

脑脊液中 CD4⁺ CD25⁺ Treg、sICAM-1 及 BAFF 与动脉瘤蛛网膜下腔出血的相关性研究

李淑雯 吕亮亮

【摘要】 目的 探讨脑脊液中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞(Treg)、可溶性细胞间黏附分子(sICAM-1) 及 B 细胞活化因子(BAFF) 与动脉瘤蛛网膜下腔出血(SAH) 的相关性。方法 随机选择内蒙古医科大学附属医院神经外科 2015 年 3 月至 2016 年 12 月 120 例 SAH 患者作为观察组, 选择同期健康体检人群 40 例作为对照组, 均行脑脊液 CD4⁺ CD25⁺ Treg、sICAM-1 及 BAFF 水平检测, 组间比较采用 *t* 检验, 并采用 Pearson 参数法分析其与疾病严重程度(Hunt-Hess 分级法) 的相关性。结果 观察组 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平(2.52±0.73) % 低于对照组(4.52±1.08) %, 差异有统计学意义($t = -12.563, P < 0.01$); sICAM-1 (853.25±155.36) pg/ml 及 BAFF (586.23±163.73) pg/ml 水平高于对照组 sICAM-1 (315.65±132.58) pg/ml, ($t = -19.569, P < 0.01$) 及 BAFF (272.66±142.58) pg/ml, ($t = -11.426, P < 0.01$); 随着 Hunt-Hess 分级的增加, SAH 患者 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平呈逐渐降低趋势(3.12±0.82) %、(2.42±1.05) %、(1.28±0.61) %, sICAM-1 (627.21±152.56) pg/ml、(794.78±106.36) pg/ml、(896.56±110.52) pg/ml 及 BAFF (395.32±162.53) pg/ml、(589.62±170.43) pg/ml、(789.61±173.52) pg/ml 水平呈逐渐上升趋势, 3 组比较差异有统计学意义($F = 7.214, 12.372, 11.581, P$ 均 < 0.01); CD4⁺ CD25⁺ Treg 与 SAH 病情程度呈负相关($r = -0.824, P < 0.01$)、sICAM-1、BAFF 水平与病情程度成正相关($r = 0.922, 0.472, P$ 均 < 0.01)。结论 CD4⁺ CD25⁺ Treg 是颅内动脉瘤患者的一种保护因素, 其水平的含量降低, 动脉瘤破裂后 SAH 的风险程度增加, sICAM-1、BAFF 参与 SAH 的发生, 其水平增高可加重动脉瘤 SAH 的炎症反应。

【关键词】 CD4; CD25; 调节性 T 细胞; 可溶性; 细胞间黏附分子; B 细胞活化因子; 动脉瘤; 蛛网膜下腔出血

Correlation of CD4⁺ CD25⁺ Treg, sICAM-1 and BAFF in cerebrospinal fluid with aneurysmal subarachnoid hemorrhage Li Shuwen, Lyu Liangliang. Department of Neurosurgery, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China

Corresponding author: Lyu Liangliang, Email: kittdoc@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the correlation of CD4⁺ CD25⁺ Treg, sICAM-1 and BAFF in cerebrospinal fluid (CSF) with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. **Methods** 120 theaneurysmal subarachnoid hemorrhage (SAH) patients treated in the Department of Neurosurgery, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University from March 2015 to December 2016 were randomly selected as an observation group, and 40 healthy people we selected as a control group at the same period. CD4⁺ CD25⁺ Treg, sICAM-1 and BAFF in cerebrospinal fluid in both groups were detected. *T* test was used to compare among groups and Pearson parameter method was used to analyze the correlation with disease severity (Hunt-Hess classification method). **Results** The CD4⁺ CD25⁺ Treg of the observation group (2.52±0.73) % was significantly lower than that of the control group (4.52±1.08) %, which was statistically different ($t = -12.563, P < 0.01$); sICAM-1

(853.25 ± 155.36) pg/ml and BAFF (586.23 ± 163.73) pg/ml levels in the observation group were significantly higher than those of the control group sICAM-1:(315.65 ± 132.58) pg/ml, ($t = -19.569$, $P < 0.01$) and BAFF:(272.66 ± 142.58) pg/ml ($t = -11.426$, $P < 0.01$), which were statistically different ($P < 0.05$); with the increase of Hunt-Hess grade, CD4⁺ CD25⁺ Treg level in SAH patients was gradually decreased:(3.12 ± 0.82)% and(2.42 ± 1.05)% and(1.28 ± 0.61), sICAM-1(627.21 ± 152.56) pg/ml, (794.78 ± 106.36) pg/ml, (896.56 ± 110.52) pg/ml and BAFF (395.32 ± 162.53) pg/ml, (589.62 ± 170.43) pg/ml, (789.61 ± 173.52) pg/ml levels were increased gradually, which were statistically different between 3 groups ($F = 7.214, 12.372, 11.581, P < 0.01$); CD4⁺ CD25⁺ Treg and SAH severity was negatively correlated ($r = -0.824, P < 0.01$), sICAM-1 and BAFF levels and the severity of disease were negatively correlated ($r = 0.922, 0.472, P < 0.01$). **Conclusion** CD4⁺ CD25⁺ Treg is a protective factor for patients with intracranial aneurysms. Decrease of CD4⁺ CD25⁺ Treg increases the risk of SAH after aneurysm rupture. sICAM-1, BAFF are involved in SAH, the increase of which can increase the level of inflammation aneurysmal SAH.

【Key words】 CD4; CD25; Regulatory T cells; soluble; Cell adhesion molecules; B-cell activating factor; Aneurysm; Subarachnoid hemorrhage

动脉瘤所致蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)是临床神经外科常见的急重症之一,致死率和致残率均较高^[1-2]。随着国内外学者对动脉瘤 SAH 的研究机制不断深入,越来越多的研究显示,机体免疫功能与动脉瘤 SAH 的病理生理机制密切相关^[3-4]。其中调节性 T 细胞(regulatory cell, Treg)是调节机体自身免疫功能的一类 T 细胞亚群^[5], B 细胞活化因子(B cell-activating factor of the TNF family, BAFF)是一种调控机体免疫应答的 B 淋巴细胞的共刺激因子^[6],可溶性细胞间黏附分子(soluble intercellular adhesion molecule, sICAM-1)是动脉瘤 SAH 后脑血管痉挛与炎性反应中的一类细胞炎性因子^[7]。但目前临床上对三者与动脉瘤 SAH 病情发生发展的相关性研究较少,现将本研究结果报告如下。

资料与方法

一、临床资料

选择内蒙古医科大学附属医院神经外科 2015 年 3 月至 2016 年 12 月 120 例动脉瘤 SAH 患者作为观察组研究对象。120 例 SAH 患者中,男 69 例,女 51 例,年龄 21 ~ 72 岁,平均年龄(56 ± 11)岁;选择同期健康体检人群 40 例作为对照组,其中男 23 例,女 17 例,年龄 26 ~ 64 岁,平均年龄(53 ± 12)岁。本研究经本院医院伦理委员会批准,并由研究对象签署知情同意书。两组患者年龄、性别比例等一般资料比较差异无统计学意义。

入选标准:(1)经影像学检查证实 SAH,并伴有剧烈的头痛;(2)有腰穿刺和脑脊液检查适应证;(3)经 DSA 及 MRI 造影确诊为动脉瘤;(4)发病

3 d 内入院,并接受相关治疗;(5)可较好的配合检查,并签署知情同意书。排除标准:(1)出血日不明确或入院前已经出血超过 3 d;(2)病情严重,预计可能在 72 h 内死亡者;(3)排除外伤性、高血压性 SAH 及合并有颅内出血、颅内感染、颅内肿瘤及其他颅内病变者;(4)合并有严重的心、肺、肝、肾功能障碍者;(5)合并有凝血障碍、恶性肿瘤及精神病者。

二、方法

1. 检测方法:分别在患者发病后 3、5、7、10 和 14 d 内应用常规腰椎穿刺抽取脑脊液 3 ml,离心半径 10 cm,3 000 r/min,离心机离心 10 min,取上清液装试管,低温保存,集中检测,取 3 组平均值比较。流体细胞仪检测方法:CD4-PE 及 CD25-FITC 抗体购自南京建城生物工程研究所,腰椎穿刺采集研究对象脑脊液标本,抗凝后采用流式细胞仪(德国产 Beckman Coulter 色流式细胞仪)检测 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平。使用酶联免疫吸附法(ELISA)检测白细胞介素 10 (IL-10),白细胞介素 6,转化生长因子(TGF- β)、sICAM-1 及 BAFF 水平。试剂盒均采购于江莱生物科技有限公司,严格按试剂盒内的说明书操作。

2. 评价方法:按照 Hunt-Hess 五级分类法对本研究动脉瘤 SAH 患者进行分级。I 级:无症状或者仅有轻微头痛,脑膜刺激征轻;II 级:少量出血,中-重度头痛,脑膜刺激征明显,但无重要神经功能障碍;III 级:出血量中等,昏睡继而根据对照组重新统计了原始数据资料出血量中等以上,木僵,中或重度偏侧不全麻痹,可能有早期的去脑强直及自主神经功能障碍;V 级:出血严重,深昏迷,去大脑皮质强直,对刺激反应消失,病例呼吸循环等。以上 120

例 SAH 患者含 I 级 25 例, II 级 46 例, III 级 25 例, IV 级 18 例, V 级 6 例。并以此作为判断评价 SAH 病情严重程度的标准, 作为应变量进行相关性分析。

三、统计学分析方法

使用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据分析, 脑脊液 CD4⁺ CD25⁺ Treg、sICAM-1 及 BAFF 水平以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间 CD4⁺ CD25⁺ Treg、sICAM-1 及 BAFF 比较采用 *t* 检验, 三组不同病情程度 SAH 患者 Treg、sICAM-1 及 BAFF 水平比较采用 One Way ANOVA 检验, CD4⁺ CD25⁺ Treg 与 SAH 病情程度、sICAM-1、BAFF 相关性分析采用 Pearson 参数法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、两组脑脊液 CD4⁺ CD25⁺ Treg、sICAM-1 及 BAFF 水平比较

结果显示, 观察组 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); sICAM-1 及 BAFF 水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 1)

二、不同病情程度 SAH 患者 CD4⁺ CD25⁺ Treg、sICAM-1 及 BAFF 水平比较

结果显示, 随着 Hunt-Hess 分级的增加, SAH 患者 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平呈逐渐降低趋势, sICAM-1 及 BAFF 水平呈逐渐上升趋势, 3 组比较有统计学差异 ($P < 0.05$, 表 2)

三、Pearson 相关性分析

结果显示, CD4⁺ CD25⁺ Treg 与 SAH 病情程度呈负相关 ($r = -0.824, P < 0.05$)、sICAM-1、BAFF 水平与病情程度成正相关 ($r = 0.922, 0.472, P < 0.05$)。

讨 论

临床上 SAH 分为自发性蛛网膜下腔出血和外伤性蛛网膜出血两类, 其中自发性蛛网膜下腔出血最常见的病因是颅内动脉瘤, 约占 50% ~ 85%^[8-9]。颅内动脉瘤是由于脑动脉管壁的先天性缺陷以及血管腔内压力增高所致囊性膨出, 多在患者咳嗽过猛、情绪激动时发病^[10-11]。目前对于动脉瘤的病因尚不清楚。近年来, 随着对动脉瘤的研究深入, 发现免疫和炎症因素是颅内动脉瘤的重要致病因素, 参与了动脉瘤发生发展的病理过程^[12-14]。此过程中, CD4⁺ CD25⁺ Treg 可由 CD4 和 CD25 细胞分泌 TGF- β 及 IL-10 作为特征性细胞因子, 而 TGF- β 及 IL-10 是实现免疫调节功能的重要因子, 是作为调节性 T 细胞执行免疫功能的物质基础^[15]。研究证实, TGF- β 是一种血管生长因子, 其水平降低可导致血管内皮损伤, 是血管内膜稳定性降低, 进而引起机体过度的炎症反应, 导致动脉瘤破裂发生 SAH, 且出血发生后仍然参与继发性免疫反应, 是脑血管痉挛的重要炎性介质之一^[16]。ICAM-1 是白细胞功能相关抗原配子, 在血管内皮反应和血栓形成过程中含量最高, 可介导白细胞与血管内皮细胞的黏附, 其水平的升高是白细胞和内皮细胞损害或启动的标志^[17]。另外 BAFF 是一种促炎细胞因子, 被认为是一种类似 C 反应蛋白的物质, 可反应机体的炎症水平^[18]。

本研究对 CD4⁺ CD25⁺ Treg、sICAM-1 及 BAFF 在 SAH 发生发展中的作用进行探讨, 结果显示, SAH 患者 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平较健康体检人群降低, 而 sICAM-1 及 BAFF 水平则增高。Hunt-Hess 分级越高, SAH 患者 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平越低,

表 1 两组脑脊液 CD4⁺ CD25⁺ Treg、sICAM-1 及 BAFF 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg (%)	sICAM-1 (pg/ml)	BAFF (pg/ml)
观察组	120	2.52 ± 0.73	853.25 ± 155.36	586.23 ± 163.73
对照组	40	4.52 ± 1.08	315.65 ± 132.58	272.66 ± 142.58
<i>t</i> 值		-12.563	19.569	11.426
<i>P</i> 值		< 0.01	< 0.01	< 0.01

表 2 不同病情程度 SAH 患者 CD4⁺ CD25⁺ Treg、sICAM-1 及 BAFF 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg (%)	sICAM-1 (pg/ml)	BAFF (pg/ml)
I ~ II 级	71	3.12 ± 0.82	627.21 ± 152.56	395.32 ± 162.53
III 级	25	2.42 ± 1.05	794.78 ± 106.36	589.62 ± 170.43
IV ~ V 级	24	1.28 ± 0.61	896.56 ± 110.52	789.61 ± 173.52
<i>F</i> 值		7.214	12.372	11.581
<i>P</i> 值		< 0.01	< 0.01	< 0.01

sICAM-1 及 BAFF 则越高。提示 CD4⁺CD25⁺Treg、sICAM-1 及 BAFF 与动脉瘤 SAH 患者的严重程度存在一定的相关性。相关性检验结果提示, CD4⁺CD25⁺Treg 与 SAH 病情程度呈负相关($P < 0.05$)、sICAM-1、BAFF 水平与病情程度成正相关($P < 0.05$)。这为动脉瘤 SAH 免疫-临床之间的联系提供了一定的数据支持。笔者认为, 颅内动脉瘤是一种免疫炎症反应, 从病理学研究来看, 动脉瘤瘤壁纤维组织大量增生, 组织平滑肌细胞显著降低, 管壁内外膜可见大量炎性细胞。这些大量聚集的炎性细胞可促使一系列的炎性物质如氧自由基、白细胞介素、肿瘤坏死因子以及血管内皮生长因子等过度表达, 从而引起单核细胞聚集并黏附血管壁发挥致炎作用。炎性物质可持续激活脑内的小胶质细胞、巨噬细胞、内皮细胞等保持炎症反应, 进一步对 SAH 区域和周边组织造成持续的损害^[19-20]。本组实验研究结果中 sICAM-1、BAFF 水平越高, 则提示 SAH 的预后越差。而 CD4⁺CD25⁺Treg 的数量减少, 则可能导致患者免疫抑制功能受损, 加重颅内动脉管壁持续性损伤。

综上所述, CD4⁺CD25⁺Treg 是颅内动脉瘤患者的一种保护因素, 其水平的含量降低, 动脉瘤破裂后 SAH 的风险程度增加, sICAM-1、BAFF 参与 SAH 的发生, 其水平增高可加重 SAH 的炎症反应。血管痉挛和再破裂是动脉瘤破裂后的 SAH 预后和风险的主要方面, 本研究中 CD4⁺CD25⁺Treg、sICAM-1 及 BAFF 这三类免疫因子均与 SAH 病情严重程度有关, 因此通过对这三类免疫细胞因子的检测, 可以掌握 SAH 的患者病情状况, 预测患者血管痉挛和再出血的风险, 为及时的调整治疗方案提供依据。但是本研究仍有一定的局限性, 一是病例较少, 研究时间仍然较短, 对后期 Treg、sICAM-1、BAFF 动态改变没有进行研究。另外本研究仅对 Hunt-Hess 分级的相关性研究, 对血管痉挛、GCS 评分、NIHSS 及 VAS 疼痛评分的相关性缺乏探讨。

参 考 文 献

1 Chen S, Luo J, Reis C, et al. Hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage: pathophysiology, diagnosis, and treatment[J]. Biomed Res

Int, 2017, 11(1):858-858.

- 2 孔祥溢, 关键, 李军, 等. 氧化应激促发颅内动脉瘤的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2015, 35(4):558-562.
- 3 何安邦, 周奋, 潘德岳, 等. 免疫炎症反应在颅内动脉瘤形成中的作用[J]. 国际脑血管病杂志, 2015, 23(2):107-109, 110.
- 4 Moraes L, Grille S, Morelli P, et al. Immune cells subpopulations in cerebrospinal fluid and peripheral blood of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. Springerplus, 2015, 4(1):195.
- 5 Biswas M, Sarkar D, Kumar SR, et al. Synergy between rapamycin and FLT3 ligand enhances plasmacytoid dendritic cell-dependent induction of CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg[J]. Blood, 2015, 125(19):2937-2947.
- 6 Fanny M, Gombault A, Francois F, et al. B-cell activating factor regulates IL-1 and IL-17A-mediated pulmonary fibrosis in mice[J]. Rev Mal Respir, 2015, 32(3):311-311.
- 7 杨福义, 高涵, 赵梓涵. TNF- α 和sICAM-1在颅内动脉瘤的表达[J]. 黑龙江医药科学, 2016, 39(3):53-54.
- 8 陈佳琦, 陈慧敏. 颅内动脉瘤诊疗的研究现状和进展[J]. 临床荟萃, 2014, 12(5):589-592.
- 9 马恒飞, 朱洁, 李灵军, 等. 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[J]. 介入放射学杂志, 2015, 24(11):939-942.
- 10 丛大伟, 张雪峰, 王束玫. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的防治探讨[J]. 滨州医学院学报, 2017, 40(1):36-38.
- 11 姚亮, 曹永胜. 复杂颅内动脉瘤的血管内治疗现状与进展[J]. 安徽医学, 2015 (1): 118-121, 122.
- 12 梁仔, 罗赛华. 自发性蛛网膜下腔出血患者CD4⁺CD25⁺调节性T细胞变化特点与意义[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(8):1213-1216.
- 13 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(7):425-427.
- 14 姚鹏飞, 程刚, 高晨, 等. 炎症在颅内动脉瘤形成和破裂中的作用和机制[J]. 国际脑血管病杂志, 2016, 24(3):275-278.
- 15 刘小飞, 段永红, 廖勇仕, 等. 破裂颅内动脉瘤患者动脉瘤壁AIF-1, MMP-9和COX-2表达上调[J]. 国际脑血管病杂志, 2016, 24(9):833-838.
- 16 Schoenhoff FS. Increased TGF- β signaling precedes aneurysm formation in SMAD3 deficient mice[J]. EBioMedicine, 2016, 9(12):26-27.
- 17 Fan XJ, Zhao HD, Yu G, et al. Role of inflammatory responses in the pathogenesis of human cerebral aneurysm[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(3):9062-9070.
- 18 邱友燕. 1型糖尿病患者血清B细胞活化因子水平改变及临床意义初探[D]. 广州医科大学, 2014.
- 19 McBride OM, Joshi NV, Robson JM, et al. Positron emission tomography and magnetic resonance imaging of cellular inflammation in patients with abdominal aortic aneurysms[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2016, 51(4):518-526.
- 20 Motoki T, Kurobe H, Hirata Y, et al. PPAR- γ agonist attenuates inflammation in aortic aneurysm patients[J]. Gen Thorac Cardiovasc Surg, 2015, 63(10):565-571.

(收稿日期: 2017-04-25)

(本文编辑: 李少婷)

李淑雯, 吕亮亮. 脑脊液中 CD4⁺CD25⁺Treg、sICAM-1 及 BAFF 与动脉瘤蛛网膜下腔出血相关性研究[J/CD]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2017, 7 (5): 287-290.