

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2023.09.002

神经系统疾病专题

急性缺血性脑卒中患者血清 CKLF1、claudin-5 预测溶栓后出血转化的价值及与短期预后的关系

刘源, 刘星, 禹红, 熊武忠, 王乐



基金项目: 湖北省卫生健康委 2019 年度第二批联合基金立项项目(WJ2019MB344)

作者单位: 430010 武汉 武汉市中医医院检验科(刘源、刘星、禹红、熊武忠), 神经内科(王乐)

通信作者: 禹红, E-mail: 1194363360@qq.com

【摘要】 目的 分析急性缺血性脑卒中(AIS)患者血清趋化素样因子1(CKLF1)、claudin-5 预测静脉溶栓后出血转化(HT)的价值及与短期预后的关系。方法 选取2019年7月—2021年1月武汉市中医医院神经内科收治接受静脉溶栓的AIS患者321例为AIS组,根据是否发生HT分为HT亚组63例和非HT亚组258例。患者出院后3个月根据改良Rankin量表(mRS)评分再分为预后不良亚组88例和预后良好亚组233例,另选取医院同期体检健康志愿者60例为健康对照组。采用酶联免疫吸附法检测血清CKLF1、claudin-5水平,比较各组血清CKLF1、claudin-5水平。采用多因素Logistic回归分析AIS患者静脉溶栓后HT的影响因素;Spearman相关性分析AIS患者血清CKLF1、claudin-5水平与mRS评分的相关性;受试者工作特征(ROC)曲线分析血清CKLF1、claudin-5水平对AIS患者静脉溶栓后HT的预测价值。结果 与健康对照组比较,AIS组血清CKLF1、claudin-5水平升高($Z = 11.953, 11.069, P$ 均 < 0.001)。AIS患者321例静脉溶栓后HT发生率为19.63%(63/321)。心源性栓塞、美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分升高和血清CKLF1、claudin-5升高为AIS患者静脉溶栓后HT的独立危险因素[OR(95%CI) = 1.104(1.047~1.165)、4.377(2.011~9.526)、1.195(1.106~1.292)、1.039(1.024~1.052)]。AIS患者321例静脉溶栓后3个月预后不良发生率为27.41%(88/321)。与预后良好亚组比较,预后不良亚组血清CKLF1、claudin-5水平升高($Z = 7.145, 7.279, P$ 均 < 0.001)。AIS患者血清CKLF1、claudin-5水平与mRS评分呈正相关($r_s = 0.517, 0.491, P$ 均 < 0.001)。血清CKLF1、claudin-5水平单独及二者联合预测AIS患者静脉溶栓后HT的曲线下面积(AUC)分别为0.769、0.772、0.876,二者联合预测的AUC大于CKLF1、claudin-5单独预测($Z = 2.542, 3.786, P$ 均 < 0.001)。结论 血清CKLF1、claudin-5水平升高是AIS患者静脉溶栓后HT的独立危险因素,二者联合预测AIS患者静脉溶栓后HT的价值较高,且血清CKLF1、claudin-5水平升高与AIS患者短期预后不良有关,有望成为AIS患者静脉溶栓后HT和短期预后的辅助评估指标。

【关键词】 急性缺血性脑卒中;趋化素样因子1;claudin-5;静脉溶栓;出血转化;短期预后**【中图分类号】** R743.3 **【文献标识码】** A

The value of serum CKLF1 and claudin-5 in predicting post thrombolytic bleeding transformation in patients with acute ischemic stroke and their relationship with short-term prognosis Liu Yuan*, Liu Xing, Yu Hong, Xiong Wuzhong, Wang Le.* Department of Clinical Laboratory, Wuhan Traditional Chinese Medicine Hospital, Hubei Province, Wuhan 430010, China

Corresponding author: Yu Hong, E-mail: 1194363360@qq.com

Funding program: The Second Batch of Joint Fund Projects of Hubei Provincial Health Commission in 2019(WJ2019MB344)

【Abstract】 Objective To analyze the value of serum chemokine like factor 1 (CKLF1) and claudin-5 in predicting hemorrhagic transformation (HT) after intravenous thrombolysis in patients with acute ischemic stroke (AIS) and their relationship with short-term prognosis. Methods Select 321 AIS patients who received intravenous thrombolysis from the Neurology Department of Wuhan Traditional Chinese Medicine Hospital from July 2019 to January 2021 as the AIS group. According to the occurrence of HT, they are divided into an HT subgroup of 63 cases and a non-HT subgroup of 258 cases. Three months after discharge, the patient was divided into a subgroup of 88 patients with poor prognosis and a subgroup of 233 patients with good prognosis based on the Modified Rankin Scale (mRS) score. Additionally, 60 healthy volunteers who underwent physical examination at the same time were selected as the healthy control group. Use enzyme-linked immunosorbent assay to detect serum CKLF1 and claudin-5 lev-

els, and compare the levels of CKLF1 and claudin-5 in each group. Using multivariate logistic regression analysis to analyze the influencing factors of HT in AIS patients after intravenous thrombolysis; Spearman correlation analysis of the correlation between serum CKLF1, claudin-5 levels and mRS scores in AIS patients; The predictive value of serum CKLF1 and claudin-5 levels in predicting HT after intravenous thrombolysis in AIS patients using the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. **Results** Compared with the healthy control group, the serum levels of CKLF1 and claudin-5 in the AIS group increased ($Z = 11.953, 11.069, P < 0.001$). The incidence of HT after intravenous thrombolysis in 321 AIS patients was 19.63% (63/321). Cardiogenic embolism, elevated National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) scores, and elevated serum CKLF1 and claudin-5 levels are independent risk factors for HT after intravenous thrombolysis in AIS patients [OR (95% CI) = 1.104 (1.047 - 1.165), 4.377 (2.011 - 9.526), 1.195 (1.106 - 1.292), 1.039 (1.024 - 1.052)]. The incidence of poor prognosis after 3 months of intravenous thrombolysis in 321 AIS patients was 27.41% (88/321). Compared with the subgroup with good prognosis, the serum levels of CKLF1 and claudin-5 in the subgroup with poor prognosis increased ($Z = 7.145, 7.279, P < 0.001$). The serum levels of CKLF1 and claudin-5 in AIS patients were positively correlated with mRS scores ($r_s = 0.517, 0.491, P < 0.001$). The area under the curve (AUC) of serum CKLF1 and claudin-5 levels alone and in combination predicted HT after intravenous thrombolysis in AIS patients were 0.769, 0.772, and 0.876, respectively. The AUC predicted by the combination of the two was greater than that predicted by CKLF1 and claudin-5 alone ($Z = 2.542, 3.786, P < 0.001$). **Conclusion** Elevated levels of serum CKLF1 and claudin-5 are independent risk factors for HT after intravenous thrombolysis in AIS patients. The combination of the two has a higher value in predicting HT after intravenous thrombolysis in AIS patients. Moreover, elevated levels of serum CKLF1 and claudin-5 are associated with poor short-term prognosis in AIS patients, and are expected to become auxiliary evaluation indicators for HT and short-term prognosis after intravenous thrombolysis in AIS patients.

【Key words】 Acute ischemic stroke; Chemokine-like factor 1; claudin-5; Intravenous thrombolysis; Hemorrhagic transformation; Short-term prognosis

急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)是临床最常见的卒中类型。据中国脑卒中防治报告 2019 年我国脑卒中发病率为 201/10 万,死亡 219 万人,其中 AIS 发病率为 145/10 万,死亡 103 万人,AIS 已成为我国居民死亡的主要原因之一^[1]。静脉溶栓是在时间窗内恢复 AIS 血流灌注的最有效手段,能快速恢复缺血半暗带血流灌注改善缺损神经功能^[2]。出血转化(hemorrhagic transformation, HT)作为静脉溶栓后最常见、最严重的并发症,严重影响 AIS 患者预后^[3]。目前尚无预测静脉溶栓后 HT 可靠的方法或手段,研究表明,炎症反应等机制引起的血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)破坏是 HT 发生的重要原因之一^[4-5]。趋化素样因子 1(chemokine-like factor 1, CKLF1)是一种 C-C 趋化因子,能通过结合 C-C 基序趋化因子受体(C-C motif chemokine receptor, CCR)4/5 触发一系列炎症细胞因子释放,促进炎症反应发生发展^[6]。claudin-5 是一种跨膜蛋白,对维持 BBB 紧密连接至关重要,其结构和分布异常与 BBB 破坏密切相关^[7]。目前,关于血清 CKLF1、claudin-5 与 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的关系尚不清楚,现分析 AIS 患者血清 CKLF1、claudin-5 预测静脉溶栓后 HT 的价值及与短期预后的关系,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 7 月—2021 年 1 月武汉市中医医院神经内科收治接受静脉溶栓的 AIS 患者 321 例为 AIS 组,男 203 例,女 118 例;年龄 42 ~ 76(58.86 ± 9.94)岁;体质指数 19.74 ~ 28.45(23.60 ± 1.71) kg/m²。另选取医院同期体检健康志愿者 60 例为健康对照组,男 38 例,女 22 例;年龄 36 ~ 80(57.85 ± 8.31)岁;体质指数 19.95 ~ 26.89(23.35 ± 1.59) kg/m²;2 组性别、年龄、体质指数资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经武汉市中医医院医学伦理委员会批准(20190179),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:① AIS 符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》^[8]中相关诊断标准,且为初次发病;② 发病至入院时间 < 4.5 h,具备静脉溶栓适应证^[9],并完成常规剂量静脉溶栓;③ 年龄 ≥ 18 岁;④ 入院时完成实验室检查及颅脑 CT 检查。(2) 排除标准:① 脑出血或既往脑出血病史;② 近 3 个月内脑外伤或既往脑部手术史;③ 静脉溶栓禁忌证(正在服用口服抗凝药、国际标准化比值 > 1.7 等)^[9];④ 血管内介入治疗(动脉溶栓、机械取栓、桥接治疗等);⑤ AIS 前已合并中枢神经系统疾病;⑥ 血液、免疫系统损害,恶性肿瘤,严重心、肝、肾、肺功能损害;⑦ 临床资料不全;⑧ 多次溶栓;⑨ 院内死亡、不能接受随访。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 CKLF1、claudin-5 水平检测: AIS 患者入院翌日晨和健康对照组体检时采集空腹肘静脉血 5 ml,离心留取上层血清。采用酶联免疫吸附法检测血清 CKLF1(试剂盒为深圳海思安生物技术有限公司,货号 HAS-51562)、claudin-5(试剂盒为武汉伊艾博科技股份有限公司,货号 E11713h)水平。

1.3.2 HT 判定和分组: AIS 患者静脉溶栓后 48 h 内或症状变化时再次行头颅 CT/MR 检查,参考《中国急性脑梗死后出血转化诊治共识 2019》^[10]:脑梗死后首次头颅 CT/MR 未发现出血,而再次头颅 CT/MR 检查时发现颅内出血,或根据首次头颅 CT/MRI 可以确定的出血性梗死判定为 HT。根据是否发生 HT 将 AIS 患者分为 HT 亚组和非 HT 亚组。

1.3.3 预后判定和分组: AIS 患者静脉溶栓出院后通过电话或门诊复查随访 3 个月,随访截止于 2021 年 4 月,通过改良 Rankin 量表(modified Rankin scale, mRS)评估预后,总分值 0~6 分,≥3 分表示预后不良^[11]。根据 mRS 评分将 AIS 患者分为预后不良亚组和预后良好亚组。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 28.0 软件分析数据。计数资料以频数或率(%)表示,比较采用 χ^2 检验;正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;非正态分布计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用 *Z* 检验; AIS 患者静脉溶栓后 HT 的影响因素采用多因素 Logistic 回归分析;血清 CKLF1、claudin-5 水平与 mRS 评分的相关性采用 Spearman 相关性分析;血清 CKLF1、claudin-5 水平对 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AIS 组与健康对照组血清 CKLF1、claudin-5 水平比较 AIS 组血清 CKLF1、claudin-5 水平高于健康对照组($P < 0.01$) ,见表 1。

表 1 健康对照组与 AIS 组血清 CKLF1、claudin-5 水平比较 [$M(Q_1, Q_3)$ ng/L]

Tab. 1 Comparison of serum CKLF1 and claudin-5 levels between healthy control group and AIS group

组别	例数	CKLF1	claudin-5
健康对照组	60	21.16(17.10, 26.85)	16.13(11.77, 18.94)
AIS 组	321	39.82(36.22, 43.58)	62.27(37.64, 85.34)
Z 值		11.953	11.069
P 值		<0.001	<0.001

2.2 AIS 患者静脉溶栓后 HT 发生在不同临床病理特征中差异分析 321 例 AIS 患者静脉溶栓后发生 HT

63 例(19.63%)。与非 HT 亚组比较,HT 亚组患者年龄较大,心房颤动、心源性栓塞比率高,NIHSS 评分高,CKLF1、claudin-5 水平高(P 均 < 0.01) ,见表 2。

2.3 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的多因素 Logistic 回归分析 以 AIS 患者静脉溶栓后是否出现 HT 为因变量,以上述结果中 $P < 0.05$ 项目为自变量,进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,心源性栓塞、NIHSS 评分升高和血清 CKLF1、claudin-5 水平升高为 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的独立危险因素($P < 0.01$) ,见表 3。

表 3 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 3 Multivariate logistic regression analysis of HT after intra-venous thrombolysis in AIS patients

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄大	0.016	0.020	0.692	0.406	1.016	0.978~1.056
合并心房颤动	0.894	0.471	3.610	0.057	2.446	0.972~6.154
心源性栓塞	0.099	0.027	13.466	<0.001	1.104	1.047~1.165
NIHSS 评分高	1.476	0.397	13.849	<0.001	4.377	2.011~9.526
CKLF1 升高	0.178	0.040	20.231	<0.001	1.195	1.106~1.292
claudin-5 升高	0.038	0.007	31.695	<0.001	1.039	1.024~1.052

2.4 不同预后 AIS 患者血清 CKLF1、claudin-5 水平比较 AIS 患者 321 例静脉溶栓后 3 个月 mRS 评分 ≥3 分 88 例,预后不良发生率为 27.41%(88/321)。预后不良亚组血清 CKLF1、claudin-5 水平高于预后良好亚组($P < 0.01$) ,见表 4。

表 4 不同预后 AIS 患者血清 CKLF1、claudin-5 水平比较 [$M(Q_1, Q_3)$ ng/L]

Tab. 4 Comparison of serum CKLF1 and claudin-5 levels in AIS patients with different prognosis

组别	例数	CKLF1	claudin-5
预后良好亚组	233	38.31(35.13, 41.68)	52.64(29.41, 76.25)
预后不良亚组	88	42.84(40.30, 47.62)	90.46(56.92, 114.19)
Z 值		7.145	7.279
P 值		<0.001	<0.001

2.5 AIS 患者血清 CKLF1、claudin-5 水平与 mRS 评分的相关性 Spearman 相关性分析显示,AIS 患者血清 CKLF1、claudin-5 水平与 mRS 评分呈正相关($r_s = 0.517, 0.491$ P 均 < 0.001) 。

2.6 血清 CKLF1、claudin-5 水平对 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的预测价值 绘制血清 CKLF1、claudin-5 水平对 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的预测价值 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC) 结果显示,血清 CKLF1、claudin-5 水平单独及二者联合预测 AIS 患者静脉溶栓后

表 2 AIS 患者静脉溶栓后 HT 发生的因素分析

Tab. 2 Analysis of factors affecting the occurrence of HT in AIS patients after intravenous thrombolysis

项 目	非 HT 亚组(n=258)	HT 亚组(n=63)	$\chi^2/t/Z$ 值	P 值				
性别[例(%)]	男	161(62.40)	42(66.67)	0.396	0.529			
	女	97(37.60)	21(33.33)					
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	58.10 \pm 9.78	61.95 \pm 10.08	2.728	0.007				
体质量指数(kg/m ²) ^a	21.59(19.40-24.77)	21.89(18.99-25.86)	0.473	0.636				
吸烟史[例(%)]	77(29.84)	23(36.51)	1.048	0.306				
饮酒史[例(%)]	59(22.87)	19(30.16)	1.463	0.226				
合并症[例(%)]	高血压	165(63.95)	45(71.43)	1.251	0.263			
	糖尿病	121(46.90)	31(49.21)	0.108	0.742			
	冠心病	52(20.16)	18(28.57)	2.104	0.147			
	心房颤动	36(13.95)	19(30.16)	9.366	0.002			
发病至溶栓时间($\bar{x} \pm s$, h)	3.13 \pm 0.57	3.28 \pm 0.58	1.944	0.063				
梗死部位[例(%)]	颞叶	36(13.95)	9(14.29)	3.891	0.792			
	尾状核头部	13(5.04)	7(11.11)					
	丘脑	40(15.50)	10(15.87)					
	额叶	35(13.56)	8(12.70)					
	多发新发梗死灶	26(10.08)	7(11.11)					
	脑干、小脑	35(13.57)	8(12.70)					
	基底节余部位	60(23.26)	12(19.05)					
	顶枕叶	13(5.04)	2(3.17)					
	TOAST 分型[例(%)] ^b	小动脉闭塞型	25(9.68)			2(3.17)	2.199	0.327
		大动脉闭塞型	93(36.05)			15(23.81)		
心源性栓塞		52(20.16)	30(47.62)					
其他原因型		10(3.88)	0					
不明原因型		78(30.23)	16(25.40)					
溶栓前治疗[例(%)]	单联抗血小板聚集药物	38(14.73)	6(9.52)	1.160	0.282			
	双联抗血小板聚集药物	13(5.04)	6(9.52)	1.112	0.292			
	抗凝药物	4(1.55)	3(4.76)	1.174	0.279			
	他汀类药物	38(14.73)	9(14.29)	0.008	0.929			
NIHSS 评分(分) ^a	7.00(6.00-8.00)	10.00(8.00-17.00)	6.751	<0.001				
收缩压(mmHg) ^a	150.50(133.75-167.00)	151.00(136.00-170.00)	0.419	0.675				
舒张压($\bar{x} \pm s$, mmHg)	86.10 \pm 14.60	84.68 \pm 17.74	0.588	0.509				
实验室检查	血糖($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	7.27 \pm 2.57	7.86 \pm 2.16	1.860	0.066			
	总胆固醇($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	4.54 \pm 1.31	4.65 \pm 0.82	0.835	0.405			
	三酰甘油(mmol/L) [*]	1.72(1.54-1.88)	1.97(1.24-2.32)	1.155	0.248			
	HDL-C(mmol/L) [*]	1.23(1.04-1.45)	1.13(1.11-1.28)	1.529	0.126			
	LDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	2.78 \pm 0.96	2.81 \pm 1.04	0.280	0.780			
	血红蛋白($\bar{x} \pm s$, g/L)	139.94 \pm 17.62	138.45 \pm 12.27	0.613	0.541			
	白细胞计数($\times 10^9/L$) [*]	7.46(5.97-9.15)	7.99(6.00-9.70)	1.461	0.144			
	血小板计数($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	239.48 \pm 93.04	225.77 \pm 39.96	-1.143	0.254			
	淋巴细胞计数($\times 10^9/L$) [*]	1.72(1.18-2.42)	1.80(1.28-2.84)	0.985	0.325			
	中性粒细胞计数($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	5.54 \pm 2.26	5.58 \pm 0.42	0.261	0.794			
	肌酐($\mu\text{mol/L}$) [*]	76.66(64.50-96.10)	79.70(65.50-96.41)	0.575	0.566			
	尿酸($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)	313.94 \pm 93.12	320.88 \pm 70.41	0.655	0.514			
	CKLF1(ng/L) [*]	38.65(35.20-42.17)	43.20(41.18-48.29)	6.626	<0.001			
	claudin-5(ng/L) [*]	56.50(32.17-80.15)	98.26(58.62-122.08)	6.696	<0.001			

注:^a为 $M(Q_1, Q_3)$; ^bTOAST. 急性脑卒中治疗试验

HT 的 AUC 分别为 0.769、0.772、0.876, 二者联合预测的 AUC 大于 CKLF1、claudin-5 单独预测 ($Z/P = 2.542/0.011$, $3.786/<0.001$), 见表 5、图 1。

3 讨论

HT 是指 AIS 后缺血区域血管在恢复血流灌注后

导致的出血。静脉溶栓虽然能通过溶解血管内堵塞血栓, 使阻塞血管重新获得血流灌注, 但溶栓药物的抗血栓作用还能引起纤维蛋白原降解和破坏 BBB, 导致 HT 发生^[12]。HT 可导致静脉溶栓后神经功能改善的 AIS 患者神经功能再次恶化, 是 AIS 患者预后不良的危险

表 5 血清 CKLF1、claudin-5 水平对 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的预测价值

Tab.5 Predictive value of serum CKLF1 and claudin-5 levels for HT after intravenous thrombolysis in AIS patients

指 标	最佳截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
CKLF1	≥40.01 ng/L	0.769	0.719 ~ 0.814	0.857	0.601	0.458
claudin-5	≥93.33 ng/L	0.772	0.722 ~ 0.817	0.540	0.907	0.447
二者联合		0.876	0.835 ~ 0.910	0.778	0.822	0.600

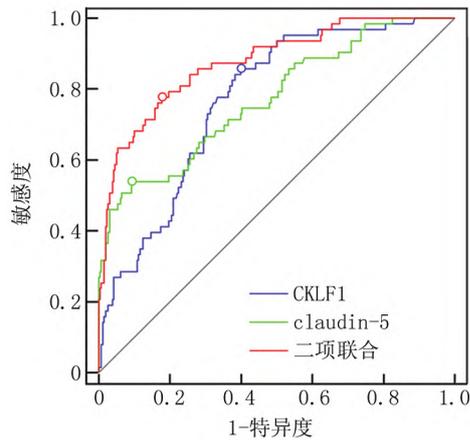


图 1 血清 CKLF1、claudin-5 水平预测 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的 ROC 曲线

Fig.1 Serum CKLF1 and claudin-5 levels predict the ROC curve of HT in AIS patients after intravenous thrombolysis

因素之一^[13]。本研究中 321 例 AIS 患者静脉溶栓后 HT 发生率为 19.63%，这与姜文娟等^[14]报道的 21.38% 接近，说明 AIS 患者静脉溶栓后 HT 发生率较高。因此，早期识别 HT 发生对改善 AIS 患者预后具有重要意义。

BBB 破坏被认为是 HT 关键的机制，AIS 后神经细胞缺血死亡能释放“危险信号”激活脑内固有免疫反应，促进活性氧、炎性细胞因子、趋化因子等神经毒性物质产生，引起神经炎性级联反应，破坏 BBB 导致 HT 发生^[15-16]。趋化因子是一类在机体血管新生、细胞增殖、炎症反应、免疫调节等多种病理生理过程中发挥重要作用的分子蛋白^[17]。CKLF1 是新近发现的一种主要表达于单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞等免疫细胞的趋化因子，具备 C-C 趋化因子的结构和特征，能通过 C 端结合 CCR4/5，不仅能趋化免疫细胞迁移至炎症反应部位，还能激活核因子-κB、细胞外调节蛋白激酶、丝裂原活化蛋白激酶、NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 等一系列转录因子，在炎症反应中发挥重要作用^[18]。研究报道^[19]，抑制 CKLF1 与 CCR4

结合能抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 活化，进而减少局灶性缺血性脑损伤后炎症反应。敲低 CKLF1 能抑制 CKLF1/CCR5 介导的中性粒细胞迁移，减轻脑缺血大鼠脑内炎症反应^[20]。同时 Zhou 等^[21]研究报道，下调 CKLF1 能抑制核因子-κB 激活，进而抑制大鼠脑卒中后小胶质细胞 M1 型极化。上述研究表明，CKLF1 与脑卒中神经炎症反应密切相关，而神经炎症反应与 BBB 破坏密切相关，因此笔者推测 CKLF1 可能参与 HT 发生。本研究结果显示，AIS 患者血清 CKLF1 水平升高，且是静脉溶栓后 HT 发生的独立危险因素，说明血清 CKLF1 水平升高会增加 AIS 患者静脉溶栓后 HT 风险。分析原因可能是 CKLF1 升高能结合其受体 CCR4/5 趋化免疫细胞至炎症反应部位，并激活多条炎症反应信号通路，导致神经炎症反应并破坏 BBB^[22]，进而增加 HT 风险。实验也显示^[23]，抑制 CKLF1 能通过抑制炎症反应减少 BBB 基底膜降解，维持 BBB 完整性和通透性，进而改善大鼠脑缺血 BBB 功能。于大君等^[22]临床研究也报道，外周血 CKLF1 升高与高血压脑出血患者 BBB 破坏有关。

BBB 由一层紧密排列的无孔内皮细胞单层形成，这些细胞通过紧密连接蛋白复合物机械连接在一起，严格限制了循环血液和大脑微环境之间的分子交换，细胞紧密连接蛋白缺失将导致 BBB 渗透性损害，导致 HT 发生^[24]。claudin 是构成内皮细胞紧密连接的主要蛋白，其中 claudin-5 是 BBB 中最富集的紧密连接蛋白，其表达浓度直接决定了 BBB 紧密连接部分的渗透性^[25]。肖志博等^[26]研究报道，上调缺血区域 claudin-5 表达能保护脑缺血再灌注后 BBB 完整性。Gholamzadeh 等^[27]研究报道，上调脑组织 claudin-5 表达能改善大鼠中动脉闭塞大鼠 BBB 完整性。上述研究表明，claudin-5 对保护脑卒中后 BBB 完整性至关重要，然而关于 claudin-5 与 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的关系尚未可知。本研究结果显示，AIS 患者血清 claudin-5 水平升高，是静脉溶栓后 HT 发生的独立危险因素，说明血清 claudin-5 水平升高会增加 AIS 患者静脉溶栓后 HT 风险，这与上述研究报道 claudin-5 具有 BBB 保护作用结果不相符。分析原因可能是血清 claudin-5 水平升高由 BBB 被破坏渗漏所致，故血清 claudin-5 水平越高反映 BBB 破坏越严重，导致更多的 claudin-5 自 BBB 渗漏至血液循环中^[28]。

本研究结果还显示，心源性栓塞和 NIHSS 评分增加也是 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的独立危险因素，分析原因可能是心源性栓塞反映患者心脏结构和功能存在损害，心脏输出量降低影响脑血管功能，增加 HT 风

险;NIHSS 评分越高反映患者病情越危重, BBB 破坏可能更严重,因此 HT 风险更高^[29-30]。本研究通过分析血清 CKLF1、claudin-5 水平与短期预后的关系发现,预后不良亚组血清 CKLF1、claudin-5 水平明显升高,且 AIS 患者血清 CKLF1、claudin-5 水平与 mRS 评分呈正相关,这说明血清 CKLF1、claudin-5 水平升高与 AIS 患者静脉溶栓后短期预后密切相关。分析原因可能是血清 CKLF1、claudin-5 水平升高会加剧 AIS 患者 BBB 破坏,导致神经功能持续恶化,进而影响预后^[31-32]。本研究 ROC 曲线显示,血清 CKLF1 水平为 40.01 ng/L 时,预测 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的 AUC 为 0.769;血清 claudin-5 水平为 93.33 ng/L 时,预测 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的 AUC 为 0.772;血清 CKLF1 联合 claudin-5 预测 AIS 患者静脉溶栓后 HT 的 AUC 为 0.876,较 CKLF1、claudin-5 单独预测更大。说明静脉溶栓前检测血清 CKLF1、claudin-5 水平有助于预测 AIS 患者静脉溶栓后 HT 发生,且二者联合能提升预测价值。

综上所述, AIS 患者血清 CKLF1、claudin-5 水平升高,与静脉溶栓后 HT 发生和短期预后不良密切相关,血清 CKLF1、claudin-5 水平对 AIS 患者静脉溶栓后 HT 具有一定预测价值,且二者联合能提升预测价值。但本研究结果还需多中心大样本研究证实。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

刘源:提出研究思路,设计研究方案,论文撰写,论文修改;

刘星:实施研究过程,文献调研与整理;禹红:分析试验数据,论文终审;

熊武忠、王乐:数据收集,统计学分析

参考文献

[1] 《中国卒中防治报告》编写组.《中国卒中防治报告 2020》概要[J].中国脑血管病杂志,2022,19(2):136-144. DOI:10.3969/j.issn.1672-5921.2022.02.011.
Report on stroke prevention and treatment in China Writing Group. Brief report on stroke prevention and treatment in China 2020 [J]. Chinese Journal of Cerebrovascular Diseases, 2022, 19(2): 136-144. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5921.2022.02.011.

[2] 中国医师协会神经内科医师分会脑血管病专家组.急性缺血性卒中替奈普酶静脉溶栓治疗中国专家共识[J].中国神经精神疾病杂志,2022,48(11):641-651. DOI:10.3969/j.issn.1002-0152.2022.11.001.
Cerebro-vascular Disease Group of Neurology Sub-Association of Chinese Medical Doctor Association. Chinese expert consensus on tenecteplase intravenous thrombolytic therapy for acute ischemic stroke [J]. Chinese Journal of Nervous and Mental Diseases, 2022, 48(11): 641-651. DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2022.11.001.

[3] 刘晓辉,宋景春,张进华,等.中国抗血栓药物相关出血诊疗规范专家共识[J].解放军医学杂志,2022,47(12):1169-1179. DOI:10.11855/j.issn.0577-7402.2022.12.1169.

Liu XH, Song JC, Zhang JH, et al. Chinese experts consensus for standardized diagnosis and treatment of antithrombotic drug-related bleeding [J]. Medical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2022, 47(12): 1169-1179. DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2022.12.1169.

[4] 何明月,陆菁菁.炎症与急性缺血性脑卒中出血转化研究进展[J].中华神经科杂志,2020,53(9):732-735. DOI:10.3760/cma.j.cn113694-20191129-00748.
He MY, Lu JJ. Research progress of update on inflammation and hemorrhagic transformation [J]. Chinese Journal of Neurology, 2020, 53(9): 732-735. DOI: 10.3760/cma.j.cn113694-20191129-00748.

[5] 吴月,殷梅.炎症反应与急性缺血性脑卒中静脉溶栓后出血转化的研究进展[J].神经疾病与精神卫生,2020,20(12):890-894. DOI:10.3969/j.issn.1009-6574.2020.12.010.
Wu Y, Yin M. Advances in the study of inflammatory reaction and hemorrhagic transformation after intravenous thrombolysis in patients with acute ischemic stroke [J]. Journal of Neuroscience and Mental Health, 2020, 20(12): 890-894. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2020.12.010.

[6] Li Y, Yu H, Feng J. Role of chemokine-like factor 1 as an inflammatory marker in diseases [J]. Front Immunol, 2023, 14(2): 1085154. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1085154.

[7] Rajagopal N, Nangia S. Unique structural features of claudin-5 and claudin-15 lead to functionally distinct tight junction strand architecture [J]. Ann N Y Acad Sci, 2022, 1517(1): 225-233. DOI: 10.1111/nyas.14891.

[8] 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. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.004.
Chinese Society of Neurology, Chinese Stroke Society. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of acute ischemic stroke 2018 [J]. Chinese Journal of Neurology, 2018, 51(9): 666-682. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.004.

[9] 中国卒中学会科学声明专家组.急性缺血性卒中静脉溶栓中国卒中学会科学声明[J].中国卒中杂志,2017,12(3):267-284. DOI:10.3969/j.issn.1673-5765.2017.03.017.
Scientific Statement Expert Group of the Chinese Stroke Association. Scientific statement of the Chinese Stroke Association on intravenous thrombolysis in acute ischemic stroke [J]. Chinese Journal of Stroke, 2017, 12(3): 267-284. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5765.2017.03.017.

[10] 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.中国急性脑梗死后出血转化诊治共识 2019 [J].中华神经科杂志,2019,52(4):252-265. DOI:10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2019.04.003.
Chinese Society of Neurology, Chinese Stroke Society. Consensus on diagnosis and treatment of hemorrhagic transformation after acute ischemic stroke in China 2019 [J]. Chinese Journal of Neurology, 2019, 52(4): 252-265. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2019.04.003.

[11] 张磊,刘建民.改良 Rankin 量表[J].中华神经外科杂志,2012,28(5):512.

- Zhang L ,Liu JM. Modification of the Rankin Scale [J]. Chinese Journal of Neurosurgery 2012 28(5) : 512.
- [12] 杨洁,谢小华,连万成,等.急性缺血性脑梗死静脉溶栓后出血转化风险预测模型的构建[J].疑难病杂志,2022,21(4):371-376. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.04.008.
- Yang J ,Xie XH ,Lian WC ,et al. Construction of a risk prediction model for hemorrhagic transformation after intravenous thrombolysis in acute ischemic cerebral infarction [J]. Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases ,2022 ,21(4) : 371-376. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 04. 008.
- [13] 吕文蝶,万跃.急性缺血性脑卒中静脉溶栓后出血转化的研究进展[J].卒中与神经疾病,2022,29(2):183-188. DOI: 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.02.019.
- Lyu WD ,Wan Y. Progress in the study of hemorrhagic transformation after intravenous thrombolysis in acute ischemic stroke [J]. Stroke and Nervous Diseases ,2022 ,29(2) : 183-188. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-0478. 2022. 02. 019.
- [14] 姜文娟,贺芬,任阳,等.血清清蛋白联合动态动脉僵硬指数对急性缺血性脑卒中病人静脉溶栓后出血转化的预测价值[J].中西医结合心脑血管病杂志,2023,21(5):908-912. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2023.05.030.
- Jiang WJ ,He F ,Ren Y ,et al. Predictive value of serum protein combined with dynamic arterial stiffness index on hemorrhagic transformation after intravenous thrombolysis in patients with acute ischemic stroke [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine Cerebrovascular Disease 2023 21(5) : 908-912. DOI: 10. 12102/j. issn. 1672-1349. 2023. 05. 030.
- [15] 王婷,杨可,张圆.早期血脑屏障损伤在急性缺血性卒中 tPA 溶栓后出血性转化中的作用及其机制[J].国际脑血管病杂志,2016,24(11):1033-1038. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2016.11.010.
- Wang T ,Yang K ,Zhang Y. Roles and mechanisms of early blood-brain barrier damage in hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke after tPA thrombolysis [J]. Int J Cerebrovasc Dis ,2016 ,24(11) : 1033-1038. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4165. 2016. 11. 010.
- [16] 苗志娟,王修哲,赵玉武.免疫炎症在缺血性脑卒中的研究进展[J].中风与神经疾病杂志,2020,37(1):87-89. DOI: 10.19845/j.cnki.zfysjbjzz.2020.01.023.
- Miao ZJ ,Wang XZ ,Zhao YW. Progress of immune inflammation in ischemic stroke [J]. Journal of Apoplexy and Nervous Diseases ,2020 ,37(1) : 87-89. DOI: 10. 19845/j. cnki. zfysjbjzz. 2020. 01. 023.
- [17] 肖艳辉,陆培荣.趋化因子及其受体对血管内皮细胞的作用[J].现代生物医学进展,2013,13(14):2790-2793. DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2013.14.009.
- Xiao YH ,Lu PR. The role of chemokines and their receptors on vascular endothelial cells [J]. Progress in Modern Biomedicine 2013 ,13(14) : 2790-2793. DOI: 10. 13241/j. cnki. pmb. 2013. 14. 009.
- [18] Cai X ,Deng J ,Ming Q ,et al. Chemokine-like factor 1: A promising therapeutic target in human diseases [J]. Exp Biol Med (Maywood) ,2020 245(16) : 1518-1528. DOI: 10. 1177/1535370220945225.
- [19] Ai QD ,Chen C ,Chu S ,et al. IMM-H004 therapy for permanent focal ischemic cerebral injury via CKLF1/CCR4-mediated NLRP3 inflammasome activation [J]. Transl Res 2019 ,14(212) : 36-53. DOI: 10. 1016/j. trsl. 2019. 05. 007.
- [20] Chen C ,Chu SF ,Ai QD ,et al. CKLF1/CCR5 axis is involved in neutrophils migration of rats with transient cerebral ischemia [J]. Int Immunopharmacol 2020 ,20(85) : 106577. DOI: 10. 1016/j. intimp. 2020. 106577.
- [21] Zhou X ,Zhang YN ,Li FF ,et al. Neuronal chemokine-like-factor 1 (CKLF1) up-regulation promotes M1 polarization of microglia in rat brain after stroke [J]. Acta Pharmacol Sin ,2022 ,43(5) : 1217-1230. DOI: 10. 1038/s41401-021-00746-w.
- [22] 于大君,董春玉,于永鹏.外周血 CKLF1、CCR4 与高血压脑出血后血脑屏障破坏及预后的关系[J].中西医结合心脑血管病杂志,2022,20(2):344-347. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2022.02.037.
- [23] Kong LL ,Wang ZY ,Hu JF ,et al. Inhibition of chemokine-like factor 1 improves blood-brain barrier dysfunction in rats following focal cerebral ischemia [J]. Neurosci Lett ,2016 ,627: 192-198. DOI: 10. 1016/j. neulet. 2016. 06. 003.
- [24] Zhao Y ,Gan L ,Ren L ,et al. Factors influencing the blood-brain barrier permeability [J]. Brain Res ,2022 ,1788: 147937. DOI: 10. 1016/j. brainres. 2022. 147937.
- [25] Jia W ,Lu R ,Martin TA ,et al. The role of claudin-5 in blood-brain barrier (BBB) and brain metastases (review) [J]. Mol Med Rep ,2014 9(3) : 779-785. DOI: 10. 3892/mmr. 2013. 1875.
- [26] 肖志博,谢海,金辉,等.丙泊酚基于 SIRT1/Foxo1 信号缓解缺血性脑再灌注造成血脑屏障损伤[J].微循环学杂志,2022,32(1):12-18. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1740.2022.01.003.
- [27] Gholamzadeh R ,Ramezani F ,Tehrani PM ,et al. Apelin-13 attenuates injury following ischemic stroke by targeting matrix metalloproteinases (MMP) ,endothelin- B receptor ,occludin/claudin-5 and oxidative stress [J]. J Chem Neuroanat 2021 ,118: 102015. DOI: 10. 1016/j. jchemneu. 2021. 102015.
- [28] Wakayama E ,Kuzu T ,Tachibana K ,et al. Modifying the blood-brain barrier by targeting claudin-5: Safety and risks [J]. Ann N Y Acad Sci 2022 ,1514(1) : 62-69. DOI: 10. 1111/nyas. 14787.
- [29] 李志德,李美英,凤兆海. Apelin-13 与 Apelin-17 在老年缺血性脑卒中患者侧支循环建立预测中的价值[J].疑难病杂志,2022,21(9):916-920. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.09.006.
- [30] Thomas SE ,Plumber N ,Venkatapathappa P ,et al. A review of risk factors and predictors for hemorrhagic transformation in patients with acute ischemic stroke [J]. Int J Vasc Med ,2021 ,2021: 4244267. DOI: 10. 1155/2021/4244267.
- [31] 衣丽华,董岩,郑丽莎,等.血清 MASP-3、MBL、SDMA 对老年急性缺血性脑卒中的诊断价值[J].疑难病杂志,2022,21(5):456-460,474. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2022.05.003.
- [32] Berndt P ,Winkler L ,Cording J ,et al. Tight junction proteins at the blood-brain barrier: Far more than claudin-5 [J]. Cell Mol Life Sci ,2019 ,76(10) : 1987-2002. DOI: 10. 1007/s00018-019-03030-7.

(收稿日期: 2023 - 05 - 30)