文章编号:1000-5404(2012)19-1953-04

论著

脑梗死患者血清高迁移率族蛋白B1、白介素-6水平的变化及其与危险因素的相关性

周 平[1],李卫东[1],李英秋[1],韩桐师[1],夏 阳[1],王 林[1],姚咏明[2],张阳英[1],于 燕[2],周华民[1] (100089 北京,空军北京航空医学研究所附属医院神经内科[1];100048 北京,解放军总医院第一附属医院烧伤研究所[2])

[摘要] **目的** 探讨血清高迁移率族蛋白B1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)、白介素-6(IL-6)在脑梗死发病中的意义及其与脑梗死危险因素同型半胱氨酸、血脂、血糖、纤维蛋白原的相关性。**方法** 筛选急性脑梗死患者40例,于病程第2、4、7、12天空腹抽取静脉血,健康对照组20例,危险因素组20例(均无急性脑血管病,但存在高血压、糖尿病、高脂血症等危险因素之一),空腹抽取静脉血。采用酶联免疫吸附试验分析HMGB1、IL-6水平,采用全自动分析仪检测同型半胱氨酸、血脂、血糖、纤维蛋白原含量。**结果** ①脑梗死患者血清HMGB1水平病程第2、4、7、12天分别为(6.548±0.364)、(8.697±0.328)、(10.491±0.512)、(5.315±0.224)μg/L,显著高于健康对照组[(2.994±0.243)μg/L]及危险因素组[(3.272±0.285)μg/L, $P<0.01$],病程第4~7天达峰值。危险因素组与健康对照组比较无统计学意义($P=0.998$)。②脑梗死患者血清IL-6水平病程第2、4、7天分别为(26.799±1.878)、(28.546±2.327)、(22.422±2.011)pg/ml,显著高于健康对照组[(13.275±1.214)pg/ml]及危险因素组[(15.186±1.325)pg/ml,$P<0.01$],病程第2~4天达峰值,脑梗死组病程第12天与危险因素组、健康对照组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。③脑梗死患者血清HMGB1、IL-6水平与空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后2 h血糖、同型半胱氨酸、纤维蛋白原呈显著正相关($P<0.05$,$P<0.01$),与甘油三酯、极低密度脂蛋白、胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白无明显相关性($P>0.05$)。血清HMGB1与IL-6水平明显相关($P<0.05$)。**结论** 血清炎症因子HMGB1、IL-6在脑梗死的发病中发挥重要作用,脑梗死后患者血清HMGB1水平达峰值时间晚于IL-6,持续时间长于IL-6,两者与血糖、同型半胱氨酸、纤维蛋白原等危险因素均有明显相关性。

[关键词] 脑梗死;高迁移率族蛋白B1;白细胞介素-6;同型半胱氨酸;血糖;糖化血红蛋白;血脂;纤维蛋白原
[中图法分类号] R392.1; R392.3; R743.33 [文献标志码] A

Serum levels of high mobility group box-1 and interleukin-6 in cerebral infarction patients and their correlation with the disease's risk factors

Zhou Ping[1], Li Weidong[1], Li Yingqiu[1], Han Tongshi[1], Xia Yang[1], Wang Lin[1], Yao Yongming[2], Zhang Yangying[1], Yu Yan[2], Zhou Huamin[1] ([1]Department of Neurology, Affiliated Hospital of Aviation Medicine Institute, Beijing, 100089; [2]Institute of Burns, First Affiliated Hospital of General Hospital of PLA, Beijing, 100048, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the significances of high mobility group box-1 protein (HMGB1) and interleukin-6 (IL-6) in pathogenesis of acute cerebral infarction (ACI) and their correlation with ACI risk factors, including homocysteine, blood lipid, blood glucose and fibrinogen for acute cerebral infarction. **Methods** Fasting venous blood samples were collected on days 2, 4, 7 and 12 after acute infarction in 40 cerebral infarction patients who admitted in our hospital during January to July 2011. Another 20 age- and sex-matched health volunteers and 20 patients with high risk of ACI (with no acute cerebro-vascular disease but with at least one of the risk factors of hypertension, diabetes mellitus, and hyperlipemia) served as control. Their serum levels of HMGB1 and IL-6 were measured by ELISA, and their serum levels of homocysteine, blood glucose, glycosylated hemoglobin, and blood lipid were measured with an automatic analyzer. **Results** Serum level of HMGB1 was 6.548±0.364, 8.697±0.328, 10.491±0.512, 5.315±0.224 and 2.994±0.243 μg/L respectively in cerebral infarction patients on days 2, 4 ,7 and 12 after infarction, and reached its peak on days 2-7 after infarction, which was significantly higher than in risk factors group (3.272±0.285 μg/L) and in control group (2.994±0.243 μg/L, $P<0.01$). No significant difference was found in the HMGB1level between the 2 later groups ($P=0.998$). Serum level of IL-6 was 26.799±1.878, 28.546±2.327 and

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划项目(973计划,2012CB518102);国家自然科学基金重点项目(81130035)
[通信作者] 周 平,E-mail:zhou66126@sohu.com

22.422 ± 2.011 pg/ml respectively in cerebral infarction patients on days 2, 4 and 7 after infarction, which was significantly higher than in risk factors group (15.186 ± 1.325 pg/ml) and in control group (13.275 ± 1.214 pg/ml, $P<0.01$), and reached its peak on days 2 to 4 after infarction. No significant difference was found in the IL-6 level in infarction group on day 12 after infarction with risk factors group and in control group ($P>0.05$). The serum HMGB1 and IL-6 levels were positively correlated with the fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin, postprandial 2 h blood glucose, and homocysteine and fibrinogen levels ($P<0.05$, $P<0.01$) but not with the serum triglyceride, LDL, HDL, and cholesterol levels ($P>0.05$). The serum HMGB1 level was positively correlated with the serum IL-6 level ($P<0.05$). Serum level of HMGB1 was closely related with that of IL-6 ($P<0.05$). **Conclusion** Inflammatory cytokines, HMGB1 and IL-6, play an important role in the pathogenesis of cerebral infarction. The time for serum HMGB1 to reach its peak level is later than that for serum IL-6. The serum HMGB1 and IL-6 levels are positively correlated with the risk factors of blood glucose, homocysteine, and fibrinogen for acute cerebral infarction.

[**Key words**] cerebral infarction; high mobility group box 1 protein; interleukin-6; homocysteine; blood glucose; glycosylated protein; blood lipid; fibrinogen

Supported by the National Basic Research Program (973 Program, 2012CB518102) and the Key Program of National Natural Science Foundation of China (81130035). Corresponding author: Zhouping, Email: zhou66126@sohu.com

目前的研究表明,炎症反应是脑梗死的重要发病机制之一。脑细胞的损伤、死亡与炎症有着密切的关系[1-2]。高迁移率族蛋白B1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)作为一种重要的炎症介质在神经细胞的缺血损伤及修复中发挥重要作用[3-5]。本研究通过检测脑梗死患者发病不同时期血清HMGB1、IL-6水平变化,探讨HMGB1、IL-6在脑梗死发病中的意义及其与脑梗死危险因素的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象及分组

筛选2011年1-7月收住我院的急性脑梗死患者40例,诊断按照第四届全国脑血管病学术会议修订的脑梗死诊断标准[6],年龄45~84岁,发病72 h内入院。排除心源性栓塞、心肌梗死、肺栓塞、肿瘤、免疫性疾病、近1个月患感染性疾病、半年内使用免疫制剂及激素者。健康对照组20例,选自我院同期健康体检者,危险因素组20例(均无急性脑血管病,但存在高血压、糖尿病、高脂血症等危险因素之一)为同期住院患者或来我院体检者,年龄45~84岁。研究得到医院伦理委员会批准,患者及健康对照组参与试验前均由家属或本人签署知情同意书。

1.2 主要试剂及研究方法

1.2.1 标本来源 40例脑梗死患者,分别于入院后24 h内(其中病程第2天抽血20例,病程第4天抽血20例)、病程第7、12天空腹抽取静脉血约4 ml,健康志愿者、危险因素对照组各20例,空腹抽取静脉血4 ml, 2 500 r/min离心10 min,收集血清,-80 ℃冻存。

1.2.2 血清HMGB1和IL-6水平检测 HMGB1试剂由日本Shino-Test公司提供,IL-6试剂由上海依科赛生物制品有限公司提供,采用酶联免疫吸附方法,严格按照试剂说明检测。

1.2.3 血清同型半胱氨酸、血脂、血糖检测 采用日本TOSHIBA 120全自动分析仪检测;血清纤维蛋白原检测:采用DESPINYMX自动分析仪检测。

1.3 统计学分析

应用SPSS 17.0统计软件,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,血清HMGB1、IL-6与各危险因素相关性采用Logistic回归分析。

2 结果

2.1 脑梗死患者危险因素构成

危险因素组20例患者,9例糖尿病,14例高血压病,7例高脂血症,6例冠心病。脑梗死组40例,18例有糖尿病病史,22例有高血压病史,7例有高脂血症病史,15例有冠心病病史,6例患者有吸烟或颈动脉硬化病史或无危险因素。

2.2 脑梗死患者血清HMGB1水平的变化

脑梗死患者血清HMGB1水平升高,病程第7天达峰值,病程第2、4、7、12天与健康对照组及危险因素组比较差异有统计学意义($P<0.01$),危险因素组与健康对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 脑梗死患者血清HMGB1、IL-6水平的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HMGB1 (μg/L)	IL-6 (pg/ml)
健康对照组	20	2.994 ± 0.243	13.275 ± 1.214
危险因素组	20	3.272 ± 0.285	15.186 ± 1.325
脑梗死组			
病程第2天	20	6.548 ± 0.364[ab]	26.799 ± 1.878[ab]
病程第4天	20	8.697 ± 0.328[ab]	28.546 ± 2.327[ab]
病程第7天	40	10.491 ± 0.512[ab]	22.422 ± 2.011[ab]
病程第12天	40	5.315 ± 0.224[ab]	15.463 ± 1.499

a: $P<0.01$,与健康对照组比较;b: $P<0.01$,与危险因素组比较

2.3 脑梗死患者血清IL-6水平的变化

脑梗死患者病程第2、4、7天血清IL-6水平均显著高于健康对照组及危险因素组($P<0.01$),病程第2~4天达高峰,病程第12天与危险因素组及健康对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

2.4 脑梗死患者血糖、血脂的变化

脑梗死组患者血糖[空腹:(7.617±0.494)mmol/L,餐后2 h:(11.415±0.697) mmol/L]、糖化血红蛋白[(7.386±0.372)%]升高,与健康对照组[(5.325±0.097)、(5.566±0.191)mmol/L,5.867±0.044)%]及危险因素组[(6.195±0.331)、(6.456±0.354)mmol/L,(6.342±0.122)%]比较差异有统计学意义($P<0.01$)。脑梗死组甘油三酯[(1.706±0.150)mmol/L]升高,与健康对照组[(1.265±0.054)mmol/L]比较差异有统计学意义($P<0.05$),与危险因素组[(1.363±0.144) mmol/L]比较差异无显著性($P>0.05$)。胆固醇[(4.715±0.165)mmol/L]、低密度脂蛋白[(2.786±0.137) mmol/L]、高密度脂蛋白[(1.225±0.039)mmol/L]与健康对照组[(4.980±0.141)、(2.740±0.101)、(1.285±0.035)mmol/L]及危险因素组[(5.122±0.156)、(2.756±0.241)、(1.274±0.088)mmol/L]比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.5 脑梗死患者血清HMGB1、IL-6水平与危险因素的相关性

脑梗死患者血清HMGB1水平与空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后2 h血糖、同型半胱氨酸、纤维蛋白原呈显著正相关($P<0.05$,$P<0.01$),与甘油三酯、极低密度脂蛋白、胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白无明显相关性($P>0.05$),与IL-6水平显著相关($P<0.05$,表2)。脑梗死患者血清IL-6水平与空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后2 h血糖、同型半胱氨酸、纤维蛋白原呈显著正相关(*OR*值分别为2.431、2.042、1.056、0.331、1.186,$P<0.05$,$P<0.01$),与甘油三酯、极低密度脂蛋白、胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白无明显相关性(*OR*值分别为1.258、1.147、1.324、1.498、1.102,$P>0.05$)。

表2 脑梗死患者血清HMGB1水平与危险因素及IL-6的相关性

因素	*OR*值	95% *CI*	*P*值
空腹血糖	2.312	1.171-4.853	0.007
餐后2 h血糖	1.804	1.046-3.261	0.000
糖化血红蛋白	1.038	1.005-1.079	0.024
胆固醇	1.221	0.945-1.517	0.113
甘油三酯	1.143	0.394-3.227	0.092
低密度脂蛋白	1.242	0.944-1.635	0.167
高密度脂蛋白	1.481	0.403-3.852	0.124
极低密度脂蛋白	1.047	0.991-1.128	0.089
同型半胱氨酸	0.294	0.102-0.836	0.018
纤维蛋白原	1.144	0.896-1.985	0.017
IL-6	2.182	1.247-3.562	0.021

3 讨论

炎症是脑梗死的重要发病机制之一。炎症反应促进动脉粥样硬化病变的发生,降低动脉粥样硬化斑块的稳定性,影响凝血纤溶过程,导致血栓形成[7]。糖尿病、高血压、高血脂是脑血管病重要的危险因素。我们收集的40例脑梗死患者中,入院后空腹血糖、餐后2 h血糖及糖化血红蛋白均明显高于健康对照组及危险因素组,而脑梗死组患者既往患有糖尿病的比例与危险因素组比较并无显著差异,究其原因,可能与脑梗死发生后应激性血糖升高有关。脑梗死患者入院后血清甘油三酯均值明显高于危险因素组及健康对照组,但血清胆固醇、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白及极低密度脂蛋白与危险因素组及健康对照组比较未显示统计学差异,我们分析此结果可能与部分患者口服他汀类药物治疗有关。

IL-6是一种具有广泛免疫调节作用的细胞因子,既有促炎效应,又有抗炎作用。在中枢神经系统中,IL-6主要由神经元、星形胶质细胞和小胶质细胞合成,对中枢神经系统发挥神经营养、神经保护及神经毒性双重作用。近年的研究表明,IL-6与脑梗死的发生、发展及预后有关。血液透析患者血清IL-6水平升高对脑梗死的发生有重要的预警作用[8]。脑卒中患者早期IL-6明显上调,IL-10则显著下调,随着神经系统的逐渐修复,IL-6逐渐下降,而IL-10逐渐上升[9]。血清IL-6、超敏C反应蛋白、纤维蛋白原升高与血管事件的再发及病死率密切相关,与脑卒中患者预后相关[10-11]。有文献报道,IL-6在脑卒中的作用可能包括几个方面,IL-6能刺激基因Loci表达,而Loci基因可促进血浆纤维蛋白原合成,高血浆纤维蛋白原与动脉粥样硬化和脑卒中密切相关;IL-6可促进血小板生成素的活性与C反应蛋白增加,阻碍前列腺素I_2产生,刺激内皮细胞合成内皮素,导致血管收缩;IL-6与高血糖水平相平行,血液中高血糖可刺激血管内皮细胞和外周血单核细胞IL-6分泌增加,使肝细胞处于应激状态而大量分泌急性期蛋白,引起纤维蛋白原增加,血粘度增加,易于发生血栓形成[12]。本组资料表明,脑梗死发生后血清IL-6水平明显升高,第2~4天即达高峰,至病程12d基本降至正常范围。提示血清IL-6水平在脑梗死急性期发生了改变,它可能参与了脑梗死的发病过程,与脑组织缺血缺氧及神经细胞损伤有关。糖尿病及高同型半胱氨酸是动脉粥样硬化独立的危险因素,脑梗死后高血糖影响神经细胞的修复及预后。纤维蛋白原是重要的炎性因子,并参与血栓的形成。本组资料显示,脑梗死患者血糖水平明显升高,同型半胱氨酸、纤维蛋白原均值也高于正常范围,相关分析显示血清IL-6升高水平与血糖、同型半胱氨酸、纤维蛋白原呈正相关关系。我们认为血糖、同型半胱氨酸、纤维蛋白原及IL-6共同参与了脑梗死的发病过程,其确

切机制有待进一步探讨。本研究未发现危险因素组与健康对照组患者血清 IL-6 水平存在显著差异,推测血清 IL-6 主要在脑梗死急性期发挥作用。

HMGB1 作为一种重要的晚期炎性细胞因子,与血管事件的发生密切相关。据报道,心肌梗死患者血清 HMGB1 水平升高,其升高水平与病情严重程度及病死率明显正相关[13]。血清 HMGB1 可作为心肌梗死后心功能的预示指标[14],低水平 HMGB1 有利于心肺功能及自主神经功能的改善,有利于心脏重塑[15]。HMGB1 与脑梗死的关系报道较少,有文献认为脑出血和脑梗死患者血清 HMGB1 水平升高,其升高水平与病情严重程度明显相关[16-17]。新近的动物实验证实,脑组织缺血后缺血神经细胞产生并释放大量 HMGB1,诱导缺血后神经炎症和胶质细胞激活,给予抗 HMGB1 抗体能有效清除循环中 HMGB1,减轻脑梗死部位脑细胞的缺血水肿,保护血脑屏障,减轻脑缺血后急性炎症损伤,降低组织损害,从而达到治疗脑缺血的作用[3, 18-19]。我们的观察证实,脑梗死发生后患者血清 HMGB1 升高,于病程第 4~7 天升高尤为显著,并在病程第 12 天仍未降至正常水平。提示 HMGB1 作为一重要的晚期炎性因子参与了脑梗死的发病过程。脑梗死发生后,患者血清 HMGB1 水平高峰出现较晚,但持续时间较长,我们认为,病程第 7 天血清 HMGB1 水平对脑梗死病情判断意义较大。进一步分析显示,脑梗死组患者血清 HMGB1 水平与血糖、血清同型半胱氨酸、纤维蛋白原、IL-6 水平存在正相关关系。初步提示脑梗死发生后 HMGB1、IL-6 及血糖、同型半胱氨酸、纤维蛋白原可能共同产生作用,或相互影响,对脑梗死后神经细胞的修复及病情预后可能产生重要影响。

综上所述,血清炎症因子 HMGB1 水平与 IL-6 水平脑梗死急性期明显升高,支持脑梗死发病的炎症反应机制,脑梗死发生后患者血清 IL-6 水平升高较早,HMGB1 水平升高持续时间较长,HMGB1、IL-6 水平与血糖、同型半胱氨酸、纤维蛋白原呈显著正相关。关于 HMGB1、IL-6 在脑梗死发病中的确切作用及详细机制,有待深入探讨。

参考文献:

[1] Idicula T T, Brogger J, Naess H, *et al*. Admission C-reactive protein after acute ischemic stroke is associated with stroke severity and mortality: the Bergen stroke study[J]. BMC Neurol, 2009, 9: 18.

[2] Tuttolomondo A, Pinto A, Corrao S, *et al*. Immuno-inflammatory and thrombotic/fibrinolytic variables associated with acute ischemic stroke diagnosis[J]. Atherosclerosis, 2009, 203(2): 503-508.

[3] Hayakawa K, Qiu J, Lo E H. Biphasic actions of HMGB1 signaling in inflammation and recovery after stroke[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1207: 50-57.

[4] You L, Wang P, Lv J, *et al*. The role of high-sensitivity C-reactive protein, interleukin-6 and cystatin C in ischemic stroke complicating atrial fibrillation[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2010, 30(5): 648-651.

[5] 龚薇, 何凤田, 高会广, 等. 重组小鼠高迁移率族蛋白 B1 抗菌活性研究[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(9): 939-941.

[6] 中华神经科学会,中华神经外科学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 379-380.

[7] Tuttolomondo A, Di-Raimondo D, Pecoraro R, *et al*. Immune-inflammatory markers and arterial stiffness indexes in subjects with acute ischemic stroke[J]. Atherosclerosis, 2010, 213(1): 311-318.

[8] Kikuchi H, Anan F, Kaneda K, *et al*. Interleukin-6 and silent cerebral infarction in hemodialysis patients: a cross-sectional study[J]. Eur J Neurol, 2011, 18(4): 625-630.

[9] Basic-Kes V, Simundic A M, Nikolac N, *et al*. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in acute ischemic stroke and their relation to early neurological deficit and stroke outcome[J]. Clin Biochem, 2008, 41(16/17): 1330-1334.

[10] Whiteley W, Jackson C, Lewis S, *et al*. Association of circulating inflammatory markers with recurrent vascular events after stroke: a prospective cohort study[J]. Stroke, 2011, 42(1): 10-16.

[11] Shimizu K, Shimomura K, Tokuyama Y, *et al*. Association between inflammatory biomarkers and progression of intracranial large artery stenosis after ischemic stroke[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2011, [Epub ahead of print].

[12] Vila N, Castillo J, Davalos A, *et al*. Proinflammatory cytokines and early neurological worsening in ischemic stroke[J]. Stroke, 2000, 31(10): 2325-2329.

[13] Tong H S, Tang Y Q, Chen Y, *et al*. Early elevated HMGB1 level predicting the outcome in exertional heatstroke[J]. J Trauma, 2011, 71(4): 808-814.

[14] Andrassy M, Volz H C, Riedle N, *et al*. HMGB1 as a predictor of infarct transmurality and functional recovery in patients with myocardial infarction[J]. J Intern Med, 2011, 270(3): 245-253.

[15] Giallauria F, Cirillo P, D'Agostino M, *et al*. Effects of exercise training on high-mobility group box-1 levels after acute myocardial infarction[J]. J Card Fail, 2011, 17(2): 108-114.

[16] Zhou Y, Xiong K L, Lin S, *et al*. Elevation of high-mobility group protein box-1 in serum correlates with severity of acute intracerebral hemorrhage[J]. Mediators Inflamm, 2010, 2010: 142458.

[17] 张一娜, 王莉, 刘向娟, 等. 急性脑梗死患者高迁移率族蛋白 B1 和过氧化小体增殖剂激活型受体 γ mRNA 的表达[J]. 中国脑血管病杂志, 2011, 8(7): 342-346.

[18] Zhang J, Takahashi H K, Liu K, *et al*. Anti-high mobility group box-1 monoclonal antibody protects the blood-brain barrier from ischemia-induced disruption in rats[J]. Stroke, 2011, 42(5): 1420-1428.

[19] Muhammad S, Barakat W, Stoyanov S, *et al*. The HMGB1 receptor RAGE mediates ischemic brain damage[J]. J Neurosci, 2008, 28(46): 12023-12031.

(**收稿**:2012-05-22;**修回**:2012-06-30)

(编辑 王小寒)