

急性大动脉粥样硬化型脑梗死患者血清胆固醇与外周血自然杀伤细胞的相关性

刘宁, 徐建可, 张洪阳, 高成恩, 韩新生

河南省开封市中心医院神经内科, 河南 开封 475000

摘要: **目的** 探讨急性大动脉粥样硬化型脑梗死患者血清胆固醇与外周血自然杀伤细胞(NK 细胞)的关系。**方法** 选取 2017 年 5 月至 2018 年 5 月在开封市中心医院住院的神经内科的急性大动脉粥样硬化型脑梗死患者 63 例作为观察组,另取同期在本院进行体检的健康人 38 例作为正常对照组;两组分别应用流式细胞仪直接免疫荧光染色法检测外周血 NK 细胞水平及全自动生化分析仪检测血清胆固醇值,对比两组间的差异,并行相关性分析。**结果** 观察组患者血清胆固醇值标高于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),同时外周血 NK 细胞值的水平亦明显高于正常的对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),经 Pearson 相关性分析发现,急性大动脉粥样硬化型脑梗死患者血清胆固醇与外周血 NK 细胞水平呈正相关性($r = 0.179, P = 0.011$)。**结论** 急性大动脉粥样硬化型脑梗死患者发病后外周血 NK 细胞水平与血清胆固醇值具有明显相关性,可为寻找新的调脂药物提供临床依据。

关键词: 脑梗死; 自然杀伤细胞; 胆固醇; 动脉粥样硬化, 急性

中图分类号: R 743.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)12-1656-03

Correlation between serum cholesterol and peripheral blood natural killer cells in patients with acute atherosclerotic cerebral infarction

LIU Ning, XU Jian-ke, ZHANG Hong-yang, GAO Cheng-en, HAN Xin-sheng

Department of Neurology, Kaifeng Central Hospital in Henan Province, Kaifeng, Henan 475000, China

Corresponding author: HAN Xin-sheng, E-mail: hansong2008@126.com

Abstract: Objective To investigate the relationship between serum cholesterol and natural killer cells (NK cells) in patients with acute atherosclerotic cerebral infarction. **Methods** Sixty-three patients with acute large atherosclerotic cerebral infarction (TOAST classification) hospitalized in the department of neurology of Kaifeng Central Hospital from May 2017 to May 2018 were selected as the study subjects (observation group), and 38 healthy physical examinee were served as normal control group at the same time. Using flow cytometry direct immunofluorescence staining and automatic biochemical analyzer, the levels of peripheral blood NK cells and serum cholesterol were respectively detected and were compared between two groups. The related analysis was made. **Results** The levels of serum cholesterol and NK cells in peripheral blood in observation group were statistically higher than those in control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Pearson test showed that there was a positive correlation between serum cholesterol level and peripheral blood NK cell level in patients with acute atherosclerotic cerebral infarction ($r = 0.179$, $P = 0.011$). **Conclusion** In patients with acute atherosclerotic cerebral infarction, there is a significant correlation between the level of peripheral blood NK cells and serum cholesterol level, which can provide clinical basis for finding new lipid-regulating drugs.

Key words: Cerebral infarction; Natural killer cells; Cholesterol; Atherosclerosis, acute

Fund program: Science and Technology Research Project of Science and Technology Department of Henan Province (182102310445)

脑梗死发生的病因机制复杂,动脉粥样硬化是大家公认的脑梗死的主要病理基础,随着脑梗死机制研究的不断深入,免疫炎性机制在脑梗死发生、发展中

的作用和地位日益凸显,脑梗死发生后,可引起机体发生一系列的保护性和损伤性免疫应答^[1]。有研究表明妊娠期糖尿病孕妇的自然杀伤细胞活性降低、数

量减少,其原因可能为通过改变不同表型细胞的含量的方法参与机体免疫反应,引发其调节血脂的能力降低,影响妊娠期糖尿病患者的高脂血症的发生^[2]。本研究通过探讨急性大动脉粥样硬化型脑梗死患者血清胆固醇与外周血 NK 细胞的关系,为免疫炎性机制参与早期或超早期急性脑梗死的发生、发展提供一定的客观依据^[3]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 5 月至 2018 年 5 月在开封市中心医院住院的神经内科的急性大动脉粥样硬化型脑梗死患者 63 例作为观察组,另取同期在本院进行体检的健康人 38 例作为正常对照组;其中观察组男性 30 例,女性 33 例,年龄(68.57 ± 1.69)岁;对照组 38 例,男性 20 例,女性 18 例;年龄(64.05 ± 2.71)岁,两组在年龄和性别构成的方面比较,其差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.1.1 纳入标准 (1)急性起病;(2)年龄在 60 ~ 70 岁;(3)在发病 24 h 内住院;(4)临床表现均有不同程度的偏盲、偏瘫、失语、单侧肢瘫、头晕、构音不良、共济失调、或者偏身感觉障碍等局限性神经功能缺损的症状和体征;(5)入院 24 h 内均经过头颅 CT/MRI 明确诊断为急性脑梗死,经过 MRA 了解从主动脉弓到颅内动脉的血管情况,综合临床表现和影像学的资料,进行不同的类肝素药物治疗急性缺血性脑卒中试验(TOAST)分型,纳入本课题研究者均为大动脉粥样硬化型(LAA)分型,神志清楚,美国国立卫生院神经功能缺损量表(NIHSS)评分在 0 ~ 6 分。

1.1.2 排除标准 (1)TOAST 分型中的其他类型;(2)大面积脑梗死;(3)进展性脑梗死;(4)影像学提示大、小动脉均有明显病变者;(5)既往曾经有过脑血管病并造成神经功能缺损者;(6)2 周内发生过感染;(7)发病后有神志不清者;(8)严重心肺疾病;(9)营养不良;(10)结缔组织病;(11)血液系统疾病者。

1.2 检测方法 (1)外周血 NK 细胞检测方法采用流式法,试剂采用艾森生物 CD3⁺/CD8⁺/CD45⁺/CD4⁺检测试剂,批号:B000187。(2)外周血 NK 细胞留取方法:所有患者在发病第 2 天空腹(发病 24 h 内)留取右侧肘静脉血 3 ml,进行 T 淋巴细胞亚群各项检测。抑制/诱导 T 淋巴细胞百分比(CD8⁺T%, 13 ~ 39)、辅助/诱导 T 淋巴细胞百分比(CD4⁺T%, 33 ~ 58)、辅助/抑制 T 淋巴细胞比值(CD4⁺T/CD8⁺T, 0.71 ~ 2.78)、NK 细胞百分比(NK%, 5 ~ 26)、NK 细胞计数(NK, 84 ~ 724)、淋巴细胞百分比(Lym,

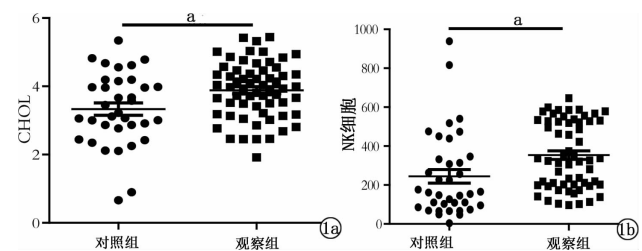
20 ~ 40)的差异。(3)血清胆固醇检测方法:全自动生化分析仪检测血清胆固醇值。(4)血清胆固醇留取方法:所有患者在发病第二天空腹(发病 24 h 内)留取右侧肘静脉血 3 ml,进行生化指标的各项检测。空腹血糖(GLU, 3.89 ~ 6.11 mmol/L)、胆固醇(CHOL, 0 ~ 5.2 mmol/L)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL, 1.16 ~ 1.55 mmol/L)、甘油三酯(TG, 0 ~ 2.3 mmol/L)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL, 2.7 ~ 3.1 mmol/L)。

1.3 统计学方法 采用 GraphPad Prism 统计学软件对数据进行处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料以百分数(%)表示,采用 χ^2 检验,采用 Pearson 检验进行相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

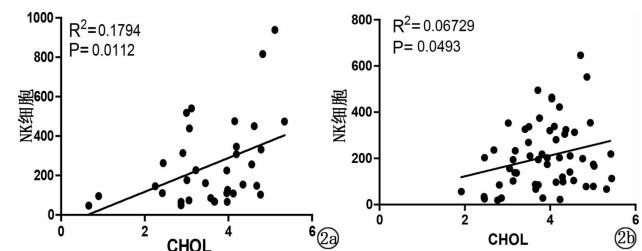
2.1 观察组与对照组胆固醇与 NK 细胞检测结果比较 观察组患者胆固醇及 NK 细胞较对照组明显升高($P < 0.01$)。见图 1。

2.2 观察组与对照组胆固醇与 NK 细胞检测结果相关性分析 经 Pearson 检验发现,无论在对照组中($R^2 = 0.179$, $P = 0.011$)还是在观察组中($R^2 = 0.067$, $P = 0.049$)胆固醇与 NK 细胞均呈正相关。见图 2。



注:1a:胆固醇;1b:NK 细胞;两组比较,^a $P < 0.01$ 。

图 1 两组胆固醇与 NK 细胞检测结果比较



注:2a,对照组;2b:观察组。

图 2 两组胆固醇与 NK 细胞相关性分析

3 讨论

动脉粥样硬化是脑梗死发生、发展过程中的一个重要病理机制,其中多种危险因素(如高血压、糖尿病、高脂血症、肥胖等)参与其中。本研究通过对急

性大动脉粥样硬化型脑梗死患者行血清胆固醇及外周血 NK 细胞的检查,发现免疫炎性反应与急性脑梗死的发生、发展关系密切。

相关文献报道,机体体液免疫与细胞免疫的调节的完成均有 T 细胞参与,且 T 细胞亚群的相对比例可能与患者的免疫功能状态及病情变化密切相关^[4]。NK 细胞是人体内一类特殊的淋巴细胞亚群,在人类免疫组成中起重要作用,不仅参与免疫调节、肿瘤发生、抗病毒及感染,且在某种情况下也参与机体的超敏反应、中枢神经系统损坏(如:多发性硬化、帕金森病、脑外伤等)和自身免疫性疾病的发生^[5-6],它属于先天性免疫系统的一部分。其通过产生白细胞介素-8、单核细胞趋化蛋白-1、正常 T 细胞表达分泌活化调节因子等趋化因子,肿瘤坏死因子、干扰素、集落刺激因子等细胞因子参与免疫反应,进一步影响机体的血脂变化^[2,7]。同时其具备很强的分泌多种细胞因子的功能,它是连接天然免疫和获得性免疫之间的桥梁,不仅调节早期天然的免疫应答,也参与调节获得性的免疫应答。自然杀伤细胞还可通过细胞与细胞接触的形式直接与 T 细胞间相互作用。相关研究证实,NK 细胞、T 细胞均高表达于早期脑梗死患者体内^[8]。

本研究发现,观察组外周血 NK 细胞水平指标明显高于正常对照组,差异具有统计学意义,同时,患者血清胆固醇指标高于正常对照组,差异具有统计学意义,这与国内外学者的相关研究一致^[9]。经 Pearson 检验发现,急性大动脉粥样硬化型脑梗死患者血清胆固醇与外周血 NK 细胞水平呈正相关性,同时我们还发现,CD4/CD8 升高的同时,HDL 水平也升高,其与 NK 细胞升高存在一致性,且差异具有统计学意义。故推测二者在脑血管病发生的早期或超早期,可能会活化机体免疫细胞(如 NK 细胞等)和粥样斑块发生的保护因子(HDL),并动员 NK 细胞吞噬伤害性胆固醇,从而减轻大脑的损伤。相关研究证实,如果脑缺血面积及缺血程度进一步进展加重,则自然杀伤细胞会大量聚集在已坏死的脑细胞周围并且催化缺血神经细胞的死亡,并且会加重脑梗死神经功能缺损及脑神经病理的损害^[10-13]。

所以,本研究发现在脑梗死早期或超早期,外周血 NK 细胞水平与血清胆固醇值具有明显相关性,预测可通过早期干预 NK 细胞水平,指导脑梗死诊治,

同时对寻找新的调脂药物靶点提供临床依据。但是,本研究主要讨论急性大动脉粥样硬化型脑梗死患者血清胆固醇与外周血 NK 细胞的相关性,对 TOAST 分型中的其他类型是否有同样结果尚未知,仍需进一步研究。

参考文献

- [1] Cretney E, Xin AN, Shi W, et al. The transcription factors Blimp-1 and IRF4 jointly control the differentiation and function of effector regulatory T cells[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(4): 304-311.
- [2] 杨钦灵,王立芳. NK 细胞对妊娠期糖尿病高脂血症的影响[J]. *中国临床研究*, 2015, 28(5): 545-547, 555.
- [3] 陈大字,刘怡伶,潘柳吟. 脑梗死患者血清 T 淋巴细胞亚群、免疫球蛋白检测及意义[J]. *山东医药*, 2011, 51(27): 42-43.
- [4] 王朝辉,李洋,李威. 急性脑血管病患者 T 淋巴细胞亚群变化的研究[J]. *中国老年学杂志*, 2006, 26(9): 1179-1180.
- [5] 金伯泉. *医学免疫学*[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社, 2008.
- [6] 高苹,钱传忠,刘向远,等. 帕金森病患者 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞的临床研究[J]. *实用临床医药杂志*, 2005, 9(5): 52-54.
- [7] Keskin DB, Allan DS, Rybalov B, et al. TGFbeta promotes conversion of CD16+ peripheral blood NK cells into CD16-NK cells with similarities to decidual NK cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(9): 3378-3383.
- [8] 陈静,肖成华,张勇. CD4~+, CD25~+, CD127 low 调节 T 细胞及 CD16~+, CD56NK 细胞在脑梗死急性期患者外周血中的表达及其关系[J]. *脑与神经疾病杂志*, 2015, 23(2): 81-84.
- [9] 张津华,马丽丽,李江坤,等. 阿托伐他汀对不同程度颈动脉粥样硬化患者外周血 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2014, 16(11): 1137-1139.
- [10] Elmets CA, Larson K, Urda GA, et al. Inhibition of postbinding target cell lysis and of lymphokine-induced enhancement of human natural killer cell activity by in vitro exposure to ultraviolet B radiation[J]. *Cellular Immunology*, 1987, 104(1): 47-58.
- [11] Cho Y, Lee SE, Lee HC, et al. Adipokine resistin is a key player to modulate monocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells, leading to progression of atherosclerosis in rabbit carotid artery[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 57(1): 99-109.
- [12] Chiva-Blanch G, Urpi-Sarda M, Llorach R, et al. Differential effects of polyphenols and alcohol of red wine on the expression of adhesion molecules and inflammatory cytokines related to atherosclerosis: a randomized clinical trial [J]. *Am J Clin Nutr*, 2012, 95(2): 326-334.
- [13] Kyaw T, Winship A, Tay C, et al. Cytotoxic and proinflammatory CD8+ T lymphocytes promote development of vulnerable atherosclerotic plaques in ApoE-deficient mice [J]. *Circulation*, 2013, 127(9): 1028-1039.

收稿日期:2019-03-21 编辑:王国品