

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.20.008

## 循环肿瘤细胞与肺癌临床病理特征的关系\*

刘春花<sup>1</sup>,杨政<sup>1</sup>,李娜<sup>2</sup>,巩平<sup>2△</sup>

(1.石河子大学医学院,新疆石河子 832000;2.石河子大学第一附属医院肿瘤内科,新疆石河子 832000)

**摘要:**目的 探讨肺癌患者循环肿瘤细胞(CTC)与其临床病理特征的关系。方法 取 65 例肺癌(肺癌组)、10 例肺良性疾病患者和 10 例健康志愿者(对照组)外周血 7.5 mL,应用免疫磁珠阴性富集联合免疫细胞化学染色检测 Pan-CK+/CD45- 的 CTC,分析 CTC 与患者临床特征的关系。结果 在 65 例肺癌患者中,CTC 阳性率为 69.23%(45/65),肺良性疾病患者及健康志愿者均未检出 CTC。TNM 分期 I~II、III、IV 期患者 CTC 阳性率分别为 23.08%(3/13)、50.00%(6/12)、90.00%(36/40),各亚组肺癌患者 CTC 阳性率差异有统计学意义( $P=0.000$ );转移性(M<sub>1</sub> 期)肺癌患者 CTC 阳性率为 83.33%(35/42),较非转移性(M<sub>0</sub> 期)肺癌患者 CTC 阳性率 43.48%(10/23)显著升高( $P=0.002$ );随着转移部位个数(0、1、2、3)的增多,CTC 阳性率呈升高趋势(43.48%、83.33%、87.50%、75.00%),各亚组肺癌患者 CTC 阳性率差异有统计学意义( $P=0.024$ );CTC 阳性率在细胞角质蛋白 19 片段(Cyfra21-1) $<5.6 \mu\text{mol/L}$  组(53.33%,16/30)与 Cyfra21-1 $\geq 5.6 \mu\text{mol/L}$  组(82.86%,29/35)间差异有统计学意义( $P=0.021$ );在乳酸脱氢酶(LDH) $<270 \text{ U/L}$  组(55.00%,22/40)与 LDH $\geq 270 \text{ U/L}$  组(92.00%,23/25)间差异也有统计学意义( $P=0.004$ )。结论 部分肺癌患者中存在 CTC;CTC 阳性率与肺癌患者的临床分期、M 分期、发生远处转移部位的个数、Cyfra21-1 值及 LDH 值密切相关;检测 CTC 有利于更精确的病情评估。

**关键词:**肺肿瘤;乳酸脱氢酶;循环肿瘤细胞;TNM 分期;Cyfra21-1

中图分类号:R734.2

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)20-2565-04

## The relationship between circulating tumor cells and clinicopathologic characteristics of primary lung cancer patients\*

Liu Chunhua<sup>1</sup>,Yang Zheng<sup>1</sup>,Li Na<sup>2</sup>,Gong Ping<sup>2△</sup>

(1. College of Medicine, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 2. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of School of Medicine, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

**Abstract:** Objective To investigate the relationship between the presence of circulating tumor cells(CTC) and the clinicopathologic characteristics of primary lung cancer patients. Methods Samples of peripheral blood(7.5 mL) from 65 cases of patients with lung cancer(lung cancer group) and 10 cases of patients with lung benign diseases and 10 healthy volunteers(control group), and then those CTC were enriched by negative immunomagnetic separation with anti-CD45 antibody and then detected by immunocytochemistry with anti-pan-cytokeratin antibody. The relationship between the positive rate of CTC and clinicopathologic characteristics of lung cancer patients were analyzed. Results The positive rate of CTC in lung cancer patients was 69.23%(45/65), while CTC was not detected in any patients with lung benign disease or healthy volunteers. The positive rate of CTC in patients at TNM stage I~II, III and IV was 23.08%(3/13), 50.00%(6/12) and 90.00%(36/40), respectively. There was significant difference in positive rate of CTC between patients at different TNM stages( $P=0.000$ ). The positive rate of CTC in metastatic(stage M<sub>1</sub>) lung cancer patients(83.33%,35/42) was significantly higher than that in non-metastatic(stage M<sub>0</sub>) lung cancer patients(43.48%,10/23)( $P=0.002$ ). With the increasing number(0,1,2,3) of metastatic sites, the positive rate of CTC increased(53.48%,83.33%,87.50%,75.00%), and there was significant difference in different positive rates of CTC( $P=0.024$ ). There was statistically significant difference in the positive rate of CTC between Cyfra21-1 normal group(53.33%,16/30) and high value group(82.86%,29/35)( $P=0.021$ ), the same with LDH normal group(55.00%,22/40) and high value group(92.00%,23/25)( $P=0.004$ ). Conclusion CTC were presented in some lung cancer patients. The presence of CTC in peripheral blood is correlated positively with the patients' clinical stage, M stage, the number of metastatic sites, Cyfra21-1 value and LDH value. CTC detection is useful for more accurate risk assessment of patients with lung cancer.

**Key words:** lung neoplasms;lactate dehydrogenase;circulating tumor cells;TNM stage;Cyfra21-1

肺癌是严重威胁人类健康的疾病之一,发病率呈逐年上升趋势,病死率居所有恶性肿瘤之首。其远处转移是导致患者死亡的主要原因。循环肿瘤细胞(circulating tumor cells,CTC)的出现是发生远处转移的前提,是形成转移灶的关键环节<sup>[1-2]</sup>。有研究显示,CTC 不仅可有效判断肺癌患者预后,还能预测和监测辅助治疗效果<sup>[1,3]</sup>。本研究旨在应用免疫磁珠阴性富集

联合免疫荧光细胞化学法检测肺癌患者的 CTC,分析其与患者临床病理因素的关系。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集石河子大学医学院第一附属医院 2012 年 9 月至 2013 年 6 月肺癌患者 65 例(肺癌组),男 49 例,女 16 例,年龄 40~76 岁,平均 60.8 岁;鳞癌 24 例,腺癌 19 例,小细

胞肺癌 13 例,其他(腺鳞癌、大细胞癌、肺泡细胞癌、癌肉瘤)9 例。肺良性疾病患者 10 例(肺良性疾病组),男 7 例,女 3 例,年龄 38~73 岁,平均 58.3 岁;肺炎 4 例,支气管哮喘急性发作 3 例,慢性阻塞性肺疾病(COPD)急性发作 2 例,慢性支气管炎急性发作 1 例。健康志愿者 10 例(健康组),男 6 人,女 4 人,年龄 35~70 岁,平均 56.1 岁。纳入研究对象按各自设定标准。肺癌组纳入标准:(1)年龄 18~80 岁;(2)经组织病理学检查确诊为肺癌;(3)入组前未接受任何抗肿瘤治疗。排除标准:(1)缺乏肺癌病理学诊断;(2)已接受手术化疗及放疗;(3)有其他恶性肿瘤病史;(4)依从性差。肺良性疾病组纳入标准:(1)符合非肿瘤相关疾病临床诊断标准;(2)有微生物学或组织学证据;(3)病理学检查除外肺恶性肿瘤。健康组纳入标准:(1)年龄 18~80 岁;(2)无肺癌相关高危因素;(3)常规体检及肝肾功能无异。肺良性疾病组及健康组统称对照组,所有研究对象均签署知情同意。

## 1.2 方法

**1.2.1 主要试剂** 抗 CD45 磁珠抗体购自德国 Miltenyi Biotec 公司;鼠抗 Pan-CK 购自美国 Cell Signaling 公司;Envision 试剂盒购自中杉金桥公司(批号:Cat NO. D11-110)。

**1.2.2 样本采集** 严格消毒后,应用真空采血针采集肘正中静脉血,弃去穿刺后的前 2 mL,采集此后的 7.5 mL 静脉血加入乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管,并在采集后的 24 h 内富集肿瘤细胞。

**1.2.3 免疫磁珠富集** 将血液和淋巴细胞分离液复温至 18~25 °C,取 7.5 mL 抗凝血与等量 PBS 液充分混匀后,缓慢贴壁加入淋巴细胞分离液层面上(2:1);室温下 2 000 r/min(离心半径 16 cm)离心 20 min;吸取环状乳白色单核细胞层,加入 5 mL PBS 液重复洗 2 次,室温下 2 000 r/min(离心半径 16 cm)离心 15 min。将细胞沉淀重悬于 80  $\mu$ L 磁珠缓冲液中,加入 20  $\mu$ L 抗 CD45 抗体,用手轻轻敲打混匀后置于 4 °C 冰箱孵育 15 min;再加入 2 mL 磁珠缓冲液,室温下 2 000 r/min(离心半径 16 cm)离心 10 min;弃上清液(用枪尖吸取上清液,留 1 mm 水膜),加入 500  $\mu$ L 缓冲液重悬细胞。将细胞重悬液过磁珠 MS 分流柱,加入 500  $\mu$ L 磁珠缓冲液洗涤 MS 分流柱 2 次,收集从分流柱下流出的液体,室温下 2 000 r/min(离心半径 16 cm)离心 10 min;弃上清液,沉淀均匀涂于防脱载玻片上,室温风干后 4%多聚甲醛固定 10 min,PBS 洗 3 次,每次 5 min,室温风干。如不立即进行免疫细胞化学染色,待玻片干燥后置于 -80 °C 冰箱备测。

**1.2.4 免疫细胞化学染色(Envision 法)** 取出切片,PBS 洗 3 次,每次 5 min,加入细胞角蛋白(Pan-CK)抗体,4 °C 冰箱过夜。PBS 洗 3 次,每次 5 min,加二抗(Envision 工作液),37 °C 温箱孵育 20 min。PBS 浸洗 3 次,每次 5 min,DAB 溶液显色。苏木素复染 3~5 min,酸酒精分化、脱水、透明、中性树胶封片。

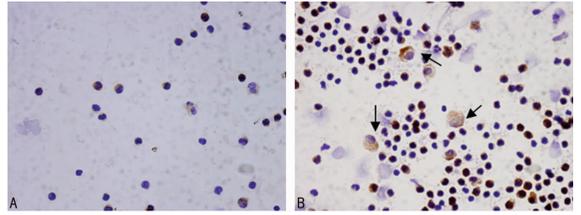
**1.2.5 CTC 的判定标准及阳性定义** 形态学标准:(1)细胞呈圆形、椭圆形或长形,长径大于 10  $\mu$ m;(2)光镜下可见完整细胞形态及细胞核。光镜阳性标准:(1)有完整细胞膜,Pan-CK 染色阳性,细胞质呈蓝黑色或褐色;(2)细胞长径大于 10  $\mu$ m;(3)核浆比失常。结果判定:由两位经培训实验员在光镜下分别观察细胞显色情况,有分歧时由第 3 人协助判定。阳性界定值:目前尚无国际标准化 CTC 的阳性判定标准,本文以见到 CTC 即为阳性结果。

**1.3 统计学处理** 实验数据采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计数资料采用列联表分析,确切概率法检验,计量资料以  $\bar{x}$

$s$  表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 CTC 检测结果** 对照组(20 例)中均未检出 CTC,肺癌组中 45 例检出 CTC,阳性率为 69.23%(45/65),CTC 数值为 1~58 个,中位数 4 个。两组比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 8.047, P = 0.018$ ),见图 1。



A:肺良性疾病组;B:肺癌组。

图 1 免疫细胞化学染色结果(Envision $\times 400$ )

**2.2 CTC 与肺癌患者临床病理特征的关系** 对 65 例肺癌患者 CTC 与临床特征间的关系进行统计分析,结果表明,TNM 分期 I~II、III、IV 期患者 CTC 阳性率分别为 23.08%(3/13)、50.00%(6/12)、90.00%(36/40),各亚组 CTC 阳性率差异有统计学意义( $P = 0.000$ );转移性(M<sub>1</sub> 期)肺癌患者 CTC 阳性率为 83.33%(35/42),较非转移性(M<sub>0</sub> 期)肺癌患者 CTC 阳性率 43.48%(10/23)显著升高( $P = 0.002$ );随着转移部位个数(0、1、2、3)的增多,CTC 阳性率呈升高趋势(43.48%、83.33%、87.50%、75.00%),各亚组 CTC 阳性率差异有统计学意义( $P = 0.024$ );CTC 阳性率在 Pan-CK19 片段(Cyfra21-1)  $< 5.6 \mu\text{mol/L}$  组(53.33%,16/30)与 Cyfra21-1  $\geq 5.6 \mu\text{mol/L}$  组(82.86%,29/35)间差异有统计学意义( $P = 0.021$ );在乳酸脱氢酶(LDH)  $< 270 \text{ U/L}$  组(55.0%,22/40)与 LDH  $\geq 270 \text{ U/L}$  组(92.0%,23/25)间差异也有统计学意义( $P = 0.004$ )。而 CTC 阳性率与肺癌患者病理类型、肿瘤大小、淋巴结转移、远处转移的部位及癌胚抗原(CEA)值均无关( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 65 例肺癌患者 CTC 与临床病理特征的关系

项目	<i>n</i>	CTC[ <i>n</i> (%)]	$\chi^2$	<i>P</i>
病理组织学类型			0.389	0.943
鳞癌	24	16(66.67)		
腺癌	19	13(68.42)		
小细胞肺癌	13	9(69.23)		
其他	9	7(77.78)		
肿瘤分期			23.183	0.000
I~II	13	3(23.08)		
III	12	6(50.00)		
IV	40	36(90.00)		
T 分期			3.463	0.326
T <sub>1</sub>	19	12(63.16)		
T <sub>2</sub>	16	9(56.25)		
T <sub>3</sub>	12	9(75.00)		
T <sub>4</sub>	18	15(83.33)		
N 分期			1.387	0.709
N <sub>0</sub>	35	24(68.57)		

续表 1 65 例肺癌患者 CTC 与临床病理特征的关系

项目	n	CTC[n(%)]	$\chi^2$	P
N <sub>1</sub>	14	11(78.57)		
N <sub>2</sub>	7	5(71.43)		
N <sub>3</sub>	9	5(55.56)		
M 分期			9.290	0.002
M <sub>0</sub>	23	10(43.48)		
M <sub>1</sub>	42	35(83.33)		
肝转移			1.120	0.290
有	17	14(82.35)		
无	48	31(64.58)		
骨转移			0.032	0.857
有	9	6(66.67)		
无	56	39(69.64)		
脑转移			0.772	0.396
有	8	4(50.00)		
无	57	41(71.93)		
肾上腺转移			0.000	1.000
有	5	3(60.00)		
无	60	42(70.00)		
胸膜转移			2.281	0.093
有	13	12(92.30)		
无	52	33(63.46)		
远处转移部位个数			9.407	0.024
0	23	10(43.48)		
1	30	25(83.33)		
2	8	7(87.50)		
3	4	3(75.00)		
CEA(ng/mL)			3.106	0.078
<5.6	30	17(56.67)		
≥5.6	35	28(80.00)		
Cyfra21-1(μmol/L)			5.297	0.021
<5.6	30	16(53.33)		
≥5.6	35	29(82.86)		
LDH(U/L)			8.227	0.004
<270	40	22(55.00)		
≥270	25	23(92.00)		

### 3 讨 论

远处转移是肺癌的恶性标志和重要特征,也是导致肺癌患者治疗失败和死亡的主要原因。而研究显示,CTC 与肺癌患者的隐性微转移密切相关,是发生远处转移的前提,形成转移灶的关键环节<sup>[1-2]</sup>。本研究发现,在 13 例早期肺癌患者中有 3 例(23.08%,3/13)检出 CTC,同样证明 CTC 的全身扩散是肺癌发生、发展的早期事件,虽然血液中检测到 CTC 并不意味着必定形成转移灶,但有助于及早确定转移复发高危人群,加强这部分患者的随访并采取相应的治疗措施,对减少肿瘤的转移复发、提高生存率具有重要意义。

随着现代生物学技术的飞速发展,在 CTC 检测中,细胞富集技术、免疫学技术得到了广泛应用,使得检测的敏感性和特异性亦大大提高<sup>[4]</sup>。目前,免疫细胞化学染色仍是评价 CTC

检测方法的金标准<sup>[5]</sup>。由于该技术检测的细胞数量少,检出率低,本研究加用了免疫磁珠阴性富集法富集 CTC,以更好地获取肿瘤靶细胞。免疫磁珠系统对外周血 CTC 具有高效的回收率(>85%)<sup>[6]</sup>。本实验中,采用免疫磁珠阴性富集联合免疫细胞化学染色分离鉴定 CTC,65 例肺癌患者中 45 例检出 CTC,总阳性率为 69.23%,与周小昀等<sup>[7]</sup>报道基本一致;10 例肺良性疾病患者及 10 例健康志愿者中均未检出 CTC,证实检测具有极高的特异性(100%)。

近几年,大量的研究证明 CTC 在肺癌复发转移中起重要作用,是可能更有效评估患者预后,及时监测病情进展的指标。De Giorgi 等<sup>[8]</sup>研究发现,CTC 对肿瘤患者的预后预测较其他的方法更准确,比 PET-CT 的方法更加敏感和经济。Hou 等<sup>[9]</sup>检测了 97 例小细胞肺癌患者的 CTC,发现 CTC 计数与无进展生存期(PFS)、总生存期(OS)均呈负相关,多因素分析显示,CTC 可作为患者 PFS 和 OS 的独立预测指标。Krebs 等<sup>[10]</sup>检测了 101 例晚期非小细胞肺癌患者 CTC,亦得出 CTC 计数是预测患者 OS 的最有价值的独立指标。因此,检测肺癌 CTC 状态对准确判断患者预后,及早发现疾病进展及制订个体化治疗方案具有重要意义。本研究分析 65 例肺癌患者 CTC 与临床特征的关系,结果显示 CTC 阳性率与患者病理类型、肿瘤大小、淋巴结转移、远处转移的部位(肝、脑、骨、肾上腺、胸膜)无关,与肺癌患者的临床分期、M 分期、发生远处转移部位的个数密切相关,与国外研究结果相一致<sup>[11]</sup>。临床分期越晚,CTC 检出率更高,且 M<sub>1</sub> 期患者 CTC 阳性率较 M<sub>0</sub> 期患者明显升高(83.33% vs. 43.48%),提示 CTC 阳性与远处转移密切相关,进一步证实了 CTC 在远处转移灶形成中的重要作用;而在 M<sub>0</sub> 期即影像学未发现远处转移的患者中仍有如此高的 CTC 检出率,提示在监测肺癌远端转移方面,CTC 较传统的影像学等检查更加及时、敏感,有利于肺癌患者的个体化治疗。

肿瘤标志物反应肿瘤的发生、存在与生长。国外有研究报道<sup>[12]</sup>:肿瘤标志物升高程度与癌细胞数量及转移有关。血清中 Cyfra21-1 的水平可作为肺癌手术和化疗后追踪早期复发或转移的有效指标,其高值提示疾病处于进展期且预后不佳<sup>[13-14]</sup>。LDH 是一种糖酵解酶,在恶性肿瘤患者中 LDH 明显增高<sup>[15]</sup>,且有报道血清 LDH 随着肺癌患者病情的进展呈逐渐升高的趋势<sup>[16]</sup>。本文观察了 Cyfra21-1 及 LDH 与 CTC 的关系: Cyfra21-1、LDH 二者高值组 CTC 阳性率较低值组明显升高(Cyfra21-1: 53.33% vs. 82.86%; LDH: 55.00% vs. 92.00%),初步研究表明 CTC 与 Cyfra21-1 及 LDH 具有一定相关性,下一步应扩大样本量,并对患者进行随访跟踪,动态监测患者 CTC、Cyfra21-1 及 LDH,观察其治疗后是否仍具有相关性,进一步研究 CTC 在判断肺癌患者预后的临床价值。

CTC 是形成远处转移灶的重要前提和基础,及早检测 CTC 对临床医师准确判断预后和病情具有重要指导作用;动态监测患者 CTC 变化,有利于及时了解患者病情,为制订个体化的治疗方案提供依据。本研究仅初步探讨了肺癌患者 CTC 与临床病理特征之间的关系,未来的研究应通过随访观察,进一步阐述 CTC 与肺癌患者预后的关系,并对 CTC 在肺癌综合治疗中的应用价值进行深入探讨。

### 参考文献:

[1] Wu C, Hao H, Li L, et al. Preliminary investigation of the clinical significance of detecting circulating tumor cells en-

- riched from lung cancer patients[J]. *J Thorac Oncol*, 2009,4(1):30-36.
- [2] Coello MC, Luketich JD, Litle VR, et al. Prognostic significance of micrometastasis in non-small-cell lung cancer[J]. *Clin Lung Cancer*, 2004,5(4):214-225.
- [3] Hiltermann TJ, Pore MM, van den Berg A, et al. Circulating tumor cells in small-cell lung cancer: a predictive and prognostic factor[J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(11): 2937-2942.
- [4] Alix-Panabieres C, Riethdorf S, Pantel K. Circulating tumor cells and bone marrow micrometastasis[J]. *Clin Cancer Res*, 2008,14(16):5013-5021.
- [5] Lalle M, De Rosa L, Marzetti L, et al. Detection of breast Cancer cells in the bone marrow or peripheral blood: methods and prognostic significance[J]. *Tumeri*, 2000,86(3):183-190.
- [6] Allard WJ, Matera J, Miller MC, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases[J]. *Clin Cancer Res*, 2004,10(520):6897-6904.
- [7] 周小昀, 李龙芸, 郝淮杰, 等. 外周血循环肿瘤细胞在晚期肺癌患者的预测及预后价值研究[J]. *癌症进展*, 2010,8(5):484-490.
- [8] De Giorgi U, Valero V, Rohren E, et al. Circulating tumor cells and [<sup>18</sup>F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography for outcome prediction in metastatic breast Cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2009,27(20):3303-3311.
- [9] Hou JM, Krebs MG, Lancashire L, et al. Clinical significance and molecular characteristics of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in patients with small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2012,30(5):525-532.
- [10] Krebs MG, Sloane R, Priest L, et al. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2011,29(12):1556-1563.
- [11] Yasumoto K, Osaki T, Watanabe Y, et al. Prognostic value of cytokeratin-positive cells in the bone marrow and lymph nodes of patients with resected nonsmall cell lung Cancer: a multicenter prospective study[J]. *Ann Thorac Surg*, 2003,76(1):194-201.
- [12] Cwik G, Wallner G, Skoczylas T, et al. Cancer antigens 19-9 and 125 in the differential diagnosis of pancreatic mass lesions[J]. *Arch Surg*, 2006,141(10):968-973.
- [13] Jin B, Huang AM, Zhong RB, et al. The value of tumor markers in evaluating chemotherapy response and prognosis in Chinese patients with advanced non-small cell lung Cancer[J]. *Chemotherapy*, 2010,56(6):417-423.
- [14] Wang J, Yi Y, Li B, et al. CYFRA21-1 can predict the sensitivity to chemoradiotherapy of non-small-cell lung carcinoma[J]. *Biomarkers*, 2010,15(7):594-601.
- [15] 陈文彬, 潘祥林, 康熙雄, 等. 诊断学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006:426-427.
- [16] 邢桂芝, 周秀艳. 肺癌患者血清乳酸脱氢酶检测的临床意义[J]. *华北煤炭医学院学报*, 2009,11(5):656-657.

(收稿日期:2014-03-20 修回日期:2014-05-06)

(上接第 2564 页)

未发生 LI 的血脂水平宜及时控制, 以降低 LI 发病率和减少多发 LI 的发生。

#### 参考文献:

- [1] Norrving B. Long-term prognosis after lacunar infarction[J]. *Lancet Neurol*, 2003,2(4):238-245.
- [2] 刘克, 李志铭, 黄勇, 等. 多序列磁共振技术在急性脑梗死早期诊断中的价值分析[J]. *医学研究杂志*, 2010,39(11):43-46.
- [3] 石蕾. 急性脑梗死患者血脂异常类型与颈动脉粥样硬化关系的研究[J]. *中国医药导报*, 2012,9(34):165-166.
- [4] 中华医学会神经科分会. 各类脑血管病诊断要点[J]. *中华神经科杂志*, 1996,29(6):381-383.
- [5] 马飞月. 腔隙性脑梗死[J]. *海南医学*, 2005,16(8):171-172.
- [6] 郑锡山. 腔隙性脑梗死 CT 与核磁共振诊断价值探讨[J]. *中外医学研究*, 2012,17(10):78.
- [7] You R, McNeil JJ, O'Malley HM, et al. Risk factors for lacunar infarction syndromes[J]. *Neurology*, 1995,45(8):1483-1487.
- [8] 沈碧霞. 脑血管病影像学流行病学筛查及危险因素的前瞻性研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2011.
- [9] 王小燕, 权启平. 腔隙性脑梗死 70 例临床分析[J]. *淮海医药*, 2013,31(3):243-244.
- [10] 李丽华, 纪红, 严之红. 老年腔隙性脑梗死与血脂关系的研究[J]. *中国现代医药杂志*, 2005,7(3):34-35.
- [11] 朱健, 方萍, 唐靖涓. 老年急性脑梗死患者血脂及血液流变学变化分析[J]. *实用老年医学*, 1998,12(5):217-218.
- [12] 徐桂芳. 老年男女脑血管病 400 例血脂分析比较[J]. *实用老年医学*, 2000,14(5):268-269.
- [13] 田维舟, 姚声涛. LDL-C 比值及颈动脉粥样硬化性狭窄与脑梗死发病关系的探讨[J]. *贵州医药*, 2003,27(5):394.
- [14] 龚艳春, 郭冀珍, 陶波. 高血压病患者脑腔隙性病危险因素分析[J]. *高血压杂志*, 2000,8(3):219-221.
- [15] Reddy KG, Nair RN, Sheehan HM, et al. Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultra-sound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis[J]. *JAM Coll Cardiol*, 1994,23(4):833-843.

(收稿日期:2014-02-01 修回日期:2014-03-09)