

急性脑梗死患者脑脊液肿瘤坏死因子、白细胞介素6和8的变化

刘楠, 郑安, 叶钦勇, 陈玉玲, 陈荣华

(福建医科大学附属协和医院神经内科, 福建省福州市 350001)

[关键词] 神经病学; 急性脑梗死患者脑脊液细胞因子的变化; 酶联免疫吸附法; 肿瘤坏死因子; 白细胞介素6; 白细胞介素8; 老年人

[摘要] 为探讨脑梗死患者脑脊液中肿瘤坏死因子、白细胞介素6、白细胞介素8水平的动态变化, 采用酶联免疫吸附法分别测定30例脑梗死患者病期<1周与病期>4周以及20例健康老年人的脑脊液中肿瘤坏死因子、白细胞介素6、白细胞介素8水平。结果发现, 脑梗死患者脑脊液肿瘤坏死因子、白细胞介素8水平较正常对照组增高, 病期<1周者脑脊液肿瘤坏死因子、白细胞介素8水平较病期>4周者显著升高; 病期>4周者肿瘤坏死因子、白细胞介素8有明显下降, 但仍高于正常对照组; 病期<1周者脑脊液白细胞介素6水平与病期>4周者相比无明显改变($P>0.05$), 但均高于正常对照组, 而且神经功能缺损程度与脑脊液肿瘤坏死因子、白细胞介素8的含量呈明显正相关关系。结果提示, 脑脊液肿瘤坏死因子、白细胞介素6、白细胞介素8水平的动态监测对脑梗死发生、发展及预后判断具有一定预测价值。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

Change of Tumor Necrosis Factor, Interleukin-6 and 8 in Cerebrospinal Fluid in Patients with Cerebral Infarction

LIU Nan, ZHENG An, YE Qir-Yong, CHEN Yu-Ling, and CHEN Rong-Hua

(Department of Neurology, Union hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China)

[KEY WORDS] Tumor Necrosis Factor; Interleukin-6; Interleukin-8; Elderly Person; Neurological Deficit

[ABSTRACT] **Aim** To study the change of tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) in cerebrospinal fluid (CSF) in patients with cerebral infarction. **Methods** The level of TNF, IL-6, IL-8 in CSF in patients with cerebral infarction in the period<1 week and >4 week and in twenty healthy elderly persons as control were measured by ELISA respectively. **Results** The level of TNF, IL-6, IL-8 in CSF in patients with cerebral infarction was higher than normal control. The degree of raise about TNF, IL-8 in period<1 week was more significant than>4 week. The level of IL-6 had no relation with the stage of disease. And there was a positive correlation between the increasing degree of TNF, IL-8 and the degree of neurological deficits. **Conclusion** The measure of level of TNF, IL-8, IL-6 in CSF could be taken as index of prognosis of cerebral infarction.

近年来研究发现, 脑梗死可激活吞噬细胞释放多种细胞因子如白细胞介素和肿瘤坏死因子等, 介导免疫和炎症反应, 参与继发性脑损害的病理生理过程。本研究观察了30例脑梗死患者病期<1周与病期>4周脑脊液中炎症细胞因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素8(interleukin-8, IL-8)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)含量, 探讨它们的变化与预后的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

急性脑梗死患者30例, 均符合1996年脑血管病诊断标准。其中男性17例, 女性13例, 平均年龄 60 ± 15 岁。所有患者经CT、MRI证实为脑梗死, 于发病病期<1周(1周内)及病期>4周(4~5周)分别行腰穿收集脑脊液检测TNF、IL-6、IL-8含量。同时按1995年全国脑血管病会议制定的《脑卒中患者神经缺损评分标准》^[1]将所有患者分为轻(0~15分)、中(16~30分)、重(31~45分)三型, 具体如下: 病期<1周时, 轻型9例, 中型13例, 重型8例; 病期>4周时, 轻型14例, 中型10例, 重型6例。正常对照组20例, 其中男性12例, 女性8例, 平均年龄 59 ± 16 岁, 均为经体检无神经系统疾病的老年人, 同

[收稿日期] 2002-07-26 [修回日期] 2003-01-17

[基金项目] 福建省教育厅科研基金(JA98105)资助

[作者简介] 刘楠, 男, 1963年出生, 汉族, 硕士研究生导师, 副教授, 副主任医师, 主要从事脑血管疾病及神经免疫性疾病的临床及基础研究。联系电话: 05913357896-8401。郑安, 男, 1939年出生, 汉族, 主任医师, 教授, 主要从事脑血管疾病研究。叶钦勇, 男, 1969年出生, 汉族, 博士, 主治医师, 主要从事脑血管疾病研究。

样行腰穿收集脑脊液,检测 TNF、IL-6、IL-8 含量。所有研究对象均排除以下几种情况:近两周有感染性病史;④伴发恶性肿瘤;⑤伴有免疫性疾病;伴有血液系统疾病;伴有严重的心、肝、肾疾病及糖尿病。

1.2 细胞因子测定

采用双抗体夹心 ELISA 法检测,以 $\mu\text{g/L}$ 表示。TNF 试剂盒购于北京军事医学科学院,TNF 标准品为 Sigma 产品,IL-6 和 IL-8 单克隆抗体和标准品由中国人民解放军第四军医大学免疫学教研室提供。IL-8 试剂盒购于深圳晶美生物工程有限公司。操作严格按试剂盒说明书步骤进行,用提供的标准品按说明稀释成不同浓度,测出比值并绘出标准曲线,待测脑脊液的比值与标准曲线对照,得出 TNF、IL-6 及 IL-8 含量。

1.3 统计学方法

所有数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用单因素方差分析、 q 检验及直线相关分析等方法,以 SPSS10.0 统计软件包进行处理。

2 结果

2.1 脑脊液肿瘤坏死因子、白细胞介素 6 和 8 的水平变化

脑梗死患者脑脊液 TNF、IL-6 及 IL-8 水平较正常对照组显著增高,病期 < 1 周者脑脊液 TNF、IL-8 水平较病期 > 4 周者显著升高;病期 > 4 周者 TNF、IL-8 水平明显下降,但仍高于正常对照组;病期 < 1 周者脑脊液 IL-6 水平与病期 > 4 周相比无明显改变,但均高于正常对照组 ($P < 0.05$; 表 1, Table 1)。

表 1. 脑梗死患者肿瘤坏死因子、白细胞介素 6 和 8 水平变化

Table 1. Change of TNF, IL-6, IL-8 in CSF in patients with cerebral infarction ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/L}$)

分组	例数	肿瘤坏死因子	白细胞介素 6	白细胞介素 8
< 1 周	30	27.7 ± 9.5	18.2 ± 5.0	178.5 ± 76.1
> 4 周	30	22.0 ± 7.3^a	17.5 ± 5.5	100.1 ± 44.2^a
对照组	20	15.8 ± 3.6^{ab}	6.0 ± 1.2^{ab}	52.5 ± 9.8^{ab}

a: $P < 0.05$, 与 < 1 周组比较; b: $P < 0.05$, 与 > 4 周组比较。

2.2 脑脊液肿瘤坏死因子、白细胞介素 8 水平与神经功能缺损程度的相关性

神经功能缺损程度评分后,病期 < 1 周和病期 > 4 周时重型患者脑脊液 TNF、IL-8 水平均明显高于中型患者和轻型患者 ($P < 0.05$),但中型患者与轻

型患者比较无显著差异,而 IL-6 水平在各组之间无明显差异。直线相关分析显示,神经功能缺损程度与脑脊液 TNF 水平呈正相关关系 ($r = 0.67$, $P < 0.05$),与脑脊液 IL-8 水平亦呈正相关关系 ($r = 0.58$, $P < 0.05$),但与 IL-6 无明显相关性 ($r = 0.35$, $P < 0.05$; 表 2, Table 2)。

表 2. 不同神经功能缺损程度的脑梗死患者脑脊液肿瘤坏死因子、白细胞介素 6 和 8 的比较

Table 2. Comparison of level of TNF, IL-6 and IL-8 in CSF among different neurological deficits ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/L}$)

分期	分型	例数	肿瘤坏死因子	白细胞介素 6	白细胞介素 8
< 1 周	轻型	9	24.34 ± 4.26	16.34 ± 5.35	150.65 ± 41.36
	中型	13	26.23 ± 2.34	18.56 ± 4.73	163.34 ± 30.21
	重型	8	33.76 ± 3.15^{ab}	22.25 ± 6.16	248.09 ± 38.72^{ab}
> 4 周	轻型	14	19.16 ± 3.75	14.42 ± 3.68	83.25 ± 28.67
	中型	10	21.35 ± 2.14	16.35 ± 4.58	92.36 ± 21.58
	重型	6	29.91 ± 4.31^{ab}	20.38 ± 5.52	150.72 ± 24.35^{ab}

a: $P < 0.05$, 与轻型组比较; b: $P < 0.05$, 与中型组比较。

3 讨论

肿瘤坏死因子、白细胞介素 6 和 8 均为具有广泛生物学效应的细胞因子。近年来的实验研究表明,它们具有外周血和中枢神经系统的双重来源,既可由血液循环中的巨噬细胞、T 淋巴细胞等免疫细胞激活后产生,也可由神经系统胶质细胞中的星型细胞和小胶质细胞等局部组织细胞受刺激后产生^[2,3]。

任何原因导致的组织应激都伴有 TNF 的生成和释放。脑缺血后,缺血局部的星型胶质细胞,小胶质细胞等组织细胞被激活合成并释放 TNF^[1]。除此之外,局部浸润的炎性细胞也合成分泌 TNF。有研究表明,脑缺血后 TNF 的表达具有神经毒性作用,但并不一定是直接损伤作用,而是通过促进其它组织因子的生成和释放,引起缺血性神经组织损伤^[4],如增强粘附因子表达,激活中性粒细胞和内皮细胞等,改变星型胶质细胞谷氨酸的摄取和代谢等。TNF 还可破坏血脑屏障,增加其通透性,进而造成脑损伤。同样作为缺血后炎症反应的重要介质,IL-8 主要起趋化因子的作用,通过促进中性粒细胞在局部组织聚集介导炎症反应。研究认为,IL-8 的存在位置以及与受体结合状态决定 IL-8 在炎症中的作用^[5]。血管外的 IL-8 通过白细胞表面 IL-8 受体趋化中性粒细胞,而血液中游离的 IL-8 则抑制中性粒细胞粘附游走,结合于内皮细胞表面的 IL-8 同样发

挥促进中性粒细胞粘附、渗出效应。此外, IL-8 还具有活化中性粒细胞 NADPH-氧化酶和磷脂酶 A2 的功能, 前者活性增强引起呼吸爆发, 释放大量的氧自由基, 后者破坏膜结构, 其降解产物的瀑布效应使组织损伤迅速而严重。应用抗 IL-8 单克隆抗体可明显抑制这种作用, 减少脑梗死体积和脑水肿程度^[6]。

在脑血管疾病患者血清细胞因子(TNF 和 IL-8)的变化研究中业已证实, 血清中细胞因子(TNF 和 IL-8)在起病< 1 周时较病期> 4 周时显著升高; 起病> 4 周时仍高于正常对照组^[7]。本研究对 30 例脑梗死患者脑脊液细胞因子水平进行动态观察, 亦发现病期< 1 周者 TNF、IL-8 水平显著升高, 病期> 4 周者脑脊液 TNF、IL-8 水平明显下降, 但仍高于正常对照组, 而且 TNF、IL-8 水平与神经功能缺损程度显著相关。结果提示, 脑脊液中 TNF、IL-8 等细胞因子在脑梗死中具有明显的动态变化, 且这种变化主要与局部组织有关。其可能原因为病期< 1 周时中枢神经系统处于损伤急性期, 星型细胞和小胶质细胞等被迅速激活, 极为迅速的基因转录导致 IL-8、TNF 等细胞因子爆发式释放, 引起脑脊液中 TNF、IL-8 水平增高。TNF、IL-8 直接或通过诱导神经毒性介质的产生, 参与缺血后的延迟炎症反应, 导致脑梗死病灶进一步发展。

白细胞介素 6(IL-6)与 TNF、IL-8 同属介导天然免疫的细胞因子。与 TNF、IL-8 不同, IL-6 和 IL-1 有相似作用(如发热、诱导急性相蛋白合成、激活垂体-肾上腺皮质轴等), 但更为重要的是 IL-6 能抑制 IL-1 的合成, 刺激产生内源性 IL-1 受体拮抗剂, 下调 NMDA 受体活性等。在中枢神经系统内被认为具有神经保护作用^[8]。尽管本文资料显示脑脊液中 IL-6 水平在急性期(病期< 1 周)明显升高, 且与病期> 4 周相比无明显差异, 但与神经功能缺损程度之间无

显著相关性。推测可能有以下原因: ①IL-6 高峰期出现相对较晚; ②IL-6 在脑梗死发生后具有拮抗其它细胞因子的作用; ③IL-6 有类似神经营养因子的作用, 对缺血脑组织有保护作用, 参与脑损伤的修复过程。有实验证明, 脑缺血早期黑质网状结构中 IL-6 高表达区域在缺血后期存活神经元数量增多^[9]。

因此, 脑脊液 TNF、IL-8、IL-6 水平的动态检测对脑梗死的发生、发展及预后具有一定的监测作用。病期< 1 周的脑梗死患者应用 TNF、IL-8 等细胞因子抑制剂及 IL-6 增强剂来改变脑脊液 TNF、IL-8、IL-6 浓度对神经系统损伤是否具有一定的保护作用, 将有待进一步探讨。

[参考文献]

- [1] 全国第四届脑血管病学术会议. 脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准(1995). 中华神经科杂志, 1996, 29: 381-383
- [2] Lin T, Clark RK, McDonnell PC, et al. Tumor necrosis factor expression in ischemia neurosis. *Stroke*, 1994, 25: 1481-484
- [3] Yamasaki Y, Marsuo Y, Matasuura N, et al. Transient increase of cytokine induced neutrophil chemoattractant, a member of the interleukin 8 family, in ischemia brain areas after focal ischemia in rats. *Stroke*, 1995, 26: 318-321
- [4] Yang GY, Schieke GP, Gong C, et al. Expression of tumor necrosis factor- α and intercellular adhesion molecule-1 after cerebral ischemia in interleukin 1 beta converting enzyme deficient mice. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999, 19 (10): 1109-1117
- [5] Allan SM, Parker LC, Collins B, et al. Cortical cell death induced by IL-1 is mediated via actions in the hypothalamus of the rat. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97 (10): 5580-5585
- [6] Mstsumoto T, Ikeda K, Mukaida N, et al. Prevention of cerebral edema and infarct in cerebral reperfusion injury by an antibody to interleukin 8. *Lab Invest*, 1997, 77 (2): 119-125
- [7] 刘楠, 郑安, 叶钦勇, 等. 脑血管疾病患者血清 TNF、IL-8 的变化及临床意义. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 1998, 5 (4): 220-222
- [8] All C, Nicole O, Docagne F, et al. Ischemia induced interleukin 6 as a potential endogenous neuroprotective cytokine against NMDA receptor-mediated excitotoxicity in the brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2000, 20 (6): 956-966
- [9] Dihne M, Block F. Focal ischemia induces transient expression of IL-6 in the substantia nigra pars reticulata. *Brain Res*, 2001, 889 (12): 165-173

(此文编辑 文玉珊)

•读者•作者•编者•

2002 年本刊编辑部特邀审稿专家

白小涓 教授, 中国医科大学附属第一医院
洪嘉玲 教授, 武汉大学医学院
匡希斌 教授, 南华大学附属第二医院
李健斋 教授, 卫生部北京医院
刘国庆 教授, 北京大学医学部
刘祖国 教授, 中山大学中山眼科中心
吕传真 教授, 复旦大学华山医院

罗敏 教授, 上海第二医科大学瑞金医院
屈伸 教授, 华中科技大学同济医学院
孙培吾 教授, 中山大学中山医院
王贵学 教授, 重庆大学生物工程学院
许顶立 教授, 第一军医大学南方医院
张梅 教授, 山东大学齐鲁医院
郑宏 教授, 中国协和医科大学阜外心血管病医院