

· 临床论著 ·

急性脑出血瘀热病机单元的差异蛋白质组学研究

张 宁^{1△} 田 婷² 于 明³ 李国春¹

摘要 目的 明确急性脑出血瘀热病机单元的生物标志物及其病理生理机制。**方法** 收集急性脑出血患者 271 例,参照《瘀热病机证候量化诊断标准评分表》划分为瘀热病机组与非瘀热病机组并进行 1:1 配对,两组各选取 4 例患者,采集每例患者的血浆样本,采用串联质谱标签法(TMT)进行定量蛋白质组检测,取两组间蛋白质表达量 >1.3 倍且 $P \leq 0.05$ 的蛋白质为差异蛋白质。应用创新途径分析(IPA)在线生物信息学软件对差异蛋白质进行经典通路、上游调控因子、分子与细胞功能及蛋白质相互作用网络分析。**结果** 每例患者共鉴定出 490 种蛋白质,其中 9 种蛋白质表达两组存在差异:A1BG、ACTN1、CA1、CD44、CP、PRDX2、VCL、IgG H chain、IGHV3-7,IPA 软件识别出 7 种(A1BG、ACTN1、CA1、CD44、CP、PRDX2、VCL),瘀热病机组与非瘀热病机组比较,CD44 表达下调,其余 6 种蛋白表达上调,主要涉及 5 条经典信号传导通路、2 个上游调控因子、5 种分子与细胞功能;生成了 1 个确信度较高的差异蛋白质生物学作用网络。**结论** 差异蛋白质参与了 PI3K 复合物、Akt 和 ERK 相关的细胞信号通路网络的调节,这些通路炎症因子及凝血指标密切相关或是其调节的上游通路。

关键词 急性脑出血;瘀热病机单元;生物标志物;蛋白质组学

Differential Proteomics Analysis of Pathogenic Unit of Stasis-heat for Acute Intracerebral Hemorrhage ZHANG Ning¹, TIAN Ting², YU Ming³, and LI Guo-chun¹ 1 School of Medicine and Life Sciences, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210023); 2 Emergency Department, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Nanjing City, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210001); 3 Department of Neurology, Affiliated Jiangbin Hospital, Jiangsu University, Jiangsu (212001)

ABSTRACT Objective To clarify the biomarkers and molecular disorder mechanism of pathogenic unit of stasis-heat of acute intracerebral hemorrhage. **Methods** A total of 271 acute cerebral hemorrhage patients and their plasma samples were collected and classified into stasis-heat type and non-stasis-heat type according to *Quantitative Diagnostic Scale of Stasis-heat Syndrome*. Then 4 of each group were selected by 1:1 paired design, and plasma samples of 4 pairs were collected or detecting differential proteins by tandem mass tag (TMT). The proteins expressed more than 1.3 times and $P \leq 0.05$ between the two groups were taken as differential proteins. The Ingenuity Pathway Analysis (IPA) bioinformatics software was performed in analyzing canonical pathways, upstream regulatory factor, molecular cellular functions, and protein interaction network of differential proteins. **Results** A total of 490 proteins were identified and quantified in each patient, of which 9 proteins were differentially expressed between two groups (A1BG, ACTN1, CA1, CD44, CP, PRDX2, VCL, IgG H chain, and IGHV3-7), and A1BG, ACTN1, CA1, CD44, CP, PRDX2, and VCL were identified by IPA software. Compared with non-stasis-heat group, CD44 was down-regulated and the remaining six proteins were up-regulated. These proteins

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81373512);江苏省自然科学基金资助项目(No. BK20161575);国家科技部“973”计划中医理论专项(No. 12006CB504807)

作者单位:1. 南京中医药大学医学和生命科学学院(南京 210023); 2. 南京中医药大学附属南京市中医院急诊科(南京 210001); 3. 江苏大学附属江滨医院神经内科(江苏 212001)

通讯作者:李国春, Tel: 025-85811382, E-mail: Dr.Guochun_li@nju cm.edu.cn

△ 现在邳州市中医院神经内科(徐州 221000)

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20190502. 144

involved 5 canonical signaling pathways, 2 upstream regulators and 5 kinds of molecules and cell functions. One associated functional network was generated with acceptable confidence. Conclusion Differential proteins, reflecting the potential biomarkers of pathogenic unit of stasis-heat of the acute cerebral hemorrhage, are involved in the regulation of PI3K complexes, Akt and ERK-related cellular signaling pathways, which are closely related to inflammatory factors or their regulated upstream pathways.

KEYWORDS acute intracerebral hemorrhage; pathogenic unit of stasis-heat; biomarker; proteomics

脑出血指原发性非外伤性脑实质内出血,属于中医学“中风”范畴。脑出血发病率低于缺血性卒中,但病死率高,急性期病死率更高[1]。目前脑出血的损伤机制分为原发性和继发性损伤两个阶段,前者指发病后血肿对脑组织造成的机械性损伤,即白质神经元和胶质细胞损害、颅内压的升高、占位效应、脑疝和血流量下降;后者指损伤的级联反应,即血肿的生理反应及释放的凝血酶引发的水肿和炎症[2]。传统中医学的历代医家针对中风病机的论述,多从“风、火、痰、瘀、虚”立论,国医大师周仲瑛教授结合传统中医理论和临证经验,提出了急性期脑出血“瘀热阻窍”的病机理论[3]。“瘀热”是一个独立的复合病机单元,是由瘀和热两种病理因素相互搏结,形成具有新的特质的复合病理因素,在其致病过程中,不仅有瘀血和火热的共同参与,而且瘀和热之间胶结和合,且有内在的因果转化关系。“瘀热证”则为复合病机单元“瘀热”导致的临床征象的综合病理状态及其表述,有别于单独的热证和瘀证[4]。本研究利用串联质谱标签法筛选出脑出血急性期瘀热病机的相关蛋白质,并采用生物信息学方法和创新途径分析(Ingenue Pathway Analysis, IPA)在线分析软件研究其涉及的经典通路、分子功能、上游调控因子和蛋白质相互作用网络,旨在阐明脑出血急性期“瘀热”病机单元的病理生理学紊乱机制,同时探究脑出血急性期“瘀热”病机单元可能的生物标志物。

资料与方法

1 诊断标准及中医辨证分型标准 急性脑出血诊断标准参照 2010 年中华人民共和国卫生部发布的《成人自发脑出血诊断标准》[5]及中国中西医结合学会神经科专业委员会 2006 制定的“脑梗死和脑出血中西医结合诊断标准(试行)”[6]。中医辨证分型参照“瘀热病机证候量化诊断标准评分表”,表中各项的最高分相加 ≥ 10 分即诊断为瘀热[7]。

2 纳入、排除及剔除标准 纳入标准:年龄 40 ~ 80 岁患者;符合西医脑出血急性期诊断标准;住院和急

诊观察室患者,发病 48 h 以内入院者;愿意且能够按照方案的要求及时调查,并签署知情同意书者。排除标准:原发性蛛网膜下腔出血及由血液病、肿瘤或外伤引起的颅内出血;出血性中风非急性期患者;合并有心、肝、肾、造血系统和内分泌系统等严重原发性疾病患者;法律规定的残疾(盲、聋、哑、智力障碍、肢体残疾)不能配合检查的患者;怀疑或确有酒精、药物滥用病史者;内科疾病所致的昏迷(如低血糖、糖尿病、药物中毒等)。剔除标准:入院后 24 h 内死亡者;未观察至 21 天出院的患者。

3 一般资料 收集 2013 年 11 月 - 2015 年 5 月在江苏省中医院脑外科、镇江市江滨医院神经内科就诊的急性脑出血患者 271 例,采用瘀热病机组和非瘀热病机组配对设计的方法,根据性别、年龄、病程、出血部位进行 1:1 配对。其中瘀热病机组选取 4 例,男性 2 例,女性 2 例,平均年龄(63.5 ± 5.5)岁;非瘀热病机组选取 4 例,男性 2 例,女性 2 例,平均年龄(63.5 ± 4.1)岁。本研究获得南京中医药大学附属医院伦理委员会审批(No. 2014NL-037-02)。

4 观察指标及方法 急性脑出血患者均于入院次日上午 7:00 时空腹静脉抽血约 2 mL 于 EDTA 抗凝管中,2 h 内进行处理:4 ℃ 静置 60 min 后,1 000 r/min 离心 10 min,之后将血浆分装于 Ependorf 离心管中(60 μ L/管),放入 -80 ℃ 冰箱冻存。

4.1 去除外周血中高丰度蛋白 按照多重亲和去除色谱柱 Human 14 操作程序,去除高丰度的蛋白,将收集到的馏分用旋转浓缩器浓缩后,采用 Bradford 法测定蛋白含量,取 0.5 μ g/ μ L 蛋白上样,行 SDS-PAGE,检测样品中高丰度蛋白的去除情况。

4.2 蛋白质酶解 在各组样本中逐步加入溶解缓冲液、变性剂和还原剂,混匀,60 ℃ 孵 1 h;加入半胱氨酸封闭剂,室温孵育 10 min;加入胰蛋白酶,37 ℃ 酶解 12 ~ 16 h。

4.3 TMT 标记蛋白质 选取 1 μ g 血浆样品中加入二硫苏糖醇(DTT)至终浓度 10 mmol/L,60 ℃ 水浴 1 h。取出后,加入碘代乙酰胺(IAM)至终浓度

55 mmol/L,在 37 ℃ 室温中暗室静置 1 h。胰蛋白酶肽脱盐、真空干燥,每个血浆样品选取 100 μg 进行 TMT 标记。肽段使用同位素标记基于总肽量进行 1:1 混合。

4.4 SCX 分馏分离蛋白质 将肽段混合物悬浮在溶液(10 mmol/L 甲酸铵、5% 乙腈,pH 2.7)中使用 UltiMate 3000 高效液相色谱系统进行强阳离子交换。采用 2 种缓冲系统进行分离,缓冲液 A 和 B 的制备如下:缓冲液 A,5 mmol/L 甲酸铵、5% 乙腈(pH 2.7);缓冲液 B,800 mmol/L 甲酸铵、5% 乙腈(pH 2.7)。进行 33 min 线性梯度洗脱程序:0%~30% B 液 21 min;30%~56% B 液 7 min;56%~100% B 液 1 min;100% B 液 3 min;100%~0% B 液 1 min。共收集和冻干 20 个馏分。

4.5 质谱分析 利用与 LTQ-Orbitrap 质谱仪偶联的纳米超高效液相色谱仪对样本进行质谱分析。肽的反相分离,采用 2 种缓冲系统进行分离,缓冲液 A 和 B 的制备如下:缓冲液 A,2% 乙腈,0.5% 乙酸;缓冲液 B,80% 乙腈,0.5% 乙酸。进行 193 分钟的线性梯度洗脱程序:4%~9% B 液 3 min;9%~33% B 液 170 min;33%~50% B 液 10 min;50%~100% B 液 1 min;100% B 液 8 min;100%~4% B 液 1 min。MS 全扫描后,选择 8 个最强母离子进行二级质谱碰撞诱导解离(标准化碰撞能量为 35%),然后选择能量最大的离子进行高能量的碰撞诱导解离。

4.6 统计学处理与生物信息学分析 在计算蛋白质的表达量时,所有样本均需要和每组的参比值进行比较来获得蛋白质的相对表达量。差异蛋白质的比较采用配对 *t* 检验,取两组间蛋白质表达量 > 1.3 倍且 *P* ≤ 0.05 的蛋白质为差异蛋白,SPSS 22.0 统计软件用于统计学分析。利用 IPA (Ingenuity Systems, www.ingenuity.com)生物信息学软件对差异

表达蛋白进行经典通路、相互作用网络、上游调控子以及分子与细胞功能分析。经典通路分析按相关性-log (*P* 值)排序,*P* 值的计算采用右尾 Fisher's 确切概率法,柱图越高者说明相关性越好,此外用 Z-score 值表示经典通路的状态,Z-score > 0 代表经典通路被激活,Z-score < 0 表示经典通路被抑制;调控网络分析以聚类相关性得分(score)代表差异蛋白与生物学网络的相关性,score ≥ 20 为可信度较高;上游调控子分析以 Z-score ≥ 2 为预测调控因子被激活,以 Z-score ≤ -2 为预测调控因子被抑制。

结 果

1 两组比较的差异蛋白质及功能定位(表 1) 从鉴定出的 490 种蛋白中得到 9 种差异表达蛋白质: A1BG、ACTN1、CA1、CD44、CP、PRDX2、VCL、IgG H chain、IGHV3 - 7, IPA 软件识别出 7 种: A1BG、ACTN1、CA1、CD44、CP、PRDX2、VCL。瘀热病机组与非瘀热病机组比较,CD44 表达下调,其余 6 种蛋白表达上调,尽管其下调倍数未达 -1.3,但其两组表达丰度比较差异有统计学意义(*P* < 0.05),故仍列于表 1 中;3 种在细胞质,2 种在细胞膜,2 种在细胞外,3 种定位不详;5 种为酶类,1 种为转录调节因子,1 种为其他类型。1 种为急性反应期相关蛋白(CP),2 种为细胞运动、细胞骨架相关蛋白(ACTN1 和 VCL),1 种为脂肪代谢相关蛋白(A1BG),2 种为生物活性相关蛋白(CA1 和 PRDX2),1 种为细胞黏附和迁移相关蛋白(CD44)。

2 两组比较的差异蛋白质 TOP 经典通路分析(图 1,表 2) 涉及 23 条经典信号通路(-log *P* > 1.3)。显著性相关的前五条经典通路依次是:白细胞外渗的信号通路(CD44、VCL 和 ACTN1)、蛋白酶细

表 1 两组比较的差异蛋白质及功能定位

No	蛋白质 ID	蛋白质符号	中文名称	功能	表达倍数	位置	类型
1	V9HWD8	A1BG	α-1B 糖蛋白	免疫球蛋白	1.649	细胞外	其他
2	A0A024R694	ACTN1	辅肌动蛋白 α1	多种细胞中多功能的肌动蛋白结合蛋白	1.876	细胞质	转录调控因子
3	V9HWE3	CA1	碳酸酐酶 I	催化二氧化碳的可逆水合,参与呼吸、钙化、酸碱平衡、骨吸收、脑脊液和胃酸的形 成等多种功能	1.334	细胞质	酶
4	H0YCV9	CD44	CD44 分子	细胞表面糖蛋白,参与细胞与细胞间的相互作用,细胞的黏附和迁移,包括淋巴细胞激活,造血和肿瘤转移	-1.149	细胞膜	酶
5	A5PL27	CP	铜蓝蛋白	一种金属蛋白酶,铜结合蛋白,转铁蛋白。基因突变会导致铁的积累和组织损伤,并与糖尿病和神经系统异常有关	1.390	细胞外	酶
6	B4DF70	PRDX2	过氧化物酶 2	过氧化物酶,具有抗氧化保护作用,并可促进 CD8 ⁺ T 细胞的抗病毒活性,也有稳定血红蛋白作用	1.544	细胞质	酶
7	A0A024QZN4	VCL	细蛋白	细胞骨架相关蛋白,基因缺陷会导致扩张型心肌病等	1.335	细胞膜	酶

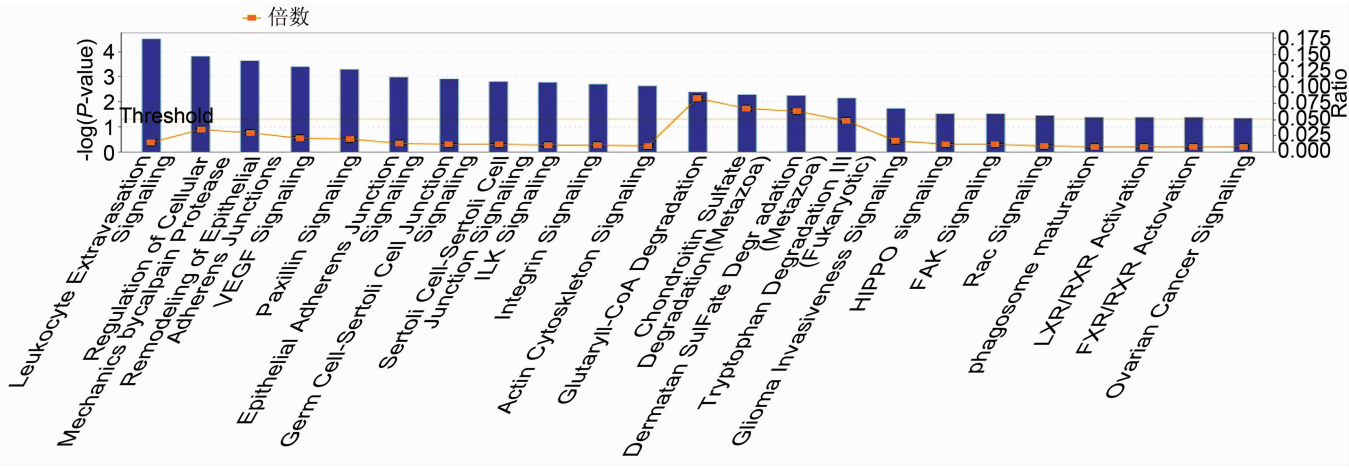


图 1 两组比较的差异蛋白质涉及的经典通路

表 2 两组比较的差异蛋白质 TOP 经典通路分析

经典通路	-log(P 值)	Ratio	分子
白细胞外渗的信号	4.52	0.0152	CD44,VCL,ACTN1
蛋白酶细胞力学调控	3.8	0.0351	VCL,ACTN1
上皮细胞黏附连接重构	3.65	0.0294	VCL,ACTN1
血管内皮生长因子信号	3.39	0.0217	VCL,ACTN1
Paxillin 信号	3.3	0.0198	VCL,ACTN1

胞力学调控通路(VCL 和 ACTN1)、上皮细胞黏附连接重构通路(VCL 和 ACTN1)、血管内皮生长因子信号通路(VCL 和 ACTN1)、Paxillin 信号通路(VCL 和 ACTN1)。

3 两组比较的差异蛋白质上游因子(表 3 和图 2) IPA 分析获得 2 个上游调控因子:TP53、毛喉素(forskolin)。上游调控因子之间以及与差异蛋白质之间存在相互作用,ACTN1、CD44、CP、PRDX2、VCL 受 TP53 调控,ACTN1、CD44、PRDX2、VCL 受 forskolin 调控。

表 3 两组比较的差异蛋白质上游因子

上游因子	分子类型	Activation Z-score	P-value of overlap (× 10 ⁻⁵)	目标分子
TP53	转录调节因子	1.342	1.49	ACTN1、CD44、CP、PRDX2、VCL
毛喉素	化学毒素	-1.067	2.07	ACTN1、CD44、PRDX2、VCL

4 两组比较的差异蛋白质 Top 分子与细胞功能分析(表 4) IPA 在线分析软件的 Top Diseases and Function 分析显示,Top 分子与细胞功能主要涉及到细胞形态、细胞间的信号和相互作用、细胞组装与组织、细胞功能与维护、糖代谢等。

5 两组比较的差异蛋白质生物学作用网络(表 5、图 3) IPA 软件生成了 1 个确信度较高的蛋白质生

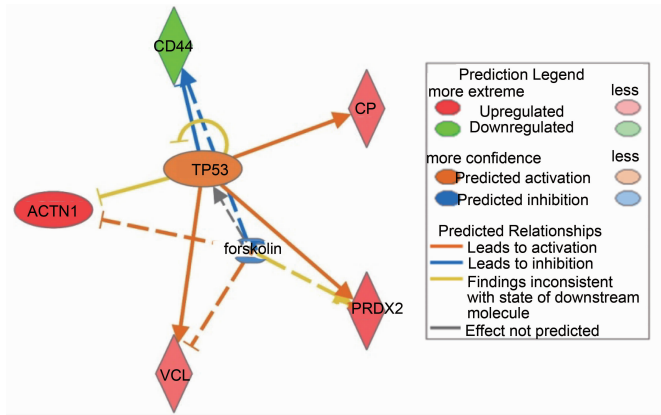


图 2 两组比较的差异蛋白质上游因子

表 4 两组比较的差异蛋白质 Top 分子与细胞功能分析

分子与细胞功能	P 值范围(× 10 ⁻⁵)	分子数
细胞形态	2.77 × 10 ⁻² - 1.36 × 10 ⁻⁵	5
细胞间的信号和相互作用	2.80 × 10 ⁻² - 1.36 × 10 ⁻⁵	5
细胞组装与组织	2.13 × 10 ⁻² - 1.91 × 10 ⁻⁵	3
细胞功能与维护	2.16 × 10 ⁻² - 1.91 × 10 ⁻⁵	4
糖代谢	1.16 × 10 ⁻² - 2.09 × 10 ⁻⁵	3

表 5 两组比较的差异蛋白质生物学作用网络

分子网络	分数	聚焦蛋白	疾病与功能
A1BG, ABCC6, Actin-Actn-Ptk2-Pxn-Vcl, ACTN1, Akt, Alpha actin, CA1, CD44, CDKN1A, CP, EPO, ERK, ERK1/2, Ferritin, FXN, GRM5, HAS1, HAS3, NRAP, P38 MAPK, PDHX, PI3K (complex), PLCL1, PRDX2, PTK7, PTP4A2, RAVR1, S1PR1, S1PR3, SYNM, TEAD, TXK, VCL, α-Actinin-Ezrin-FAK-Paxillin-Talin-Vinculin, α-Actinin-Ezrin-Paxillin-Talin-Vinculin	20	7	细胞运动 糖代谢 药物代谢

物学作用网络,其网络得分为 20 分,主要与细胞运动、糖代谢和药物代谢有关;分子网络中包含了 7 个差异蛋白,红色和绿色分别表示蛋白质表达上调和下调。在图 3 中,差异蛋白质有 6 个表达上调和 1 个表达下

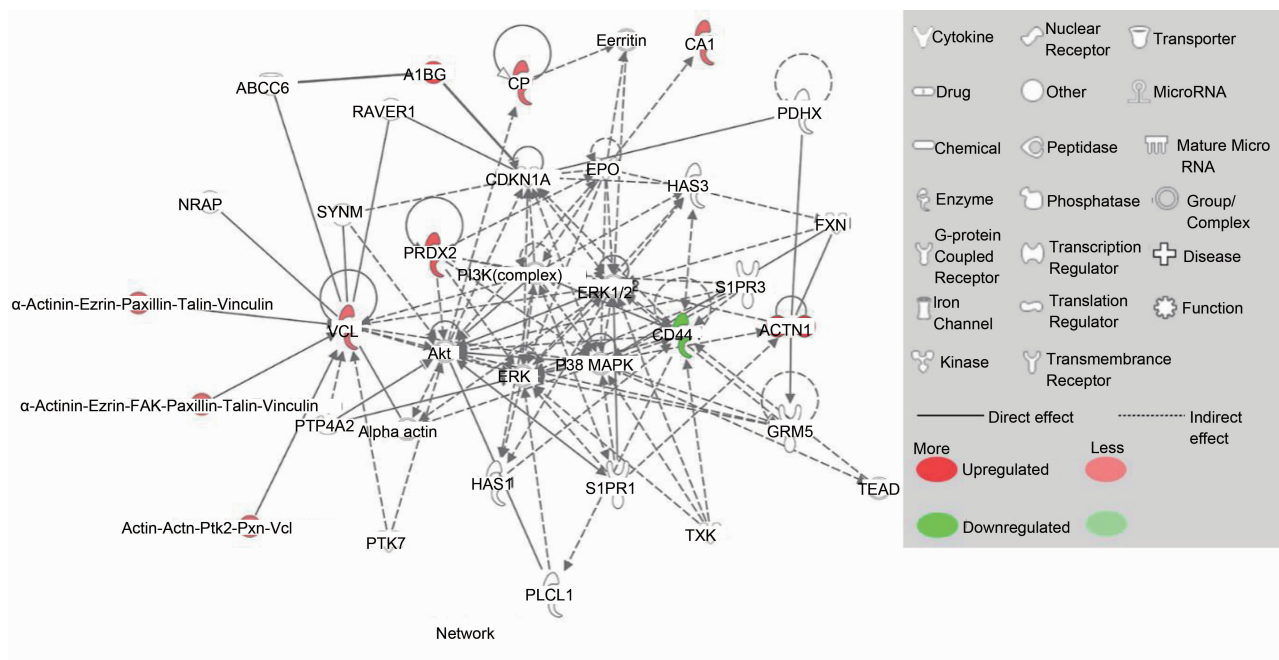


图3 两组比较的差异蛋白质生物学分子作用网络

调的蛋白,这些蛋白质参与了 PI3K 复合物、Akt 和 ERK 相关的细胞信号通路网络的调节,其中 CD44、VCL、ACTN1、PRDX2 与其他蛋白的相互关系最密切。

讨 论

国医大师周仲瑛教授认为,瘀热阻窍是脑出血急性期的中心病理环节。血分瘀热,搏结不解,则热愈炽、瘀益甚,气机愈壅,进而化火、生风、成痰(水),表明瘀热为致病之本,风、火、痰(水)为发病之标,其皆因瘀热病机而起。“瘀热”作为一个复合病机单元,既有外在的宏观识别指征,也应该有其微观的生物学基础。关于前者的宏观征候测量指标,已经建立了测量量表^[4],本研究旨在探讨其微观生物学基础,利用差异蛋白质组学技术和 IPA 在线生物信息学分析软件,发现了脑出血急性期瘀热病机单元相关的 7 种差异蛋白质。这些血浆蛋白质在浓度以及种类上存在明显的表达差异,说明了瘀热病机及其相应证具有一定的微观病理生理学特征。这些潜在的蛋白标志物在其功能上主要涉及急性期反应、脂肪代谢、血液与凝血系统激活、细胞运动的相关分子功能的紊乱;差异蛋白主要涉及五条经典通路:白细胞外渗的信号通路(CD44、VCL 和 ACTN1)、蛋白酶细胞力学调控通路(VCL 和 ACTN1)、上皮细胞黏附连接重构通路(VCL 和 ACTN1)、血管内皮生长因子信号通路(VCL 和 ACTN1)、Paxillin 信号通路(VCL 和 ACTN1);差异

蛋白质生物学作用网络显示其参与了 PI3K 复合物、Akt 和 ERK 相关的细胞信号通路网络的调节。综合分析表明多种蛋白及通路参与了急性脑出血瘀热证的形成,反映了急性脑出血瘀热病机单元与严重的炎症反应、组织损伤和凝血功能紊乱密切相关,这在某种程度上证实了“瘀热”的病理生理基础与炎症反应和凝血功能紊乱有关。

本研究采用差异血浆蛋白质组学方法研究“瘀热”病机单元的生物标志物,是因为脑出血急性期血管破裂和组织损伤,破坏了血脑屏障,致使相关病理产物进入血液。脑出血急性期表现为两个阶段的损伤,第一阶段是血管破裂后血液释放入脑实质引起的机械性损害;急性期反应立即导致神经内分泌压力轴的变化,儿茶酚氨等激素水平分泌增加,接着会引发血肿病理生理的炎症和水肿反应,导致更为严重的第二次损伤,即 1 h 内出现来自血流和受损的神经所释放的大量谷氨酸及其氧化产物,引发临近细胞的坏死,同时,2 h 内止血反应,释放过量的凝血酶,引发炎症因子瀑布,再次导致谷氨酸释放和内皮细胞损伤,最终触发凝血酶、基质金属蛋白酶-2、基质金属蛋白酶-9、血凝块降解产物和细胞毒性介导的脑屏障的破坏,致使各种凝血相关产物及炎症因子释放入血^[8,9]。血脑屏障的破坏使得外周血和脑细胞之间的连通性加大,因此,脑内环境可受到外周血液中大分子等物质的影响,外周血也间接地反映着脑内环境的变化。因而在发生脑出血后,外周血中的蛋白质变化一定程度上表达了脑出

血急性期引起的病理反应。白细胞是主要的炎症反应细胞,其炎症介质包括有细胞间黏附因子^[10],本研究所得的血浆差异蛋白涉及到白细胞外渗的信号通路、上皮细胞黏附连接重构通路,前者是一个炎症信号通路,后面与白细胞运动和黏附相关;同时还涉及到血管内皮生长因子信号通路、Paxillin 信号通路,前者是心脑血管疾病的重要通路,后者细胞黏附到细胞外基质启动信号。表明“瘀热”病机与炎症免疫和凝血密切相互作用。作为仅有的两个上游调控因子 TP53、毛喉素,为脑出血药物靶标发现指明了新的方向。

尽管脑出血急性期二次损伤中涉及炎症反应相关的细胞因子,有 IL-1b、IL-6、TNF- α ,而通过一些大规模的分析蛋白质组学方法,又得到了与发病机制相关的新型生物学标志物,如基质金属蛋白酶-9、S100 钙结合蛋白(S100B)、热休克蛋白 70(HSP70)等^[7],以上蛋白似乎在本次研究都未直接发现。本研究发现的差异蛋白质参与了 PI3K 复合物、Akt 和 ERK 相关的细胞信号通路网络的调节,这些通路炎症因子密切相关或是其调节的上游通路。A1BG 为免疫球蛋白;CD44 为一种未归类黏附分子,介导淋巴细胞与细胞外基质的黏附;ACTN1、VCL 由整合素激活,其上调与炎症细胞迁移有关;CA1 会激活小胶质细胞,并损伤神经元。本研究差异蛋白的发现是基于疾病亚型比较得到,而非与正常人群比较,推测这些标志物可能不会反映疾病的共性特征,而是反映了疾病亚型(瘀热证)的差异,本研究的发现说明了急性脑出血瘀热病机亚型组的生物标志物有别于非瘀热组脑出血患者,当然其结果还有待于大样本进一步确认。以上发现将为脑出血急性期个体化防治提供依据。总之,本课程采用的“病例-病例对照研究”的匹配设计和纳入、排除标准,尽可能控制了感染、严重的全身性疾病等可以引起外周血变化的其他因素,发现了瘀热病机组和非瘀热病机组具有两种不同的蛋白质表达模式,这在一定程度上反应了瘀热和非瘀热两种病机证候分类存在差别,可以推测瘀热病机在急性期涉及较多的炎症与凝血相关分子,并表现为更为严重的凝血和炎

症紊乱状态。这为脑出血急性期“瘀热”证型客观化和标准化提供了新的潜在生物标志物,也为中医病机证候诊断现代化的实现进行有益的探索。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: Results from a nationwide population-based survey of 480687 adults [J]. *Circulation*, 2017, 135(8): 759-836.
- [2] Keep RF, Hua Y, Xi G. Intracerebral haemorrhage: mechanisms of injury and therapeutic targets [J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(8): 720-731.
- [3] 陈四清, 郭立中. 周仲瑛从瘀热阻窍论治出血性中风急性期经验 [J]. *江苏中医药*, 2010, 42(1): 12.
- [4] 李国春, 周学平, 王均琴, 等. 出血性中风瘀热病机单元测量量表的研究 [J]. *南京中医药大学学报*, 2015, 31(5): 428-432.
- [5] 中华人民共和国卫生部. WS 320-2010(行业标准), 成人自发性脑出血诊断标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010: 1-12.
- [6] 中国中西医结合学会神经科专业委员会. 脑梗死和脑出血中西医结合诊断标准(试行) [J]. *中国中西医结合杂志*, 2006, 26(10): 948-949.
- [7] 田婷, 过伟峰, 李国春. 急性脑出血瘀热临床表征研究 [J]. *中医杂志*, 2016, 57(10): 838-840.
- [8] 李萍, 赵树明, 胡亚男, 等. 脑出血发病机制研究进展 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2015, 17(2): 214-215.
- [9] Alabanza LM, Bynoe MS. Thrombin induces an inflammatory phenotype in a human brain endothelial cell line [J]. *J Neuroimmunol*, 2012, 245(1-2): 48-55.
- [10] Ma Q, Manaenko A, Khatibi NH, et al. Vascular adhesion protein-1 inhibition provides antiinflammatory protection after an intracerebral hemorrhagic stroke in mice [J]. *J Cerebr Blood Flow Metabolism*, 2011, 31(3): 881-893.

(收稿: 2018-02-11 在线: 2019-05-29)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶