

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.07.053

细胞因子在脑缺血损伤中的作用研究进展*

王芳 霍星[△] 王国年 刘晶晶 刘天琳

(哈尔滨医科大学附属第三医院麻醉科 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要: 脑缺血一旦发生,往往引起不同程度的脑损伤。缺血脑组织会产生一系列复杂的病理生理学改变。一组称为细胞因子的多肽调节物质在脑缺血损伤过程中起着关键的作用。包括神经细胞在内的多种细胞能够产生和分泌细胞因子,它们的表达时相性和作用各不相同。脑缺血引起 TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8、IL-10 和 FKN 等多种细胞因子的表达和释放,进而触发有关损伤和修复的应答。这些参与脑缺血损伤的细胞因子能通过复杂的细胞因子网络对中枢神经系统发挥着毒性或保护效应。探究它们在脑缺血损伤中的确切作用将有助于神经系统疾病的临床治疗。现对几种关键的细胞因子综述如下。

关键词: 细胞因子;脑缺血;白细胞介素;肿瘤坏死因子

中图分类号: R392.11;Q28 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)07-1398-03

The Investigative Progression of the Effect of Cytokines on Cerebral Ischemia Injury*

WANG Fang, HUO Xing[△], WANG Guo-nian, LIU Jing-jing, LIU Tian-lin

(Department of Anesthesiology, the third affiliated hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China)

ABSTRACT: Once cerebral ischemia happens, it could induce different levels of brain damage frequently. Ischemic brain tissue leads to a series of complex pathophysiological changes. A set of polypeptide cytokines play a capital role in the process of cerebral ischemia injury. Many kinds of cells can produce and secrete cytokines, including nerve cells. These cytokines have different expressions of phase and effect. Cerebral ischemia causes the expression and release of various cytokines, such as TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 and FKN. This event triggers the response concerned with injury and repair. These cytokines, which participate cerebral ischemia injury can reduce toxic or protective effect on central nervous system through a complex network of cytokines. Investigating their definite effect during the progression of cerebral ischemia injury will conduce to the clinical treatment of nervous system diseases. This article reviews the effect of cerebral ischemia injury of several capital cytokines.

Key words: Cytokine; Cerebral ischemia; Interleukin; Tumor necrosis factor

Chinese Library Classification(CLC): R392.11; Q28 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)07-1398-03

脑组织血液灌注减少会引起复杂的生物化学和神经生理学改变,最终导致缺血性脑损伤。在这些改变中,脑缺血可通过激活和释放多种细胞因子来触发一系列有关损伤和修复的应答。参与脑缺血损伤的多种细胞因子是神经系统的重要调质,近年来受到人们的广泛研究和重视。

1 肿瘤坏死因子 α (TNF- α)

TNF- α 是由 157 个氨基酸组成的分子量为 25 kDa 的膜蛋白。脑中存在 TNFR- I (p55)、TNFR- II (p75) 和可溶性 TNFR (sTNFR) 三种 TNF- α 受体。TNF- α 通过结合不同类型受体发挥复杂的生物效能。TNF- α 可作用于神经元、胶质细胞和内皮细胞,在脑缺血损伤后的脑中迅速上调。Aida 等研究发现,脑缺血后的受累的脑动脉壁中 TNF- α 和其受体 TNFR- I (p55)、TNFR- II (p75) 的表达增高。三者表达增高持续至少 48h^[1]。

脑缺血期间 TNF- α 能进一步加重神经元损伤,已在离体

培养的 TNFR 基因敲除小鼠来源的大脑皮层神经元氧糖剥夺模型中得到证实。TNF- α 可引起与细胞凋亡相关的 caspase-3 和 caspase-8 的活化^[2]。Lavine 等在大鼠脑缺血再灌注模型中应用抗 TNF- α 抗体,脑缺血后皮质梗死面积减小 71%,皮质下梗死面积减小 58%。再灌注后大鼠脑血流量增加,神经功能恢复也有所有改善^[3]。Sotgiu 等利用多元线性回归分析发现,脑卒中后 6-20 h 的血清 TNF- α 水平与脑缺血临床严重性正性相关。该结果突出了脑缺血期间 TNF- α 的有害作用^[4]。

也有研究表明,脑缺血期间 TNF- α 是一种神经保护因子。Pradillo 等在大鼠获得缺血预适应后,再持续大脑中动脉闭塞 48 h,神经元的 TNFR- I 表达增高,梗死面积减小,谓之缺血耐受。随后,向大鼠脑室内注入 TNFR- I 反义核苷酸能够抑制缺血耐受。提示 TNF- α 对神经元具有保护作用。此作用可能归因于 TNFR- I (p55) 的活化^[5]。

2 白细胞介素 1(IL-1)

* 基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(D201071)

作者简介:王芳(1986-),女,硕士研究生,主要研究方向:脑保护,电话:13936499396, E-mail: pinkiller520@aliyun.com

[△] 通讯作者:霍星,副教授,硕士生导师, E-mail: mars0454@yahoo.com.cn

(收稿日期:2014-06-03 接受日期:2014-06-30)

IL-1 是一类可由多种类型细胞合成的具有广泛生物学效应的多肽。在脑中,神经元、小神经胶质细胞和内皮细胞等也能合成 IL-1。IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1 受体(IL-1R)和 IL-1 受体拮抗剂(IL-1Ra)均为 IL-1 家族成员^[6]。IL-1 α 和 IL-1 β 有 20 %-30 % 的序列同源性,但脑组织中主要表达 IL-1 β 。IL-1 β 转化酶(ICE)可将前体 IL-1 β 转化为有生物活性的 IL-1 β 。生理条件下 IL-1 β 能够保护神经元,但 IL-1 β 水平过高可损害神经元^[7]。

在大鼠 MCAO 模型中,脑缺血区 IL-1 β 迅速表达,且水平明显增高。实验中给予 IL-1 β 抗体预先阻断 IL-1 β 的表达,大鼠脑梗死体积减小,神经功能缺失评分降低^[8]。大鼠 MCAO 后注射人重组 IL-1 β ,与 Vehicle 组相比,24 h 时的脑梗死体积增加 35 %。再灌注期间 IL-1 β 还引起脑血流量减少,造成缺血性脑损伤加重^[9]。ICE KO(基因敲除)小鼠在局灶性脑缺血后,脑血管中 ICAM-1 表达明显减少,表明脑缺血后 ICAM-1 的上调依赖 IL-1 β 。离体大脑皮层神经元和小神经胶质细胞共同培养中证实,小神经胶质细胞分泌的 IL-1Ra 能够抑制 IL-1 β 的促神经元损伤作用,它是 IL-1 β 的内源性拮抗剂。IL-1Ra 还能明显提高兴奋性中毒神经元的存活率^[10]。在脑缺血的治疗中,直接或间接的应用 IL-1Ra 具有潜在疗效。

3 白细胞介素 6(IL-6)

IL-6 是分子量为 20-30kDa 的多效性单链糖蛋白。脑缺血时,神经元、小神经胶质细胞、脑血管内皮细胞、星形细胞可能是脑内 IL-6 的来源。IL-6 参与脑缺血炎症反应的调节,并发挥着双重的作用。在动物研究中,脑缺血后 2 h 即出现 IL-6 表达升高,此种升高在 24 h 达到峰值后逐渐下降。直到脑缺血后第 5 天 IL-6 的表达才不能被检测到^[11]。

研究发现,IL-6 是一种神经保护和营养因子,在脑缺血时发挥神经保护作用。Ali 等发现,脑缺血引起的 IL-6 水平上调能抵御 NMDA 受体介导的缺血性脑损伤。这可能是脑缺血的一种内源性保护机制^[12]。Yamashi 等对 MCAO 小鼠应用抗 IL-6 受体单克隆抗体(IL-6RA)。结果发现小鼠的神经元细胞凋亡数目增加、梗死面积扩大^[13]。Herrmann 等^[14]考虑到 IL-6 是重要的体温调节剂。其致热作用可能影响它在脑缺血损伤中存在的其它效应的判别。因此在实验过程中通过恒温措施保持动物体温在正常范围内。结果发现 IL-6 缺陷(IL-6^{-/-})小鼠在 MCAO 后存活率较低、神经功能水平较差、梗塞体积也较大。

另有研究提示,IL-6 发挥促进脑缺血损伤的有害作用。脑缺血后上调的 IL-6 能刺激前列腺素、血小板活化因子和一氧化氮合酶的生成。这些有害介质能够加速血管内皮损伤和炎症反应进程,最终导致脑缺血损伤加重^[15]。Rallidis 等^[16]研究表明,急性缺血性脑卒中(IS)病人的血浆 IL-6 水平增高。血浆 IL-6 水平是急性 IS 病人发病 48 h 后神经功能恶化和住院死亡率的独立预报因子。

4 白细胞介素 8(IL-8)

IL-8 是 72 个氨基酸组成的含有 2 个活性必需的二硫键的小分子多肽。多种细胞在缺氧缺血等条件下和某些炎症介质的诱导下能产生和释放 IL-8。IL-8 是趋化因子 CXC 家族成员,能够趋化白细胞向大脑缺血区的募集和迁移。它主要作用于中性粒细胞,在炎症过程中调节中性粒细胞与内皮细胞之间的黏附。IL-8 是促进缺血后早期炎症反应发生发展的重要介质。

急性缺血性脑卒中发生后 1 天,IL-8 的表达开始增高。

IL-8 的表达能在卒中后 3-7 天仍维持较高水平^[17]。Yamasaki 等发现,在大鼠的局灶性脑缺血再灌注模型中,脑缺血后血清中和脑中的 IL-8 水平都显著升高,且 IL-8 水平升高早于脑水肿发生。提示 IL-8 的产生能够促进脑水肿发生^[18]。研究发现,应用 IL-8 单克隆抗体能减少白细胞浸润,减轻脑缺血再灌注炎症反应及脑损伤程度。Matsumoto T 等在动物脑缺血模型中,应用 IL-8 抗体能有效减轻多形核白细胞浸润和血脑屏障破坏。此外,脑梗死体积和脑水肿程度也相应减小^[19]。Villa 等^[20]在大鼠大脑中动脉闭塞后对其静脉注射 IL-8 受体抑制剂。结果显示,IL-8 受体抑制剂能明显减少脑缺血 2 h、24 h 和 48 h 后的脑梗死体积和多形核白细胞浸润。IL-8 受体抑制剂亦能改善急性期及远期的神经功能恶化情况。这些研究明确了 IL-8 及其受体在缺血脑中所起的不利作用,阻断 IL-8 及其受体能够减轻脑缺血损伤。

5 白细胞介素 10(IL-10)

IL-10 是由 160 个氨基酸构成的单肽链糖蛋白,分子量为 18.7 kDa。IL-10 可由活化的小神经胶质细胞和星形细胞产生,它与高亲和性的 IL-10 受体结合,通过旁分泌和自分泌的方式调节神经胶质介导的炎症应答。急性脑缺血后,抗炎细胞因子 IL-10 可减少促炎细胞因子的合成和抑制它们受体的表达及活化。这是 IL-10 减轻大脑炎症反应,促进神经细胞存活的可能机制之一^[21]。

Ooboshi 等^[22]在自发性高血压大鼠脑缺血后通过基因转染将 IL-10 导入动物侧脑室。结果发现大鼠脑梗死体积减小,白细胞和巨噬细胞浸润减少,海马神经元损伤明显减轻。IL-10 基因敲除(IL-10 KO)小鼠 MCAO 后脑梗死灶体积比野生型小鼠 MCAO 后脑梗死灶体积大 30%。IL-10 KO 小鼠来源的神经元离体培养在氧糖剥夺(OGD)环境下更易受损^[23]。Chang 等检测到高水平血清 IL-10 还与急性 IS 病人 48 小时后神经功能障碍相关。血清 IL-10 水平是急性 IS 发生 90 天后不良临床结局的独立预报因子^[24]。此外,IL-10 介导的 bcl-2 表达的增加和对 Caspase-3 活性的阻断,可使神经元凋亡受到抑制。表明 IL-10 还可能通过抗细胞凋亡途径发挥细胞保护作用。

6 FKN(Fractalkine)

FKN 是含有 373 个氨基酸残基的多肽,近氨基端为半胱氨酸-3 个其他氨基酸-半胱氨酸基序。FKN 是 CX3C 趋化因子家族的唯一成员,存在膜结合型和可溶型两种形式。FKN 通过与高亲和力受体 CX3CR1 结合发挥白细胞趋化作用和免疫调节作用。FKN 还能调节其他炎性介质的产生,加速炎症反应和细胞凋亡进程^[25]。

研究^[26]表明,FKN 与受体 CX3CR1 参与脑缺血损伤。脑缺血后 12 h,大脑皮层部分坏死神经元内即有 FKN 表达上调,脑缺血后 24 h 和 48 h,缺血半暗带的正常形态神经元内 FKN 表达增高。脑缺血后 48 h 和 7 d,缺血区内皮细胞 FKN 的合成增加。缺血后 24 h 至 7 d 缺血区活化的小神经胶质细胞 CX3CR1 的表达也明显增高。Soriano 等发现 FKN 缺陷(FKN^{-/-})小鼠脑缺血后梗死面积减小 28 %,死亡率明显降低。提示 FKN 可能加重脑缺血损伤^[27]。与野生型小鼠相比,CX3CR1 缺陷(CX3CR1^{-/-})小鼠在 MCAO 后梗死面积减小,血脑屏障破坏减轻,细胞凋亡数目减少,神经功能恢复也有所改善。此外,CX3CR1^{-/-}小鼠脑缺血后 IL-1 β 与 TNF- α 表达的减少与白细

胞浸润的减轻及梗死面积的减小有关。表明 CX3CR1 的缺乏能明显减轻脑缺血后损伤和炎症反应^[28]。

Cipriani 等^[29]发现,外源性 FKN 能够抑制野生型鼠小神经胶质细胞中 FKN 的活性,减小脑梗死面积。离体试验中,FKN 能够抑制由脂多糖(LPS)活化的小神经胶质细胞释放 TNF- α ,应用抗 FKN 抗体可增强 LPS 引起的神经毒性作用,增加神经元死亡。提示 FKN 在脑组织中能发挥抗炎效应^[30]。

7 结语

脑缺血的病理生理过程受到来源于脑实质和脑血管细胞的细胞因子的活化、表达和分泌的调节。这些细胞因子复杂多样的生物学效应与脑缺血的炎症级联反应以及神经元细胞凋亡密切相关。探究它们在脑缺血损伤中的作用将有助于实施临床合理的脑保护和检验以细胞因子作为靶点治疗神经学疾病的有效性。近年来,应用生物技术方法已研发出越来越多的重组细胞因子、细胞因子抗体以及细胞因子受体拮抗剂。它们在临床实际应用中可能带来可观的社会和经济效益。

参考文献(References)

- Maddahi A, Kruse LS, Chen QW, et al. The role of tumor necrosis factor- α and TNF- α receptors in cerebral arteries following cerebral ischemia in rat [J]. *J Neuroinflammation*, 2011,8:107
- Badiola N, Malagelada C, Llecha N, et al. Activation of caspase-8 by tumour necrosis factor receptor 1 is necessary for caspase-3 activation and apoptosis in oxygen-glucose deprived cultured cortical cells [J]. *Neurobiol Dis*, 2009,35(3): 438-447
- Lavine SD, Hofman FM, Zlokovic BV, et al. Circulating antibody against tumor necrosis factor- α protects rat brain from reperfusion injury [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1998,18(1):52-58
- Sotgiu S, Zanda B, Marchetti B, et al. Inflammatory biomarkers in blood of patients with acute brain ischemia [J]. *Eur J Neurol*, 2006,13(5):505-513
- Pradillo JM, Romero C, Hurtado O, et al. TNFR1 upregulation mediates tolerance after brain ischemic preconditioning [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005,25(2):193-203
- Pizarro TT, Cominelli F. Cloning IL-1 and the birth of a new era in cytokine biology [J]. *J Immunol*, 2007,178(9):5411-5412
- Amantea D, Bagetta G, Tassorelli C, et al. Identification of distinct cellular pools of interleukin-1 β during the evolution of the neuroinflammatory response induced by transient middle cerebral artery occlusion in the brain of rat [J]. *Brain Res*, 2010,1313:259-269
- Caso JR, Moro MA, Lorenzo P, et al. Involvement of IL-1 β in acute stress-induced worsening of cerebral ischaemia in rats [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2007,17(9): 600-607
- Parry-Jones AR, Liimatainen T, Kauppinen RA, et al. Interleukin-1 exacerbates focal cerebral ischemia and reduces ischemic brain temperature in the rat [J]. *Magn Reson Med*, 2008,59(6):1239-1249
- Ma XC, Gottschall PE, Chen LT, et al. Role and mechanisms of interleukin-1 in the modulation of neurotoxicity [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2002,10(4):199-207
- Legos JJ, Whitmore RG, Erhardt JA, et al. Quantitative changes in interleukin proteins following focal stroke in the rat [J]. *Neurosci Lett*, 2000,282(3):189-192
- Ali 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]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2000,20(6):956-966
- Yamashita T, Sawamoto K, Suzuki S, et al. Blockade of interleukin-6 signaling aggravates ischemic cerebral damage in mice: possible involvement of Stat3 activation in the protection of neurons [J]. *J Neurochem*, 2005,94(2):459-468
- Herrmann O, Tarabin V, Suzuki S, et al. Regulation of body temperature and neuroprotection by endogenous interleukin-6 in cerebral ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003,23(4):406-415
- Huang J, Upadhyay UM, Tamargo RJ. Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia [J]. *Surg Neurol*, 2006,66(3):232-245
- Rallidis LS, Vikelis M, Panagiotakos DB, et al. Inflammatory markers and in-hospital mortality in acute ischaemic stroke [J]. *Atherosclerosis*, 2006,189(1):193-197
- Grau AJ, Reis A, Buggle F, et al. Monocyte function and plasma levels of interleukin-8 in acute ischemic stroke [J]. *J Neurol Sci*, 2001,192(1-2):41-47
- Yamasaki Y, Matusuo Y, Matsuura 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 [J]. *Stroke*, 1995,26(2):318-322
- Matsumoto T, Ikeda K, Mukaida N, et al. Prevention of cerebral edema and infarct in cerebral reperfusion injury by an antibody to interleukin-8 [J]. *Lab Invest*, 1997,77(2):119-125
- Villa P, Triulzi S, Cavalieri B, et al. The interleukin-8(IL-8 / CXCL8) receptor inhibitor reparixin improves neurological deficits and reduces long-term inflammation in permanent and transient cerebral ischemia in rats [J]. *Mol Med*, 2007,13(3-4):125-133
- Strle K, Zhou JH, Shen WH, et al. Interleukin-10 in the brain [J]. *Crit Rev Immuno*, 2001,21(5):427-449
- Ooboshi H, Ibayashi S, Shichita T, et al. Postischemia gene transfer of interleukin-10 protects against both focal and global brain ischemia [J]. *Circulation*, 2005,111(7):913-919
- Grilli M, Barbieri I, Basudev H, et al. Interleukin-10 modulates neuronal threshold of vulnerability to ischaemic damage [J]. *Eur J Neurosci*, 2000,12(7):2265-2272
- Chang LT, Yuen CM, Liou CW, et al. Link between interleukin-10 level and outcome after ischemic stroke [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2010,17(4):223-228
- Owtasiuk P, Zajkowska JM, Pietruczuk M, et al. Fractalkine-structure, functions and biological activity [J]. *Pol Merlar Lekarski*, 2009,26(153):253-257
- Tarozzo G, Campanella M, Ghiani M, et al. Expression of fractalkine and its receptor, CX3CR1, in response to ischaemia-reperfusion brain injury in the rat [J]. *Eur J Neurosci*, 2002,15(10):1663-1668
- Soriano SG, Amaravadi LS, Wang YF, et al. Mice deficient in fractalkine are less susceptible to cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *J Neuroimmunol*, 2002,12(1-2):59-65
- Denes A, Ferenczi S, Halasz J, et al. Role of CX3CR1 (fractalkine receptor) in brain damage and inflammation induced by focal cerebral ischemia in mouse [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008,28(10):1707-1721
- Cipriani R, Villa P, Chece G, et al. CX3CL1 is neuroprotective in permanent focal cerebral ischemia in rodents [J]. *J Neurosci*, 2011,31(45):16327-16335
- Zujovic V, Benavides J, Vige X, et al. Fractalkine modulates TNF- α secretion and neurotoxicity induced by microglial activation [J]. *Glia*, 2000,29(4):305-315