

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.26.010

炎症介质 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9 水平与脑微出血的相关性研究*

卢俏丽¹, 李 晨^{1△}, 贾志荣²

(1. 天津市第五中心医院神经内科, 天津 300450; 2. 北京大学第一医院神经内科, 北京 100034)

[摘要] **目的** 探讨炎症介质高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、白细胞介素 6(IL-6)和基质金属蛋白酶 9(MMP-9)水平与脑微出血(CMB)的关系。**方法** 收集非急性缺血性脑血管病患者 201 例,均行头磁共振成像(MRI)+磁敏感加权成像(SWI)检查,根据 SWI 结果分为 CMB 组 49 例和非 CMB 组 152 例,记录两组患者临床资料,检测炎症介质 hs-CRP、IL-6 及 MMP-9 的水平。采用 Logistic 回归分析 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9 水平与 CMB 的关系。**结果** CMB 组患者炎症介质 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9 水平均明显高于非 CMB 组($P<0.05$)。Logistic 多元回归分析显示调整了年龄、性别及传统危险因素的影响,炎症介质 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9[OR 值(95%CI)分别为 1.745(1.342~2.270),1.223(1.018~1.533),1.284(1.082~1.423), $P<0.05$)]同样是 CMB 发生的危险因素。**结论** 炎症介质 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9 水平与 CMB 密切相关,参与了 CMB 的发生。

[关键词] 脑出血;C 反应蛋白质;白细胞介素 6;基质金属蛋白酶 9;脑微出血;危险因素;炎症介质

[中图法分类号] R741 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)26-3629-03

Study on correlation between levels of hs-CRP, IL-6 and MMP-9 with cerebral microbleeding*

Lu Qiaoli¹, Li Chen^{1△}, Jia Zhirong²

(1. Department of Neurology, Tianjin Fifth Central Hospital, Tianjin 300450, China;

2. Department of Neurology, First Hospital, Peking University, Beijing 100034, China)

[Abstract] **Objective** To discuss the correlation between levels of hs-CRP, IL-6 and MMP-9 with cerebral microbleeding (CMB). **Methods** A total of 201 of non-acute ischemic cerebrovascular were collected and performed heal MRI + susceptibility-weighted imaging (SWI). The patients were divided into the CMB group (49 cases) and non-CMB group (152 cases) according to the SWI examination results. The clinical data were recorded in the two groups. The levels of inflammatory mediators high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), interleukin-6 (IL-6) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) were tested. The Logistic regression analysis was used to analyze the relation between the levels of hs-CRP, IL-6 and MMP-9 with cerebral microbleeding. **Results** The levels of inflammatory mediators hs-CRP, IL-6 and MMP-9 in the CMB group were significantly higher than those in the non-CMB group ($P<0.05$). The logisticMultivariate logistic regression analysis showed that the levels of hs-CRP, IL-6 and MMP-9[OR value(95%CI): 1.745(1.342—2.270), 1.223(1.018—1.533), 1.284(1.082—1.423), $P<0.05$] were the risk factors of CMB after adjusting the influence of age, sex and traditional risk factors. **Conclusion** The levels of inflammatory mediators hs-CRP, IL-6 and MMP-9 are closely associated with CMB, which participate in CMB occurrence.

[Key words] cerebral hemorrhage; C-reactive protein; interleukin-6; matrix metalloproteinase 9; cerebral microbleeding; risk factor; inflammatory mediator

脑微出血(cerebral microbleeding, CMB)是脑内微小血管病变所致的,以含铁血黄素沉积为主要特征的一种脑实质亚临床损伤^[1]。以往的报道认为,高血压血管病变、脑淀粉样血管病、既往缺血性脑损伤等造成的脑内微小血管病变是 CMB 形成的主要原因^[2]。高血压血管病变导致的 CMB 多发生在基底节区,脑叶 CMB 多与脑淀粉样血管病有关^[1]。研究显示,合并 CMB 的卒中患者卒中复发风险显著增高^[2]。有研究认为 CMB 灶数量较多时,在运用抗凝、抗血小板、溶栓治疗时自发性出血的风险较高^[3]。近一些研究显示炎性反应是导致动脉粥样硬化最重要的机制,且与腔隙性脑梗死及脑白质疏松密切相关,参与了小血管病变的过程^[4]。目前炎症过程与微出血的关系研究尚少。本研究旨在分析 CMB 的相关危险因素,为以后卒中的预防及治疗提供临床依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 6 月至 2015 年 12 月天津市第五中心医院神经内科收治的非急性缺血性脑血管病患者 201 例。根据磁敏感加权成像(SWI)结果分为两组,CMB 组 49 例,平均年龄(68.6±7.8)岁;无 CMB 组 152 例,平均年龄(61.8±11.1)岁。纳入标准:(1)所有患者均符合中华神经科学会 2010 年制订的缺血性脑血管病诊断标准;(2)经头颅磁共振成像(MRI)证实,且弥散加权成像(DWI)排除新发脑梗死;(3)年龄在 45 岁以上;(4)签署知情同意书。排除标准^[5]:(1)伴有严重意识障碍、失语的脑梗死后遗症患者;(2)颅脑创伤史;(3)既往脑出血病史;(4)恶性肿瘤;(5)风湿及胶原病;(6)严重内科疾病(脏器功能衰竭);(7)感染性疾病或服用抗炎药物;(8)高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)>8 mg/L;(9)不同意参加。

* 基金项目:天津市卫生局科技基金(2013KZ021);天津市滨海新区卫生局科技项目(2013BWKY025)。 作者简介:卢俏丽(1983—),住院医师,硕士,主要从事脑血管病及神经免疫方面研究。 △ 通信作者,E-mail:lichenokk@163.com。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 记录年龄、性别、体质量、身高、血压、血糖、血脂及有无吸烟史、饮酒史、心脏病史等资料。收缩压大于 140 mm Hg 或舒张压大于 90 mm Hg,或既往有高血压史或正在服用抗高血压药物即诊断为高血压。吸烟史、饮酒史包括过去曾经吸烟、饮酒已戒除或未戒除者。高脂血症:三酰甘油(TG)≥1.7 mmol/L;低度脂蛋白胆固醇(LDL-C)≥3.64 mmol/L;总胆固醇(TC)≥5.7 mmol/L。空腹血糖水平大于或等于 7.0 mol/L 和(或)餐后血糖大于或等于 11.1 mol/L诊断为糖尿病;抗血栓药物包括抗血小板药物及抗凝药物。

1.2.2 SWI 检查及 CMB 诊断 采用 Philips Achieva 3.0T 超导型 MRI 扫描仪,头颅 8 通道矩阵线圈,SWI 主要参数:三维梯度回波(3DFFE)序列,重复时间(Act TR) 17 ms,回波时间(TE) 24 ms,翻转角 5°,视野 183 mm×230 mm,矩阵 256×203,激励次数 1,层厚 1 mm,层数 100,敏感性因子 1.5,扫描时间 114 s。SWI 图像重建:原始图像层厚 1 mm,实时在线技术自动最小密度投影(mIP)重建。重建层厚 5 mm,常规扫描直接显示图像,所有图像在工作站上进行对比分析。采用随机双盲法由经验丰富的影像科及神经科医师同时阅片,并参考微出血解剖评定量表(MARS)对微出血进行评价,取得一致意见后记录^[6]。CMB 的诊断标准^[7]:SWI 及梯度回波加权成像(GRE-T2WI)序列上表现为 1~10 mm 低信号,形状为圆形或卵圆形,排除铁、钙沉积,骨影,血管流空信号。腔隙性脑梗死诊断标准:FLAIR 序列 3~15 mm 边界清楚的低密度影像,而 T₂ 序列表现为高信号影像,T₁ 序列表现为低信号影像。脑白质病变诊断标准:参照 Wahlund 评分分级方法,每侧大脑半球均被划分为 5 个区域,即额叶、顶枕叶、颞叶、幕下区域(包括小脑和脑干)、基底节区(包括纹状体、苍白球、丘脑、内囊、外囊、岛叶),每个区域单独评分(0~3 分,4 个等级),基底节区域 0 分为无损伤,1 分为 1 个局限性损伤,2 分为多于 1 个局限性损伤,3 分为融合损伤,最终得分为双侧大脑半球各区域评分的总和。

1.2.3 炎性标志物检测 (1)hs-CRP 水平测定:采用乳酸比浊免疫法检测,于患者入院 24 h 内取空腹肘静脉血 3 mL,注入乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管中,室温下静置 0.5~1.0 h 后以 3 000 r/min 离心 15 min,离心半径 10 cm,分离血清,-20 ℃冰箱保存,定期分批检测。(2)白细胞介素 6(IL-6)水平测定:采用双抗体夹心酶联免疫法检测,于患者入院后 24 h 内取空腹肘静脉血 2 mL,凝固后分离血清,于 20 ℃保存待测,将血清于测定前置冷水中复融混匀,4 ℃时予 3 000 r/min 离心 15 min,离心半径 10 cm,分离血清,-20 ℃冰箱保存,定期分批检测。(3)基质金属蛋白酶 9(MMP-9)水平测定:采用 Quantikine 试剂盒,ELISA 方法检测,于患者入院后 24 h 内取空腹肘静脉血 3 mL,尽快分离血清,低温保存,检测前复融。为保证检测结果准确可靠,每次检测均由检验科同一医师操作,每次检测前同一质控物矫正仪器。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件包进行统计学处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用两独立样本的 *t* 检验;偏态分布的计量资料以中位数(median, *M*)和四分位数间距(*Q*₁, *Q*₃)表示,采用两独立样本秩和检验;计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Logistic 回归进行多因素分

析,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较 CMB 组患者年龄、高血压患病率、收缩压水平、冠心病患病率、腔隙性脑梗死发生率、抗血栓药物使用率及脑白质疏松评分均高于非 CMB 组($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组临床资料比较

组别	CMB 组 (<i>n</i> =49)	非 CMB 组 (<i>n</i> =152)	<i>P</i>
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	68.6±7.8	61.8±11.1	0.011
BMI($\bar{x} \pm s$,kg/m ²)	26.9±3.0	25.6±2.8	0.068
收缩压($\bar{x} \pm s$,mm Hg)	163.3±24.1	146.6±20.1	0.011
舒张压($\bar{x} \pm s$,mm Hg)	85.4±13.4	83.0±10.7	0.135
男性[<i>n</i> (%)]	29(59.2)	79(52.0)	0.483
吸烟[<i>n</i> (%)]	21(42.9)	72(47.4)	0.624
饮酒[<i>n</i> (%)]	26(53.1)	74(48.7)	0.494
高血压[<i>n</i> (%)]	33(67.3)	61(40.1)	0.001
糖尿病[<i>n</i> (%)]	20(40.8)	60(39.5)	0.868
高脂血症[<i>n</i> (%)]	21(42.9)	57(37.5)	0.506
冠心病[<i>n</i> (%)]	29(59.2)	64(42.1)	0.048
腔隙性脑梗死[<i>n</i> (%)]	35(71.4)	47(30.9)	0.001
抗血栓药物的使用[<i>n</i> (%)]	27(55.1)	54(35.5)	0.019
脑白质疏松评分[<i>M</i> (<i>Q</i> ₁ , <i>Q</i> ₃),分]	5(4,6)	2(1,4)	0.000

2.2 两组炎症介质 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9 水平比较 CMB 组患者炎症介质 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9 水平均明显高于非 CMB 组($P<0.05$),见表 2。

表 2 两组炎症介质水平比较[*M*(*Q*₁, *Q*₃)]

项目	CMB 组 (<i>n</i> =49)	非 CMB 组 (<i>n</i> =152)	<i>P</i>
hs-CRP9(ng/mL)	6.8(5.8,9.7)	3.3(2.2,5.3)	0.000
IL-6(ng/L)	8.2(6.6,12.2)	5.5(3.7,7.8)	0.000
MMP-9(ng/mL)	16.0(13.8,18.9)	11.6(7.9,16.8)	0.001

2.3 CMB 与炎症介质 hs-CRP、IL-6、MMP-9 水平关系的 Logistic 回归分析 以有无 CMB 为因变量,将炎症介质 hs-CRP、IL-6、MMP-9 水平为自变量进行 Logistic 多元回归分析,结果显示,调整了年龄和性别的影响,炎症介质 hs-CRP、IL-6、MMP-9 是 CMB 发生的危险因素。调整了年龄、性别及传统危险因素 BMI、吸烟、饮酒、高血压、收缩压及舒张压水平、糖尿病、高脂血症、冠心病、腔隙性脑梗死、抗血栓药物的使用及脑白质疏松评分的影响,炎症介质 hs-CRP、IL-6、MMP-9 仍是 CMB 发生的危险因素,见表 3。

表 3 Logistic 回归分析

项目	CMB1			CMB2		
	OR	95%CI	<i>P</i>	OR	95%CI	<i>P</i>
hs-CRP	1.852	1.435~2.391	0.001	1.745	1.342~2.270	0.001
IL-6	1.469	1.204~1.792	0.021	1.223	1.018~1.533	0.034
MMP-9	1.397	1.196~1.632	0.025	1.284	1.082~1.423	0.029

CMB1:调整了年龄与性别;CMB2:调整了年龄、性别及传统危险因素

3 讨 论

CMB 不仅常见于缺血性、出血性卒中患者,而且见于正常老年人群,更为重要的是,CMB 可以预测未来缺血性卒中的再发及抗栓患者的出血性卒中的发生^[8],因此探寻其发病机制已成为研究热点。既往研究证实炎症反应与脑微血管病变、腔隙性脑梗死和脑白质病变密切相关。本研究进一步明确炎症介质 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9 与 CMB 的关系。

既往研究显示炎症介质 hs-CRP、IL-6、IL-18 在 CMB 患者中明显高于非 CMB 患者,与 CMB 的位置无关,与小血管病变的严重程度相关,提示炎症反应是微出血的重要的发病机制^[5]。有研究发现血清 MMP-9 水平升高与 CMB 密切相关,并且血清 MMP-9 水平与 CMB 呈正相关^[9]。又有研究显示卒中患者中 hs-CRP、MMP-9 与 CMB 密切相关,同时 MMP-9 是神经损伤的独立危险因素^[10]。本研究结果显示调整了年龄、性别及传统危险因素的影响,炎症介质 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9 仍是 CMB 发生的危险因素,与上述结果一致。大量研究证实内皮功能障碍和血脑屏障(BBB)的破坏是脑小血管病的主要起始病理表现。IL-6 是一种在炎症反应中起重要作用的细胞活素,与脑微出血及脑小血管病密切相关^[11]。有研究发现老年人的含铁血黄素沉积于毛细血管周围,外渗的含铁血黄素经扩大的血管间隙迁移,促进炎症反应,导致腔隙性梗死的形成,这些发现在某种程度上支持炎症过程,反映了炎症机制导致小血管病和 CMB 的发生^[12]。动物实验结果显示,MMP-9 表达增加与慢性血脑屏障损伤关系最为密切^[13]。脑缺血再灌注后,MMP 表达增加,尤其是 MMP-9 增加更为显著,MMP-9 通过降解细胞外基质,使血脑屏障破坏,血脑屏障通透性增加^[14]。上述研究均支持炎症反应参与内皮功能障碍和血脑屏障破坏,导致 CMB 的发生。

综上所述,炎症介质 hs-CRP、IL-6 和 MMP-9 水平升高与 CMB 密切相关,同时炎症反应参与了 CMB 的发生。CMB 与缺血性卒中及出血性卒中密切相关,CMB 病灶越多,患者卒中复发风险越高。考虑使用抗血小板聚集、抗凝治疗或溶栓治疗时,最好行常规头 MRI+SWI 及血炎症标志物检测,判断有无 CMB 及 CMB 的严重性,用以指导临床用药及评估出血转化的风险。

参考文献

- [1] Chung CP,Chou KH,Chen WT,et al. Strictly lobar cerebral microbleeds are associated with cognitive impairment[J]. Stroke,2016,47(10):2497-2502.
- [2] Charidimou A,Kakar P,Fox Z,et al. Cerebral microbleeds and recurrent stroke risk:systematic review and meta-analysis of prospective ischemic stroke and transient ischemic attack cohorts[J]. Stroke,2013,44(4):995-1001.
- [3] Yamashiro K,Mori A,Shimada Y,et al. Gradient echo T2-weighted magnetic resonance imaging revealing cerebral mi-

crobleeds in a patient with microscopic polyangiitis complicated by cerebrovascular disease[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2012,21(8):904.

- [4] Hoshi T,Kitagawa K,Yamagami H,et al. Relation between interleukin-6 level and subclinical intracranial large-artery atherosclerosis[J]. Atherosclerosis,2008,197(1):326-332.
- [5] Miwa K,Tanaka M,Okazaki S,et al. Relations of blood inflammatory marker levels with cerebral microbleeds[J]. Stroke,2011,42(11):3202-3206.
- [6] Gregoire SM,Chaudhary UJ,Brown MM,et al. The microbleed anatomical rating scale(Mars):reliability of a tool to map brain microbleeds[J]. Neurology,2009,73(21):1759-1766.
- [7] Charidimou A,Gager HR,Werring DJ. Cerebral microbleed detection and mapping:principles,methodological aspects and rationale in vascular dementia[J]. Exp Gerontol, 2012,47(11):843-852.
- [8] Biffi A,Halpin A,Towfighi A,et al. Aspirin and recurrent intracerebral hemorrhage in cerebral amyloid angiopathy[J]. Neurology,2010,75(8):693-698.
- [9] 杜宇平,张敏,诸兴明. 急性缺血性脑卒中患者脑微出血与基质金属蛋白酶 9 相关研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2013,15(1):90-91.
- [10] Koh SH,Park CY,Kim MK,et al. Microbleeds and free active MMP-9 are Independent risk factors for neurological deterioration in acute lacunar stroke[J]. Eur J Neurol, 2011,18(1):158-164.
- [11] Shoamanesh A,Preis SR,Beiser AS,et al. Inflammatory biomarkers,cerebral microbleeds,and small vessel disease:framingham heart study[J]. Neurology,2015,84(8):825-832.
- [12] Schrag M,Mcauley G,Pomakian J,et al. Correlation of hypointensities in susceptibility-weighted images to tissue histology in dementia patients with cerebral amyloid angiopathy:a postmortem MRI study[J]. Acta Neuropathol, 2010,119(3):291-302.
- [13] Jin R,Yang G,Li G. Molecular insights and therapeutic targets for blood-brain barrier disruption in ischemic stroke:critical role of matrix metalloproteinases and tissue-type plasminogen activator[J]. Neurobiol Dis,2010,38(3):376-385.
- [14] Turner RJ,Sharp FR. Implications of MMP-9 for blood brain barrier disruption and hemorrhagic transformation following ischemic stroke[J]. Front Cell Neurosci,2016(10):56.

(收稿日期:2017-02-18 修回日期:2017-06-13)