

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 04. 009

论著 · 临床

# 血清 ITIH4 和 MCL-1 水平与急性缺血性脑卒中患者病情程度及预后的关系

席俊男 冯松松 薛惠元 滕东 陈丽薇



基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20200763)

作者单位: 472000 河南三门峡 河南科技大学附属黄河医院神经内科

通信作者: 陈丽薇 ,E-mail: 827586182@qq.com

**【摘要】** 目的 探究急性缺血性脑卒中(AIS)患者血清间α胰蛋白酶抑制因子重链4(ITIH4)、髓样细胞白血病因子-1(MCL-1)表达与病情程度及预后的关系。方法 纳入2019年7月—2022年7月河南科技大学附属黄河医院神经内科诊治AIS患者128例为AIS组。根据入院时美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分,分为轻度亚组(NIHSS < 6分  $n=42$ )、中度亚组(NIHSS 6~14分  $n=52$ )和重度亚组(NIHSS ≥ 14分  $n=34$ )。根据出院3个月时AIS患者改良Rankins评分,分为预后不良亚组(mRS评分 > 2分 30例)和预后良好亚组(mRS评分 ≤ 2分 98例)。另选取同期医院体检的健康人70例为健康对照组。酶联免疫吸附试验检测血清ITIH4、MCL-1水平。Pearson相关分析血清ITIH4、MCL-1水平与病情程度及预后的相关性;多因素Logistic回归分析影响AIS患者预后的因素;受试者工作特征曲线分析血清ITIH4、MCL-1对AIS患者预后的预测价值。结果 AIS组患者血清ITIH4、MCL-1水平显著低于健康对照组( $t/P=43.2111 / <0.001$ ,  $43.1911 / <0.001$ );病情程度越重,AIS患者血清ITIH4/MCL-1水平越低( $F/P=107.796 / <0.001$ ,  $297.976 / <0.001$ );预后不良亚组梗死面积、入院24h NIHSS评分高于预后良好亚组( $t/P=9.637 / <0.001$ ,  $9.752 / <0.001$ )。血清ITIH4、MCL-1水平及出院3个月简易智能状态量表(MMSE)评分、蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分低于预后良好亚组( $t/P=26.723 / <0.001$ ,  $11.709 / <0.001$ ,  $13.674 / <0.001$ ,  $10.782 / <0.001$ );AIS患者血清ITIH4、MCL-1与梗死面积、入院24h NIHSS评分呈负相关( $r/P=-0.705 / <0.001$ ,  $-0.685 / <0.001$ ;  $-0.761 / <0.001$ ,  $-0.619 / <0.001$ )。与出院3个月MMSE评分、MoCA评分呈正相关( $r/P=0.656 / <0.001$ ,  $0.632 / <0.001$ ;  $0.751 / <0.001$ ,  $0.789 / <0.001$ );出院3个月MMSE评分高、出院3个月MoCA评分高是影响AIS患者预后不良的独立保护因素[ $0.622(0.446 \sim 0.868)$ ,  $0.606(0.427 \sim 0.861)$ ]。血清ITIH4低、MCL-1低、梗死面积大、入院24h NIHSS评分高是危险因素[ $OR(95\% CI)=1.467(1.150 \sim 1.870)$ ,  $1.415(1.094 \sim 1.829)$ ,  $1.605(1.168 \sim 2.205)$ ,  $1.765(1.233 \sim 2.526)$ ]。血清ITIH4、MCL-1及两项联合预测AIS预后不良的AUC分别为0.811、0.835、0.923,两项联合预测AIS预后不良的AUC大于单一指标,差异具有统计学意义( $Z=4.258, 4.119$ ,  $P$ 均<0.001)。结论 AIS患者血清ITIH4、MCL-1表达下调,两者表达水平与病情严重程度有关,两者联合对AIS患者预后具有较高的预测价值。

**【关键词】** 急性缺血性脑卒中; 间α胰蛋白酶抑制因子重链4; 髓样细胞白血病因子-1; 病情程度; 预后

**【中图分类号】** R743.3

**【文献标识码】** A

**The serum levels of ITIH4 and MCL-1 in patients with acute ischemic stroke and relationship with the severity and prognosis** Xi Junnan, Feng Songsong, Xue Huiyuan, Teng Dong, Chen Liwei. Department of Neurology, Henan University of Science and Technology Affiliated Yellow River Hospital, Henan Province, Sanmenxia 472000, China

Funding program: Henan Province Medical Science and Technology Research Program Project (LHGJ20200763)

Corresponding author: Chen Liwei, E-mail: 827586182@qq.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the relationship between the expression of serum inter alpha trypsin inhibitor heavy chain 4 (ITIH4), myeloid cell leukemia sequence 1 (MCL-1) and disease severity and prognosis in patients with acute ischemic stroke (AIS). **Methods** A total of 128 patients diagnosed and treated with AIS in the Department of Neurology of Henan University of Science and Technology Affiliated Yellow River Hospital from July 2019 to July 2022 as AIS group. According to the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score at admission, the patients were divided into mild subgroup (NIHSS < 6 points  $n=42$ ), moderate subgroup (6 points ≤ NIHSS < 14 points  $n=52$ ), and severe subgroup (NIHSS ≥ 14 points  $n=34$ ). According to the modified Rankins score of AIS patients at 3 months of discharge, they were divided

into poor prognosis subgroup ( score  $> 2$  points ,30 cases) and good prognosis subgroup ( score  $\leq 2$  points ,98 cases) . A total of 70 healthy individuals who underwent physical examinations in hospitals during the same period were selected as the healthy group. Enzyme linked immunosorbent assay was used to detect serum levels of ITIH4 and MCL-1. Pearson correlation analysis was conducted to investigate the correlation between serum levels of ITIH4 and MCL-1 with the severity and prognosis of the disease; Multivariate Logistic regression analysis was used to identify the factors that affect the prognosis of AIS patients; The predictive value of serum ITIH4 and MCL-1 for the prognosis of AIS patients was analyzed by receiver operating characteristic curves. **Results** The serum levels of ITIH4 and MCL-1 in AIS patients were lower than those in the healthy group (  $t/P = 43.211 / < 0.001$  ,  $43.191 / < 0.001$  ) . The more severe the illness , the lower the serum levels of ITIH4 and MCL-1 in AIS patients (  $F/P = 107.796 / < 0.001$  ,  $297.976 / < 0.001$  ) . The infarction area and 24-hour NIHSS score of the poor prognosis group were higher than those of the good prognosis group (  $t/P = 9.637 / < 0.001$  ,  $9.752 / < 0.001$  ) , while serum ITIH4 and MCL-1 levels , 3-month Mini Intelligence State Scale ( MMSE) score and Montreal Cognitive Assessment Scale ( MoCA) score were lower than those of the good prognosis subgroup , with statistically significant differences (  $t/P = 26.723 / < 0.001$  ,  $11.709 / < 0.001$  ,  $13.674 / < 0.001$  ,  $10.782 / < 0.001$  ) . The serum ITIH4 and MCL-1 levels in AIS patients were negatively correlated with infarct size and 24-hour NIHSS score (  $r/P = -0.705 / < 0.001$  ,  $-0.685 / < 0.001$  ,  $-0.761 / < 0.001$  ,  $-0.619 / < 0.001$  ) , while positively correlated with MMSE score and MoCA score at 3 months after discharge (  $r/P = 0.656 / < 0.001$  ,  $0.632 / < 0.001$  ,  $0.751 / < 0.001$  ,  $0.789 / < 0.001$  ) . High MMSE score and high MoCA score after discharge were independent protective factors affecting poor prognosis in AIS patients [  $OR(95\% CI) = 0.622 (0.446 - 0.868)$  ,  $0.606 (0.427 - 0.861)$  ] , while low serum ITIH4 , low serum MCL-1 , large infarct size and high 24-hour NIHSS score were risk factors [  $OR(95\% CI) = 1.467 (1.150 - 1.870)$  ,  $1.415 (1.094 - 1.829)$  ,  $1.605 (1.168 - 2.205)$  ,  $1.765 (1.233 - 2.526)$  ] . The AUC of serum ITIH4 , MCL-1 , and their combined prediction for poor prognosis in AIS were 0.811 , 0.835 , and 0.923 , respectively. The AUC of the two combined predictions for poor prognosis in AIS was greater than that of single indicator , and the difference was statistically significant (  $Z = 4.258$  ,  $4.119$  , all  $P < 0.001$  ) . **Conclusion** The expression of serum ITIH4 and MCL-1 in AIS patients is downregulated , and their expression levels are related to the severity of the disease. The combination of the two has high predictive value for the prognosis of AIS patients.

**【Key words】** Acute ischemic stroke; Inter alpha trypsin inhibitor heavy chain 4; Myeloid cell leukemia sequence 1; Degree of illness; Prognosis

脑卒中是导致中老年人死亡和残疾的主要原因之一<sup>[1]</sup>。急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)约占脑卒中的70%,具有起病急、发展迅速及预后差等特点<sup>[2]</sup>。间α胰蛋白酶抑制因子重链4(inter alpha trypsin inhibitor heavy chain 4, ITIH4)主要由肝脏合成并分泌,在血液中被血浆激肽释放酶切割活化,参与炎症反应、免疫及肿瘤等疾病过程<sup>[3-4]</sup>。近年来发现,ITIH4在心脑血管疾病中发挥抗炎效应,与动脉粥样硬化程度呈负相关,是评估主要不良心血管事件的血清标志物<sup>[5]</sup>。髓样细胞白血病因子-1(myeloid cell leukemia sequence 1, MCL-1)属于B细胞淋巴瘤蛋白2家族成员,参与维持线粒体外膜的完整性,发挥抗凋亡的生物学效应<sup>[6]</sup>。研究发现,脑组织缺血再灌注损伤过程中MCL-1表达下调,导致神经细胞凋亡增加,是潜在的缺血性脑卒中的生物标志物<sup>[7]</sup>。目前AIS患者血清ITIH4、MCL-1表达水平及临床意义尚不清楚。本研究通过检测AIS患者血清ITIH4、MCL-1的表达水平,探讨两者与AIS病情程度及预后的关系,报道如下。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 纳入2019年7月—2022年7月河南科技大学附属黄河医院神经内科诊治AIS患者128例(AIS组),男74例,女54例;年龄37~81(63.02 ± 6.53)岁;体质指数18.47~26.70(23.37 ± 2.19) kg/m<sup>2</sup>;病程2~72(21.47 ± 6.89) h;均无明显诱因;AIS家族史4例;有吸烟史45例;基础病:高血压54例,糖尿病36例。另选取同期医院体检的健康者70例为健康对照组,男40例,女30例;年龄40~78(62.73 ± 5.86)岁;体质指数18.26~26.57(23.20 ± 2.11) kg/m<sup>2</sup>;AIS家族史1例;有吸烟史26例;基础病:高血压30例,糖尿病15例。2组受试者性别、年龄、体质指数、AIS家族史、吸烟史、高血压史、糖尿病史比较,差异无统计学意义( $P$ 均 $> 0.05$ ),具有可比性。本研究经医院伦理委员会审核批准(2019-S058),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所有病例均符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南(2018)》制定的AIS诊断标准<sup>[8]</sup>;②头颅MR检查显示与临床症状相

符合的责任病灶; ③首次发病或复发但既往未遗留明显后遗症; ④发病 72 h 内入院; ⑤年龄 > 18 岁。(2) 排除标准: ①短暂脑缺血发作、颅内占位、脑出血及脑外伤患者; ②合并急慢性肾功能不全, 或严重的心肺、肝脏疾病; ③合并自身免疫性疾病或恶性肿瘤; ④合并血液性疾病; ⑤合并神经退行性疾病、颅内感染性疾病、肠道炎性反应; ⑥发病前任何原因所致生活不能自理。

### 1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 ITIH4、MCL-1 检测: 患者入院后次日清晨、健康对照组体检时留取肘静脉血 5 ml 4℃ 冰箱静置 2 h 离心留取上层血清。采用多功能酶标仪(美国 PerkinElmer 有限公司, 型号 EnVisionXcite) 以酶联免疫吸附法测定血清 ITIH4(试剂盒购自上海臻科生物科技有限公司, 货号 ZK-3744)、MCL-1(试剂盒购自上海信裕生物科技有限公司, 货号 XY-MCL1-Hu)。按照试剂盒说明书完成检测。

1.3.2 梗死部位及面积测定: 患者入院 72 h 内采用美国 GE 公司 HDXT1.5T 磁共振仪测量颅脑梗死部位(皮质、皮质下、脑干/小脑), 计算梗死面积。

1.3.3 病情程度评估: 参考美国国立卫生研究院卒中量表(National Institute of Health stroke scale, NIHSS)<sup>[9]</sup>对 AIS 患者入院 24 h 病情程度评估, 包含意识水平检查、双眼凝视及视野情况、面部瘫痪程度、上下肢运动检查、共济失调检查、有无感觉障碍、语言表达情况、构音是否正常、有无忽视症状共计 13 个部分, 范围 0 ~ 42 分, 分数越高神经功能受损越严重, 并分为轻度亚组(NIHSS < 6 分  $n = 42$ ), 中度亚组(6 分 ≤ NIHSS < 14 分  $n = 52$ ), 重度亚组(NIHSS ≥ 14 分  $n = 34$ )<sup>[10]</sup>。

1.3.4 预后评估: 出院后 90 d 对所有 AIS 患者进行门诊和电话随访, 根据随访情况进行改良 Rankins 评分(modified Rankins score, mRS)<sup>[11]</sup>, 包括是否存在神经功能缺损症状、能否完成日常职责和活动、是否可独立自理, 评分 0 ~ 5 分, 评分越高预后越差, 并分为预后不良亚组(评分 > 2 分 30 例)和预后良好亚组(评分 ≤ 2 分 98 例)。采用简易智能状态量表(mini-mental state examination, MMSE)和蒙特利尔认知评估量表(Montreal cognitive assessment, MoCA)评估 AIS 患者认知功能, 评分范围均为 0 ~ 30 分, 分值越低, 患者认知功能越差。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 统计学软件分析数据。符合正态分布的计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用两独立样本  $t$  检验, 多组间比较采用  $F$  检验, 多组间两两比较采用 LSD- $t$  检验; 计数资料以频数或率(%)表示, 组间比较采用卡方检验。Pearson 相关分析

AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 与病情程度及预后的相关性; 多因素 Logistic 回归分析影响 AIS 患者预后的危险因素; 受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后的价值。  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 2 组血清 ITIH4、MCL-1 水平比较 AIS 组患者血清 ITIH4、MCL-1 水平分别为  $(24.17 \pm 4.58) \mu\text{g/L}$  和  $(7.03 \pm 1.34) \mu\text{g/L}$ , 低于健康对照组的  $(63.29 \pm 8.17) \mu\text{g/L}$  和  $(22.53 \pm 3.64) \mu\text{g/L}$ , 差异均有统计学意义( $t = 43.211, 43.191$ ,  $P$  均  $< 0.001$ )。

2.2 不同病情程度 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 水平比较 血清 ITIH4、MCL-1 水平比较, 轻度亚组 > 中度亚组 > 重度亚组患者, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ) 见表 1。

表 1 不同病情程度 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $\mu\text{g/L}$ )

Tab. 1 Comparison of serum ITIH4 and MCL-1 levels in AIS patients with different degrees of illness

组别	例数	ITIH4	MCL-1
轻度亚组	42	31.20 ± 4.34	10.27 ± 1.41
中度亚组	52	24.20 ± 4.69	6.96 ± 1.29
重度亚组	34	15.44 ± 4.96	3.14 ± 1.02
$F$ 值		107.796	297.976
$P$ 值		<0.001	<0.001

2.3 不同预后 AIS 患者病理特征比较 预后不良亚组梗死面积、入院 24 h NIHSS 评分高于预后良好亚组, 血清 ITIH4、MCL-1 水平及出院 3 个月 MMSE 评分、MoCA 评分低于预后良好亚组, 差异具有统计学意义( $P$  均  $< 0.01$ ) 见表 2。

2.4 血清 ITIH4、MCL-1 与病情程度及预后的相关性 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 与梗死面积、入院 24 h NIHSS 评分呈负相关, 与出院 3 个月的 MMSE 评分、MoCA 评分呈正相关( $P$  均  $< 0.01$ ) 见表 3。

表 3 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 与病情程度的相关性

Tab. 3 Correlation between serum ITIH4, MCL-1 and severity of AIS patients

参数	ITIH4		MCL-1	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
梗死面积	-0.705	<0.001	-0.761	<0.001
入院 24 h NIHSS 评分	-0.685	<0.001	-0.619	<0.001
出院 3 个月 MMSE 评分	0.656	<0.001	0.751	<0.001
出院 3 个月 MoCA 评分	0.632	<0.001	0.789	<0.001

### 2.5 影响 AIS 患者预后的多因素 Logistic 回归分析

以 AIS 患者预后为因变量(预后不良 = 1, 预后良好 = 0), 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, 出院 3 个月 MMSE 评分高、出院 3 个月 MoCA 评分高是影响 AIS 患者预后不良的独立保护因素, 血清 ITIH4 低、MCL-1 低、梗死面积大、入院 24 h NIHSS 评分高是危险因素 ( $P$  均  $< 0.01$ ) , 见表 4。

2.6 血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后的价值 绘制血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后价值的预测效能 ROC 曲线, 并计算曲线下面积(AUC) 结果显示: 血清 ITIH4、MCL-1 及两项联合预测 AIS 预后不良的 AUC 分别为 0.811、0.835、0.923, 两项联合预测 AIS 预后不良的 AUC 大于单一指标, 差异有统计学意义 ( $Z = 4.258、4.119$   $P$  均  $< 0.001$ ) , 见表 5 图 1。

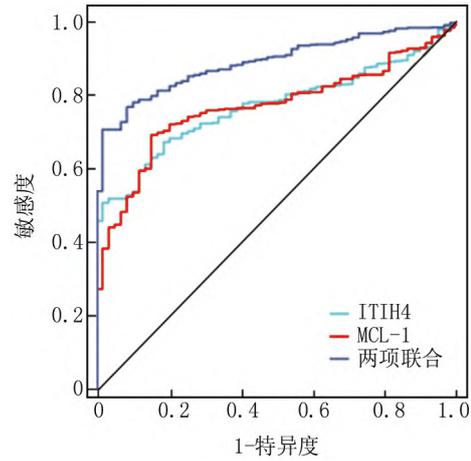


图 1 血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后不良的 ROC 曲线分析  
Fig. 1 ROC curve analysis of serum ITIH4 and MCL-1 in predicting poor prognosis of AIS

表 5 血清 ITIH4、MCL-1 预测 AIS 预后不良的价值

Tab. 5 Value of serum ITIH4 and MCL-1 in predicting poor prognosis of AIS

指标	截断值	AUC(95% CI)	敏感度	特异度	约登指数
ITIH4	$< 7.37 \mu\text{g/L}$	0.811 (0.781 ~ 0.866)	0.681	0.815	0.496
MCL-1	$< 4.25 \mu\text{g/L}$	0.835 (0.794 ~ 0.870)	0.702	0.850	0.552
两项联合		0.923 (0.872 ~ 0.955)	0.823	0.790	0.613

### 3 讨论

脑卒中是危害我国居民健康的重大公共卫生问

题, 中国脑卒中病死率为 149.49/10 万, 占居民总死亡率的 22.3% [12]。AIS 是脑卒中最常见的类型, 病理表现为脑血栓形成或脑血管闭塞后局部缺血缺氧, 引起脑细胞能量代谢障碍、钙超载及氧化应激等的发生, 导致脑细胞的死亡, 是中老年人致死致残的主要原因之一。深入研究 AIS 疾病机制, 寻找能有效评估 AIS 预后的血清标志物, 对于 AIS 的早诊断、早治疗具有较大临床意义。

ITIH4 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族成员, 其作

表 2 不同预后 AIS 患者病理特征比较

Tab. 2 Comparison of pathological characteristics in AIS patients with different prognoses

项目	预后良好亚组 (n=98)	预后不良亚组 (n=30)	$\chi^2/t$ 值	P 值
梗死面积 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{m}^2$ )	$3.06 \pm 1.12$	$5.39 \pm 1.28$	9.637	$< 0.001$
梗死部位 [例 (%)]			0.224	0.894
	皮质	12(40.00)		
	皮质下	10(33.33)		
	脑干/小脑	8(26.67)		
入院 24 h NIHSS 评分 ( $\bar{x} \pm s$ , 分)	$13.06 \pm 3.42$	$20.47 \pm 4.30$	9.752	$< 0.001$
出院 3 个月 MMSE 评分 ( $\bar{x} \pm s$ , 分)	$26.17 \pm 4.06$	$14.69 \pm 3.90$	13.674	$< 0.001$
出院 3 个月 MoCA 评分 ( $\bar{x} \pm s$ , 分)	$21.36 \pm 2.55$	$15.50 \pm 2.78$	10.782	$< 0.001$
ITIH4 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$ )	$30.01 \pm 4.96$	$5.09 \pm 2.12$	26.723	$< 0.001$
MCL-1 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$ )	$7.95 \pm 1.69$	$4.02 \pm 1.30$	11.709	$< 0.001$

表 4 影响 AIS 患者预后的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 4 Multivariate Logistic regression analysis affecting the prognosis of AIS patients

因素	$\beta$ 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
ITIH4 低	0.383	0.124	9.540	$< 0.001$	1.467	1.150 ~ 1.870
MCL-1 低	0.347	0.131	7.016	$< 0.001$	1.415	1.094 ~ 1.829
梗死面积大	0.473	0.162	8.525	$< 0.001$	1.605	1.168 ~ 2.205
入院 24 h NIHSS 评分高	0.568	0.183	9.634	$< 0.001$	1.765	1.233 ~ 2.526
出院 3 个月 MMSE 评分高	-0.475	0.170	7.807	$< 0.001$	0.622	0.446 ~ 0.868
出院 3 个月 MoCA 评分高	-0.501	0.179	7.834	$< 0.001$	0.606	0.427 ~ 0.861

为肝源性血清糖蛋白,参与透明质酸代谢、细胞外基质代谢的调节过程,与恶性肿瘤、炎性反应及心血管疾病关系密切<sup>[13]</sup>。近年来发现,血清 ITIH4 能够改善脑组织 AIS 急性期炎性反应,与 AIS 患者神经功能康复有关,是潜在的反映 AIS 患者预后的血清生物标志物<sup>[14]</sup>。本研究中,AIS 患者血清 ITIH4 水平降低,并与患者病情程度有关,提示 ITIH4 的降低参与促进 AIS 疾病过程,与既往血清利用蛋白质谱的研究结果一致<sup>[15]</sup>。分析其原因,ITIH4 作为一种抗炎因子,在心脑血管疾病中发挥保护作用。研究表明,ITIH4 作为一种糖蛋白和蛋白酶抑制剂,通过抑制基质金属蛋白酶和促炎细胞因子介导的纤维化稳定细胞外基质,能够抑制动脉粥样硬化的发生,改善冠状动脉血管狭窄程度,降低冠心病患者主要不良心血管事件的发生风险<sup>[5,16]</sup>。AIS 患者血清 ITIH4 降低增加肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白介素 6 等促炎细胞因子的分泌,加重 AIS 患者病变组织炎性反应程度,导致 AIS 患者病情加重。本研究中,AIS 患者血清 ITIH4 与 MMSE 评分、MoCA 评分呈正相关,提示 ITIH4 的降低加重 AIS 患者认知功能障碍。分析其原因,ITIH4 的降低促进 AIS 后神经元死亡,加重 AIS 患者认知功能障碍。有学者证实,ITIH4 能够抑制白介素 6、白介素 8 及白介素 17A 等促炎细胞因子的产生,抑制 AIS 中过量补体活化,并与细胞外组蛋白形成 ITIH4 组蛋白复合物,阻断胶质细胞中补体激活受体 C5aR1,减轻对海马神经元的细胞毒性,而小鼠大脑中动脉阻塞后 6 h 给予静脉注射 ITIH4,能显著改善 AIS 模型小鼠神经功能损伤的严重程度和认知功能<sup>[17]</sup>。本研究中,血清 ITIH4 低是影响 AIS 患者预后不良的独立危险因素,提示检测血清 ITIH4 水平有助于评估 AIS 患者预后。笔者分析,ITIH4 能够抑制中性粒细胞活化,维持中性粒细胞形态,抑制活性氧释放及中性粒细胞与血脑屏障中血管内皮细胞的黏附,发挥保护缺血脑组织的效应<sup>[17]</sup>。而 AIS 发生时,ITIH4 的降低会导致大量促炎细胞因子的产生以及过量的补体激活,引起外周炎性细胞,如中性粒细胞、单核巨噬细胞等募集到脑组织损伤部位,加重缺血脑组织炎性反应,特别是缺血半影区的炎性反应,加重神经元损伤程度,导致 AIS 患者不良预后<sup>[18]</sup>。

MCL-1 编码基因定位于人类染色体 1q21,其作为 Bcl-2 家族成员,能够下调促凋亡蛋白 BH-3 域蛋白,具有重要的抗凋亡生物学效应,与肿瘤、DNA 损伤修复及缺血再灌注损伤等病理生理学过程关系密切。本研究中,AIS 患者血清 MCL-1 水平降低与患者病情程度有关,提示 MCL-1 的降低参与促进 AIS 疾病进展。

AIS 中 MCL-1 的表达受 miR-106b-5p 的表达调控。有学者通过双荧光素酶实验证实 MCL-1 是 miR-106b-5p 的直接下游靶基因,在大脑中动脉闭塞的缺血性脑卒中大鼠模型中,脑组织中 miR-106b-5p 表达显著升高,miR-106b-5p 降低 MCL-1 和 B 细胞淋巴瘤-2 的表达,抑制超氧化物歧化酶的活性,促进神经元的氧化应激损伤及细胞凋亡,加重神经功能缺损的程度<sup>[19]</sup>。本研究中,AIS 患者血清 MCL-1 与 MMSE 评分、MoCA 评分呈正相关,提示 MCL-1 的降低加重 AIS 患者认知功能障碍。分析其原因,海马区在学习、认知和记忆贮存中均发挥重要的功能,MCL-1 能够通过减轻 AIS 中海马区神经元损伤,发挥神经保护效应<sup>[20-21]</sup>。研究表明,缺血性脑卒中动物模型中,缺血脑组织及血清中 MCL-1 的表达显著降低,海马 CA1 锥体神经元的存活率显著降低,大鼠出现明显的焦虑样行为和认知障碍,应用葛根素或磷脂酰肌醇 3 激酶抑制剂 LY294002 治疗后,磷脂酰肌醇 3 激酶/Akt1/糖原合成酶激酶-3 $\beta$  信号通路激活,MCL-1 表达上调,减轻海马神经元缺血再灌注损伤及认知功能障碍<sup>[22]</sup>。本研究中,血清 MCL-1 低是影响 AIS 患者预后不良的独立危险因素,提示检测血清 MCL-1 水平有助于评估 AIS 患者预后。分析其原因,MCL-1 的表达降低能够抑制 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白途径,增加基质金属蛋白酶 9 的产生,促进 SH-SY5Y 神经元的凋亡和炎性反应,促进脑组织水肿及神经功能缺损的程度<sup>[23]</sup>。本研究中,血清 ITIH4、MCL-1 联合预测 AIS 预后不良的诊断效能较高,表明血清 ITIH4、MCL-1 联合能够有效评估 AIS 患者的预后,临床医生可参考血清 ITIH4、MCL-1 水平,对 AIS 患者出院后 3 个月神经功能缺损情况进行预测,对于预后不良的高危患者,临床上给予积极有效的干预治疗及随访,尽可能改善患者的预后,降低致残和致死率。

综上所述,AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 水平降低,且 AIS 病情越重,血清 ITIH4、MCL-1 水平降低更为明显。血清 ITIH4、MCL-1 水平是影响 AIS 患者预后的独立因素,ITIH4、MCL-1 联合对 AIS 患者的预后具有较高的预测价值,可能为 AIS 的分层管理和预测预后提供参考。本研究也存在一定的局限,其一是患者入院时的 NIHSS 评分以及随访过程中对患者的 mRS 评分可能存在一定的评分误差。其二是入组病例数偏少且仅为单中心研究,存在一定的纳入偏倚。后续的研究中将通过增加样本量、开展多中心研究来纠正纳入偏倚,以进一步研究 AIS 患者血清 ITIH4、MCL-1 的临床意义。

利益冲突:所有作者均声明无利益冲突

## 作者贡献声明

席俊男: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写; 冯松松: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 薛惠元: 资料搜集整理; 腾东: 进行统计学分析; 陈丽薇: 课题设计, 论文修改

## 参考文献

- [1] 王陇德, 吉训明, 康德智, 等. 《中国卒中中心报告 2020》概要 [J]. 中国脑血管病杂志, 2021, 18(11): 737-743. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5921.2021.11.001.
- [2] 刘源, 刘星, 禹红, 等. 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 [J]. 疑难病杂志, 2023, 22(9): 902-908. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.09.002.
- [3] Naryzhny S, Ronzhina N, Zorina E, et al. Construction of 2DE patterns of plasma proteins: Aspect of potential tumor markers [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(19): 1111-1123. DOI: 10.3390/ijms231911113.
- [4] Osada A, Matsumoto I, Mikami N, et al. Citrullinated inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4 in arthritic joints and its potential effect in the neutrophil migration [J]. Clin Exp Immunol, 2021, 203(3): 385-399. DOI: 10.1111/cei.13556.
- [5] Ravindran A, Holappa L, Niskanen H, et al. Translatome profiling reveals ITIH4 as a novel smooth muscle cell-specific gene in atherosclerosis [J]. Cardiovasc Res, 2024, 2(8): 264-272. DOI: 10.1093/cvr/cvae028.
- [6] Dunham D, Viswanathan P, Gill J, et al. Expression ratios of the anti-apoptotic BCL2 family members dictate the selective addiction of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-transformed primary effusion lymphoma cell lines to MCL1 [J]. J Virol, 2022, 96(23): e136022. DOI: 10.1128/jvi.01360-22.
- [7] Neag MA, Mitre AO, Burlacu CC, et al. miRNA involvement in cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Front Neurosci, 2022, 10(16): 9013-9026. DOI: 10.3389/fnins.2022.901360.
- [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, 中华医学会神经病学分会神经血管介入协作组. 中国急性缺血性脑卒中早期血管内介入诊疗指南 2018 [J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 683-691. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.09.005.
- [9] Kwah LK, Diong J. National institutes of health stroke scale (NIH-SS) [J]. J Physiother, 2014, 60(1): 61. DOI: 10.1016/j.jphys.2013.12.012.
- [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.
- [11] 张磊, 刘建民. 改良 Rankin 量表 [J]. 中华神经外科杂志, 2012, 28(5): 512.
- [12] 王陇德, 刘建民, 杨弋, 等. 我国脑卒中防治仍面临巨大挑战——《中国脑卒中防治报告 2018》概要 [J]. 中国循环杂志, 2019, 34(2): 105-119. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2019.02.001.
- [13] Sun Y, Jin J, Jing H, et al. ITIH4 is a novel serum biomarker for early gastric cancer diagnosis [J]. Clin Chim Acta, 2021, 523: 365-373. DOI: 10.1016/j.cca.2021.10.022.
- [14] Plubell DL, Fenton AM, Rosario S, et al. High-density lipoprotein carries markers that track with recovery from stroke [J]. Circ Res, 2020, 127(10): 1274-1287. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.120.316526.
- [15] Zhang J, Hu J, Zhao W. Longitudinal change of serum inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain h4 and its relation with inflammation, disease recurrence, and mortality in acute ischemic stroke patients [J]. Tohoku J Exp Med, 2023, 259(3): 221-227. DOI: 10.1620/tjem.2022.J116.
- [16] Huo Y, Lai Y, Feng Q, et al. Serum ITIH4 in coronary heart disease: A potential anti-inflammatory biomarker related to stenosis degree and risk of major adverse cardiovascular events [J]. Biomark Med, 2022, 16(18): 1279-1288. DOI: 10.2217/bmm-2022-0673.
- [17] McCullough LD, Royoreilly M, Lai YJ, et al. Exogenous inter-alpha inhibitor proteins prevent cell death and improve ischemic stroke outcomes in mice [J]. J Clin Invest, 2021, 131(17). DOI: 10.1172/JCI144898.
- [18] Pihl R, Jensen RK, Poulsen EC, et al. ITIH4 acts as a protease inhibitor by a novel inhibitory mechanism [J]. Sci Adv, 2021, 7(2): 7381-7396. DOI: 10.1126/sciadv.aba7381.
- [19] Li P, Shen M, Gao F, et al. An Antagomir to MicroRNA-106b-5p ameliorates cerebral ischemia and reperfusion injury in rats via inhibiting apoptosis and oxidative stress [J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(4): 2901-2921. DOI: 10.1007/s12035-016-9842-1.
- [20] 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.
- [21] 刘欣, 吉智, 李毓新, 等. 缺血性脑卒中后认知功能障碍患者血清 miR-132、miR-135 表达与认知功能的关系及其预测价值 [J]. 疑难病杂志, 2020, 19(9): 869-873, 879. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.09.002.
- [22] Zhang Q, Yao M, Qi J, et al. Puerarin inhibited oxidative stress and alleviated cerebral ischemia-reperfusion injury through PI3K/Akt/Nrf2 signaling pathway [J]. Front Pharmacol, 2023, 22(14): 1134-1139. DOI: 10.3389/fphar.2023.1134380.
- [23] Pan Q, Li K, Xue L, et al. MiR-641 exacerbates the progression of ischemic stroke through the MCL-1/Wnt/beta-Catenin pathway [J]. Clin Lab, 2022, 68(8): 7754-7768. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2021.210834.

(收稿日期: 2023-10-30)