

脑梗死患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞水平与颈动脉粥样硬化的相关性

贾 宁, 韩 锟, 闵连秋

(辽宁医学院附属第一医院神经内科, 辽宁省锦州市 121001)

[关键词] CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞; 脑梗死; 颈动脉粥样硬化

[摘 要] 目的 探讨脑梗死患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞(Treg)水平与颈动脉粥样硬化的相关性。方法 56 例存在颈动脉斑块的脑梗死患者均行颈动脉斑块高分辨率 MRI 检查, 根据斑块影像学特征分组。同期住院健康体检者(即对照组)30 例。应用流式细胞仪测定外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 的水平。结果 脑梗死组外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平低于对照组($P < 0.05$); 不稳定性斑块组、不稳定性斑块未破裂组及不稳定性斑块破裂组外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平低于稳定性斑块组($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。不稳定性斑块破裂组外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平低于不稳定性斑块未破裂组($P < 0.05$)。外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平与斑块易损程度呈负相关关系($P < 0.05$)。结论 外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平可以反映颈动脉粥样硬化斑块的稳定性及破裂性。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

The Relationship Between Peripheral Blood CD4⁺ CD25⁺ Regulatory T Cell and Carotid Atherosclerosis in Patients with Cerebral Infarction

JIA Ning, HAN Kun, and MIN Lian-Qiu

(Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

[KEY WORDS] CD4⁺ CD25⁺ Regulatory T Cell; Cerebral Infarction; Carotid Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To study the relationship between peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cell(Treg) and carotid atherosclerosis in patients with cerebral infarction. **Methods** The study included 56 patients with cerebral infarction and with carotid plaques confirmed by high resolution MRI, and included the same period healthy patients (control group) with 30 cases as research subjects. Patients were classified according to the characteristic findings of plaques in MRI. Levels of peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ Treg was determined by flow cytometry. **Results** The percentage of peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ Treg in infarction patients was lower than the control group($P < 0.05$). The percentage of peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ Treg in patients of unstable plaques group, unrupture plaques group and rupture plaques group were significantly lower compared with individuals of stable plaques group ($P < 0.05, P < 0.01$). The percentage of peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ Treg in patients of rupture plaques group was significantly lower compared with individuals of unrupture plaques group($P < 0.05$). The percentage of peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ Treg was negatively correlated with the stability of carotid plaques. **Conclusions** There was a relationship between peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ Treg and carotid atherosclerosis. Low serum levels of the markers may indicate that the plaques were vulnerable or ruptured.

颈动脉粥样硬化性病变是脑梗死的主要病因。血管壁免疫炎症反应在动脉粥样硬化起始、进展和终末阶段即斑块去稳定性和斑块破裂中起关键性作用。CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞(Treg)具有抗动

脉粥样硬化及减轻动脉硬化性脑梗死的免疫损伤作用。明确其在外周血的功能及作用机制, 尽早给予干预及治疗措施, 对于抑制或延缓动脉粥样硬化进程, 防治脑梗死具有重要意义。

[收稿日期] 2013-12-10

[基金项目] 辽宁省科学技术计划项目(2012225019)

[作者简介] 贾宁, 博士, 主治医师, 研究方向为脑血管病的基础与临床。通讯作者韩锟, 主治医师, 博士, E-mail 为 13700166350@163.com。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选择2012年9月至2013年9月在我院神经内科住院的脑梗死患者符合标准的病例56例,其中男性39例,女性17例,年龄49~81岁,平均65.6±8.2岁。符合全国第四届脑血管病学术会议修订的诊断标准,证实为颈内动脉系统脑梗死。所有病例均排除可能影响T细胞水平的疾病或状态:急性冠状动脉综合征、外周血管疾病、3个月内严重创伤和大型手术、恶性肿瘤及自身免疫疾病。根据斑块的高分辨率MRI影像学特征将全部病例分为稳定性斑块组(21例)和不稳定性斑块组(35例),不稳定性斑块组又根据是否存在纤维帽破裂分为不稳定性斑块未破裂组(18例)和不稳定性斑块破裂组(17例)。三组患者的年龄性别均无统计学差异。同期健康体检者30例为对照组,均行颈部血管超声无异常,其中男性18例,女性12例,平均年龄60.60±5.96岁,均无吸烟及酗酒史、卒中家族史、冠心病、高血压、糖尿病、血脂异常等脑血管危险因素。

1.2 颈动脉高分辨率MRI检查

颈动脉磁共振成像应用 Philip's Intera Achiva 3.0T MR 扫描仪,扫描序列包括 T1WI、T2WI、CE-T1WI、PDWI、MP-RAGE 及 TOF,增强扫描对比剂为磁

显葡胺。纤维帽通过 CE-T1WI 观察,正常较厚的纤维帽表现为斑块表面线样强化,较薄的纤维帽则表现为线样强化缺失,纤维帽破溃表现为斑块表面龛影。

1.3 外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平测定

采清晨空腹静脉血,置于 EDTA 抗凝真空管中,3 h 内进行流式细胞仪检测。单克隆抗体 CD4-PE、CD25-FITC、Mouse-IgG1-FITC 及 Cytomics FC 500 型流式细胞分析仪、Q-PREP 溶血制备仪均购自美国 Beckman Coulter 公司。每份样本同时做同型阴性对照。用 CXP-cytometer 软件获取和分析 10000 个细胞,统计 CD4⁺CD25⁺Treg 的百分比。

1.4 统计学方法

采用 SPSS17.0 统计软件包进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 *t* 检验,相关分析采用 Spearman 等级相关分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 颈动脉高分辨率MRI检查结果

斑块的高分辨率MRI显示,存在稳定性斑块21例,不稳定性斑块35例,其中斑块纤维帽未破裂18例和斑块破裂17例(图1)。

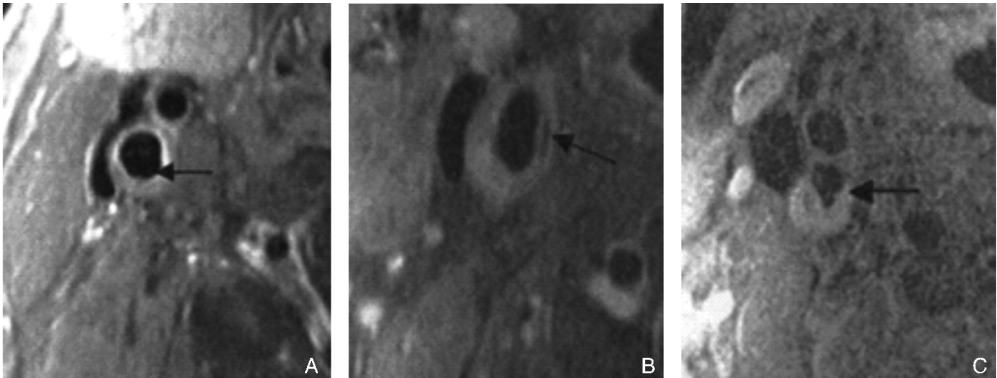


图 1. 颈动脉高分辨率 MRI 检查显示斑块纤维帽 A 为 CE-T1WI,颈内动脉腔内可见线样强化改变,为厚纤维帽的表现;B 为 CE-T1WI,颈内动脉腔内可见线样强化的缺失,为薄纤维帽的表现;C 为 PDWI,颈内动脉腔内斑块表面龛影形成,为纤维帽破溃的表现。

Figure 1. Show of plaque fibrous cap by high resolution MRI examination of carotid artery

2.2 外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平

脑梗死组外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平低于对照组,差异有显著性(*P* < 0.05;表1)。不稳定性斑块组、不稳定性斑块未破裂组和不稳定性斑块破裂组外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平均低于稳定性斑块组,差异有显著性(*P* < 0.05 和 *P* < 0.01)。不稳定性斑块破裂组 CD4⁺CD25⁺Treg 水平低于不稳定性

斑块未破裂组,差异有显著性(*P* < 0.05;表2)。按照斑块易损程度,将稳定性斑块组、不稳定性斑块未破裂组和不稳定性斑块破裂组的斑块级别分别定义为0级、1级和2级,Spearman 等级相关分析显示外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平与斑块易损程度呈负相关关系(*r* = -0.348, *P* < 0.05)。

表 1. 脑梗死组与对照组外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平($\bar{x} \pm s$)

Table 1. The percentage of peripheral blood CD4⁺CD25⁺Treg in cerebral group and control group($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg
对照组	30	11.32% \pm 1.59%
脑梗死组	56	8.42% \pm 1.73% ^a

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

表 2. 稳定性斑块组与不稳定性斑块组患者 CD4⁺CD25⁺Treg 水平($\bar{x} \pm s$)

Table 2. The percentage of peripheral blood CD4⁺CD25⁺Treg in stable plaque group and unstable plaque group($\bar{x} \pm s$)

分 组	n	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg
稳定性斑块组	21	9.83% \pm 1.83%
不稳定性斑块未破裂组	18	7.95% \pm 1.62% ^a
不稳定性斑块破裂组	17	6.263% \pm 1.2316% ^{bc}

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与稳定性斑块组比较; c 为 $P < 0.05$, 与不稳定性斑块未破裂组比较。

3 讨 论

CD4⁺CD25⁺Treg 是一类新型的免疫调节性 T 细胞,存在于人和动物模型粥样硬化斑块中,分泌 IL-10 和 TGF- β ,抑制自身反应性 T 细胞的增殖和细胞因子分泌、调控神经系统炎症性疾病中的免疫应答反应^[1]、维持自身免疫耐受^[2],具有抗动脉粥样硬化及减轻脑缺血后炎性损伤的作用^[3]。急性心肌梗死患者外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 数量明显减少^[4],但脑梗死患者的报道甚少。脑梗死外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平及与颈动脉粥样硬化程度的关系国内外鲜有报道。

本研究结果显示,脑梗死患者外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平较对照组下降,具有统计学意义。稳定性斑块组与不稳定性斑块组、稳定性斑块组与不稳定性斑块未破裂组、稳定性斑块组与不稳定性斑块破裂组之间外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平差异均具有显著性,说明外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平可能与颈动脉斑块的不稳定性有关。不稳定性斑块未破裂组与不稳定性斑块破裂组之间外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平差异有显著性,说明其可能与斑块破裂有关,从而也印证了基于冠状动脉硬化斑块的研究结果^[4]。相关分析显示外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平与颈动脉斑块易损程度呈负相关关系,即外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平越低,斑块的

易损性程度可能越高。综上所述,外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平与颈动脉粥样硬化斑块的破裂及不稳定性相关。

动脉粥样硬化性脑梗死患者外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平随颈动脉粥样硬化严重程度逐渐加重而降低的机制可能为^[5,6]:①生成减少,随着动脉粥样硬化形成及加重,CD4⁺T 细胞更倾向于分化为 Th1 细胞,同时异常激活的免疫反应抑制外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 的生成;②消耗增多,CD4⁺CD25⁺Treg 能抑制内皮细胞的抗原提呈功能,持续的內皮损伤会导致其过度消耗;③自身凋亡,动脉粥样硬化进展的过程伴随着氧化应激的加重,从而促进 CD4⁺CD25⁺Treg 凋亡。

本研究应用高分辨率 MRI 所显示的斑块影像学特征对脑梗死患者进行分组,因高分辨率 MRI 对斑块稳定性判断的准确性和特异性与组织病理学标准最为接近^[7],因此结果更具有科学性。外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平检测易损斑块相对于影像学检查具有可重复性好、相对无创等优点,可以在动脉粥样硬化形态学改变以前评估血管內皮细胞的功能,进而早期改善內皮细胞功能,调节人体的免疫状态,抑制或延缓动脉粥样硬化性脑梗死发生。

[参考文献]

[1] Chen JL, Ge YY, Zhang J, et al. The dysfunction of CD4(+) CD25(+) regulatory T cells contributes to the abort of mice caused by Toxoplasma gondii excreted-secreted antigens in early pregnancy [J]. PLoS One, 2013, 8(7): 1 015-027.

[2] Okeke EB, Okwor I, Mou Z, et al. CD4 + CD25 + regulatory T cells attenuate lipopolysaccharide-induced systemic inflammatory responses and promotes survival in murine Escherichia coli infection [J]. Shock, 2013, 40(1): 65-73.

[3] Liesz A, Suri-Payer E, Veltkamp C, et al. Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke [J]. Nat Med, 2009, 15(2): 192-199.

[4] 聂大奥, 赵一俏, 靳文, 等. 外周血 T 细胞亚群构成比例与冠状动脉粥样硬化的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(6): 532-536.

[5] Li Q, Wang Y, Yu F, et al. Peripheral Th17/Treg imbalance in patients with atherosclerotic cerebral infarction [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(6): 1 015-027.

[6] Xie PY, Su YS, Tang HY, et al. The effect of CD4 + CD25 + regulatory T cells on the proliferation, migration and adhesion of endothelial progenitor cells[J]. J Clin Cardiol, 2011, 12(1): 63-66.

[7] Naim C, Douziech M, Therasse E, et al. Vulnerable atherosclerotic carotid plaque evaluation by ultrasound, computed tomography angiography, and magnetic resonance imaging: an overview [J]. Can Assoc Radiol J, 2013, 74(11): 2 360-364.

(此文编辑 许雪梅)