

弥漫性脑损伤模型大鼠细胞因子在额叶表达及血清含量变化

王晓飞¹,袁治国²

(1. 中国医科大学附属第一医院检验科, 辽宁 沈阳 110001; 2. 麻醉科)

[摘要] 目的:研究白细胞介素6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)在弥漫性脑损伤大鼠额叶的表达和血浆含量的变化。方法:采用Mamarou的弥漫性脑损伤的动物模型,分别于伤后不同时间收集额叶脑组织和静脉血,分别以RT-PCR法和放免法测定脑组织中IL-6和TNF- α 的mRNA和血清中IL-6和TNF- α 的含量变化。结果:在弥漫性脑损伤的额叶脑组织中IL-6 mRNA的表达较对照组明显升高,并在损伤后6 h达到高峰;血清中IL-6的表达也较对照组升高,在12 h达到高峰。而TNF- α mRNA的表达在12 h明显高于对照组,24 h达到高峰;血清中的TNF- α 水平在24 h内逐渐升高。结论:在弥漫性脑损伤中,IL-6和TNF- α 在脑组织和血清中升高,在疾病的发展中起到重要的作用。

[关键词] 脑损伤;白介素6;肿瘤坏死因子 α

[中图分类号] R739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-4646(2007)06-0663-02

Change in the expression of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α mRNA in frontal lobe and in protein level in serum in diffused traumatic brain injury rat

WANG Xiao-fei¹, YUAN Zhi-guo²

(1. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China; 2. Department of Anesthesiology)

[Abstract] **Objective:** To investigate the change in the expression of interleukin-6(IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α)mRNA in frontal lobe and serum IL-6 and TNF- α level in diffused traumatic brain injury rat model. **Methods:** Mamarou rat model of diffused traumatic brain injury was used in the study. Venous blood and frontal lobe were collected at different time after injury. The change of IL-6 and TNF- α mRNA expression and serum IL-6 and TNF- α level were detected with RT-PCR method and radioimmunoassay, respectively. **Results:** it was found that IL-6 mRNA level increased in diffused traumatic brain injury compared to the control group and reached to the peak 6 hours after injury. Serum IL-6 level also elevated in diffused traumatic injury rat compared to the control group and reached to the peak 12 hours after injury. TNF- α mRNA expression was up-regulated compared to the control group and reached to the peak 12 hours after injury. Serum TNF- α level elevated gradually within 24 hours after injury. **Conclusion:** Diffused traumatic brain injury induces upregulation of IL-6 and TNF- α mRNA expression in frontal lobe and elevation of serum level of them. IL-6 and TNF- α may play an important role in the progress of diffused traumatic brain injury.

[Key words] brain injury; interleukin-6; tumor necrosis factor- α

弥漫性脑损伤的早期,神经细胞和局部脑组织破坏,使各种细胞因子释放。其中有加重损伤的因素,也有促进组织修复的因素。细胞因子在脑外伤的疾病发生和转归中起到重要的作用。本文试图检测弥漫性脑损伤的大鼠动物模型中白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)在额叶脑组织中的表达和血清中含量变化,探讨弥漫性脑损伤的病理机制。

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立

Wistar大鼠32只,学校实验动物部提供,雌性,体质量(250 \pm 20)g。实验动物随机分成4组,分别为

对照组、6 h、12 h、24 h组。每组8只,大鼠以350 mg/kg水合氯醛麻醉,仿照Mamarou的弥漫性脑损伤的方法建立动物模型^[1]。颈静脉采血,-20 $^{\circ}$ C保存。断头取左侧顶叶皮质,置于液氮中,-70 $^{\circ}$ C保存。

1.2 放免法测量血清IL-6和TNF- α

IL-6和TNF- α 放免检测试剂盒(富士德公司)依据放免试剂盒的说明进行血清中IL-6和TNF- α 水平的测量。

1.3 半定量的RT-PCR

RNA的提取采用Trizol试剂盒,RNA的逆转录采用Promega公司的逆转录试剂盒,PCR产物10 μ l在1%的琼脂糖凝胶进行电泳。胶拍照,在凝胶分析成像系统进行半定量的分析。

1.4 统计学处理

数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据均数的比较采用单因素方差分析,两两比较采用SNK(q)检验,显著

[作者简介] 王晓飞(1975-),男,技师。

E-mail: wxfei111@yahoo.com.cn

性标准为 $P < 0.05$ 。采用软件为 SPSS10.1。

2 结果

弥漫性脑损伤的大鼠额叶脑组织中 *IL-6* mRNA 的表达明显高于对照组 ($P < 0.05$), 损伤后 6 h

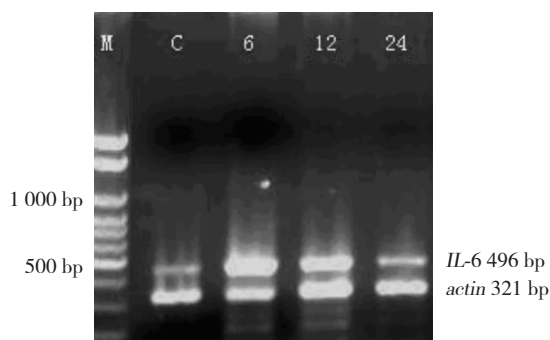
达到高峰, 24 h 时仍然高于对照组 (图 1)。*TNF-α* 表达在损伤后 6 h 有所下降, 但 12 h 明显高于对照组, 24 h 到高峰。在血清中 *IL-6* 水平在损伤后高于对照组, 在 12 h 达到高峰; 血清 *TNF-α* 在损伤后高于对照组, 在 24 h 内逐渐升高(表 1)。

表 1 大鼠脑损伤后血清 *IL-6* 和 *TNF-α* 含量的变化 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Serum level of *IL-6* and *TNF-α* after diffused brain injury (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

项目	对照	6 h	12 h	24 h
<i>IL-6</i>	184.1 ± 12.7	261.7 ± 38.2 ¹⁾	328.0 ± 34.1 ¹⁾	242.0 ± 28.0 ¹⁾
<i>TNF-α</i>	10.1 ± 1.7	35.7 ± 3.2 ¹⁾	55.5 ± 4.3 ¹⁾	88.9 ± 7.9 ¹⁾

注: 1) 与对照组比较 $P < 0.05$



M: 100 bp ladder; C: 对照组; 6, 12, 24: 6 h, 12 h, 24 h 组

图 1 RT-PCR 检测在弥漫性脑损伤后额叶 *IL-6* mRNA 表达变化
Fig.1 Change of *IL-6* mRNA expression in frontal lobe after diffused brain injury

3 讨论

脑外伤时, 在损伤的局部或整个脑组织中出现各种细胞因子, 主要有白介素(IL)族, 肿瘤坏死因子(TNF), 干扰素(IFN), 碱性成纤维细胞因子(bFGF)等。

IL-6 是一种多细胞来源的具有免疫调节功能, 参与急性期反应以及造血等多种功能的细胞因子。作为一种重要的急性炎症期的介质, 影响着外伤的进展和转归, 起到加重损伤和促进神经修复的双重作用。在脑外伤中, 有人认为 *IL-6* 的水平和疾病的严重程度及预后有关^[2]。有研究结果表明 *IL-6* 在重症脑外伤中是具有保护作用的细胞因子, 提示较好的预后^[3]。外伤早期 *IL-6* 表达就已经升高。动物实验表明 *IL-6* 的表达在伤后 6 h 时已经高于对照组, 而在此之后逐渐下降, 至 24 h 时仍然高于对照组。提示在弥漫性脑损伤的早期就有 *IL-6* 的升高, 并在疾病的过程中起到重要的作用。结果还表明脑外伤不

仅可以诱导脑组织的 *IL-6* 的表达升高, 还可以引起血清中 *IL-6* 表达水平的升高。血清 *IL-6* 水平的检测比较容易和便于推广, 具有临床应用前景。

TNF 主要是由激活的单核/巨噬细胞产生的一种具有多种生物活性的细胞因子, 研究认为在颅脑外伤时脑脊液和血浆中的 *TNF* 水平升高, 并且和疾病的严重程度相关^[4]。我们研究表明在脑弥漫性脑损伤的早期血清中 *TNF-α* 升高, 24 h 时仍然在升高, 然而在脑组织中 *TNF-α* mRNA 的表达在 6 h 稍有下降, 之后进行性上升。

有人通过连续性肾脏替代疗法来在创伤早期清除炎性介质, 达到降低血清 *IL-6* 水平从而改善创伤病人预后^[5]。对脑外伤后细胞因子的表达变化进行深入的研究, 对于我们认识脑外伤的病理生理过程, 以及进行有效的治疗, 正确评价病人的预后有一定的参考意义。

参考文献:

[1] MAMAROU A, FODA MA, VAN DEN BRINK W, et al. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I. Pathophysiology and biomechanics[J]. J Neurosurg, 1994, 80: 191-300.
[2] WOICIECHOWSKY C, XCHONING B, COBANOV J, et al. Early *IL-6* plasma concentrations correlate with severity of brain injury and pneumonia in brain-injured patients[J]. J Trauma, 2002, 52(2): 339-345.
[3] WINTER CD, PRINGLE AK, CLOUGH GF, et al. Raised parenchymal interleukin-6 levels correlate with improved outcome after traumatic brain injury[J]. Brain, 2004, 127(Pt 2): 315-320.
[4] 冯斌, 谭振美, 王洪生, 等. 肿瘤坏死因子在急性颅脑损伤的临床意义[J]. 中国急救医学, 1997, 17(4): 14-16.
[5] 张拨山, 蓝光明. 动态观察危重病人 CRRT 中 *COR*, *TNF-α*, *IL-6* 水平变化的临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2004, 17(3) 178-179.

[收稿日期] 2006-12-12

(编辑 孙宪民)