

分类号:
学 号: 2014409071

密 级: 公开
单位代码: 10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



CD36、CXCL16 水平与动脉粥样硬化性脑梗死的相关性研究

学 位 申 请 人	嵇继宇
指 导 教 师	王 宏
申 请 学 位 类 别	临床医学硕士
专 业 名 称	神经病学
研 究 领 域	脑血管疾病
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子

2017年 5月

分类号:
学 号: 2014409071

密 级: 公开
单位代码: 10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



CD36、CXCL16 水平与动脉粥样硬化性脑梗死的相关性研究

学 位 申 请 人	嵇继宇
指 导 教 师	王 宏
申 请 学 位 类 别	临床医学硕士
专 业 名 称	临床医学
研 究 领 域	脑血管病
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子

2017 年 5 月

**Correlation research between serum chemokine CXCL16 and CD36
and atherosclerotic cerebral infarction**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Medicine

By Ji Jiyu

(Neurology)


Dissertation Supervisor: Prof. Wang Hong

May, 2017

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名： 

时间：2017年6月2日

使用权授权书

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文用于赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅。有权将学位论文的内容编入有关数据进行检索。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名： 

时间：2017年6月2日

导师 签名：



时间：2017年6月2日

摘 要

目的: 动脉粥样硬化是动脉血栓形成的直接原因, 会导致急性阻塞性脑血管病, 与动脉粥样硬化发生进展相关事件反应了复杂的生物学过程, 包括内皮细胞功能紊乱, 白细胞募集, 泡沫细胞形成, 血管平滑肌细胞增生、分化, 细胞外基质重塑, 血小板激活, 同时还有血管生成、细胞死亡/凋亡的改变等。本研究通过检测血清巨噬细胞趋化因子配体 16 (CXCL16) 及 CD36 在健康体检者、颈动脉粥样硬化易损斑块患者及易损斑块并发脑梗死患者血清中的水平, 探讨血清巨噬细胞趋化因子配体 16 (CXCL16) 及 CD36 水平与颈动脉粥样硬化易损斑块并发大动脉粥样硬化 (LAA) 性脑梗死的关系。

方法: 选取 2015 年 11 月—2016 年 6 月就诊于石河子大学医学院第一附属医院神经内科具有颈动脉粥样硬化易损斑块合并 LAA 性脑梗死的患者 (脑梗组) 50 例, 均于发病 72 h 内入院, 符合 2014 年中国急性缺血性脑卒中诊治指南的诊断标准确诊为动脉粥样硬化性脑梗死; 根据 TOAST (the trial of org10172 in acute stroke treatment) 病因分型确定为 LAA 性脑梗死。另取同期健康体检并经颈动脉彩超确诊为有颈动脉粥样硬化性易损斑块者 (斑块组) 50 例, 既往均无脑血管病病史。同期健康体检正常者 (对照组) 50 例。各组均接受颈动脉彩超检查。计算各组体质量指数 (BMI), 罗氏 DPP-H7600 全自动生化分析仪检测各组三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、空腹血糖 (FBG), 应用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 测定各组血清 CXCL16 及 CD36 水平。Logistic 回归分析颈动脉粥样硬化易损斑块发生 LAA 性脑梗死的影响因素。实验数据通过 SPSS 17.0 统计软件进行处理, 计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间均数的比较采用单因素方差分析, 方差不齐者行秩和检验; 计数资料以率 (%) 表示, 行卡方检验; 以脑梗死为因变量作 logistic 回归分析, 进行脑梗死危险因素分析。

结果: 斑块组和脑梗组 BMI、TG、TC、LDL-C、FBG 水平高于对照组, HDL-C 水平低于对照组; 脑梗组 TG、TC、LDL-C、FBG 水平高于斑块组, BMI、HDL-C 水平低于斑块组 ($P < 0.05$)。对照组、斑块组及脑梗组的 CXCL16 和 CD36 水平均呈依次升高趋势 ($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析显示, 高 TG、LDL-C、FBG、CXCL16 及 CD36 是颈动脉粥样硬化易损斑块合并 LAA 性脑梗死的危险因素。

结论: 血清 CXCL16、CD36 水平可作为颈动脉易损斑块的生物学标志物; 联合检测血清 CXCL16、CD36 水平有助于预测 LAA 性脑梗死。

关键词: 趋化因子, CXC; 抗原, CD36; 动脉粥样硬化; 脑梗死; 趋化因子配体 16; 易损斑块

论文类型: 应用研究

Abstract

Objective: Atherosclerosis is the proximate cause of arterial thrombosis, leading to acute occlusive cardiovascular syndromes. The events underlying atherosclerosis development and progression reflect complex biological processes, including: endothelial cell (EC) dysfunction, leukocyte recruitment, foam-cell formation, vascular smooth muscle cell (VSMC) proliferation and (de)-differentiation, extracellular matrix remodeling, platelet activation, as well as alterations in angiogenesis and cell death/apoptosis. To investigate the relationship between serum chemokine CXCL16 and CD36 in vulnerable carotid atherosclerosis plaques (LAA) with LAA-stroke.

Methods: Fifty patients with cerebral infarction and carotid vulnerable plaque (infarction group), 50 patients with carotid vulnerable plaque (plaque group) and 50 healthy subjects in the same period (control group) were included in this study. The cervical vascular color ultrasonic inspection was performed in three groups. Data of body mass index (BMI) were calculated in three groups. Levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and fasting blood sugar (FBS) were also detected in three groups. The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the serum levels of CXCL16 and CD36 in three groups. Logistic regression analysis was used to analyse the influence factors of LAA-cerebral infarction.

Results: Levels of BMI, TG, TC, LDL-C and FBG were higher, and the level of HDL-C was lower in infarction group and plaque group than that in control group. Levels of TG, TC, LDL-C and FBG were significantly higher in infarction group than those of plaque group, and levels of BMI and HDL-C were significantly lower in infarction group than those in plaque group ($P < 0.05$). Both serum levels of CXCL16 and CD36 showed significantly increased trend in control group, plaque group and infarction group ($P < 0.001$). Multivariate logistic regression analysis showed that the higher levels of TG, LDL-C, FBG, CXCL16 and CD36 were the independent risk factors for large artery atherosclerotic cerebral infarction. **Conclusion:** Serum chemokine CXCL16 and CD36 can be used as a clinical marker of vulnerable carotid plaques. Joint detection of CXCL16 and CD36 can predict the occurrence of LAA-cerebral infarction.

Key words: chemokines, CXC; antigens, CD36; atherosclerosis; brain infarction; CXC chemokine ligand16; vulnerable plaque

Type of thesis: Applied Research

目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	II
中英文缩略词对照表.....	IV
前 言.....	1
(Preface)	1
研究对象、材料及方法.....	3
(Objects,Materials and Methods).....	3
1. 研究对象.....	3
2. 研究方法.....	3
3.实验仪器、试剂.....	4
3.1 实验仪器.....	4
3.2 实验试剂.....	4
3.3 实验原理.....	5
3.4 实验步骤.....	5
3.5 结果计算.....	6
3.6 统计学方法.....	6
结 果.....	7
(Results).....	7
1.临床基本数据（见表1）。.....	7
2. 各组 CD36、CXCL16 水平比较	7
3. 脑梗死影响因素分析	8
讨 论.....	9
(Discussion).....	9
结 论.....	13
(Conclusion).....	13
参考文献.....	14
(Reference).....	14
文献综述.....	18
(Literature Review).....	18
致谢.....	28
作者简介.....	29
石河子大学硕士研究生学位论文.....	30
导师评阅表.....	30

中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文全称
ASCVD	Atherosclerotic cardiovascular disease	动脉粥样硬化性心血管疾病
AS	Atherosclerosis	动脉粥样硬化
CXCL16	CXC chemokine ligand16	趋化因子配体 16
TOAST	the trial of org10172 in acute stroke treatment	
LAA	Large artery atherosclerosis	大动脉粥样硬化
FBG	fasting blood glucose	空腹血糖
ACC	American College of Cardiology	美国心脏病学会
AHA	American Heart Association	美国心脏协会
CHD	coronary heart disease	冠状动脉粥样性心脏病
PAO	presumed atherosclerotic origin	假定为动脉粥样硬化起源的疾病
PAD	peripheral arterial disease	周围动脉疾病
IL-1	interleukin-1	白介素-1
IL-6	interleukin-6	白介素-6
TNF-a	tumour necrosis factor a	肿瘤坏死因子 a
MCP-1	monocyte chemo-attractant protein-1	单核细胞趋化蛋白-1
PPAR γ	peroxisome proliferator-activated receptor γ	过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ
ECs	endothelial cells	内皮细胞
SMCs	smooth muscle cells	平滑肌细胞
RIP	regulated intramembrane proteolysis	受控膜内蛋白质水解
IFN- γ	interferony	干扰素 γ
BMI	Body mass index	体重质量指数
TG	Triglyceride	甘油三酯
HDL	High densitylipoproteincholesterol	高密度脂蛋白
TC	total cholesterol	总胆固醇
LDL-C	low density lipoprotein	低密度脂蛋白
ox-LDL	oxidized low density lipoprotein	氧化低密度脂蛋白
SRs	scavenger receptor	清道夫受体

前 言

(Preface)

动脉粥样硬化(Atherosclerosis,AS)及其并发症成为全世界最常见的死亡原因,按照标准化年龄死亡率计算每年每 10 万人中有超过 240 人。已有确凿证据显示动脉粥样硬化是一种会损伤动脉壁内膜的慢性炎症性疾病。当受到血流干扰影响,处于动脉位点的动脉粥样硬化斑块会进展几十年,并且在诸如高胆固醇血症、糖尿病以及高血压等伴随的危险因素下会促进斑块的进展。在早期阶段,动脉粥样硬化临床上鲜有症状,然而随后经常会发生严重的血管狭窄,并且通常情况下都是由于应激所引起(比如稳定型心绞痛)。大多数 AS 斑块终身会无症状,但是其中的一些斑块会变得不稳定、易于破裂,这些都会触发动脉血栓生成、引起急性血流阻塞和致命的临床表现(包括急性冠脉综合征,缺血性卒中和猝死)。动脉粥样硬化发生及进展的相关事件反应了复杂的生物学过程,包括内皮细胞功能紊乱,白细胞募集,泡沫细胞形成,血管平滑肌细胞增生、分化,细胞外基质重塑,血小板激活,同时还有血管生成、细胞死亡/凋亡的改变。不同细胞类型和它们不同的生物学功能之间的相互作用被重要的细胞内信号通路、旁分泌、内分泌系统等所影响^[19]。

在中国,超过 2.3 亿人患有 CVD (cardiovascular disease,CVD),其中有 200 万人患有心肌梗死,700 万人患有卒中,300 万人因此死亡。有高血压或高胆固醇血症的人数达到了 2 亿,同时 3.5 亿是现时吸烟者。如果没能改变当前这种危险因素现状,在 2010-2030 期间中国 CVD 事件将会有有一个惊人的增长,大约会增长 50%^[39]。

目前很多人可能认为动脉粥样硬化性心血管疾病(atherosclerotic cardiovascular disease, ASCVD)是可控性疾病,归因于降脂、降糖、抗血小板、抗凝药物的应用,同时使用抗氧化剂的随机临床试验已经证实高危人群中受益,但是脑卒中的发病率、致残率、复发率、死亡率却未得到有效控制。神经内科医生在临床上主要的担忧便源自 ASCVD 的静默进展,经常从没有任何临床症状到由于血栓形成或严重狭窄导致急性缺血性脑血管病的出现。所以仅仅基于目前典型的危险因素来预测 ASCVD 的发生是不够的。因此我们需要寻找能够反映、预测及评估斑块易损性和 ASCVD 的标记物。

对于动脉粥样硬化和心血管事件危险因素的评估仅仅依赖典型危险因素的呈现往往是不够的。因此,目前学术界一直致力于寻找可以预测在个体亚临床疾病表现的标记物——动脉粥样硬化和动脉壁功能失调的生物学标记物。在有动脉粥样硬化病变的病人中,已经发现一些炎性介质的升高。细胞因子、细胞黏附分子、选择素、急性期反应物(高敏 CRP)、纤维蛋白原和淀粉样蛋白 A 的基础水平的升高与心血管事件风险性升高相关。在过去的 10 年里反映斑块易损性和动脉粥样硬化性心血管病的标记物一直被寻找^[20]。

ASCVD 的本质是炎性疾病,其特点包括脂质代谢异常和炎症反应^[1]。越来越多的证据已经显示 ox-LDL 和巨噬细胞通过促进细胞内脂质蓄积和泡沫细胞形成在 AS

的起始和进展中起到关键作用。CD36（ox-LDL 的一个重要的配体）是人类巨噬细胞表面的单链糖蛋白，同时也是摄入 ox-LDL（超过 70%）的一个 B 族清道夫受体^[2]。巨噬细胞趋化因子配体 16（CXC chemokine ligand16,CXCL16）是趋化因子炎症性超家族成员之一，趋化白细胞迁移至炎症损伤处的同时也是巨噬细胞内吞 ox-LDL 的一个 G 族清道夫受体^[3]。有研究发现 CXCL16 可能有增加斑块易损性的作用^[4]，本研究的目的在于通过对血清 CD36 和 CXCL16 水平在动脉粥样硬化性脑梗死中不同功能作用进行深入探索，探寻 CD36 和 CXCL16 能否成为反映斑块易损性，患者发展为急性脑梗死的生物学标记物，探讨 CXCL16 和 CD36 与大动脉粥样硬化（large-artery atherosclerosis,LAA）性脑梗死的关系。

研究对象、材料及方法

(Objects, Materials and Methods)

1. 研究对象

分组	纳入标准 (地点: 石河子大学医学院第一附属医院神经内科 时间: 2015 年 11 月至 2016 年 6 月)	病例数
脑梗组	发病时间为 72h 内	50 例
	诊断标准符合 2014 年中国急性缺血性脑卒中诊治指南中 LAA 的诊断	
	依据 TOAST (the trial of org10172 in acute stroke treatment) 临床上确诊为 LAA 性脑梗死	
斑块组	同期体检健康、经颈部动脉超声检查确诊为有颈动脉粥样硬化性易损斑块者	50 例
	既往均无脑血管病病史。	
对照组	同期健康体检正常者	50 例

针对斑块组、脑梗组、对照组的排除标准: (1) 入院头颅 CT 平扫提示有高密度影者, 即脑出血者; (2) 有急性 ST 段抬高性心肌梗死、急性非 ST 段抬高性心肌梗死以及不稳定型心绞痛的急性冠脉综合症病史及心脏衰竭病史者; (3) 诸如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎等自身免疫相关性疾病者; (4) 诸如肺癌、肝癌等肿瘤以及各种病因造成肝肾功能不全者; (5) 有外伤史、手术史等, 且发生于入院前 3 个月者; (6) 经颅多普勒 (transcranial doppler, TCD) 微栓子检测栓子阳性者 (诸如卵圆孔未闭, patent foramen ovale, PFO) 或其他检查支持心源性导致的脑梗死可能性大者;

2. 研究方法

收集血清	所有受试者于清晨空腹收集静脉血 3~5 mL, 置于 EDTA 管中, 室温下自然凝固 30 min 后以 3 000 r/min 离心 15 min, 收集血清置于冻存管中, 以 -80 °C 保存。
收集临床数据	使用罗氏 DPP-H7600 全自动生化分析仪及配套的试剂盒测定三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、空腹血糖 (FBG)。
ELISA 法	采用双抗体夹心法测定血清 CXCL16 及 CD36 水平, 按照酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (上海西唐公司) 说明书进行操作

颈动脉彩色多普勒超声检查	采用飞利浦 IE33 型彩色多普勒超声诊断仪，探头频率 7~11 MHz，患者取平卧位，头偏向一侧，沿颈动脉走向，将探头自上而下进行连续的纵横切面扫描双侧颈总、颈内、颈外动脉，观察斑块形态及回声特点。
颈动脉粥样硬化斑块定义	内膜中层不连续性、不均匀性增厚并凸入管腔，边界光滑，病变厚度是邻近部位内-中层厚度的 1.5 倍或彩色多普勒显示血管腔某处彩色血流缺损，缺损处面积 $\geq 10 \text{ mm}^2$ 。

斑块分型方法	
I 型	内膜不光滑，回声 增强、增厚，局部轻微隆起为扁平斑。
II 型	斑块凸出管腔，回声 强弱不均，表面光滑连续为软斑。
III 型	斑块较大，基底较宽，表 面出现凹凸，边缘回声较低为溃疡斑。
IV 型	斑块高低不平，强 回声，后伴声影为硬斑。
将扁平斑、硬斑归为稳定斑块，软 斑、溃疡斑归为易损斑块。	

统计学方法(采用SPSS 17.0统计软件进行统计学处理)	
符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，	非正态分布的计量资料组间比较采用非参数检验。
多组间均数比较采用方差分析，	计数资料采用例 (%) 表示，组间比较用卡方检验。
组间多重比较用Bonferroni法；	
脑梗死相关影响因素分析用Logistic回归分析。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。	

3. 实验仪器、试剂

3.1 实验仪器

4℃冰箱	青岛海尔公司
-80℃冰箱	Thermo公司
酶标仪	芬兰Thermo公司Varioskon Flash全波长多功能酶标仪
离心机	莫尼亚机械设备
漩涡混匀器	XW-80A上海青浦沪西仪器厂
聚丙烯样品管	上海生工
枪头	上海生工
一次性吸管	上海西唐生物科技有限公司
移液枪	德国Eppendorf公司
DPP-H7600 全自动生化分析仪	石河子大学医学院第一附属医院检验科

3.2 实验试剂

人 CXCL16 试剂盒、人 CD36 试剂盒由上海西唐生物科技有限公司提供，保质期半年，置于 4℃ 冰箱保存。			
酶标板 (coated wells)	96 孔×4	终止液 (stop solution)	12ml×4
20×浓缩洗涤液 (wash buffer)	50ml×4	标准品 (8ug/L、1000ng/L)	4 瓶 (各 2 瓶)
10×标本稀释液 (sample buffer)	4 瓶 (12ml/瓶)	酶标抗体工作液	12ml×4 瓶
底物工作液	12ml×4 瓶	封板膜	4 张
第一抗体工作液	6ml×4 瓶	密封袋	4 个
说明书	2 份	酶标板	4 个

3.3 实验原理

应用采用双抗体夹心 (double-antibody sandwich) ELISA 法检测血清中 CXCL16 和 CD36 的含量。用抗人 CXCL16 或 CD36 单克隆抗体 (McAB) 包被于酶标板上，加入待测的样品，其中 CXCL16 或 CD36 与 McAB 特异性结合，往微孔板内加入生物素化的抗人 CXCL16 或抗人 CD36，在酶标板上形成免疫复合物。辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的链霉亲和素 (Streptavidin) 与生物素进行结合，经过充分洗涤后加入底物工作液后进行显色，CXCL16 或 CD36 在 HRP 的催化作用下转变成蓝色，最后加入终止液硫酸。经酶标仪设定波长为 450nm 检测微孔的吸光度 (OD) 值，CXCL16 或 CD36 浓度与 OD 值成正比，绘制标准曲线，然后运用标准曲线算出待检样品中 CXCL16 或 CD36 的含量。

3.4 实验步骤

(1)实验准备 将试剂盒和血清待测标本提前半小时从-80℃冰箱拿出，放置于室温条件，保证试剂盒与室温一致，同时使血清待测标本得到充分解冻。

(2)标准品液制备 使用前先将10×标本稀释液作1:10倍稀释(1份标本加入9份蒸馏水)。取8个1.5ml离心管，在第一管中加Sample Buffer 900ul+标准品溶液(即浓度为CXCL16:40ng/ml或CD36:80ng/ml)100ul，置于漩涡混合器上充分混匀后用加样器吸出500ul，移至第二管；依次操作直至最后一管，均匀混合后吸出500ul丢弃。

(3)加样 每个标准孔各加入标准品或待测样品 100ul (第八个空白孔除外)。尤其需要注意的是样本保证加入孔的底部，切勿触及孔的侧壁，充分混匀反应板后，置反应板于 37℃ 恒温水浴箱 40 分钟。

(4)洗板 将每孔反应溶液倒出，用注射器将洗涤液加入，确保半分钟后再将洗涤液倒出，如此循环5次后将反映板反扣于滤纸上，拍打印干。

(5)除外第八个空白孔每个孔分别滴入蒸馏水、第一抗体工作液各为50ul，为了反应充分进行，应将反应板充分混匀，之后放置于温度标定为37℃的恒温水浴箱20分钟。

(6)洗板 同(4)。

(7)每个孔准确地加入底物工作液100ul后，放置于温度标定为37℃的恒温水浴箱并且进行暗处处理，反应时间为15分钟。

(8)终止 每个孔准确地滴入100ul终止液，混匀后稍加等待，此时蓝色溶液变为黄色。

(9)测定 以空白孔作为标准对照，通过酶标仪在450nm波长处测定吸光度（即OD值）。测量须在加入终止液后30分钟之内完成。

3.5 结果计算

根据 CXCL16 或 CD36 试剂盒中说明书，所有 OD 值减去空白值后再进一步计算。以 OD 值为纵坐标，以标准品 CXCL16 4000、2000、1000、500、250、125、62.5、0pg/ml, CD36 8000、4000、2000、1000、500、250、125、0pg/ml 为横坐标绘制标准曲线。由拟合曲线公式得出所测样本 OD 对应样本 CXCL16 或 CD36 浓度。

3.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 进行统计学数据处理。	
计量资料	以均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间均数的比较，采用单因素方差分析，方差不齐者行秩和检验；
计数资料	以率 (%) 表示，行 χ^2 检验；
相关分析	以所有被调查的变量作为相关变量，以脑梗死为因变量作 Logistic 回归分析，进行脑梗死危险因素分析；
设 $\alpha=0.05$ 为检验水准，以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。	

结 果

(Results)

1. 临床基本数据（见表 1）。

对照组、斑块组和脑梗组的糖尿病和高血压比例呈逐渐增加趋势
斑块组和脑梗组高于对照组的 BMI、TG、TC、LDL-C、FBG 水平
斑块组和脑梗组的 HDL-C 水平低于对照组
脑梗组的 TG、TC、LDL-C、FBG 水平高于斑块组
脑梗组的 BMI、HDL-C 水平低于斑块组

Tab.1 Comparison of BMI and other clinical data between three groups

表 1 各组糖尿病、高血压、BMI 及生化指标比较 ($n=50$, $\bar{x}\pm s$)

组别	年龄 (岁)	男 [例(%)]	吸烟 [例(%)]	糖尿病 [例(%)]	高血压 [例(%)]	BMI (kg/m^2)
对照组	59.52±10.96	23(46)	12(24)	7 (14)	19 (38)	23.94±2.88
斑块组	63.68±12.10	26(52)	12(24)	8 (16) ^a	32 (64) ^a	25.51±3.81 ^a
脑梗组	62.80±13.00	32(64)	17(34)	21 (42) ^{ab}	33 (66) ^{ab}	25.50±3.96 ^{ab}
F 或 χ^2	1.656	3.382	1.678	13.37 ^{**}	9.903 ^{**}	3.158 [*]

组别	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	FBG (mmol/L)
对照组	3.99±0.68	1.36±0.50	2.40±0.78	1.08±0.36	4.84±0.63
斑块组	4.39±0.85 ^a	1.70±0.52 ^a	3.08±0.79 ^a	0.96±0.26 ^a	5.39±1.32 ^a
脑梗组	4.86±0.95 ^{ab}	1.91±0.54 ^{ab}	3.58±0.83 ^{ab}	0.84±0.36 ^{ab}	7.74±2.41 ^{ab}
F 或 χ^2	13.735 ^{**}	14.514 ^{**}	27.258 ^{**}	6.281 ^{**}	44.715 ^{**}

* $P<0.05$, ** $P<0.01$; ^a 与对照组比较, ^b 与斑块组比较, $P<0.05$; 表 2 同

2. 各组 CD36、CXCL16 水平比较 对照组、斑块组及脑梗组的 CXCL16 和 CD36 水平均呈依次升高趋势 ($P<0.05$), 见表 2。

Tab. 2 Comparison of serum CXCL16 and CD36 concentrations between three groups

表 2 各组血清 CD36 与 CXCL16 水平比较 ($\mu\text{g}/\text{L}$, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	CD36	CXCL16
对照组	50	3.62±0.91	1.85±0.40
斑块组	50	4.49±0.88 ^a	2.30±0.45 ^a
脑梗组	50	5.40±0.96 ^{ab}	2.84±0.65 ^{ab}

F

47.611**

45.782**

3. 脑梗死影响因素分析 以斑块组是否发生脑梗死（是=1，否=0）为因变量，以 BMI、TG、TC、LDL-C、HDL-C、FBG、CXCL16、CD36 为自变量，进行多因素 Logistic 回归分析，结果显示，高 TG、LDL-C、FBG、CXCL16 及 CD36 是颈动脉粥样硬化易损斑块发生 LAA 性脑梗死发生的危险因素，见表 3。

Tab.3 Results of Logistic regression analysis for factors related cerebral infarction

表 3 脑梗死影响因素的 Logistic 回归分析结果

项目	<i>B</i>	<i>SE</i>	<i>Waldχ²</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>95%CI</i>
BMI (kg/m ²)	-0.073	0.081	0.798	0.372	0.930	0.793~1.091
TG (mmol/L)	1.516	0.705	4.620	0.032	4.555	1.143~8.149
TC (mmol/L)	-0.115	0.466	0.061	0.804	0.891	0.358~2.219
LDL-C (mmol/L)	1.376	0.563	5.977	0.014	3.959	1.314~11.928
HDL-C (mmol/L)	-0.351	0.869	0.163	0.686	0.704	0.128~3.865
FBG (mmol/L)	1.256	0.297	17.866	<0.001	3.513	1.962~6.290
CXCL16 (μg/L)	1.029	0.407	6.405	0.011	2.799	1.261~6.210
CD36 (μg/L)	1.097	0.400	7.531	0.006	2.996	1.368~6.559

讨论

(Discussion)

2013 年由美国心脏病学会 (American College of Cardiology, ACC) 和美国心脏协会 (American Heart Association, AHA) 特别小组发布的实践指南报告中就动脉粥样硬化性心血管疾病 (Atherosclerotic Cardiovascular Disease, ASCVD) 给予了明确的定义。ASCVD 定义包括: 冠状动脉粥样性心脏病 (coronary heart disease, CHD)、卒中 (stroke)、周围动脉疾病 (peripheral arterial disease, PAD) 以及所以假定为动脉粥样硬化起源的疾病 (presumed atherosclerotic origin, PAO) [21]。

ASCVD 的本质是炎症性疾病, 其特点包括脂质代谢异常和炎症反应 [1]。日益显著的是, 炎症在 CVD 的发生发展中起到了主要作用, 但是已知的危险因素却不能充分地解释它的进展。因此, 通过新型生化标记物的使用来对动脉粥样硬化进行评估和对心血管风险预测这一手段受到了越来越多的关注。AS 中的很多阶段都涉及到细胞因子和趋化因子。包括白介素-1(interleukin-1, IL-1), 白介素-2(interleukin-2, IL-2), 白介素-6(interleukin-6, IL-6), 肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor, TNF- α), 干扰素和单核细胞趋化蛋白(monocyte chemo-attractant protein-1, MCP-1)。在 AS 早期阶段, 针对内皮细胞 (endothelial cells, ECs) 损伤的响应, 激活的免疫细胞 (比如巨噬细胞) 会以旁分泌的形式释放一些初级信号分子。趋化因子的释放会吸引巨噬细胞和血小板, 而促炎细胞因子会诱导免疫细胞和平滑肌细胞的增生和分化。最终, 充分升高的细胞因子可能导致系统效应, 如果我们进行血清学检测, 诸如 C 反应蛋白和血清淀粉样蛋白 A (serum amyloid A protein, SAA) [22]等血清炎症性生物标记物能够被检出。

由于炎症作用易损斑块会出现破裂继而促进斑块附近血栓形成, 这时血管闭塞等急性缺血事件的概率会大大增加 [5]。炎症是易损斑块的一个重要特点, 而分类中易于破损型的炎症特点更为突出 [6]。这一点在病理学上有循证医学证据支持, 该研究中发现现在已经破裂的斑块中含有许多炎症相关细胞 [7]。进一步研究提示, 动脉粥样硬化病损中且在炎症发生早期被确定的细胞类型为单核细胞和巨噬细胞。在动脉粥样硬化的发生发展中粘附分子、趋化因子和清道夫受体发挥了举足轻重的作用, 而它们都与巨噬细胞有些千丝万缕的联系 [8]。

CD36 是一个 B 族清道夫受体家族成员, 分子量为 88-kDa, 其在单核巨噬细胞、脂肪细胞、内皮细胞等众多细胞的表面都会表达一种单链跨膜糖蛋白 [9]。CD36 作为细胞信号分子在促 AS 中即泡沫细胞 (foam cell, FC) 形成、炎症介质的释放、巨噬细胞的俘获 (trapping of the M Φ) 和血栓形成 (formation of the thrombus) 中发挥到了极其重要的作用。其作用机制为: 巨噬细胞通过 CD36 结合 ox-LDL 并使之内在化。内在化的 ox-LDL 为过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 提供了特殊的氧化脂质配体, 并且上调 CD36 的表达, 被称之为 “eat me signal”。这个过程又会进一步促进 ox-LDL 的摄取。CD36 和 ox-LDL 之间的相互作用

同时可以诱导具备招募免疫细胞迁入内皮下作用的细胞因子的旁分泌,由 FC 引起的动脉慢性炎症又会导致动脉管腔狭窄进而发生 ASCVD 事件^[10]。一些研究已经发现,血清 CD36 在细胞凋亡时以微小颗粒的形式释放入血液中,其起源为单核巨噬细胞、血小板等细胞表面表达的 CD36 单链糖蛋白的胞外域。近来一些研究发现,胰岛素抵抗与血清 CD36 水平之间呈现正相关联系,其解释为 CD36 可能是巨噬细胞激活,尤其是脂肪细胞表面的 CD36 的激活,促进其与胰岛素发生拮抗^[11]。Handberg 等^[12]的研究发现血清 CD36 水平在颈动脉粥样硬化斑块患者较对照组高,推测其水平与斑块的易损性之间有相互关联。

本研究结果发现,脑梗组、斑块组血清 CD36 水平均较对照组增加,脑梗组血清 CD36 水平较斑块组增加,说明脑梗死患者外周血中 CD36 的凋亡释放增加。Littlewood 等^[13]的研究认为 FC 凋亡与斑块易损性、血栓形成继而发展为急性 ASCVD 事件有关,同时猜想载脂的 MΦ 的凋亡可能是血清中 CD36 升高的一个原因。

趋化因子(chemokines)是细胞因子家族中最大的一类小分子(8-12kDa)分泌蛋白^[23]。根据多肽链半胱氨酸残基氨基末端位置分为四类标准亚族,包括 C, CC, CXC 和 CX3C^[24]。所有趋化因子的特征就是对细胞发挥趋化效应,相比之下 IL-10 或 IL-12 这样的细胞因子却没有介导细胞吸引的功能。最近发现一类细胞因子具备一些类趋化功能^[25]。然而,这些细胞因子却不能归为半胱氨酸亚族的一类,因为他们不包含特殊的半胱氨酸残基氨基末端。而且,这些细胞因子被分为新的第五类亚族,称作类趋化功能的趋化因子。趋化因子的受体称作趋化因子受体,是一类 G 蛋白耦联蛋白。然而,也有非 G 蛋白、不典型的趋化因子受体被描述。这些受体的主要功能是作为趋化因子的清道夫受体^[26]。趋化因子及其受体广泛表达和显著存在于内皮细胞(endothelial cells,ECs)、平滑肌细胞(smooth muscle cells,SMCs)和白细胞上,这些细胞都在 AS 中起到了重要作用^[27]。因此,趋化因子在 AS 中的所有阶段都有着举足轻重的作用。

CXC 趋化因子配体 16 是 CXC 家族的趋化因子,同时也是细胞表面受体,因此 CXCL16 是一个十分特别的趋化因子。在人类,CXCL16 基因位于第 17 号染色体长臂 13 位点,与其他已知的趋化因子相比,CXCL16 却位于单独的位点^[28]。CXCL16 最初是磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine)和低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein,LDL)的清道夫受体,因此把它命名为 SR-PSOX^[29]。同年 CXCL16 作为 CXC 趋化因子受体 CXCR6 的配体被发现^[28]。CXCL16 也是目前已知锚定在膜上的两个趋化因子之一,另外一个便是 CX3CL1/Fractalkine。人类 CXCL16 膜形式是由 254 个氨基酸组成,大小为 30kDa 的 I 型跨膜糖蛋白,包含一个细胞外具备趋化因子功能的氨基末端区域、类似茎秆状的糖基化粘蛋白成分、跨膜区域、细胞质区域(拥有一个 YXPV 图案便是一个潜在的磷酸化酪氨酸和 SH2 蛋白结合位点)。人类和鼠科动物 CXCL16 也是不同寻常的,因为其包含有 6 个丝氨酸在趋化因子区域,这个特点之前旨在 CC 家族观察到^[30]。CXCL16 由细胞内前体经过糖基化合成并快速准送至细胞表面,在那里,CXCL16 将进行依赖金属蛋白酶(metalloproteinase)的清除^[31]。胞外域释放是由

两个解整合素-金属蛋白酶（ADAM10 和 ADAM17/TACE）的 α 分泌酶活性所调控^[32]。ADAM10 介导基本的和可诱导的 CXCL16 清除^[31,33,34]。而 ADAM17 看起来仅仅包含在 CXCL16 可诱导类型的脱落^[35]。由 ADAM10 介导的清除会产生羧基末端 CXCL16 片段，之后又由 γ 分泌酶所裂解。就像其他蛋白质进行受控膜内蛋白质水解（regulated intramembrane proteolysis, RIP）一样裂解可能会产生诸如 Notch 和 CD74 这样的细胞内信号介质^[32,36-38]。通过 γ 分泌酶抑制剂靶向治疗，可能会影响 CXCL16 包内域进行 RIP 的过程。另外，另外一个 CXCL16 的剪接形式在鼠科动物树突状细胞被发现，其编码分泌型 CXCL16 间接形式，对于表达 CXCR6 细胞而言，CXCL16 间接形式是一个趋化物^[39]。

CXCL16 是由 Shimaoka 等^[14-15]找到的一种新型趋化因子。此外 CXCL16 也是 AS 损伤部位由干扰素- γ （interferon γ , IFN- γ ）调节 ox-LDL 内吞的唯一一个 G 族清道夫受体家族成员^[3]。目前研究提示 CXCL16 在 AS 中的作用为：（1）诱导炎性细胞迁入内皮下、脂质内吞方面，兼备趋化因子及清道夫受体作用的 CXCL16 发挥了桥梁作用。（2）CXCL16 作为黏附分子在血管的细胞黏附、增殖和迁移中发挥了作用^[8]。另外，该研究认为，细胞黏附和迁移是最初血管源性细胞迁入损伤内皮下的前提条件，细胞增殖对于诱发 AS 斑块易损性也发挥了作用^[8]。因此，CXCL16 可能参与了 AS 的动态演变过程。本研究结果显示，脑梗组与斑块组的血清 CXCL16 水平均高于对照组，并且脑梗组血清 CXCL16 水平高于斑块组，与相关研究结果接近^[16]；而 Izquierdo 等^[4]认为 CXCL16 在 ASCVD 的作用是有争议的，CXCL16 可能存在有拮抗 AS 的作用，同时也可能会诱发斑块的易损性，其猜想可能与 CXCL16 具备多向性功能相关。因此，CXCL16 可能有提高斑块易损性的作用，同时在 ASCVD 中的作用仍需考证。Wong 等^[17]认为，趋化因子可通过激活整合素促进 CD36 由凋亡细胞中释放，本研究中对对照组、斑块组及脑梗组 CXCL16 和 CD36 水平均呈依次升高趋势的结果，笔者认为尽管 CXCL16 在结构上与其他清道夫受体没有同源性，且是 G 族清道夫受体中的唯一成员^[3]，但 CXCL16 和 CD36 在 AS 中可能存在相同路径。

然而，归因于 CXCL16 的致动脉硬化作用和抗动脉粥样硬化作用在试验中都被观察到，CXCL16 在动脉粥样硬化中的确切作用尚不明确。虽然如此，这些矛盾的发现被认为是 CXCL16 的膜蛋白和可溶性形式的不同生物作用导致的。鉴于膜蛋白形式的 CXCL16 可以介导 ox-LDL 的摄取和清除，这使得 CXCL16 起到抗动脉粥样硬化的作用。实际上，可溶性 CXCL16 可以反应上行炎症通路（诸如 TNF- α 、IL-1 β 和 INF- γ ）程度，在这个过程中又促进了 CXCL16 从膜蛋白结合形式裂解为可溶性形式。而可溶性 CXCL16 的作用却是诱发外周血中血管平滑肌细胞和单核细胞的炎症反应，这些炎症反应可能潜在地导致基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase, MMP）活性的增强以及动脉粥样硬化斑块的易损性。这与我们的实验结果相吻合。这使得 CXCL16 可能会成为一个反应动脉粥样硬化疾病的可靠的生物学标记物^[3]。

目前，临床工作中以 CD36 为靶点的治疗 AS 的他汀类药物主要有阿托伐他汀、

匹伐他汀以及辛伐他汀等^[18]。其作用机理可能为通过 calpain-1/PPAR γ /CD36 通路抑制泡沫细胞中 ox-LDL 的蓄积，以此达到抗动脉粥样硬化的作用。其中钙蛋白酶-1(calpain-1)是一类 Ca²⁺依赖性的半胱氨酸蛋白酶，在动脉粥样硬化的发生发展中起到了作用^[40]。Calpain 诱导单核细胞/巨噬细胞中的 ATP 结合盒转运蛋白 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 和 ABCG1 的蛋白质降解，随后引起胆固醇流出受损及之后泡沫细胞的形成^[41]。在 LDL 受体缺失小鼠中，通过抑制 calpain 达到了抑制动脉粥样硬化的作用^[42]。Calpain-1 和 calpain-2 是 calpain 家族中主要的两种亚型^[43]。Calpains 通过激活 NF- κ B 参与到了急性炎症过程^[44]。尤其是 calpain-1 而不是 calpain-2 的蛋白质表达显示出与 TNF- α 、IL-6 和 PPAR γ 的 mRNA 表达呈现正相关^[45]，由此推断出 calpain-1 在炎症以及 PPAR γ 的 mRNA 表达上有潜在地调控作用。这使得 calpain 成为动脉粥样硬化中的分子靶点。PPAR- γ 是一组核受体蛋白，作为转录因子其作用为调控基因表达。PPAR- γ 在细胞分化、发育、代谢和高级生物体的肿瘤形成等过程起到了非常重要的调控作用^[46]。

但目前即便有他汀类药物的加持，临床上对于 LDL 的控制仍旧不太乐观。笔者认为，若有药物可以同时下调 CD36 和 CXCL16 的水平，清道夫受体的细胞表面表达就有可能也发生下调趋势，进而巨噬细胞可能会下调内吞 ox-LDL 的进程，继而对拮抗 AS 可能更加有作用。此外，本研究多因素 Logistic 回归分析显示，除 TG、LDL-C、FBG 传统影响因素外，CD36 及 CXCL16 水平也是 LAA 性脑梗死合并颈动脉粥样硬化易损斑块的独立危险因素，提示血清 CD36、CXCL16 水平提高可能会作为颈动脉粥样硬化斑块易损性及 ASCVD 事件发生的一个血清学标志物。期望同时以 CD36 和 CXCL16 为靶点的药物早日上市。

综上所述，CD36 和 CXCL16 水平的升高，可能加重 AS 斑块的易损性，继而使患者发生血管终点事件。临床在常规检测患者血脂谱的同时，进行 CXCL16 和 CD36 水平的检测有助于了解高危人群动脉粥样硬化易损斑块的易损性。

与此同时，此次研究并存很多局限性；第一：从我们观察、检测出来的数据并不能直接推断出 CXCL16 在动脉粥样硬化，甚至大动脉粥样硬化性脑梗死中的确切作用，尽管在多因素回归分析中，我们纳入了很多潜在的变量，但我们不能排除剩下变量以及未检测的变量（诸如动脉粥样硬化过程中的炎症因子以及目前的药物治疗）的可能；第二：此次研究总样本量为 150 例，属于小样本研究，如果想要得到更令人信服的结果需要扩大样本量；第三：三组样本都贮存于-80 $^{\circ}$ C 条件下，但任何变化在相同的贮存条件下各组样本都会有系统性差异看起来是不可能的，我们不能排除血清 CXCL16 和 CD36 在检测前会有改变；第四：即便样本在纳入过程中已经将诸如急性感染、外伤和自身免疫性疾病等排除在外，一些潜在发生的炎症过程可能会干扰实验结果；第五：对于 CXCL16 和 CD36 的检测只是在入院中检测，但并没有进行随访观察 CXCL16 和 CD36 的动态演变过程；第六：入院前的心血管治疗，诸如抗血小板聚集药物阿司匹林等、抗凝药物华法林等可能都会对实验结果产生影响。

结论

(Conclusion)

通过对体检者 50 例、动脉粥样硬化易损斑块患者 50 例和动脉粥样硬化易损斑块合并脑梗死患者 50 例使用 ELISA 方法检测血清 CXCL16 和 CD36 的含量，可以得出以下两点结论：

- (1) 血清 CXCL16、CD36 水平可能作为颈动脉 AS 易损斑块的生物学标志物；
- (2) 血清 CXCL16、CD36 水平可能有助于预测 LAA 性脑梗死的发生、进展及预后；
- (3) 通过研制以 CXCL16、CD36 为靶向的药物将会有助于抗动脉粥样硬化的药物治疗。

参考文献

(Reference)

- [1]Viola J,Soehnlein O.Atherosclerosis-A matter of unresolved inflammation[J].Semin Immunol,2015,27(3):184-193.
- [2]Zheng H,Cui D,Quan X,et al.Lp-PLA2 silencing protects against ox-LDL-induced oxidative stress and cell apoptosis via Akt/mTOR signaling pathway in human T HP1 macrophages.[J].Biochem Biophys Res Commun,2016,477(4):1017-1023.
- [3]Laugsand LE,Åsvold BO,Vatten LJ,et al.Soluble CXCL16 and risk of myocardial infarction:The HUNT study in Norway[J].Atherosclerosis,2016,244:188-194.
- [4]Izquierdo MC,Martin-Cleary C,Fernandez-Fernandez B,et al.CXCL16 in kidney and cardiovascular injury[J].Cytokine Growth Factor Rev,2014,25(3):317-325.
- [5]孟祥娟,许静,程爱娟,等.急性冠脉综合征患者血清高迁移率族蛋白 B1 的表达及阿托伐他汀干预治疗的影响[J].天津医药,2016,44(4):497-500.
- [6]Aluganti Narasimhulu C,Fernandez-Ruiz I,Selvarajan K,et al.Atherosclerosis-do we know enough already to prevent it?[J].Curr Opin Pharmacol,2016,27:92-102.
- [7]Duivenvoorden R,Mani V,Woodward M,et al.Relationship of serum inflammatory biomarkers with plaque inflammation assessed by FDG PET/CT:the dal-PLAQUE study[J].JACC Cardiovasc Imaging,2013,6(10):1087-1094.
- [8]Sheikine Y,Sirsjo A.CXCL16/SR-PSOX-A friend or a foe in atherosclerosis?[J].Atherosclerosis,2008,197(2):487-495.
- [9]Febbraio M,Hajjar DP,Silverstein RL.CD36:a class B scavenger receptor involved in angiogenesis,atherosclerosis,inflammation and lipid metabolism[J].J Clin Invest,2001,108:785-791.
- [10]Park YM. CD36,a scavenger receptor implicated in atherosclerosis[J].Exp Mol Med,2014,46:e99.
- [11]Rać M,Krzystolik A,Rać M,et al.Is plasma-soluble CD36 associated with density of atheromatous plaque and ankle-brachial index in early-onset coronary artery disease patients?[J].Kardiol Pol,2016,74(6):570-575.
- [12]Handberg A,Skjelland M,Michelsen AE,et al.Soluble CD36 in plasma is increased in patients with symptomatic atherosclerotic carotid plaques and is related to plaque instability[J].Stroke,2008,39(11):3092-3095.
- [13]Littlewood TD,Bennett MR.Apoptotic cell death in atherosclerosis[J].Curr Opin Lipidol,2003,14:469-475.
- [14]Shimaoka T,Kume N,Minami M,et al.Molecular cloning of a novel scavenger receptor for oxidized low density lipoprotein,SR-PSOX,on macrophages[J].J Biol

- Chem,2000,275(52):40663-40666.
- [15]Matloubian M,David A,Engel S, et al.A transmembrane CXC chemokine is a ligand for HIV-coreceptor Bonzo[J].Nat Immun,2000,1(4):298-304.
- [16]Ma A,Pan X,Xing Y,et al.Elevation of serum CXCL16 level correlates well with atherosclerotic ischemic stroke[J].Arch Med Sci,2014,10(1):47-52.
- [17]Wong HS,Jaumouillé V,Freeman SA,et al.Chemokine signaling enhances CD36 responsiveness toward oxidized low-density lipoproteins and accelerates foam cell formation[J].Cell Rep,2016,14(12):2859-2871.
- [18]靳文英, 陈红.CD36 与动脉粥样硬化[J].中国动脉硬化杂志,2010,18(7):582-585.
- [19]Santovito D,Egea V,Weber C.Small but smart:MicroRNAs orchestrate atherosclerosis development and progression[J].Biochim Biophys Acta,2016,1861(12 Pt B):2075-2086.
- [20]Poredos P. Markers of preclinical atherosclerosis and their clinical relevance[J].Open Atheroscl Thromb J,2011,4:1-10.
- [21]Stone NJ,Robinson JG,Lichtenstein AH.2013ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults:a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines[J].Circulation,2014,129(25 Suppl 2):S1-45.
- [22]McEneny J,McKavanagh P,York E.Serum- and HDL3-serum amyloid A and HDL3-LCAT activity are influenced by increased CVD-burden[J].Atherosclerosis.2016, 244:172-178.
- [23]Blanchet X,Langer M,Weber C,Koenen RR,et al.Touch of chemokines[J].Front Immunol,2012,3:175.
- [24]Rajagopalan L,Rajaratnam K.Structural basis of chemokine receptor function—a model for binding affinity and ligand selectivity[J].Biosci Rep,2006,26(5):325-339.
- [25]Asare Y,Schmitt M,Bernhagen J.The vascular biology of macrophage migration inhibitory factor (MIF).Expression and effects in inflammation, atherogenesis and angiogenesis[J].Thromb Haemost,2013,109:391-398.
- [26]Bachelier F,Ben-Baruch A,Burkhardt AM,Combadiere C,Farber JM,Graham GJ,Horuk R, Sparre-Ulrich AH, Locati M, Luster AD et al.International Union of Basic and Clinical Pharmacology. [corrected]. LXXXIX. Update on the extended family of chemokine receptors and introducing a new nomenclature for atypical chemokine receptors[J].Pharmacol Rev,2014,66:1-79.
- [27]Zernecke A,Weber C.Chemokines in atherosclerosis: proceedings resumed[J].Arterioscler Thromb Vasc Biol,2014,34:742-750.
- [28]Matloubian M, David A, Engel S,et al.A transmembrane CXC chemokine is a ligand for HIV-coreceptor Bonzo[J].Nat Immunol,2000,1:298-304.

- [29]Shimaoka T, Kume N, Minami M, Hayashida K, Kataoka H, Kita T, et al. Molecular cloning of a novel scavenger receptor for oxidized low density lipoprotein, SR-PSOX, on macrophages[J]. *J Biol Chem*,2000,275:40663–66.
- [30]Pan Y, Lloyd C, Zhou H, et al. Neurotactin, a membrane-anchored chemokine upregulated in brain inflammation[J]. *Nature*,1997,387:611–617.
- [31]Gough PJ, Garton KJ, Wille PT, et al. A disintegrin and metalloproteinase 10-mediated cleavage and shedding regulates the cell surface expression of CXC chemokine ligand 16[J]. *J Immunol*,2004,172:3678–85.
- [32]Schulte A, Schulz B, Andrzejewski MG, et al. Sequential processing of the transmembrane chemokines CX3CL1 and CXCL16 by alpha- and gamma-secretases[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2007,358:233–40.
- [33]Abel S, Hundhausen C, Mentlein R, et al. The transmembrane CXC-chemokine ligand 16 is induced by IFN-gamma and TNF-alpha and shed by the activity of the disintegrin-like metalloproteinase ADAM10[J]. *J Immunol*,2004,172:6362–72.
- [34]Hundhausen C, Schulte A, Schulz B, et al. Regulated shedding of transmembrane chemokines by the disintegrin and metalloproteinase 10 facilitates detachment of adherent leukocytes[J]. *J Immunol*,2007,178:8064–72.
- [35]Ludwig A, Schulte A, Schnack C, Hundhausen C, Reiss K, Brodway N, et al. Enhanced expression and shedding of the transmembrane chemokine CXCL16 by reactive astrocytes and glioma cells[J]. *J Neurochem*,2005,93:1293–303.
- [36]Ludwig A, Weber C. Transmembrane chemokines: versatile ‘special agents’ in vascular inflammation[J]. *Thromb Haemost*,2007,97:694–703.
- [37]Sanchez-Nino MD, Sanz AB, Ruiz-Andres O, et al. MIF, CD74 and other partners in kidney disease: tales of a promiscuous couple[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*,2013,24:23–40.
- [38]van de V, Verweij V, de Witte TM, et al. An alternatively spliced CXCL16 isoform expressed by dendritic cells is a secreted chemoattractant for CXCR6+ cells[J]. *J Leukoc Biol*,2010,87(6):1029-1039.
- [39]Kim AS, Johnston SC. Global variation in the relative burden of stroke and ischemic heart disease[J]. *Circulation*,2011,124(3):314-23.
- [40]Baldi S, Innocenti M, Frascerra S, et al. Effects of hemodialysis and vitamin E supplementation on low-density lipoprotein oxidizability in end-stage renal failure[J]. *J. Nephrol*,2013,26(3): 549-555.
- [41]Tanaka N, Abe-Dohmae S, Iwamoto N, et al. Helical apolipoproteins of high-density lipoprotein enhance phagocytosis by stabilizing ATP-binding cassette transporter A7[J]. *J Lipid Res*,2010,51(9):2591-2599.

- [42]Devaraj S, Tang R, Adams-Huet B, et al.Effect of high-dose alpha-tocopherol supplementation on biomarkers of oxidative stress and inflammation and carotid atherosclerosis in patients with coronary artery disease[J].Am. J. Clin. Nutr,2007,86(5):1392-1398.
- [43]Shanahan CM,Crouthamel MH.,Kapustin A,et al.Arterial calcification in chronic kidney disease:key roles for calcium and phosphate[J].Circ. Res,2011,109(6):697-711.
- [44]O'Neill WC, Lomashvili KA, Malluche HH, et al.Treatment with pyrophosphate inhibits uremic vascular calcification[J].Kidney Int,2011,79(5):512-517.
- [45]Villa-Bellosta R,Sorribas V.Calcium phosphate deposition with normal phosphate concentration. -Role of pyrophosphate[J].Circ J,2011,75(11):2705-2710.
- [46]Michalik L, Auwerx J, Berger JP, et al.International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors[J].Pharmacol Rev,2006,58:726-741.

文献综述

(Literature Review)

CXCL16、CD36 与动脉粥样硬化性脑梗死的相关性研究

摘要 脑卒中 (stroke) 业已成为缺血性心脏病 (ischemic heart disease, IHD) 之后第二大 60 岁以上世界人口致死的疾病, 其中缺血性卒中 (ischemic stroke) 由动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 易损斑块 (vulnerable plaque, VP) 所致的患者比例达到了 1/3, 清道夫受体 (scavenger receptor, SR) 在在泡沫细胞 (foam cell) 的形成、动脉斑块 (arterial plaque, AP) 的塑造、AS 进一步发展, 包括斑块内出血 (intraplaque hemorrhage)、破裂 (rupture) 及溃疡 (ulcer) 中均发挥十分重要的作用。

关键词 动脉粥样硬化; CXCL16; CD36; 缺血性脑卒中; 颈动脉易损斑块

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是脑血管病 (cerebral vascular disease, CVD) 的一个极为重要的病因^[1]。伴随着我国国民日常生活水平的改善, AS 性脑血管病 (ASCVD) 的患病率、致残率以及病死率呈逐年快速增长趋势, 我国人民的健康已经面临巨大威胁。CXCL16 和 CD36 在 AS 的发生发展中起到了关键作用, 尤其在 ox-LDL (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 的异常清除和巨噬细胞 (macrophage, MΦ) 至泡沫细胞 (foam cell, FC) 转型中扮演着至关重要的角色。因此, 系统地、深入地了解 CXCL16、CD36 与 AS 的关系, 进而在临床工作中针对 ASCVD 的早期干预与治疗提供了可参考的帮助。

目前缺血型脑卒中约占整体脑卒中发病人数的 75%-80%, 其中 25%-35% 可能与颈动脉 AP 的易损性增强所致。影响斑块进展和斑块易损性增强的相关因素诸多, 但慢性炎性病变为特点的 AS 进程中, 炎性标志物的作用不可小觑, 其特点为可以直接参与 AS 斑块的塑造, 还间接地促进斑块易损性, 进而斑块破裂出血导致急性临床事件发生。Zlotnik 等^[2]的研究显示趋化因子 (chemokine factor) 及细胞因子 (cytokine) 在脑卒中 (stroke)、一过性黑蒙 (amaurosis fugax)、颈动脉狭窄 (carotid stenosis) 及短暂性脑缺血发作 (transient ischemic attack, TIA) 发病过程中均具有重要的意义, 以颈动脉易损斑块为出发点, 对 AS 的发生发展的机制和预防治疗进行深入探讨, 或许对降低尤其是 LAA 性脑梗死的发作、复发及缓解起到一定的作用, 在此本文就趋化因子、清道夫受体以及细胞因子在颈动脉易损斑块中的作用予以说明。

1. 氧化修饰型的低密度脂蛋白 (oxidized modified LDL, ox-LDL)

ox-LDL 作为一种胆固醇脂蛋白, 在 AS 发生、进展中具有关键作用, 其不同于 LDL, ox-LDL 拥有摧毁血管内皮细胞防线的作用, 同时也可以使得循环血液中的单核细胞与内皮细胞进行粘合^[3], 这便触发了炎症反应, 与此同时泡沫细胞 (foam cell) 的大量形成, 使得斑块易损性明显增强。另外还会刺激内皮细胞 (endothelial cell)、单核细胞 (monocyte) 以及金属基质蛋白酶 (metalloproteinase, MMPs) 的表达^[4]。此外, ox-LDL 还与细胞凋亡

(apoptosis)相关。而 ox-LDL 的活性是通过清道夫受体来调控的,包括 A 族清道夫受体, B 族 I 型清道夫受体, CD36 和 LOX-1 等。在正常的 LDL 向 ox-LDL 进行转换的过程中,活性氧族(reactive oxygen species,ROS)诸如过氧化物、超氧化物、羟基、单线态氧等起到了氧化的作用。血管壁上的几乎所有细胞,包括内皮细胞,血管平滑肌细胞和外膜细胞等都具备产生 ROS 的能力。之前有研究发现,在整个 AS 进展中,ROS 和 ox-LDL 产物的含量是不断增高的。而经典的氧化应激学说便是基于 ROS 的产生。而氧化应激通常不是氧化物系统增强,就是抗氧化物系统削弱的结果。而 ROS 的释放增加同时也会激活血小板活性,这与血栓形成密切相关。

2 趋化因子 CXCL16

2.1 CXCL16的分子结构

趋化因子(chemokines)的分子量很小(8-14kDa),特点为家族成员结构大多相仿,介导白细胞及其他类型细胞的转运(cell trafficking)是其主要的功能特点,G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors)在这个过程中是必不可少的。就像之前所说的,趋化因子家族成员的结构大多相仿,只要2个氨基末端半胱氨酸残的位置发生变化,趋化因子就可以划分为四大亚族,它们分别为C、CC、CXC、CX3C^[5]。

CXCL16是CXC趋化因子亚族中的一个成员,但不像这个亚族中的其他成员,CXCL16的结构却是不同的。它有4个不同的结构域:趋化因子结构域(chemokine domain)、粘蛋白样柄域(mucin-like stalk)、跨膜结构域(transmembrane domain)和细胞质域(cytoplasmic domain)^[6]。CX3C家族中的唯一成员fractalkine(CX3CL1)和CXCL16有一个类似的结构,当表达在细胞表面的时候都可以充当黏附分子的作用^[7]。而一旦从细胞表面断裂出来,可溶性趋化因子便可作为化学引诱物。CXCL16可以吸引表达有CXCR6的T细胞、NK细胞和NKT细胞至炎症或损伤部位。另外,CXCL16通过其趋化因子结构域,可以易化抗原呈递巨噬细胞(antigen presenting macrophages)对于G⁺和G⁻细菌的吞噬效应。磷脂酰丝氨酸和氧化脂蛋白作为CXCL16的配体,进而CXCL16发挥清道夫受体的作用,所以CXCL16也被称作SR-PSOX。因此可以说,CXCL16具有清道夫受体、黏附分子及趋化因子的作用^[8]。尤其注意的是CXCR6(或者称之为BONZO,STRL33, TYMSTR)是CXCL16独一无二的受体^[9]。

2.2 CXCL16的主要功能

2.2.1 趋化作用(chemotaxis):炎症几乎贯穿了AS所有过程。趋化因子在AS的早期阶段便参与其中。ADAM10和ADAM17是去整合素-金属蛋白酶(a disintegrin and a metalloprotease,ADAM)家族中的重要成员,参与众多细胞表面分子的胞外域向循环血液或细胞外基质中的脱落^[10]。不同于其他趋化因子家族成员,CX3CL1和CXCL16不仅可以以可溶性形式,而且也可以以膜结合的形式。这两个趋化因子胞外域可以从细胞表面以蛋白水解的形式裂开,这个过程称之为脱落(shedding)。而ADAM10而非ADAM17介导了CX3CL1和CXCL16最大比例的脱落^[11]。Zhuge等的发现显示出CXCL16在人类脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells,HUVEC)发挥了血管再生的作用。同时CXCL16还可以刺激HUVEC的增殖和趋化作用^[12]。

AS的一个公认的特性便是斑块中血管再生，这在冠状动脉粥样硬化斑块损伤处也被观察到。Mofidi等^[13]的研究提示在斑块血管供应、斑块内出血量以及有症状的颈动脉闭塞性疾病之间有着很强的联系。

2.2.2 黏附作用 (adhesion function)：循环血液中白细胞贴壁、黏附于内皮细胞以及随之迁移到内皮下，是AS的起始阶段，而整个黏附行为却有着至关重要的作用。Shimaoka和Nakayama等在2004年指出 CXCR6是CXCL16的独一无二的受体，当它与CXCL16结合后，表达有CXCR6的激活的T细胞和NK细胞便会趋化于特定部位^[14]。

白细胞招募至炎症位点需要一系列黏附事件，并且需要依赖于表达在血管内皮细胞和白细胞上的不同种类的黏附分子。然而选择素家族 (selectin family) 通常致力于血流下白细胞的翻滚，而整合素家族 (integrin family) 在建立稳定的抗剪切力 (shear-resistant) 的细胞黏附中起到了作用。而趋化因子则被认为是通过诱导L-选择素和增加白细胞表面的功能性整合素来调控细胞黏附。因此，除了在组织中扮演趋化诱导剂外，趋化因子可以促使从早期至晚期的白细胞募集的转换^[15]。因此，CXCL16扮演的黏附功能可能增加ASCVD的发生发展。

2.2.3 清道夫受体 (scavenger receptor)：ASCVD的一个重要环节便是巨噬细胞 (macrophage, m Φ) 经由细胞表面清道夫受体 (scavenger receptor, SR) 识别并纳入ox-LDL，成为满载脂质的m Φ ，进而形成FC。Kume等的研究发现，CXCL16能识别磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine) 及氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 同时介导受体的内吞，在多种细胞通路的作用下发生了一系列生物学效应，因而CXCL16又叫做SR-PSOX^[16]。CXCL16是G族清道夫受体家族的独一无二的成员，属于I型跨膜蛋白^[17]。CXCL16影响AS的途径之一便是发挥清道夫受体功能，介导m Φ 与ox-LDL结合。但是Moore等^[18]的研究表明，CXCL16可以使得非正常成分从血管壁清除，还能降解ox-LDL，起到拮抗AS进展的功能。这使得CXCL16变成既是AS的罪魁祸首也是AS的朋友。

IFN- γ (interferon- γ) 既表达于动脉粥样硬化损伤处又表达于实验模型中。众所周知，抑制修饰型LDL的内吞可以通过减少清道夫受体SR-A和CD36的表达。

由T细胞产生的IFN- γ (interferon- γ) 可以减少CXCL16细胞表面的清道夫受体表达进而减弱ox-LDL的摄入。但Willtge等^[19]的发现说明，起源于T细胞的细胞因子IFN- γ 可以增加CXCL16,反过来CXCL16又可以招募更多的T细胞，这对于动脉粥样硬化损伤出来说简直就是个恶性循环。

从这里可以看出，IFN- γ 与CXCL16有着密切的联系。

3 趋化因子CXCL16与ASCVD的关系

3.1 CXCL16基因

人类CXCL16基因定位于染色体17p13上，共有6283个BP (base pair)，含有5个外显子^[20]。Yi^[21]等于2008年的研究发现，急性冠脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 患者的血清CXCL16水平要明显高于稳定型心绞痛患者，这提示CXCL16与冠状动脉狭

窄的程度有着明确的联系。Lundberg等的研究发现，CXCL16与诸如急性心肌梗死、卒中等急性临床事件有着积极的相关性联系^[22]。

4 CXCL16与其他炎性因子

伴随着研究者对CXCL16的进一步认识，将CXCL16与其他炎性细胞因子进行同步研究的实验越来越多。临床上较公认的有C反应蛋白(C-reactive protein,CRP)^[23]。CRP是肝脏细胞产生，由m Φ 和各种粒细胞分泌的细胞因子，而且其在炎性反应急性期会升高。目前的临床工作中，已经将CRP作为常规检查，并通过和临床患者的疾病情况相结合来针对ASCVD的进展和预后进行判断。

5 CD36

5.1 CD36结构与功能

CD36是一条是由胞外域、胞质域和跨膜域3个结构域构成的单链跨膜糖蛋白：胞外域上存在众多与CD36配体（ligand）相结合的位点，然而不同配体同CD36结合后参与不同的细胞信号通路^[24]。同时CD36又表达于单核巨噬细胞系统、血小板和血管内皮细胞等众多细胞表面而发挥其B族清道夫受体家族成员的作用。人类CD36基因定位于7号染色体长臂q11.2上，由15个外显子基因所编码^[25]。CD36蛋白由471个氨基酸组成，其相对分子质量为88 000。CD36上与配体凝血酶敏感蛋白1(thrombospondin—1,TSP-1)的结合位置为93-110和15-185氨基酸^[26]，而氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein,ox-LDL)结合位点则位于28-93和155-183氨基酸^[42]。相对与胞外域而言，CD36的胞质域的结构却小的多，是各种细胞信号集中传导的结构域。

当CD36与配体结合后，可以下行激活多种细胞信号传导通路，包括活性氧族(reactive oxygen species,ROS)、核因子- κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)等^[27]。基于CD36可与多种多样的配体结合，有多种细胞信号传导通路，但最终反过来都可以调控CD36的表达。最为重要的一条通路便是过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ ,PPAR γ)，其被认为是调控CD36表达至关重要的因子，并且是众多的细胞信号传导的终极通路。当PPAR γ 因子被激活后与视黄醇X受体(retinoidX receptor,RXR)形成异二聚体复合体，进而作用于CD36启动子上的相对应的PPAR反应元件，上调CD36mRNA转录，最终CD36表达也会上调。而ox-LDL内吞后便是经由PPAR γ 这条通路增加CD36表达，进而更多的ox-LDL进入m Φ ，加剧FC的形成，这个过程被称之为“eat me signal”。相反，高密度脂蛋白(HDL)则通过令PPAR γ 磷酸化而达到抑制CD36表达的作用^[28]。

之前有研究发现，老年痴呆、疟疾等与清道夫受体CD36相关，其机制可能为CD36参与活化脑内的小胶质细胞。而血管内皮细胞表面的CD36则可以易化多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids,PUFA)进入m Φ ^[29]。

6 CD36与脑梗死危险因素关系

6.1 CD36与血栓形成

血小板糖蛋白CD36（糖蛋白IV，glycoprotein IV, GP IV）可以经由纯化的I型胶原（purified type I collagen）而加速血小板间的一系列反应。在血管内皮细胞层受损后，循环血液的血小板便可识别出内皮下的胶原成分。在血小板与内皮下成分接触后，血小板变处于激活状态，发生形态学的改变同时分泌颗粒成分。在这些事件中，针对血浆等的粘附蛋白以一种功能形式表达于细胞膜上。胶原是血管内皮下形成血栓最强的成分。然而1996年Diaz-Ricart等^[30]证明了作为IV型糖蛋白的CD36在血小板粘附的早期阶段扮演了重要的作用^[30]。

血脂紊乱不仅和氧化应激有关，而且还和活化了的氧化的脂质的产生相关。另外，血小板的反应性增强与血清中氧化脂质的蓄积有关。因此，脂质被氧化可能达到高脂血症和血小板反应性增高之间相关关联的作用。生物学氧化的磷脂可以起始、调控致动脉硬化的许多细胞学事件。而oxPC_{CD36}成为Podrez等在2007年发现的新型成员，它是通过多种通路在LDL的氧化过程中形成的，并且在活体的增强了的氧化应激位点存在。oxPC_{CD36}作为CD36的高度亲和力配体，易化了mΦ的泡沫化。而在敲除了CD36的小鼠动物模型中却提示CD36有抗AS的作用^[31]。

2008年Chen K等研究显示，当暴露于ox-LDL时，MAP激酶JNK2和其上流激活物MKK4会被磷酸化。同时通过apoe^{-/-}小鼠作为高脂血症模型显示JNK以一种CD36缺失的方式在血小板中激活性磷酸化。通过针对SRC激酶活性的抑制可以减少JNK被oxLDL磷酸化。免疫沉淀反应显示SRC激酶的活化了的磷酸化形式Fyn和Lyn当暴露于oxLDL时都被招募至CD36处。而在体外试验中，通过药理学对MAP激酶JNK或SRC家族激酶的抑制可以革除被oxLDL激活的血小板活性。同时通过使用鼠类颈动脉血栓模型，Chen K等也证实了在血栓形成过程中，血小板JNK的磷酸化是依赖CD36的^[32]。

CD36具备高度基因多态性这样的特性，这导致了其在人类血小板上表达的出人意料的大区间。究其缘由，人类CD36的基因扩展达到了309.7千碱基对。然而，在公认的20个CD36转录中，出现了一个只有77.13千碱基对这样的现象。归因于CD36在亚裔人群中研究颇多，大概有3%-8%的人缺失血小板CD36，所以这种缺失在日本被称作NaK^a阴性（NaK^{a-}）。大约90%NaK^{a-}的个体只在血小板上缺失CD36^[33]。由于CD36基因多态性，特殊的CD36多态性可能会影响血栓风险的高低。

6.2 CD36与动脉粥样硬化(AS)

AS是一种慢性炎症性进程。泡沫细胞（foam cell）是AS斑块中较其他组织细胞中比较特殊的类型^[34]，也是脂纹中的重要细胞组成成分。

Endemann G等^[35]通过使用表达克隆技术证实了CD36可以介导oxLDL而发挥mΦ上的清道夫受体。通过将CD36转染至293种细胞，结果都显示出其与oxLDL有着特殊性和高亲和力。使用抗CD36抗体可以阻断50%CD36与oxLDL至血小板和人类类巨噬细胞THP细胞上。另外，像小鼠巨噬细胞，293种表达有CD36的细胞识别出仅仅氧化4h的LDL。然而更多更广泛的LDL氧化则需要其他已知的oxLDL受体（包括乙酰化LDL

受体和Fc gamma RII-B2) 的识别。

同时Nozaki S等提出起源于人类单核细胞的巨噬细胞的CD36占据了体外条件下40%的结合和摄取oxLDL, 并且提出CD36可能在体内条件下有助于泡沫细胞的形成^[36]。干扰素 γ (interferon—gamma, IFN- γ)可以降低人类AS损伤处CD36的表达。Nakagawa T等的研究发现, IFN- γ 在浓度为1000 U/mL时会显著减少CD36蛋白表达, 蛋白水平降幅达到57%, 而mRNA达到30%^[37]。然而Gupta等的研究却认为IFN- γ 促进并修饰动脉粥样硬化不仅通过动脉管壁的局部效应, 而且也是针对血浆脂蛋白的系统性效应^[38]。

与大多数细胞因子发挥强烈的旁分泌扩大器的作用相反, 由激活的单核/巨噬细胞和T细胞分泌的IL-10有着强烈的免疫抑制和抗炎症效应。作为回报, 动脉粥样化的炎症成分为IL-10提供了其他攻击目标。Rubic T等提出假设, IL-10增强胆固醇的反转运。通过试验, IL-10在低浓度条件下发挥抗炎症免疫效应, 通过减弱巨噬细胞CD36的表达、增强ATP结合转运蛋白A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)和ABCG1的表达而阻止m Φ 胆固醇超载, 也就是说IL-10可以增强胆固醇的反转录^[39]。

6.3 CD36与脂质代谢关系

临床上脑梗死患者常常合并有脂质异常。国内外的一些研究发现, 脂蛋白尤其是LDL是AS以及AIS的相关危险因素^[40]。长链脂肪酸(long chain fatty acid, FCFA)是CD36的重要配体(ligand), 当FCFA与CD36结合后, CD36介导FCFA进入细胞。

CD36不但可以通过瀑布效应使得m Φ 对oxLDL摄取, 而且其也是HDL的受体。当m Φ 通过CD36摄取oxHDL后, 这个过程可能也是AS发生发展的一部分^[41-42]。

综上所述, 颈动脉粥样硬化作为易检测、易发现的AS, 在临床工作中针对颈动脉开展的检测手段越来越多。易损斑块作为LAA性脑梗死的重要的危险因素, 及早识别出易损斑块变得尤为重要。而趋化因子、清道夫受体在AS中扮演了不同的角色, 也发挥着各自的作用。CXCL16、CD36作为代表成员, 在致AS有着一定作用。期望这两个生物学标记物可以被更多的医务工作者所熟悉, 在临床工作被使用。这样对于ASCVD的预防甚至治疗来说, 都会起到一定效果。动脉粥样硬化性脑梗死在临床上具有高复发性的特点, 希望易损斑块的检测或许可以达到预测急性临床事件的发生。

参 考 文 献

(References)

- [1]Verbovoy AF,Tsanava IA,Mitroshina EV,et al.Osteoprotegerin is a new marker of cardiovascular diseases[J].Ter Arkh.2017,89(4):91-94.
- [2]Zlotnik A,Yoshie O.Chemokines:a new classification system and their role in immunity[J].Immunity,2000,12(2):121-127.
- [3]Dai D,Xiong W,Fan Q,et al.Association of decreased serum sTREM-1 level with the severity of coronary artery disease:Inhibitory effect of sTREM-1 on TNF α and ox LDL-induced inflammatory reactions in endothelial cells[J].Medicine(Baltimore).2016,95(37):e4693.
- [4]Sánchez Elvira G,Coma-Canella I,Artaiz M,et al.Patients with vulnerable coronary plaques have higher serum metalloproteinase-1 levels[J].An Sist Sanit Navar. 2017,40(1):35-42.
- [5]Elewa U,Sanchez-Niño MD,Mahillo-Fernández I,et al.Circulating CXCL16 in Diabetic Kidney Disease[J].Kidney Blood Press Res.2016,41(5):663-671.
- [6]Di Castro MA, Trettel F, Milior G,et al.The chemokine CXCL16 modulates neurotransmitter release in hippocampal CA1 area[J].Sci Rep.2016,6:34633.
- [7]Koenen A,Babendreyer A,Schumacher J,et al.The DRF motif of CXCR6 as chemokine receptor adaptation to adhesion[J].PLoS One.2017,12(3):e0173486.
- [8]Chandrasekar B,Bysani S,Mummidi S.CXCL16 signals via Gi,phosphatidylinositol 3-kinase,Akt,I kappa B kinase,and nuclear factor-kappa B and induces cell-cell adhesion and aortic smooth muscle cell proliferation[J].2004,279(5):3188-3198.
- [9]Sheikine Y, Sirsjö A.CXCL16/SR-PSOX--a friend or a foe in atherosclerosis?[J].Atherosclerosis.2008,197(2):487-95.
- [10]Ludwig A,Hundhausen C,Lambert MH,et al.Metalloproteinase inhibitors for the disintegrin-like metalloproteinases ADAM10 and ADAM17 that differentially block constitutive and phorbol ester-inducible shedding of cell surface molecules[J].Comb Chem High Throughput Screen,2005,8(2):161-171.
- [10]Ludwig A,Hundhausen C,Lambert MH,et al.Metalloproteinase inhibitors for the disintegrin-like metalloproteinases ADAM10 and ADAM17 that differentially block constitutive and phorbol ester-inducible shedding of cell surface molecules[J].Comb Chem High Throughput Screen,2005,8(2):161-171.
- [11]Hundhausen C,Schulte A,Schulz B,et al.Regulated shedding of transmembrane chemokines by the disintegrin and metalloproteinase 10 facilitates detachment of adherent leukocytes[J].J Immunol,2007,178(12):8064-8072.

- [12] Zhuge X, Murayama T, Arai H, et al. CXCL16 is a novel angiogenic factor for human umbilical vein endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 331(4):1295-1300.
- [13] Mofidi R, Crotty TB, McCarthy P, et al. Association between plaque instability, angiogenesis and symptomatic carotid occlusive disease[J]. *Br J Surg*, 2001, 88(8):945-950.
- [14] Shimaoka T, Nakayama T, Fukumoto N, et al. Cell surface-anchored SR-PSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates firm adhesion of CXC chemokine receptor 6-expressing cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2004, 75(2):267-274.
- [15] Hundhausen C, Misztela D, Berkhout TA, et al. The disintegrin-like metalloproteinase ADAM10 is involved in constitutive cleavage of CX3CL1 (fractalkine) and regulates CX3CL1-mediated cell-cell adhesion[J]. *Blood*, 2003, 102(4):1186-1195.
- [16] Kume N. New oxidized LDL receptors and their functions in atherogenesis[J]. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi*, 2002, 39(3):264-267.
- [17] Wan TS, Yip SF, Yeung YM, et al. Fatal diffuse alveolar damage complicating acute myeloid leukemia with abnormal eosinophils and trisomy X[J]. *Ann Hematol*, 2002, 81(3):167-169.
- [18] Moore KJ, Freeman MW, et al. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake[J]. 2006, 26(8):1702-1711.
- [19] Wuttge DM, Zhou X, Sheikine Y. CXCL16/SR-PSOX is an interferon-gamma-regulated chemokine and scavenger receptor expressed in atherosclerotic lesions[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(4):750-755.
- [20] Ludwig A, Mentlein R. Glial cross-talk by transmembrane chemokines CX3CL1 and CXCL16[J]. *J Neuroimmunol*. 2008, 198(1-2):92-7.
- [21] Yi GW, Zeng QT. Circulating CXCL16 is related to the severity of coronary artery stenosis[J]. *Arch Med Res*, 2008, 39(5):531-535.
- [22] Lundberg GA, Kellin A, Samnegard A, et al. Severity of coronary artery stenosis is associated with a polymorphism in the CXCL16/SR-PSOX gene[J]. *J Intern Med*, 2005, 257(5):415-422.
- [23] Prasad S, Selvam AP, Reddy RK, et al. Silicon nanosensor for diagnosis of cardiovascular proteomic markers[J]. *J Lab Autom*. 2013 Apr; 18(2):143-51.
- [24] Silverstein RL. Type 2 scavenger receptor CD36 in platelet activation: the role of hyperlipemia and oxidative stress[J]. *Clin Lipidol*, 2009, 4(6):767.
- [25] Armesilla AL, Vega MA. Structural organization of the gene for human CD36 glycoprotein[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(29):18985-18991.
- [26] Hames KC, Vella A, Kemp BJ, et al. Free fatty acid uptake in humans with CD36 deficiency. *Diabetes*[J]. 2014, 63(11):3606-14.

- [27]Collot-Teixeira S,Martin J,McDermott-Roe C,et al.CD36 and macrophages in atherosclerosis[J].*Cardiovasc Res*,2007,75(3):468-477.
- [28]Han J,Hajjar DP,Zhou X,et al.Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ -mediated gene expression.A new mechanism of action for high density lipoprotein[J].*J Biol Chem*,2002,277(26):23582-23586.
- [29]Abumrad NA,Ajmal M,Pothakos K,et al.CD36 expression and brain function:does CD36 deficiency impact learning ability[J].*Prostaglandins Other Lipid Mediat*,2005,77(1-4):77-83.
- [30]Diaz-Ricart M,Tandon NN,Gomez-Ortiz G,et al.Antibodies to CD36(GP IV)inhibit platelet adhesion to subendothelial surfaces under flow conditions[J].*Arterioscler Thromb Vasc Biol*,1996,16(7):883-888.
- [31]Podrez EA,Bvzova TV,Febbraio M,et al.Platelet CD36 links hyperlipidemia,oxidant stress and a pro-thrombotic phenotype[J].*Nat Med*,2007,13(9):1086-1095.
- [32]Chen K,Febbraio M,Li W,et al.A specific CD36-dependent signaling pathway is required for platelet activation by oxLDL[J].*Circ Res*,2008,102(12):1512-1519.
- [33]Ghosh A,Murugesan G,Chen K,et al.Platelets CD36 surface expression levels affect functional responses to oxidized LDL and are associated with inheritance of specific genetic polymorphisms[J].*Blood*,2011,117(23):6355-6366.
- [34]Chaabane C,Coen M,Bochaton-Piallat ML.Smooth muscle cell phenotypic switch: implications for foam cell formation.*Curr Opin Lipidol*.2014,25(5):374-9.
- [35]Endemann G,Stanton LW,Madden KS,et al.CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein[J].*J Biol Chem*,1993,268(16):11811-11816.
- [36]Nozaki S,Kashiwagi H,Yamashita S,et al.Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-derived macrophages from CD36-deficient subjects[J].*J Clin Invest*,1995,96(4):1859-1865.
- [37]Nakagawa T,Nozaki S,Nishida M,et al.Oxidized LDL increases and interferon-gamma decreases expression of CD36 in human monocyte-derived macrophages[J].*Arterioscler Thromb Vasc Biol*,1998,18(8):1350-1357.
- [38]Gupta S,Pablo AM,Jiang X,et al.IFN-gamma potentiates atherosclerosis in ApoE knock-out mice[J].*J Clin Invest*,1997,99(11):2752-2761.
- [39]Rubic T,Lorenz RL.Downregulated CD36 and oxLDL uptake and stimulated ABCA1/G1 and cholesterol efflux as antiatherosclerotic mechanisms of interleukin-10[J].*Cardiovasc Res*,2006,69(2):527-535.
- [40]Crisby M,Bronge L,Wahlund LO.Low levels of high density lipoprotein increase the severity of cerebral white matter changes:implications for prevention and treatment of cerebrovascular diseases[J].*Curr Alzheimer Res*,2010,7(6):534-539.

[41]Soumyarani VS, Jayakumari N.Oxidized HDL induces cytotoxic effects: implications for atherogenic mechanism[J].J Biochem Mol Toxicol.2014,28(11):481-9.

[42]Wu J, He Z, Gao X, et al.Oxidized high-density lipoprotein impairs endothelial progenitor cells' function by activation ofCD36-MAPK-TSP-1 pathways.[J].Antioxid Redox Signal.2015,22(4):308-24.

致谢

(Acknowledgements)

值此毕业之际，回首研究生三年的生活，虽然短暂却是充实的。首先由衷感谢我的导师王宏教授，他像父亲一样在我研究生期间的各个方面，包括学习、生活和工作上予以照顾、指导和鼓励。博大的胸襟、谦虚的品德、精湛的医术等都是教授烙印在我心中的标志。从面试初次遇见教授，到即将毕业的不舍，和教授相处的时光是历历在目。教授平日常话虽不多，但以其自身的行动深深影响着我。在工作上，教授不曾因身体原因而耽搁，依然坚守在工作一线；在科研上，教授精益求精的品质引领我在科研道路上走的更远；在生活上，教授乐观、实事求是的态度一直感染着身边每一个人。在此，谨向导师表示崇高的敬意和衷心的感谢！

我还要感谢石河子大学第一附属医院神经内科全体医生，感谢王宏主任、张云霞主任、张慧丽主任、刘桂云主任、刘春红主任、李晓军主任、余鹃老师、唐娟老师、梁华峰老师、谢靖老师、耿玉荣老师、姚恩生老师、申婧老师，是他们一步一步引导我进入神经病学领域，在各个方面予以照顾和指导，感谢你们。同时也要感谢全科室的各位医务人员，我的成长离不开你们的帮助。此外，我要感谢司慧丽同学、郭文娟同学、张向辉同学、魏猛同学在实验过程中对我的支持和帮助。也要感谢李丹师姐、聂善静师姐、李萌师姐和王茂松师哥在研究生期间对我的照顾和帮助。

感谢我的爸爸妈妈，在各个方面给予我支持和帮助。在此，我向他们致以我最诚挚的感谢。

最后，感谢并感恩所有在我生命中出现的每一个人，谢谢你们！

研究生：嵇继宇

2017年5月26日

作者简介

(Author Biography)

作者


嵇继宇，男，生于 1990 年 08 月，籍贯河南省。2014 年毕业于新乡医学院三全学院临床医学专业，获医学学士学位。2014 年 9 月就读于石河子大学医学院神经病学专业。

在学期间发表的文章

1. 嵇继宇，司慧丽，王宏. CXCL16、CD36 与颈动脉易损斑块并发脑梗死的关系，《天津医药》,2016,11:1377-1380;
2. 司慧丽，嵇继宇，王宏. 血清 LRP6 及 CD36 对脑梗死伴颈动脉不稳定斑块患者的意义，《广东医学》，2016,12:3572-3575;
3. 郭文娟，王宏，王茂松，嵇继宇. 脑梗死后认知障碍与血清视锥蛋白样蛋白-1 水平及神经功能缺损关系的研究，《国际神经病学神经外科学杂志》，2016,43(5):432-435.

石河子大学硕士研究生学位论文

导师评阅表

研究生姓名	嵇继宇	学制	三年
专业	神经病学	研究方向	脑血管疾病
<p>学术评语:</p> <p>动脉粥样硬化及其并发症成为全世界最常见的死亡原因，目前很多人可能认为动脉粥样硬化性心血管疾病是可控性疾病，归因于降脂、降糖、抗血小板、抗凝药物的应用，同时使用抗氧化剂的随机临床试验已经证实高危人群中受益，但是脑卒中的发病率、致残率、复发率、死亡率却未得到有效控制。神经内科医生在临床上主要的担忧便源自 ASCVD 的静默进展，经常从没有任何临床症状到由于血栓形成或严重狭窄导致急性缺血性脑血管病的出现。所以仅仅基于目前典型的危险因素来预测 ASCVD 的发生是不够的。因此需要寻找能够反映、预测及评估斑块易损性和 ASCVD 的标记物。</p> <p>此次研究通过比较体检对照组、易损斑块组及脑梗阻血清 CD36、CXCL16 水平的变化，来探讨 1. CD36、CXCL16 水平与颈动脉粥样硬化易损斑块之间的关系；2. CD36、CXCL16 水平与急性脑梗死之间的关系；3. CD36、CXCL16 两者之间的关系。研究结果显示 CD36 和 CXCL16 为易损斑块的特异性炎性标志物，联合检测它们的含量可能对预防血管事件发生及临床干预有重要意义。论文撰写文笔流畅，条理清楚，观点明确，具有较高的理论价值，达到硕士研究生毕业论文的要求。</p> <p style="text-align: right;">指导教师签字:  2017年6月2日</p>			