

• 论 著 •

急性缺血性脑卒中患者血浆 TAFI 和炎症因子水平的变化及意义

逢洪波¹, 任玉峰², 刘 峰³, 王 帅³, 王洪波³, 宫晓丽³

(1. 大连理工大学生物医学工程博士后流动站, 辽宁大连 116024; 2. 中国医科大学附属第四医院和平院区神经内科, 沈阳 110006; 3. 辽宁迈迪生物科技有限公司技术部, 辽宁本溪 117004)

摘要:目的 探讨急性缺血性脑卒中(AIS)患者血浆凝血酶激活的纤溶抑制物(TAFI)和炎症因子水平变化,并阐述二者之间的联系,为 AIS 早期诊断或风险因素评估奠定实验基础。**方法** 选取临床确诊的 AIS 患者 86 例为 AIS 组,以 86 例健康体检者为对照组。TAFI 测定采用免疫比浊法,白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)测定采用酶联免疫吸附试验,C-反应蛋白(CRP)和降钙素原(PCT)测定采用胶体金免疫层析法。**结果** AIS 患者血浆 TAFI 水平较对照组显著下降[(17.48 $\pm$ 2.79) μ g/mL vs. (27.23 $\pm$ 3.27) μ g/mL],炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平显著升高[(10.14 $\pm$ 2.05)pg/mL vs. (4.54 $\pm$ 0.78)pg/mL;(110.10 $\pm$ 11.12)pg/mL vs. (81.18 $\pm$ 7.58)pg/mL;(13.02 $\pm$ 1.61)pg/mL vs. (6.90 $\pm$ 1.55)pg/mL],急性期蛋白 CRP 和 PCT 也显著升高[(0.80 $\pm$ 0.11)ng/mL vs. (0.43 $\pm$ 0.10)ng/mL;(16.41 $\pm$ 2.41) μ g/mL vs. (5.60 $\pm$ 1.11) μ g/mL],差异均有统计学意义($P<0.05$)。两组血浆 TAFI 水平与相应炎症因子及急性期蛋白水平呈显著负相关($P<0.05$)。**结论** TAFI 对慢性血管内炎症反应有抑制作用;TAFI 有可能成为辅助诊断早期 AIS 或评估其风险性的生物标志物。

关键词:急性缺血性脑卒中; 凝血酶激活的纤溶抑制物; 炎症因子; 急性期蛋白**DOI:**10.3969/j.issn.1672-9455.2017.10.028 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)10-1436-03

Changes and significance of thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and proinflammatory cytokines in patients with acute ischemic stroke

PANG Hongbo¹, REN Yufeng², LIU Feng³, WANG Shuai³, WANG Hongbo³, GONG Xiaoli³

(1. Postdoctoral Research Station, Biomedical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning 116024, China; 2. Department of Neurology, Heping District, the Fourth Affiliated Hospital of Chinese Medical University, Shenyang, Liaoning 110006, China; 3. Technology Center, Liaoning MEDI Biological Company, Benxi, Liaoning 117004, China)

Abstract: **Objective** To investigate the serum level of thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) and inflammatory cytokines in patients with acute ischemic stroke (AIS), and to explore their relationship, as well as in order to lay an experimental foundation to early diagnosis or risk factor assessment of AIS. **Methods** A total of 86 acute ischemic stroke patients were selected as AIS group, and 86 cases of healthy people were selected as control group. Serum TAFI level was determined by immunoturbidimetry. Serum interleukine-1 β (IL-1 β), interleukine-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Serum proclitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) levels were determined by colloidal gold immunochromatography. **Results** Serum TAFI level in AIS group was significantly lower than that of the control group [(17.48 $\pm$ 2.79) μ g/mL vs. (27.23 $\pm$ 3.27) μ g/mL], ($P<0.05$). Serum IL-1 β , IL-6, TNF- α , PCT and CRP levels in AIS group [(10.14 $\pm$ 2.05)pg/mL vs. (4.54 $\pm$ 0.78)pg/mL;(110.10 $\pm$ 11.12)pg/mL vs. (81.18 $\pm$ 7.58)pg/mL;(13.02 $\pm$ 1.61)pg/mL vs. (6.90 $\pm$ 1.55)pg/mL;(0.80 $\pm$ 0.11)ng/mL vs. (0.43 $\pm$ 0.10)ng/mL;(16.41 $\pm$ 2.41) μ g/mL vs. (5.60 $\pm$ 1.11) μ g/mL] were significantly higher than that of the control group. Correlation analysis showed that there was a negative correlation between serum TAFI concentration and IL-1 β , IL-6, TNF- α , PCT and CRP levels both in AIS patients and in controls. **Conclusion** TAFI could inhibit chronic vascular inflammation. The change of TAFI could be considered as a biomarker for AIS diagnosis or high risk assessment factor.

Key words: acute ischemic stroke; thrombin activatable fibrinolysis inhibitor; inflammatory cytokine; acute phase protein

凝血酶激活的纤溶抑制物(TAFI)是近年来发现的一个糖蛋白分子。TAFI 由肝细胞合成并分泌,以酶原形式存在于血浆中,在调节凝血与纤溶过程中起重要作用;活化的凝血酶能够将 TAFI 激活,但在包括阳离子在内的一些因素辅助作用下激活作用才更有效率^[1]。凝血过程中,TAFI 被凝血酶切除掉长度为 92 个氨基酸残基的片段而激活,成为活化 TAFI(TAF-

Ia)。TAFIa 通过除去纤维蛋白降解过程中产生的 C 末端赖氨酸残基而阻止纤维蛋白降解,抑制纤溶酶活化^[2]。凝血与纤溶过程的失衡是血栓形成的主要原因,是动脉粥样硬化所致脑梗死急性发作的关键因素^[3]。但是,在血栓性疾病的报道中,血浆 TAFI 水平的变化并不一致。现有研究认为,TAFI 不仅调控凝血与抗凝过程,也是调节炎症反应和炎症因子水平的重要

因素^[4]。炎症反应参与动脉粥样硬化过程,是血栓性疾病发作的基础。本试验拟研究急性缺血性脑卒中(AIS)患者血浆TAFI和炎症因子的变化,并阐述这些变化的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取中国医科大学附属第四医院 2014 年 10 月至 2015 年 7 月的入院的 86 例 AIS 患者,其中男 52 例,女 34 例;年龄 36~77 岁,平均(58.29±12.63)岁。AIS 的诊断参照《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014》标准^[5]。选择医院体检中心健康体检者 86 例作为对照组,其中男 48 例,女 38 例;年龄 25~78 岁,平均(57.57±13.96)岁。两组研究对象一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法 患者入院 24 h 内无菌采集静脉血,血液标本用枸橼酸钠抗凝。采血后标本立即置于冷环境中,4℃条件下 2 500 r/min 离心 25 min,分离血浆,在-20℃冰箱中保存,专人批量检测。TAFI、降钙素原(PCT)、C 反应蛋白(CRP)检测使用辽宁迈迪生物科技有限公司生产的试剂盒。TAFI 检测

采用免疫比浊法,用全自动生化仪测定(Beckman Coulter,美国)。PCT 和 CRP 检测采用胶体金免疫层析法,用胶体金免疫分析仪定量分析(HY Triage,泰州)。白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子(TNF)- α 采用酶联免疫吸附试验检测,试剂盒购自晶美生物科技有限公司,用酶标仪测定(Biotek ELx808,美国)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件对数据进行分析。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;采用 Pearson 相关分析数据间的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组研究对象血浆 TAFI、炎症因子和急性期反应蛋白的比较 结果显示,TAFI 在 AIS 组显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组相比,AIS 组患者炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 显著高于对照组,急性期蛋白 CRP 和 PCT 也显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组研究对象血浆 TAFI、炎症因子和急性期蛋白水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TAFI ($\mu\text{g/mL}$)	IL-1 β (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	PCT (ng/mL)	CRP ($\mu\text{g/mL}$)
AIS 组	86	17.48±2.79	10.14±2.05	110.10±11.12	13.02±1.61	0.80±0.11	16.41±2.41
对照组	86	27.23±3.27*	4.54±0.78*	81.18±7.58*	6.90±1.55*	0.43±0.10*	5.60±1.11*

注:与 AIS 组比较,* $P<0.05$ 。

2.2 AIS 患者血浆 TAFI 水平与急性期蛋白及炎症因子的相关性分析 以 AIS 患者血浆 TAFI 水平为自变量 X ,以炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平为 Y 进行相关性分析。结果显示,TAFI 水平与 IL-1 β ($Y=-0.661\ 8X+21.712,r^2=0.813\ 7,P=0.002\ 10$)、IL-6 ($Y=-3.574\ 4X+172.510,r^2=0.807\ 6,P=0.000\ 32$)和 TNF- α ($Y=-0.514\ 2X+21.967,r^2=0.812\ 5,P=0.000\ 34$)水平呈负相关,与急性期蛋白 CRP ($Y=-0.771\ 6X+29.911,r^2=0.803\ 9,P=0.000\ 65$)和 PCT 水平 ($Y=-0.035\ 2X+1.419,r^2=0.848\ 4,P=0.000\ 54$)也呈显著负相关,提示 AIS 患者血浆 TAFI 水平与炎症因子及急性期蛋白之间存在关联。

2.3 对照组血浆 TAFI 水平与急性期蛋白及炎症因子的相关性 以对照组研究对象血浆 TAFI 水平为自变量 X ,以炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平为 Y 进行相关性分析。结果显示,健康对照组血浆 TAFI 水平与相应炎症因子 IL-1 ($Y=-0.217\ 9X+10.475,r^2=0.830\ 2,P=0.000\ 76$)、IL-6 ($Y=-2.073\ 2X+137.640,r^2=0.800\ 5,P=0.000\ 76$)和 TNF- α ($Y=-0.433\ 9X+18.716,r^2=0.829,P=0.000\ 83$)水平呈显著负相关,与急性期蛋白 CRP ($Y=-0.332\ 3X+14.653,r^2=0.949\ 4,P=0.000\ 84$)和 PCT 水平 ($Y=-0.028\ 2X+1.206,r^2=0.884\ 8,P=0.000\ 73$)也呈显著负相关,说明对照组血浆 TAFI 水平与炎症因子及急性期蛋白之间也存在关联。

3 讨 论

本文研究了 AIS 患者血浆 TAFI 水平变化,以及 TAFI 与炎症因子及急性期蛋白的关系,结果发现 AIS 患者 TAFI 水平下降,且 TAFI 水平与炎症因子及急性期蛋白呈负相关。

TAFI 是在研究血凝调控过程中发现的由肝细胞分泌的具有纤溶抑制作用的单链糖蛋白分子,但现在越来越多的研究表明,TAFI 还有强烈的炎症抑制作用,可控制体内炎症反应

的强度^[6]。作为纤溶抑制分子,TAFI 在血栓形成过程中被凝血酶激活,切除掉长度为 92 个氨基酸残基的激活片段活化为 TAFIa,后者发挥纤溶抑制作用后迅速发生结构改变,转化为无活性的形式 TAFIai 而失活^[7]。本试验中所观察到的 AIS 患者血浆 TAFI 水平下降,其原因可能是由于 TAFI 在凝血过程中被凝血酶分解,体内产生的 TAFI 来不及补充消耗,故而血浆中 TAFI 水平下降。由于在凝血过程中 TAFI 被活化的凝血酶分解,AIS 患者 TAFI 酶原水平下降,血浆 TAFIa 活性升高。TAFIa 是 TAFI 裂解为活化片段的产物,具有对抗纤溶、稳定血栓的作用。检测血浆 TAFI 水平变化,对于急性期脑血栓形成的判断及严重程度的评估都有良好的辅助作用^[8]。本试验结果与上述文献报道相一致。

TAFI 是一个多功能的分子,除了抗纤溶作用外,其炎症抑制作用越来越引起研究者的重视。TAFIa 能够水解炎症分子补体 C3a、C5a 和 osteopontin,抑制炎症分子 IL-1、IL-6 和 TNF- α 的表达,对于各种原因所导致的炎症损伤有良好的保护作用^[9]。血管壁慢性炎症反应在心脑血管事件中的作用已被学术界广泛认可,是公认的导致心脑血管事件的元凶^[10]。炎症因子在血管壁慢性炎症过程中起决定性作用,这些炎症因子最终导致动脉粥样硬化斑块破溃和/或血栓形成^[11]。粥样硬化斑块内炎症反应中,炎症细胞的趋化、募集及活化等活动离不开炎症因子的作用,尤其是补体分子的作用更为重要;粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞等均参与动脉粥样硬化血管壁炎症反应^[12]。本试验显示,AIS 患者血浆炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α ,以及急性期蛋白 CRP 和 PCT 显著高于对照组。本试验首次研究在 AIS 患者血浆 TAFI 水平与炎症因子的关系,发现无论 AIS 组还是对照组,TAFI 水平与炎症因子均呈显著负相关关系。这一试验结果提示,TAFI 对发生在血管壁的炎症反应有抑制作用,一定水平的 TAFI 有可能是阻止血管内血

栓发生的重要因素。

综上所述,本试验研究了 AIS 患者血浆 TAFI 水平与炎症因子及急性期蛋白的变化,发现患者 TAFI 水平下降,炎症因子和急性期蛋白水平升高,二者呈显著负相关关系。TAFI 有可能成为早期诊断 AIS 或评估其高危风险性的一项良好指标。

参考文献

- [1] Plug T, Meijers JC. Stimulation of thrombin-and plasmin-mediated activation of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor by anionic molecules[J]. *Thromb Res*, 2016, 146(1): 7-14.
- [2] Vercauteren E, Gils A, Declercq PJ. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor; a putative target to enhance fibrinolysis[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2013, 39(4): 365-372.
- [3] Schellinger PD, Alexandrov AV, Barreto AD, et al. Combined lysis of thrombus with ultrasound and systemic tissue plasminogen activator for emergent revascularization in acute ischemic stroke (CLOTBUST-ER): design and methodology of a multinational phase 3 trial[J]. *Int J Stroke*, 2015, 10(7): 1141-1148.
- [4] Beyazit Y, Sayilir A, Tanoglu A, et al. Plasma Thrombin-activatable Fibrinolysis Inhibitor Levels Correlate with the Disease Activity of Ulcerative Colitis[J]. *Intern Med*, 2016, 55(14): 1831-1836.
- [5] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014[J]. *中国神经科杂志*, 2015, 48(4): 246-257.

- [6] Mook-Kanamori BB, Valls Serón M, Geldhoff M, et al. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor influences disease severity in humans and mice with pneumococcal meningitis[J]. *J Thromb Haemost*, 2015, 13(11): 2076-2086.
- [7] Plug T, Meijers JC. Structure-function relationships in thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor[J]. *J Thromb Haemost*, 2016, 14(4): 633-644.
- [8] Alessi MC, Gaudin C, Grosjean P, et al. Changes in Activated Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor Levels Following Thrombolytic Therapy in Ischemic Stroke Patients Correlate with Clinical Outcome[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2016, 42(5/6): 404-414.
- [9] Naito M, Taguchi O, Kobayashi T, et al. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor protects against acute lung injury by inhibiting the complement system[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 49(4): 646-653.
- [10] Sager HB, Nahrendorf M. Inflammation; a trigger for acute coronary syndrome[J]. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 2016, 60(3): 185-193.
- [11] Swirski FK, Nahrendorf M. Leukocyte Behavior in Atherosclerosis, Myocardial Infarction, and Heart Failure[J]. *Science*, 2013, 339(6116): 161-166.
- [12] Cybulsky MI, Cheong C, Robbins CS. Macrophages and Dendritic Cells; Partners in Atherogenesis[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 637-652.

(收稿日期: 2016-12-21 修回日期: 2017-01-19)

(上接第 1435 页)

- [2] 付好, 童晶晶, 潘琦, 等. IL-23/IL-17 炎症轴在溃疡性结肠炎中的作用[J]. *中华消化内镜杂志*, 2010, 27(4): 200-203.
- [3] Chibbar R, Dieleman LA. Probiotics in the management of ulcerative colitis[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2015, 49(S1): 50-55.
- [4] Derikx LA, Dieleman LA, Hoentjen F. Probiotics and prebiotics in ulcerative colitis[J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2016, 30(1): 55-71.
- [5] 郝丽君, 唐文君, 郑荣娟. 谷胺酰胺颗粒灌肠对溃疡性结肠炎患者 IFN- γ 、IL-4、IL-8 的影响及疗效观察[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(22): 4742-4744.
- [6] 陈英全, 陈万般. 活动期溃疡性结肠炎患者 Th1/Th2 平衡的特点与药物调节[J]. *海南医学院学报*, 2010, 16(4): 429-431.
- [7] 王程玉林, 孙军刚, 耿煜, 等. Treg/Th17 平衡轴在溃疡性结肠炎发病中的意义及流式细胞术检测进展[J]. *免疫学杂志*, 2015, 31(6): 541-544.
- [8] 刘雪平, 赵中松, 李建华, 等. 溃疡性结肠炎治疗前后 Treg 及 Th17 细胞的变化及意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(29): 4525-4529.
- [9] 张晓斐, 蒋文瑜, 于鹏丽, 等. Th17 细胞及其相关因子在

活动期溃疡性结肠炎患者中的表达及意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2013, 21(1): 19-26.

- [10] 姚宏凤, 沈洪, 郑凯, 等. 溃疡性结肠炎患者血浆及肠黏膜组织中 IL-23、IL-17 的表达及相互关系[J]. *世界华人消化杂志*, 2013, 21(29): 3153-3157.
- [11] Feng JS, Yang Z, Zhu YZ, et al. Serum IL-17 and IL-6 increased accompany with TGF- β and IL-13 respectively in ulcerative colitis patients[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(12): 5498-5504.
- [12] Gheita TA, El Gazzar II, El-Fishawy HS, et al. Involvement of IL-23 in enteropathic arthritis patients with inflammatory bowel disease: preliminary results[J]. *Clin Rheumatol*, 2014, 33(5): 713-717.
- [13] 肖南平, 欧阳钦. IL-23/IL-17 轴与炎症性肠病[J]. *国际消化病杂志*, 2008, 28(3): 234-236.
- [14] Mullner K, Miheller P, Herszenyi L, et al. Probiotics in the management of Crohn's disease and ulcerative colitis[J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(28): 4556-4560.
- [15] 庞智, 李宁, 丁海燕, 等. 益生菌联合美沙拉秦治疗溃疡性结肠炎的疗效和安全性观察[J]. *中国微生态学杂志*, 2016, 28(1): 41-46.

(收稿日期: 2016-12-21 修回日期: 2017-01-19)