

## 缺血性卒中不同亚型患者 血清 CXCL12 水平急性期动态观察\*

林芳<sup>a</sup>, 任阳<sup>b</sup>, 李亚<sup>b</sup> (延安大学附属医院 a. 老年病科; b. 内分泌科, 陕西延安 716000)

**摘要:**目的 观察缺血性卒中不同亚型患者急性期血清趋化因子配体 12(CXCL-12)水平的动态变化。方法 选择 2014 年 1 月~2016 年 6 月在延安大学附属医院老年病科治疗的 141 例急性缺血性卒中患者,按照 TOAST 分型方法分为大动脉粥样硬化性卒中(LAA)52 例,小动脉闭塞性脑卒中或腔隙性脑卒中(SAO)组 54 例和心源性脑栓塞(CE)组 35 例,另外选取 60 例同期门诊健康体检成人设置对照。分别于入院时及发病第 3,7,14 天四个时间点,采用 ELISA 法检测卒中患者血清 CXCL12 水平。结果 三个亚组患者在急性期 4 个时间点血清 CXCL-12 水平均高于对照组( $F=29.523, 31.690, 38.962, 22.365$ , 均  $P<0.001$ ),血清 CXCL-12 水平动态变化均表现为发病 24 h 内显著升高,发病第 3 天达到峰值,之后缓慢下降。多因素 Logistic 回归分析结果显示对于三个亚组,均表现为发病第 7 天血清 CXCL-12 升高与预后不良相关。结论 缺血性卒中不同亚型患者急性期血清 CXCL-12 均显著升高,且血清 CXCL-12 过高可能提示患者预后不良。

**关键词:**血清趋化因子配体-12;急性缺血性卒中;动态变化;预后

中图分类号:R743.3;R392.11 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)05-048-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.05.013

### Dynamic Observation of Serum CXCL-12 in Patients with Different Subtypes of Acute Ischemic Stroke

LIN Fang<sup>a</sup>, REN Yang<sup>b</sup>, LI Ya<sup>b</sup> (a. Department of Geriatrics; b. Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Yan'an University, Shaanxi Yan'an 716000, China)

**Abstract: Objective** To observe the dynamic change of serum CXCL-12 in patients with different subtypes of acute ischemic stroke. **Methods** 141 patients with acute ischemic stroke from January 2014 to June 2016 were recruited to participate in the study as stroke group. According to TOAST classification, they were divided into LAA group (52 cases), SAO group (54 cases) and CE group (35 cases). 60 healthy physical examination patients in Affiliated Hospital of Yan'an University physical examination centre in same time were selected as control group. Serum CXCL-12 of stroke patients were detected at admission, 3th day, 7th day and 14th day after stroke. **Results** Compared with the control group, the serum CXCL-12 level at four different time during acute stage were higher in three subgroups. Serum CXCL-12 in patients of three stroke subgroups was significantly increase within 24 hour after stroke. And it would peak at 3th day. Then, the level of serum CXCL-12 began to fall. Multivariate Logistics analysis showed that serum CXCL-12 level in patients with three different stroke subgroups at 7th day after stroke was the risk factor of poor prognosis. **Conclusion** For the patients with different subtypes of acute ischemic stroke, the serum CXCL-12 levels increased significantly. Moreover, the high level of serum CXCL-12 may correlate with poor prognosis.

**Keyword:** serum CXCL-12; acute ischemic stroke; dynamic change; prognosis

目前,脑卒中已经成为导致我国乃至全世界人民死亡最重要的疾病之一,且约有 30% 的患者伴随不同程度的永久残疾<sup>[1,2]</sup>。早期诊断及准确评估患者病情及预后有助于疾病治疗和医疗资源合理分配。趋化因子配体(chemokine cc-motif ligand, CXCL)12 在机体新生血管形成和缺血组织重建中具有关键作用,近年来,相继有动物实验和临床研究发现缺血性卒中急性期血清 CXCL-12 水平显著升高,且与预后情况密切相关,还有研究发现缺血性卒中患者急性期血清 CXCL-12 水平与卒中复发相关<sup>[3~5]</sup>。然而,目前鲜有研究针对缺血性卒中不

同亚型患者急性期血清 CXCL-12 水平动态变化情况进行报道。本研究将缺血性卒中患者按照不同亚型,在发病急性期的多个时间点检测血清 CXCL-12 水平,观察卒中急性期血清 CXCL-12 水平的动态变化情况,并探讨其与患者预后的关系,为临床工作提供参考。

#### 1 材料与方法

1.1 研究对象 严格按照本研究纳入标准和排除标准,筛选 2014 年 1 月~2016 年 6 月于我科治疗的急性缺血性卒中患者纳入卒中组。卒中组纳入标准:①年龄在 45~80 岁之间;②缺血性卒中诊断

\* 基金项目:陕西省教育厅自然科学研究项目(2013JK0781)。

作者简介:林芳(1980-),女,主治医师,研究方向:老年病神经方面的治疗,E-mail:linfang198009@163.com。

符合2010年中国急性缺血性卒中防治指南<sup>[6]</sup>,并经头颅CT和(或)MRI确诊;③本次发病为首次发作,且发病到来院接受治疗时间小于24h;④TOAST分型为大动脉粥样硬化性卒中(large artery atherosclerosis, LAA),小动脉闭塞性脑卒中或腔隙性脑卒中(small artery occlusion, SAO)和心源性脑栓塞(cardio embolism, CE)。排除标准:①其他TOAST分型;②并发硬膜外出血、硬膜下出血、蛛网膜下腔出血、脑出血、颅内肿瘤等严重神经系统疾病;③既往有卒中病史;④并发严重心、肝、肾功能障碍或其他肿瘤性疾病;⑤近3个月发生感染性疾病,或服用相关抗感染药物;⑥发病急性期行介入取栓治疗。本研究卒中组共纳入141例患者,其中男性83例,女性58例,平均年龄63.5±8.4岁,按照TOAST分型包括LAA患者52例,SAO患者54例和CE患者35例。参照卒中组患者的年龄和性别构成比例,选择同期于我院体检中心接受体检的健康体检者作为对照组,对照组成员需排除半年内发生过脑梗死、脑出血、脑肿瘤及其他系统肿瘤,排除近3个月发生感染性疾病、或服用相关抗感染药物。对照组共纳入60例人员,其中男性35例,女性25例,平均年龄62.8±8.7岁。本研究通过我院伦理委员会审核批准,所有入组人员或家属充分了解研究内容,并签署知情同意书。

1.2 试剂及仪器 鼠抗人CXCL-12单克隆抗体购自美国R&D公司,PV9000二步法免疫组化试剂盒和3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色液购自北京中杉金桥公司,BX50型Olympus显微镜及PM20型显微摄像系统均购自日本Olympus公司。

1.3 方法

1.3.1 血清CXCL-12水平检测:对照组成员在体检当日清晨采集空腹外周血3ml,30min内3000r/min离心20min,提取上清液1ml,-80℃保存备用。采用ELISA法检测血清CXCL-12水平,严格按照说明书进行操作。采用同样方法采集卒中

组患者入院时急抽外周血3ml,并于发病第3,7,14日清晨采集空腹外周血检测CXCL-12水平。

1.3.2 治疗方法:参照2010年中国急性缺血性卒中防治指南<sup>[6]</sup>,卒中组患者在排除脑出血等出血性疾病后,及时给予抗血小板聚集,营养神经,舒张脑血管,祛除自由基等基础治疗,并根据患者病情,维持患者血压、血糖稳定和电解质平衡。

1.3.3 患者预后评估:发病90天时通过门诊及电话随访,采用改良的RANKIN量表(modified Rankin scale, mRS)评估患者预后情况,本研究中将0~2分定义为预后良好,3~6分为预后不良。

1.4 统计学分析 统计学处理采用SPSS19.0统计软件分析处理,计量资料结果以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间均数比较采用t检验,多组间均数比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK-q检验;计数资料结果以构成百分比表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验;采用二元Logistic单因素分析法评估不同时间点血清CXCL-12与患者预后的关系,将单因素分析 $P < 0.2$ 参数作为协变量,进一步采用二分类Logistic多因素后退逐步回归法评估不同时间点血清CXCL-12与患者预后的关系。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组基线资料比较 四组成员在年龄、性别、高血压、糖尿病、冠心病、血脂异常、卒中家族史、吸烟、体温、心率、体重指数、收缩压、舒张压、白细胞计数和空腹血糖等15项指标上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$ )。三个卒中亚组入院时基线NIH-SS评分,LAA组和CE组均显著高于SAO组,差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。

2.2 不同时间点血清CXCL-12水平 见表1。三个亚组在急性期4个时间点检测血清CXCL-12水平均显著高于对照组(均 $P < 0.05$ ),且三个亚组急性期血清CXCL-12水平动态变化均表现为发病24h内显著升高,发病第3天达到峰值,之后缓慢下降。

表1 不同时间点血清CXCL-12水平(ng/ml)

时间	LAA组(n=52)	SAO组(n=54)	CE组(n=35)	对照组(n=60)	F值	P值
<24 h	4.1±2.3 <sup>ab</sup>	2.7±1.7 <sup>ac</sup>	4.4±2.4 <sup>a</sup>	1.3±1.1	29.523	0.000
3天	4.6±2.5 <sup>abd</sup>	2.8±2.1 <sup>acd</sup>	4.7±2.5 <sup>ad</sup>	1.3±1.1	31.690	0.000
7天	4.2±1.8 <sup>ab</sup>	2.5±1.6 <sup>ac</sup>	4.1±2.0 <sup>a</sup>	1.3±1.1	38.962	0.000
14天	3.3±1.7 <sup>ab</sup>	1.9±1.5 <sup>ac</sup>	3.2±1.7 <sup>a</sup>	1.3±1.1	22.365	0.000
F值	3.328	2.755	3.101	-	-	-
P值	0.021	0.043	0.029	-	-	-

注:对照组仅在体检当日检测血清CXCL-12水平;<sup>a</sup>LAA组 vs 对照组;<sup>b</sup>对照组 vs SAO组;<sup>c</sup>对照组 vs CE组;<sup>d</sup>3天 vs 14天,均 $P < 0.05$ 。

2.3 血清 CXCL-12 与患者预后情况的关系 见表 2。单因素分析结果显示对于 LAA 组和 CE 组,发病第 3 天和第 7 天血清 CXCL-12 水平均与预后不良相关,SAO 组仅有发病第 7 天血清 CXCL-12 水平与预后不良相关。将性别、年龄、冠心

病及吸烟等因素作为混杂因素,采用多因素 Logistic 回归分析法校正,结果显示对于三个亚组患者,均表现为发病第 7 天血清 CXCL-12 水平升高与预后不良相关。

3 讨论 缺血性卒中是指由于脑的供血动脉狭窄

表 2 血清 CXCL-12 与患者预后的关系 (ng/ml)

组别	预后良好	预后不良	未校正			校正后			
			OR	95%CI	P	OR	95%CI	P	
LAA 组 (N1=38,N2=14)	<24h	3.7±2.3	5.0±2.5	1.195	0.631~2.407	0.083	1.188	0.592~2.738	0.327
	3天	4.2±2.3	5.8±2.7	1.771	1.124~4.110	0.038	2.113	0.772~3.655	0.113
	7天	4.1±1.7	5.6±2.0	2.315	1.638~7.024	0.013	1.736	1.084~3.972	0.041
	14天	3.1±1.5	3.8±2.0	1.355	0.564~2.503	0.180	1.392	0.706~3.946	0.425
SAO 组 (N1=43,N2=11)	<24h	2.5±1.6	3.6±1.9	1.080	0.910~1.838	0.056	1.312	0.679~2.454	0.247
	3天	2.5±2.0	3.9±2.4	1.705	0.931~2.470	0.052	2.344	0.725~3.655	0.113
	7天	2.2±1.6	3.8±1.8	6.595	3.411~13.112	0.005	5.540	2.278~9.235	0.010
	14天	1.7±1.5	2.5±1.7	1.326	0.612~2.057	0.135	1.671	0.493~1.681	0.237
CE 组 (N1=23,N2=12)	<24h	3.8±2.2	5.3±2.9	1.745	0.884~2.879	0.096	1.596	0.692~1.745	0.240
	3天	4.0±2.4	6.1±3.0	1.849	1.176~2.715	0.032	1.801	0.823~2.154	0.134
	7天	3.3±1.9	5.8±2.2	7.547	3.606~12.436	0.002	5.025	2.167~8.794	0.011
	14天	2.9±1.7	3.9±1.8	1.462	0.810~2.526	0.122	1.713	0.800~3.416	0.215

注:N1:预后良好组例数;N2:预后不良组例数。

或闭塞,脑供血不足,而导致的脑组织坏死的一类疾病,一旦发病,短时间内便可造成神经细胞不可逆性凋亡和坏死,造成患者神经功能缺损,甚至死亡。及早评估患者病情严重程度及预后情况有助于临床选择更合适的治疗方案。CXCL-12 是近年来缺血性卒中研究的新热点,大量动物实验和临床研究表明其在缺血性卒中发生发展过程中起到重要作用,与患者病情严重程度和预后均密切相关<sup>[4,5,7,8]</sup>。

CXCL-12 又称基质细胞衍生因子,是一种小分子的细胞因子,属于趋化因子蛋白家族的一员,具有 CXCL12a 和 CXCL12b 两种形式。包含由四个保守半胱氨酸残基形成的两对双硫键趋化因子特殊结构。长期以来,CXCL-12 被认为仅在骨髓及少数造血组织中表达,参与调控造血干细胞在体内迁移<sup>[9]</sup>。近年来,有研究发现 CXCL-12 也可在中枢神经系统中表达,并通过与 G 蛋白家族受体-4 结合发挥作用<sup>[5,10]</sup>。基础研究结果显示 CXCL-12 在缺血性卒中的发生发展过程中可能具有两方面的作用:一方面,CXCL-12 可促进白细胞分泌多种促炎性细胞因子,加重局部炎性渗出,扩大梗死区域,加重病情;另一方面,CXCL-12 具有促进新生血管生长的功能,可加速梗死局部微血管生成,改善局部血供,促进神经组织和功能恢复,另外,CXCL-12 还可通过调控单核细胞等向梗死区迁移,促

进梗死区结构重建<sup>[4,5,11~14]</sup>。但在缺血性卒中病理生理过程中 CXCL-12 具体如何发挥作用目前尚不清楚,作者认为动态观察 CXCL-12 变化,将不同时期 CXCL-12 水平与患者临床表现联系起来,对探讨 CXCL-12 在缺血性卒中的作用具有重要意义。

关于缺血性卒中患者血清 CXCL-12 水平如何变化目前尚无统一结论,大多数研究结果显示缺血性卒中患者在急性期血清 CXCL-12 显著升高<sup>[5,15]</sup>,而 Wurster 等<sup>[11]</sup>研究结果显示卒中患者血清 CXCL-12 较对照组无明显改变。本研究将卒中组按照 TOAST 分型分为 LAA 组、SAO 组和 CE 组 3 个亚组,结果显示 3 个亚组,在卒中急性期血清 CXCL-12 水平均显著高于健康对照组,与大多数研究结果一致。并且本研究进一步在急性期分多个时段检测血清 CXCL-12 水平,3 个亚组血清 CXCL-12 动态监测结果均表现为发病 14 天内血清 CXCL-12 均处于升高状态,在发病第 3 天达到顶峰,之后缓慢下降。

既往有研究发现血清 CXCL-12 与缺血性卒中患者预后的相关性研究显示血清 CXCL-12 与患者预后相关,急性期血清 CXCL-12 水平越高意味可能预后不佳,Schutt 等<sup>[5]</sup>学者还发现脑梗死患者血清 CXCL-12 过高可能与近期卒中复发相关。但也有研究得到相反结论,Ghanem 等<sup>[16]</sup>研究发现血清 CXCL-12 水平与梗死体积呈负相关关系,肖新兴

等<sup>[4]</sup>研究发现虽然卒中组患者血清 CXCL-12 较对照组显著升高,但预后良好组血清 CXCL-12 水平显著高于预后不良组。本研究仍将卒中组分为不同亚组以分析血清 CXCL-12 水平与预后的关系,结果显示对于 3 个亚组,均显示发病第 7 天血清 CXCL-12 水平升高与预后不良密切相关。作者分析各研究结果不一致,甚至相互矛盾的主要原因可能在于:各研究纳入研究对象不一致,不同类型卒中患者之间梗死灶大小、基线 NIHSS 评分均有较大差异,如本研究比较患者一般资料发现 LAA 组和 CE 组入院时基线 NIHSS 评分均显著大于 SAO 组,重度损伤患者较轻度损伤患者脑组织破坏情况更重,可表达 CXCL-12 的细胞凋亡坏死更多,因此表现为预后不良组患者 CXCL-12 更低。而本研究按照 TOAST 分型将卒中患者分为不同亚组,各亚组之间病理损伤情况基本一致,在此基础上,发现血清 CXCL-12 水平升高与预后不良密切相关,表明卒中急性期 CXCL-12 主要发挥促进炎症渗出,加重病情的作用。

综上所述,缺血性卒中患者在急性期血清 CXCL-12 水平显著升高,发病第 7 天血清 CXCL-12 与预后相关,表现为血清 CXCL-12 水平越低,患者短期预后效果越佳。

#### 参考文献:

- [1] Goyal M, Demchuk AM, Menon BK, et al. Randomized assessment of rapid endovascular treatment of ischemic stroke [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(11): 1019-1030.
- [2] Powers WJ, Derdeyn CP, Biller J, et al. 2015 AHA/ASA focused update of the 2013 guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke regarding endovascular treatment: a guideline for health care professionals from the American Heart Association/American Stroke Association [J]. *Stroke*, 2015, 46(10): 3020-3035.
- [3] 张钰, 顾艳, 李俊霞, 等. 趋化因子 CXCL12, CCL2, RANTES 与早期流产的相关性 [J]. *中华医学杂志*, 2012, 92(1): 9-11.  
Zhang Y, Gu Y, Li JX, et al. Correlations between chemokines CXCL12, CCL2, RANTES and early abortion [J]. *Natl Med J China*, 2012, 92(1): 9-11.
- [4] 肖新兴, 刘庆新, 邹雪飞, 等. 急性脑梗死患者血浆 CXCL12 水平的改变及其对预后的影响 [J]. *临床神经病学杂志*, 2015, 28(2): 91-94.  
Xiao XX, Liu QX, Zou XF, et al. Changes of plasma CXCL12 levels and their effects on the prognosis in acute cerebral infarction patients [J]. *Journal of Clinical Neurology*, 2015, 28(2): 91-94.
- [5] Schutt RC, Burdick MD, Strieter RM, et al. Plasma CXCL12 levels as a predictor of future stroke [J]. *Stroke*, 2012, 43(12): 3382-3386.
- [6] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2010 [J]. *中华神经科杂志*, 2010, 43(2): 146-153.  
Write Team of Guidelines of Diagnosis and Treatment of Acute Ischemic Stroke, Cardiovascular Epidemiology group, Neurology Branch of Chinese Medical Association. Chinese guidelines of diagnosis and treatment of acute ischemic stroke (2010) [J]. *Chinese Journal of Neurology*, 2010, 43(2): 146-153.
- [7] Ruscher K, Kuric E, Liu Y, et al. Inhibition of CXCL12 signaling attenuates the postischemic immune response and improves functional recovery after stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(8): 1225-1234.
- [8] Gu XL, Liu L, Lu XD, et al. Serum CXCL12 levels as a novel predictor of future stroke recurrence in patients with acute ischemic stroke [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(5): 2807-2814.
- [9] 郑福利, 党森, 张森芳, 等. 子宫内膜癌组织中趋化因子 CXCL12 及其受体 CXCR4 表达水平研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2015, 30(4): 21-23, 27.  
Zheng FL, Dang M, Zhang MF, et al. Expression of chemokine CXCL12 and its receptor CXCR4 in endometrial carcinoma tissues [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2015, 30(4): 21-23, 27.
- [10] Wang F, Yasuhara T, Shingo T, et al. Intravenous administration of mesenchymal stem cells exerts therapeutic effects on parkinsonian model of rats: Focusing on neuroprotective effects of stromal cell-derived factor-1 $\alpha$  [J]. *BMC Neurosci*, 2010, 11(1): 52.
- [11] Wurster T, Tegtmeyer R, Borst O, et al. Platelet expression of stromal cell-derived factor-1 is associated with the degree of valvular aortic stenosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97405.
- [12] 肖新兴, 刘庆新. 趋化因子 CXCL12 在缺血性脑卒中的作用及其机制 [J]. *中华脑科疾病与康复杂志(电子版)*, 2014, 4(3): 45-48.  
Xiao XX, Liu QX. The role and mechanism of chemokine CXCL12 in ischemic stroke [J]. *Chinese Journal of Brain Diseases and Rehabilitation (Electronic Edition)*, 2014, 4(3): 45-48.
- [13] Kim SJ, Moon GJ, Chang WH, et al. Intravenous transplantation of mesenchymal stem cells preconditioned with early phase stroke serum: current evidence and study protocol for a randomized trial [J]. *Trials*, 2013, 14(1): 317.
- [14] Cheng X, Lian YJ, Ma YQ, et al. Elevated serum levels of CXCL12 are associated with unfavorable functional outcome and mortality at 6-month follow-up in Chinese patients with acute ischemic stroke [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(2): 895-903.
- [15] Wang Y, Huang J, Li Y, et al. Roles of chemokine CXCL12 and its receptors in ischemic stroke [J]. *Curr Drug Targets*, 2012, 13(2): 166-172.
- [16] Ghanem I, Riveiro ME, Paradis V, et al. Insights on the CXCL12-CXCR4 axis in hepatocellular carcinoma carcinogenesis [J]. *Am J Transl Res*, 2014, 6(4): 340-352.