

血清 YKL-40 蛋白水平与颈动脉斑块内新生血管形成的关系

刘欣 牛慧敏 张明明 于明月 高丽

【摘要】 目的 探讨血清 YKL-40 蛋白水平与颈动脉斑块内新生血管形成的关系。**方法** 收集 2015 年 1 月~2016 年 12 月本院超声科首次发现有颈动脉斑块者 575 例为研究组,以同期无动脉斑块者 500 例为对照组;应用超微血管成像(SMI)技术判断斑块内新生血管分级,并检测研究对象的血清 YKL-40 蛋白、血脂、炎症因子 TNF- α 、hsCRP、IL-6 等指标水平。**结果** ①与对照组比较,研究组 TC、TG、LDLC 水平明显升高, HDLC 明显降低(P 均 <0.05);②研究组的 IL-6、TNF- α 、hsCRP、Lp-PLA2、YKL-40 蛋白水平与对照组存在明显差异($P<0.05$);③按 SMI 分级将研究组患者分为 4 组,4 组患者的 YKL-40 蛋白、IL-6、TNF- α 、hsCRP、Lp-PLA2、血脂水平存在明显差异(P 均 <0.05);④ YKL-40 蛋白与炎症因子及血脂指标水平存在相关性(P 均 <0.05)。**结论** 血清 YKL-40 蛋白水平与颈动脉斑块内新生血管形成的严重程度有关,检测 YKL-40 蛋白水平对判断斑块的稳定性有益。

【关键词】 YKL-40 蛋白 颈动脉硬化 斑块 新生血管 超微血管成像 血清标志物

【中图分类号】 R543.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2017)05-0398-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2017.05.004

The level of serum YKL-40 protein and its association with neovascularization in carotid atherosclerotic plaque Liu Xin*, Niu Huimin*, Zhang Mingming, et al. * Department of Ultrasound, HeBei General Hospital, Shijiazhuang 05005

【Abstract】 Objective To study the relationship between serum YKL-40 protein level and neovascularization in carotid atherosclerotic plaque. **Methods** 575 cases with carotid atherosclerotic plaque from 2015. 1 to 2016. 12 in ultrasound department of our hospital were recruited as research group, 500 cases without carotid atherosclerotic plaque during the same period as control group. Degree of neovascularization in carotid atherosclerotic plaque was assessed with SMI technique. Serum YKL-40, lipid and inflammatory factors TNF- α , hsCRP, IL-6 level were detected. **Results** The serum levels of TC, TG, LDL-C were higher in research group than those control group, while level of HDL-C was lower than that of control group ($P<0.05$). There were significant differences for YKL-40, IL-6, TNF- α , hsCRP, Lp-PLA2 between research group and control group ($P<0.05$). The levels of YKL-40, IL-6, TNF- α , hsCRP, Lp-PLA2 and lipids were significantly differently according to result of MSI detection. YKL-40 level was related to inflammatory factors, lipids ($P<0.05$). **Conclusion** There was closely association between serum YKL-40 and neovascularization in carotid atherosclerotic plaque, and it's valuable to evaluate stability of carotid atherosclerotic plaque by testing level of YKL-40.

【Key words】 YKL-40 protein Carotid atherosclerosis Plaque Neovascularization Super microvascular imaging(SMI) Serum biomarker

近年来,颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis, CA)的发生率明显上升,由此引发的脑血管等意外事件也逐年增加,给患者的健康造成较大的危害^[1]。CA 的主要病理变化是斑块形成造成的,斑

块是颈动脉血管壁损伤、血液中的各种有形成分聚集于损伤处所形成的团块状结构,它的发生发展是高血脂、高血糖、血液黏稠度高、炎症等多种因素共同作用而导致的^[2]。颈动脉斑块的危险不仅在于斑块增大堵塞局部的颈动脉造成脑组织缺血缺氧,更在于斑块内部新生血管形成致使稳定性差,斑块整块或者部分脱落后就形成栓子,随血流到达动脉远端,导致栓塞事件^[3]。有研究证实,由于动脉斑块的

基金项目:河北省重点课题计划(20150137)

作者单位:050051 石家庄市,河北省人民医院超声科[刘欣 牛慧敏 于明月 高丽(通信作者)];检验科(张明明)

不稳定性造成的脑血管突发事件的危害性远大于血管逐渐阻塞的危害性^[4],因此判断 CA 斑块的稳定性有重要临床意义。人几丁质酶 3 样蛋白 1(YKL-40)具有生长因子活性,有促进局部血管形成的作用^[5-6]。但有关 YKL-40 蛋白与 CA 斑块稳定性的关系报道少见。本研究通过应用超声超微血管成像(Super microvascular imaging,SMI)技术检测患者颈动脉斑块的新生血管的形成情况,判断斑块稳定性,同时检测血清 YKL-40 蛋白水平,并对 YKL-40 与 Lp-PLA2、炎症因子的关系进行了分析,为 YKL-40 蛋白对 CAA 斑块稳定性的评价意义提供了依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 1 月~2016 年 12 月在本院超声科例行颈动脉血管彩色超声检查的体检人群中首次发现颈动脉粥样硬化斑块且斑块厚度 ≥ 2.0 mm 者 575 例作为研究组,其中男 318 例,女 257 例,年龄 30~55 岁,平均年龄(46.21 \pm 10.36)岁;同时选取同期性别年龄匹配的体检正常者(超声未发现颈动脉粥样硬化斑块)500 例为对照组,其中男 277 例,女 223 例,年龄 30~55 岁,平均年龄(47.27 \pm 10.15)岁。所有入组者均无严重脉管系统疾病、严重创伤及冠心病及脑梗死等病史。所有入选者均为长期在本院体检的公务员,并签署知情同意书。

1.2 颈动脉超声检查

颈动脉超声由超声科医师固定人员操作,采用日本 Toshiba 公司 Aplio500 彩色多普勒超声仪,11-L4 探头,频率 4~11 MHz,检测颈动脉内膜中层厚度(intima-media thickness,IMT),测量 3 次,取其平均值。IMT ≥ 1.5 mm 定义为斑块。于二维超声图像清晰显示斑块,启动超微血管成像(SMI)技术,观察斑块内微血流情况并进行分级,判断斑块稳定性。

1.3 SMI 分级标准

0 级,斑块内无增强;1 级,斑块内显示 1~3 个点状增强;2 级,斑块内显示 3 个以上点状和/或 1~2 处短线样增强;3 级,斑块内显示 2 处以上线状增强,并贯穿或大部贯穿斑块,或有血液流动征^[7]。

1.4 血脂水平检测

所有研究组及对照组入组者均空腹采静脉血 4 mL,3 000 r/min,15 min,分离血清,在 Beckman 全自动生化分析仪 U5821 上检测总胆固醇(TC)、甘

油三酯(TG)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-c)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-c)水平。

1.5 血清炎症因子水平检测

所有研究组及对照组入组者均空腹采静脉血 4 mL,3000 r/min,15 min,分离血清,采用美国 R&D Systems 生物有限公司的人几丁质酶 3 样蛋白 1(YKL-40/CHI3L1)检测试剂盒、人白介素 6(IL-6)ELISA 试剂盒、人肿瘤坏死因子 α (TNF- α)ELISA 试剂盒,检测 2 组的血清 YKL-40、IL-6、TNF- α 水平。采用德国西门子 BN II System 全自动蛋白分子仪检测血清 hsCRP 水平;采用美国雅培 i2000 全自动化学发光仪检测血清 Lp-PLA2 水平。

1.6 统计学处理

采用 SPSS16.0 软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2 组比较采用 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)。各指标间关系应用 *Spearman* 相关分析并计算相关系数。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组和对照组一般情况比较

研究组 TC、TG、LDL-C 水平、家族史构成比均明显高于对照组,而 HDL-c 低于对照组($P<0.05$)(表 1)。

表 1 研究组和对照组一般情况及血脂水平的比较

指标	研究组(575 例)	对照组(500 例)
年龄(year)	46.21 \pm 10.36	47.27 \pm 10.15
TC(mmol/L)	5.26 \pm 0.77*	4.73 \pm 0.46
TG(mmol/L)	1.75 \pm 0.36*	1.51 \pm 0.32
HDL-C(mmol/L)	1.09 \pm 0.42	1.27 \pm 0.39*
LDL-C(mmol/L)	3.37 \pm 0.75*	2.77 \pm 0.68
BMI(kg/m ²)	26.12 \pm 3.03	25.44 \pm 3.05
吸烟(%)	33.22(191/575)	33.34(166/500)
饮酒(%)	68.18(392/575)	68.40(342/500)
家族史	36.35*(209/575)	27.80(139/500)

注:与对照组比较,* $P<0.05$

2.2 研究组和对照组 YKL-40、炎症因子水平比较

研究组 YKL-40、Lp-PLA2、TNF- α 、hsCRP、IL-6 水平均明显高于对照组($P<0.05$)(表 2)。

2.3 颈动脉斑块 SMI 分级

按超微血管成像(SMI)技术检测将 575 例患者分成 4 级,其中 0 级增强 173 例(173/575,30.09%),1 级增强 175 例(175/575,30.44%),2 级增强 139 例(139/575,24.18%),3 级增强 88 例

(88/575, 15.31%)(图 1~3)。

表 2 研究组和对照组炎症因子水平比较

指标	研究组(575 例)	对照组(500 例)
YKL-40(pg/mL)	126.7 ± 29.8 *	88.2 ± 14.9
Lp-PLA2(ng/mL)	246.1 ± 39.3 *	144.3 ± 20.4
TNF-α(ng/L)	75.57 ± 21.44 *	34.37 ± 9.28
hsCRP(pg/mL)	1.92 ± 0.32 *	1.11 ± 0.20
IL-6(pg/mL)	69.34 ± 18.17 *	34.09 ± 8.01

注:与对照组比较, * P<0.05

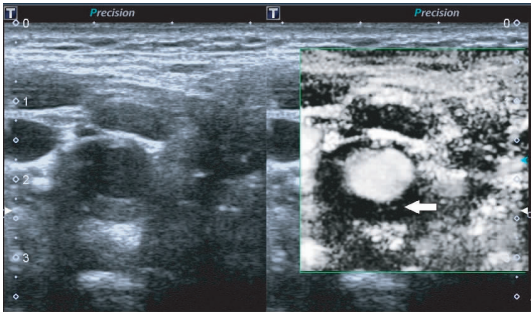


图 1 SMI1 级 斑块内 3 个点状增强

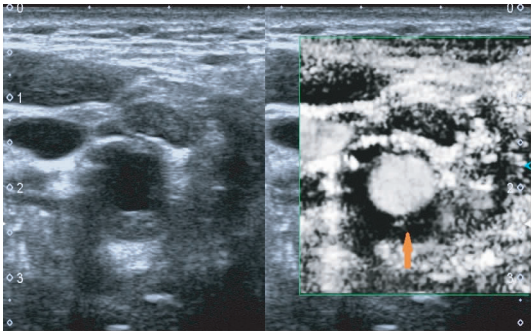


图 2 SMI2 级 斑块内 3 个点状、1 个短线状增强

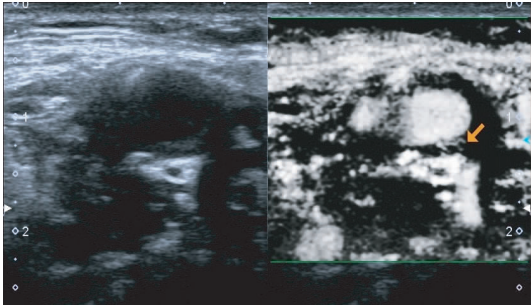


图 3 SMI3 级 斑块内线状增强、有分支、有流动感

2.4 不同 SMI 分级患者血清 YKL-40、炎症因子水平比较

随着 SMI 分级的增强,血清 YKL-40、Lp-PLA2、TNF-α、hsCRP、IL-6 的水平逐渐增加(P<0.05)(表 3)。

2.5 YKL-40 蛋白水平与炎症因子 Lp-PLA2、TNF-α、hsCRP、IL-6 水平的关系

对 YKL-40 蛋白水平与 Lp-PLA2、TNF-α、hsCRP、IL-6 水平进行 Spearman 相关分析显示,研究组中 YKL-40 蛋白水平与 Lp-PLA2、TNF-α、hsCRP、IL-6 的水平呈正相关(r = 0.207 3, P<0.001; r = 0.182 6, P<0.001; r = 0.151 8, P<0.001; r = 0.116 4, P = 0.005)。

2.6 YKL-40 蛋白水平与血脂指标 TC、TG、HDL、LDL 水平的关系

对 YKL-40 蛋白水平与 TC、TG、HDL、LDL 水平进行 Spearman 相关分析显示,研究组中 YKL-40 蛋白水平与 TC、TG、LDL 的水平呈正相关(r = 0.194 6, P<0.001; r = 0.263 1, P<0.001; r = 0.109 2, P = 0.009);与 HDL 水平呈负相关(r = -0.128 1, P = 0.002)。

3 讨论

颈动脉粥样硬化是常见的脂代谢异常疾病,该病明显增加脑卒中以及周围血管疾病如周围血管栓塞的危险^[1-2]。研究发现颈动脉粥样硬化患者的血脂水平异常,且与吸烟、饮酒等因素有关^[8-9]。本研究结果显示,研究组的 TC、TG、LDL 水平均明显高于对照组, HDL 低于对照组,但研究组和对照组之间在吸烟、饮酒方面没有明显差异,可见不健康的饮食生活习惯不是颈动脉粥样硬化发病的决定因素。此外,研究组有更高的冠心病家族史的比例,提示遗传是颈动脉粥样硬化的重要因素。

颈动脉硬化患者斑块的脱落是导致严重并发症的主要原因,因而评估颈动脉斑块的稳定性对颈动脉粥样硬化的综合诊治有益。斑块的不稳定性主要

表 3 SMI 不同分级患者血清炎症因子水平比较

SMI 分级	Lp-PLA2(ng/mL)	YKL-40(pg/mL)	TNF-α(ng/L)	hsCRP(pg/mL)	IL-6(pg/mL)
0 级组(173 例)	152.3 ± 21.2	95.4 ± 17.6	36.41 ± 10.45	1.12 ± 0.19	35.27 ± 7.94
1 级组(175 例)	243.3 ± 27.6 *	108.5 ± 20.4 *	42.67 ± 10.86 *	1.34 ± 0.31	45.24 ± 11.26 *
2 级组(139 例)	297.6 ± 37.1 *#	137.8 ± 30.7 *#	104.33 ± 23.44 *#	2.57 ± 0.44 *#	92.64 ± 30.12 *#
3 级组(88 例)	354.7 ± 34.5 *#△	204.7 ± 23.9 *#△	172.57 ± 24.68 *#△	3.59 ± 0.51 *#△	147.34 ± 24.16 *#△

注:与 0 级组比较, * P<0.05;与 1 级组比较, # P<0.05;与 2 级组比较, △ P<0.05

是由斑块内新生血管形成导致的,新生血管是由环境、遗传等多种因素共同作用的结果,新生血管的程度的评价对反映颈动脉硬化患者斑块的脱落风险有益。超声 SMI 技术是近年来应用于临床的新技术^[7],可以对微循环景象清晰地显示区分低速血流多普勒信号。本研究中按 SMI 技术将斑块分为四级:0、1、2、3 级。随着级别的增加,斑块内新生血管的数量及长度明显增加。在 575 例患者中 0 级增强和 1 级增强的例数接近,分别为 173 例,175 例,占总数的 30.09%,30.44%,2 级增强 139 例,占总数的 24.18%,3 级增强例数相对较少 88 例,占 15.31%,其中 1、2、3 级增强均说明斑块处于不稳定状态,有脱落的风险,尤其是 3 级增强的风险度较高,此类患者在研究组病例中占近 $\frac{2}{3}$ 。由此可见,应用 MSI 技术判断斑块稳定程度有一定的临床价值。

研究表明炎症反应在颈动脉硬化中发挥了重要作用^[10],本研究发现研究组的炎症因子水平高于对照组,按超声 SMI 检查结果分组后发现,随着级别的升高,炎症因子的水平明显升高,以 3 级增强的水平为最高。可见持续性高水平的细胞因子会破坏细胞因子网络的平衡状态,促进新生血管产生,加重斑块的不稳定性。有研究发现,Lp-PLA2 与颈动脉粥样硬化斑块的发生发展密切相关,其水平的高低是粥样硬化斑块稳定性的标志^[11]。本研究发现,随着级别的升高,Lp-PLA2 的水平明显升高,证实 Lp-PLA2 是粥样硬化板块稳定性的评价指标。Hs-CRP 是急性时相反应蛋白,代表着炎症反应的程度,研究组中 Hs-CRP 的水平高于对照组,按 SMI 分组后 Hs-CRP 的水平随着级别的升高逐渐升高,证明动脉硬化斑块的形成过程也是一种炎症反应过程;斑块稳定性越差,炎症反应越明显,炎症反应剧烈程度是斑块稳定的重要影响因素。

YKL-40 蛋白又称人几丁质酶 3 样蛋白 1(Human chitinase 3 like protein 1,CHI3L1),与多种疾病密切相关。有研究证实,YKL-40 蛋白在机体抵抗感染中发挥重要作用^[12]。也有研究发现在肿瘤患者中 YKL-40 蛋白水平的升高与肿瘤的进展转移关系密切,可能与 YKL-40 蛋白具有促进局部血管形成及其生长因子活性作用有关^[13-14]。本研究结果显示,研究组血清 YKL-40 蛋白的水平明显高于对照组,随着 SMI 分级,血清 YKL-40 蛋白的水平明

显升高,3 级增强的水平明显高于 0、1、2 级增强,提示 YKL-40 蛋白的水平是颈动脉硬化斑块的重要影响因素。

为分析 YKL-40 蛋白的作用机制,本研究应用 Spearman 相关分析对 YKL-40 蛋白水平与炎症因子水平的关系进行了探讨,结果显示 YKL-40 蛋白水平与 Lp-PLA2、TNF- α 、hsCRP、IL-6 的水平均呈正相关,本研究认为 YKL-40 蛋白可能通过调控炎症因子、细胞因子水平的升高,促进了斑块内新生血管的发生发展,加速了斑块不稳定性。YKL-40 蛋白水平与血清 TC、TG、LDLC 的水平呈正相关,与 HDLC 水平呈负相关,这提示 YKL-40 蛋白可能抑制了胆固醇的代谢,使胆固醇水平升高,加速了动脉粥样硬化斑块的形成和发展。但具体的作用机制还有待于动物实验和体内试验提供证据。

本研究通过临床研究提示血清 YKL-40 蛋白水平与颈动脉粥样硬化斑块新生血管的形密切相关,是影响颈动脉粥样硬化斑块稳定性的重要因素,但其中具体的作用机制还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Liu AY, Yu ZQ, Wang N, et al. Carotid atherosclerosis is associated with hypertension in a hospital-based retrospective cohort[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(11): 21932-21938.
- [2] Liu J, Kerwin WS, Caldwell JH, et al. High resolution FDG-microPET of carotid atherosclerosis: plaque components underlying enhanced FDG uptake[J]. International Journal of Cardiovascular Imaging, 2016, 32(1, SD): 145-152.
- [3] Kobayashi T, Yokokawa H, Fujibayashi K, et al. Association between high cystatin C levels and carotid atherosclerosis[J]. World J Cardiol, 2017, 9(2): 174-181.
- [4] Boesen ME, Singh D, Menon BK, et al. A systematic literature review of the effect of carotid atherosclerosis on local vessel stiffness and elasticity[J]. Atherosclerosis, 2015, 243(1): 211-222.
- [5] Jin Y, Cao JN, Wang CX, et al. High serum YKL-40 level positively correlates with coronary artery disease [J]. Biomark Med, 2017, 11(2): 133-139.
- [6] Scherthaner GH, Hoebaus C, Brix J. YKL-40 and its complex association with metabolic syndrome, obesity, and cardiovascular disease[J]. ANATOLIAN JOURNAL OF CARDIOLOGY, 2016, 16(12): 959-960.
- [7] 高丽,薛红元,叶玉泉,等. 超微血管成像及超声造影评价不同厚度颈动脉斑块内新生血管的研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2016, 25(8): 731-732.
- [8] Zingg S, Collet TH, Locatelli I, et al. Associations between cardiovascular risk factors, inflammation, and progression of carotid atherosclerosis among smokers[J]. Nicotine & Tobacco Research, 2016, 18(6): 1533-1538.

(上接第 401 页)

- [9] Hassan KM, Verma A, Prakash S, et al. Prevalence and association of lifestyle factors with extracranial carotid atherosclerosis in non-cardioembolic anterior circulation strokes in adult males less than 50 years: One year cross-sectional study[J]. Ann Indian Acad Neurol, 2013, 16(4): 516-520.
- [10] Yahagi K, Kolodgie FD, Lutter C, et al. Pathology of human coronary and carotid artery atherosclerosis and vascular calcification in diabetes mellitus[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017, 37(2): 191-204.
- [11] Garg PK, McClelland RL, Jenny NS, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and risk of incident cardiovascular disease in a multi-ethnic cohort: The multi ethnic study of atheroscle-

rosis[J]. Atherosclerosis, 2015, 241(1): 176-182.

- [12] Leonardi S, Parisi GF, Capizzi AA, et al. YKL-40 as marker of severe lung disease in cystic fibrosis patients[J]. Journal of Cystic Fibrosis, 2016, 15(5): 583-586.
- [13] Chen HT, Zheng JM, Zhang YZ, et al. Overexpression of YKL-40 predicts poor prognosis in patients undergoing curative resection of pancreatic cancer[J]. Pancreas, 2017, 46(3): 323-334.
- [14] Wan GX, Xiang LC, Sun XE, et al. Elevated YKL-40 expression is associated with a poor prognosis in breast cancer patients[J]. Oncotarget, 2017, 8(3): 5382-5391.

(2017-05-03 收稿)