

脑梗死患者颅内外动脉粥样硬化与 T 细胞亚群的相关性

刘玉红, 代瑞宁, 傅佳

(安徽医科大学第一附属医院神经内科, 安徽省合肥市 230000)

[关键词] 脑梗死; 颅内外动脉粥样硬化; T 细胞亚群

[摘要] 目的 探讨脑梗死患者颅内外动脉粥样硬化与外周血 T 细胞亚群的相关性。方法 将脑梗死组 180 例脑梗死患者按类肝素药物治疗急性缺血性卒中试验 (TOAST) 亚型分类标准分为大动脉粥样硬化性脑梗死组 (LAA 组)、心源性栓塞组 (CE 组)、小动脉闭塞性脑梗死组 (SAA 组)、其他原因所致脑梗死 (SOE 组) 组、不明原因脑梗死 (SUE 组); 按头颈 CT 血管造影 (CTA) 颅内外动脉狭窄结果分为无狭窄组、单纯颅外动脉狭窄组、单纯颅内动脉狭窄组、颅内外动脉狭窄组, 各狭窄组进一步按狭窄程度分为轻、中及重度狭窄组。同时选取健康体检者 60 例作为对照组。分别比较各组间血 T 细胞亚群水平。结果 脑梗死组 CD4+T 细胞水平明显高于对照组, CD8+T 细胞水平明显低于对照组 ($P<0.05$); LAA 组和 SAA 组 CD4+T 细胞水平显著高于其他类型脑梗死组及对照组, 而 CD8+T 细胞水平呈相反表现 ($P<0.05$); 颅内外动脉狭窄严重程度与 CD4+T 细胞呈正相关, 与 CD8+T 细胞呈负相关。无狭窄组 CD4+T 细胞水平低于各狭窄组, CD8+T 细胞水平高于各狭窄组 ($P<0.05$), 而各狭窄组间 T 细胞亚群差异无统计学意义。结论 CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞与脑梗死患者动脉粥样硬化密切相关, 检测血 T 细胞亚群对颅内外动脉粥样硬化及其严重程度具有一定的预测价值。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

Research on relativity between intracranial and extracranial atherosclerosis and T cell subsets in patients with cerebral infarction

LIU Yu-Hong, DAI Rui-Ning, FU Jia

(Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230000, China)

[KEY WORDS] Cerebral infarction; Intracranial and extracranial atherosclerosis; T cell subsets

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the relationship of T cell subsets and intracranial and extracranial atherosclerosis in patients with Cerebral Infarction. **Methods** Based on the Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) criteria, 180 patients with cerebral infarction were classified into large artery atherosclerosis stroke group, cardioembolism group, small-artery occlusion group, other type stroke group and cryptogenic stroke group. The cases were also divided into intracranial and extracranial without arteriostenosis group, intracranial arteriostenosis group, extracranial arteriostenosis group and intracranial and extracranial with arteriostenosis group according to CTA of head and neck. All of the arteriostenosis groups were further divided into mild, moderate and severe groups according to the degree of stenosis. Meanwhile, 60 healthy persons were selected as the control group. T cell subsets levels between groups were compared. **Results** CD4+ T cells of the cases were obviously higher than those in the control group, while CD8+ T cells were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$). CD4+ T cells for the large artery atherosclerosis stroke and small-artery occlusion were obviously higher than those in the rest three groups, while CD8+ T cells was opposite ($P<0.05$). The severity of intracranial and extracranial arteriostenosis was positively correlated with CD4+ T cells and negatively correlated with CD8+ T cells. CD4+ T cells of the groups of no intracranial and extracranial arteriostenosis were lower than those in the rest arteriostenosis groups, while CD8+ T cells was opposite ($P<0.05$). There was no statistical significance for the T cell subsets of all the arteriostenosis groups. **Conclusion** CD4+T cells and CD8+T cells is closely related to the atherosclerosis of cerebral infarction. There is a predictive value to atherosclerosis formation for detection of T cell subsets.

[收稿日期] 2017-03-20

[修回日期] 2017-06-16

[作者简介] 刘玉红, 硕士研究生, 研究方向为脑血管病, E-mail 为 824286308@qq.com。通讯作者傅佳, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为脑血管病, E-mail 为 ayfyfujia@aliyun.com。

脑血管病具有高发病率及高死亡率等特点,是危害人类健康的主要疾病之一。在中国,每年新发脑血管病患者约 270 万,死于脑血管病者约 130 万,该病已位居国内疾病死因首位^[1]。其中,大部分患者死于脑梗死,因此预防脑梗死的发生显得尤为重要。《中国脑血管病一级预防指南 2015》明确提出,降低脑梗死发病率的重点在于预防,尤其是一级预防^[2]。因颅内外动脉粥样硬化斑块破裂并发血栓形成是脑梗死的重要发病机制,阻止或延缓颅内外动脉粥样硬化进展对预防脑梗死具有重大意义。近年来,T 淋巴细胞(T 细胞)如何参与动脉粥样硬化及以此为靶点减缓其发生发展成为研究热点^[3-5],但 T 细胞与脑梗死动脉硬化的相关性研究较少。故本文主要探讨脑梗死患者颅内外动脉粥样硬化与外周血 T 细胞亚群的关系,旨在为脑梗死一级预防和治疗提供一定依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 1 月至 12 月本科室收治的 180 例脑梗死患者为脑梗死组,其中男 101 例,女 79 例,平均年龄 67.5 岁。同时,选取本院 60 例年龄、性别与脑梗死组相匹配的健康体检者作为对照组,其中男 32 例,女 28 例,平均年龄 68.3 岁。入选标准:所有脑梗死患者均符合第四届全国脑血管疾病学术会议制定的脑梗死诊断标准^[6],并经头颅计算机断层扫描(computer tomography,CT)或核磁共振成像(magnetic resonance imaging,MRI)证实。排除标准:具有严重心功能及肝肾功能异常、严重全身感染等患者、近期使用免疫抑制剂、避孕药、雌激素、抗癫痫药、抗凝剂等药物的患者及因各种原因不能行头颅 CT 血管造影(computerized tomography angiograph,CTA)的患者。所有入选者均记录有无吸烟、酗酒、高血压病及糖尿病等脑血管病危险因素。

1.2 实验室相关指标的检测

收集所有发病 72 h 内的脑梗死患者及对照者清晨空腹静脉血 4~5 mL,采用流式细胞仪检测 T 细胞亚群(即 CD4+T 细胞、CD8+T 细胞),同时检测其他相关生化指标如肝肾功能、血糖、血脂、同型半胱氨酸等。

1.3 CTA 检查

由本院影像科专业医师操作,应用 GE Discovery CT750HD 宝石能谱 CT(即 64 排螺旋 CT),经三维重建技术处理,显示颈总动脉、颈内动

脉、椎基底动脉、大脑前、中、后动脉及其分支情况。CTA 诊断血管狭窄的标准使用北美症状性颈动脉狭窄检测方法(North American symptomatic carotid endarterectomy trial, NASCET)^[7],狭窄率(%)=(1-最狭窄脑动脉段残余管径/狭窄远段正常脑动脉管径)×100%。如果同一患者有多处血管狭窄,取狭窄最严重的血管作为分析标准;如果同一血管多处狭窄,取狭窄最严重的部位作为分析标准。

1.4 实验分组

脑梗死患者按类肝素药物治疗急性缺血性脑卒中试验(Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment, TOAST)亚型分类标准^[8]分为大动脉粥样硬化性脑梗死(large artery atherosclerosis stroke, LAA)组、心源性栓塞(cardioembolism, CE)组、小动脉闭塞性脑梗死(small artery occlusion, SAA)组、其他原因所致脑梗死(other type stroke, SOE)组、不明原因脑梗死(cryptogenic stroke, SUE)组。按 CTA 结果分为无狭窄组、单纯颅外动脉狭窄(simple extracranial arterial stenosis, SEAS)组、单纯颅内动脉狭窄(simple intracranial artery stenosis, SIAS)组、颅内外动脉狭窄(intracranial and extracranial arterial stenosis, IEAS)组。各狭窄组按狭窄程度分为无狭窄组、轻度狭窄组(狭窄率<50%)、中度狭窄组(狭窄率 50%~69%)和重度狭窄(狭窄率 70%~100%)。

1.5 统计学分析

采用统计软件 SPSS19.0 对数据进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,并进行方差分析,组间两两比较采用 Bonferroni 检验,计数资料采用 χ^2 检验。另外,采用 Spearman 对颅内外动脉狭窄程度与 T 细胞亚群进行相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脑梗死组与对照组基线资料比较

脑梗死组中吸烟者、患高血压病者、患糖尿病者比例均显著高于对照组($P<0.05$)。脑梗死组低密度脂蛋白、尿酸和同型半胱氨酸等指标明显高于对照组,而高密度脂蛋白明显低于对照组($P<0.05$)。脑梗死组 CD4+T 细胞比值明显高于对照组,CD8+T 细胞比值明显低于对照组($P<0.05$;表 1)。

2.2 不同类型脑梗死与 T 细胞亚群的关系

与对照组比较, LAA 组和 SAA 组 CD4+T 细胞显著高于对照组,而 CD8+T 细胞则显著低于对照组($P<0.05$);CE 组、SOE 组及 SUE 组 CD4+T 细胞和

CD8+T 细胞与对照组比较无明显差异 ($P>0.05$)。各脑梗死组之间两两比较, LAA 组和 SAA 组 CD4+T 细胞明显高于 CE 组、SOE 组及 SUE 组, CD8+T 细胞则明显低于 CE 组、SOE 组及 SUE 组 ($P<0.05$)。LAA 组和 SAA 组之间、CE 组、SOE 组及 SUE 组 3 组之间 CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞均无明显差异 ($P>0.05$; 表 2)。

表 1. 脑梗死组与对照组基线资料比较

Table 1. Comparison of the baseline data of the case groups with the control group

指标	脑梗死组 ($n=180$)	对照组 ($n=60$)	P 值
年龄(岁)	67.5±10.52	68.3±11.4	0.812
吸烟史[例(%)]	68(37.7%)	13(21.5%)	0.013
饮酒史[例(%)]	55(30.5%)	14(23.3%)	0.416
高血压病史[例(%)]	108(60%)	8(13%)	<0.001
糖尿病史[例(%)]	40(22.2%)	5(8.3%)	0.002
甘油三酯(mmol/L)	1.92±1.42	1.62±0.64	0.096
总胆固醇(mmol/L)	4.21±0.98	4.08±0.98	0.673
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.10±0.29	1.47±0.34	0.001
低密度脂蛋白(mmol/L)	2.51±0.71	2.06±0.67	0.049
尿素氮(mmol/L)	5.43±1.31	5.04±1.20	0.356
血尿酸(μ mol/L)	325.8±97.1	239.8±48.6	0.001
血肌酐(μ mol/L)	65.60±16.83	76.93±12.23	0.317
同型半胱氨酸(μ mol/L)	16.37±10.65	10.53±1.89	0.024
CD4+T 细胞	44.20±5.08	34.86±4.11	<0.001
CD8+T 细胞	23.58±6.53	29.52±3.55	0.002

表 2. 不同类型脑梗死与血 T 细胞亚群的关系

Table 2. Relationship between cerebral infarction groups of different types and T cell subsets

分 组	n	CD4+T 细胞	CD8+T 细胞
LAA 组	96	46.70±4.11 ^{ab}	23.18±5.62 ^{ab}
SAA 组	28	47.27±4.56 ^{ab}	23.98±4.98 ^{ab}
SOE 组	8	36.08±5.20	29.73±3.86
CE 组	38	35.95±5.12	30.13±5.03
SUE 组	10	35.09±6.00	28.58±4.76
对照组	60	34.86±4.11	29.52±3.55

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与 CE 组、SOE 组或 SUE 组比较。

2.3 颅内动脉狭窄程度与 T 细胞亚群的关系

与无狭窄组比较, 轻度、中度及重度狭窄组 CD4+T 细胞水平明显高于无狭窄组, CD8+T 细胞则相反 ($P<0.05$; 表 3)。轻度、中度及重度狭窄组之间两两比较, CD4+T 细胞水平轻度狭窄组<中度狭窄组<重度狭窄组, 血 CD8+T 细胞水平轻度狭窄组>

中度狭窄组>重度狭窄组; 颅内动脉狭窄严重程度与 CD4+T 细胞显著正相关 ($r=0.887, P<0.01$), 与 CD8+T 细胞呈负相关 ($r=-0.396, P<0.05$)。

表 3. 颅内动脉狭窄程度与血 T 细胞亚群的关系

Table 3. Relationship between the degree of intracranial and extracranial arteriostenosis groups and T cell subsets

分组	n	CD4+T 细胞	CD8+T 细胞
无狭窄组	20	38.92±4.38	23.50±5.26
轻度狭窄组	19	41.78±3.10 ^a	22.93±4.87 ^a
中度狭窄组	61	42.98±4.17 ^a	21.27±5.28 ^a
重度狭窄组	80	45.53±5.00 ^a	21.05±1.75 ^a

a 为 $P<0.05$, 与无狭窄组比较。

2.4 颅内动脉硬化形成部位与 T 细胞亚群的关系

与对照组比较, SEAS 组、SIAS 组及 IEAS 组 CD4+T 细胞均高于对照组, CD8+T 细胞均低于对照组 ($P<0.05$; 表 4)。无狭窄组与对照组 CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞无明显差异 ($P>0.05$)。SEAS 组、SIAS 组及 IEAS 组 3 组间两两比较, CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞无明显差异 ($P>0.05$)。

表 4. 颅内动脉硬化形成部位与血 T 细胞亚群的关系

Table 4. Relationship between the formation position of intracranial and extracranial atherosclerosis and T cell subsets

分 组	n	CD4+T 细胞	CD8+T 细胞
无狭窄组	30	36.29±5.34	28.57±3.82
SEAS 组	51	43.75±3.98 ^a	24.41±4.53 ^a
SIAS 组	67	46.01±5.30 ^a	23.94±5.08 ^a
IEAS 组	32	45.72±3.69 ^a	22.18±4.22 ^a
对照组	60	34.86±4.11	29.52±3.55

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较。

3 讨 论

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 发病机制复杂, 参与其发生发展的细胞和分子众多, 如血管内皮细胞、平滑肌细胞、单核/巨噬细胞、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、胱抑素 C (cystatin-C, cyst-C) 及 β 2-微球蛋白 (β 2-microglobulin, β 2-MG) 等^[9-10]。大量研究表明, As 本质是动脉内膜上的一种慢性免疫性炎症, 该慢性炎症在 As 进展中发挥重要作用^[11-12]。近年来, 免疫性细胞中 T 细胞与动脉

粥样硬化的关系备受关注。T 细胞起源于骨髓中的淋巴样干细胞,后转移至胸腺中发育成熟。根据是否表达 CD4 或 CD8 分子,将成熟 T 细胞分为 CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞两个亚群。CD4+T 细胞识别由 13~17 个氨基酸残基组成的外源性抗原肽,活化后分化为辅助性 T 细胞,主要功能是增强吞噬细胞介导的抗感染免疫及诱导和促进 B 细胞介导的体液免疫;CD8+T 细胞由 8~10 个氨基酸残基组成的内源性抗原肽,活化后分化为细胞毒性 T 细胞,主要功能是特异性直接杀伤靶细胞。上述两种细胞在维持机体免疫平衡中具有重要作用,由于各种因素导致的 T 细胞亚群组成比例变化,可破坏免疫平衡,使得疾病的发生不可避免。

本研究结果显示,脑梗死组 CD4+T 细胞较对照组明显升高,而 CD8+T 细胞降低,表明脑梗死与 T 细胞亚群具有一定的相关性。LAA 组和 SAA 组 CD4+T 细胞显著高于 CE 组、SOE 组、SUE 组及对照组,CD8+T 细胞明显低于 CE 组、SOE 组、SUE 组和对照组。颅内动脉狭窄组与无狭窄组比较,CD4+T 细胞明显升高,而 CD8+T 细胞明显降低;各狭窄组之间比较,CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞水平均无明显差异,表明 T 细胞亚群在 As 形成过程中发挥重要作用,但对颅内动脉粥样硬化的形成部位无选择性。另外,随着颅内动脉狭窄程度的加重,CD4+T 细胞有升高趋势,表明颅内动脉狭窄严重程度与 CD4+T 细胞呈显著正相关;而 CD8+T 细胞有降低趋势,两者呈负相关;进一步表明 T 细胞亚群不仅与 As 形成有关,与 As 的严重程度也明显相关。由以上结果推测 CD4+T 细胞激活及 CD8+T 细胞抑制共同参与脑梗死颅内动脉粥样硬化的发生发展,其机制为 As 过程中 CD4+T 细胞 Kv1.3 通道表达增多,通过调节白细胞介素 2(IL-2)、IL-10 等细胞因子表达及传导钙信号升高细胞内钙离子浓度,使 CD4+T 细胞增值并活化,大量被激活的 CD4+T 细胞,通过胞间相互作用,产生并释放细胞因子作用于巨噬细胞及肥大细胞等,使这些细胞激活成为免疫活性细胞,此活性细胞受蛋白水解酶催化进入动脉壁内沉积甚至坏死,引起动脉壁损害^[9,13];而 CD8+T 细胞可通过多种途径如粒酶途径、CD8+T 细胞特异性识别靶细胞表面的抗原肽途径及 Fas 途径等诱导促进 As 的各种细胞死亡^[14-16],当 CD8+T 细胞被抑制,则促进 As 的细胞增多,从而利于 As 形成。随着 As 不断进展,颅内动脉逐渐狭窄达一定程度后引起脑组织缺血,最终导致脑梗

死。因此,阻止 CD4+T 细胞激活及 CD8+T 细胞抑制可能成为延缓动脉粥样硬化进展,甚至预防脑梗死的有效方法,未来对此需要开展更进一步研究。

综上所述,测定 CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞对预测颅内动脉狭窄及其严重程度和脑梗死形成具有一定参考价值,并为脑梗死治疗靶点提供新的研究方向。

[参考文献]

- [1] 王拥军. 中国脑血管病防治面临的特殊问题[J]. 中国科学, 2016, 61(18): 2 020-026.
- [2] 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. 中国脑血管病一级预防指南 2015[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48(8): 629-643.
- [3] Chistiakov DA, Sobenin IA, Orekhov AN. Regulatory T cells in atherosclerosis and strategies to induce the endogenous atheroprotective immune response[J]. Immunol Lett, 2013, 151(1-2): 10-22.
- [4] Wigren M, Nilsson J, Kolbus D. Lymphocytes in atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(19-20): 1 562-568.
- [5] Almanzar G, Ollinger R, Leuenberger J, et al. Autoreactive HSP60 epitope-specific T-cells in early human atherosclerotic lesions[J]. Autoimmun, 2012, 39(4): 441-450.
- [6] 陈清棠. 脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准(1995)[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 381.
- [7] Pox AJ. How to measure carotid stenosis[J]. Radiology, 1993, 186(2): 316-318.
- [8] Bamford J, Sandercock P, Dennis M, et al. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction[J]. Lancet, 1991, 337(8756): 1 521-526.
- [9] Bui QT, Prempeh M, Wilensky RL. Atherosclerotic plaque development[J]. Int J Biochem Cell, 2009, 41(11): 2 109-113.
- [10] 刘洋, 代瑞宁, 史秀丽, 等. 急性脑梗死患者血清胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白水平的临床观察[J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 24(4): 405-408.
- [11] Hanason GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease[J]. N Engl J Med, 2005, 352(16): 1 685-695.
- [12] Galkina E, Ley K. Immune and inflammation mechanisms of atherosclerosis[J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27: 165-197.
- [13] 李枚娟, 巩燕, 肖国胜, 等. CD4+T 淋巴细胞 Kv1.3 通道在大鼠动脉粥样硬化中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(9): 1 695-699.
- [14] Geng YJ, Henderson LE, Levesque EB, et al. Fas is expressed in human atherosclerotic intima and promotes apoptosis of cytokine-primed human vascular smooth muscle cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997, 17(10): 2 200-208.
- [15] 陈慰峰. 医学免疫学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 89-97.
- [16] 龚非力. 医学免疫学[M]. 第 4 版. 北京: 科学出版社, 2003: 101-108.

(此文编辑 朱雯霞)