

分类号: R743
学 号: 2011409001

密 级:
单位代码: 10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



脑梗死患者血清骨保护素水平与颈动脉粥样硬化斑块的关系

学 位 申 请 人	段玉玲
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 方 向	内科学
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子

2014年06月

分类号: R743
学 号: 2011409001

密 级:
单位代码: 10759

石河子大学

硕 士 学 位 论 文



脑梗死患者血清骨保护素水平与颈动脉粥样硬化斑块的关系

学 位 申 请 人	段玉玲
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 方 向	内科学
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子

2014年 06月

**Association of serum osteoprotegerin levels with carotid
atherosclerotic plaque in acute ischaemic stroke patients**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Medicine

By

Duan Yu-ling

(Neurologic disorder)

Dissertation Supervisor: Prof. Wang Hong

June, 2014

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

本人所提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：段玉玲

时间：2014年 6月 6日

使用授权声明

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。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。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：段玉玲

时间：2014年 6月 6日

导师签名：王宁

时间：2014年 6月 6日

目 录

中文摘要.....	I
英文摘要.....	II
中英文缩略词对照表.....	III
前言.....	1
材料与方法.....	3
研究对象.....	3
材料.....	3
研究方法.....	4
统计学方法.....	7
结果.....	8
讨论.....	12
结论.....	17
参考文献.....	18
综述.....	21
致谢.....	28
作者简介.....	29
导师评阅表.....	30

摘要

目的：本实验通过对脑梗死（cerebral infarction, CI）患者不同类型的颈动脉斑块组与健康对照组的血清骨保护素（osteoprotegerin, OPG）水平变化进行比较，探讨 OPG 水平与脑梗死及粥样硬化斑块稳定性的关系。

方法：收集 2012 年 11 月至 2013 年 8 月医院神经内科住院的脑梗死患者 96 例，均行颈动脉多普勒彩超检查评估有无斑块，分为有斑块组 64 例和无斑块组 32 例，根据斑块性质分为稳定斑块组 30 例和不稳定斑块组 34 例，同时收集 31 例健康体检者。采用酶联免疫测定法（ELISA）检测血清 OPG 水平，采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析，观察脑梗死组与健康对照组之间 OPG 水平变化情况，同时分析脑梗死患者颈动脉斑块稳定程度不同时的 OPG 浓度变化趋势，以及血清 OPG 与患者一般指标之间的相关性。

结果：四组血清 OPG 水平比较差异均有统计学意义，健康对照组血清 OPG 水平均低于其余三组，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）；脑梗死颈动脉无斑块组血清 OPG 水平低于脑梗死合并颈动脉稳定斑块组，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ），脑梗死合并颈动脉稳定斑块组血清 OPG 水平低于脑梗死合并颈动脉不稳定斑块组，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。相关分析示：脑梗死患者血清 OPG 与 CRP、Hcy 呈正相关（ $P < 0.05$ ）。

结论：血清 OPG 水平与脑梗死有关。血清 OPG 与脑梗死颈动脉粥样硬化斑块的不稳定性相关。

关键词：骨保护素；颈动脉粥样斑块；脑梗死

Abstract

Objective: The research compares cerebral infarction(CI) patients with different types of the carotid plaques group to the healthy control group of serum osteoprotegerin(OPG) levels, observe the relationship between OPG levels and cerebral infarction and the stability of carotid atherosclerotic plaque .

Methods: Selected cerebral infarction patients from November 2012 to August 2013 neurology department in hospital 96 cases,with screen for carotid plaque by duplex color Doppler and then classified into plaques group(64 patients) and no plaques group(32 patients).The stable plaques group(30 patients) and unstable plaques group(34 patients) were further classified,while collected 31 normal controls. Serum osteoprotegerin levels were measured by using enzyme-linked immunoassay(ELISA).Statistical analysis was performed using SPSS 17.0 statistical software,observed the level of OPG between the cerebral infarction group and the healthy control group, and analysis of the stable level of carotid plaque in patients with cerebral infarction at different OPG concentration changes ,as well as the correlation between OPG in cerebral infarction patients with general index.

Results: In the four groups ,OPG levels had significant difference ($P<0.05$).The OPG in control group was lower than the other three groups,the difference was statistically significant ($P<0.05$);The OPG in un-plaques group was lower than stable plaques group,the difference was statistically significant ($P<0.05$);The OPG in stable plaques group was lower than unstable plaques group,the difference was statistically significant ($P<0.05$).Correlation analysis showed :CRP , Hcy and serum OPG were positively correlated ($P<0.05$).

Conclusion:Serum OPG levels associated with cerebral infarction. Serum OPG associated with carotid atherosclerotic plaque instability.

Keywords: osteoprotegerin , carotid atherosclerotic plaque , cerebral infarction

中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文全称
CI	Cerebral infarction	脑梗死
OPG	osteoprotegerin	骨保护素
AS	Atherosclerosis	动脉粥样硬化
CRP	C-reactive protein	C 反应蛋白
hsCRP	High-sensitivity C-reactive protein	高敏 C 反应蛋白
Hcy	Homocysteine	同型半胱氨酸
TC	Total cholesterol	总胆固醇
TG	Triglyceride	甘油三酯
LDL	Low-density lipoprotein	低密度脂蛋白
HDL	High-density lipoprotein	高密度脂蛋白
SBP	Systolic blood pressure	收缩压
DBP	Diastolic blood pressure	舒张压
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫法
BMI	Body mass index	体重指数
IMT	Intima-media thickness	颈动脉内膜中层厚度
VEC	Vascular endothelial cells	血管内皮细胞
VSMC	Vascular smooth muscle cells	血管平滑肌细胞
OB	Osteoblast	成骨细胞
OC	Osteoclast	破骨细胞

前言

(Introduction)

脑卒中是我国病死率排序首位的疾病，近年来发病率呈逐年上升趋势，其中脑梗死（Cerebral infarction, CI）占脑卒中的 70-80%。多数脑梗死患者遗留不同程度的残疾，且复发率高，给家庭和社会带来了巨大的经济负担。动脉粥样硬化（atherosclerosis, AS）是脑梗死重要的危险因素，其在脑梗死的发生、发展中发挥重要作用。动脉粥样硬化致使血管发生重构，管腔变窄，血流量减少引起低灌注，栓子的清除能力下降，导致脑梗死发生；动脉粥样硬化斑块表面粗糙，血小板和凝血因子被激活，形成不稳定斑块，斑块破裂栓子脱落导致远端血管栓塞，使脑组织缺血、坏死；炎症反应在动脉粥样硬化形成过程当中贯穿始终，炎症因子作用于血管内皮细胞，使内皮细胞功能紊乱，在一氧化氮、前列环素、血小板源性生长因子等介导下，内皮细胞开始表达黏附分子，促使白细胞等与内皮细胞发生黏附，白细胞即开始向内膜下迁移，巨噬细胞吞噬大量脂质形成泡沫细胞；激活的炎细胞和动脉壁上的平滑肌细胞合成胶原纤维，使斑块外层形成纤维帽。炎症促进脂质沉积，脂质又可以增强炎症反应，炎症反应使斑块趋于不稳定并易于破裂，导致血管事件发生。

C 反应蛋白、粘附分子、白细胞介素、肿瘤坏死因子等为炎症标志物参与动脉粥样硬化的炎症反应调节，C 反应蛋白可诱导内皮细胞黏附分子的表达，参与泡沫细胞的形成；此外 C 反应蛋白可诱导单核细胞合成组织因子激活补体，促进血栓形成，因此 C 反应蛋白是动脉粥样硬化的重要炎性标志物，被广泛用于动脉粥样硬化治疗的监测指标。其他炎症标志物，如血浆同型半胱氨酸水平检测有助于脑梗死高危人群筛查。同型半胱氨酸是一种含巯基的氨基酸，是蛋氨酸和半胱氨酸代谢过程中一个重要的中间产物，高同型半胱氨酸血症与脑梗死关系密切，为脑梗死的重要危险因素，同型半胱氨酸通过减少一氧化氮合成、促进一氧化氮降解导致血管内皮细胞损伤，还能够促进血管平滑肌细胞增殖，增强血小板聚集以及单核细胞粘附，促进血栓形成。

近年研究发现肿瘤坏死因子受体（TNFR）超家族成员—骨保护素（osteoprotegerin, OPG），它是核因子受体活化因子配体（RANKL）和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体（TRAIL）的受体，主要由骨骼和血管组织产生，不仅在骨代谢方面起调节作用，还是重要的血管调节因子。Bucay 等^[1]通过动物实验研究发现，敲除 OPG 基因的小鼠出现严重的骨质疏松症，同时出现动脉钙化现象，推测 OPG 可能有抑制骨质疏松的作用，同时似乎具有预防血管钙化的作用。此外，Bennett 等^[2]对 ApoE 基因敲除小鼠模型研究中得出，OPG 在 ApoE^{-/-}小鼠的动脉粥样硬化进程中起到了保护作用。然而，OPG 在动物模型中发现的血管保护作用在人类实验中尚未得到明确结论。Shuichi 等^[3]检测了 201 例经冠状动脉造影证实的冠状动脉粥样硬化性心脏病患者血清中 OPG 水平，发现 OPG 水平与冠脉病变支数和疾病的严重程度成正相关，不稳定型心绞痛、急性心肌梗死患者的血清 OPG 水平明显高于症状控制稳定的动脉粥样硬化患者。增加的 OPG 水平被认为与

心血管疾病的严重程度相关^[4]。一项针对动脉粥样硬化患者的研究发现^[5]，随着 OPG 浓度增加，颈动脉粥样硬化斑块的严重程度也增加，二者呈正相关。另一项关于颈动脉粥样硬化患者行颈动脉内膜切除术，同时行体外试验检测颈内动脉段 OPG 表达水平的研究^[6]，结果表明症状性颈动脉粥样硬化患者（如一过性缺血性发作等）OPG 水平高于无临床症状者。Guldiken 等^[7]通过对急性脑梗死患者临床研究发现，血清 OPG 水平在大动脉粥样硬化的患者比在健康人群中的浓度明显增高。随后的时间里，Jense 等^[8]用近四年的时间对大量的急性脑梗死病人进行随访观察，将病人的随访结果与他们的血清 OPG 水平综合起来进行统计研究，结果显示 OPG 对急性脑梗死患者死亡率的预测可能具有其独立性。Zhang 等^[9]研究发现，血管内皮细胞和血管平滑肌细胞均能在碱性成纤维生长因子（bFGF）、血管紧张素 II（Ang-II）及血小板源性生长因子（PDGF）的刺激下产生 OPG，此三种细胞因子是血管疾病的重要调节因子，如 PDGF 可促进血管平滑肌细胞（VSMC）增殖、迁移，从而导致动脉粥样硬化形成，在疾病发生过程中，这些细胞因子可能受 OPG 的影响，从而推测 OPG 参与动脉粥样硬化性疾病的进程。由 OPG 最初用于骨骼方面和后来在心血管方面的研究，以及近年用于脑梗死方面的研究来看，OPG 在动脉粥样硬化形成过程中起着一定作用，OPG 浓度水平与动脉粥样硬化、冠状动脉疾病进展和心血管事件发生可能有关，然而 OPG 能否作为血管疾病的预测指标以及疾病复发尚无明确结论。

从发现 OPG 开始，学者们先后在骨骼及心血管、脑血管方面对 OPG 进行研究，但是在脑梗死方面的研究，尤其关于脑梗死合并颈动脉斑块稳定性的研究尚少。本课题通过对脑梗死患者不同类型的颈动脉斑块组与健康对照组的血清骨保护素水平变化进行比较，探讨血清 OPG 浓度与脑梗死患者颈动脉斑块稳定性之间的关系以及与 CRP、Hcy 等指标之间是否相关，进而探讨 OPG 是否可作为脑梗死的生物预测指标，以及 OPG 与斑块稳定性的关系。

材料与方法

(Materials&Methods)

1、研究对象

1.1 实验对象及分组

脑梗死组为 2012 年 11 月至 2013 年 8 月石河子大学医学院第一附属医院神经内科住院的脑梗死患者，对照组为该院体检中心体检人群。

(1) 对照组 (A 组): 31 例, 男性 13 例, 女性 18 例, 年龄均数 58.90 ± 9.21 岁。

(2) 脑梗死颈动脉无斑块组 (B 组): 32 例, 男性 19 例, 女性 13 例, 年龄均数 60.09 ± 10.61 岁。

(3) 脑梗死合并颈动脉稳定斑块组 (C 组): 30 例, 男性 19 例, 女性 11 例, 年龄均数 58.80 ± 9.48 岁。

(4) 脑梗死合并颈动脉不稳定斑块组 (D 组): 34 例, 男性 19 例, 女性 15 例, 年龄均数 63.65 ± 9.95 岁。

1.2 纳入标准:

(1) 脑梗死组: ①脑梗死诊断符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2010》的标准: 1) 急性起病; 2) 局灶性神经功能缺损, 少数为全面神经功能缺损; 3) 症状和体征持续数小时以上; 4) 脑CT或MRI排除脑出血和其他病变; 5) 脑CT或MRI有责任梗死病灶; ②年龄40-80岁之间。

(2) 对照组: ①门诊体检者, 既往无脑血管病史; ②年龄 30-70 岁之间。

1.3 排除标准

(1) 出血性脑卒中、心源性脑梗死、短暂性脑缺血发作;

(2) 自身免疫及甲状旁腺疾病;

(3) 近3个月内手术及外伤史;

(4) 发热、感染、肿瘤, 严重肝、肾疾病;

(5) 近3个月服用钙片、糖皮质激素等对骨代谢有影响的药物。

2、材料

2.1 ELISA试剂盒

试剂盒来自上海西唐生物科技有限公司, 生产日期 2013 年 6 月 15 日, 截止日期 2013 年 12 月 15 日, 放置于 2 到 8°C 之间保存。OPG 检测在我院中心实验室进行完成。

产品性能:

灵敏性: 最小的OPG检测浓度 $< 0.5 \text{ pmol/L}$ 。

特异性: 可同时检测重组或天然的人OPG。与人的其它细胞因子无交叉反应。

重复性: 板内、板间变异系数 $< 8.9\%$ 。

试剂盒组成:

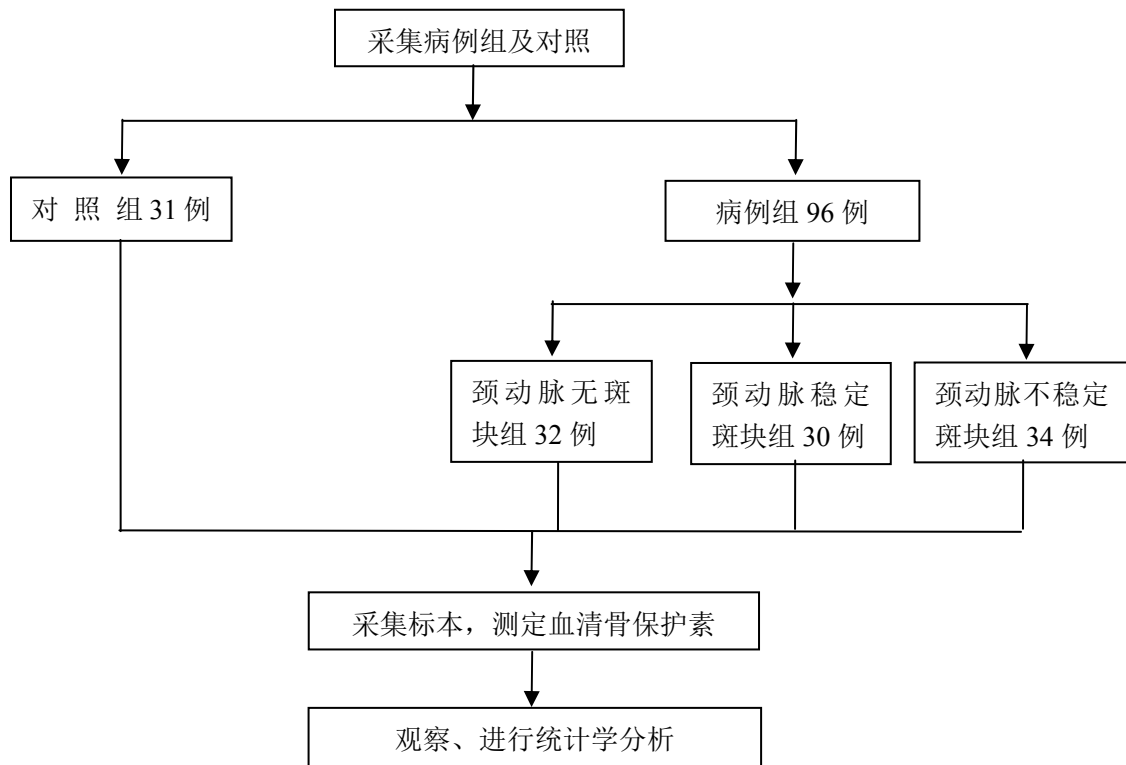
酶标板	二块（96孔、48孔各一块）
10×标本稀释液	12ml×2瓶
标准品:1.2pmol/瓶	2瓶
第一抗体工作液	6ml×2瓶
酶标抗体工作液	12ml×2瓶
20×浓缩洗涤液	50ml×2瓶
底物工作液	12ml×2瓶
终止液	12ml×2瓶

2.2 实验仪器

4℃冰箱	华威公司，中国
-80℃冰箱	sony公司，日本
37℃恒温水浴箱	海门市麒麟医用仪器厂，江苏
酶标仪	Thermo公司，芬兰
离心机	上海安亭科学仪器厂
漩涡混匀器	XW-80A上海青浦沪西仪器厂
水浴箱YX数显恒温水	山东湮成制造厂
聚丙烯样品管	上海生工
TIP头	上海生工
一次性吸管	上海生工
移液枪	Eppendorf，德国
全自动生化分析仪	BECKMAN CX9全自动生化仪，美国

3、研究方法

3.1 技术路线图



3.2 一般资料的收集

3.2.1 患者入院后详细记录其现病史、既往史，完善体格检查，同时行双侧颈动脉多普勒彩超检查，并记录详细结果。

3.2.2 患者入院后安静平卧半小时后完善体温、呼吸、血压、脉搏的检查。

3.2.3 患者于入院后第二天清晨空腹进行体重测量，根据其身高，计算患者的体重指数（body mass index, BMI），计算公式： $BMI(kg/m^2) = \text{体重}(Kg) / \text{身高}^2(m^2)$ 。身高、体重均用体重秤来测量。

3.3 标本采集及处理

所有入组者入院当晚需禁食8小时，于第二天清晨8:00左右抽血，空腹卧位，采取肘静脉血10ml，其中5ml即刻放入4℃冰箱中，采集后2小时内行4℃，3000r/min，离心10分钟，分离出血清，留于EP管中，予标号后放-80℃冰箱保存备用。另外5ml肘静脉血半小时内送至本院检验科由美国贝克曼库尔特公司生产的BECKMAN CX9全自动生化仪完成总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)、C-反应蛋白(CRP)、同型半胱氨酸(Hcy)等的检测。

3.4 颈动脉斑块的检测、分类

双侧颈动脉彩超检查由我院超声科医师检测，采用型号为 PHILIPS IE33、探头频率为3-11 Hz 的彩色多普勒超声仪进行检测。患者取仰卧位，头略向后仰，偏向检查对侧，使检查侧颈部充分暴露，探头置于胸锁乳突肌前缘或后缘，自下而上依次对颈总动脉、分叉部、颈内动脉、颈外动脉进行检查，测量颈动脉内膜中层厚度（Intima-media thickness, IMT），观察是否有斑块以及斑块的部位、大小、数目、形态、回声，明确斑

块的性质。颈动脉粥样硬化斑块的定义：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IMT的1.5倍或比邻近部位厚0.5mm；或彩色多普勒显示血管腔某处彩色血流缺损，缺损处面积 $\geq 10\text{mm}^2$ ^[10]。根据超声特点将斑块分型^[11]：①扁平斑：动脉管壁偏心性增厚，内膜不光滑，条状均匀低回声；②硬斑：由于斑块内部钙化或纤维化，局部呈团状强回声，后方伴有声影或较明显的声衰减；③软斑：随着病情发展，纤维组织增生，斑块内出血，血栓形成，似沙丘样向管腔内隆起，形状多不规则，呈略低回声，彩色多普勒可见缺损或紊乱；④混合斑：呈强弱不等回声，形态不规则，伴有出血时可见缝隙样暗区；⑤溃疡斑：斑块表面不光滑，形态不规则，有时呈壁龛样影像，溃疡边缘回声较低。近些年，通过对临床脑血管病患者的研究发现^[12]，无临床脑血管病症状的扁平斑、硬斑出现的比例相对较大，两者可归纳为稳定斑块，而软斑、混合斑、溃疡斑是造成症状性脑血管病的主要危险因素，归纳为不稳定斑块。

3.5 血清OPG的测定

3.5.1 实验原理

本实验采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法。用抗人OPG 单抗包被于酶标板上，标准品和样品中的OPG与单抗结合，加入生物素化的抗人OPG，形成免疫复合物连接在板上，辣根过氧化物酶标记的 Streptavidin 与生物素结合，加入底物工作液显蓝色，最后加终止液硫酸，在450nm处测OD值，OPG浓度与OD值成正比，通过绘制标准曲线求出标本中OPG浓度。

3.5.2 试剂准备

①取24ml 10×标本稀释液，加入216ml蒸馏水。

②标准溶液的配制：将2ml蒸馏水加入标准溶液中，配成600pmol/L的溶液，取八支1.5ml的离心管，分别标记A、B、C、D、E、F、G、H，将900ul样本稀释液添加到A管内，将500ul样本稀释液添加到B-H管内。吸取标本稀释液900ul添加到A管内，吸取标本稀释液500ul添加到B管内，依次重复至G管，在第A管中加入600pmol/L的标准品溶液100ul置于漩涡混合器上混匀后加样器吸出500ul，移至第B管。如此反复作对倍稀释，从第G管中吸出500ul弃去。第H管为空白对照。

③洗涤液：将20×浓缩洗涤液以1：20倍稀释。

3.5.3 OPG的检测程序如下：

①在常温下充分解冻血清样本，预先将反应板依次进行编号并设定相应样本孔，随后各加不同标准品及样本100ul（注意样本尽量加入反应板孔底部，最好不碰及孔侧壁）；将其充分混匀后，置于37℃水浴箱内40分钟。

②取出酶标板，将各孔内液体倒入污染容器中，将洗涤液加入每个孔中充分洗涤，用力甩干，重复洗板5次。

③将蒸馏水50ul和生物素标记抗体工作液50ul分别添加到各孔中（空白除外）。充分混匀反应板，再放入常温下温浴20分钟。

④洗板：同前。

- ⑤将100ul的酶标抗体工作液分别加入反应板的各个孔内，然后于常温箱中放置10分钟。
- ⑥洗板：同前。
- ⑦将底物溶液 100ul 依次加入各个孔内，置 37℃暗处反应 15 分钟。
- ⑧取100ul终止液分别加入反应板各孔内，混匀。
- ⑨30分钟内用酶标仪在450nm处测吸光值。
- ⑩将相对应的浓度在坐标找到后，根据样品的吸光值计算出相应OPG含量。

3.6 质量控制方法

- (1) 实验过程中认真、严格进行各项操作，如：采集血样本、标记编号、存储，记录数据等。
- (2) 所有的测量仪器使用前先校对。
- (3) 生化常规及血细胞分析均由我院检验科完成，颈动脉多普勒彩超在我院彩超室进行检测，血清OPG检测在我院中心实验室完成，最大程度的减小误差。
- (4) 病例组、对照组的血样在-80℃分开储存，避免污染，收集的标本防止反复冻存。
- (5) 所用试剂在保质期内，保存温度设定在4℃。
- (6) ELISA实验的操作均由经过培训的专人负责，根据本试剂所提供的说明进行规范、严格的操作。
- (7) 在资料数据收集、录入过程中，反复核对，保证资料的质量。

4、统计学方法

统计学方法采用 SPSS17.0 统计软件进行处理，计量资料以均数±标准差 ($\bar{x}\pm S$) 表示，满足条件者（服从正态分布及方差齐）采用单因素方差分析检验，不满足条件采用秩和检验；计数资料以频数 (n) 表示，选用卡方 (χ^2) 检验。Pearson 双变量相关分析用于比较生化等一般危险因素与 OPG 间的相关关系。均以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

结果

(Results)

1、四组间一般资料及生化指标比较

各组的平均年龄、性别、吸烟史、糖尿病史、高血压病史、BMI、LDL、HDL、TC、TG 等指标比较， P 值均 >0.05 ，无统计学差异。见表 1。

表 1 四组间基本资料的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	性别 (男/女)	年龄 (岁)	吸烟 (有/无)	糖尿病 (有/无)	高血压 (有/无)
A 组	31	13/18	58.90±9.21	9 /22	7/24	15/16
B 组	32	19/13	60.09±10.61	10/22	6/26	23/ 9
C 组	30	19/11	58.80±9.48	13/17	7/23	20/10
D 组	34	19/15	63.65±9.95	16/18	8/26	25/ 9
统计量		$\chi^2=3.239$	F=1.746	$\chi^2=3.228$	$\chi^2=0.280$	$\chi^2=5.569$
P 值		0.356	0.161	0.358	0.964	0.135

组别	例数	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	LDL (mmol/L)	HDL (mmol/L)	BMI
A 组	31	1.55±0.11	4.11±0.13	2.06±0.63	1.34±0.05	25.36±0.62
B 组	32	1.56±0.10	4.15±0.18	2.32±0.91	1.29±0.06	25.41±0.67
C 组	30	1.62±0.14	4.22±0.15	2.38±0.68	1.26±0.05	25.20±0.64
D 组	34	1.71±0.13	4.29±0.14	2.39±0.60	1.28±0.05	25.22±0.72
统计量		F=0.353	F=0.283	F=1.434	F=0.311	F=0.023
P 值		0.787	0.838	0.236	0.818	0.995

各组间的收缩压 (SBP)、舒张压 (DBP)、同型半胱氨酸 (Hcy)、C反应蛋白 (CRP) 等指标进行比较得出：健康对照组 (A组) 和其它3组 (B、C、D组) 比较 $P<0.05$ ，差异有统计学意义；B、C、D三组之间比较 $P>0.05$ ，差异无统计学意义。见表2。

表 2 四组间基本资料的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CRP (mg/L)	Hcy (umol/L)	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)
A 组	31	7.61±3.29	12.89±4.14	128.3±2.8	73.0±2.0
B 组	32	10.64±5.07*	16.81±6.36*	138.4±3.7*	78.8±2.1*
C 组	30	12.01±5.34*	18.69±6.18*	139.0±3.6*	79.6±1.9*
D 组	34	12.37±6.72*	19.63±7.32*	144.5±2.3*	80.4±1.8*
统计量		F=5.262	F=7.444	F=4.622	F=2.826
P 值		0.002	0.000	0.004	0.041

注：与对照组相比，*表示有统计学差异 ($P < 0.05$)。

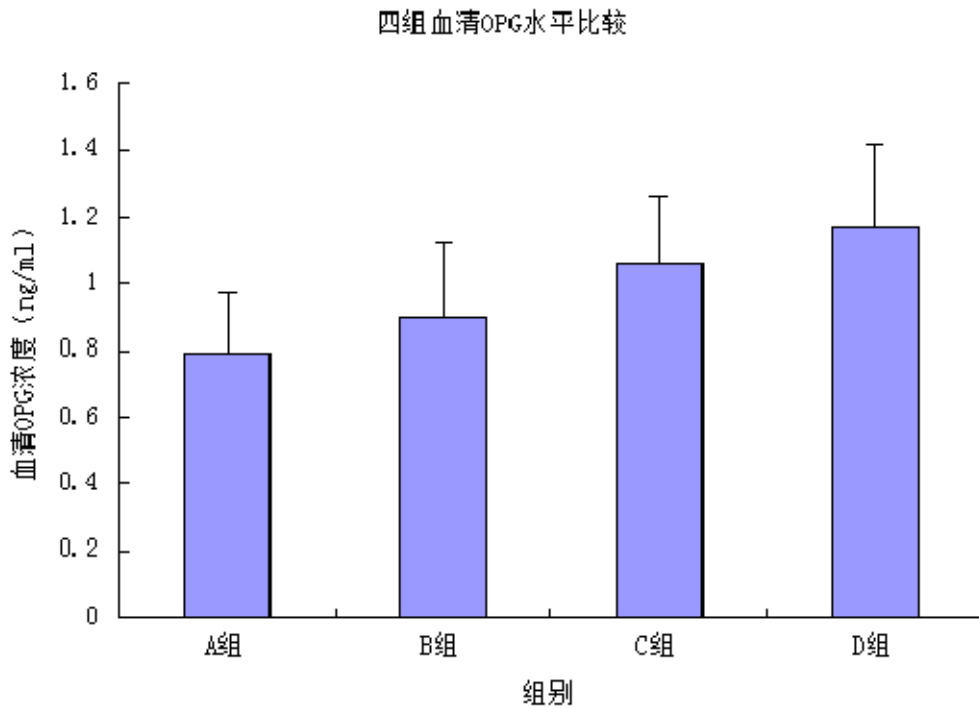
2、四组观察对象血清OPG浓度比较

比较四组的血清OPG浓度：四组OPG水平比较差异均有统计学意义，健康对照组血清OPG水平均低于其余三组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；脑梗死颈动脉无斑块组血清OPG水平低于脑梗死合并颈动脉斑块稳定组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，脑梗死合并颈动脉稳定斑块组血清OPG水平低于脑梗死合并颈动脉斑块不稳定组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表3。血清OPG水平比较柱状图，见图1。

表3 四组血清OPG水平比较 ($\bar{x} \pm s$) (单位：ng/ml)

组别	例数	OPG (ng/ml)
健康组	31	0.794±0.175
脑梗死颈动脉无斑块组	32	0.902±0.217*
脑梗死合并颈动脉稳定斑块组	30	1.063±0.194*#
脑梗死合并颈动脉不稳定斑块组	34	1.170±0.246*#△
统计值 (F)		20.088
P值		0.000

注：与健康组比较，* $P < 0.05$ ，与脑梗死颈动脉无斑块组比较，# $P < 0.01$ ，与脑梗死颈动脉稳定斑块组比较，△ $P < 0.05$ 。



3、血清 OPG 的相关分析

脑梗死患者血清 OPG 水平与患者年龄、BMI、TG、TC、LDL、HDL、CRP、Hcy、SBP、DBP 等因素之间的 Pearson 相关分析，统计数据显示：血清 OPG 与年龄、BMI、TG、TC、LDL、HDL、SBP、DBP 之间不存在线性相关关系， P 值均 >0.05 ；血清 OPG 与 CRP、Hcy 之间呈线性相关关系，且呈正相关， P 值均 <0.05 ， r 值分别为 0.221, 0.202。见表 4。

表 4 骨保护素的相关分析

	年龄	BMI	TG	TC	LDL
r	0.132	0.012	0.035	0.051	0.058
P 值	0.140	0.897	0.698	0.569	0.520

	HDL	CRP	Hcy	SBP	DBP
r	0.055	0.221	0.202	0.122	0.086
P 值	0.536	0.012	0.023	0.172	0.335

血清 OPG 与 CRP、Hcy 相关分析散点图绘制见图 2-1、图 2-2。

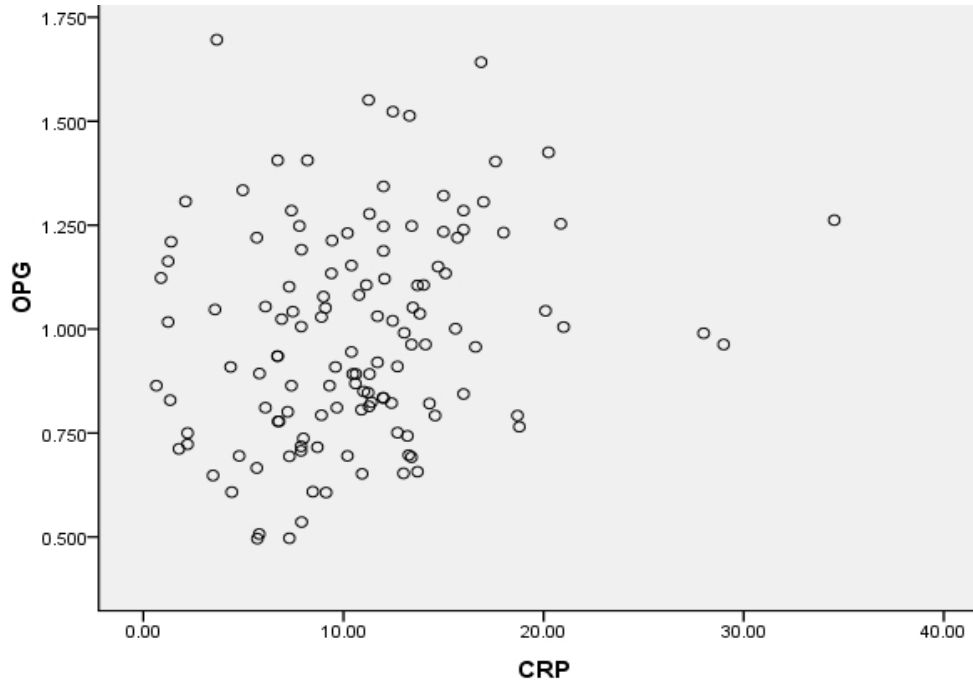


图2-1 OPG 与 CRP 的相关性散点图 ($r=0.221$, $P<0.05$)

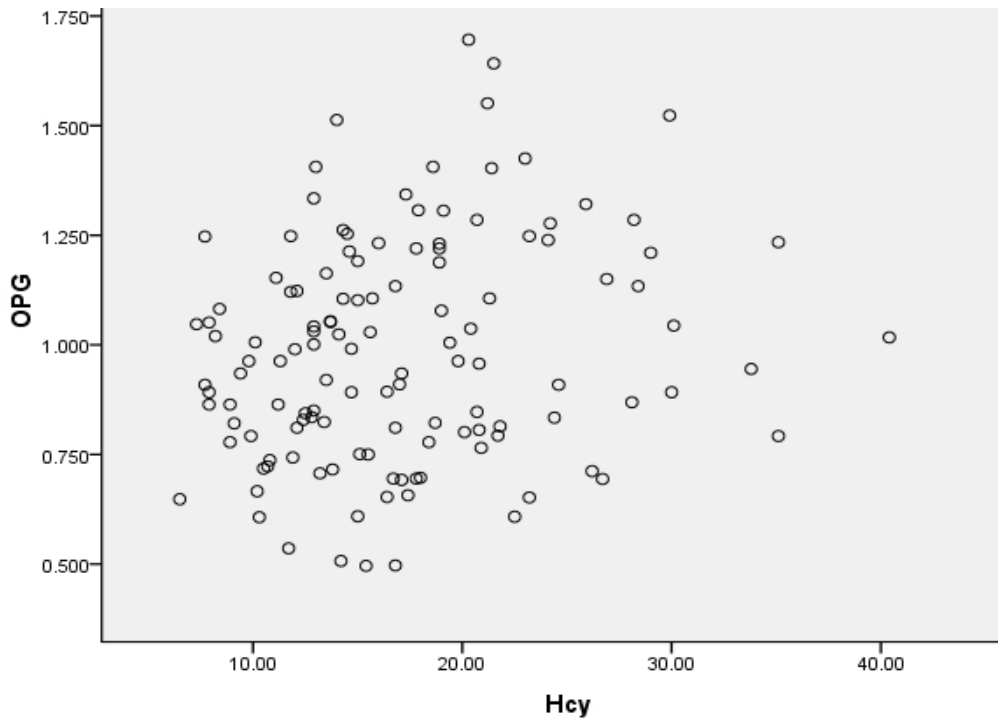


图2-2 OPG 与 Hcy 的相关性散点图 ($r=0.202$, $P<0.05$)

讨论

(Discussion)

当今时代，随着社会经济突飞猛进，人类生活日渐富裕，不管是城市还是农村，脑卒中都已成为危害人类生命健康的主要疾病，该病发病率高、致残率高、死亡率高，脑卒中发病者中大部分为缺血性脑卒中（Cerebral infarction, CI），即脑梗死。脑梗死患者中多数病人遗留不同程度的残疾，其发病率呈现出前移趋势，给我国的经济和人民的健康带来了极大的危害。因此，脑梗死的防治研究已成为全球医疗系统的热点，动脉粥样硬化性脑梗死的研究颇受学者关注，并且从脑卒中的发病机制着手进行深入探索。目前认为缺血性脑卒中最重要病理生理机制是动脉粥样硬化，动脉粥样硬化性疾病主要累及大中动脉，表现为血管内膜的脂质沉积和钙化。动脉粥样硬化过程中炎症因子及抗炎因子引起的炎症反应贯穿始终，炎症促进脂质沉积，脂质又可以增强炎症反应，炎症反应使斑块趋于不稳定并易于破裂。缺血性疾病的发生有很多机制，经大量研究发现^[13]，由易损斑块的脱落和破裂导致动脉管壁血栓形成是造成突发缺血事件的主要机制。近年来研究表明，脑血管病的主要发病原因是颈动脉粥样硬化形成^[14]。因此，尽早完善颈动脉血管检查，了解颈动脉是否有斑块存在，如果存在斑块则进一步明确斑块性质，从而观察斑块稳定性与相应疾病之间可能存在的关系，这一联系逐渐成为当前人们研究的热点。

颈动脉彩超的应用有助于我们了解颈动脉有无斑块，斑块增厚的程度及其特征表现，这项检测措施可以用来衡量颅内动脉粥样硬化的程度，从而具有预测动脉粥样硬化性脑梗死疾病危险程度的能力。由于颈动脉位置表浅，而且走行直、易测量、可多次测量比较，检查过程中受外界影响小，目前多使用高频探头，检测后所得到的声像图具有相当高的质量，对了解心脑血管病变存在的严重程度有参考诊断价值，成为早期观察动脉粥样硬化疾病的一种非侵入性的检查方法，不仅用于伴有基础疾病的高危人群或已出现症状的人群的辅助性检查，也可用于无症状、无明显危险因素的人群的常规筛查。颈动脉超声检查可作为一项入院常规检查方法，既方便，而且正确性、可靠性强，可观察颈动脉病变严重程度及斑块性质，以起到早治疗、早预防心脑血管并发症的作用。

Wikstrand 等^[15]研究显示，颈动脉内膜中层厚度（IMT）的变化可作为动脉粥样硬化的标志，反映全身动脉粥样硬化的程度。IMT 增厚是早期动脉粥样硬化的改变，斑块形成则是动脉粥样硬化的典型标志。根据斑块在超声图像上的形状及回声的不同表现，可分为：①扁平斑：动脉管壁偏心性增厚，内膜不光滑，条状均匀低回声；②硬斑：由于斑块内部钙化或纤维化，局部呈团状强回声，后方伴有声影或较明显的声衰减；③软斑：随着病情发展，纤维组织增生，斑块内出血，血栓形成，似沙丘样向管腔内隆起，形状多不规则，呈略低回声，彩色多普勒可见缺损或紊乱；④混合斑：呈强弱不等回声，形态不规则，伴有出血时可见缝隙样暗区；⑤溃疡斑：斑块表面不光滑，形态不规则，有时呈壁龛样影像，溃疡边缘回声较低。将扁平斑、硬斑归纳为稳定斑块，稳定斑块细胞

外脂质核体积较小，纤维帽较厚，局部有较多的胶原成分，且炎症细胞较少，不容易产生临床栓塞症状；软斑、混合斑、溃疡斑归纳为不稳定斑块，它含有更多的脂质，薄而不均的纤维帽，炎性细胞浸润，不均匀钙化，即使狭窄不太严重，产生有症状栓塞或颈动脉闭塞的危险性也较高，更易脱落形成微栓子，导致脑梗死的发生。人们逐渐开始关注对粥样斑块稳定性有影响作用的因素，急性心脑血管事件的发生大部分是由于附着于血管壁的斑块不稳定造成的，不稳定斑块在某些因素作用下极易发生破裂，斑块破裂血栓脱落导致远端血管栓塞，脑组织缺血、坏死；同时粥样斑块本身使血管管腔狭窄或闭塞，血流量减少引起低灌注，导致血管事件的发生^[16]。

一、骨保护素（OPG）结构、功能

骨保护素（osteoprotegerin, OPG）是 1997 年由 Simonet 等^[17]在对胎鼠小肠 cDNA 测序分析时首次发现的，OPG 属于分泌型糖蛋白，作为肿瘤坏死因子受体（TNFR）超家族成员中的一员，它以可溶性形式存在，人类 OPG 基因位于染色体 8q23-24，由 7 部分（D1~D7）分子结构组成，N 端的 D1~D4 结构上与肿瘤坏死因子受体超家族的其它蛋白质的胞外区相似，参与和其配体 RANKL 的结合，具有抑制破骨细胞（OC）的功能；D5、D6 的位置与 C 端相邻，主要功能是介导细胞凋亡；D7 的结构当中包含一个肝素结合位点和一个负责同源二聚体的二硫键形成的半胱氨酸残基（Cys379）。人体内的 OPG 有两种存在方式：一种为单体，另一种为二聚体，由二硫键连接而成，经研究测得相对分子质量分别为 60 000 和 120 000，其二聚体主要位于人体组织当中。OPG 分布的范围比较广泛，在组织中主要位于大脑、心脏、肺、胃、肝、肾等脏器；在细胞中主要位于成骨细胞（OB）、血管平滑肌细胞（VSMC）、血管内皮细胞（VEC）等。OPG 通过与细胞核因子- κ B 受体活化因子（RANK）争夺配体发挥作用，继而与细胞核因子- κ B 受体活化因子配体（RANKL）相结合进行反应，在这一生物效应过程中形成了 OPG/RANK/RANKL 系统。作为肿瘤坏死因子配体家族中的一员，RANKL 的分子主要有两种存在方式：结合型跨膜蛋白和游离型多肽，通过这两类形式发挥其分子生物学作用。在炎症刺激下，VEC、VSMC、T 淋巴细胞等均可产生 RANKL，通过炎症因子途径、CD44 介导途径、TGF- β 途径使内皮细胞增殖、单核细胞产生基质金属蛋白酶 9（MMP-9）、平滑肌细胞分化、血管壁基质钙化，从而对血管产生损害作用。RANK 在人体内表现为两种形式，一是由单核-巨噬细胞、淋巴细胞等细胞表达的跨膜型蛋白；二是存在于血液循环中的可溶型，使 RANK 肩负着作为 RANKL 的唯一受体而发挥功能。OPG/RANK/RANKL 系统在骨代谢、免疫炎症反应、心血管系统等多个领域起着重要的调控作用。Udagawa 等^[18]研究发现，在骨代谢方面，随着 OPG 含量增高，破骨细胞的骨吸收可被有效抑制。其机制为：OPG 主要通过与其竞争性结合位于破骨细胞膜上的 RANKL 而发挥降低破骨细胞分化和增加骨密度的功能。在心血管方面，OPG 通过改变血管内皮细胞、血管平滑肌细胞活性，与炎症细胞通过相互之间的作用作用于血管壁，从而在动脉粥样硬化的进程中发挥作用，其具体作用机制目前尚未研究清楚。OPG 主要通过与其竞争性结合 RANKL 来发挥作用，因 OPG/RANK/RANKL 系统参与

血管内皮细胞、平滑肌细胞等血管细胞的存活、骨化及血管壁的炎症反应，因此近些年 OPG 在脑梗死与动脉粥样硬化之间的关系受到众多研究学者的极大关注。

二、OPG 与 AS 的关系

动脉粥样硬化形成与很多因素有关，但其从始至终都与炎症反应有着密不可分的关系^[19]。正常情况下，血管内皮细胞、平滑肌细胞、单核细胞、巨噬细胞、血小板通过分泌多种炎症因子，包括单核细胞趋化因子-1、血管细胞粘附分子-1、细胞间粘附分子-1 等，维持着血管扩张和收缩、生长抑制和促进、抗血栓和促血栓、抗炎和促炎、抗氧化和促氧化、以及损伤和修复等之间的平衡。当各种导致动脉粥样硬化因素引起血管内皮细胞功能损害时，单核细胞、T 淋巴细胞等炎症细胞及低密度脂蛋白等脂质将穿过血管内皮进入内皮下，单核细胞摄取氧化修饰的低密度脂蛋白进入内皮下形成泡沫细胞，在细胞因子、炎症介质等作用下，平滑肌细胞不断增殖、迁移，巨噬细胞和平滑肌细胞释放大量的细胞因子，正反馈调节上述过程，导致血管壁脂质条纹形成。相关研究显示^[20-21]，上述正反馈调节过程可以促使脂质条纹进一步发展成粥样斑块，并造成斑块的不稳定。斑块内炎症细胞及其炎性产物对粥样斑块脂质中心的扩大、纤维组织完整性的破坏及细胞外基质的降解，均造成斑块不稳定。不稳定斑块导致的症状性血管性疾病出现的可能性较稳定斑块明显增高。

在骨骼中，OPG 主要由成骨细胞产生，具有抑制破骨细胞的形成、分化、存活的作用，还可诱导其凋亡；在血管系统中，OPG 的产生大多是由血管内皮细胞和血管平滑肌细胞产生的^[22-23]。研究证实^[24]，在动脉粥样硬化斑块处可测得 OPG 因子存在，且在斑块形成的不同时期，OPG 含量也不同，如：斑块纤维化期和硬化期该因子含量更高。Schoppet 等^[25]在 2 型糖尿病患者动脉粥样硬化和细胞凋亡增强的部位监测到 OPG 的表达。推测 OPG 可能成为预测人类动脉粥样硬化性疾病的一项新的生物标记物。

我们已经得知，在骨代谢和血管钙化中 OPG 是重要的影响因素，动脉钙化会增加血管事件的危险性。本研究结果显示，血清 OPG 水平在 D 组、C 组及 B 组中均高于 A 组，其结果分别为： $1.170 \pm 0.246 \text{ ng/ml}$ ， $1.063 \pm 0.194 \text{ ng/ml}$ ， $0.902 \pm 0.217 \text{ ng/ml}$ ， $0.794 \pm 0.175 \text{ ng/ml}$ ， $P < 0.05$ ，差异有统计学意义，即血清 OPG 水平在脑梗死患者高于健康对照组，推测血液中 OPG 可能与脑梗死疾病有关。这与 Üstündağ 等^[26]的研究结果相符。其机制可能是 1) 血清 OPG 与动脉粥样硬化重要的早期生理反应所导致的内皮功能障碍及血管损伤和炎症反应有关^[27]，OPG 作用于血管内皮细胞，使内皮细胞寿命发生改变，可能通过影响一氧化氮合酶途径引起血管内皮细胞功能障碍，继而出现炎症反应，参与动脉粥样硬化过程；2) OPG 位于血管内皮细胞的韦伯潘力氏小体 (WPB) 内，当炎症因子刺激血管内皮细胞，使内皮细胞受损，可继而刺激 OPG 进入包膜和管腔，促使 OPG 释放加快，参与血管损伤和炎症反应^[28]，影响动脉粥样硬化过程。Strand 等^[29]分析了 OPG 基因多态性与初发脑卒中的关系，结果得出 OPG-1181C/C 基因型可能是缺血性脑卒中的高危因素。另有研究关于血清 OPG 与动脉粥样硬化性疾病的关系，结果显示高 OPG 水平可能是动脉粥样硬化形成以及心脑血管疾病的独立危险因素^[30-31]，由

此推测 OPG 在动脉粥样硬化性血管疾病中作为一个生物标记物的作用，它的测定可能在脑梗死疾病的早期预测起一定作用。除此之外，Jensen 等^[32]对诊断急性脑梗死的病人随访了近四年，以各种原因的终点死亡率为唯一判定标准，结果发现当血清 OPG < 2945pg/ml 时患者死亡率降低，因此认为血清 OPG 浓度有可能成为动脉粥样硬化性脑梗死病人判断其长期生存率的一项实验室指标。

三、OPG 与斑块稳定性的关系

Golledge 等^[6]研究发现，有临床症状的颈动脉粥样硬化患者其血清 OPG 水平较无临床症状的颈动脉粥样硬化患者明显增高，提示血清 OPG 水平可能与动脉粥样硬化斑块的不稳定性有关。本研究结果显示，颈动脉粥样硬化不稳定斑块组血清 OPG 水平明显高于颈动脉粥样硬化稳定斑块组及颈动脉无粥样硬化斑块组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；颈动脉粥样硬化稳定斑块组血清 OPG 水平高于颈动脉无粥样硬化斑块组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。根据此结果可推测血清 OPG 浓度增加可能与动脉粥样硬化斑块的不稳定程度有一定关系，这与 Song 等^[33]人的研究结果相一致。血清 OPG 在脑梗死合并颈动脉不稳定斑块中的浓度偏高，其原因可能与 OPG 功能多效性相关：1) OPG 与动脉粥样硬化炎症反应及动脉粥样硬化斑块易损性相关^[6]，在不稳定斑块中，OPG 水平升高可能是机体的一种自我保护代偿机制^[34]。2) 在动脉粥样硬化形成过程中，尤其在不稳定斑块形成中，一些炎性因子（如肿瘤坏死因子- α 、白介素-1、血小板源性生长因子）能促进血管平滑肌和血管内皮细胞表达 OPG，随着炎症反应增强，OPG 浓度的表达程度也增加^[35]。由此推测，血清 OPG 水平可能反应斑块不稳定程度。

此外，动脉粥样硬化性脑梗死患者的死亡率可能通过 OPG 水平来评估，原因可能解释为：首先，血清 OPG 水平可能作为斑块不稳定进程中的一项稳定和可靠的指标，它不仅反映骨的内环境稳定和血管钙化过程，而且也可反映炎症情况，潜在的表现出它们之间病理进程的相互影响。第二，OPG 表达在易损的颈动脉粥样硬化斑块中，动脉粥样硬化发展的严重程度可能由血清 OPG 浓度来预测，甚至出现死亡的情况^[36]。第三，OPG 至少在高浓度，可促进基质降解，从而可能导致不稳定斑块的出现以及随后的血管危机事件^[37]，该研究中已将在房颤基础上的缺血性脑卒中患者排除掉，这进一步支持 OPG 浓度最有可能反应动脉粥样硬化性疾病并发血管高风险的预测价值。重要的是要强调，作为良好的脑血管疾病的生物标记物不一定是关注其在急性缺血事件中的致病作用，而是能够反映各种上游途径参与和影响该疾病的能力。我们发现，之所以 OPG 可能具有预测动脉粥样硬化性脑梗死疾病的能力，同其所具有的反映炎症、基质降解、血管钙化的多效性有关，以及这种疾病在发病机制中所涉及的交互过程的能力。目前 OPG 在血管疾病中的具体作用机制尚不清楚，OPG 是否是介导缺血性损伤的直接标记物也未明确。然而，上述研究结果至少可以推测 OPG 可能作为动脉粥样硬化性脑梗死的生物标记物，且可能与斑块的不稳定性相关。

同时，本研究对一般资料进行了比较，统计结果显示，四组差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，可排除一般危险因素对本实验的干扰。将 SBP、DBP、CRP、Hcy 指标在四组

间进行比较,结果显示,该四项指标在健康对照组的浓度低于其余3组,差异有统计学意义($P<0.05$),与以往指出的脑梗死危险因素相一致;此四项指标在其余3组间进行比较,差异均没有统计学意义($P>0.05$)。这可能与SBP、DBP、CRP、Hcy在脑梗死疾病中无明显特异性有关,也可能与环境、地域、样本量较小等因素有关。

四、OPG与传统危险因素的相关关系

本实验对脑梗死患者做Pearson相关统计分析显示,脑梗死患者血清OPG水平与年龄、BMI、TG、TC、LDL、HDL、SBP、DBP之间不存在线性相关关系, P 值均 >0.05 ;血清OPG与CRP、Hcy之间分别呈线性相关关系,且呈正相关, r 值分别为0.221,0.202, P 值均 <0.05 ,提示随着血清CRP或Hcy浓度升高,血清OPG浓度也升高。研究表明^[38],CRP可调节巨噬细胞摄取低密度脂蛋白,转为泡沫细胞,介导内皮功能紊乱、诱导内皮细胞致炎因子的表达,激活补体系统,与颈动脉粥样硬化斑块发生过程直接相关并且使其向易损斑块转变,成为独立危险因素。同时有研究表明^[39],Hcy的增高可抑制一氧化氮的合成并促进其降解,损伤内皮细胞功能,促进低密度脂蛋白氧化,增加血小板聚集,加速动脉粥样硬化的形成及炎症反应。CRP和Hcy作为临床炎性标记物,均参与了动脉粥样形成过程中的炎症反应,加快动脉粥样硬化进展,是动脉粥样硬化性疾病的危险因素。本实验得出OPG与CRP、Hcy分别呈正相关关系,提示在脑梗死发病中OPG与CRP、Hcy之间存在相互关系,至于这种关系是因果关系还是同受其它因素的影响目前尚不清楚。

综上所述,诸多因素均参与了动脉粥样硬化性脑梗死的发生、发展过程,其中炎症因子所致的内皮损伤作为病理过程的开端,炎性介质的进一步释放、动脉粥样硬化的形成、粥样斑块稳定性的破坏等参与其中,各个过程环环相扣。OPG出现在上述炎症反映过程中,它可能通过影响血管内皮细胞、平滑肌细胞活性,导致内皮功能障碍及血管损伤和炎症反应。血清OPG有可能作为脑梗死患者的一项生物检测指标,并且其浓度水平可能作为斑块不稳定程度的评价指标,对脑梗死预测及复发提供可能的依据。

结论

(Conclusion)

- 1、血清 OPG 水平与脑梗死有关。
- 2、血清 OPG 与脑梗死颈动脉粥样硬化斑块的不稳定性相关。

参考文献

(References)

- [1] Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification[J]. *Genes Dev*, 1998, 12(9): 1260–1268.
- [2] Bennett BJ, Scatena M, Kirk EA, et al. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older ApoE^{-/-} mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(9): 2117–2124.
- [3] Shuichi J, Yuji I, Atsushi S, et al. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease [J]. *Circulation*, 2002, 106(10): 1192-1194.
- [4] Mette B. Osteoprotegerin as a biomarker for diabetic cardiovascular complications [J]. *Springerplus*, 2013, 2(10): 658-664.
- [5] Ziegler S, Kudlacek S, Luger A, et al. Osteoprotegerin plasma concentrations correlate with severity of peripheral artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2005, 182(1): 175-180.
- [6] Golledge J, McCann M, Mangan S, et al. Osteoprotegerin and osteopontin are expressed at high concentrations within symptomatic carotid atherosclerosis[J]. *Stroke*, 2004, 35(7): 1636-1641.
- [7] Guldiken B, Guldiken S, Turgut B, et al. Serum osteoprotegerin levels in patients with acute atherothrombotic stroke and lacunar infarct[J]. *Thromb Res*, 2007, 120(4): 511-516.
- [8] Jensen JK, Ueland T, Atar D, et al. Osteoprotegerin concentrations and prognosis in acute schaemic stroke[J]. *J Intern Med*, 2010, 267(4): 410-417.
- [9] Zhang J, Fu M, Myles D, et al. PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways[J]. *Febs Lett*, 2002, 521(2): 180-184.
- [10] 钱怡宁, 张茁, 勇强, 等. 进展性脑卒中与颈动脉斑块性质及高敏 C 反应蛋白水平的关系[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2008, 10(5): 358-360.
- [11] Sztajzel R. Ultrasonographic assessment of the morphological characteristics of the carotid plaque[J]. *Swiss Med Wkly*, 2005, 135(43-44): 635-643.
- [12] Cola C, Clementi E, Biondi-Zoccai G, et al. From carotid plaque biology to serologic markers of vulnerability to predict the risk of cerebrovascular events[J]. *Acta Chir Belg*, 2007, 107(2): 129-142.
- [13] Fishbein MC. The vulnerable and unstable atherosclerotic plaque[J]. *Cardiovasc Pathol*, 19(1): 6-11.
- [14] 冯春芳.彩色多普勒超声检测颈动脉粥样硬化与脑梗死的相关性研究[J].*实用医技杂志*,2011, (1): 16-17.
- [15] Wikstrand J, Wiklund O. Frontiers in cardiovascular science:Quantitative measurements of atherosclerotic manifestations in humans[J]. *Arterioscler Thromb*, 1992, 12(1): 114-119.

- [16] Fourcelot L, Tranquart F, Bray JM. Ultrasound characterization and quantification of carotid atherosclerosis lesions[J]. *Minerva Cardioangiol*, 1999, 47: 15-24.
- [17] Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone densit[J]. *Cell*, 1997, 9(2): 309-319.
- [18] Udagawa N, Takahashi N, Yasuda H, et al. Osteoprotegerin produced by osteoblasts is an important regulator in osteoclast development and function[J]. *Endocrinology*, 2000, 141(9): 3478-3484.
- [19] Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2002, 105(9): 1135-1143.
- [20] Nighoghossian N, Derex L, Douek P. The vulnerable carotid artery plaque: current imaging methods and new perspectives[J]. *Stroke*, 2005, 36(12): 2764-2772.
- [21] Paoletti R, Gotto AM Jr, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy[J]. *Circulation*, 2004, 109(23 Suppl 1): 20-26.
- [22] Lawrie A, Waterman E, Southwood M, et al. Evidence of a role for osteoprotegerin in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Pathol*, 2008, 172 (1): 256-264.
- [23] Morony S, Tintut Y, Zhang Z, et al. Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in *ldlr(-/-)* mice[J]. *Circulation*, 2008, 117(3): 411-420.
- [24] Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, et al. Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(12): 1998-2003.
- [25] Schoppet M, Al-Fakhri N, Franke FE, et al. Localization of osteoprotegerin, tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, and receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand in Mönckeberg's sclerosis and atherosclerosis[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(8): 4104-4112.
- [26] Üstündağ M, Orak M, Güloğlu C, et al. The role of serum osteoprotegerin and S-100 protein levels in patients with acute ischaemic stroke: determination of stroke subtype, severity and mortality[J]. *J Int Med Res*, 2011, 39(3): 780-789.
- [27] Vik A, Mathiesen EB, Johnsen SH, et al. Serum osteoprotegerin, sRANKL and carotid plaque formation and growth in a general population--the Tromso study [J]. *J Throm Haemost*, 2010, 8 (5) : 898-905.
- [28] 赵学廉, 吴雪松, 徐阳, 等. 骨保护素与脑血管疾病[J]. *卒中与神经病*, 2012, 19(1): 61-63.
- [29] Strand M, Soderstrom I, Wiklund PG, et al. Polymorphisms at the osteoprotegerin and interleukin-6 genes in relation to first-ever stroke[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2007, 24(5): 418-425.
- [30] Avignon A, Sultan A, Piot C, et al. Osteoprotegerin is associated with silent coronary

artery disease in high-risk but asymptomatic type 2 diabetic patients[J]. *Diabetes Care*, 2005, 28(9): 2176-2180.

[31] Oh ES, Rhee EJ, Oh KW, et al. Circulating osteoprotegerin levels are associated with age, waist-to-hip ratio, serum total cholesterol, and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy Korean women[J]. *Metabolism*, 2005, 54(1): 49 -54.

[32] Jensen JK, Ueland T, Atar D, et al. Osteoprotegerin concentrations and prognosis in acute ischaemic stroke[J]. *J Intern Med*, 2010, 267(4): 410-417.

[33] Song TJ, Kim J, Yang SH, et al. Association of plasma osteoprotegerin levels with stroke severity and functional outcome in acute ischaemic stroke patients[J]. *Biomarkers*, 2012, 17(8): 738-744.

[34] Kiechl S, Werner P, Knoflach M, et al. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease[J]. *Expert review of cardiovascular therapy*, 2006, 4(6): 801-811.

[35] Harari OA, Liao JK. NF- κ B and innate immunity in ischemic stroke[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, 1207: 32-40.

[36] Sandberg WJ, Yndestad A, Oie E, et al. Enhanced T-cell expression of RANK ligand in acute coronary syndrome: possible role in plaque destabilization[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(4):857–863.

[37] Mosheimer BA, Kaneider NC, Feistritz C, et al. Syndecan-1 is involved in osteoprotegerin-induced chemotaxis in human peripheral blood monocytes[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(5): 2964–2971.

[38] Singh U, Devaraj S, Vasquez-Vivar J, et al. C-reactive protein decreases endothelial nitric oxide synthase activity via uncoupling[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2007, 43(6): 780-791.

[39] Minamino T, Komuro I. Vascular cell senescence:contribution to atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2007, 100(1): 15-26.

综述

骨保护素与动脉粥样硬化的研究进展

摘要 骨保护素 (Osteoprotegerin, OPG) 是一种分泌型糖蛋白, 属于肿瘤坏死因子受体 (TNFR) 超家族成员之一, 与核因子- κ B受体活化因子 (receptor activator of nuclear factor- κ B, RANK)、核因子- κ B受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 共同构成OPG/RANK/RANKL系统。它不仅是骨代谢的一个重要调节因子, 还是重要的血管调节因子, 能够调节血管细胞的存活、骨化及血管壁炎症反应, 与动脉粥样硬化性疾病关系密切。尤其近年来, 发现其与粥样斑块的稳定性有关, 日益受到学者们的关注。虽然OPG作用特点的确切机制尚不明确, 但在临床应用中的价值不可忽视。本文将对近年来OPG系统与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 关系的研究进展进行综述。

关键词 骨保护素 (OPG); 动脉粥样硬化(AS); 脑卒中

1. 骨保护素 (OPG) 结构、功能

骨保护素 (OPG) 是 1997 年 Simonet 等^[1]在对胎鼠小肠 cDNA 测序分析时首次发现的, 它是一种含 401 个氨基酸残基的无跨膜结构的可溶性糖蛋白, 属于肿瘤坏死因子受体 (TNFR) 超家族成员, 但与其它 TNFR 家族成员相比, 它缺少跨膜和胞浆区域, 不具有膜结合结构, 是以分泌蛋白的形式起作用, 它是一个不与膜结合的 TNFR。人类 OPG 基因位于染色体 8q23-24, OPG 分子含有 7 个区段 (D1~D7), N 端的 D1~D4 结构上与肿瘤坏死因子受体超家族的其它蛋白质的胞外区相似, 是高度保守的半胱氨酸富集区, 参与和其配体 RANKL 的结合, 与抑制破骨细胞(osteoclast, OC)的作用直接相关; 靠近 C 端的 D5、D6 为死亡结构域同源区, 位于细胞外, 介导细胞凋亡; D7 具有一个肝磷脂结合位点, 可使 OPG 与细胞膜结合, 还有一个半胱氨酸残基 (Cys379), 负责同源二聚体的二硫键形成。OPG 在体内以单体和由二硫键连接形成的同源二聚体两种形式存在, 相对分子量分别为 60 000 和 120 000, 在组织中大多以二聚体的形式存在。在骨组织中 OPG 主要由成骨细胞产生, 具有降低破骨细胞分化和增加骨密度的功能。它与核因子- κ B 受体活化因子配体 (RANKL)、核因子- κ B 受体活化因子 (RANK) 共同构成 OPG/ RANKL/ RANK 系统, 这是 OPG 在体内发挥生物学效应的主要模式。在血管系统, 主要由血管内皮细胞及血管平滑肌细胞产生^[2-3], OPG 作用于血管内皮细胞, 改变其活性, 使内皮细胞功能改变、出现炎症反应等。已经证实^[4], OPG 的 mRNA 广泛存在于心、肺、肝、肾、胃、胎盘、皮肤、脑、脊髓、甲状腺和骨骼等组织, 表达于骨髓基质细胞、成骨细胞、成纤维细胞、主动脉平滑肌细胞以及单核细胞及 B 淋巴细胞中, 其表达受多种细胞因子调节, 与骨代谢、心血管系统疾病、免疫防御等多种病理生理过程中起着重要的调节作用。

2. OPG、RANKL和RANK之间的关系

OPG、RANKL和RANK三者共同构成骨保护素系统。RANKL是肿瘤坏死因子受体配体家族成员之一，以两种分子形式存在，一种是跨膜结合蛋白，另一种是游离型多肽sRANKL。由炎症激活的内皮细胞、T淋巴细胞、平滑肌细胞等产生，通过炎症因子途径、CD44介导途径、TGF- β 途径使内皮细胞增殖、单核细胞产生基质金属蛋白酶-9（MMP-9）、平滑肌细胞分化、血管壁基质钙化，从而对血管产生损害作用。RANK是RANKL发挥作用的唯一靶受体，其在体内以两种方式存在：跨膜蛋白型和可溶型，前者表达于单核-巨噬细胞系、破骨细胞前体细胞等；后者存在于血液循环中。OPG/RANK/RANKL系统在骨代谢、免疫炎症反应、心血管系统等多个领域起着重要的调控作用。RANKL是唯一具有诱导破骨细胞(osteoclast, OC)发育和分化过程，促使OC发挥作用的因子，亦是调节骨吸收代谢的关键因子。RANKL与RANK结合后启动RANKL信号转导，从而对机体发挥一系列的调节作用。有研究表明，在骨代谢方面，随着OPG含量增高，破骨细胞的骨吸收可被有效抑制[5]。其机制为：OPG是通过与RANK竞争性结合RANKL干扰信号传导过程，阻断了OC的分化途径，使OC的分化程度下降及活化成熟降低，OPG亦可以使已分化的OC的活化成熟受到阻遏，从而抑制OC的形成。OPG通过阻碍RANKL与RANK的结合在整个骨保护素系统中起作用。因此，OPG、RANK、RANKL形成了一个调节细胞分化、成熟、功能的轴。

3. OPG与动脉粥样硬化的动物实验研究

为了调查骨保护素在动脉粥样硬化中的作用，Bennet等^[6]培育了同时缺乏OPG和载脂蛋白E(OPG^{-/-} ApoE^{-/-})的小鼠，与(OPG^{+/+} ApoE^{-/-})相比，OPG能保护老年ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化病变不稳定进展期及钙化，该动物实验得出，OPG是血管内皮细胞的一种抗凋亡信号，通过抑制血管钙化和动脉粥样硬化发挥对血管的保护作用。另外，Ovchinnikova等^[7]用重组OPG治疗高胆固醇血症-载脂蛋白E(-/-)小鼠研究中发现，OPG的治疗并不影响动脉粥样硬化病变的大小，但能促进平滑肌胶原纤维形成和纤维帽的发展，有助于斑块稳定。OPG基因剔除(OPG^{-/-})的小鼠不仅出现严重的骨质流失进而导致骨质疏松，此外，还显示有大量的大动脉中层发生钙化和动脉瘤发生破裂^[8]。在这些小鼠中，高钙血症是因为过度的OC激活导致骨质破坏，而血管钙化和骨化的重要原因是骨质的重吸收。在骨组织中的钙化过程中是OPG起到正性调节作用，而在血管的钙化中OPG起到负性调节的作用，也就是说，OPG可以促进骨质钙化的同时抑制血管的钙化^[9]。然而，OPG在动物模型中发现的血管保护作用尚未在人类实验中观察到。

4. 骨保护素与动脉粥样硬化的临床研究

4.1 骨保护素与冠状动脉粥样硬化性心脏病

近年来大量的临床研究表明，血清OPG水平与冠状动脉粥样硬化性疾病的严重程度和进展密切相关。Zannettino等^[10]对201例行冠状动脉造影患者检测血清中OPG，用冠脉造影显示心脏病的严重程度，其结果显示血清中OPG水平在冠脉狭窄的患者比冠脉无狭窄的患者显著升高，并随着冠脉病变支数及严重程度的增加，血清OPG水平逐渐升高，

多元logistic回归分析显示,血清中OPG水平与冠心病病变程度显著相关。此外,多个实验研究表明,与控制稳定动脉粥样硬化的患者相比,急性心肌梗死、不稳定型心绞痛患者的血清OPG水平较高。研究认为^[11],血清OPG水平除了能预测梗死后心功能衰竭患者的生存率,还能有力而独立地预测急性冠状动脉综合征患者的长期死亡率和心功能衰竭的发展。有研究证实^[12],在As尚未出现临床症状时,血清OPG水平就已经明显升高,较C反应蛋白(CRP)、脑钠肽(BNP)等因子有更好的临床诊断价值。此外,Anand等^[13]比较了血清中OPG、hs-CRP和IL-6水平以及冠状动脉硬化在2型糖尿病患者中与心血管事件的关系,结果只有OPG可预测亚临床疾病和近期的心血管事件,据此可以用它来鉴别高危型糖尿病患者。

4.2 骨保护素与外周动脉粥样硬化

OPG不仅与冠心病密切相关,而且与外周动脉硬化有明显关系,且与其严重程度相关。Stefan等^[14]对900余例动脉粥样硬化进行10年的血清OPG水平的随访,研究发现OPG水平与颈部动脉粥样硬化的进展程度呈正相关。另一项研究^[15]对44位颈动脉粥样硬化行动脉内膜切除术并行体外试验检测颈内动脉的OPG,发现有一过性缺血发作等临床症状的颈动脉粥样硬化组的OPG水平高于无症状组,且血管紧张素II受体拮抗剂可下调这种OPG水平,该项研究进一步提示OPG与As斑块稳定性可能相关,同时也为血管紧张素II受体拮抗剂在动脉硬化疾病中的治疗作用作出了新的解释。一项大规模调查表明^[16],随着OPG浓度的升高,颈动脉钙化和粥样斑块检出率明显增加,调整危险因素后显示OPG与颈动脉斑块独立相关。有学者研究67例严重下肢动脉闭塞的患者行血管造影,以确定严重程度并进行临床分级,同时测血清OPG水平,结果发现临床分级3-4级的严重患者血清OPG水平与下肢动脉闭塞的严重程度有关^[17]。

流行病学研究证实,颈动脉粥样硬化斑块是脑梗死主要危险因素,与脑梗死的发生和发展密切相关^[18],相关研究提示,65%的脑梗死患者伴有各种类型的颈动脉粥样硬化斑块^[19],颈动脉粥样斑块预测脑血管病变的敏感性与特异性均较高^[20]。Prabhakaran^[21]等对1939名平均年龄60岁的多个种族的人群进行了一项前瞻性队列研究,行颈动脉血管彩超检查有无斑块,随访6年余,发现颈动脉粥样斑块与缺血性卒中显著相关。

4.3 OPG与缺血性脑卒中

动脉粥样硬化是与心脑血管事件发生危险密切相关的因素,而OPG是一个与骨代谢和血管钙化密切相关的生物学因子。许多研究报道心脑血管疾病人群的血清OPG水平明显升高。Guldiken等^[22]检测51例急性缺血性脑卒中患者的血清OPG水平,观测到大血管病变型脑卒中患者的血清OPG水平较正常对照组明显升高,差异有明显的统计学意义,但此次研究没有对其预后进行评估。在此后Jensen等^[23]对244例急性缺血性脑卒中患者进行长达47个月的随访,将急性缺血性卒中患者的血清OPG与长期随访相结合进行研究,其数据表明OPG可能具有独立预测急性缺血性卒中患者病死率的能力。在心脑血管方面,OPG可能通过影响血管内皮细胞、平滑肌细胞活性,导致内皮功能障碍及血管损伤和炎症反应。但其具体作用机制尚不清楚。OPG作为血管平滑肌细胞中潜在的存活因

子, 可通过调节平滑肌细胞的凋亡, 进而参与动脉粥样硬化和动脉钙化性疾病的发生、发展过程^[6]。一个好的脑卒中的生物标志, 未必依赖其致病作用, 在急性缺血性事件中则是取决于它是否能够反映各种途径都参与了这种疾病的进展的能力。OPG预测急性缺血性脑卒中的能力就是基于其反映炎症、基质降解和血管钙化的能力, 其反映了脑血管事件的整个病理改变过程中, 不同路径的相互作用。

5. OPG在血管的表达

在血管系统, OPG主要是由内皮细胞和平滑肌细胞(VSMC)表达和释放的。OPG在血管钙化、动脉硬化过程中对内皮细胞和平滑肌细胞发挥复杂的自分泌和旁分泌作用, OPG的缺乏可导致严重的内皮细胞的损伤和功能的异常^[24], 内皮细胞受损可加速AS病变的进程。在细胞受损时, 炎症因子聚集, 内皮细胞、平滑肌细胞产生OPG并受多种因素调节^[25], 例如, 在血管系统中白介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)通过刺激内皮细胞和平滑肌细胞促进OPG的表达和释放^[26], 有研究表明, 成纤维生长因子(bFGF)、血管紧张素II(Ang- II)、血小板源生长因子(PDGF)也可调节OPG表达升高^[27]。

血管钙化的早期是一个和骨发育相似的生物学过程, 其关键是血管平滑肌细胞向成骨样细胞的转化。血管平滑肌细胞在炎症因子等诱导条件下可转变为具有合成和分泌功能的成骨样细胞。OPG与动脉粥样硬化重要的早期生理反应所导致的内皮功能障碍及血管损伤和炎症反应有关^[28], OPG作用于血管内皮细胞, 使内皮细胞寿命发生改变, 可能通过影响一氧化氮合酶途径引起血管内皮细胞功能障碍。Zhang等^[29]研究发现, bFGF、Ang- II、PDGF能刺激内皮细胞和平滑肌细胞产生OPG, 而此三种细胞因子是血管疾病的重要调节因子, 如PDGF可促进VSMC增殖、迁移等而有致As作用, 推测OPG可能通过与这些致动脉粥样硬化因子之间相互作用而发挥其在血管中的作用。

6. 结语

动物实验和临床研究均已表明, OPG是重要的血管调节因子, 与动脉粥样硬化和动脉钙化密切相关, 参与冠心病及其他血管性疾病, 为研究动脉粥样硬化的发病机制与治疗提供了新的思路。其机理和调节途径虽有了初步了解, 但具体机制尚未研究清楚, 且在临床的应用价值需进一步探讨。目前关于骨保护素与脑血管疾病的关系研究还较少, 需进一步探讨OPG水平能否作为脑卒中疾病生物学指标, 以及与颈动脉粥样斑块稳定程度的关系, 这将为我们进一步了解脑梗死防治提供有益思路。

参考文献

- [1] Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density[J]. *Cell*, 1997, 9(2): 309-319.
- [2] Lawrie A, Waterman E, Southwood M, et al. Evidence of a role for osteoprotegerin in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension[J]. *Am J Pathol*, 2008, 172 (1): 256-264.
- [3] Morony S, Tintut Y, Zhang Z, et al. Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in *ldlr(-/-)* mice[J]. *Circulation*, 2008, 117(3): 411-420.
- [4] Kiechl S, Werner P, Knoflach M, et al. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: a bone key to vascular disease[J]. *Expert review of cardiovascular therapy*, 2006, 4(6): 801-811.
- [5] Udagawa N, Takahashi N, Yasuda H, et al. Osteoprotegerin produced by osteoblasts is an important regulator in osteoclast development and function[J]. *Endocrinology*, 2000, 141(9): 3478-3484.
- [6] Bennett BJ, Scatena M, Kirk EA, et al. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older *ApoE(-/-)* mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(9): 2117-2124.
- [7] Ovchinnikova O, Gylfe A, Bailey L, et al. Osteoprotegerin promotes fibrous cap formation in atherosclerotic lesions of *ApoE*-deficient mice—brief report[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(10): 1478-80.
- [8] Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification[J]. *Genes Dev*, 1998, 12(9): 1260-1268.
- [9] Price PA, June HH, Buckley JR, et al. Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(10): 1610-1616.
- [10] Zannettino AC, Holding CA, Diamond P, et al. Osteoprotegerin is localized to the Weibel-Palade bodies of human vascular endothelial cells and is physically associated with von willebrand factor[J]. *J Cell Physiol*, 2005, 204(2): 714-723.
- [11] Omland T, Ueland T, Jansson AM, et al. Circulating osteoprotegerin levels and long-term prognosis in patients with acute coronary syndromes[J]. *Am CollCardiol*, 2008, 51(6): 627-633.
- [12] Dhak shinamurthy VA, Avijit L, Eric L, et al. The relationship between plasma osteoprotegerin levels and coronary artery calcification in uncomplicated type 2 diabetic subjects[J]. *JACC*, 2006, 47(9): 850-857.
- [13] Anand Lahiri A, Lin E, et al. The relationship between plasma osteoprotegerin levels and coronary artery calcification in uncomplicated type 2 diabetic subjects [J]. *JACC*, 2006, 47(9): 850-857.
- [14] Stefan K, George S, George W, et al. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive

- atherosclerosis and cardiovascular disease[J]. *Circulation*, 2004, 109(18): 2175-2180.
- [15] Goolledge J, McCann M, Mangan S, et al. Osteoprotegerin and osteopontin are expressed at high concentrations with in symptomatic carotid atherosclerosis [J]. *Stroke*, 2004, 35(7): 1636-1643.
- [16] Abedin M, Omland T, Ueland T, et al. Relation of osteoprptegerin to coronary calcium and aortic plaque from the Dallas Heart Study[J]. *Am J Cardiol*, 2007, 99(4): 513-518.
- [17] Ziegler S, Kudlacek S, Luger A, et al. Osteoprotegerin plasma concentrations correlate with severity of peripheral artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2005, 182(1): 175-180.
- [18] 田作军, 刘磊, 董亚贤, 等. 影响颈动脉斑块形成因素的临床分析[J]. *中华神经医学杂志*, 2008, 7 (11) : 1168-1173.
- [19] Warlow C, Sudlow C, Dennis M, et al. Stroke[J]. *Lancet*, 2003, 362(9391): 1211-24.
- [20] 张云卿. 缺血性脑血管病患者颈动脉颅外段动脉粥样硬化的临床特征分析[J]. *中国医药指南*, 2011, (29): 245-246.
- [21] Prabhakaran S, Rundek T, Ramas R ,et al. Carotid plaque surface irregularity predicts ischemic stroke:the northern Manhattan study[J]. *Stroke*, 2006, 37(11): 2696-701.
- [22] Guldiken B, Guldiken S, Turgut B, et al. Serum osteoprotegerin levels in patients with acute atherothrombotic stroke and lacunar infarct[J]. *Thromb Res*, 2007, 120(4): 511-516.
- [23] Jensen JK, Ueland T, Atar D, et al. Osteoprotegerin concentrations and prognosis in acute schaemic stroke[J]. *J Intern Med*, 2010, 267(4): 410-417.
- [24] Xiang GD, Sun HL, Zhao LS. Changes of osteoprotegerin before and after insulin therapy in type 1 diabetic patients[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2007, 76(2): 199-206.
- [25] Olesen P, Ledet T, Rasmussen LM. Arterial osteoprotegerin:increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth muscle cells by insulin and TNF-alpha[J]. *Diabetologia*, 2005, 48(3): 561-568.
- [26] Kaden JJ, Bickelhaupt S, Grobholz R, et al. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2004, 36(1): 57-66.
- [27] Secchiero P, Coralina D, Rimondi E, et al. Activation of the P53 pathway down-regulates the osteoprotegerin expression and release by vascular endothelial cells[J]. *Blood*, 2008, 111(3): 1287-1294.
- [28] Vik A, Mathiesen EB, Johnsen SH, et al. Serum osteoprotegerin, sRANKL and carotid plaque formation and growth in a general population--the Tromso study [J]. *J Throm Haemost*, 2010, 8 (5) : 898-905.
- [29] Zhang J, Fu M, Myles D, et al. PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways[J]. *Febs Lett*, 2002, 521(2): 180-184.

致谢

(Acknowledgements)

光阴荏苒，三年的研究生求学生活即将结束，回首往昔，奋斗和辛劳、甜美与欢笑都将成为死死的记忆，我努力了，奋斗了，且收货良多。在论文即将完成之际，我谨向所有关心、爱护、帮助我的人们表示最诚挚的感谢与最美好的祝愿。

衷心感谢我的导师王宏教授，本课题研究是在他的悉心指导、关心下完成，从论文的选题、实验设计与实施以及论文的撰写，都倾注了他大量的心血和汗水。三年来，导师渊博的专业知识，严谨的治学态度，精益求精的工作作风，诲人不倦的高尚师德，朴实无华、平易近人的人格魅力对我影响深远。导师不仅授我以文，而且教我做人，虽历时三载，却赋予我终生受益无穷之道。涓涓师恩，铭记于心。

感谢石河子大学医学院神经内科各位老师、同学，体检中心、检验科等在资料及标本收集过程中给予的大力支持和帮助！

非常感谢 2011 级全体研究生同学，与他们亲如兄弟姐妹的友谊，与他们携手共同走过的日子将是我珍贵而美好的回忆，感谢张玺、贾瑞超、毕璐洁等同学在生活、学习、实验中的互相鼓励、互相帮助、互相支持！

最后，我要向我的家人，表示深深的谢意。你们的理解、支持、鼓励催我更加上进，你们的情感永远都是我上进的不竭的动力源泉。

在论文完成之际，向所有关心、支持和帮助我的老师、同学、朋友和亲人致敬！谨以此文献给所有关注过和关注着我的人，祝愿他们身体健康，心想事成，万事如意！

作者简介

(Author Biography)

段玉玲，女，生于1988年1月，籍贯河北。2011年7月毕业于河北医科大学，获医学学士学位。2011年9月起在石河子大学医学院内科学专业学习。在校三年，认真学习完成了25个学分，并圆满完成教学实践任务，CET-6成绩达到学校要求。认真查阅并阅读国内外相关文献，在导师的指导下，完成了综述撰写、实验设计、论文开题以及论文撰写。

在学期间发表的文章:

- 1.段玉玲,毕璐洁,王宏等. 脑梗死患者血清骨保护素与颈动脉粥样硬化斑块的关系[J]. 实用临床医学,2014,15(2):7-9.
- 2.毕璐洁,段玉玲,王宏等. 急性脑梗死患者血清五聚素3与颈动脉粥样硬化斑块相关性研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2014,3(28):224-226.

石河子大学硕士研究生学位论文

导师评阅表


研究生姓名	段玉玲	学制	三年制
专业	内科学	研究方向	神经系统疾病

学术评语:

脑卒中是人类主要致死疾病的首位原因, 它在美国和欧洲等国家是第三杀手, 在中国则是首位死亡原因。我国每年新发脑卒中患者约 150-200 万人, 每年约 150 万人因卒中死亡, 存活的患者人数 600 万-700 万。存活患者中约有 75% 的患者丧失劳动能力, 其中 50%-70% 遗留严重残疾, 给社会及家庭带来了巨大的躯体、心里及经济上的负担。从临床实践观察中我们发现, 颈动脉粥样硬化是脑卒中的重要发病原因, 且与颈动脉斑块稳定性有关系。

本研究采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测技术对急性脑梗死患者及对照组进行血清 OPG 水平的检测, 观察脑梗死无颈动脉粥样斑块组、脑梗死合并颈动脉稳定斑块组及脑梗死合并颈动脉不稳定斑块组血清 OPG 在急性期水平, 进一步探讨 OPG 水平与其他指标的相关性。结果显示: 脑梗死患者血清 OPG 水平较正常对照组 OPG 水平升高, 且脑梗死合并颈动脉不稳定斑块组 OPG 水平较脑梗死合并颈动脉稳定斑块组升高, 脑梗死合并颈动脉稳定斑块组 OPG 水平较脑梗死无颈动脉斑块组水平升高, 提示血清 OPG 水平升高与脑梗死的病变严重程度密切相关, 血清 OPG 水平可能作为脑梗死的独立预测因子, 对疾病的防治具有重要价值。相关分析结果显示 OPG 水平可能与 CRP、Hcy 因素相关, 可能通过相互之间的作用影响了脑梗死颈动脉粥样硬化的形成。

本论文通过对脑梗死患者进行血清 OPG 水平检测, 分析血清 OPG 水平与其它指标的相关性, 进一步阐明脑梗死的机制提供了理论依据, 也为评价脑梗死严重程度及预后提供依据。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。

指导教师签字: 
2014 年 6 月 6 日

