

# 缺血性脑白质病变与认知功能、 血浆热休克蛋白 70 水平的相关分析

武 倩, 宇 辉, 张子诚, 张 诚, 王为强, 仝德章

**[摘要]** **目的:**探讨不同程度缺血性脑白质病变(WMIL)对认知功能的影响及其与血浆热休克蛋白 70(HSP70)的相关性。**方法:**根据头颅 MRI 检查结果,选取 WMIL 患者 75 例,根据 Fazekas 分级量表评分将 WMIL 患者分为轻度组、中度组和重度组。纳入同期正常对照者 40 名作为对照组。应用蒙特利尔认知功能评估(MoCA)量表对研究对象进行认知功能评估;采用酶联免疫吸附试验测定研究对象血浆 HSP70 水平。**结果:**轻、中、重度 WMIL 患者的 MoCA 总分、视空间与执行功能和延迟回忆评分均明显低于对照组( $P < 0.01$ ),而重度 WMIL 患者的计算力和注意力评分亦均低于对照组( $P < 0.05$ )。WMIL 的 Fazekas 评分与 MoCA 评分呈明显负相关关系( $P < 0.01$ )。轻、中、重度 WMIL 患者的血浆 HSP70 水平均明显高于对照组( $P < 0.01$ )。WMIL 的 Fazekas 评分与血浆 HSP70 水平呈显著正相关关系( $P < 0.01$ )。**结论:**WMIL 程度越重,认知功能损害越严重,血浆 HSP70 水平增高越明显。血浆 HSP70 水平作为评估 WMIL 严重程度的生化指标具有一定的临床意义。

**[关键词]** 缺血性脑白质病变;认知功能;热休克蛋白 70

**[中图分类号]** R 743      **[文献标志码]** A      **DOI:**10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2016.06.015

## Analysis of the correlation between ischemic white matter lesions, and cognitive function and plasma level of heat shock protein 70

WU Qian, YU Hui, ZHANG Zi-cheng, ZHANG Cheng, WANG Wei-qiang, TONG De-zhang

(Department of Neurology, Suzhou Municipal Hospital Affiliated to Anhui Medical University, Suzhou Anhui 234000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of the different extent white matter ischemic lesions (WMIL) on the cognitive function, and correlation of plasma heat shock protein 70 (HSP70) level with WMIL. **Methods:** According to the results of head MRI, 75 patients with WMIL were selected. The patients were divided into the mild group, moderate group and severe group according to the Fazekas rating scale, and 40 cases normal people were set as the control group. The cognitive function were evaluated using the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) scale, and the levels of HSP70 were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay in four groups. **Results:** The scores of total MoCA, visual space, executive function and delayed memory ability in mild, moderate and severe group were significantly lower than those in control group ( $P < 0.01$ ), the scores of attention and calculation in severe group were also lower than those in control group ( $P < 0.05$ ). The score of Fazekas was significantly negative correlation with the score of MoCA ( $P < 0.01$ ). The plasma levels of HSP70 in mild, moderate and severe group were significantly higher than that in control group ( $P < 0.01$ ). The score of Fazekas was significantly positive correlation with the score of HSP70 ( $P < 0.01$ ). **Conclusions:** With the WMIL severity aggravating, the cognitive impairment is more severe, and the plasma HSP70 level is more high. The HSP70 may play certain clinical significance in evaluating the severity of WMIL.

**[Key words]** white matter ischemic lesion; cognitive function; heat-shock protein 70

缺血性脑白质病变 (white matter ischemic Lesions, WMIL) 是脑小血管病的一种重要类型<sup>[1]</sup>。它不仅是血管性认知功能障碍的重要原因之一<sup>[2]</sup>, 而且还具有较高的脑卒中发生风险<sup>[3]</sup>。因此, 早期诊断 WMIL 具有重要的临床意义。热休克蛋白 (heat-shock protein, HSP) 是一组应激蛋白, 在缺血、

炎症等应激下诱导表达, 其中 HSP70 是应激时反应最敏感的一类<sup>[4]</sup>。近年研究<sup>[5-6]</sup>发现, HSP 不仅仅存在于细胞内, 而且还可从细胞内释放到细胞外和循环血液中, 成为细胞外 HSP (extracellular HSP, eHSP), 而 eHSP70 是 eHSP 的主要成分。故本研究将对不同程度 WMIL 患者进行血浆 HSP70 水平检测及认知功能评估, 探讨 WMIL 与血浆 HSP70 水平的相关性, 同时评估 WMIL 患者认知功能状况, 以期 WMIL 的早期识别、治疗评估提供临床指导。

### 1 资料与方法

#### 1.1 研究对象 选择 2014 年 10 月至 2015 年 4 月

[收稿日期] 2015-10-26

[作者单位] 安徽医科大学附属宿州市立医院 神经内科, 安徽 宿州 234000

[作者简介] 武 倩(1985-), 女, 硕士研究生。

[通信作者] 宇 辉, 硕士研究生导师, 副教授, 副主任医师。E-mail: yuhui052365@163.com

在我科住院治疗且经头颅 MRI 检查诊断为 WMIL 的患者 75 例。根据 Fazekas 分级量表(1987)<sup>[7]</sup> 进行评分,将 75 例患者分为轻度组 24 例,Fazekas 评分平均为(2.88 ± 0.74)分;中度组 28 例,Fazekas 评分平均为(6.64 ± 1.10)分;重度组 23 例,Fazekas 评分平均为(10.74 ± 1.14)分。排除标准:由中毒、感染、脱髓鞘、遗传、代谢性疾病等其他非缺血性原因造成的 WMIL;颅内血管狭窄 > 50% 者;有明确原因导致的认知障碍疾病者,如正常颅压脑积水、阿尔茨海默病、帕金森病等;有乙醇依赖及精神活性物质滥用史、脑外伤史、脑卒中者;合并有严重心、肝、肾、造血系统疾病及甲状腺疾病者;近 1 周处于其他疾病急性期,有发热、饮酒、锻炼及应激史者;有抑郁或焦虑症者;严重视、听功能障碍和失语不能配合完成神经心理量表测评者。选择同期我院门诊体检人群中头颅 MRI 检查显示正常(无缺血、梗死和出血)者 40 名作为对照组。

## 1.2 方法

### 1.2.1 一般信息及脑血管病相关危险因素采集

于入院当天详细记录所有研究对象病史资料,包括既往史,年龄、性别、教育年限等一般信息,并完善心电图、颈部血管彩超等相关检查。

1.2.2 神经心理学评估 采用北京版蒙特利尔认知功能评估(Montreal cognitive assessment, MoCA)量表进行认知功能评估,总分 30 分,受教育年限 ≤ 12 年,加 1 分以校正偏差, < 26 分视为认知功能障碍。所有受试者均由 2 名经过培训的神经内科医生按照标准指导语,在安静环境中进行盲法操作。

1.2.3 WMIL 的诊断及评分标准 采用 GE Signa Excite II 型 1.5T 核磁共振仪对受试者行头颅 MRI 检查,包括轴位 T1WI、T2WI、FLAIR 及 DWI 序列扫描。WMIL 诊断标准为皮层下和/或侧脑室旁 3 mm 以外的白质区内对称性、弥漫分布的边界模糊的斑片状损害,在 T1WI 序列呈低信号,T2WI 和 FLAIR 序列呈高信号<sup>[8]</sup>。WMIL 评分标准:脑白质病变根据损害的部位分为脑室周围白质病变(periventricular white matter lesions, PWML)和深部脑白质病变(deep white matter lesions, DWML),应用 Fazekas 分级量表在 FLAIR 成像序列上对 PWML 和 DWML 进行评分,两部分的评分相加获得 WMIL 评分,最高 12 分。PWML 评分:分别对侧脑室前角、侧脑室旁和侧脑室后角进行评分,根据病变程度分为 0~3 分,1 分为点状,小的高信号灶;2 分为帽状,铅笔样薄层;3 分为结节样带,延伸。不同部位评分相

加作为 PWML 的最终评分(0~9 分)。DWML 评分:根据病变最大直径评分,1 分为直径 < 3 mm;2 分为直径 3~10 mm;3 分为直径 > 10 mm。根据 PWML 和 DWML 相加总分分为轻度 WMIL 组:1~4 分;中度 WMIL 组:5~8 分;重度 WMIL 组:9~12 分。所有影像学图像均由影像科和神经内科副主任医师各 1 名进行盲法阅片及评分。

1.2.4 血液标本收集及血浆 HSP70 水平测定 所有受试者于入院第 2 天清晨空腹抽取静脉血 2 mL × 2 试管,一试管用于检测血糖、血脂等生化指标;另一试管肝素抗凝,1 500 r/min 离心 10 min,分离血浆,保存于 -20 °C 冰箱用于血浆 HSP70 检测。血浆 HSP70 采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测,试剂盒购自美国 eBioscience 公司。严格按照说明书操作,通过标准曲线,计算出受试者血浆 HSP70 浓度。

1.3 统计学方法 采用方差分析、*q* 检验、Kruskal-Wallis H 检验及两两比较、 $\chi^2$  检验和直线相关分析。

## 2 结果

2.1 4 组一般资料比较 轻、中、重度 WMIL 组患者和对照组在年龄、性别、受教育年限及高血压、糖尿病、吸烟和血脂异常间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(见表 1)。

2.2 WMIL 组与对照组认知功能评分比较 轻、中、重度 WMIL 患者 MoCA 量表总分及视空间与执行功能、延迟回忆评分均显著低于对照组( $P < 0.01$ );轻度和中度 WMIL 患者命名、注意力、计算力、语言功能和抽象能力评分差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );而重度 WMIL 患者的计算力和注意力评分均低于对照组和轻、中度 WMIL 组( $P < 0.05$ )。与轻度 WMIL 患者比较,中、重度 WMIL 患者的 MoCA 总分及视空间与执行功能、延迟回忆评分均明显减低( $P < 0.01$ );与中度 WMIL 患者比较,重度 WMIL 患者的 MoCA 总分及视空间与执行功能和延迟回忆均显著降低( $P < 0.01$ ),而命名、语言、抽象能力和定向力评分差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(见表 2)。

2.3 4 组血浆 HSP70 水平比较 轻、中、重度 WMIL 患者和对照组的血浆 HSP70 水平分别为(161.25 ± 10.64) pg/mL、(239.54 ± 17.24) pg/mL、(321.24 ± 13.29) pg/mL 和(120.28 ± 10.32) pg/mL,4 组间比较差异具有统计学意义( $F = 1\ 331.25$ ,  $P < 0.01$ ,  $MS_{组内} = 168.81$ )。与对照组比较,WMIL 各亚组血浆 HSP70 水平均明显增高( $P < 0.01$ );

表 1 不同程度 WMIL 组与对照组一般资料比较

分组	n	年龄/岁	男	女	受教育年限/年	高血压	糖尿病	冠心病	吸烟	总胆固醇 (mmol/L)	三酰甘油/ (mmol/L)	LDL/ (mmol/L)
对照组	40	66.80 ± 7.20	22	18	9.50 ± 1.47	18	13	9	13	4.98 ± 0.57	1.50 ± 0.31	2.61 ± 0.62
WMIL												
轻度组	24	66.41 ± 6.31	13	11	9.50 ± 1.93	16	12	8	8	5.09 ± 0.55	1.53 ± 0.36	2.83 ± 0.73
中度组	28	67.46 ± 6.34	16	12	9.50 ± 1.60	19	15	10	10	5.20 ± 0.53	1.52 ± 0.26	2.76 ± 0.55
重度组	23	70.74 ± 4.64	11	12	9.47 ± 1.31	16	13	9	9	5.03 ± 0.41	1.53 ± 0.31	2.81 ± 0.45
F	—	2.36	0.48*	0.48*	0.002	5.79*	4.76*	2.40*	0.52*	1.01	0.07	0.92
P	—	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
MS <sub>组内</sub>	—	40.509	—	—	2.494	—	—	—	—	0.279	0.096	0.359

\* 示  $\chi^2$  值表 2 4 组 MoCA 总分及各子项评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ ; 分)

分组	n	总分	视空间与执行功能	命名	注意力	计算力	语言功能	抽象力	延迟回忆	定向力
对照组	40	27.65 ± 1.41	4.68 ± 0.47	2.95 ± 0.22	2.80 ± 0.41	2.65 ± 0.77	2.60 ± 0.50	1.65 ± 0.48	4.15 ± 0.74	5.33 ± 0.47
WMIL										
轻度组	24	24.29 ± 1.30**	3.46 ± 0.51	2.79 ± 0.41	2.83 ± 0.38	2.42 ± 0.93	2.46 ± 0.59	1.46 ± 0.51	2.88 ± 0.45**	5.17 ± 0.38
中度组	28	22.21 ± 1.79**	2.75 ± 0.59 <sup>△△</sup>	2.82 ± 0.39	2.68 ± 0.48	2.64 ± 2.25	2.25 ± 0.52	1.32 ± 0.48	2.21 ± 0.57 <sup>△△</sup>	5.11 ± 0.32
重度组	23	19.87 ± 1.52 <sup>△△##</sup>	2.04 ± 0.64 <sup>△△##</sup>	2.91 ± 0.29	1.91 ± 0.61 <sup>*△#</sup>	1.61 ± 0.94 <sup>*△#</sup>	2.39 ± 0.66	1.52 ± 0.51	1.43 ± 0.79 <sup>△△##</sup>	5.15 ± 0.34
F	—	148.37	133.87	1.58	20.09	3.45	2.26	2.53	96.13	2.14
P	—	<0.01	<0.01	>0.05	<0.01	<0.05	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05
MS <sub>组内</sub>	—	2.283	0.297	0.106	0.231	1.791	0.309	0.242	0.433	0.157

q 检验:与对照组比较 \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ;与 WMIL 轻度组比较  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ;与 WMIL 中度组比较 # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ 

而 WMIL 各组间差异亦均有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

2.4 WMIL 患者的 Fazekas 评分与认知功能评分、血浆 HSP70 水平的相关分析 相关分析显示,WMIL 患者的 Fazekas 评分与 MoCA 量表总分呈明显负相关关系( $r = -0.884, P < 0.01$ ),与血浆 HSP70 水平呈显著正相关关系( $r = 0.988, P < 0.01$ )。

### 3 讨论

WMIL 是血管性痴呆的主要病因,研究<sup>[9-10]</sup>显示 WMIL 存在认知功能障碍,主要表现为执行功能、近记忆功能、注意力和计算力障碍。与上述研究相似,本研究发现 WMIL 患者的总体认知功能减退,主要表现为视空间与执行功能和延迟回忆减退,并随着 WMIL 损伤程度的加重而明显减退。目前 WMIL 认知障碍的发生机制尚不明确,多数研究<sup>[11-12]</sup>认为系慢性缺血损伤了大脑皮质-皮质之间的神经纤维联系或皮质-皮质下的神经纤维联系,引起大脑相关功能区之间的联络中断,从而导致认知障碍。而 SCHMIDT 等<sup>[13]</sup>研究认为认知功能与脑容积关系密切,与 WMIL 无关。因此,进一步研究可利用脑功能影像分析 WMIL 的认知功能障碍的机制,以更有效

地识别 WMIL 患者,为血管性痴呆的防治提供早期干预可能。

本研究结果显示,WMIL 患者血浆 HSP70 水平较对照组明显增高,且与 WMIL 程度呈显著正相关关系( $P < 0.01$ )。HSP 是一种内源性保护蛋白,在炎症、缺血等应激情况下诱导表达。目前根据相对分子量以及同源程度的差异,HSP 可分为 HSP90、HSP70、小分子 HSP 和泛素 4 个家族,HSP70 在正常细胞水平中较低,而在应激状态下可明显升高,因此 HSP70 为近年关注热点。近年研究<sup>[5]</sup>发现,HSP 不仅存在于细胞内,还可释放到细胞外,进入体液中。DEHBI 等<sup>[14]</sup>通过研究热打击对组织器官损害发现,eHSP70 可以代表组织中 HSP70 作为组织损害的标志。李沙等<sup>[15]</sup>通过观察脑缺血模型发现,模型鼠外周血中的 HSP70 水平与脑组织损伤局部呈现损伤事件相关性的增高表达。因此,检测 eHSP70 水平的变化可以作为组织损伤的标记。

目前,关于血浆 HSP70 水平与 WMIL 的相关性研究较少,本研究发现 WMIL 患者的血浆 HSP70 水平明显增高,且随 WMIL 损伤程度的加重而增高。WMIL 的确切病理机制尚不完全清楚,慢性缺血、炎症及氧化应激所致的血管内皮功能紊乱是 WMIL 病

机假说<sup>[16-17]</sup>。已有研究<sup>[18-20]</sup>表明,HSP70在脑缺血后的脑组织中迅速合成,其表达的强弱与机体的损伤程度相关,HSP70的表达亦被认为是脑组织遭受可逆性缺血损害的生物学标志。eHSP70已被证实具有细胞因子功能<sup>[21]</sup>,它可以通过激活核转录因子- $\kappa$ B以及干扰素调节因子信号通路,分泌白细胞介素-1、白细胞介素-6以及肿瘤坏死因子- $\alpha$ 等促炎因子<sup>[6]</sup>。在慢性炎症时,eHSP70可使炎症因子水平持续过度升高,导致病情恶化<sup>[22]</sup>。而SATIZABAL等<sup>[23]</sup>研究表明,某些炎症性蛋白和细胞因子均可通过导致血管内皮功能障碍参与WMIL过程。因此根据上述研究结果推测HSP70参与WMIL过程的可能机制:(1)慢性缺血导致HSP70表达;(2)在慢性炎症中,血浆HSP70使炎症因子持续表达,参与了引起WMIL的炎性内皮细胞活化过程,从而导致小动脉硬化,而后者则可通过改变血管渗透性、导致血管内血流减少等最终导致WMIL;(3)血浆HSP70作为细胞因子,刺激分泌的炎性因子介导了少突胶质细胞凋亡,加重WMIL的损伤。

总之,我们认为,不同程度WMIL者均存在认知功能减退和血浆HSP70水平增高,并且WMIL损伤程度与认知障碍、血浆HSP70水平明显相关。血浆HSP70可能对WMIL的发生发展存在一定的作用。开展常规认知功能评估将有助于WMIL的早期识别,可为血管性痴呆和脑卒中的早期干预提供一定的临床指导。

#### [参 考 文 献]

- [1] The LADIS Study Group. 2001 - 2011: a decade of the LADIS (Leukoaraiosis And Disability) Study: what have we learned about white matter changes and small-vessel disease [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2011, 32(6): 577.
- [2] WANG S, YUAN J, GUO X, *et al.* Neurochemical correlates of cognitive dysfunction in patients with leukoaraiosis: a proton magnetic resonance spectroscopy study [J]. *Neuro Res*, 2012, 34(10): 989.
- [3] SMITH EE. Leukoaraiosis and Stroke [J]. *Stroke*, 2010, 41(10): S139.
- [4] KIM N, KIM JY, YENARI MA. Anti-inflammatory properties and pharmacological induction of HSP70 after brain injury [J]. *Inflammopharmacology*, 2012, 20(3): 177.
- [5] VAN EDEN W, SPIERING R, BROERE F, *et al.* A case of mistaken identity: HSPs are not DAMPs but DAMPERS [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2012, 17(3): 281.
- [6] DE MAIO A. Extracellular heat shock proteins, cellular export vesicles, and the stress observation system: a form of communication during injury, infection, and cell damage: it is never known how far a controversial finding will go Dedicated to Ferruccio Ritossa [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2011, 16(3): 235.
- [7] FAZEKAS F, CHAWLUK JB, ALAVI A, *et al.* MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging [J]. *AJR*, 1987, 149(2): 351.
- [8] KIM KW, MACFALL JR, PAYNE ME. Classification of white matter lesions on magnetic resonance imaging in elderly persons [J]. *Biol Psychiatry*, 2008, 64(4): 273.
- [9] VERDELHO A, MADUREIRA S, MOLEIRO C, *et al.* White matter changes and diabetes predict cognitive decline in the elderly: the LADIS study [J]. *Neurology*, 2010, 75(2): 160.
- [10] 雷涛, 姚晓新, 王俊明, 等. 脑白质疏松与认知功能障碍关系分析 [J]. *陕西医学杂志*, 2009, 38(3): 314.
- [11] BIESBROEK JM, KUIJF HJ, VAN DER GRAAF Y, *et al.* Association between subcortical vascular lesion location and cognition: a voxel-based and tract-based lesion-symptom mapping study. The SMART-MR study [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e60541.
- [12] AI Q, PU YH, SY C, *et al.* Impact of regional white matter lesions on cognitive function in subcortical vascular cognitive impairment [J]. *Neuro Res*, 2014, 36(5): 434.
- [13] SCHMIDT R, ROPELE S, ENZIGER C, *et al.* White matter lesion progression, brain atrophy and cognitive decline: the Austrian stroke prevention study [J]. *Ann Neurol*, 2005, 58(4): 610.
- [14] DEHBI M, BATURCAM E, ELDALI A, *et al.* Hsp-72, a candidate prognostic indicator of heatstroke [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2010, 15(5): 593.
- [15] 李沙, 黄艳秋, 游红琴, 等. 脑缺血再灌注损伤模型大鼠炎症反应相关信号研究 [J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2012, 19(6): 453.
- [16] CHUNG CP, HU HH. Pathogenesis of leukoaraiosis: role of jugular venous reflux [J]. *Med Hypotheses*, 2010, 75(1): 85.
- [17] GRUETER BE, SCHULZ UG. Age-related cerebral white matter disease (leukoaraiosis): a review [J]. *Postgrad Med J*, 2012, 88(1036): 79.
- [18] MAYER MP. Hsp70 chaperone dynamics and molecular mechanism [J]. *Trends Biochem Sci*, 2013, 38(10): 507.
- [19] GROSS C, HANSCH D, GASTPAR R, *et al.* Interaction of heat shock protein 70 peptide with NK cells involves the NK receptor CD94 [J]. *Biol Chem*, 2003, 384(2): 267.
- [20] 何燕, 金醒昉. 热休克蛋白70在脑梗死发病中作用的研究进展 [J]. *中华老年心脑血管杂志*, 2011, 13(5): 476.
- [21] ASEA A, KRAEFT SK, KURT-JONES EA, *et al.* Hsp 70 stimulates cytokine production through a CD14-dependent pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine [J]. *Nat Med*, 2000, 6(4): 435.
- [22] POCKLEY AG. Heat shock proteins, inflammation, and cardiovascular disease [J]. *Circulation*, 2002, 105(8): 1012.
- [23] SATIZABAL CL, ZHU YC, MAZOYER BR, *et al.* Circulating IL-6 and CRP are associated with MRI findings in the elderly: the 3C-Dijon Study [J]. *Neurology*, 2012, 78(10): 720.