

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.16.022

## S100B 与颈动脉粥样硬化斑块稳定性关系的研究

杨百元,徐芙蓉

(成都市第七人民医院神经内科,成都 610021)

**[摘要]** **目的** 探讨 S100B 与颈动脉粥样硬化稳定性之间的关系。**方法** 收集来自成都市第七人民医院神经内科门诊及住院的颈动脉粥样硬化(CAS)患者 200 例并根据颈动脉超声结果进一步将患者分为稳定斑块组(105 例)及易损斑块组(95 例)2 组,以 ELISA 法测定患者血浆中 S100B、hs-CRP 水平,并与年龄及性别匹配的 198 例正常对照组比较。**结果** S100B 水平在易损斑块组中较稳定斑块组及正常对照组明显升高( $P<0.01$ );而在稳定斑块组与正常对照组之间 S100B 差异无统计学意义( $P=0.07$ );hs-CRP 在易损斑块组中较稳定斑块组及正常对照组明显的升高( $P<0.01$ ),而在稳定斑块与正常对照组之间差异无统计学意义( $P=0.59$ )。**结论** S100B 在易损斑块 CAS 患者组中明显升高,S100B 可能参与了 CAS 斑块的形成,调节 S100B 可能成为抗 CAS 的新靶点。

**[关键词]** S100B 蛋白;超敏 C 反应蛋白;颈动脉粥样硬化**[中图分类号]** R543.5**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)16-2222-03

## The relationship study between S100B protein and stability of carotid artery arteriosclerosis

Yang Baiyuan, Xu Furong

(Department of Neurology, the Seventh People's Hospital of Chengdu City, Chengdu, Sichuan 610021, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the correlation between S100B protein and the stability of carotid artery arteriosclerosis. **Methods** A total of 200 patients with carotid artery arteriosclerosis(CAS) were assigned as study group, and then subdivided into stable plaques (SP) group and instable plaques (IP) group, and 198 whoes age and gender well matched unrelated healthy subjects were enrolled as control group. The levels of S100B and hs-CRP of the 3 groups were measured by ELESAs. All the diagnosis were confirmed by color Doppler and B-ultrasound. **Results** The level of serum S100B was significantly higher in IP group than that of SP group and control group( $P<0.01$ ). There was no statistical significance between IP and SP group in the level of serum S100B( $P=0.07$ ). The level of hs-CRP was significantly higher in IP group than that of SP group and control group( $P<0.01$ ). There was no statistical significance between IP and SP group in the level of serum hs-CRP( $P=0.59$ ). **Conclusion** The increase of serum level of S100B in the IP CAS patients shows that S100B may take part in the pathogenic mechanism of CAS, and regulating of S100B may become the potential therapeutic targets for CAS.

**[Key words]** S100B; c-reactive protein; carotid artery disease

颈动脉粥样硬化(carotid-artery atherosclerosis, CAS)是颈动脉增厚的一种病理状态,典型的动脉粥样硬化在局部形成斑块。根据斑块的稳定性可分为稳定性斑块和不稳定性斑块,后者即易损斑块。易损斑块表面能形成血栓,血栓脱落可引起以同侧黑蒙、对侧肢体无力为特点的短暂性脑缺血发作或者导致脑梗死。严重的颈动脉斑块可导致颈动脉狭窄甚至完全闭塞。研究发现 CAS 是全身动脉粥样硬化的“窗口”<sup>[1]</sup>,斑块的稳定性与脑梗死的预后相关<sup>[2-3]</sup>。目前关于 CAS 的发病机制中,炎症机制是被公认的主流学说,是多种炎症因子参与共同作用的结果。

S100B 属于 S100 蛋白家族成员之一,研究发现该家族与动脉粥样硬化有着密切的关系。在动脉粥样硬化斑块中 S100A8 和 S100A9 在动脉粥样硬化斑块表达增强,体外研究也发现 S100A8、S100A9 可诱导内皮细胞炎症反应,而后者正是动脉粥样硬化形成的条件之一,提示它们参与动脉粥样硬化的病理生理过程<sup>[4-5]</sup>。国外的研究也发现 S100A6 的 mRNA 水平与心肌梗死相关<sup>[6]</sup>。而冠状动脉粥样硬化和 CAS 有着很多相似的发病机制。另外目前国内外尚无研究 S100B 和 CAS 的关系。因此本研究旨在通过研究 CAS 患者血浆中 S100B 的表达水平,探讨其与 CAS 斑块稳定性的关系。

## 1 资料与方法

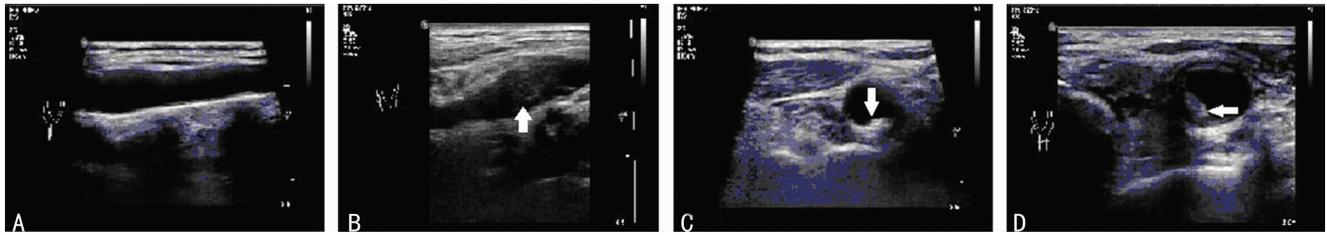
**1.1 一般资料** 2011~2013 年成都市第七人民医院神经内科的住院及门诊患者经过颈动脉超声诊断为 CAS 的共 200 例,其中男 108 例,女 92 例。根据颈动脉超声结果分为稳定斑块组( $n=105$ )及易损斑块组( $n=95$ )。另以年龄、性别匹配的在本院体检经颈动脉超声检查排除 CAS 的健康人群 198 例作为正常对照组。排除标准:(1)近 3 个月诊断为短暂性脑缺血发作、急性脑梗死或者脑出血;(2)近 3 个月患有心肌梗死或者心梗死接受颅脑手术;(3)近 3 个月有颅脑外血管栓塞事件发生;(4)近 3 个月头颅外伤;(5)近 3 个月患中枢神经系统感染;(6)合并严重的心、肝、肺、肾疾病。

## 1.2 方法

**1.2.1 颈动脉超声检查** 所有患者及志愿者均在本院超声科由固定的 2 位经验丰富的超声科医师进行颈动脉超声检查,探头频率 8~12 MHz,分别检测双侧颈总动脉、颈总动脉分叉处及颈内动脉颅外段,观察内膜中层厚度(IMT),有无斑块形成;IMT 为管腔内膜交界面到外膜与外膜交界面的垂直距离。(IMT 正常范围界定为小于 1.0 mm;1.0 mm  $\leq$  IMT < 1.2 mm 为内中膜增厚,局部突入管腔部分超过周围 IMT 的 50% 或局部 IMT  $\geq$  1.2 mm 定义为动脉粥样硬化斑块)。参照

Mathiesen 等<sup>[7]</sup> 超声检查结果和分类标准定义 CAS 斑块稳定性:硬斑表现为强回声伴有声影(图 1C),与周围外膜组织中的纤维回声相似或更强;软斑的斑块明显突入管腔内,表现为不同强度的混合性回声,较周围外膜组织中的纤维回声低,表面

有连续的回声轮廓及光滑的纤维帽(图 1B);混和斑块表面不平,具有软斑和硬斑的 2 种回声特征(图 1D);以软斑和混合斑为易损斑块,硬斑和扁平斑为非易损斑块即稳定斑块。



A: 正常颈动脉超声;B: 不稳定斑块(软斑);C: 稳定斑块(硬斑);D: 不稳定斑块(混合斑);白色箭头为动脉粥样硬化斑块。

图 1 动脉粥样硬化斑块图

**1.2.2 ELISA 法检测血浆 S100B 及超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 水平** 取清晨空腹肘静脉血 3~5 mL,自然凝固 30 min 后常温 3 000 r/min 离心 15 min,分离血清,-70 °C 低温冰箱保存,在本院中心实验室由专业检验员严格按照说明书的步骤严格操作,采用 ELISA 夹心法成批检测血浆 S100B 和 hs-CRP 水平,应用 Muhiskan ex 酶标仪 492 nm 处读取 OD 值。试剂盒购自武汉博士德公司。灵敏度最小可测人 S100B、hs-CRP 达 8 ng/mL。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析,正态分布的计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,各组间均数比较采用方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料用率表示,比较采用  $\chi^2$  检验;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 一般临床特征** 各组一般临床特点见表 1。各组间在年龄、性别构成等方面差异无统计学意义( $P>0.05$ )。患高脂血症、高血压及吸烟的比例,在稳定斑块组和易损斑块组差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但均要高于正常对照组( $P<0.05$ )。糖尿病在易损斑块组的患病比例要显著高于稳定斑块组及正常对照组( $P<0.05$ );而稳定斑块组与正常对照组之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

表 1 各组之间一般临床资料比较

项目	稳定斑块组 (n=105)	易损斑块组 (n=95)	正常对照组 (n=198)
年龄( $\bar{x} \pm s$ ,岁)	58.24±9.14	57.34±10.26	59.28±11.55
性别[n(%)]			
男	58(55.0)	50(52.6)	108(54.5)
女	47(45.0)	45(47.4)	90(45.5)
高脂血症[n(%)]	80(76.2) <sup>a</sup>	72(75.8) <sup>a</sup>	100(50.5)
高血压[n(%)]	59(56.1) <sup>a</sup>	55(57.9) <sup>a</sup>	70(35.4)
糖尿病[n(%)]	40(38.1)	43(45.3) <sup>a</sup>	78(39.3)
吸烟[n(%)]	47(44.7) <sup>a</sup>	42(44.2) <sup>a</sup>	70(35.3)

<sup>a</sup>:  $P<0.05$ ,与正常对照组比较。

表 2 各组间 hs-CRP 与 S100B 表达水平比较

组别	S100B( $\bar{x} \pm s$ , $\mu\text{g/L}$ )	hs-CRP( $\bar{x} \pm s$ ,mg/L)
易损斑块组	0.352±0.075	11.10±2.17
稳定斑块组	0.172±0.043	4.05±0.78
正常对照组	0.163±0.040	3.96±1.45
统计结果	$t=12.6, P<0.01^a$	$t=33.3, P<0.01^a$
	$t=1.81, P=0.07^b$	$t=0.59, P=0.55^b$
	$t=21.0, P<0.01^c$	$t=31.1, P<0.01^c$

<sup>a</sup>:易损斑块组与正常对照组比较;<sup>b</sup>:稳定斑块组与正常对照组比较;<sup>c</sup>:稳定斑块组与易损斑块组比较。

**2.2 各组血浆 S100B 及 hs-hCRP 表达水平比较** 血浆 S100B 水平在易损斑块组中较稳定斑块组及正常对照组明显的升高( $P<0.01$ ),而在稳定斑块组与正常对照组之间 S100B 差异无统计学意义( $P=0.07$ );血浆 hs-CRP 在易损斑块组中较稳定斑块组及正常对照明显升高( $P<0.01$ ),而在稳定斑块组与正常对照组间差异无统计学意义( $P=0.55$ )。见表 2。

**3 讨论**

CAS 是脑梗死的最常见的危险因素,我国缺血性脑卒中患者 CAS 更是达到了 70%~80%<sup>[7-8]</sup>。在 CAS 斑块尤其是易损斑块基础上导致血管狭窄、形成血栓脱落栓塞颅内动脉是脑梗死发生发展的重要病理生理学基础<sup>[9]</sup>。因此,分析 CAS 斑块形成的机制,并对其早期预防和治疗脑梗死的发生、复发有着重要的临床意义。

S100 蛋白家族共有 25 个成员,S100B 属于 S100 蛋白家族中的一员,是高级聚糖化终产物(advanced glycation end products,RAGE)的配体之一,在炎症调节、细胞分化等方面起着重要的作用。在临床研究中 S100B 在脑梗死、脑外伤、帕金森病患者的血清中都有显著升高<sup>[10]</sup>。研究发现 RAGE 通过配体作用与动脉粥样硬化的形成有着密切关系,敲除 RAGE 的小鼠不易发展为动脉粥样硬化<sup>[11]</sup>。在动物和细胞实验中,S100B 能够激活 RAGE 调节的炎症通路,增加黏附分子和炎症因子的表达从而导致动脉粥样硬化的形成<sup>[12]</sup>。S100B/RAGE 途径通过激活 p38/ERK/NF- $\kappa$ B 进而使单核细胞中的环氧合酶-2(COX-2) mRNA 的表达升高,COX-2 的增加又促进单核细胞核平滑肌细胞的黏附<sup>[13]</sup>。同时 S100B 可通过 RAGE 途径诱导单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)的表达、进而促进单核细胞与血管内皮细胞的黏附<sup>[8]</sup>,以及诱导血管平滑肌细胞炎症因子 MCP-1 和 IL-6 等的表达,并促进血管平滑肌细胞的迁移<sup>[5]</sup>。此外,S100B 也可以激活过氧化物氧自由基的释放从而加重内皮损伤<sup>[14]</sup>。研究也发现 S100B 激活 TAGE 而导致外周血中 TNF- $\alpha$ <sup>[15]</sup> 释放增加和 IP-10 mRNA 增加<sup>[16]</sup>。而炎症产物的表达、黏附,平滑肌细胞的迁移及氧化应激都参与了动脉粥样硬化发生发展。因此 S100B 有可能通过这些机制参与了动脉粥样硬化的发生发展。

在本研究中,易损斑块组及稳定斑块组中高血压、糖尿病和吸烟的患者比例均要高于正常对照组( $P<0.05$ )。而易损斑块组与稳定斑块组差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但糖尿病

比例明显高于稳定斑块组及正常对照组( $P < 0.05$ )。糖尿病等已经是公认的动脉粥样硬化的危险因素,血糖升高的患者常伴有血管内皮功能障碍、血流呈高凝状态、胰岛素抵抗及脂蛋白代谢异常等,引起血管内皮细胞损伤,从而促进动脉粥样硬化的发展。有研究发现,糖尿病与斑块的稳定性,以及血管狭窄程度相关,且 2 型糖尿病可作为易损斑块的一个预测因素<sup>[17]</sup>。本研究发现在 CAS 患者的血清中,无论是稳定斑块组还是易损斑块组 S100B 的水平均高于正常对照组,但仅易损斑块组的 S100B 水平与正常对照组之间有着明显的差异,而稳定斑块组 S100B 水平与正常对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。推测可能的原因是易损斑块脂质含量较高,平滑肌细胞和胶原含量少,纤维帽薄,支撑力差,尤其在偏心性纤维帽的周边最为薄弱,斑块容易破裂<sup>[18]</sup>,局部的炎症物质易释放到血液中,引起易损斑块组 S100B 水平升高。而在稳定斑块组中,动脉粥样硬化斑块纤维帽厚,炎症物质不易释放到血浆中。本研究同样发现稳定斑块组和易损斑块组患者的血清中 hs-CRP 显著地高于正常对照组,和 S100B 的变化趋势一致,这也和以前的研究类似<sup>[19]</sup>。

然而本研究也有着一定的局限性,研究采用颈动脉超声评估斑块的稳定性,检查结果有时依赖于操作者的主观判断和操作时超声探头的角度、方向和位置。就目前而言,CAS 病变的影像学评价目前还是以脑血管造影为“金标准”,因其可显示管腔进展期病变、血栓形成、斑块破裂和钙化;然而由于其需要的有全脑血管造影设备的支持,以及较高的费用使得其推广应用受到局限。并且因其不能显示管壁结构,也无法直接对粥样斑块的成分或组织病理学特点进行评估。许多斑块向外凸出的患者,尽管临床症状明显,但血管直径仍可表现正常,而无创性的超声检查可以弥补这一不足。因此,评估 CAS 斑块的稳定性目前临床上主要以颈动脉超声作为首选。

综上,S100B 的水平检测可作为临床 CAS 患者易损斑块的炎性标记物的价值,尤其是与患者预后的关系值得进一步探讨,而调节 S100B 可能成为临床稳定易损斑块的重要靶点。

#### 参考文献

- [1] 赵宏廷,李晓斌.颈动脉粥样硬化研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2014,12(1):92-93.
- [2] 崔豹,马露,曾源,等.老年高血压患者颈动脉易损斑块与近期缺血性脑卒中的相关性[J].中华老年心脑血管病杂志,2013,15(12):1245-1248.
- [3] 肖青.颈动脉粥样硬化和血脂水平与脑梗死的相关性分析[J].中国实用神经疾病杂志,2013,16(23):71-73.
- [4] McCormick MM,Rahimi F,Bobryshev YV,et al. S100A8 and S100A9 in human arterial wall. Implications for atherogenesis[J]. J Biol Chem, 2005, 280(50): 41521-41529.
- [5] Croce K,Gao H,Wang Y,et al. Myeloid-related protein-8/14 is critical for the biological response to vascular injury[J]. Circulation, 2009, 120(5): 427-436.
- [6] Tsoporis JN,Marks A,Haddad A,et al. S100A6 is a negative regulator of the induction of cardiac genes by trophic stimuli in cultured rat myocytes[J]. Exp Cell Res, 2005, 303(2):471.
- [7] Mathiesen EB, Bønaa KH, Joakimsen O. Echolucent plaques are associated with high risk of ischemic cerebrovascular events in carotid stenosis; the tromsø study [J]. Circulation, 2001, 103(17): 2171-2175.
- [8] 朱宗明,张宗军,陈宏伟,等.影像学检查对缺血性脑血管病患者颈动脉粥样硬化斑块的研究[J].中华老年心脑血管病杂志,2010,12(4):333-337
- [9] Tuttolomondo A,Pinto A,Salemi G. Diabetic and non-diabetic subjects with ischemic stroke: differences, subtype distribution and outcome[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2008, 18(2): 152-157.
- [10] Leclerc E,Fritz G,Vetter SW,et al. Binding of S100 proteins to RAGE: an update [J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1793(6): 993-1007.
- [11] Basta G. Receptor for advanced glycation endproducts and atherosclerosis: from basic mechanisms to clinical implications[J]. Atherosclerosis, 2008, 196(1): 9-21.
- [12] Donato R,Sorci G,Riuzzi F,et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal [J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1793(6): 1008-1012.
- [13] Shanmugam N, Kim YS, Lanting L, et al. Regulation of cyclooxygenase-2 expression in monocytes by ligation of the receptor for advanced glycation end products [J]. J Biol Chem, 2003, 278(37): 34834-34844.
- [14] Ding Y, Kantarci A, Hasturk H, et al. Activation of RAGE induces elevated  $O_2^-$  generation by mononuclear phagocytes in diabetes [J]. J. Leukocyte Biol, 2007, 81(2): 520-527.
- [15] Valencia JV, Mone M, Koehne C, et al. Binding of receptor for advanced glycation end products (RAGE) ligands is not sufficient to induce inflammatory signals: lack of activity of endotoxin-free albumin-derived advanced glycation end products (AGEs) [J]. Diabetologia, 2004, 47(5) 844-852.
- [16] Shanmugam N, Ransohoff RM, Natarajan R. Interferon-gamma-inducible protein (IP)-10 mRNA stabilized by RNA-binding proteins in monocytes treated with S100B [J]. J Biol Chem, 2006, 281(42) 31212-31221.
- [17] Grove EL, Hvas AM, Kristensen SD. Immature platelets inpatients with acute coronary syndromes [J]. Thromb Haemost, 2009, 101(1): 151-156.
- [18] Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk; a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force endorsed by the Society for Vascular Medicine [J]. J Am Soc Echocardiogr, 2008, 21(2): 93-111.
- [19] 赵焕东,赵冬梅,鲁文娟.血清 Hcy、hsCRP 及 UA 水平与颈动脉粥样硬化的相关性分析[J].中国实用神经疾病杂志,2012,15(16):75-76.