士, 医师, 主要从事脑血管疾病的基础研究。刘美萍, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事脑血管疾病的临床与基础研究。

准: 诊断符合第四届全国脑血管病会议修订标准, 并经头颅 CT 和/或 MRI 证实。④发病在 72 h 之内。⑤出血前未用扩容、扩血管、溶栓及影响白细胞的药物。对照组 30 例均系门诊健康体检者, 其中男 17 例, 女 13 例, 年龄 45~68 岁, 平均(61.8±5.6)岁, 头颅 CT 检查无颅内疾病。两组研究对象均排除近期感染, 肿瘤, 严重心、肺、肝、肾脏疾病, 自身免疫性疾病。两组年龄及性别差异无显著性。

## 1.2 标本采集及处理

病例组所有患者入院后治疗前抽取全血 2 mL, 4℃自然凝固后常温下 2 500 r/min 离心 10 min, 分离血清-70℃保存待测 sCD40L。另于次日取清晨空腹肘静脉血约 6 mL, 测定血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、载脂蛋白 A1(apolipoprotein A1, ApoA1)、载脂蛋白 B100 (apolipoprotein B100, ApoB100)、血红蛋白、血糖、白细胞、血小板以及肝、肾功能等生化指标。对照组于健康体检当日早 8 点前一次性抽取空腹全血 8 mL, 并进行以上相关检查。

## 1.3 血清可溶性白细胞分化抗原 40 配体的检测

采用双抗夹心酶联免疫吸附法测定血清 sCD40L, 试剂盒 (human sCD40L BMS239) 由奥地利 Bender Medsystems 公司提供, 严格按试剂盒说明书操作。

## 1.4 血脂测定

总胆固醇和 TG 采用酶法; HDLC 和 LDLC 采用直接法; 载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B100 采用免疫比浊法; 全部由日产 Olympus AU600 全自动分析仪进行测定。

## 1.5 统计学处理

计量指标以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验。相关性分析采用 Pearson 线性相关分析。应用 SPSS11.5 统计软件包进行统计,  $P < 0.05$  为差异有显著性。

# 2 结果

## 2.1 血清可溶性白细胞分化抗原 40 配体水平

病例组血清 sCD40L 水平(2.32±1.29 μg/L)显著高于对照组(0.68±0.56 μg/L), 差异有显著性( $t = 2.414, P < 0.01$ )。

## 2.2 血脂水平

病例组 TG 和载脂蛋白 B100 水平显著高于对

照组( $P < 0.05$ ); 病例组 HDLC 水平显著低于对照组( $P < 0.01$ ); 两组间 TC、LDLC 和载脂蛋白 A1 差异无显著性( $P > 0.05$ , 表 1)。

表 1. 两组血脂水平比较

检测项目	对照组( <i>n</i> =30)	病例组( <i>n</i> =62)	<i>P</i> 值
TC (mmol/L)	4.55±0.95	4.59±0.94	0.847
TG (mmol/L)	1.27±0.93	1.82±1.01	0.014
LDLC (mmol/L)	2.75±0.65	2.79±1.39	0.873
HDLC (mmol/L)	1.48±0.25	1.29±0.31	0.004
载脂蛋白 A1 (g/L)	1.45±0.45	1.59±0.74	0.335
载脂蛋白 B100 (g/L)	0.70±0.11	0.83±0.30	0.019

## 2.3 血清可溶性白细胞分化抗原 40 配体与血脂的关系

病例组血清 sCD40L 水平与 TG、载脂蛋白 B100 均呈正相关( $r$  分别为 0.254 和 0.267,  $P$  均  $< 0.05$ ), 与 HDLC 呈负相关( $r = -0.272, P < 0.05$ ), 而与其它因素无相关性( $P > 0.05$ )。对照组血清 sCD40L 水平与 TG、HDLC、LDLC、载脂蛋白 A1、载脂蛋白 B100 均无相关性( $P > 0.05$ , 表 2)。

表 2. 两组血清可溶性白细胞分化抗原 40 配体与血脂水平相关系数

分组	TG	LDLC	HDLC	载脂蛋白 A1	载脂蛋白 B100
病例组	0.254 <sup>a</sup>	0.147	-0.272 <sup>a</sup>	0.184	0.267 <sup>a</sup>
对照组	0.22	0.143	-0.161	0.186	0.199

a 为  $P < 0.05$ 。

# 3 讨论

白细胞分化抗原 40 配体(CD40L)是肿瘤坏死因子超基因家族的一种, 为 33 000 的  $\text{CD}40$  型跨膜糖蛋白, 共有 266 个氨基酸, 其中胞膜外区 214 个氨基酸, 与肿瘤坏死因子在氨基酸水平具有较高的同源性。靠近跨膜区的两个精氨酸可能是蛋白酶作用位点, 所以 CD40L 可从膜上被剪切下来形成可溶性的分子。研究发现 CD40L 与 CD40 的相互作用是各种免疫与炎症调节的重要通路, 包括调节动脉粥样硬化的演变<sup>[1,2]</sup>。动物干预实验证实, 在小鼠体内注射抗 CD40L 抗体可减少其动脉粥样斑块的形成并可使进展期的斑块稳定<sup>[4,5]</sup>。已有研究<sup>[2,6,7]</sup>证实, 在动脉粥样硬化斑块内、血管内皮细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞以及循环中的血小板均可出现 CD40L

的表达。循环中出现的 sCD40L 可能主要来源于血小板及活化的 T 淋巴细胞。脑动脉粥样硬化是急性脑梗死的主要发病原因,在病变进展过程中,多种细胞因子如白细胞介素、肿瘤坏死因子及干扰素可促进内皮细胞、单核细胞表达 CD40L, 激发 CD40 与 CD40L 的相互作用,从而促进 E 选择素、细胞间粘附分子 1 和血管粘附分子 1 表达增加,介导活化血小板或内皮细胞与中性粒细胞和单核细胞粘附,进一步引起血管功能失调和组织损伤。由于内皮细胞功能减退,中性粒细胞粘附功能增强,缺血脑组织释放血栓素 A<sub>2</sub>、白细胞三烯 4、血小板激活因子、白细胞三烯 4<sub>6</sub>、环氧合酶 2 和补体等趋化因子,导致微血管阻塞和血管舒缩功能障碍。同时,CD40 与 CD40L 相互作用后产生基质金属蛋白酶介导结缔组织降解、清除和重建,破坏纤维帽中的胶原,引起斑块破裂,导致血栓、动脉闭塞<sup>[6-8]</sup>。本研究结果发现,急性脑梗死患者血清中 sCD40L 水平显著高于健康对照组,提示 sCD40L 参与急性脑梗死的发生,这一结果与国内外研究一致<sup>[6-8]</sup>。

尽管动脉粥样硬化斑块相关细胞均能表达 CD40L,但影响 CD40L 表达的因素尚不清楚,有研究<sup>[9,10]</sup>对冠心病患者血清中 sCD40L 水平与血脂成分进行相关分析,发现 sCD40L 水平与血脂成分有相关性。但脑梗死患者血清中 sCD40L 与血脂各组分的关系如何尚未见报道。已知 HDLC 抗动脉粥样硬化机制主要与胆固醇逆转运有关,但可能存在其它机制,如抑制血管内皮细胞炎症反应和抗氧化激活<sup>[11]</sup>。Cockerill 等<sup>[12]</sup>发现,HDLC 可抑制细胞因子诱导的血管内皮细胞表达细胞粘附分子,并推测可能是通过 sCD40L 通路来实现的。本研究观察到,在脑梗死急性期血清中 sCD40L 与 HDLC 呈负相关,与载脂蛋白 B100 和 TG 呈正相关,提示载脂蛋白 B100 和 TG 可能参与 CD40L 的调节。既往有研究显示炎症可促进脂质沉积或代谢异常,抑制脂蛋白酯酶活

性,从而使 TG 升高和 HDLC 降低<sup>[13]</sup>。因此,血清中 sCD40L 对血脂的影响可能与其参与炎症反应有关,并在一定程度上反映斑块内炎症反应的程度,提示其可能是动脉粥样硬化斑块不稳定的生化标志,与脑梗死的发病有一定关系。

#### [参考文献]

- [1] Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease [J]. *N Eng J Med*, 1999, **340** (2): 115-126
- [2] Mach F, Schönbeck U, Sukhova GK, Bourcier T, Bonnefoy JY, Pober JS, et al. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implication for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94** (15): 1 931-936
- [3] Mach F, Schönbeck U, Libby P. CD40 signaling in vascular cells: a key role in atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 1998, **137** (suppl): s89-s95
- [4] Schönbeck U, Sukhova GK, Shimizu K, Mach F, Libby P. Inhibition of CD40 signaling limits evolution of established atherosclerosis in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (35): 7 458-463
- [5] Lutgens E, Cleutjens KB JM, Heeneman S, Kotliansky VE, Burkly LC, Daemen MJ AP. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (13): 7 464-469
- [6] Garlich CD, Kozina S, Fateh-Moghadam S, Tomandl B, Stumpf C, Eskafi S, et al. Upregulation of CD40-CD40 ligand (CD154) in patients with acute cerebral ischemia [J]. *Stroke*, 2003, **34** (6): 1 412-418
- [7] De Graba TJ. Immunogenetic susceptibility of atherosclerotic stroke: implications on current and future treatment of vascular inflammation [J]. *Stroke*, 2004, **35** (Suppl. 1): 2 712-719
- [8] 缪宇锋, 张润玲, 李光迪. 急性脑缺血及脑梗死患者外周血单核细胞 CD40L 的表达与变化对病情及预后的评估作用[J]. *中国临床康复杂志*, 2005, **9** (5): 106-107
- [9] 彭道泉, 赵水平, 李江, 周宏年. 可溶性 CD40 配体与急性冠状动脉综合征的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (2): 159-161
- [10] Novo S, Basili S, Tantillo R, Falco A, Dav V, Novo G, et al. Soluble CD40L and cardiovascular risk in asymptomatic low-grade carotid stenosis [J]. *Stroke*, 2005, **36** (3): 673-675
- [11] Assmann G, Gotto AM. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2004, **109** (Suppl. 1): III8-14
- [12] Cockerill GW, Huehns TY, Weerasinghe A, Stocker C, Lerch PG, Miller NE, et al. Elevation of plasma high-density lipoprotein concentration reduces interleukin-1-induced expression of E-selectin in an in vivo model of acute inflammation [J]. *Circulation*, 2001, **103** (1): 108-112
- [13] Alvarez C, Ramos A. Lipids, lipoproteins, and apoproteins in serum during infection [J]. *Clin Chem*, 1986, **32** (1): 142-145

(此文编辑 许雪梅)