

marker for the detection of bacterial infections[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 111(1): 649-656.

[19] ALIU-BEJTA A, ATELJ A, KURSHUMLIU M, et al. Presepsin values as markers of severity of sepsis[J]. Int J Infect Dis, 2020, 95(1): 1-7.

[20] 马维理, 陈国奋, 熊亮, 等. 脊柱术后感染危险因素及与 PCT、Presepsin、ESR 水平[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(23): 3655-3658.

[21] YAMAGUCHI T, OHIRA M, KAWAGOE N, et al. High presepsin concentrations in bile and its marked elevation in biliary tract diseases: a retrospective analysis [J]. Clin Chim Acta, 2021, 521(1): 278-284.

[22] Ikegame A, Kondo A, Kitaguchi K, et al. Presepsin production in monocyte/macrophage-mediated phagocytosis of neutrophil extracellular traps [J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 5978.

[23] 魏靖, 朱慧楠. 糖尿病肾病患者血清胰岛素抵抗指数、胰岛素样生长因子-1 与炎症因子表达水平的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(3): 546-547.

[24] 张汀滢, 刘桃丽, 胡建国, 等. 中医禁食疗法对超重/肥胖 2 型糖尿病患者的临床疗效[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2022, 43(4): 613-620.

(收稿日期: 2023-05-05 修回日期: 2023-10-10)

• 短篇论著 •

血清 Occludin、Axl 水平与急性缺血性脑卒中溶栓后出血转化的关系*

张立娜¹, 王海虹², 王适达³

保定市第二中心医院: 1. 老年病科; 2. 神经内二科; 3. 功能科, 河北保定 072750

摘要:目的 探讨血清闭合蛋白(Occludin)、Axl 水平与急性缺血性脑卒中(AIS)溶栓治疗后出血转化(HT)的关系。方法 选取 2019 年 1 月至 2022 年 1 月该院 AIS 患者 126 例为研究对象, 根据是否发生 HT 分为 HT 组(43 例)和非 HT 组(83 例)。比较两组一般资料及血清 Occludin、Axl 水平, 采用多因素 Logistic 回归分析 AIS 患者发生 HT 的影响因素, 采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 Occludin、Axl 对 AIS 患者发生 HT 的预测价值, 并分析血清 Occludin、Axl 预测 HT 发生的交互作用。结果 两组心房颤动、入院时美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分及血清 Occludin、Axl 水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 多因素 Logistic 回归分析显示, 心房颤动、入院时 NIHSS 评分高、血清 Occludin 高水平、Axl 低水平均为 AIS 患者发生 HT 的独立危险因素($P < 0.05$); ROC 曲线结果显示, 血清 Occludin、Axl 预测 AIS 患者溶栓治疗后 HT 风险均有较高价值, 二者联合预测的曲线下面积(AUC)、灵敏度、特异度分别为 0.742、70.73%、66.93%。Occludin 和 Axl 对 HT 发生存在负向交互作用。结论 AIS 患者血清 Occludin、Axl 均异常表达, 可作为 HT 的预测指标, 且二者对 HT 发生存在负向交互作用。

关键词: 闭合蛋白; Axl; 急性缺血性脑卒中; 出血转化; 交互作用

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.02.025 **中图法分类号:** R446.1

文章编号: 1673-4130(2024)02-0246-04 **文献标志码:** A

急性缺血性脑卒中(AIS)具有发病急、进展快、预后差的特点, 是导致成人永久性残疾的最常见病因^[1]。目前, 静脉溶栓仍是 AIS 最常用的治疗手段, 而出血转化(HT)是溶栓治疗后常见并发症, 可加重患者病情, 导致 3 个月残疾率和病死率显著增加^[2]。因此, 早期预测 AIS 患者溶栓治疗后 HT 风险对患者预后改善至关重要。研究已证实, 高龄、入院时较高美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、高血糖、大面积脑梗死等是 AIS 患者溶栓治疗后发生 HT 的危险因素; 且血脑屏障(BBB)破坏是 AIS 溶栓治疗后发生 HT 的核心机制^[3]。闭合蛋白(Occludin)是脑微血管内皮细胞紧密连接的重要结构, 研究证实, 其

与 BBB 通透性密切相关, 可对 AIS 患者病情程度及预后产生重要影响^[4]。Axl 是 TAM 受体酪氨酸激酶家族成员之一, 近年有研究发现, Axl 与 BBB 功能密切相关, Axl 可通过维持 BBB 完整性, 保护小鼠免受中枢神经系统病毒感染^[5]。然而, 目前关于 Occludin、Axl 是否与 AIS 患者 BBB 破坏及 HT 的发生有关, 尚需数据支持。基于此, 本研究探讨血清 Occludin、Axl 水平与 AIS 溶栓治疗后 HT 的关系, 以期对 HT 发生进行早期预判和有效干预。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 1 月至 2022 年 1 月本院 AIS 患者 126 例为研究对象, 根据是否发生 HT 分

* 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划(20210918)。

为 HT 组(43 例)和非 HT 组(83 例)。HT 诊断标准^[6]:首次影像学检查无出血,复查头部 CT 时可见低密度区内高密度影。纳入标准:符合 AIS 诊断标准^[7];接受静脉溶栓和抗凝治疗;AIS 后 12 h 内就诊;HT 组均符合 HT 诊断标准。排除标准:既往有癫痫;患有感染、额颞叶痴呆、肿瘤、自身免疫性疾病等可能影响 Occludin、Axl 水平疾病;诊疗记录不完整。

1.2 方法 (1)收集资料:包括性别、年龄、体质量指数、吸烟、饮酒、高血压、糖尿病、房颤、入院时 NIHSS 评分、TOAST 分型。(2)血清 Occludin、Axl 检测:入院后溶栓前采集空腹肘静脉血 3 mL,离心(时间 10 min,半径 10 cm,转速 3 500 r/min),取血清,采用酶联免疫吸附试验测定 Occludin(上海仁捷生物科技有限公司试剂盒)、Axl(江苏酶标生物科技有限公司试剂盒)。

1.3 观察指标 (1)两组一般资料及血清 Occludin、Axl 水平。(2)AIS 患者发生 HT 的多因素 Logistic 回归分析。(3)血清 Occludin、Axl 对 AIS 患者发生 HT 的预测价值。(4)血清 Occludin、Axl 预测 HT 发生的交互作用。

1.4 统计学处理 采用统计学软件 SPSS22.0 处理数据,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以频数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;影响因素采用 Logistic 回归分析;预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线,获取曲线下面积(AUC)、95%置信区间(95%CI)、灵敏度、特异度,联合预测实施 Logistic 二元回归拟合,返回预测概率 Logit(P),将其作为独立检验变量;使用协同指数(SI)、归因比(AP)、超额相对危险度(RERI)分析血清 Occludin、Axl 预测 HT 发生的交互作用。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组一般资料及血清 Occludin、Axl 水平比较 两组性别、年龄、体质量指数、吸烟、饮酒、高血压、糖尿病、TOAST 分型比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);两组房颤、入院时 NIHSS 评分及血清 Occludin、Axl 水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

| 表 1 两组一般资料及血清 Occludin、Axl 水平比较[n (%)或 $\bar{x} \pm s$] | | | | |
|---|--------------------|----------------------|------------|-------|
| 项目 | HT 组 ($n=43$) | 非 HT 组 ($n=83$) | t/χ^2 | P |
| 性别 | | | 0.079 | 0.779 |
| 男 | 29(67.44) | 58(69.88) | | |
| 女 | 14(32.56) | 25(30.12) | | |
| 年龄(岁) | 66.83±10.94 | 64.28±9.85 | 1.326 | 0.187 |

| 续表 1 两组一般资料及血清 Occludin、Axl 水平比较[n (%)或 $\bar{x} \pm s$] | | | | |
|--|--------------------|----------------------|------------|--------|
| 项目 | HT 组 ($n=43$) | 非 HT 组 ($n=83$) | t/χ^2 | P |
| 体质量指数(kg/m ²) | 23.26±2.82 | 22.97±2.76 | 0.555 | 0.580 |
| 吸烟 | 15(34.88) | 21(25.30) | 1.275 | 0.259 |
| 饮酒 | 13(30.23) | 16(19.28) | 1.919 | 0.166 |
| 高血压 | 32(74.42) | 54(65.06) | 1.145 | 0.285 |
| 糖尿病 | 16(37.21) | 18(21.69) | 3.464 | 0.063 |
| 房颤 | 19(44.19) | 12(14.46) | 13.495 | <0.001 |
| 入院时 NIHSS 评分(分) | 6.09±2.27 | 3.94±1.89 | 5.646 | <0.001 |
| TOAST 分型 | | | 3.275 | 0.351 |
| 大动脉粥样硬化型 | 20(46.51) | 44(53.01) | | |
| 心源性栓塞型 | 17(39.53) | 21(25.30) | | |
| 腔隙性梗死型 | 1(2.33) | 5(6.02) | | |
| 不明原因 | 5(11.63) | 13(15.66) | | |
| Occludin(ng/mL) | 5.08±1.49 | 3.82±1.37 | 4.750 | <0.001 |
| Axl(pg/mL) | 38.79±8.83 | 46.15±9.76 | 4.143 | <0.001 |

2.2 AIS 患者发生 HT 的多因素 Logistic 回归分析 以 HT 为因变量,以表 1 中差异有统计学意义的项目为自变量,赋值见表 2,纳入多因素 Logistic 回归模型,结果显示,房颤、入院时 NIHSS 评分高、血清 Occludin 高水平、Axl 低水平均为 AIS 患者发生 HT 的独立危险因素($P < 0.05$),见表 3。

2.3 血清 Occludin、Axl 对 AIS 患者发生 HT 的预测价值 以 HT 患者血清 Occludin、Axl 水平作为阳性样本,以非 HT 患者血清 Occludin、Axl 水平作为阴性样本,绘制各指标预测 AIS 患者发生 HT 的 ROC 曲线,结果显示,血清 Occludin、Axl 预测 AIS 患者发生 HT 的 AUC 分别为 0.724、0.706;应用 SPSS 软件构建各指标联合预测的 ROC 曲线模型,结果显示,联合预测的 AUC 最大,为 0.742。见表 4、图 1。

| 表 2 赋值情况 | |
|--------------|------------|
| 变量 | 赋值 |
| 因变量 | |
| HT | 未发生=0,发生=1 |
| 自变量 | |
| 房颤 | 无=0,有=1 |
| 入院时 NIHSS 评分 | 实际值 |
| Occludin | 实际值 |
| Axl | 实际值 |

2.4 血清 Occludin、Axl 预测 HT 发生的交互作用 以 Occludin、Axl 平均水平为界限,>平均值为

高表达,≤平均值为低表达,HT 组中 Occludin 高表达 13 例,低表达 30 例,Axl 高表达 14 例,低表达 19 例,非 HT 组中 Occludin 高表达 9 例,低表达 74 例,Axl 高表达 69 例,低表达 14 例。调整混杂因素后,Occludin、Axl 预测 AIS 患者 HT 存在负向交互作用,Occludin 高表达、Axl 低表达时发生 HT 的风险是

Occludin 低表达、Axl 高表达时的 36.560 倍,是其他未知因子($OR=1$)的 27.820 倍($RERI=27.820$),协同效应为二者单独存在产生效应之和的 4.59 倍($SI=4.59$),在二者共存的垂直切缘(VM)阳性风险中有 76.09%($AP=76.09\%$)是由二者协同作用引起的。见表 5。

表 3 AIS 患者发生 HT 的多因素 Logistic 回归分析

| 项目 | β | SE | Wald χ^2 | OR | P | 95%CI |
|--------------|---------|-------|---------------|-------|--------|-------------|
| 房颤 | 1.506 | 0.583 | 6.670 | 4.507 | <0.001 | 2.651~7.663 |
| 入院时 NIHSS 评分 | 1.381 | 0.627 | 4.852 | 3.979 | 0.006 | 2.267~6.984 |
| Occludin | 1.566 | 0.554 | 7.991 | 4.788 | <0.001 | 2.863~8.007 |
| Axl | -1.252 | 0.416 | 9.061 | 0.286 | <0.001 | 0.182~0.449 |

表 4 血清 Occludin、Axl 对 AIS 患者发生 HT 的预测价值

| 指标 | AUC | 95%CI | χ^2 | P | 最佳截断值 | 灵敏度(%) | 特异度(%) |
|----------|-------|-------------|----------|--------|-------------|--------|--------|
| Occludin | 0.724 | 0.670~0.778 | 46.312 | <0.001 | 4.05 ng/mL | 56.91 | 78.88 |
| Axl | 0.706 | 0.653~0.759 | 36.202 | <0.001 | 45.53 pg/mL | 78.86 | 54.58 |
| 二者联合 | 0.742 | 0.688~0.795 | 45.724 | <0.001 | — | 70.73 | 66.93 |

注:—表示无数据。

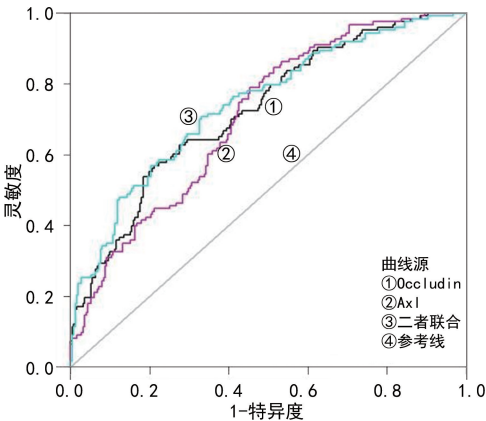


图 1 血清 Occludin、Axl 预测 AIS 患者发生 HT 的 ROC 曲线

表 5 血清 Occludin、Axl 预测 HT 发生的交互作用

| Occludin/Axl | 变量 | | OR | RERI | AP | SI |
|--------------|------|----|--------|--------|--------|------|
| | 非 HT | HT | | | | |
| 低表达/低表达 | 16 | 7 | 4.920 | 27.820 | 76.09% | 4.59 |
| 高表达/低表达 | 8 | 26 | 36.560 | — | — | — |
| 低表达/高表达 | 45 | 4 | 1.000 | — | — | — |
| 高表达/高表达 | 14 | 6 | 4.820 | — | — | — |

注:—表示无数据。

3 讨 论

HT 作为 AIS 的一个严重并发症,对患者的健康危害极大,现今已有大量针对 BBB 完整性与 HT 的相关研究^[8],但还需进一步研究诊断和预测 AIS 后发

生 HT 的特异性指标,以帮助临床及早预测、诊断及治疗 HT。

本研究结果显示,AIS 患者血清 Occludin、Axl 水平可作为 AIS 患者发生 HT 的预测指标。发生 HT 主要归因于 AIS 患者脑血管内皮损伤引起红细胞外渗,其机制主要是炎症反应与 BBB 破坏^[9]。在 AIS 早期,三磷酸腺苷水平明显降低,钠钾离子三磷酸腺苷酶活性受到抑制,引发一系列细胞代谢失衡,进而导致 BBB 破坏;同时,AIS 后氧化应激、炎症反应被激活,释放一系列氧自由基、细胞因子、炎症因子,破坏脑血管生理结构;此外,脑缺血后激活细胞外基质蛋白溶解酶,降解细胞外基质(胶原蛋白、层黏蛋白等),破坏内皮细胞间紧密连接,进而破坏 BBB。Occludin 是一种紧密连接蛋白,通过细胞质附着蛋白与细胞骨架紧密结合,维持紧密连接稳定,是 BBB 关键结构成分,Occludin 降解将导致 BBB 通透性增加。有研究报道,缺血性脑卒中患者血清 Occludin 水平与 BBB 损害密切相关,可能是评估患者溶栓治疗后症状性颅内出血风险的标志物^[10];朱玉岩等^[11]研究显示,AIS 患者血清 Occludin 水平明显升高,与病情严重程度、HT 的发生及预后不良有关,均支持本研究结论。Axl 是 TAM 受体酪氨酸激酶家族的重要成员,在间充质细胞、上皮细胞、造血细胞来源的多数人类细胞中几乎普遍表达^[12]。成熟 Axl 为单次跨膜蛋白,与许多黏附分子具有相似结构,故可能介导细胞间相互作

用。Axl 唯一依赖于配体生长停滞特异性蛋白 6 (Gas6) 激活, 研究显示, Gas6/Axl 通路可通过调节不同下游途径, 参与细胞增殖、黏附、血小板聚集、血管生成、自然杀伤细胞分化等的调节过程^[13]。有研究表明, Gas6/Axl 信号通路可通过影响 BBB 完整性及炎症反应, 参与多种神经系统疾病进程, MINER 等^[5] 研究显示, Axl 缺失小鼠更易发生神经侵入性病毒感染, 可能与 BBB 通透性增加有关; 日本脑炎病毒感染期间, Axl 可通过抑制炎症因子生成, 减少毒性淋巴细胞浸润, 抑制神经元死亡^[14]; 敲除 Axl 可导致 BBB 破坏, 促进炎症因子、脑实质自身反应性淋巴细胞生成, 进而诱导神经元凋亡^[15]。因此认为, AIS 患者 Axl 异常表达可能通过诱导炎症及 BBB 破坏, 从而增加 HT 发生的风险。本研究 ROC 曲线结果显示, 血清 Occludin、Axl 联合预测 AIS 患者发生 HT 的 AUC 最大, 对应灵敏度为 70.73%, 特异度为 66.93%, 提示临床可通过检测血清 Occludin、Axl 水平评估 AIS 患者溶栓治疗后 HT 发生风险, 提高对高风险患者的重视程度, 及早做出预防措施以降低 HT 发生率。另外, 本研究结果显示, 血清 Occludin、Axl 水平预测 AIS 患者溶栓后发生 HT 存在负向交互作用, Occludin 高表达、Axl 低表达时 HT 发生风险更高, 这可能与二者均参与 AIS 患者 BBB 破坏有关。但相关机制仍有待后续基础研究进一步证实。

本研究结果显示, 房颤、入院时 NIHSS 评分高为 AIS 患者发生 HT 的独立危险因素。分析原因为房颤患者可能存在陈旧性机化血栓, 不易被溶栓药物溶解, 且房颤脱落栓子较大, 多栓塞颅内大血管引起大面积脑梗死, 继发严重脑水肿, 增加 HT 发生风险; NIHSS 评分高者通常梗死面积大, 脑水肿严重, 细胞缺血缺氧严重、BBB 通透性增高, 更容易发生溶栓治疗后再灌注出血。

综上所述, AIS 患者血清 Occludin、Axl 均异常表达, 可作为 HT 的预测指标, 且二者对 HT 发生存在负向交互作用。本研究局限性在于样本量小, 结果或存在一定偏倚, 建议行进一步大样本量的多中心前瞻性研究, 并与同期健康人群血清 Occludin、Axl 水平进行比较。

参考文献

- [1] 汪敬业, 陈露露, 汪凯. D-二聚体值 >5 mg/mL 的急性缺血性脑卒中患者临床特点分析[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2020, 47(1): 44-48.
- [2] YOSHIKI S, HIDEKI S, RYOTA T, et al. Phosphorylated recombinant HSP27 protects the brain and attenuates blood-brain barrier disruption following stroke in mice receiving intravenous tissue-plasminogen activator

- [J]. PLoS One, 2018, 13(5): e0198039.
- [3] TAEWON K, JASEONG K, SEONG-HOON K, et al. Blood-brain barrier permeability assessed by perfusion computed tomography predicts hemorrhagic transformation in acute reperfusion therapy[J]. Neurol Sci, 2018, 39(9): 1579-1584.
- [4] 贾建普, 张乐国, 王丽轩, 等. 血清 OX40L、Occludin 与急性缺血性脑卒中患者病情程度及预后的相关性[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(5): 596-600.
- [5] MINER J J, DANIELS B P, SHRESTHA B, et al. The TAM receptor Mertk protects against neuroinvasive viral infection by maintaining blood-brain barrier integrity[J]. Nat Med, 2015, 21(12): 1464-1472.
- [6] 马婷婷, 张正学, 胡鸿炜, 等. 血清和脑脊液中 sTREM2 对预测急性缺血性脑卒中严重程度、出血转化和患者预后的临床价值[J]. 东南大学学报(医学版), 2022, 41(1): 70-76.
- [7] 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 2018[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682.
- [8] LUBY M, HSIA A W, NADAREISHVILI Z, et al. Frequency of blood-brain barrier disruption post-endovascular therapy and multiple thrombectomy passes in acute ischemic stroke patients[J]. Stroke, 2019, 50(8): 2241-2244.
- [9] 李建红, 苏庆杰, 张余辉. 血栓弹力图预测急性缺血性卒中出血转化的价值研究[J]. 中国全科医学, 2021, 24(36): 4618-4622.
- [10] 曲友直, 赵燕玲, 李敏, 等. 黄芪甲苷对脑缺血再灌注后血脑屏障的保护作用及 occludin 蛋白表达的影响[J]. 卒中与神经疾病, 2010, 17(2): 92-93.
- [11] 朱玉岩, 常大伟, 聂恒浩. 急性缺血性脑卒中患者血清 Occludin 表达水平及其临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(9): 1479-1484.
- [12] 缪娜波, 黎绮铭, 李淑华, 等. p-AXL 与 c-MYC 和/或 BCL-2 共表达在弥漫大 B 细胞性淋巴瘤中的临床意义[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2020, 41(4): 572-581.
- [13] WU Z, ZHAO Y, YU F, et al. Qigefang inhibits migration, invasion, and metastasis of ESCC by inhibiting Gas6/Axl signaling pathway[J]. Recent Pat Anti Cancer Drug Discov, 2021, 16(2): 285-294.
- [14] HERRERA-RIVERO M, SANTARELLI F, BROSSERON F, et al. Dysregulation of TLR5 and TAM ligands in the Alzheimer's brain as contributors to disease progression[J]. Mol Neurobiol, 2019, 56(9): 6539-6550.
- [15] LI Q, LU Q, LU H, et al. Systemic autoimmunity in TAM triple knockout mice causes inflammatory brain damage and cell death[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e64812.