

· 综 述 ·

# 颈动脉粥样硬化易损斑块及其相关生化标志物研究进展

孙 鹏 综述 王 涛 审校

【关键词】 颈动脉粥样硬化;炎症;易损斑块;生化标志物

【文章编号】 1009-153X(2016)03-0188-04 【文献标志码】 B 【中国图书资料分类号】 R 743

近十几年来,我国脑血管病呈现出高发病率、高致残率、高病死率、高复发率等特点,严重威胁着人们的健康。2008 年,我国第三次死因抽样调查报告显示,脑血管病已经成为我国国民第一位死亡原因,并且其发病率正以每年 8.7% 的速度继续上升<sup>[1,2]</sup>。颈动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)斑块导致的颈动脉狭窄是引起缺血性脑血管病发生的主要原因之一,传统的观点认为颈动脉狭窄引起缺血性脑血管病主要取决于其管腔的狭窄程度,包括颈动脉狭窄的手术指南也是以管腔狭窄率而定的,忽视了斑块的性质。近些年的研究发现,多数急性脑血管事件发生前颈动脉管腔仅存在轻、中度的狭窄,表明急性脑血管事件的发生与颈动脉的狭窄程度并非直接关系,而主要取决于 AS 斑块的生物学性质,即斑块的稳定性。不稳定斑块(易损斑块)破裂,继发血小板聚集、血栓形成是导致急性脑血管事件发生的主要原因<sup>[3]</sup>。寻找能够准确反映易损斑块生物学性质的生化标志物,早期、准确识别易损斑块对预防和治疗急性脑血管事件具有重要意义。为此,我们就易损斑块及其相关生化标志物进行综述。

## 1 AS 斑块的形成机制

AS 是一个复杂的多因素参与的病变过程。1976 年, Ross 发现脂质在 AS 的形成过程中发挥重要作用<sup>[4]</sup>,之后又提出炎症也是 AS 发生发展的一个关

键因素<sup>[5,6]</sup>。简言之, AS 的发生首先是由于内皮细胞(endothelium cell, EC)损伤,血管内皮功能紊乱,通透性增加,保护屏障作用减弱。多种因素(包括血液湍流、切变压、高脂血症、高血压、糖尿病、吸烟等)均可引起 EC 的损伤。EC 损伤后会导致富含胆固醇的低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)易于进入血管壁。LDL 迁移到血管内膜层后被氧化修饰,形成氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)。ox-LDL 趋化单核细胞向内皮损伤处游走,使其进入内皮分化为巨噬细胞,经其表面的清道夫受体介导,巨噬细胞识别 ox-LDL 并迅速将其摄取,成为泡沫细胞。泡沫细胞最终在血管壁沉积形成脂质条纹,后者将进一步引发炎症反应。此外,巨噬细胞分泌的多种趋化因子可使血管平滑肌细胞(smoothmuscle cell, SMC)从中膜迁移致内膜复制、增殖,并分泌大量细胞外基质(胶原纤维和蛋白聚糖等)覆盖在脂质表面形成纤维帽,最终形成 AS 斑块<sup>[4]</sup>。

## 2 易损斑块的概念及发病机制

2.1 易损斑块的概念 易损斑块,又称不稳定斑块,是指具有破裂倾向、易于引发血栓形成的 AS 斑块,是导致急性血管事件的主要原因。2003 年, Naghavi 等<sup>[7]</sup>提出了易损斑块的病理生理学诊断标准,主要标准包括:①斑块内有活动性炎症反应,大量单核-巨噬细胞浸润以及 T 淋巴细胞浸润。②大脂质核心及薄纤维帽,通常是指脂质核心占斑块体积的 40% 以上,纤维帽厚度小于 100  $\mu\text{m}$ 。③内皮受损致血小板聚集或纤维蛋白沉积。④斑块表面纤维帽破裂形成裂隙样斑块。⑤管腔重度狭窄,狭窄率大于 90%。次要标准包括:①斑块表面出现结节样钙化可致纤维帽破裂。②血管内镜检查为亮黄色斑块,提示有薄的纤维帽和大的脂质核心,破裂风险高。③斑块

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2016.03.022

基金项目:内蒙古自然科学基金(20080404MS1126);内蒙古卫生厅医疗卫生科研计划项目(2010024);内蒙古医科大学附属医院重大科研项目资助课题(NYFYBZ2010005)

作者单位:010050 呼和浩特,内蒙古医科大学附属医院神经外科(孙鹏);100191 北京,北京大学第三医院神经外科(王涛)

通讯作者:王涛, E-mail: tony428@sina.com

内出血。④血管内皮功能障碍。⑤血管的正性扩张重塑<sup>[8]</sup>。

**2.2 炎症反应与易损斑块** 在诊断易损斑块时, 一个重要的病理特征是易损斑块比稳定斑块含有更多的炎症细胞, 包括单核-巨噬细胞、T 淋巴细胞、肥大细胞等, 这些炎症细胞分布在脂质核心、纤维帽破裂处、以及新生血管周围等, 在易损斑块的发生、破裂和血栓的形成过程中均发挥着重要作用<sup>[9]</sup>。单核-巨噬细胞可通过分泌基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 导致细胞外基质 (尤其是胶原纤维) 降解。肥大细胞能分泌类胰蛋白酶、糜酶等蛋白酶增加 MMP 的活性。此外, 活化的 T 淋巴细胞分泌的  $\gamma$ -干扰素可抑制 SMC 的增殖使细胞外基质的合成减少。总而言之, 炎症细胞作用于 AS 斑块, 造成细胞外基质合成和降解的不平衡, 从而使斑块的纤维帽变薄, 导致斑块易损破裂<sup>[10]</sup>。

**2.3 新生血管与易损斑块** 近年来的研究发现, 易损斑块的形成以及斑块内出血、破裂与斑块内新生血管密切相关。在造成严重管腔狭窄部的易损斑块、破裂斑块内, 它们新生血管的数量分别是稳定斑块的 2 倍和 4 倍<sup>[11]</sup>。新生血管促进易损斑块发生发展的机制主要包括: ①新生血管内皮细胞可表达多种黏附分子诱发炎症反应, 从而导致斑块脂质核心扩大、纤维组织破坏, 纤维帽变薄。②新生血管结构不完整, 周围足细胞缺乏, 部分血浆成分渗出, 使斑块体积不断增大, 导致血管壁的氧弥散能力下降, 再加上血液内一些毒性物质的渗出, 更加剧了组织的缺氧, 从而造成新生血管的进一步生成。斑块被丰富新生血管包绕, 是斑块易损的重要标志<sup>[12]</sup>。③斑块内新生血管仅由简单内皮细胞围成, 周围缺乏结缔组织及基膜, 血管脆弱, 易于破裂出血。Cheng 等<sup>[13]</sup>在动物实验研究中发现, 应用血管生成抑制剂作用于 AS 小鼠模型后, 治疗组斑块体积较对照组明显缩小, 说明在抑制斑块内血管新生的同时, 斑块的生长也能得到有效的控制。

3 生化标志物

**3.1 C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)** CRP 是肝脏在白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 介导下合成的一种急性时相蛋白, 在固有免疫应答中发挥巨大作用, 是重要的炎性标志物之一。有研究表明, 颈动脉内中膜厚度与血清 CRP 呈正相关, 说明 CRP 在 AS 形成过程中发挥了重要作用<sup>[14]</sup>。最近 JUPITER 试验的研究人员发现, 应用他汀类药物降低患者血

液超敏 CRP 和低密度脂蛋白时, 这些患者发生急性血管事件的概率也会大幅度减低, 表明血液超敏 CRP 的水平可以反映患者发生急性血管事件概率的大小<sup>[15, 16]</sup>。然而, CRP 在诊断易损斑块时仍存在一些不足。它参与全身的炎症反应, 任何感染或是外伤导致的组织损伤都会使血清 CRP 浓度增高, 所以 CRP 在作为易损斑块的生化标志物方面缺乏特异性, 但是在对易损斑块的评估, 预测急性脑血管事件的发生仍然具有重要意义。

**3.2 IL-6** 是由活化的 T 细胞和成纤维细胞产生的淋巴因子, 是前炎症细胞因子之一。近些年的研究证实, IL-6 可激活巨噬细胞分泌趋化蛋白, 促使单核细胞进入血管内皮参与 AS 斑块的形成; 而且, IL-6 还可刺激 SMC 迁移、增生以及细胞外基质降解酶的合成, 侵蚀斑块内纤维成分, 致使斑块易损破裂<sup>[17]</sup>。此外, Patterson 等<sup>[18]</sup>研究发现 AS 斑块破裂部位 IL-6 表达水平显著升高, 认为通过观察外周血 IL-6 的变化可预测急性血管事件的发生。所以该细胞因子可能成为诊断 AS 易损斑块的潜在标志物。

**3.3 CD40/CD40L** CD40 是肿瘤坏死因子受体超家族成员之一, 表达于 B 细胞、活化的单核/巨噬细胞、树突状细胞、内皮细胞、和一些肿瘤细胞系等, 主要作用是参与炎症细胞之间的信息传递。CD40L 是重要的炎症信号通路配体, 95% 以上的 CD40L 来自于血小板, 当血小板激活后, CD40L 会转位到血小板表面, 并被水解成可溶性的片段脱落入血液循环中形成可溶性 CD40L。健康人外周血只能检测到少量的可溶性 CD40L。当机体存在慢性炎症反应时, 循环血液中可溶性 CD40L 会显著增加。有研究显示, CD40 与其配体 CD40L 链接后, 可激活斑块中巨噬细胞、内皮细胞及平滑肌细胞, 使其分泌 MMP, 从而导致 AS 斑块的不稳定<sup>[19]</sup>。而且有动物实验证实, 当阻断 CD40/CD40L 链接后, 能有效的抑制 MMP 的表达, 减小斑块破裂的概率<sup>[20]</sup>。最新的一项研究结果表明, CD40 在易损斑块组中 mRNA 以及蛋白表达水平较稳定斑块组均显著增高, 提示 CD40 的高表达与斑块易损性密切相关<sup>[21]</sup>。

**3.4 MMP** 属于钙离子和锌离子依赖的蛋白水解酶家族, 多种组织细胞可以产生 MMP, 例如内皮细胞、炎症细胞、血管平滑肌细胞以及成纤维细胞等。目前共发现的 23 种 MMP, 其主要生理功能是降解细胞外基质。细胞外基质是构成 AS 斑块纤维帽的主要成分, 当由于某些原因 (如炎性细胞的浸润活化) 导致斑块内 MMP 表达增加时, 斑块内细胞外基质成分

遭到破坏,进而使纤维帽变薄,导致斑块易损破裂,诱发急性血管事件。MMP-9 是由巨噬细胞以及 SMC 分泌的降解血管基膜内 IV 型胶原的重要明胶酶。Gostiljac 等<sup>[22]</sup>通过对发生急性血管事件合并糖尿病患者血清中 MMP-9 检测,发现 MMP-9 是 AS 斑块破裂重要早期标志物。Wagsater 等<sup>[23]</sup>的研究发现易损斑块组中 MMP-2 的表达水平较稳定斑块组亦增高,提示 MMP-2 也参与 AS 易损斑块的发生发展过程。此外,另有研究发现,MMP-3 可活化 MMP-9 并且亦可降解细胞外基质成分而导致斑块的不稳定<sup>[24]</sup>。

3.5 血管细胞粘附分子-1(vascular cellular adhesion molecule-1, VCAM-1) 为糖蛋白,可由不同的细胞所表达,如内皮细胞、骨髓基质细胞、肾上皮细胞等,其主要生理功能是介导非特异性炎症反应。VCAM-1 在循环中的游离形式为可溶性 VCAM-1。研究认为,在 AS 斑块形成发展过程中,VCAM-1 促使单核细胞向血管内皮粘附,侵入内皮下层转化为巨噬细胞吞噬脂质,同时促进巨噬细胞分泌多种细胞因子导致斑块不稳定而引发急性血管事件<sup>[25]</sup>。研究显示,AS 斑块部位血管内皮细胞表达的 VCAM-1 水平与病变的严重程度成正比,并且其在循环血液中的游离形式 VCAM-1 的变化与 VCAM-1 相一致<sup>[26]</sup>。此外,Park 等<sup>[27]</sup>研究发现,抗 VCAM-1 抗体可以有效地改善 AS 斑块中的炎症反应及其稳定性,在抑制斑块进展恶化过程中具有重要作用。

3.6 血管黏附蛋白 1(vascular adhesion protein-1, VAP-1) 是一种与膜结合的同型二聚体分子,分子量为 180 kDa,呈“心形”折叠结构,包括膜区(D<sub>1</sub>)及细胞外区(D<sub>2-4</sub>)。VAP-1 表达于大多数器官的内皮细胞、脂肪细胞以及平滑肌细胞等,在炎症细胞向炎症部位滚动、粘附及转移等过程中通过多种途径发挥重要作用。首先,VAP-1 通过其类似氨基脲敏感性氨氧化酶(semicarbazide-sensitive amine oxidase, SSAO)活性中心及 D4 区糖基化位点发挥双重粘附炎症细胞的作用。此外,由于 VAP-1 蛋白序列与 SSAO 具有一致性,所以具有 SSAO 的功能,后者可诱导传统细胞粘附分子(血管细胞粘附因子、E 选择素、P 选择素等)的表达,从而引发炎症细胞的粘附。已有研究表明,在易损斑块的新生血管内皮细胞中,VAP-1 大量表达,并参与斑块内的炎症反应,提示它在不稳定斑块的发生发展中具有重要意义<sup>[28, 29]</sup>。

3.7 ox-LDL LDL 是血液循环中胆固醇的主要携带

者,经一系列氧化修饰后,其生物学活性发生改变,转变为 ox-LDL。研究认为,ox-LDL 能通过受体介导的内吞作用将胆固醇蓄积在血管内膜上,使血管平滑肌细胞和巨噬细胞变成泡沫细胞,促使 AS 的形成。此外,ox-LDL 还可以增加血管内皮细胞以及巨噬细胞内 MMP 的表达,导致细胞外基质成分破坏,纤维帽变薄破裂,血小板粘附,血栓形成。临床研究指出 ox-LDL 在 AS 斑块中大量聚集,并且在不稳定斑块中的表达明显高于稳定斑块,认为 ox-LDL 可以独立预测斑块的易损程度<sup>[30]</sup>。

综上所述,颈 AS 易损斑块形成机制的研究工作已取得重大进展,炎症反应和新生血管形成等因素在颈动脉易损斑块的发生发展以及破裂方面起着重要的作用,但是其具体作用机理还不够清晰,还需深入研究。目前,已发现多种因子在易损斑块中高表达,具有比较高的敏感性,但作为反映易损斑块的生化标志物缺乏特异性。寻找敏感性和特异性都高的生化标志物,早期准确识别颈动脉易损斑块,以及如何预防急性脑血管事件的发生及其相关的治疗措施都将是今后研究的重要课题,需要我们进一步研究发现并解决。

【参考文献】

[1] 陈 竺. 全国第三次死因回顾抽样调查报告[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2008. 14-17.

[2] 2014 中国脑卒中大会[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2014,(4):114-114.

[3] Finn AV, Nakano M, Narula J, *et al.* Concept of vulnerable/unstable plaque [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(7): 1282-1292.

[4] Wvan Lammeren G, L Moll F, Borst GJ, *et al.* Atherosclerotic plaque biomarkers: beyond the horizon of the vulnerable plaque [J]. *Current Cardiology Review*, 2011, 7: 22-27.

[5] Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(2): 15-126.

[6] Ammirati E, Moroni F, Norata GD, *et al.* Markers of inflammation associated with plaque progression and instability in patients with carotid atherosclerosis [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 718329

[7] Naghavi M, Libby P, Falk E, *et al.* From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I [J]. *Circulation*, 2003, 108(14): 1664-1672.



- [8] Finn AV, Nakano M, Narula J, *et al.* Concept of vulnerable/unstable plaque [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(7): 1282-1292.
- [9] Shah PK. Inflammation and plaque vulnerability [J]. *Cardio-vasc Drugs Ther*, 2009, 23: 31-40.
- [10] Libby P. Molecular and cellular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(Suppl): S352-357.
- [11] Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, *et al.* Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(10): 2054-2061.
- [12] Chang X, Feng J, Ruan L, *et al.* Positive correlation between neovascularization degree of carotid atherosclerosis determined by contrast-enhanced ultrasound and level of serum C-reactive protein [J]. *Vasa*, 2015, 44(3): 187-194.
- [13] Chenq C, Chrifi I, Pasterkamp G, *et al.* Biological mechanisms of microvessel formation in advanced atherosclerosis: the big five [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2013, 23(5): 153-164.
- [14] Baldassarre D, De Jong A, Amato M, *et al.* Carotid intima-media thickness and markers of inflammation, endothelial damage and hemostasis [J]. *Ann Med*, 2008, 40(1): 21-44.
- [15] Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, *et al.* Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial [J]. *Lancet*, 2009, 373(9670): 1175-1182.
- [16] Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, *et al.* Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(21): 2195-2207.
- [17] Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12: 204-212.
- [18] Patterson CC, Smith AE, Yarnell JW, *et al.* The associations of interleukin-6 (IL-6) and downstream inflammatory markers with risk of cardiovascular disease: the caerphilly study [J]. *Atherosclerosis*, 2010, 209: 551-557.
- [19] Yuan M, Fu H, Ren L, *et al.* Soluble CD40 ligand promotes macrophage foam cell formation in the etiology of atherosclerosis [J]. *Cardiology*, 2015, 131(1): 1-12.
- [20] Wanq C, Yan J, Yanq P, *et al.* The relationship between CD40 gene polymorphism and unstable coronary atherosclerotic plaques [J]. *Clin Cardiol*, 2010, 33(6): E55-60.
- [21] 张 白, 惠晶晶, 国 风, 等. CD40 及基质金属蛋白酶在颈动脉内膜剥脱术斑块中的表达及影响斑块稳定性的研究 [J]. *中华神经外科杂志*, 2015, 31(1): 84-87.
- [22] Gostiljac D, Dordevic PB, Djuric D, *et al.* The importance of defining serum MMP-9 concentration in diabetics as an early marker of the rupture of atheromatous plaque in acute coronary syndrome [J]. *Acta Physiol Hung*, 2011, 98(1): 91-97.
- [23] Wagsater D, Zhu C, Bjorkegren J, *et al.* MMP-2 and MMP-9 are prominent matrix metalloproteinases during atherosclerosis development in the Ldlr(-/-)Apob(100/100) mouse [J]. *Int J Mol Med*, 2011, 28(2): 247-253.
- [24] Lee YH, Kim TY, Hong YM. Metalloproteinase-3 genotype as a predictor of cardiovascular risk in hypertensive adolescent [J]. *Korean Circ J*, 2009, 39(8): 328-334.
- [25] Masseau I, Bowles DK. Carotid endothelial VCAM-1 is an early marker of carotid atherosclerosis and predicts coronary artery disease in swine [J]. *J Biomed Sci Eng*, 2015, 8(11): 789-796.
- [26] De Caterina R, Basta G, Lazzerini G, *et al.* Soluble vascular cell adhesion molecule-1 as a biohumoral correlate of atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17(11): 2646-2654.
- [27] Park JG, Ryu SY, Junq IH, *et al.* Evaluation of VCAM-1 antibodies as therapeutic agent for atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 226(2): 356-363.
- [28] Noonan T, Lukas S, Peet GW, *et al.* The oxidase activity of vascular adhesion protein-1(VAP-1) is essential for function [J]. *Am J Clin Exp Immunol*, 2013, 2(2): 172-185.
- [29] 陈大伟, 王 涛, 郭广进, 等. 人颈动脉斑块血管粘附蛋白 1 的表达及其与炎症的关系 [J]. *中华保健医学杂志*, 2014, 16(3): 187-189.
- [30] Fang R, Zhang N, Wang C, *et al.* Relations between plasma ox-LDL and carotid plaque among Chinese Han ethnic group [J]. *Neurol Res*, 2011, 33(5): 460-466.

(2016-01-04 收稿, 2016-02-05 修回)