

颈动脉粥样硬化性缺血性卒中患者外周血辅助性 T 细胞 1、2 和 17 分布特点研究

安中平 杨寻 赵文娟 洪雁 周官恩

【摘要】 **目的** 探讨颈动脉粥样硬化性缺血性卒中患者外周血辅助性 T 细胞 1、2 和 17(Th1、Th2 和 Th17)的分布特点。**方法** 共 180 例颈动脉粥样硬化性缺血性卒中患者,根据颈动脉狭窄程度分为颈动脉轻度狭窄亚组、中度狭窄亚组和重度狭窄亚组(各 60 例),流式细胞术检测患者外周血 Th1、Th2 和 Th17 细胞比例。**结果** 缺血性卒中组患者外周血 Th1 和 Th17 细胞比例均高于对照组[(5.76 ± 1.81)%对(3.54 ± 0.29)%, $P = 0.000$;(0.36 ± 0.13)%对(0.18 ± 0.03)%, $P = 0.000$]。颈动脉狭窄不同程度亚组患者外周血 Th1[(4.56 ± 0.55)%, (4.88 ± 0.42)%和(7.83 ± 1.69)%, $P = 0.000$]和 Th17[(0.23 ± 0.04)%, (0.34 ± 0.02)%和(0.50 ± 0.09)%, $P = 0.000$]细胞比例差异均有统计学意义,其中,重度狭窄亚组 Th1($P = 0.001$, 0.001)和 Th17($P = 0.000$, 0.001)细胞比例高于轻度狭窄亚组和中度狭窄亚组,中度狭窄亚组仅 Th17 细胞比例高于轻度狭窄亚组($P = 0.000$)。**结论** Th1 和 Th17 细胞与颈动脉粥样硬化狭窄程度密切相关,随着颈动脉狭窄程度的加重,外周血 Th17 细胞比例升高,表明细胞免疫机制参与颈动脉粥样硬化的发生与发展,为颈动脉粥样硬化性缺血性卒中的免疫治疗提供理论依据。

【关键词】 动脉粥样硬化; 卒中; 脑缺血; Th1 细胞; Th2 细胞; 流式细胞术

Distribution of Th1, Th2 and Th17 in peripheral blood of patients with carotid atherosclerotic ischemic stroke

AN Zhong-ping, YANG Xun, ZHAO Wen-juan, HONG Yan, ZHOU Guan-en
Department of Neurology, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300350, China
Corresponding author: AN Zhong-ping (Email: azpaf@126.com)

【Abstract】 **Objective** To investigate the distribution of T helper cell 1 (Th1), Th2 and Th17 in peripheral blood of patients with carotid atherosclerotic ischemic stroke. **Methods** There were a total of 180 patients with carotid atherosclerotic ischemic stroke and 60 normal controls enrolled in this study. According to the degree of carotid artery stenosis, 180 patients were divided into 3 subgroups: mild stenosis group (N = 60), moderate stenosis group (N = 60) and severe stenosis group (N = 60). Flow cytometry (FCM) was used to test the proportion of Th1, Th2 and Th17 cells in peripheral blood. **Results** Compared with control group, the proportion of Th1 [(5.76 ± 1.81)% vs (3.54 ± 0.29)%, $P = 0.000$] and Th17 [(0.36 ± 0.13)% vs (0.18 ± 0.03)%, $P = 0.000$] cells in ischemic stroke group was significantly increased. There were statistical differences in the proportion of Th1 cells [(4.56 ± 0.55)%, (4.88 ± 0.42)% and (7.83 ± 1.69)%; $P = 0.000$] and Th17 cells [(0.23 ± 0.04)%, (0.34 ± 0.02)% and (0.50 ± 0.09)%; $P = 0.000$] in peripheral blood of patients with different degrees of carotid stenosis. The proportion of Th1 cells ($P = 0.001$, 0.001) and Th17 cells ($P = 0.000$, 0.001) in severe stenosis group were higher than those in mild and moderate stenosis groups, and the proportion of Th17 cells was higher in moderate stenosis group than that in mild stenosis group ($P = 0.000$). **Conclusions** Th1 and Th17 cells participate in the pathological process of carotid atherosclerosis. As the degree of carotid atherosclerosis in patients with ischemic stroke is increased, the proportion of peripheral blood Th17 cells is increased, suggesting that cellular immune mechanism is involved in the occurrence and development of atherosclerosis and provide theoretical basis for the immune treatment of carotid atherosclerotic ischemic stroke.

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2016.09.008

基金项目:天津市卫生行业重点攻关计划项目(项目编号:13KG120)

作者单位:300350 天津市环湖医院神经内科

通讯作者:安中平(Email:azpaf@126.com)

【Key words】 Atherosclerosis; Stroke; Brain ischemia; Th1 cells; Th2 cells; Flow cytometry

This study was supported by Tianjin Health Key Research Project (No. 13KG120).

动脉粥样硬化(AS)是缺血性脑血管病的主要病理生理学基础,粥样硬化斑块中存在免疫细胞及其炎性因子,天然免疫(natural immunity)对斑块的形成起调节作用。晚近对动脉粥样硬化病理生理学机制的研究聚焦于免疫炎症反应,血管壁不同T淋巴细胞亚群既参与早期斑块的形成,又促进动脉粥样硬化的进展^[1]。根据生物学特征和所产生细胞因子的不同,CD4⁺T细胞主要分为辅助性T细胞1(Th1)、辅助性T细胞2(Th2)、调节性T细胞(Treg)和辅助性T细胞17(Th17)^[2],上述细胞因子与动脉粥样硬化的相关性成为目前研究的热点。本研究探讨颈动脉粥样硬化性缺血性卒中患者外周血Th1、Th2和Th17细胞分布特点,以为颈动脉粥样硬化性缺血性卒中的免疫治疗提供理论依据。

资料与方法

一、临床资料

1. 纳入标准 (1)缺血性卒中的诊断符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2014》^[3],且发病至入院时间<72h。(2)颈部血管超声证实颈动脉狭窄,对于不能确定供血动脉狭窄程度的患者,进一步完善头部CTA检查。(3)颈动脉狭窄程度依据2003年北美放射学年会公布的标准^[4]:轻度狭窄,颈动脉存在1个或多个斑块,狭窄程度≤49%;中度狭窄,颈动脉存在1个或多个斑块,狭窄程度50%~69%;重度狭窄,颈动脉存在1个或多个斑块,狭窄程度70%~99%;闭塞。(4)本研究经天津市环湖医院道德伦理委员会审核批准,所有患者或其家属均知情同意并签署知情同意书。

2. 排除标准 (1)颅内动脉瘤、静脉窦血栓形成、颅内动-静脉畸形、动脉夹层、动脉炎和烟雾病患者。(2)心源性栓塞患者。(3)肿瘤、自身免疫性疾病和血液系统疾病患者。(4)存在严重肝肾功能障碍患者。(5)冠心病和周围动脉粥样硬化患者。(6)近期服用抗炎药物、激素或免疫抑制剂患者。(7)患者或其家属拒绝或不能配合检查。

3. 一般资料 (1)缺血性卒中组:根据上述纳入与排除标准,选择2015年3-12月在天津市环湖医院卒中单元住院治疗的颈动脉粥样硬化性缺血性

卒中患者180例,男性111例,女性69例;年龄45~84岁,平均(66.19±10.16)岁;既往有高血压103例(57.22%)、糖尿病67例(37.22%)、高脂血症73例(40.56%),吸烟75例(41.67%)、饮酒53例(29.44%);根据颈动脉狭窄程度,进一步分为颈动脉轻度狭窄组、中度狭窄组和重度狭窄组。①颈动脉轻度狭窄组(轻度狭窄组),60例患者,男性35例,女性25例;年龄48~80岁,平均(66.00±10.36)岁;既往有高血压30例(50%)、糖尿病20例(33.33%)、高脂血症20例(33.33%),吸烟20例(33.33%)、饮酒15例(25%)。②颈动脉中度狭窄组(中度狭窄组),60例患者,男性36例,女性24例;年龄45~83岁,平均(65.72±8.34)岁;既往有高血压35例(58.33%)、糖尿病22例(36.67%)、高脂血症25例(41.67%),吸烟25例(41.67%)、饮酒20例(33.33%)。③颈动脉重度狭窄组(重度狭窄组),60例患者,男性40例,女性20例;年龄46~85岁,平均(66.87±11.66)岁;既往高血压38例(63.33%)、糖尿病25例(41.67%)、高脂血症28例(46.67%),吸烟30例(50%)、饮酒18例(30%)。(2)正常对照组(对照组):选择同期在我院进行体格检查的健康志愿者60例,颈部血管超声均未见异常,既往无心脑血管病病史,男性31例,女性29例;年龄28~65岁,平均(54.92±9.55)岁。缺血性卒中组与对照组受试者性别和年龄比较,差异无统计学意义(均 $P>0.05$,表1);颈动脉狭窄不同程度亚组患者性别、年龄和既往史比较,差异亦无统计学意义(均 $P>0.05$,表2),均衡可比。

二、研究方法

1. 标本采集 缺血性卒中组患者于入院后次日清晨、对照组受试者于体检当日清晨空腹采集肘正中静脉血4ml,置肝素钠抗凝试管,采用Ficoll密度离心法,于350×g离心5min,分离出外周血单个核细胞(PBMC),用以检测Th1、Th2和Th17细胞比例。

2. 流式细胞术检测Th1、Th2和Th17细胞比例 (1)试剂与仪器:BB515标记的CD4单克隆抗体(Hu CD4 BB515 RPA-T4)和鼠抗人CD4⁺BB515抗体、PerCP-Cy5.5标记的干扰素- γ (IFN- γ)单克隆抗体(Hu IFN- γ PerCP-Cy5.5 B27)和鼠抗人IFN- γ ⁺PerCP-Cy5.5抗体、别藻青蛋白(APC)标记的白细胞

表 1 缺血性卒中组与对照组受试者临床资料的比较

Table 1. Comparison of general data between ischemic stroke group and control group

Item	Control (N = 60)	Ischemic stroke (N = 180)	χ^2 or <i>t</i> value	<i>P</i> value
Sex [case (%)]			1.863	0.172
Male	31 (51.67)	111 (61.67)		
Female	29 (48.33)	69 (38.33)		
Age ($\bar{x} \pm s$, year)	54.92 \pm 9.55	66.19 \pm 10.16	1.145	0.254

χ^2 test for comparison of sex and two-independent-sample *t* test for comparison of age

表 2 颈动脉狭窄不同程度亚组患者临床资料的比较

Table 2. Comparison of general data among different subgroups of ischemic stroke patients

Item	Mild stenosis (N = 60)	Moderate stenosis (N = 60)	Severe stenosis (N = 60)	χ^2 or <i>F</i> value	<i>P</i> value
Sex [case (%)]				0.987	0.610
Male	35 (58.33)	36 (60.00)	40 (66.67)		
Female	25 (41.67)	24 (40.00)	20 (33.33)		
Age ($\bar{x} \pm s$, year)	66.00 \pm 10.36	65.72 \pm 8.34	66.87 \pm 11.66	0.207	0.814
Hypertension [case (%)]	30 (50.00)	35 (58.33)	38 (63.33)	2.224	0.329
Diabetes [case (%)]	20 (33.33)	22 (36.67)	25 (41.67)	0.903	0.637
Hyperlipidemia [case (%)]	20 (33.33)	25 (41.67)	28 (46.67)	2.258	0.323
Smoking [case (%)]	20 (33.33)	25 (41.67)	30 (50.00)	3.429	0.180
Drinking [case(%)]	15 (25.00)	20 (33.33)	18 (30.00)	1.016	0.602

ANOVA for comparison of age and χ^2 test for comparison of others

介素-4(IL-4)单克隆抗体(Hu IL-4 APC 8D4-8)和鼠抗人 IL-4⁺APC 抗体,藻红蛋白(PE)标记的白细胞介素-17A(IL-17A)单克隆抗体(Hu IL-17A PE SCPL1362)和鼠抗人 IL-17A⁺PE 抗体购自美国 BD 公司(均为工作液浓度),含 10%胎牛血清(FBS)的培养基、固定/破膜试剂盒(Cytofix/Cytoperm Soln Kit)、白细胞激活剂组合(Leuko Act Cktl With GolgiPlug)、FACS Calibur™流式细胞仪均由美国 BD 公司提供, Thermo Sorvall ST16R 离心机、Thermo Scientific 1300 SERIES A2 生物安全柜和 Thermo 311 5%二氧化碳培养箱为美国 Thermo 公司产品, XW-80A 旋涡混合器由上海精科实业有限公司提供。(2)检测方法:以白细胞激活剂组合刺激外周血单个核细胞,吹打混匀后置 37 ℃、5%二氧化碳培养箱培养 5 h,于 350 × *g* 离心 5 min,弃上清液,染色缓冲液重悬细胞。取 7 个流式细胞管,分别标记①号管为纯阴性细胞、②号管为空白对照、③号管为 CD4⁺细胞、④号管为 IFN- γ ⁺细胞、⑤号管为 IL-4⁺细

胞、⑥号管为 IL-17A⁺细胞、⑦号管为 IFN- γ ⁺IL-4⁺ IL-17A⁺细胞,每管均加入 100 μ l 细胞悬液,其中②、④、⑤、⑥号管加入 CD4⁺BB515 的同型对照以消除抗体与细胞非特异性结合产生的背景染色,③、⑦号管加入鼠抗人 CD4⁺BB515 抗体,混匀、室温避光孵育 15 min;每管加入 2 ml 染色缓冲液重悬细胞,于 350 × *g* 离心 5 min。每管加入 100 μ l 固定破膜 A 液(FIX & PERM Reagent A,美国 Caltag 公司),室温孵育 15 min,再加入 3 ml 染色缓冲液,于 300 × *g* 离心 5 min,弃上清液,收集细胞,旋涡混合器振荡,加入 100 μ l 固定破膜 B 液(FIX & PERM Reagent B,美国 Caltag 公司)。再以 100 μ l 洗涤缓冲液重悬固定破膜后的细胞,②、③、⑤、⑥号管加入 IFN- γ ⁺PerCP-Cy5.5 的同型对照以消除背景染色,④、⑦号管加入鼠抗人 IFN- γ ⁺PerCP-Cy5.5 抗体;②、③、④、⑥号管加入 IL-4⁺APC 的同型对照以消除背景染色,⑤、⑦号管加入鼠抗人 IL-4⁺APC 抗体;②、③、④、⑤号管加入 IL-17A⁺PE 的同型对照以消除背景染色,⑥、⑦号管加入鼠抗人 IL-17A⁺PE 抗体,室温避光孵育 20 min。最后于 480 nm 波长处测定光密度值(OD 值)。(3)结果判定:于光学显微镜下设门圈出目标细胞,采用 CELLQuest 软件计算 CD4⁺IFN- γ ⁺细胞、CD4⁺IL-4⁺细胞和 CD4⁺IL-17A⁺细胞比例,即代表外周血 Th1、Th2 和 Th17 细胞比例。

3. 彩色多普勒超声检测颈动脉狭窄程度 采用美国 GE 公司生产的 GE Vivid 7 型彩色多普勒超声(CDUS)诊断仪,受试者仰卧位,头部后仰稍偏向对侧,充分暴露颈部受检部位,探头频率为 10 MHz,自颈动脉起始部至颈内动脉入颅处进行不间断横向和纵向扫描,记录收缩期峰值流速(PSV)、舒张期末流速(EDV)、颈内动脉收缩期峰值流速(PSV_{ICA})/颈总动脉收缩期峰值流速(PSV_{CCA})比值。颈动脉狭窄程度的判定参照 2003 年北美放射学年会公布的标准^[4]。不能确定颈动脉狭窄程度的患者空腹 8 h 后将留置针埋至肘静脉,高压注射器注射 100 ml 碘海醇注射液,采用美国 GE 公司生产的 16 层螺旋 CT 进一步行主动脉弓-颅内血管 CTA 检查。

4. 统计分析方法 本研究采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理与分析。计数资料以相对数构成比(%)或率(%)表示,采用 χ^2 检验。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间的比较行两独立

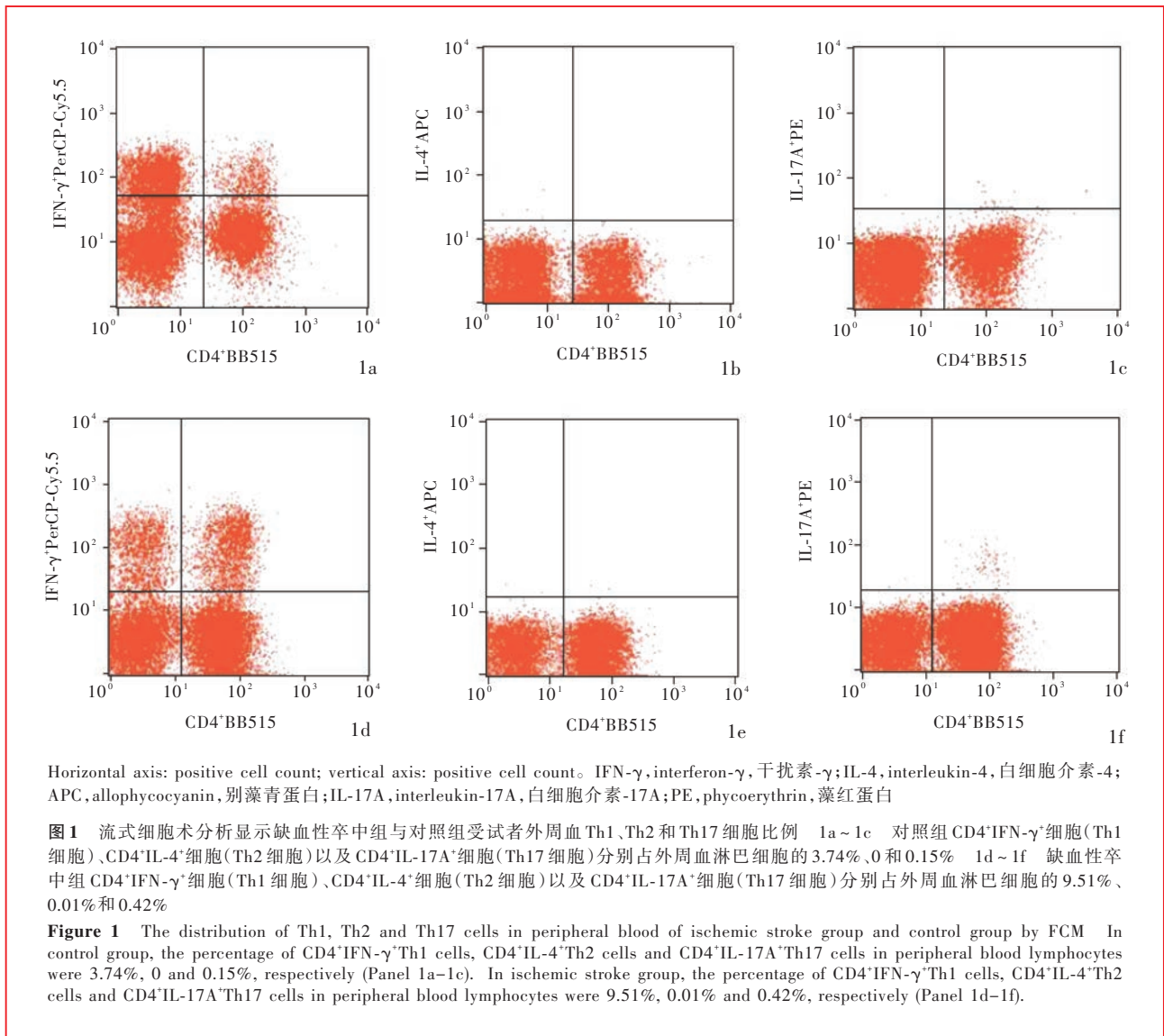


表 3 缺血性卒中组与对照组受试者外周血 Th1、Th2 和 Th17 细胞比例的比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 3. Comparison of Th1, Th2 and Th17 cell percentage in peripheral blood between ischemic stroke group and control group ($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	N	Th1	Th2	Th17
Control	60	3.54 ± 0.29	0.022 ± 0.005	0.18 ± 0.03
Ischemic stroke	180	5.76 ± 1.81	0.026 ± 0.008	0.36 ± 0.13
<i>t</i> value		5.793	1.615	6.472
<i>P</i> value		0.000	0.117	0.000

Th, T helper cell, 辅助性 T 细胞。The same for tables below

样本的 *t* 检验; 多组间的比较采用单因素方差分析, 两两比较行 LSD-*t* 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

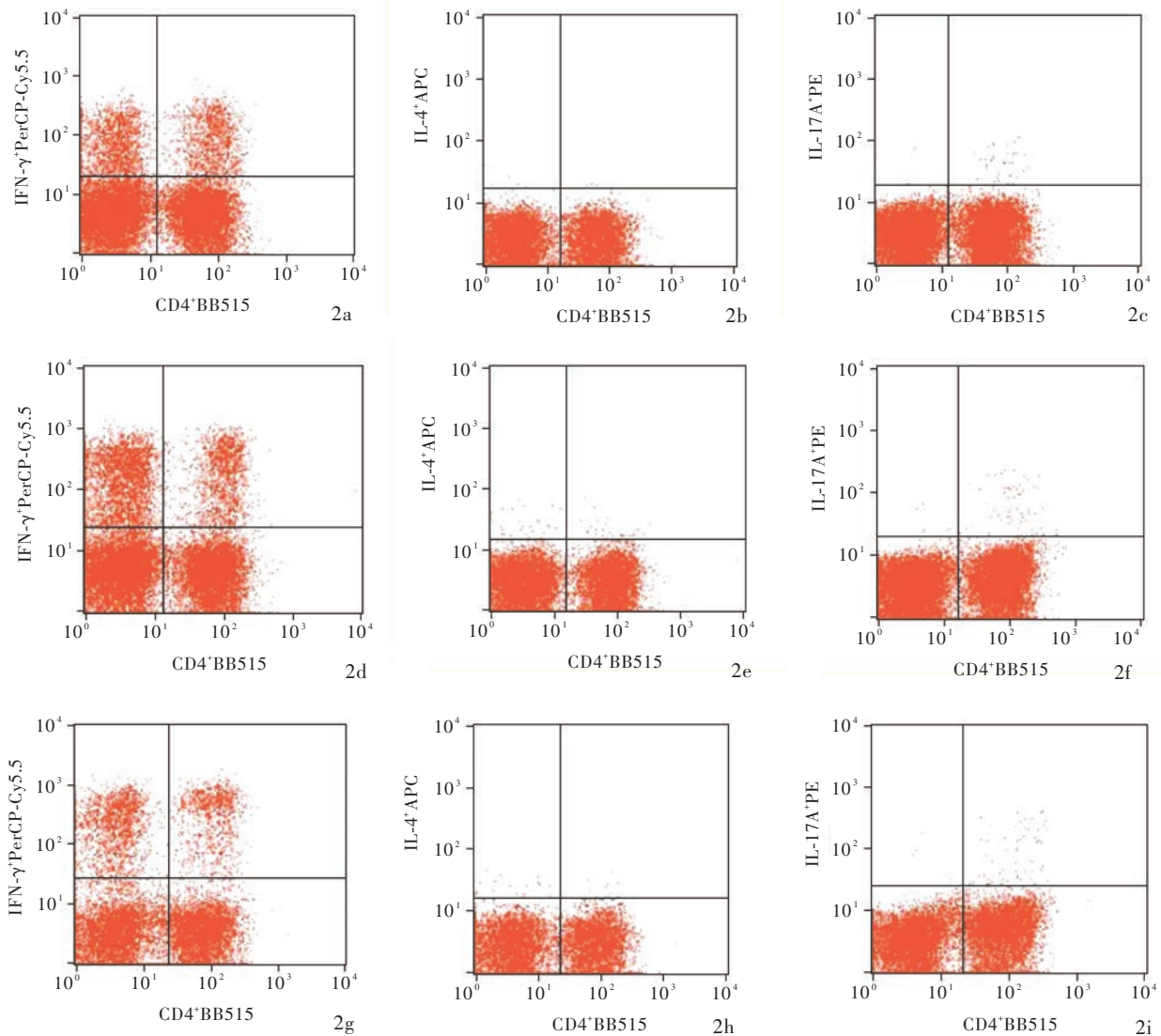
结 果

一、缺血性卒中组与对照组外周血 Th1、Th2 和 Th17 细胞比例的比较

与对照组相比, 缺血性卒中组患者外周血 Th1 和 Th17 细胞比例均升高且差异有统计学意义 (均 $P = 0.000$), 而 Th2 细胞比例组间差异无统计学意义 ($P = 0.117$; 图 1, 表 3)。

二、颈动脉狭窄不同程度亚组外周血 Th1、Th2 和 Th17 细胞比例的比较

颈动脉狭窄不同程度亚组患者外周血 Th1 和 Th17 细胞比例差异有统计学意义 (均 $P = 0.000$), 其中, 重度狭窄亚组 Th1 ($P = 0.001, 0.001$) 和 Th17 ($P = 0.000, 0.001$) 细胞比例均高于轻度狭窄亚组和中度



Horizontal axis: positive cell count; vertical axis: positive cell count. IFN- γ , interferon- γ , 干扰素- γ ; IL-4, interleukin-4, 白细胞介素-4; APC, allophycocyanin, 别藻青蛋白; IL-17A, interleukin-17A, 白细胞介素-17A; PE, phycoerythrin, 藻红蛋白

图2 流式细胞术分析显示轻度狭窄亚组、中度狭窄亚组和重度狭窄亚组外周血Th1、Th2和Th17细胞比例 2a~2c 轻度狭窄亚组CD4⁺IFN- γ ⁺细胞(Th1细胞)、CD4⁺IL-4⁺细胞(Th2细胞)和CD4⁺IL-17A⁺细胞(Th17细胞)分别占外周血淋巴细胞的5.98%、0.01%和0.18% 2d~2f 中度狭窄亚组CD4⁺IFN- γ ⁺细胞(Th1细胞)、CD4⁺IL-4⁺细胞(Th2细胞)和CD4⁺IL-17A⁺细胞(Th17细胞)分别占外周血淋巴细胞的6.86%、0.13%和0.28% 2g~2i 重度狭窄亚组CD4⁺IFN- γ ⁺细胞(Th1细胞)、CD4⁺IL-4⁺细胞(Th2细胞)和CD4⁺IL-17A⁺细胞(Th17细胞)分别占外周血淋巴细胞的7.61%、0.08%和0.45%

Figure 2 The distribution of Th1, Th2 and Th17 cells in peripheral blood of patients with different degrees of carotid artery stenosis by FCM. In mild stenosis group, the percentage of CD4⁺IFN- γ ⁺Th1 cells, CD4⁺IL-4⁺Th2 cells and CD4⁺IL-17A⁺Th17 cells in peripheral blood lymphocytes were 5.98%, 0.01% and 0.18%, respectively (Panel 2a-2c). In moderate stenosis group, the percentage of CD4⁺IFN- γ ⁺Th1 cells, CD4⁺IL-4⁺Th2 cells and CD4⁺IL-17A⁺Th17 cells in peripheral blood lymphocytes were 6.86%, 0.13% and 0.28%, respectively (Panel 2d-2f). In severe stenosis group, the percentage of CD4⁺IFN- γ ⁺Th1 cells, CD4⁺IL-4⁺Th2 cells and CD4⁺IL-17A⁺Th17 cells in peripheral blood lymphocytes were 7.61%, 0.08% and 0.45%, respectively (Panel 2g-2i).

狭窄亚组,中度狭窄亚组仅Th17细胞比例高于轻度狭窄亚组($P=0.000$),其余各亚组间差异无统计学意义(均 $P>0.05$);而颈动脉狭窄不同程度亚组患者外周血Th2细胞比例差异无统计学意义($P=0.316$;图2;表4,5)。

讨 论

动脉粥样硬化是脑卒中和冠心病的重要病因,有60%~80%的缺血性卒中系颈动脉粥样硬化所致。动脉粥样硬化性缺血性卒中可以引起失语、偏

表 4 颈动脉狭窄不同程度亚组患者外周血 Th1、Th2 和 Th17 细胞比例的比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 4. Comparison of Th1, Th2 and Th17 cell percentage in peripheral blood among different subgroups ($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	N	Th1	Th2	Th17
Mild stenosis (1)	60	4.56 ± 0.55	0.025 ± 0.011	0.23 ± 0.04
Moderate stenosis (2)	60	4.88 ± 0.42	0.042 ± 0.013	0.34 ± 0.02
Severe stenosis (3)	60	7.83 ± 1.69	0.040 ± 0.014	0.50 ± 0.09
F value		23.464	1.219	45.334
P value		0.000	0.316	0.000

表 5 颈动脉狭窄不同程度亚组患者外周血 Th1 和 Th17 细胞比例的两两比较

Table 5. Paired comparison of Th1 and Th17 cell percentage in peripheral blood among different subgroups

Paired comparison	Th1		Th17	
	t value	P value	t value	P value
(1) : (2)	1.328	0.206	6.763	0.000
(1) : (3)	5.217	0.001	7.895	0.000
(2) : (3)	4.793	0.001	5.114	0.001

瘫等一系列神经功能缺损症状与体征,病残率和病死率均较高^[5]。颈动脉狭窄致缺血性卒中占所有缺血性卒中的 80%。颈动脉狭窄主要由颈动脉粥样硬化致斑块形成所致,60 岁以上人群发病率约占 9%,且多发生于颈总动脉分叉部和颈内动脉起始部。Kapral 等^[6]发现,男性较女性更易出现重度颈动脉狭窄,究其原因,可能与男性社会压力增加程度、吸烟和酗酒比例均高于女性有关。本研究颈动脉重度狭窄亚组男性患者比例(66.67%)高于女性(33.33%),考虑与上述因素有关。

业已证实炎症反应在动脉粥样硬化发生与发展中的作用。最初认为,炎症反应是有毒脂质聚集的结果,晚近研究显示,炎症反应是受复杂的免疫反应模式调节、先天性和适应性免疫反应均参与的动脉粥样硬化发病机制^[7]。淋巴细胞计数增加是心血管病的独立危险因素^[8],也有研究显示,淋巴细胞计数减少仍可使心血管病风险增加^[9],从而证实淋巴细胞在动脉粥样硬化免疫应答中的复杂作用。

Th1 细胞是动脉粥样硬化斑块中最丰富的 T 淋巴细胞亚型,主要分泌 IL-2、IL-12、IFN- γ 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等细胞因子。Th17 由 Th0 细胞在 IL-6 和 IL-23 刺激下分化而成,主要分泌 IL-17、IL-22 等炎性因子。为探讨缺氧是否刺激体内 Th17 细胞

生成,Yin 和 Li^[10]采用酶联免疫吸附试验(ELISA)和流式细胞术检测重型缺血性卒中患者血清 IL-1 β 、IFN- γ 、IL-23 和 IL-17A 表达水平及外周血 Th1 和 Th17 细胞比例,结果显示,缺血性卒中慢性期经厌氧培养的外周血单个核细胞中 Th17 细胞比例增加,提示 Th17 细胞参与缺血性卒中的发生与发展。在本研究中,缺血性卒中组患者外周血 Th1 和 Th17 细胞比例均高于对照组且差异有统计学意义(均 $P=0.000$),与文献报道相一致^[11],进一步证实 Th1 和 Th17 细胞参与动脉粥样硬化的病理生理学过程。IL-4 是 Th2 细胞的特征性细胞因子,后者在动脉粥样硬化发病机制中的作用尚存争议^[12]。在本研究中,缺血性卒中组与对照组受试者 Th2 细胞比例差异无统计学意义($P=0.117$),亦提示 Th2 细胞的作用尚不明确。研究显示,Th2 细胞产生的细胞因子 IFN- γ 对动脉粥样硬化具有促进作用^[13],缺乏 IFN- γ 和 TNF- α 的高胆固醇血症小鼠动脉粥样硬化程度减轻,支持 Th1 细胞的促炎症反应作用。由于 Th2 细胞分化由其分泌的细胞因子 IL-4 启动,该细胞因子可以减少 IFN- γ 产生、抑制 Th1 细胞分化,认为 Th2 细胞也可能存在一定抗炎症反应作用,尚待进一步研究证实。

颈动脉狭窄不同程度亚组患者外周血 Th1 和 Th17 细胞比例差异有统计学意义(均 $P=0.000$),其中,重度狭窄亚组 Th1($P=0.001, 0.001$)和 Th17($P=0.000, 0.001$)细胞比例均高于轻度狭窄亚组和中度狭窄亚组,中度狭窄亚组仅 Th17 细胞比例高于轻度狭窄亚组($P=0.000$);而颈动脉狭窄不同程度亚组患者外周血 Th2 细胞比例差异无统计学意义($P=0.316$)。表明 Th1 和 Th17 细胞在动脉粥样硬化发展过程中发挥重要作用,Th1 细胞可以通过促进泡沫细胞和平滑肌细胞聚集以加重炎症反应;IL-17A 是 Th17 细胞的主要效应因子,是 T 淋巴细胞介导的炎症反应的早期启动因子,能够放大炎症反应。有文献报道,IL-17 具有致动脉粥样硬化的作用^[14]。张立堂等^[15]研究显示,急性脑梗死患者外周血 Th17 细胞和 IL-17 水平升高,表明 Th17 细胞可能参与急性脑梗死的发生与发展过程。本研究结果显示,随着颈动脉狭窄程度的加重,Th17 细胞比例逐渐增加($P=0.000, 0.000, 0.000$),与张立堂等^[15]的研究结果相一致,可能是由于 IL-17A 通过诱导趋化因子释放,使中性粒细胞和单核细胞在动脉粥样硬化病变处集聚。

综上所述, Th1 和 Th17 细胞介导的细胞免疫机制参与动脉粥样硬化的病理生理过程, 且随着缺血性卒中患者颈动脉狭窄程度的加重, 外周血 Th17 细胞比例增加。目前, 以 T 淋巴细胞为靶点治疗动脉粥样硬化的动物实验已经开展, 并逐步显现出其科学性和有效性, 进一步对 CD4⁺T 细胞免疫机制的研究可能为动脉粥样硬化的免疫治疗提供新的方案。由于本研究样本量较小, 尚待多中心、大样本的临床研究进一步证实。

参 考 文 献

- [1] Tse K, Tse H, Sidney J, Sette A, Ley K. T cells in atherosclerosis. *Int Immunol*, 2013, 25:615-622.
- [2] Li N. CD4⁺ T cells in atherosclerosis: regulation by platelets. *Thromb Haemost*, 2013, 109:980-990.
- [3] Chinese Society of Neurology; Cerebrovascular Disease Group, Chinese Society of Neurology, Chinese Medical Association. Guidelines for the diagnosis and treatment of acute ischemic stroke in China 2014. *Zhonghua Shen Jing Ke Za Zhi*, 2015, 48: 246-257. [中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014. *中华神经科杂志*, 2015, 48:246-257.]
- [4] Chinese Ultrasound Doctor Association. Guidelines for vascular ultrasound examination. *Zhonghua Chao Sheng Ying Xiang Xue Za Zhi*, 2009, 18:911-920. [中国医师协会超声医师分会. 血管超声检查指南. *中华超声影像学杂志*, 2009, 18:911-920.]
- [5] Kim BJ, Kim JS. Ischemic stroke subtype classification: an Asian viewpoint. *J Stroke*, 2014, 16:8-17.
- [6] Kapral MK, Ben-Yakov M, Fang J, Gladstone DJ, Saposnik G, Robertson A, Silver FL. Gender differences in carotid imaging and revascularization following stroke. *Neurology*, 2009, 73:1969-1974.
- [7] Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999, 340:115-126.
- [8] Dworacka M, Winiarska H, Borowska M, Abramczyk M, Bobkiewicz-Kozłowska T, Dworachi G. Pro-atherogenic alterations in T-lymphocyte subpopulations related to acute hyperglycaemia in type 2 diabetic patients. *Circ J*, 2007, 71:962-967.
- [9] Núñez J, Miñana G, Bodí V, Núñez E, Sanchis J, Husser O, Llúcer A. Low lymphocyte count and cardiovascular diseases. *Curr Med Chem*, 2011, 18:3226-3233.
- [10] Yin YH, Li GZ. Hypoxia induces T Helper 17 cell upregulation in cultured peripheral blood mononuclear cells from chronic stage patients of severe cerebral infarction. *Microbiol Immunol*, 2011, 55:130-134.
- [11] Wigren M, Björkbacka H, Andersson L, Ljungeranta I, Fredrikson GN, Persson M, Bryngelsson C, Hedblad B, Nilsson J. Low levels of circulating CD4⁺ FoxP3⁺ T cells are associated with an increased risk for development of myocardial infarction but not for stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32:2000-2004.
- [12] Huber SA, Sakkinen P, David C, Newell MK, Tracy RP. T helper-cell phenotype regulates atherosclerosis in mice under conditions of mild hypercholesterolemia. *Circulation*, 2001, 103:2610-2616.
- [13] Gao Q, Jiang Y, Ma T, Zhu F, Gao F, Zhang P, Guo C, Wang Q, Wang X, Ma C, Zhang Y, Chen W, Zhang L. A critical function of Th17 proinflammatory cells in the development of atherosclerotic plaque in mice. *J Immunol*, 2010, 185:5820-5827.
- [14] Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol*, 2011, 12:204-212.
- [15] Zhang LT, Yang XJ, Pang M. Expression variation of Th17 cells in peripheral blood in patients with acute cerebral infarction. *Zhongguo Nao Xue Guan Bing Za Zhi*, 2013, 10:187-191. [张立堂, 杨筱君, 庞敏. 急性脑梗死患者外周血 Th17 细胞及其相关因子的表达变化. *中国脑血管病杂志*, 2013, 10:187-191.]

(收稿日期: 2016-08-26)

· 小词典 ·

中英文对照名词词汇(五)

36 条简明健康状况调查表

Medical Outcomes Study 36-Item Short-Form Health Survey(SF-36)

调节性 T 细胞 regulatory T cell(Treg)

¹⁸F-脱氧葡萄糖 ¹⁸F-fluoro-2-deoxy-D-glucose(¹⁸F-FDG)

外周血单个核细胞

peripheral blood mononuclear cell(PBMC)

韦氏成人阅读测验

Wechsler Test of Adult Reading(WTAR)

韦氏成人智力量表

Wechsler Adult Intelligence Scale(WAIS)

韦氏成人智力量表修订版

Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised(WAIS-R)

韦氏成人智力量表中文修订版

Wechsler Adult Intelligence Scale-Chinese Revised(WAIS-CR)

韦氏记忆量表 Wechsler Memory Scale(WMS)

系统性红斑狼疮 systemic lupus erythematosus(SLE)

B 细胞激活因子 B-cell-activating factor(BAFF)

细胞间黏附分子-1

intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)

细胞免疫荧光法 cell-based assay(CBA)

细胞外信号调节激酶

extracellular signal-regulated kinase(ERK)

小眼畸形转录因子

microphthalmia-associated transcription factor(MITF)

信号识别颗粒 signal recognition particle(SRP)

兴奋性氨基酸转运蛋白 2

excitatory amino acid transporter 2(EAAT2)

P 选择素糖蛋白配体-1

P-selectin glycoprotein ligand-1(PSGL-1)

血管细胞黏附分子-1

vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1)

血浆置换 plasma exchange(PE)