

- 62.
- [3] Voigt C, Schonaich M, Lill H. Anterior cruciate ligament reconstruction; state of the art[J]. Eur J Trauma, 2006, 32(4):332-339.
- [4] Asano H, Muneta T, Ikeda H, et al. Arthroscopic evaluation of the articular cartilage after anterior cruciate ligament reconstruction: a short-term prospective study of 105 patients[J]. Arthroscopy, 2004, 20(5):474-481.
- [5] Pereira HM, Nowotny AH, Santos AB, et al. Electromyographic activity of knee stabilizer muscles during six different balance board stimuli after anterior cruciate ligament surgery[J]. Electromyogr Clin Neurophysiol, 2009, 49(23):117-124.
- [6] Fabis J. The impact of a isokinetic training program on the peak torque of the quadriceps and knee flexors after anterior cruciate ligament reconstruction with hamstrings[J]. Ortop Traumatol Rehabil, 2007, 9(5):527-531.
- [7] 高凯, 王予彬, 王惠芳. 前交叉韧带损伤与重建术后的等速肌力评价[J]. 中国康复医学杂志, 2006, 21(5):467-469.
- [8] 陶莉, 冯华, 郭险峰, 等. 前交叉韧带重建术后患者的等速肌力训练和疗效评定[J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(11):990-993.
- [9] 蒋拥军, 李克军, 王雪冰. 平衡促进训练对膝关节前交叉韧带损伤重建术后患膝本体感觉的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(3):251-253.
- [10] 马钊, 周谋望, 谷莉, 等. 前交叉韧带重建术后患者平衡功能的研究[J]. 中国康复医学杂志, 2010, 25(7):625-627.
- [11] 吴玉宝, 李向东. 关节镜下四股半腱肌肌腱重建前交叉韧带康复训练疗效[J]. 吉林医学, 2009, 30(19):2253-2255.
- [12] 刘亮, 蒋青, 陈东阳, 等. 膝关节镜下骨-髌腱-骨复合体重建前交叉韧带术后康复训练[J]. 南京医科大学学报. 自然科学版, 2007, 27(9):1042-1044.
- [13] 许树柴, 王盛贤, 刘军, 等. 前交叉韧带重建术后康复方案选择的若干争议[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2008, 16(9):67-69.
- [14] 高丽洁, 陆琳, 覃鼎文, 等. 前交叉韧带重建术后在医院康复治疗时间对康复效果的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2010, 25(1):27-30.
- [15] 李云霞, 陈世益, 翟伟韬, 等. 自体腘绳肌腱重建前交叉韧带术后两种康复程序效果比较[J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(1):16-18.
- [16] 冯和林, 李增炎. 早期康复训练对前交叉韧带重建后愈合作用的研究进展[J]. 中国康复医学杂志, 2006, 21(7):670-672.

缺血性脑卒中的炎性机制及研究进展

张铭¹, 邓蓉¹, 聂淑科¹, 张允建²

【关键词】 缺血性脑卒中; 炎性机制

【中图分类号】 R49; R743.3 【DOI】 10.3870/zgkf.2013.01.030

脑卒中是世界范围内引起死亡的主要原因之一, 每年有近6百万人死于脑卒中, 而人一生中罹患脑卒中的风险为8%~10%^[1]。在所有脑卒中患者中, 缺血性脑卒中占85%, 出血性脑卒中占15%^[2]。目前研究资料显示, 导致我国城市居民前3位死因的疾病是: 恶性肿瘤、脑血管病、心脏病; 农村地区前3位死因分别是: 脑血管病、恶性肿瘤和心脏病。目前我国因脑血管病造成的经济损失每年超过500亿元人民币^[3]。

目前对于脑缺血损伤的主要病理生理机制的研究主要在以下方面: 脑细胞能量耗竭和酸中毒; 脑缺血氧

自由基损伤; 神经细胞内钙超载; 兴奋性氨基酸毒性; 炎性细胞因子的损害; 上述机制彼此之间存在着联系。脑卒中后全身炎症反应得到普遍认同, 炎症反应参与缺血性脑卒中的发生、发展, 其程度同脑卒中的严重程度及其预后相关。在缺血性脑卒中早期阶段, 血栓形成、缺血与炎症之间相互作用, 从而导致脑梗死和永久性损害^[4]。

1 炎性因子与缺血性脑卒中

大量临床和动物研究均已发现, 全身炎症机制同脑卒中高危性和脑卒中后血管事件复发相关。在急性脑缺血过程中存在显著的炎症反应, 包括常驻细胞小胶质细胞和星形胶质细胞的活化, 炎性因子如白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)、 γ 干扰素(interferon- γ ,

收稿日期: 2012-08-24

作者单位: 1. 荆门石化医院神经内科, 湖北 荆门 448000; 2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院神经内科, 武汉 430022

作者简介: 张铭(1968-), 男, 副主任医师, 主要从事神经康复方面的研究。

INF- γ)、白细胞介素-16(interleukin-16, IL-16)和趋化因子如单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、巨噬细胞炎性蛋白-1(macrophage inflammatory protein-1, MIP-1)的产生,白细胞和单核细胞浸润,以及黏附分子如血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、补体和金属蛋白酶类如人基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)、人基质金属蛋白酶-3(matrix metalloproteinases-3, MMP-3)、人基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)表达水平和活性的升高,它们同血脑屏障的破坏,脑水肿,神经元的凋亡及脑组织缺血再灌注损伤均相关^[5-9]。其中一些被用来作为诊断治疗和评价预后的指标,如 ICAM-1 与金属蛋白酶类可作为早期诊断卒中的血清学指标;炎性细胞因子和黏附细胞分子的水平同早期的神经功能缺损和梗死病灶的大小密切相关;在非人灵长类动物研究中发现 MMP-9 同缺血性脑卒中后出血转化相关,基质金属蛋白酶在缺血性脑卒中发生和发展中的具体作用有待进一步研究^[10]。

炎症因子在缺血性脑卒中发挥双相作用,其不但具有神经损伤、神经毒性作用,还具有一定的神经保护作用。炎症反应能够促进创伤部位的愈合,因此对维持生命的正常状态至关重要。然而过度炎症反应则会产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)和炎症因子而引起一系列病理变化,依据炎症反应持续时间和程度的不同而产生有益或有害的作用。例如:通过去除细胞碎片,脑组织重塑和防止神经损伤等发挥神经保护作用;通过刺激产生氧化应激反应分泌细胞因子等导致神经细胞和组织损伤;通过多种细胞因子表达水平升高而在缺血性脑损伤过程中产生不良作用。研究发现,转化生长因子- α (transformation growth factor- α , TGF- α)和 IL-1 具有加重缺血性脑损伤的作用,而更多的研究提示,转化生长因子 TGF- β 和 IL-10 在缺血性脑损伤中起神经保护作用^[11]。尽管抗炎治疗在动物试验中被证明是有效的,但是在临床的试验中并未发现显著的疗效,主要原因在于脑卒中后脑组织内炎症机制及抗炎治疗的时间窗还不甚清楚^[9]。

2 信号通路与缺血性脑卒中

目前对缺血性脑卒中信号通路机制的研究包括以下通路: JAK/STAT 信号通路, PI3K/AKT 信号通路, P-CREB/CRE 信号通路, Hedgehog 信号通路, Wnt/ β -catenin 信号通路, Notch 信号通路, NF- κ B

(nuclear factor-kappa B)信号通路等。NF- κ B 信号通路在缺血性脑卒中的炎症机制中发挥重要作用。NF- κ B 是一种重要的多向性核转录因子,是普遍存在于细胞质中的快反应转录因子,可调节细胞因子、趋化因子、黏附分子、免疫受体等基因的表达。它位于 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)、肿瘤坏死因子受体(tumour necrosis factor receptor, TNFR)、B 细胞受体(B cell receptor, BCR)及 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)等跨膜受体的下游信号通路的枢纽位置,由一组转录因子构成,包括 5 个成员: c-Rel、RelA(p65)、RelB、p50 和 p52。细胞处于静息状态时,在静止细胞中 NF- κ B 的 RHD 与其 I κ B 的中心区结合,在细胞质中形成无活性的三聚体^[5]。NF- κ B 信号转导途径的活化主要通过依赖 I κ B Ser 磷酸化途径。当小胶质细胞及星形胶质细胞等活化激活 NF- κ B 诱导性激酶(nuclear induced kinase, NIK), NIK 激活 I κ B 激酶发生构象改变,被 ATP 依赖性 26S 蛋白酶体识别并降解,受 I κ Ba 抑制的 NF- κ B 释放出来,迅速发生核移位,通过 RHD 的核定位信号 NLS 与相应的 κ B 序列相结合,启动核内相关基因的转录,合成 IL-1、IL-6、ICAM-1、TNF- α 及 IFN- γ 等细胞因子并释放到胞外,发挥炎症效应^[5]。

NF- κ B 是缺血性脑卒中炎症反应中重要的转录控制因子。功能性的 NF- κ B 聚合物基本存在于所有神经系统的各种细胞内,包括神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞和少突胶质细胞。小胶质细胞和神经元、星形胶质细胞与脑缺血的发生有着密切的关系。Antti 等^[14]给予敲除 p50 基因的大鼠和野生型大鼠永久性大脑中动脉阻塞(permanent occlusion of middle cerebral artery, pMCAO)处理,野生型大鼠给予不同剂量的 NF- κ B 抑制剂 PDTC,结果显示 pMCAO 使 NF- κ B 转录活性增加达 260%,在 p50 基因敲除大鼠 pMCAO 梗死灶比例与野生型大鼠相比则减少了 41%;同时,通过对 3 例脑卒中患者大脑标本的免疫组织化学处理,发现患者脑内半影区存在活化的 NF- κ B 并移位进入神经元细胞核内,而在对照组非卒中患者中却几乎未发现 NF- κ B,因此 NF- κ B 在缺血性脑卒中后炎症反应中发挥重要作用,不同的时间 NF- κ B 出现不同的活化水平。

3 高迁移率族蛋白 1 与缺血性脑卒中

高迁移率族蛋白 1(high mobility group protein B1, HMGB1)是脑缺血及再灌注损伤后炎症反应过程中的重要上游信号分子。HMGB1 是一类核内非组蛋白,在大多数真核细胞包括神经元中表达,人

HMGB1 含有 215 个氨基酸残基,定位于人染色体 13q12,它在核内主要参与维持核小体的结构、识别和结合 DNA、调控 DNA 的复制转录等^[16]。目前研究表明 HMGB1 是对感染、损伤和炎症产生应答的重要的炎性介质,它主要通过两种途径释放到细胞外,一是在细菌抗原脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)或者内源性致炎因子、TNF- α 等刺激下,由活化的巨噬细胞、胶质和神经元细胞主动分泌;二是在细胞坏死时 HMGB1 随着细胞的裂解而被动释放,正常凋亡的细胞由于 HMGB1 乙酰化程度比较低,与 DNA 的亲合力强而不能释放到细胞外^[15]。

HMGB1 被释放至细胞外之后,可特异性的识别晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end product, RAGE)与 TLR,激活 NF- κ B 等信号通路,引起下游炎症介质释放并参与脑缺血一再灌注损伤的发生发展。RAGE 表达于内皮细胞、神经细胞、巨噬细胞等多种细胞表面;与 HMGB1 结合后, RAGE 介导包括 NF- κ B、JAK, STAT 和 MAPK 家族(如 ERK、p38、JNK 等)在内的多条细胞内信号通路,发挥广泛的病理生理作用,但仅 RAGE 并不能解释 HMGB1 的全部作用。研究表明小鼠巨噬细胞表面的 HMGB1 受体主要是 TLR2 和 TLR4,而非 RAGE; HMGB1 促进人胚肾 293 细胞 NF- κ B 转录主要是由 TLR-2 和 TLR4 介导的,TLR4 介导的信号通路主要依赖髓性分化蛋白 88 途径(MyD88),而 RAGE 不起主要作用^[17]。多受体介导给研究 HMGB1 下游信号传导带来了困难。如在不同的细胞, HMGB1 的受体表达不尽相同;即使受体相同,其下游的传导信号也不一定相同;而同一细胞可存在多个受体、多条信号通路。

在临床缺血性脑卒中患者中,从脑卒中发生至一周后均可以发现 HMGB1 水平的升高。蛛网膜下腔出血患者脑脊液中亦可以发现 HMGB1 表达上调;并且在与健康者的对比研究中发现,急性创伤后 30min 即可检测到患者血清中 HMGB1 浓度升高,这些发现均表明 HMGB1 与脑卒中密切相关^[15]。最近的研究表明,局灶性脑缺血发生后 6h,使用 HMGB1 抗体仍然具有神经保护作用;阻断 HMGB1 信号可预防神经细胞死亡,提示 HMGB1 可能是脑卒中的潜在治疗靶点^[15]。HMGB1 信号在炎性和缺血性卒中发挥双相调节作用。在缺血性卒中急性期阶段, HMGB1 促进组织坏死和炎性细胞迁移浸润,引起炎性细胞因子的释放;在缺血后期, HMGB1 通过刺激脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,

VEGF)的释放在神经血管重塑中发挥神经保护作用。对 HMGB1 作用的生物学基础的深入研究,将提供治疗缺血-再灌注损伤的新靶点。

4 研究现状及前景

目前的基础研究把多条炎症通路作为改善脑缺血及再灌注损伤干预的靶点,但大多数局限在细胞水平和动物研究,向临床研究的转化并不成功,仅有少数研究进入临床前期试验^[18]。如米诺环素在大量的动物研究中被证明通过干预炎症反应的多个通路而发挥神经保护作用,它不仅能够抗凋亡,抑制多聚腺苷酸化二磷酸核糖聚合酶-1 和 MMPs,还被发现具有血管保护作用,并且能够减少 tPA 的出血不良反应;但是在合并某些疾病如肌萎缩侧索硬化时则表现神经毒性作用^[20-24]。米诺环素已经进入三期临床试验, MINOS 临床研究发现其最大静脉使用耐受剂量为 10 mg/kg,并且可以同 tPA 联用^[25]。

缺血性脑卒中急性期抗炎治疗在大量的动物试验中获得了成功^[4-10],然而将其转化临床实践和应用却面临巨大的挑战,并不成功。主要的原因在于:①对缺血发生后脑内炎症反应机制及动态变化过程的了解还不甚清楚,尚未确定脑卒中患者炎症干预的合适时间窗;②在以往的缺血性脑卒中动物模型研究中,大多采用成年健康动物,在正常的生理条件下,针对单一类型细胞(主要为中性粒细胞)及细胞因子进行少数时间点的研究,不能完全复制人类卒中的复杂炎症状态;③在外周循环中,人类外周血中性粒细胞占 50~70%,然而在动物模型中淋巴细胞占优势(75~90%),一些免疫相关的分子如诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS), TLR2, 抗原递呈蛋白, 共刺激分子, 趋化分子等在人和老鼠的表达不同;如人类内皮细胞可递呈抗原给静息状态下的 CD4+ 和 CD8+ T 细胞,而老鼠内皮细胞只能活化 CD8+ T 细胞^[10,18]。

炎症反应是缺血性脑损伤过程中持续时间较长的病理变化,作为缺血性脑卒中的干预治疗靶点有其特殊的优势,而何时进行抗炎干预即抗炎时间窗问题,则需要进一步的研究;阐明与缺血性脑损伤相关的炎症信号通路及信号转导机制,寻找信号通路中的关键作用靶点及其可应用于临床的抗炎神经保护物质,将为缺血性脑血管病的防治带来新的希望。

【参考文献】

- [1] Trent M, Woodruff F, John T, et al. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic

- stroke[J]. *Molecular Neurodegeneration*, 2011, 6(1):11-30.
- [2] Wu Z, Yao C, Zlulo D, et al. Sino-MONICA project: a collaborative study on trench and determinants in cardiovascular diseases in China. Part i: morbidity and mortality monitoring[J]. *Circulation*, 2001, 103(3):462-468.
- [3] 崔丽英. 脑血管病的防治仍面临挑战[J]. *中华神经科杂志*, 2010, 43(2):241-242.
- [4] Gregory J, Zoppo, PhInterleukinip B, et al. Innate inflammation as the common pathway of risk factors leading to TIAs and stroke[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2010, 1207(1):8-10.
- [5] Harari OA, Liao JK. NF- κ B and innate immunity in ischemic stroke[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2010, 1207(10):32-40.
- [6] Becker KJ. Modulation of the postischemic immune response to improve stroke outcome[J]. *Stroke*, 2010, 41(10):75-78.
- [7] Tuttolomondo A, Raimondo D, et al. Inflammatory cytokines in acute ischemic stroke[J]. *Curr Pharm Des*, 2008, 14(5):3574-3589.
- [8] Zoppo GJ. Acute anti-inflammatory approaches to ischemic stroke[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2010, 1207(2):143-148.
- [9] Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2010, 87(5):779-789.
- [10] Rodríguez Y, Manue l, CastInterleukinlo J. Role of inflammatory markers in brain ischemia[J]. *Current Opinion in Neurology*, June 2008, 21(3):353-357.
- [11] 马英鑫, 陈贺愈, 夏伟梁. 炎症反应在缺血性脑损伤中的作用和机制[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2011, 11(2):160-163.
- [12] Frank RS, Glen C, Jickling, et al. Molecular markers and mechanisms of stroke: RNA studies of blood in animals and humans[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2011, 31(2):1513-1531.
- [13] 王维治. *神经病学*[M]. 北京:人民卫生出版社, 2008, 736-739.
- [14] Antti N, Perttu J, Lindsberg MD, et al. Nuclear Factor- κ B contributes to infarction after permanent focal ischemia[J]. *Stroke*, 2004, 35(1):987-991.
- [15] Kazuhide H, Jianhua Q, Eng HL. Biphasic actions of HMGB1 signaling in inflammation and recovery after stroke[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2010, 1207(1):50-57.
- [16] 李培志, 吴传新, 龚建平. HMGB1 在缺血-再灌注损伤中的作用机制研究进展[J]. *生理科学进展*, 2011, 42(1):148-150.
- [17] 周瑞, 曹红, 李军. 高迁移率族蛋白 1 在中枢神经系统疾病中的作用[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2009, 30(2):143-147.
- [18] Costantino I, Josef A. The immunology of stroke: from mechanisms to translation[J]. *Nat Med*, 2012, 17(7):796-808.
- [19] Katsumi I. Diet and Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Biosci*[J]. *Biotechnol Biochem*, 2011, 75(6):1023-1035.
- [20] Murata Y, Rosell A. Extension of the thrombolytic window with minocycline in experimental stroke[J]. *Stroke*, 2008, 39(11):3372-3377.
- [21] Wang J, Wei Q, Wang C, et al. Minocycline upregulates Bcl-2 and protects against cell death in mitochondria[J]. *J Biol Chem*, 2004, 27(7):19948-19954.
- [22] Alano CC, Kauppinen TN, Vall AV. MC inhibits poly(ADP ribose) polymerase I at nanomolar concentrations[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2006, 12(7):138-144.
- [23] Brundula V, Rewcastle NB. Targeting leukocyte matrix metalloproteinases and transmigration: minocycline as a potential therapy for multiple sclerosis[J]. *Brain*, 2002, 125(9):1297-1308.
- [24] Machado LS, Sazanava I. Minocycline and tissue plasminogen activator for stroke: assessment of interaction potential[J]. *Stroke*, 2009, 40(9):3028-3033.
- [25] Fagan SC. Minocycline to improve neurologic outcome in stroke (MINOS): a dose-finding study[J]. *Stroke*, 2010, 41(9):2283-2287.
- [26] Dirnagl U, Becker K, Meisel A. Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia: from experimental strategies to clinical use[J]. *Lancet Neurology*, 2009, 8(3):398-412.

作者·读者·编者

参考文献著录格式

参考文献:文稿中有关引用资料以近期出版的期刊及著作作为主,应用的资料必需是正式发行的出版物,按在文稿中首次出现的顺序编码,并用方括号标注如“曾敏等^[1]报道”。参考文献著录格式应将作者的前1~3名列出,3名后加等。①著作:作者·书名[M]。出版地:出版社,年,起止页码。②期刊:作者·文稿题[J]。期刊名,年,卷(期):起止页码。