

论著·临床研究

# 血清同型半胱氨酸和巨噬细胞移动抑制因子水平与颈动脉粥样硬化相关性研究

王三敏,伏 兵,余瑞芳,谭 玉,钱明月,陈皆春<sup>△</sup>  
(蚌埠医学院附属连云港医院神经内科,江苏连云港 222000)

**摘要:****目的** 探讨血清同型半胱氨酸(Hcy)、巨噬细胞移动抑制因子(MIF)水平与颈动脉粥样硬化的关系。**方法** 对 258 例住院和门诊的受试者应用彩超观察颈动脉血管解剖形态、内膜情况、有无斑块、斑块回声性质,测量颈动脉内膜-中膜厚度(IMT),依据检查结果分为 3 组:对照组、增厚组、斑块组。斑块组依据斑块的回声特点分为 2 组:稳定斑块组、不稳定斑块组。同时对受试者测定血清 Hcy、MIF 水平及生化指标测。比较组间血清 Hcy、MIF 水平的差异,计算血清 Hcy 水平、MIF 水平、IMT 三者之间相关系数。**结果** 对照组、增厚组、斑块组血清 Hcy、MIF 水平依次升高,各组间比较差异有统计学意义( $P<0.01$ );血清 Hcy、MIF 水平不稳定斑块组明显高于稳定斑块组,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。血清 Hcy 水平、血清 MIF 水平、IMT 三者之间呈正相关( $r=0.584,0.562,0.607,P<0.01$ )。**结论** 血清 Hcy、MIF 水平与颈动脉粥样硬化的程度和斑块稳定性密切相关,Hcy 可能通过 MIF 导致动脉粥样硬化的形成。

**关键词:**颈动脉;动脉粥样硬化;同型半胱氨酸;巨噬细胞游走抑制因子  
doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.02.019 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2014)02-0182-03

Study on correlation between serum Hcy and MIF with carotid atherosclerosis  
Wang Sanmin, Fu Bing, She Ruifang, Tan Yu, Qian Mingyue, Chen Jiechun<sup>△</sup>  
(Department of Neurology, Affiliated Lianyungang Hospital of Bengbu  
Medical College, Lianyungang, Jiangsu 222000, China)

**Abstract:****Objective** To investigate the correlation between serum homocysteine(Hcy) and macrophage migration inhibitory factor(MIF) with carotid atherosclerosis and between serum Hcy and MIF, and to study whether serum Hcy influence the carotid atherosclerosis formation by MIF. **Methods** 258 inpatients and outpatients were performed the color ultrasound examination to observe the carotid arterial vascular anatomic form, endomembrane circumstance, plaque and the plaque echo nature, and the carotid intima-media thickness(IMT) was measured. According to the results of color ultrasound, the cases were divided into three groups: IMT normal group(control group), thickening group and plaque group. According to the plaque echo characteristics, the plaque group was redivided into two subgroups: stable plaque group and unstable plaque group. Serum Hcy and MIF levels and biochemical parameters were measured simultaneously in all cases. The differences of serum Hcy and MIF levels were compared between groups. The correlation coefficients among serum Hcy levels, MIF levels and IMT were calculated. **Results** The serum Hcy and MIF levels in the control group, thickening group and plaque group were increased in turn, the difference among groups was statistically significant( $P<0.01$ ); which in the unstable plaque group was significantly higher than that in the stable plaque group, the difference between them was statistically significant( $P<0.01$ ). The positive correlation was found among serum Hcy levels, serum MIF levels and IMT( $r=0.584,0.562,0.607,P<0.01$ ). **Conclusion** The serum Hcy and MIF levels are closely related with the carotid atherosclerosis degree and the plaque stability; the serum Hcy and MIF levels are positively correlated with the carotid arterial IMT; serum Hcy is positively correlated with the MIF level, Hcy may cause the carotid atherosclerosis formation via MIF.

**Key words:** carotid arteries; atherosclerosis; homocysteine; macrophage migration-inhibitory factor

动脉粥样硬化是缺血性脑血管病的重要病理基础,随着我国经济的发展,人民生活水平逐步提高,生活习惯和饮食结构发生了改变,使得我国的动脉粥样硬化发病率呈上升趋势,该病目前已成为我国主要的死亡原因之一。颈动脉是全身动脉的一部分,其动脉粥样硬化的程度可以反映脑动脉、冠状动脉及外周大中型动脉硬化的程度。颈动脉内膜-中膜厚度(IMT)增厚是动脉粥样硬化的早期表现,斑块形成是动脉粥样硬化的特征性表现。动脉粥样硬化的形成是各种损伤通过许多的细胞因子释放而诱发的一种慢性炎症反应。高血压、糖尿病、脂质代谢紊乱、吸烟等是动脉粥样硬化的传统危险因素;然而,随着研究的不断深入,人们发现动脉粥样硬化的形成尚有其他因素参加。本研究旨在通过检测受试者血清 Hcy、MIF 水平及观察颈动脉解剖形态、内膜情况、有无斑块、斑块回声性质,

测量颈动脉 IMT,探讨血清 Hcy、MIF 水平与颈动脉粥样硬化的关系;研究血清 Hcy 与 MIF 水平的相关性,探讨 Hcy 是否通过 MIF 影响颈动脉粥样硬化的形成,为临床防治动脉粥样硬化探寻新的理论依据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集 2011 年 12 月至 2012 年 10 月在本院神经内科住院和门诊的 258 例中老年患者,男 133 例,女 125 例,年龄 45~80 岁,平均(63.14±11.23)岁。入选者均行颈动脉超声检查;所有病例排除患有感染性疾病,自身免疫性疾病或应用免疫抑制剂,心房颤动或恶性肿瘤,严重心、肝、肾脏疾病,有重大手术或外伤史;近期服用 B 族维生素、叶酸;不同意参加研究者。

## 1.2 研究方法

作者简介:王三敏(1981—),主治医师,在读硕士,主要从事脑血管病诊断与治疗工作。 <sup>△</sup> 通讯作者, Tel:13776598025; E-mail:lygcjc2009@163.com。

**1.2.1 分组** 颈动脉彩色多普勒超声检查:采用 Philips 5 500 彩色多普勒超声诊断仪,配备 10L 线阵宽频探头,探头频率 5~10 MHz。受检者仰卧位,从颈总动脉起始处开始自下而上,观察血管解剖形态、内膜情况、有无斑块、斑块回声性质及大小,测量双侧颈总动脉远段(颈动脉分叉水平下方 1 cm)、颈动脉球部和颈内动脉近段(颈动脉分叉水平上方 1 cm)6 处的血管管腔与血管内膜交界处到血管中膜与外膜交界处的垂直距离,每处测量 3 次,取平均值即为颈动脉 IMT。依据颈动脉 IMT 分组:IMT≤1.0 mm 为正常组(对照组),1.0 mm<IMT<1.2 mm 为增厚组,IMT≥1.2 mm 为斑块组。依据斑块回声特征,结合斑块的表面形态及结构特征分组:斑块质地呈强回声,表面光滑部分伴声影为稳定斑块组;斑块表面不光滑,似“火山口”样改变,伴血流充盈缺损,斑块呈低回声或回声强弱不均均为不稳定斑块组。

**1.2.2 实验室检验** 所有受试者取血前禁食 12 h 以上,于次日清晨抽取肘静脉血 5 mL,半小时内送于本院检验科,使用离心机以 3 000 r/min 离心 20 min,吸取血清 0.2 mL 置于离心管中,-70 ℃ 冰箱贮存,以备成批检测 MIF,肝、肾功能等生化指标于 8 h 内由本院检验科完成检测。采用化学发光法检测血清 Hcy(拜耳公司 ADVIA centaur 全自动化学发光仪及配套试剂),ELISA 法检测 MIF(上海百沃公司大鼠抗人 MIF 抗体试剂盒)。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS17.0 统计软件包进行统计学分析。各组计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间采用 *t* 检验进行分析;两变量之间的相关性,采用相关分析,计算相关系数。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 各组血清 Hcy、MIF 水平比较** 对照组、增厚组、斑块组血清 Hcy、MIF 水平依次升高,各组间比较差异有统计学意义(*P*<0.01),见表 1。

表 1 3 组血清 Hcy、MIF 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	对照组( <i>n</i> =73)	增厚组( <i>n</i> =68)	斑块组( <i>n</i> =117)
Hcy( $\mu\text{mol/L}$ )	11.79±3.28	14.13±3.34 <sup>a</sup>	16.54±3.56 <sup>ab</sup>
MIF(pg/mL)	87.65±16.58	96.16±15.39 <sup>a</sup>	115.06±20.17 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>:*P*<0.01,与对照组比较;<sup>b</sup>:*P*<0.01,与增厚组比较。

**2.2 稳定斑块组、不稳定斑块组血清 Hcy、MIF 水平比较** 不稳定斑块组明显高于稳定斑块组(*P*<0.01),见表 2。

表 2 稳定和 不稳定斑块血清 Hcy、MIF 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	稳定斑块组( <i>n</i> =52)	不稳定斑块组( <i>n</i> =65)
Hcy( $\mu\text{mol/L}$ )	15.37±3.21	17.46±4.11
MIF(pg/mL)	105.28±18.02	124.11±22.17

**2.3 血清 Hcy、MIF 水平与 IMT 三者之间相关性分析** 结果见表 3。

表 3 Hcy、IMF 和 IMT 相关性分析

项目	IMT	MIF	Hcy
IMT	1.000	0.607 <sup>a</sup>	0.562 <sup>a</sup>
MIF	0.607 <sup>a</sup>	1.000	0.584 <sup>a</sup>
Hcy	0.562 <sup>a</sup>	0.584 <sup>a</sup>	1.000

<sup>a</sup>:*P*<0.05。

3 讨 论

**3.1 Hcy 与动脉粥样硬化的关系** Hcy 是一种从食物蛋氨酸衍生的含硫非必需氨基酸,是能量代谢和许多需甲基化的中间产物。正常人体内 Hcy 含量甚微,当其发生代谢障碍时,血浓度会升高,过高浓度的 Hcy 将可通过多种途径促进动脉粥样

硬化的形成。

Boushey 等<sup>[1]</sup>对 27 份研究结果进行资料综合分析发现 Hcy 水平和血管危险性之间呈剂量依赖关系。Kelemen 等<sup>[2]</sup>对南亚、我国及欧洲多地域多种族的人群研究显示,血浆 Hcy 水平与颈动脉 IMT 呈正相关。

本研究显示,对照组、增厚组、斑块组血清 Hcy 水平依次升高,各组间比较差异有统计学意义(*P*<0.01);斑块不稳定组较斑块稳定组血清 Hcy 水平明显升高,两组比较差异有统计学意义(*P*<0.01);血清 Hcy 水平与 IMT 呈正相关(*r*=0.562,*P*<0.01)。以上结果表明,血清 Hcy 水平与颈动脉粥样硬化的程度和斑块稳定性密切相关。Hcy 在动脉粥样硬化形成过程中的作用机制仍未完全阐明,目前认为可能的机制为:(1)影响血管内皮细胞功能:损伤血管内皮细胞,使内皮细胞释放白细胞介素-8(IL-8)和单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)增多,从而有利于单核细胞和 IL-8 等因子在血管内皮下积聚<sup>[3]</sup>;抑制血管内皮细胞增殖,增强血管内皮细胞氧化应激损伤反应,从而参与动脉粥样硬化的发生、发展<sup>[4]</sup>。(2)影响凝血机制。Hcy 及其衍生物能增加血小板凝血恶烷的产生,影响血小板聚集和凝血因子 V 的活性<sup>[5]</sup>;抑制二磷酸腺苷酶,增强血小板的聚集能力,进而增加血液黏稠性,导致血管性疾病的发生<sup>[6-7]</sup>。(3)促进平滑肌细胞增殖。促进血管平滑肌细胞 DNA 的合成,刺激平滑肌细胞的增殖和胶原合成<sup>[6,8]</sup>。(4)导致脂质代谢紊乱。Hcy 氧化过程中产生的氧自由基和过氧化物,能破坏生物膜,氧化低密度脂蛋白胆固醇成为氧化修饰低密度脂蛋白胆固醇(ox-LDL),削弱高密度脂蛋白胆固醇的保护作用,促进单核巨噬细胞吞噬脂质而转变为泡沫细胞。(5)促进蛋白质 Hcy 化。Hcy 可与体内一些蛋白质发生化学反应,形成 Hcy 化蛋白质,通过巨噬细胞吞噬和免疫损伤机制破坏血管内皮,导致动脉粥样硬化的形成<sup>[9]</sup>。(6)促进单核细胞分化,诱导炎症反应和氧化应激,升高血浆肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、IL-6、MCP-1,增加血管壁单核细胞积累和促进巨噬细胞成熟,加速动脉粥样硬化<sup>[10-11]</sup>。

**3.2 MIF 与动脉粥样硬化的关系** MIF 能抑制巨噬细胞随机游走,增强其黏附、聚集和吞噬能力,在炎症反应及免疫应答的调节中起着重要的作用。Lin 等<sup>[12]</sup>研究发现,在动脉粥样硬化早期的脂纹阶段或是在后期的斑块形成阶段,血管内皮细胞和血管平滑肌细胞都能表达 MIF mRNA,并有 MIF 蛋白水平的增加。Korshunov 等<sup>[13]</sup>观察到,MIF 基因敲除小鼠动脉粥样硬化进程被阻止,内膜中膜增厚减轻,平滑肌细胞增殖以及脂质沉积受抑制。

本研究显示,对照组、增厚组、斑块组血清 MIF 水平依次升高,各组间比较差异有统计学意义(*P*<0.01);斑块不稳定组较斑块稳定组血清 MIF 水平明显升高,两组比较差异有统计学意义(*P*<0.01);血清 MIF 水平与 IMT 呈正相关(*r*=0.584,*P*<0.01)。以上结果表明,血清 MIF 水平与颈动脉粥样硬化的程度和斑块稳定性密切相关。MIF 在动脉粥样硬化形成过程中的作用机制仍未完全阐明,目前认为可能的机制为:(1)抑制巨噬细胞的随机游走移动、吸引其在炎症反应局部浸润、聚集、活化、黏附,促进巨噬细胞吞噬脂质的功能,诱导巨噬泡沫细胞的产生;诱导巨噬细胞产生大量的前炎性介质,并激活 T 淋巴细胞,从而加剧炎症反应和免疫反应。(2)激活血管内皮细胞和血管平滑肌细胞表达丰富的致炎因子和细胞介质,如 TNF-α、IL-1、IL-2、IL-6、IL-8、一氧化氮和多种基质金属蛋白酶等,这些致炎因子和细胞介质的丰富表达促进了动脉粥样硬化的发生、发展<sup>[14-15]</sup>。(3)诱导血管内皮细胞表达 MCP-1<sup>[16]</sup>,其表达可增加平滑肌细胞黏附单核细胞的能力,使单核

细胞在内皮间隙中加快摄取脂蛋白而泡沫化,进而促进动脉粥样硬化的形成<sup>[17]</sup>。(4)诱导血管平滑肌细胞表达细胞间黏附分子 1<sup>[12]</sup>。在细胞间黏附分子 1 的介导下,炎性细胞沿血管内皮细胞滚动、黏附并渗透到内皮细胞下,释放各种细胞活性物质,促进血管平滑肌细胞的迁移和增殖,泡沫细胞形成,最终导致动脉粥样斑块形成。(5)与 ox-LDL 协同作用。ox-LDL 作为氧化信号使巨噬细胞中接受氧化物成分的转录因子激活,刺激包括 MIF 在内的一系列细胞因子表达,诱导单核细胞黏附于动脉内皮,并分化为巨噬细胞,巨噬细胞的清道夫受体大量摄取而不受细胞内胆固醇浓度负反馈调控,促进巨噬细胞内大量脂质聚集而形成泡沫细胞<sup>[18]</sup>。ox-LDL 通过激活 NF- $\kappa$ B 而诱导血管平滑肌细胞表达 MIF<sup>[19]</sup>。MIF 通过自分泌和旁分泌的方式促进血管平滑肌细胞迁移,平滑肌细胞摄取 ox-LDL,继而产生平滑肌源性泡沫细胞。

**3.3 Hcy 与 MIF 在动脉粥样硬化中的关系** 本研究通过对血清 Hcy、MIF 水平进行相关分析显示:二者呈正相关( $r=0.584, P<0.01$ )。国内外很多研究证实了 Hcy 和 MIF 都是动脉粥样硬化的重要的危险因素,这样间接证明本研究结果 Hcy 与 MIF 正相关的合理性。Hcy 和 MIF 可能通过以下作用共同促进动脉粥样硬化的形成:(1) Hcy 氧化过程中可产生氧自由基和过氧化物,自由基氧化修饰 LDL 成为 ox-LDL。ox-LDL 可激活 NF- $\kappa$ B 而诱导血管平滑肌细胞表达 MIF<sup>[19]</sup>。ox-LDL 诱导培养巨噬细胞表达高水平 MIF mRNA 和 MIF,且时间和剂量增加,促进作用逐渐增强<sup>[20]</sup>。ox-LDL 可能使血管内皮细胞和单核细胞释放 MIF<sup>[12]</sup>。推测 ox-LDL 可能作为氧化信号使巨噬细胞中接受氧化物成分的转录因子激活,刺激包括 MIF 在内的一系列细胞因子表达,诱导单核细胞黏附于动脉内皮并分化为巨噬细胞,巨噬细胞的清道夫受体大量摄取 ox-LDL,导致体内胆固醇蓄积,促进巨噬细胞转变为泡沫细胞。(2) Hcy 可促进单核细胞分化,诱导炎症反应和氧化应激,升高血浆 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1,增加血管壁单核细胞积累和巨噬细胞的成熟<sup>[10-11]</sup>,活化的单核/巨噬细胞和 T 淋巴细胞是体内 MIF 的主要来源。NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$  等炎性介质可促进 MIF 的表达增加,而 MIF 又可以通过增加一些炎性因子如 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等产生广泛参与炎症反应的调节<sup>[21]</sup>。由此推测, Hcy 可能通过 MIF 促进动脉粥样硬化的形成。

#### 参考文献:

- [1] Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes[J]. JAMA, 1995, 274(13): 1049-1057.
- [2] Kelemen LE, Anand SS, Hegele RA, et al. Associations of plasma homocysteine and the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with carotid intima media thickness among South Asian, Chinese and European Canadians[J]. Atherosclerosis, 2004, 176(2): 361-370.
- [3] Undas A, Stepień E, Glowacki R, et al. Folic acid administration and antibodies against homocysteinylated proteins in subjects with hyperhomocysteinemia[J]. Thromb Haemost, 2006, 96(3): 342-347.
- [4] 纳莉, 徐支芳, 巩慧慧, 等. 同型半胱氨酸致动脉粥样硬化的机制研究[J]. 宁夏医科大学学报, 2012, 34(9): 887-889.
- [5] Rodgers GM, Homocysteine CM, stimulus AA. Reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells[J]. Blood, 1990, 75(4): 895-901.
- [6] Geisel J, Hennen B, Hübner U, et al. The impact of hyperhomocysteinemia as a cardiovascular risk factor in the prediction of coronary heart disease[J]. Clin Chem Lab Med, 2003, 41(11): 1513-1517.
- [7] 朱建一. 老年甲状腺功能异常者高半胱氨酸测定的临床意义[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(5): 378-379.
- [8] Morris MS, Bostom AG, Jacques PF, et al. Hyperhomocysteinemia and hypercholesterolemia associated with hypothyroidism in the third US National Health and Nutrition Examination Survey[J]. Atherosclerosis, 2001, 155(1): 195-200.
- [9] Beltowski J. Protein homocysteinylated: a new mechanism of atherogenesis[J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2005, 59(3): 392-404.
- [10] Zhang D, Fang P, Jiang X, et al. Severe hyperhomocysteinemia promotes bone marrow-derived and resident inflammatory monocyte differentiation and atherosclerosis in LDLr/CBS-deficient mice[J]. Circ Res, 2012, 111(1): 37-49.
- [11] Rosado Jde D, Rodriguez-Sosa M. Macrophage migration inhibitory factor(MIF): a key player in protozoan infections[J]. Int J Biol Sci, 2011, 7(9): 1239-1256.
- [12] Lin SG, Yu XY, Chen YX, et al. De novo expression of macrophage migration inhibitory factor in atherosclerosis in rabbits[J]. Circ Res, 2000, 87(12): 1202-1208.
- [13] Korshunov VA, Nikonenko TA, Tkachuk VA, et al. Interleukin-18 and macrophage migration inhibitory factor are associated with increased carotid intima-media thickening[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26(2): 295-300.
- [14] Kieemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice[J]. Cardiovasc Res, 2008, 79(3): 360-376.
- [15] 张韶辉, 高东升. 巨噬细胞移动抑制因子在动脉粥样硬化中的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(18): 2741-2744.
- [16] Cheng Q, McKeown SJ, Santos L, et al. Macrophage migration inhibitory factor increases leukocyte-endothelial interactions in human endothelial cells via promotion of expression of adhesion molecules[J]. J Immunol, 2010, 185(2): 1238-1247.
- [17] 佟丽, 田英, 龙石. 信号通路与动脉粥样硬化及药物预防作用[J]. 微量元素与健康研究, 2011, 28(2): 49-51.
- [18] Wallenfeldt K, Fagerberg B, Wikstrand J, et al. Oxidized low-density lipoprotein in plasma is a prognostic marker of subclinical atherosclerosis development in clinically healthy men[J]. J Intern Med, 2004, 256(5): 4120-4134.
- [19] Chen L, Yang G, Zhang X, et al. Induction of MIF expression by oxidized LDL via activation of NF-kappaB in vascular smooth muscle cells[J]. Atherosclerosis, 2009, 207(2): 428-433.
- [20] 林秋雄, 余细勇, 单志新, 等. 氧化型低密度脂蛋白诱导巨噬细胞移动抑制因子的表达[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(10): 1794-1797.
- [21] 戴波. 巨噬细胞移动抑制因子对细胞增殖、迁移、黏附的机理研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2009.