

脑脊液中 CD4⁺CD25⁺Tr 细胞和sICAM-1 与蛛网膜下腔出血相关性研究

马恒飞, 朱洁, 李灵军, 马慧贤, 王黎洲, 周石

【摘要】 目的 探讨脑脊液中 CD4⁺CD25⁺Tr 细胞(Treg)、可溶性细胞间黏附分子(sICAM)-1 与蛛网膜下腔出血(SAH)发生发展的相关性。**方法** 随机选取住院治疗的 SAH 患者 108 例(观察组)和非器质性神经病变伴头痛患者 100 例(对照组),采用流式细胞仪多色技术检测脑脊液中 Treg,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测白细胞介素(IL)-10、转化生长因子(TGF)- β 1、IL-6、sICAM-1。比较两组患者 Glasgow 昏迷量表(GCS)评分、美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、视觉模拟评分(VAS),分析它们与 Treg 的关系。分析 Hunt-Hess 分级、脑血管痉挛与 sICAM-1 的关系。**结果** 观察组患者 Treg、IL-10、TGF- β 1 分别为(1.09 \pm 0.21)%、(0.67 \pm 0.17)%、(0.29 \pm 0.08)%,显著低于对照组($P<0.05$);sICAM-1、IL-6 分别为(793.1 \pm 84.8) pg/ml、(47.2 \pm 24.9) pg/ml,显著高于对照组($P<0.05$)。自发性 SAH 患者 Treg、NIHSS 评分、VAS 评分显著低于外伤性 SAH 患者,GCS 评分显著高于外伤性 SAH 患者($P<0.05$)。Treg、IL-10、TGF- β 1 与 GCS 评分呈正相关,与 NIHSS 评分、VAS 评分呈负相关($P<0.05$)。随着 Hunt-Hess 分级增加,sICAM-1 与 IL-6 逐渐升高,各 Hunt-Hess 分级间差异有统计学意义($P<0.05$)。脑血管痉挛患者 sICAM-1、IL-6 显著高于脑血管非痉挛患者($P<0.05$)。**结论** Treg 下降对自发性 SAH 发生影响较大,sICAM-1 升高可加速 SAH 病情并向脑血管痉挛发展。

【关键词】 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞;可溶性细胞间黏附分子-1;蛛网膜下腔出血

中图分类号:R743.4 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2015)-11-0939-04

Study on the correlation of CD4⁺CD25⁺Tr cells and sICAM-1 in cerebrospinal fluid with subarachnoid hemorrhage MA Heng-fei, ZHU Jie, LI Ling-jun, MA Hui-xian, WANG Li-zhou, ZHOU Shi. Department of Interventional Radiology, First People's Hospital of Pingdingshan, Pingdingshan, Henan Province 467000, China

Corresponding author: ZHOU Shi, E-mail: 156722229@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the correlation between CD4⁺CD25⁺Tr cells (Treg), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) in cerebrospinal fluid and the development of subarachnoid hemorrhage (SAH). **Methods** A total of 108 hospitalized patients with SAH (observation group) and 100 hospitalized patients with non-organic neuropathy associated with headache (control group) were randomly selected. Flow cytometry was used to detect Treg in cerebrospinal fluid, and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was employed to determine (IL)-10 and transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1), IL-6 and sICAM-1. Glasgow Coma Scale (GCS) scores, stroke scale (NIHSS) scores and visual analog scale (VAS) scores of the two groups were determined, and results were compared between the two groups. The relationship between Hunt-Hess grade, cerebral vasospasm and sICAM-1 was analyzed. **Results** The Treg, IL-10, TGF- β 1 of the observation group were (1.09 \pm 0.21)%, (0.67 \pm 0.17)% and (0.29 \pm 0.08)% respectively, which were significantly lower than those of the control group ($P<0.05$); the sICAM-1 and IL-6 of the observation group were (793.1 \pm 84.8) pg/ml and (47.2 \pm 24.9) pg/ml respectively, which were significantly

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2015.11.002

基金项目: 国家自然科学基金(81460276)

作者单位: 467000 河南平顶山市第一人民医院介入科(马恒飞); 贵阳医学院附属医院放射科(王黎洲、周石)

通信作者: 周石 E-mail: 156722229@qq.com

higher than those of the control group ($P<0.05$). The Treg, NIHSS scores and VAS scores in the patients with spontaneous SAH were significantly lower than those in the patients with traumatic SAH, while the GCS scores in the patients with spontaneous SAH were significantly higher than those in the patients with traumatic SAH ($P<0.05$). Treg, IL-10 and TGF- β 1 carried a parallel correlation with GCS scores, while a negative correlation with NIHSS scores and VAS scores ($P<0.05$). With the increase of Hunt grade, IL-6 and sICAM-1 gradually increased, and the differences between different Hunt-Hess grades were statistically significant ($P<0.05$). The sICAM-1 and IL-6 of the patients with cerebral vasospasm were significantly higher than those of patients with no cerebral vasospasm ($P<0.05$). **Conclusion** The decrease of Treg has a strong influence on the development of spontaneous SAH, and the increase of sICAM-1 can accelerate the development of SAH toward cerebral vasospasm. (J Intervent Radiol, 2015, 24: 939-942)

【Key words】 CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells; soluble intercellular adhesion molecule-1; subarachnoid hemorrhage

蛛网膜下腔出血(SAH)是临床常见急性脑血管疾病,其病理生理机制与机体免疫功能密切相关。CD4⁺CD25⁺Tr 细胞(Treg)属 T 细胞亚群,具有明显的免疫抑制功能^[1-2]。研究发现动脉瘤患者 Treg 水平较正常人显著降低,是导致动脉瘤发生的重要免疫学机制之一^[3]。可溶性细胞间黏附分子(sICAM)-1 在参与介导 SAH 后脑血管痉挛与炎症反应中起关键作用^[4],有助于预测 SAH 病情发展。Treg 和 sICAM-1 在 SAH 病情发生发展中的作用研究较少,现将我们的研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 临床资料

随机选取 2011 年 1 月至 2014 年 1 月在贵阳医学院附属医院住院治疗的 SAH 患者 108 例(观察组),其中男 65 例,女 43 例,年龄 27~62 岁,平均(53.4±11.7)岁;Fisher 分级 I 级 16 例,II 级 33 例,III 级 45 例,IV 级 14 例;Hunt-Hess 分级 I 级 22 例,II 级 44 例,III 级 24 例,IV~V 级 18 例。108 例中 55 例为自发性 SAH,入组标准^[5]:①CT 确诊 SAH 伴剧烈头痛;②MRI 或 DSA 确诊动脉瘤破裂出血;③有腰穿刺和脑脊液检查适应证,签署知情同意书。53 例为外伤性 SAH,入组标准^[6]:①CT 确诊为 SAH 伴闭合性颅脑损伤,采用保守治疗;②排除外伤性头晕和头痛;③自愿接受腰穿刺和脑脊液检查。另外选取非器质性神经病变伴头痛患者 100 例(对照组),其中男 59 例,女 41 例,年龄 26~64 岁,平均(53.0±12.1)岁。观察组和对照组患者性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 检测方法

全部患者住院期间经腰椎穿刺采集脑脊液,低温下放置备用,准备好全部标本后集中检测。检

测所用 CD4-PE 和 CD25-FITC 抗体购自南京建城生物工程研究所。采用流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司)多色技术检测脑脊液 Treg 百分含量,酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测白细胞介素(IL)-10、转化生长因子(TGF)- β 1、IL-6、sICAM-1 水平。

采用经颅多普勒(TCD)超声检测大脑中动脉血流速度(VMCA), >120 cm/s 评定为脑血管痉挛^[7],反之为非脑血管痉挛。

1.3 观察指标

根据 Glasgow 昏迷量表(GCS)评分标准^[8]评价颅脑损伤程度,美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分^[8]评价神经功能缺损程度,视觉模拟评分(VAS)^[8]评价头痛程度,Fisher 分级^[9]评价出血量,Hunt-Hess 分级^[9]评价病情程度。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析。组间计量资料用 T 检验,以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,相关性分析用 Pearson 检验, $P<0.05$ 提示差异有统计学意义。

2 结果

观察组患者脑脊液 Treg、IL-10、TGF- β 1 水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);观察组患者 sICAM-1、IL-6 水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)(表 1)。自发性 SAH 患者 Treg 水平、NIHSS 评分、VAS 评分显著低于外伤性 SAH 患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。自发性 SAH 患者 GCS 评分显著高于外伤性 SAH 患者,差异有统计学意义($P<0.05$)(表 2)。Treg、IL-10、TGF- β 1 水平与 GCS 评分呈正相关(均 $r>0$, $P<0.05$),Treg、IL-10、TGF- β 1 水平与 NIHSS 评分、VAS 评分呈负相关(均

$r < 0, P < 0.05$) (表 3)。随着患者 Hunt-Hess 分级增加, sICAM-1 和 IL-6 水平也逐渐升高, 各 Hunt-Hess 分级间比较之差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 脑血管

痉挛患者 sICAM-1 与 IL-6 水平显著高于脑血管非痉挛患者, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 1)。

表 1 两组脑脊液 Treg、sICAM-1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Treg (%)	IL-10 (%)	TGF- β 1 (%)	sICAM-1 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
观察组	108	1.09 \pm 0.21	0.67 \pm 0.17	0.29 \pm 0.08	793.1 \pm 84.8	47.2 \pm 24.9
对照组	100	2.51 \pm 0.42	1.43 \pm 0.28	1.27 \pm 0.31	108.7 \pm 46.7	3.1 \pm 7.6
T 值		3.24	2.86	3.07	5.69	4.61
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 SAH 患者 Treg 水平与临床评分之间差异 ($\bar{x} \pm s$)

类型	Treg (%)	GCS 评分	NIHSS 评分	VAS 评分
自发性 SAH	1.07 \pm 0.18	14.31 \pm 1.25	7.96 \pm 2.43	5.53 \pm 1.37
外伤性 SAH	2.12 \pm 0.34	10.09 \pm 1.17	11.46 \pm 2.58	8.02 \pm 1.21
T 值	3.07	4.13	3.97	3.65
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 3 Treg、IL-10、TGF- β 1 水平与临床评分相关性

临床指标	Treg (%)		IL-10 (%)		TGF- β 1 (%)	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
GCS 评分	0.73	<0.05	0.65	<0.05	0.68	<0.05
NIHSS 评分	-0.71	<0.05	-0.69	<0.05	-0.72	<0.05
VAS 评分	-0.69	<0.05	-0.64	<0.05	-0.66	<0.05

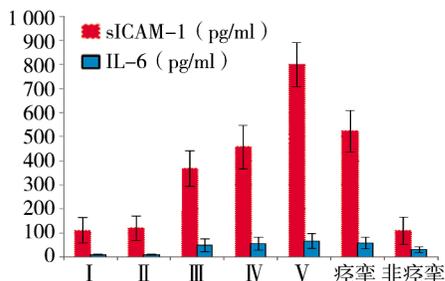


图 1 不同病情程度(Hunt-Hess 分级)SAH 患者sICAM-1 和 IL-6 水平比较

3 讨论

Treg 是一群 CD4 与 CD25 同时表达的 T 细胞, 通过减轻免疫反应降低机体组织及器官损害。研究表明, 动脉管壁免疫性损害可导致动脉瘤破裂出血后自发性 SAH^[10]。此外, Treg 减少引起的血管内炎性反应抑制, 可不完全地加重血管内膜损伤, 从而导致动脉瘤破裂出血并出现自发性 SAH。IL-10、TGF- β 1 是特异性细胞因子, 也是 Treg 执行免疫抑制功能的关键物质^[11]。TGF- β 1 百分含量降低可引起血管内皮细胞损伤, 导致血管内膜不稳定并形成血管斑块^[12]; Treg 分泌的 TGF- β 1 是血管内皮细胞抑制炎性反应的主要物质, 其降低可引起不可控制的炎性作用, 引发动脉瘤破裂而导致 SAH 发生^[13-14]。SAH 受免疫学机制影响还表现在 SAH 发生后血管

壁继发免疫炎性反应, 引起脑血管痉挛, 其病情随着炎性细胞因子和 sICAM-1 逐渐增多而逐渐加重, 促进 SAH 发展。sICAM-1 是一种常见炎性介质, 其正常表达利于机体抑制炎性反应, 但过度表达可对机体产生较大损害。有研究表明, sICAM-1 含量增加是白细胞和血管内皮细胞激活或损害的标志^[15]。本实验研究 Treg、sICAM-1 在 SAH 发生发展中的作用, 旨在探讨 Treg、sICAM-1 检测在 SAH 诊断和治疗中的价值。

本实验表明, SAH 患者 Treg、IL-10、TGF- β 1 水平显著低于非 SAH 患者, sICAM-1、IL-6 水平显著高于非 SAH 患者; 自发性 SAH 患者 Treg 水平、NIHSS 评分、VAS 评分显著低于外伤性 SAH 患者, GCS 评分显著高于外伤性 SAH 患者; Treg、IL-10、TGF- β 1 水平与 GCS 评分呈正相关, 与 NIHSS 评分、VAS 评分呈负相关; 随着 Hunt-Hess 分级增加, sICAM-1、IL-6 水平逐渐升高, 各 Hunt-Hess 分级间比较之差异有显著统计学意义; 并发脑血管痉挛患者 sICAM-1、IL-6 水平显著高于未并发脑血管痉挛患者。本实验结果提示: ①IL-10、TGF- β 1、Treg 对自发性 SAH 诊断具有特异性, 可作为鉴别诊断自发性与外伤性 SAH 的依据; ②Treg 水平与 NIHSS 评分、VAS 评分呈负相关, 与 GCS 评分呈正相关, 说明 Treg 与 SAH 发生密切相关; ③sICAM-1 水平升高与并发脑血管痉挛、SAH 病情向较严重程度发展相一致, 说明 sICAM-1 参与 SAH 并发脑血管痉挛发生。Treg 在自发性 SAH 发生中起着非常重要的作用, 而 sICAM-1 升高可加速 SAH 并发脑血管痉挛发生。

综上所述, Treg 水平下降对自发性 SAH 发生影响较大, sICAM-1 水平升高可加速 SAH 病情并向脑血管痉挛发展。临床上检测脑脊液 Treg 对鉴别诊断自发性与外伤性 SAH 有一定价值, 检测 sICAM-1 对预测 SAH 病情发展与并发脑血管痉挛有重要意义。

[参考文献]

[1] 陈文龙, 汤建平. 调节性 T 细胞与类风湿关节炎的研究进展 [J]. 中华临床医师杂志·电子版, 2012, 19: 133-135.

[2] 王立静, 苗同国, 宁更献, 等. 肝动脉化疗栓塞术对原发性肝癌患者 T 淋巴细胞亚群的影响 [J]. 介入放射学杂志, 2015, 24: 165-168.

[3] 罗赛华, 戴世学, 梁 仔, 等. 颅内动脉瘤破裂与 CD8⁺CD28⁻调节性 T 细胞的关系 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2012, 38: 425-427.

[4] 黄风怡, 郑晓春, 李荣钢, 等. 肝门阻断再灌注后肠黏膜损伤中髓过氧化物酶活性和 TNF- α 及细胞间黏附分子 1 的表达研究 [J]. 中华临床医师杂志·电子版, 2012, 19: 5873-5876.

[5] 冯 路, 徐菱霜, 黄 睿. 自发性蛛网膜下腔出血 CTA 阴性患者 21 例分析 [J]. 中国现代医生, 2012, 24: 147-149.

[6] 屠传建, 顾志伟, 宋大刚, 等. 外伤性蛛网膜下腔出血后颅内压和大脑中动脉流速的相关性研究 [J]. 中华急诊医学杂志, 2013, 22: 792-794.

[7] 韩 震, 王 中, 崔 岗, 等. 经颅多普勒超声评价外伤性脑血管痉挛 [J]. 实用医学杂志, 1995, 9: 575-576.

[8] Provencio JJ, Altay T, Smithason S, et al. Depletion of Ly6G/C⁺ cells ameliorates delayed cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage [J]. J Neuroimmunol, 2011, 232: 94-100.

[9] 顾大群, 张 扬, 晁迎九, 等. 超早期栓塞治疗对破裂颅内动脉瘤患者预后的影响 [J]. 介入放射学杂志, 2014, 23: 1029-1032.

[10] 李 瑾, 沙杜鹃, 李启明, 等. 动脉瘤破裂性蛛网膜下腔出血发生后血浆儿茶酚胺的含量变化及其与神经源性肺水肿发生的关系 [J]. 临床和实验医学杂志, 2013, 12: 1204-1206.

[11] Chou SH, Feske SK, Simmons SL, et al. Elevated peripheral neutrophils and matrix metalloproteinase 9 as biomarkers of functional outcome following subarachnoid hemorrhage [J]. Transl Stroke Res, 2011, 2: 600-607.

[12] Ayer RE, Ostrowski RP, Sugawara T, et al. Statin-induced T-lymphocyte modulation and neuroprotection following experimental subarachnoid hemorrhage [J]. Acta Neurochir Suppl, 2013, 115: 259-266.

[13] Mathiesen T, Lefvert AK. Cerebrospinal fluid and blood lymphocyte subpopulations following subarachnoid haemorrhage [J]. Br J Neurosurg, 1996, 10: 89-92.

[14] Zhang J, Chen G, Zhou D, et al. Expression of CD137 in the cerebral artery after experimental subarachnoid hemorrhage in rats: a pilot study [J]. Brain Res, 2011, 1386: 200-208.

[15] 杨丽莎, 王 钊, 覃理灵, 等. HBV 感染患者不同免疫状态下血清 sICAM-1 表达的研究 [J]. 重庆医学, 2010, 39: 3158-3159.

(收稿日期:2015-03-25)

(本文编辑:边 佳)

·消 息·

“林贵-刘子江优秀介入论文奖”评选通知

《介入放射学杂志》编辑部为了鼓励大家积极投稿,表彰优秀介入论文,促进我国介入放射学的发展,每年一次评选“林贵-刘子江优秀介入论文奖”,希望广大作者积极参与此项活动。

由南京正大天晴制药有限公司赞助的 2015 年度“林贵-刘子江优秀介入论文奖”评奖活动现在开始申报。申报要求如下。

一、原则上凡是 2015 年在《介入放射学杂志》上发表的论文均可申报;

二、申报材料包括:

作者、单位、题目、2015 年期、页;

申报理由:科学性,论点、论据、数据等? 先进性,有何创新? 实用性,有何推广价值?

三、申报方法:

将申报材料与申报论文复印件各一式 20 份快递寄送《介入放射学杂志》编辑部,以便函审。

四、寄送方式:

地址:上海市华山路 1328 号,邮政编码:200052,联系人:许秀芳,手机号:13601975500,单位电话:021-62409496,021-81818191。

五、申报时间:2015 年 12 月 25 日起,至 2016 年 2 月 7 日(除夕)截止。