

缺血性中风中医辨证分型与 ICAM-1 和 CD62P 表达水平的相关性

祝美珍 李志刚

摘要 目的 观察缺血性中风中医证型与血中性粒细胞表面细胞间黏附分子(ICAM-1)和血小板膜上 P 选择素(CD62P)变化的关系,探讨缺血性中风的发病机理。方法 将 72 例缺血性中风患者按中医辨证分为 3 个证型组:即痰瘀阻络型组、痰热腑实型组和气虚血瘀型组,每组 24 例,另设一健康人对照组(24 名)。用流式细胞仪测定各组患者的 ICAM-1、CD62P 的表达水平。结果 缺血性中风患者 ICAM-1、CD62P 水平均显著高于健康人对照组($P < 0.01$),其中痰瘀阻络型组 ICAM-1 的表达水平显著高于气虚血瘀型组和痰热腑实型组($P < 0.01$),痰瘀阻络型组和气虚血瘀型组 CD62P 的表达水平显著高于痰热腑实型组($P < 0.01$)。结论 缺血性中风不同证型的 ICAM-1、CD62P 表达水平存在一定的差异性,ICAM-1 反映了体内痰阻或痰瘀互结的病理状态,而 CD62P 则反映了体内血瘀状态。提示痰瘀阻络可能是缺血性中风的病机关键。

关键词 缺血性中风;中医辨证分型;中性粒细胞表面细胞间黏附分子;血小板膜上 P 选择素

Study on Correlationship of TCM Syndrome Type and Expression of ICAM-1, CD62P in Patients with Ischemic Stroke ZHU Mei-zhen and LI Zhi-gang *Department of Diagnostics, College of Basic Medicine, Guangxi TCM University, Nanning (530001)*

Objective To study the correlationship between TCM Syndrome type with changes of neutrophil surface intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and platelet membrane P selectin (CD62P) in patients with ischemic stroke for exploring the pathogenesis of the disease. **Methods** Seventy-two patients with ischemic stroke were divided into 3 typing groups according to TCM syndrome-differentiation, the Meridian-phlegm stagnancy group (MPS), the visceral phlegm-heat accumulation group (VPHA) and the qi-deficiency with blood stasis group (QDBS), 24 in each group. Besides, a control group consisted of 24 healthy subjects was set up. Blood levels of ICAM-1 and CDP62 expression were monitored by flow cytometry. **Results** Blood levels of ICAM-1 and CD62P expression in ischemic stroke patients were significantly higher than those in healthy subjects ($P < 0.01$). Among the three type groups, ICAM-1 expression was significantly higher in MPS than that in the VPHA and the QDBS group ($P < 0.01$), and CD62P expression in the MPS and the QDBS group was significantly higher than that in the VPHA ($P < 0.01$). **Conclusion** Blood levels of ICAM-1 and CD62P expression in different typing of patients with ischemic stroke are different. ICAM-1 expression reflects the pathological state of phlegm retention or phlegm-stasis mutual bindings, CD62P expression reflected the blood stasis state in organism, these evidences suggest that MPS may be the key pathogenic factor of ischemic stroke.

Key words ischemic stroke; TCM Syndrome typing; neutrophil surface intercellular adhesion molecule-1; platelet membrane P selectin

2002 年 6 月—2003 年 1 月,我们对 72 例缺血性中风患者进行了临床研究,观察其中医辨证分型与血中性粒细胞表面细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和血小板膜上 P 选择素 (CD62P) 变化的关系,探讨缺血性中风不同中医证型

指标变化的可能机理,寻求缺血性中风中医辨证分型的客观依据。

资料与方法

1 临床资料

1.1 诊断标准 西医诊断参照《各类脑血管病诊断要点》^[1],包括动脉硬化性血栓性梗塞和腔隙性梗塞。中医辨证分型根据其临床表现可分为 3 型(1)风痰瘀血、痹阻脉络型(简称痰瘀阻络型):症见半身不

作者单位:广西中医学院基础医学院中医诊断学教研室(南宁 530001)

通讯作者:祝美珍;Tel:13978148503;E-mail: finecody@ yahoo.com.cn
万方数据

遂,口眼斜,舌强言謇或不语,偏身麻木,头晕目眩,舌质暗淡,舌苔薄白或白腻,脉弦滑。(2)痰热腑实、风痰上扰型(简称痰热腑实型):症见半身不遂,口眼斜,舌强言謇或不语,偏身麻木,腹胀,便干便秘,头晕目眩,咯痰或痰多,舌质暗红或暗淡,苔黄或黄腻,脉弦滑或偏瘫侧弦滑而大。(3)气虚血瘀型:症见半身不遂,口眼斜,舌强言謇或不语,偏身麻木,面色白,气短乏力,口流涎,自汗出,心悸便溏,手足肿胀,舌质暗淡,舌苔薄白或白腻,脉沉细、细缓或细弦。

1.2 病例选择 符合动脉硬化性血栓性脑梗塞和腔隙性梗塞诊断标准者,检测前均未使用过免疫调节剂,均为急性发病,病程在 3 天以内。排除:短暂性脑缺血发作(TIA);经检查证实由脑肿瘤、脑外伤、脑寄生虫病、代谢障碍、风湿性心脏病、冠心病及其他心脏病合并房颤引起脑栓塞者;合并有肝、肾、造血系统和内分泌系统等原发性疾病和精神病患者。

1.3 一般资料 选择我院第一附属医院神经内科住院部的 72 例患者为观察对象,风痰瘀血型组 24 例,男 13 例,女 11 例,年龄 45~82 岁,平均(64.46±10.75)岁。痰热腑实型组 24 例,男 14 例,女 10 例,年龄 40~85 岁,平均(64.29±12.20)岁。气虚血瘀型组 24 例,男 15 例,女 9 例,年龄 46~78 岁,平均(63.04±8.47)岁。3 组一般资料比较差异无显著性($P>0.05$),具有可比性。健康对照组 24 例,均为研究期间在广西中医学院附属医院体检的健康成年人,其中男 13 名,女 11 名,年龄 43~74 岁,平均(60.67±9.04)岁。

2 方法 血 ICAM-1 和血小板膜 CD62P 的水平测定采用 FITC 标记法。

2.1 主要试剂 异硫氰酸荧光素标记的单克隆抗体 ANTI ICAM-1/CD54(序列号 852.691.010),抗血小板 α -颗粒膜蛋白-140(ANTI P-selectin/CD62P 序列号:852.751.010);阴性对照羊抗鼠(IgG1 Control-FITC 序列号 857.071.010);以上试剂均购自法国 DIACONE 公司,标准荧光微球、配套的清洗液、鞘液、全血溶解试剂均购自美国 BECKMAN COULTER 公司。

2.2 主要仪器 CT 机(G-4000 I 型,美国通用公司产品);全自动渗透压分析仪(Advanced 3900 型,美国 BECKMAN COULTER 公司产品);EPICS IMMUNOLOGY WORKSTATION(EPICS 型,美国 BECKMAN COULTER 公司产品);低温冰箱(Haier-217B,青岛海尔股份有限公司产品);微量加样器(X32146 型 40~200 μ l, Finepipette Digital Company; X64268 型 0.5~10 μ l, Finepipette Digital Company);流式细胞分析仪(EPICS XL 型,美国 BECKMAN-

COULTER 公司产品)。

2.3 检测方法 抽取受检者在入院 48h 内的清晨空腹静脉血 2ml(EDTA 抗凝),加样前摇匀,每个血样标本分别取 100 μ l 全血置干净试管中,各加 CD54、CD62P、IgG1-Control 试剂 10 μ l,并涡旋混匀,置室温暗处避光孵育约 30min,用全血溶解试剂裂解红细胞;再置室温暗处孵育 5min;用流式细胞仪检测血中性粒细胞和血小板的荧光强度,计算阳性百分率。全部数据用流式细胞仪和软件 SYSTEM II 获取和分析。

3 统计学方法 由 SPSS11.0 统计软件完成,两个样本均数的比较用 F 检验。

结 果

1 3 证型组患者全血 ICAM-1 阳性表达水平结果 见表 1。3 证型组患者全血 ICAM-1 的阳性表达水平均显著高于健康对照组($P<0.01$);3 证型间比较:痰瘀阻络型组 ICAM-1 的阳性表达水平显著高于痰热腑实型组和气虚血瘀型组($P<0.01$);3 证型组 ICAM-1 的阳性表达水平依气虚血瘀型→痰热腑实型→痰瘀阻络型次序递增。痰热腑实型组和气虚血瘀型组比较差异无显著性。

2 3 证型组患者全血 CD62P 的阳性表达水平结果 见表 1。3 证型患者 CD62P 的阳性表达水平均显著高于健康对照组($P<0.01$);痰瘀阻络型组和气虚血瘀型组 CD62P 的阳性表达水平显著高于痰热腑实型组($P<0.01$);3 证型 CD62P 的阳性表达水平依痰热腑实型→气虚血瘀型→痰瘀阻络型次序递增。痰瘀阻络型组和气虚血瘀型组比较差异无显著性。

表 1 3 证型患者 ICAM-1 及 CD62P 表达水平比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ICAM-1	CD62P
健康对照	24	39.15±6.41	36.24±6.41
痰瘀阻络型	24	66.69±6.11*△▲	60.49±8.49*△
痰热腑实型	24	55.73±9.81*	45.94±4.55*
气虚血瘀型	24	53.81±11.95*	58.84±6.64*△
F 值		65.19	64.44

注:与健康对照组比较,* $P<0.01$;与痰热腑实型组比较,△ $P<0.01$;与气虚血瘀型组比较,▲ $P<0.01$

讨 论

血中性粒细胞表面细胞间 ICAM-1 是免疫球蛋白(Ig)超家族成员之一,是一个高糖化的整合膜蛋白^[2]。脑缺血再灌注时大量白细胞在微血管内贴壁和嵌塞,阻塞血管腔使局部血流动力学环境发生改变,被激活的白细胞游出血管外,释放氧自由基和蛋白水解酶,造成局部组织损伤,活化的白细胞还释放大量炎性介质

和细胞因子,吸引更多白细胞进入组织,形成恶性循环^[3]。许多研究表明,抗 ICAM-1 抗体可以明显降低缺血区凋亡细胞数^[4]。我们的研究发现缺血性中风患者血 ICAM-1 的表达水平显著高于健康对照组,可说明 ICAM-1 是缺血性中风发病的重要因素之一,脑梗塞部位存在炎症反应,栓子、炎症和损伤等综合因素引起局部脑组织急性缺血和坏死,脑缺血后,缺血区产生的具有强大致炎作用的细胞因子可诱导微血管内皮及胶质细胞 ICAM-1 等黏附分子的表达,继而促进循环中的白细胞进入缺血局部组织,从而加重脑缺血损伤。本研究的缺血性中风 3 个中医证型中,瘀瘀阻络型组 ICAM-1 显著高于气虚血瘀型组和瘀热腑实型组,提示在缺血性中风的发病中,瘀瘀阻络的炎症和损伤等更为突出,瘀瘀阻络,形成栓子影响了脑脉的通畅,脑部的血液供应不足或完全丧失,引起脑组织坏死、软化,从而出现机体各种功能的障碍。

CD62P 又称 P-选择素(P-selectin),是血小板 α 颗粒膜蛋白,它在血小板活化时从 α 颗粒转到细胞膜上,是血小板的灵敏标记物。有研究已表明^[5],在血栓性疾病发病时血小板 CD62P 显著升高,可作为血栓疾病的病情监测和评价血栓前状态的有效指标。CD62P 作为选择素的一种,它和炎症或免疫有着相当密切的关系。本研究发现在缺血性中风 3 个证型组中,瘀瘀阻络型和气虚血瘀型 CD62P 升高显著,表明缺血性中风发生时,血小板处于高度活化状态,血小板活化是脑血栓形成的关键因素,提示 CD62P 水平主要反映了体内血瘀的状态。在缺血性中风的发病过程中由于血小板的高度活化,形成了“瘀阻”的病理格局,从而使脑脉痹阻,脑部供血减少甚至缺失,在瘀血痰浊等多种实邪因素综合作用下血小板的活化加剧,形成微血栓,闭塞脑动脉,阻塞脑血流,从而引发或加重缺血性中风。

健康人中有少部分血小板与白细胞黏附,血小板激活时与白细胞黏附性增高,血小板与不同白细胞黏附的能力不同,血小板-中性粒细胞的黏附性比血小板-淋巴细胞的黏附性强,血小板-白细胞的黏附性强于血小板-血小板的黏附性。有实验研究证实^[6],在缺血性中风患者中(1)血小板-白细胞的黏附性增强,无论是白细胞与血小板结合的百分率还是平均荧光强度均增高(2)黏附性增强出现在单核细胞和中性粒细胞,淋巴细胞无变化(3)黏附性增强与白细胞的激活呈正相关。缺血性卒中患者血小板处于激活状态,血小板-白细胞通过直接受体-配体相互作用,使相互间的黏附性增高,表明了血小板在早期炎性细胞

万方数据

黏附上起重要作用,能通过与白细胞的作用发起和传播炎症反应。在缺血性中风等病理过程中,血小板被激活,它可导致血栓形成,由于 ICAM-1 的升高,间接促进血小板的黏附与活化,而血小板活化标志是血小板活化过程中释放的 α 颗粒内容物^[7],CD62P 是其灵敏标记之一。血小板-白细胞的黏附引起或加重了脑缺血和缺血后的炎症损伤。我们测定的缺血性中风患者血 ICAM-1、CD62P 的阳性表达水平均较健康对照组显著升高,而以瘀瘀阻络型组两者升高最为显著,提示血小板和白细胞的激活以及血小板-白细胞的黏附成为缺血性中风发生的关键环节,瘀和瘀这两种病理因素在缺血性中风的发生中皆起着重要作用,而瘀瘀互结、痹阻脉络,则可能是引发或加重缺血性中风的首要原因。治疗缺血性中风,除抗血小板和抗炎等治疗措施外,切断血小板-白细胞黏附的连接将成为新的研究热点,而运用活血化痰通瘀的中药治疗缺血性中风当引起更多的注意和进行更为深入的研究。

参 考 文 献

- 1 各类脑血管病诊断要点. 中华神经科杂志 1996 ;29(6): 379—380.
Key points of diagnostic criteria of cerebrovascular disorders. Chin J Neurol 1996 29(6):379—380.
- 2 Diamond MS, Staunton DE, Marlin SD, et al. Binding of the integrin Mac-1 (CD11b/CD18) to the third immunoglobulin-like domain of ICAM-1 (CD54) and its regulation by glycosylation. Cell 1991 ;65(6):961—971.
- 3 Kuroda S, Siesjo BK. Reperfusion damage following focal ischemia: pathophysiology and therapeutic windows. Clin Neurosci 1997 ;4(4):199—212.
- 4 Zhang RL, Zhang ZG, Chopp M, et al. Thrombolysis with tissue plasminogen activator alters adhesion molecule expression in the ischemic rat brain. Stroke 1999 ;30(3):624—629.
- 5 王振义,李家增,阮长耿等主编.基础理论与临床.第2版.上海:上海科学技术出版社,1996:231—257.
Wang ZY, Li JZ, Ruan CG, et al editors. Basic theory and clinics, 2nd version. Shanghai:Shanghai Science and Technology Press, 1996 231—257.
- 6 夏斌,张玲珍,邵福源,等.缺血性卒中患者血小板白细胞黏附性的变化.中华老年医学杂志 2000 ;19(3):223—224.
Xia B, Zhang LZ, Shao FY, et al. The adhering varies of hematoblasts and leucocyte in patients with ischemic stroke. Chin J Geriatr 2000 ;19(3):223—224.
- 7 Glagov S. Intimal hyperplasia, vascular modeling, and the restenosis problem. Circulation 1994 ;89(6):2888—2891.

(收稿 2004-08-19 修回 2004-11-15)