

[文章编号] 1007-3949(2005)13-06-0757-03

•临床研究•

## 脑梗死合并肺部感染后血浆血栓调节蛋白 与肿瘤坏死因子 $\alpha$ 的相关性

冯涛<sup>1</sup>, 王拥军<sup>1</sup>, 戚晓昆<sup>2</sup>

(1. 北京天坛医院神经内科, 北京市 100050; 2. 中国人民解放军海军总医院神经内科, 北京市 100037)

[关键词] 内科学; 血栓调节蛋白; 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; 脑梗死; 医院内获得性肺炎; 酶联免疫吸附法; 放射免疫法

[摘要] 目的 观察脑梗死合并医院内获得性肺炎患者血栓调节蛋白含量的变化及其与血浆肿瘤坏死因子的相关性, 探讨脑梗死合并医院内获得性肺炎对脑梗死后内皮细胞损伤和凝血机制的影响。方法 初发脑梗死患者分为单纯脑梗死组和脑梗死合并医院内获得性肺炎组, 设立健康对照组。脑梗死发病后第 1、3、5、7、14 和 21 天分别采血。采用酶联免疫吸附法检测血栓调节蛋白水平, 采用放射免疫法检测肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平。结果 脑梗死合并医院内获得性肺炎后第 7 和 14 天血栓调节蛋白与单纯梗死组相比下降 ( $P < 0.05$ ), 21 天与单纯梗死组比较无统计学差异但仍高于健康对照组。单纯脑梗死组与脑梗死合并医院内获得性肺炎组肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平第 1 天无统计学差异, 两组均高于健康对照组。脑梗死合并医院内获得性肺炎发生第 7 和 14 天肿瘤坏死因子 $\alpha$ 明显增高, 高于单纯脑梗死组 ( $P < 0.05$ ); 21 天虽然医院内获得性肺炎已控制肿瘤坏死因子 $\alpha$ 仍高于单纯梗死组 ( $P < 0.05$ )。脑梗死合并医院内获得性肺炎组血栓调节蛋白与肿瘤坏死因子 $\alpha$ 有相关性。随着肿瘤坏死因子 $\alpha$ 增高, 血栓调节蛋白有下降趋势, 两者相关关系以 Gompertz 曲线拟合满意, 在高浓度肿瘤坏死因子 $\alpha$ 时血栓调节蛋白降低较快, 而低浓度肿瘤坏死因子 $\alpha$ 时血栓调节蛋白降低较慢。结论 脑梗死合并医院内获得性肺炎后血浆肿瘤坏死因子 $\alpha$ 增高, 可能导致脑血管内皮细胞的损伤和抗凝机制的抑制, 表现为血栓调节蛋白的下调, 这可能是获得性肺炎加重缺血性脑损伤的机制之一。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## The Relationship between Serum Thrombomodulin and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ in Acute Cerebral Infarct with HAP

FENG Tao, WANG Yong-Jun, and QI Xiao-Kun

(The Department of Neurology, Beijing Tiantan Hospital, Beijing 100050, China)

[KEY WORDS] Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ; Thrombomodulin; Cerebral Infarct; Hospital Acquired Pneumonia; Enzyme Linked Immunosorbent Assay

[ABSTRACT] **Aim** To observe the change of thrombomodulin and its relationship with tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in acute cerebral infarct with hospital acquired pneumonia (HAP). **Methods** The patients with acute cerebral infarct were divided into pure infarct group ( $n = 24$ ), and acute infarct with HAP group ( $n = 16$ ), compared with normal control group ( $n = 13$ ). The serum samples were obtained from 1 d to 21 d after infarct. The serum level of thrombomodulin and TNF- $\alpha$  were examined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method and radioimmunoassay respectively. **Results** The serum levels of thrombomodulin of acute infarct with HAP group were significantly lower than those of pure infarct group in the first week and 14 d after infarct ( $P < 0.05$ ), with similar result at 21 d. The serum levels of TNF- $\alpha$  of acute infarct with HAP group were significantly higher than those of pure infarct group from the first week to 21 d after infarct ( $P < 0.05$ ), although HAP had been prohibited in 21 d. In the group of acute infarct with HAP the serum levels of thrombomodulin were related inversely with that of TNF- $\alpha$ . The relationship between thrombomodulin and TNF- $\alpha$  compromised with Gompertz curve. **Conclusions** It's possible that the increase of serum TNF- $\alpha$  in acute infarct with HAP may injury the endotheliocyte of brain vessel and prohibited the anticoagulative system, presenting with downregulation of the level of serum thrombomodulin.

[收稿日期] 2004-01-02 [修回日期] 2005-11-01

[基金项目] 国家自然科学基金(30470645)资助

[作者简介] 冯涛, 博士, 副主任医师, 研究方向为脑血管病和神经系统退行性疾病, 联系电话为 010-67096585, E-mail 为 happyft@sina.com。王拥军, 博士后, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为脑血管病和神经系统疑难疾病。戚晓昆, 博士, 主任医师, 研究方向为神经免疫疾病。

感染/炎症过程与缺血性脑血管病有密切关系, 可能是加重缺血性脑损伤的重要因素之一, 但机制尚不明确<sup>[1]</sup>。一些基础研究显示炎性细胞因子参与凝血系统的调节<sup>[2]</sup>。医院内获得性肺炎(hospital acquired pneumonia, HAP)是脑梗死患者容易并发的感染。本研究以脑梗死合并医院内获得性肺炎的患者

为主要研究对象,观察其血浆血栓调节蛋白(thrombomodulin)含量的变化及其与肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的相关性,探讨脑梗死合并医院内获得性肺炎对脑梗死后内皮细胞损伤和凝血机制的影响。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

2000年10月到2002年7月收治入院的初发脑梗死患者40例,其中男21例,女19例,平均66岁(44~76岁),采用前瞻性研究,将其分为单纯梗死组24例和脑梗死合并医院内获得性肺炎组16例(简称合并感染组)。所有入选病例符合第4届全国脑血管病学术会议修订的诊断标准,并经头CT或MRI证实,均无下列情况:入院时已有感染、合并风湿性疾病、肝肾疾病、DIC、血液系统疾病、心肌梗死和肿瘤等等。合并感染组除符合上述条件外,还符合1998年中华医学会制定的《医院获得性肺炎诊断标准和治疗指南》诊断标准:入院48h后发病,胸部X线检查显示片状、斑片状浸润性阴影和间质性改变,伴或不伴胸腔积液;伴有下列1条以上:新近出现咳嗽、咳痰,或原有呼吸道疾病症状加重并出现脓性痰,伴或不伴胸痛、发热、肺实变体征和/或湿性罗音;白细胞大于 $10 \times 10^9/L$ 或小于 $4 \times 10^9/L$ ,伴或不伴核左移。并且只包括在发病2周内感染基本控制的病例。另设立健康对照组13例。

单纯梗死组、梗死合并感染组以及健康对照组3组的平均年龄、性别比例经方差分析和 $\chi^2$ 检验差异无显著性( $P > 0.05$ )。前两组脑梗死范围经 $t$ 检验无统计学差异( $P > 0.05$ )。

### 1.2 检测方法

脑梗死发病后第1天、3天、5天、7天、14天和21天分别采血。

采用酶联免疫吸附法检测血栓调节蛋白水平。空腹静脉血1.8 mL,用0.109 mmol/L枸橼酸钠1:9抗凝,置专用离心管离心10 min(2 000 r/min),血浆在 $-20^\circ\text{C}$ 保存待测。试剂为法国STAGO公司生产,上海贝特生物技术公司提供,按试剂盒说明书操作。

采用放射免疫法检测肿瘤坏死因子 $\alpha$ 。空腹静脉血3 mL,离心留取血清置于 $-20^\circ\text{C}$ 冰箱保存待用。试剂盒由北京东亚免疫技术研究所提供,操作按说明书进行。

### 1.3 统计学处理

第3、5和7天平均值为第7天数,1天、7天、

14天和21天的血栓调节蛋白、TNF- $\alpha$ 水平以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用STATA统计软件,组间比较用 $t$ 检验;感染前后比较用配对 $t$ 检验;血栓调节蛋白和肿瘤坏死因子相关关系用STATA统计软件进行曲线拟合分析。

## 2 结果

### 2.1 各组血栓调节蛋白水平的比较

脑梗死急性期血栓调节蛋白较对照组明显增高( $P < 0.05$ );脑梗死4周后血栓调节蛋白含量有一定程度下降,但仍高于正常对照组水平( $P < 0.05$ )。脑梗死合并医院内获得性肺炎后第7天和14天,血栓调节蛋白与单纯梗死组相比下降( $P < 0.05$ ),21天时与单纯梗死组无统计学差异但仍高于健康对照组(表1, Table 1)。

表1. 各组血栓调节蛋白水平的比较 ( $\mu\text{g/L}$ )

Table 1. Comparison of serum thrombomodulin levels in three groups

分 组	<i>n</i>	第1天	第7天	第14天	第21天
健康对照组	13	19.2 $\pm$ 6.5	—	—	—
单纯梗死组	24	53.2 $\pm$ 9.0 <sup>a</sup>	52.2 $\pm$ 9.0	41.6 $\pm$ 6.8	32.7 $\pm$ 7.2
合并感染组	16	52.5 $\pm$ 10.2 <sup>a</sup>	24.8 $\pm$ 4.0 <sup>b</sup>	26.1 $\pm$ 5.3 <sup>b</sup>	32.5 $\pm$ 4.9

a:  $P < 0.05$ , 与健康对照组比较; b:  $P < 0.05$ , 与单纯梗死组比较。

### 2.2 各组肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平的比较

单纯脑梗死组与脑梗死合并感染组第1天TNF- $\alpha$ 水平无统计学差异,两组均高于健康对照组。脑梗死发生感染第7天和14天TNF- $\alpha$ 明显增高,高于单纯脑梗死组( $P < 0.05$ );21天时虽然感染已控制,TNF- $\alpha$ 也低于本组第7天和14天水平( $P < 0.05$ ),但仍高于单纯梗死组( $P < 0.05$ ) (表2, Table 2)。

表2. 各组肿瘤坏死因子 $\alpha$ 水平的比较 ( $\mu\text{g/L}$ )

Table 2. Comparison of tumor necrosis factor- $\alpha$  levels in three groups

分 组	<i>n</i>	第1天	第7天	第14天	第21天
健康对照组	13	1.5 $\pm$ 0.4	—	—	—
单纯梗死组	24	5.5 $\pm$ 0.3	4.7 $\pm$ 0.5	3.3 $\pm$ 0.3	2.6 $\pm$ 0.3
合并感染组	16	5.3 $\pm$ 0.5	7.6 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	6.7 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	4.2 $\pm$ 0.6 <sup>ab</sup>

a:  $P < 0.05$ , 与单纯梗死组比较; b:  $P < 0.05$ , 与组内第7天和第14天比较。

### 2.3 血栓调节蛋白与肿瘤坏死因子 $\alpha$ 的相关性

脑梗死合并感染组随着TNF- $\alpha$ 增高,血栓调节蛋白有下降趋势,但两者无直线相关关系;而以

Gompertz 曲线拟合满意, 在高浓度 TNF- $\alpha$  时血栓调节蛋白降低较快, 而低浓度 TNF- $\alpha$  时血栓调节蛋白降低较慢。

### 3 讨论

在缺血性脑血管病发病机制中血管内皮细胞的损伤和破坏是导致血栓形成、缺血再灌注损伤的主要因素之一。感染/炎症过程中产生的炎症介质、细胞因子对血管内皮细胞以及凝血机制产生影响。脑梗死患者有白细胞聚集和浸润的病理现象, 这种继发于脑缺血的炎症过程对损伤程度有影响<sup>[1]</sup>。相对于脑梗死灶内产生 TNF- $\alpha$ , 肺部或其他脏器感染/炎症过程所产生的细胞因子也可以经过血液循环, 加重脑部血管内皮细胞的损伤, 这可能是获得性肺炎加重缺血性脑损伤的机制之一。

血栓调节蛋白和内皮细胞蛋白 C 受体系统在控制血栓形成方面有重要作用。人体内血栓调节蛋白由血管内皮细胞合成, 正常情况下存在于血管内皮细胞膜表面, 是凝血酶的受体。血栓调节蛋白与凝血酶结合后激活蛋白 C 形成凝血酶-血栓调节蛋白-蛋白 C 复合物, 此复合物在抗凝系统中起重要作用。当血管内皮细胞损伤后, 血栓调节蛋白便从细胞膜中释放出来, 起代偿性抗凝作用<sup>[3]</sup>。

本研究发现脑梗死急性期血栓调节蛋白即明显增高, 高于健康对照组 ( $P < 0.05$ ); 脑梗死 3 周后血栓调节蛋白含量有一定程度下降, 但仍高于正常对照组水平 ( $P < 0.05$ )。脑梗死合并医院内获得性肺炎后血栓调节蛋白水平比感染前降低, 并持续保持在较低水平; 脑梗死合并医院内获得性肺炎后第 1 周、14 天血栓调节蛋白与对照组相比下降 ( $P < 0.05$ )。脑梗死合并感染组血栓调节蛋白与 TNF- $\alpha$  有相关性, 随着 TNF- $\alpha$  增高, 血栓调节蛋白有下降趋势; 两者虽无直线相关关系, 而以 Gompertz 曲线拟合满意, 在高浓度 TNF- $\alpha$  时血栓调节蛋白降低较快, 而低浓度 TNF- $\alpha$  时血栓调节蛋白降低较慢。脑梗死合并感染后血栓调节蛋白含量的减少与血浆肿瘤坏死因子的增高呈负相关。说明脑梗死合并医院内获得性肺炎后, 血栓调节蛋白的代偿性增高受到一定程度的抑制, 加重了血栓形成亢进的趋势, 可能导致脑缺血性损害的加重。

血栓调节蛋白有 2 种形式, 一是存在于内皮细胞, 二是以可溶性形式存在于血浆和尿中。血栓调节蛋白与凝血酶具有高亲和力, 在内皮细胞表面以 1 比 1 或者 1 比 2 形成复合物, 主要作用为: 促进

凝血酶活化蛋白 C, 此效率增加 1 000 倍, 活化的蛋白 C 使凝血因子 Ⅲa 及 Ⅲb 失活; ④促进抗凝血酶 Ⅲ灭活凝血酶; ⑤体外实验中发现血栓调节蛋白有抑制纤溶的作用; ⑥与因子 Ⅲa 结合抑制其对凝血酶原的活化作用等<sup>[4]</sup>。许多因素可以调节血栓调节蛋白, TNF 可以衰减血栓调节蛋白的活性。<sup>[12]</sup>

肿瘤坏死因子  $\alpha$  主要是由激活的单核/巨噬细胞分泌产生的细胞因子, 在凝血和血管内皮细胞的损伤中起重要作用<sup>[5]</sup>。TNF- $\alpha$  可影响血管内皮活性并对血管炎症过程起调节作用<sup>[6]</sup>。急性脑梗死患者血浆 TNF- $\alpha$  含量明显高于正常对照组, 其含量于发病后 3 天达到高峰, 这与脑组织缺血损伤、水肿及炎症最严重时期相吻合, 表明其参与了急性脑缺血的病理生理过程。随着病程延长, 缺血、水肿及炎症反应的改变有下降趋势, 但至恢复期仍高于对照组。TNF- $\alpha$  的含量与梗死灶面积和部位均无明显相关性<sup>[7]</sup>。肺部急性感染期 TNF- $\alpha$  显著增高, 当感染控制后则明显下降, 与感染的严重程度相关<sup>[8]</sup>。血清中的 TNF- $\alpha$  对脑血管内皮细胞也产生作用, 其机制之一可能与下调血栓调节蛋白有关<sup>[9]</sup>。但是包括 TNF- $\alpha$  在内的炎症因子促凝血作用通常在血流下降和体内抗凝通路受到抑制的前提下产生作用<sup>[10]</sup>。

综合分析, 脑梗死合并 HAP 后血浆 TNF- $\alpha$  增高, 可能导致脑血管内皮细胞的损伤和抗凝机制的抑制, 表现为血栓调节蛋白的下调。积极预防和控制脑梗死合并医院内获得性肺炎对改善脑梗死患者的预后具有重要意义。

### [参考文献]

- [1] 刘立, 郭玉璞. 局灶性脑缺血早期过程中的炎症及其损伤作用. 国外医学·脑血管病分册, 1996, 4 (1): 3-5
- [2] Wong VLY, Hoffman FM, Ishii H. Regional distribution of thrombomodulin in human brain. *Brain research*, 1991, 556 (1): 1-5
- [3] Laszik ZG, Zhou XJ, Ferrell GL, Silva FC, Esmon CT. Down-regulation of endothelial expression of endothelial cell protein C receptor and thrombomodulin in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol*, 2001, 159 (3): 795-796
- [4] 孙金波, 单晓清. 血栓调节蛋白与冠心病. 国外医学·内科血分册, 2003, 29 (4): 149-152
- [5] Fong Y, Tracy KJ, Mollswere LL. Antibodies to catheter tumor necrosis factor reduce interleukin 1 $\beta$  and interleukin 6 appearance during lethal bacteremia. *J Exp Med*, 1989, 170 (5): 1 627-633
- [6] 杨金升. 肿瘤坏死因子在脑卒中时表达及作用. 国外医学·脑血管病分册, 1996, 4 (2): 77-78
- [7] 曹音, 强丽娟, 吴秀梅. 急性脑梗死患者血浆肿瘤坏死因子  $\alpha$  含量的变化. 中国航天医药, 2003, 4 (1): 17-18
- [8] Nohynek H, Marks JD, Laine E. Serum tumor necrosis factor concentrations in children hospitalized for acute respiratory tract infection. *JJD*, 1991, 163 (5): 1 029-032
- [9] Esmon CT. Coagulation and inflammation. *J Endotoxin Res*, 2003, 9 (3): 192-198
- [10] Esmon CT. Does inflammation contribute to thrombotic events? *Haemostasis*, 2000, 30 (Suppl 2): 34-40

(此文编辑 朱雯霞)