

龙寿丹对急性脑梗塞患者血清肿瘤坏死因子及循环内皮细胞含量的影响*

吴苏宁 刘顺兴 赵瑞平 张晓霞 刘传玉

内容提要 目的:研究龙寿丹对急性脑梗塞(ACI)患者血清肿瘤坏死因子(TNF)及循环内皮细胞(CEC)含量的影响,进一步探讨龙寿丹治疗脑梗塞有效的作用机制,为龙寿丹治疗脑梗塞的临床应用提供理论依据。方法:采用放射免疫分析法检测 40 例 ACI 患者服用龙寿丹前后血清 TNF- α 和 CEC 的含量,并与 20 例未服用龙寿丹的 ACI 患者及 20 名健康人作对照。结果:(1) ACI 患者血清 TNF- α 和 CEC 含量明显高于健康组,且增高的程度与梗塞灶大小密切相关,梗塞灶越大,其含量越高。(2) ACI 患者血清 TNF- α 与 CEC 呈正相关($r=0.68, P<0.01$)。(3) 4 周后两组 ACI 患者血清 TNF- α 及 CEC 含量均降低,但治疗组降低更明显,与对照组比较具有显著性差异($P<0.01$)。结论:龙寿丹降低了 ACI 患者血清中增高的 TNF- α 及 CEC,减轻了脑血管内皮细胞的损害,对脑血管内皮细胞及缺血神经元具有保护作用。

关键词 龙寿丹 急性脑梗塞 肿瘤坏死因子 循环内皮细胞

Effect of Longshoudan on Serum Tumor Necrosis Factor and Circulating Endothelial Cell Levels in Acute Cerebral Infarction Patients WU Suning, LIU Shunxing, ZHAO Ruiping, et al *The First People's Hospital, Jinning Municipal, Shandong (272111)*

Objective: To investigate the effect of Longshoudan (LSD) on the serum tumor necrosis factor (TNF) and circulating endothelial cell (CEC) levels in acute cerebral infarction (ACI) patients, and the mechanism of LSD in treating ACI. **Methods:** The levels of serum TNF- α and CEC in 40 ACI patients before and after LSD oral administration were measured by radioimmunoassay, and compared with 20 routinely treated ACI patients, and 20 healthy subjects as control group. **Results:** (1) The levels of serum TNF- α and CEC in ACI patients were significantly higher than those in the control group, there was significant correlation between the increased extent and infarction size, the larger the size, the higher the levels of serum TNF- α and CEC; (2) In ACI patients, the serum TNF- α level was positively correlated with CEC level ($r=0.68, P<0.01$); (3) The serum TNF- α and CEC level of all ACI patients after 4 weeks were reduced, and LSD treated group was significantly lower than that of routinely treated group ($P<0.01$). **Conclusion:** LSD could protect cerebrovascular endothelial cells and ischemic neurons through lowering the increased levels of serum TNF- α and CEC in ACI patients, and alleviate the damage of cerebrovascular endothelial cells

Key words Longshoudan, acute cerebral infarction, tumor necrosis factor, circulating endothelial cell

肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)作为一种多功能的细胞因子,不仅在抗肿瘤、抗病毒方面起重要作用,而且与缺血性脑血管病关系密切。近年来研究发现 TNF 对体外培养的血管内皮细胞有损伤作用⁽¹⁾。而内皮细胞的损伤在脑梗塞的发生发展过程中起重要作用。循环内皮细胞(circulating endothelial cell, CEC)是目前在活体内评价血管损伤的唯一的特异而直接的指标⁽²⁾。因此,研究 TNF- α 在缺血性脑血管病中的作用,探索拮抗 TNF- α 及保护血管内皮的措

施,对缺血性脑血管病的防治将具有重要意义。为此,我们对急性脑梗塞(ACI)患者给予龙寿丹治疗,研究龙寿丹对 ACI 患者血清 TNF- α 及 CEC 含量的影响,进而探讨龙寿丹治疗缺血性脑血管病的作用机制。

资料与方法

1 临床资料 全部病例均系 1998~1999 年我院首次发病在 1 周内住院的 ACI 患者。诊断依据 1996 年全国脑血管病学术会议修订的诊断标准⁽³⁾,并经 CT 或 MRI 证实。共 60 例,男 37 例,女 23 例;年龄 41~78 岁,平均(58.6 $\pm$ 8.8)岁。60 例 ACI 患者随机分为治疗组和对照组,治疗组 40 例,男 25 例,女 15 例;年

* 本课题为山东省中医药管理局资助项目(No.9722008)
山东省济宁市第一人民医院神经内科(山东 272111)

龄 43 ~ 78 岁,平均(59.1 ± 9.2)岁;神经功能缺损评分⁽⁴⁾为(18.3 ± 13.5)分;梗塞程度(梗塞直径 < 1.5 cm 为小灶,梗塞直径在 1.5 ~ 4 cm 之间为中灶,梗塞直径 > 4 cm 为大灶);治疗组小灶 19 例,中灶 14 例,大灶 7 例;对照组 20 例,男 12 例,女 8 例;年龄 41 ~ 76 岁,平均(57.6 ± 9.4)岁;神经功能缺损评分为(11.0 ± 13.0)分;小灶 10 例,中灶 7 例,大灶 3 例。排除标准:(1)近 2 个月内有感染史;(2)伴免疫性疾病或恶性肿瘤;(3)伴血液系统疾病;(4)有严重的心、肝、肾疾病;(5)入院后有明显感染症状者。同时选取健康查体 20 名作为健康组,其中男 14 名,女 6 名;年龄 34 ~ 76 岁,平均(54.2 ± 9.4)岁。

2 方法 对照组给予甘露醇,胞二磷胆碱,阿司匹林,维生素 E 等常规治疗;治疗组除常规治疗外,加服龙寿丹[龙寿丹为纯中药制剂,200 mg/粒,其组分含量为蚓激酶 60 mg/粒(30%),中药提取物 140 mg/粒(70%),按黄芪 40: 丹参 2: 当归 2: 赤芍 2: 川芎 1: 桃仁 1: 红花 1 比例组成。由华能集团山东济宁华能生科有限公司生产,批号 971013],每日 3 次,每次 3 粒,共 4 周。两组均禁用钙离子拮抗剂及扩血管药物。所有 ACI 患者入院后次日清晨(治疗前)及 4 周后(治疗后)空腹取肘静脉血 6.5 ml。健康对照组于上午 8:00 空腹取肘静脉血 6.5 ml,将其中 2 ml 1500 r/min 离心 10 min,分离血清, - 20℃ 保存备用。TNF-α 药盒购自北京东亚免疫技术研究所,操作严格按说明书进行。用 Hladovec 等⁽⁵⁾建立的方法分离和计数 CEC。单位: n/0.9 μl。用 Iwata 等⁽⁶⁾免疫荧光标记法进行鉴定,证实该细胞是 CEC。

3 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,配对 *t* 检验及直线相关分析,由 Microsoft Excel 97 软件处理。

结 果

1 ACI 患者治疗前后血清 TNF-α 及 CEC 含量比较 见表 1。治疗组及对照组血清 TNF-α 及 CEC 含量明显高于健康组($P < 0.01$)。治疗组及对照组治疗后血清 TNF-α 及 CEC 均较治疗前明显下降($P < 0.01$),但治疗组血清 TNF-α 及 CEC 较对照组下降更明显,两组比较有显著性差异($P < 0.01$)。

2 龙寿丹对不同梗塞灶患者血清 TNF-α 及 CEC 含量的影响 见表 2。治疗组血清 TNF-α 及 CEC 增高的程度与梗塞灶大小密切相关。梗塞灶越大者,血清 TNF-α 及 CEC 含量越高。服龙寿丹后不同梗塞灶的血清 TNF-α 及 CEC 均明显降低($P < 0.01$)。

3 60 例 ACI 患者血中 CEC 与 TNF-α 呈正相关, ($r = 0.68, P < 0.01$)。

表 1 ACI 患者治疗前后血清 TNF-α 及 CEC 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数		TNF-α(μg/L)	CEC(n/0.9μl)
治疗	40	治前	3.15 ± 0.60 [*]	1.91 ± 0.75 [*]
		治后	2.22 ± 0.55 [*] △△	1.19 ± 0.54 [*] △△
对照	20	治前	3.22 ± 0.65 [*]	1.96 ± 0.71 [*]
		治后	2.67 ± 0.49 [*] △	1.61 ± 0.50 [*] △
健康	20		1.76 ± 0.17	0.50 ± 0.46

注:与健康组比较,^{*} $P < 0.01$;与本组治疗前比较,[△] $P < 0.01$;与对照组治疗后比较,^{△△} $P < 0.01$

表 2 不同梗塞灶的 ACI 患者服龙寿丹前后血清 TNF-α 及 CEC 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

	例数		TNF-α(μg/L)	CEC(n/0.9μl)
小灶	19	治前	2.67 ± 0.33	1.47 ± 0.44
		治后	1.75 ± 0.21 [*]	0.86 ± 0.29 [*]
中灶	14	治前	3.43 ± 0.33 [△]	2.04 ± 0.62 [△]
		治后	2.44 ± 0.24 [*]	1.27 ± 0.40 [*]
大灶	7	治前	3.87 ± 0.41 ^{△△}	2.83 ± 0.77 ^{△△}
		治后	3.06 ± 0.29 [*]	1.96 ± 0.51 [*]

注:与同梗塞灶治疗前比较,^{*} $P < 0.01$;与小梗塞灶者比较,[△] $P < 0.01$;与中梗塞灶者比较,^{△△} $P < 0.01$

讨 论

TNF 是一种具有多种生物学功能的细胞因子,主要由激活的单核巨噬细胞分泌,脑组织内星形细胞,小胶质细胞,神经元亦可产生 TNF。实验研究表明局部缺血的脑组织在缺血期间 TNF-α 基因表达呈显著的增强⁽⁷⁾。向大鼠静脉内注射脂多糖,可使血清 TNF-α 增高,作脑室内注射,则脑脊液中的 TNF-α 比血清中明显增高⁽⁸⁾。表明 TNF 在缺血时的产生是通过两种途径完成的,即循环巨噬细胞的激活 TNF-α 表达及神经组织缺血后的胶质细胞和神经元 TNF-α 的表达。

本研究发现 ACI 患者血清 TNF-α 明显高于健康组,且与梗塞灶大小密切相关,梗塞灶越大者,其 TNF-α 含量越高。提示 TNF-α 参与了脑梗塞的病理生理过程。Feuerstein 等⁽⁹⁾将 TNF 直接注入脑实质,引起毛细血管损伤,形成毛细血管周围水肿和白细胞粘附毛细血管。TNF 在缺血前注入脑室系统,可增加神经缺损和组织的损伤程度。表明 TNF-α 与缺血性中风关系密切,TNF-α 可能是影响缺血性中风发病和进展过程的重要因素。因此,ACI 时 TNF-α 的升高不能忽视,应给予适当的治疗,以减轻 TNF-α 所致的病理损害。

最近研究报道,在大脑中动脉闭塞前脑室给予 TNF-α 抗体,可以减轻皮层和皮层下损伤,改善神经

功能,并认为抗 TNF- α 抗体可以保护脑免受再灌注损伤^[10]。为了抑制脑缺血时 TNF- α 的升高,减轻 TNF- α 对神经元及血管的损害作用,我们对 40 例 ACI 患者给予龙寿丹治疗。结果发现治疗后血清 TNF- α 较治疗前明显降低。服龙寿丹的治疗组与未服龙寿丹的对照组相比,血清 TNF- α 降低更明显($P < 0.01$)。提示龙寿丹降低了 ACI 患者增高的 TNF- α 水平,从而对缺血脑组织具有保护作用。

血管内皮细胞位于血液和组织之间,对维持人体的正常生理功能起着重要作用。正常情况下,由于血管壁新陈代谢过程中血管内皮细胞脱落至血液中,CEC 数值是相对稳定的,而在机体受到某些理化因素的刺激,如高血压、动脉硬化、缺血及炎性因子等都有可能损伤内皮细胞,使 CEC 含量增多,而内皮细胞结构和功能障碍是脑梗塞发生发展的病理基础。沙志一等^[11]研究发现,TNF 对人脐静脉血管内皮细胞(HVEC)有损伤作用,对 HVEC 的增殖有抑制作用,从而抑制了内皮细胞损伤的修复。新近研究表明^[12],脑微血管内皮细胞的几乎所有功能都受缺血的影响,不仅影响血脑屏障的功能,而且还产生一些对大脑有毒的物质。脑血管内皮细胞的损害既是脑缺血损害的结果,又可加重缺血性脑损害。因此,保护内皮细胞的研究,对于缺血性脑血管病的治疗和预防具有重要意义。

本研究发现 ACI 患者 CEC 含量明显高于健康组。CEC 与 TNF- α 呈较强的正相关($r = 0.68$)。提示 TNF- α 的增多可加重血管内皮细胞的损害,而血管内皮细胞的损害又可产生更多的 TNF- α ,两者形成恶性循环,加重缺血神经元的损害。因此,阻断这种恶性循环,将有利于 ACI 的治疗,近年来研究发现某些中药成分对内皮细胞有保护作用,包括山莨菪碱、人参皂甙、黄芩甙^[12]。本研究 ACI 患者服用龙寿丹的治疗组较未服用龙寿丹的对照组 CEC 含量明显降低($P < 0.01$)。提示龙寿丹对血管内皮细胞具有保护作用。

龙寿丹降低 ACI 患者血清 TNF- α 及 CEC 的机制尚不清楚。龙寿丹是采用现代生物技术和先进的中药萃提工艺,从传统的中药地龙中提取蚓激酶及从黄芪、当归等提取有效成分,配制成复方制剂,具有补气、活血通络等作用。中医学认为:气行则血行,气滞则血瘀,补气才能活血通络。因此推测龙寿丹通过活血化

瘀,改善血液循环,从而抑制了单核巨噬细胞及脑组织分泌 TNF- α ,保护了血管内皮细胞,阻断了 TNF- α 与血管内皮细胞损伤的恶性循环。尽管其作用机制尚需进一步阐明,但本研究结果提示,用龙寿丹拮抗升高的 TNF- α 及减轻脑血管内皮细胞的损伤,治疗缺血性脑血管病,将有助于改善患者的血液循环,减轻神经元的缺血性损害。龙寿丹拮抗 TNF- α 及保护血管内皮细胞的作用,可能是龙寿丹治疗 ACI 有效的重要机制。

参 考 文 献

1. 沙志一,金惠铭.肿瘤坏死因子对体外培养的血管内皮细胞的作用.中国病理生理杂志 1995;11(5):455—459.
2. Hladovec J, Prerovsky I. Endothelial lesion in hypertension. *Cor Vasa* 1989;31(1):51—54.
3. 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.中华神经科杂志 1996;29(6):379—380.
4. 陈清棠.脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准.中华神经科杂志 1996;29(6):381—383.
5. Hladovec J, Pavel Rossmann. Circulating endothelial cells isolated together with platelets and the experimental modification of their counts in rats. *Thrombosis Research* 1973;3:665—674.
6. Iwata Y, Kuzuya F, Hayakawa M, et al. Circulating endothelial cells fail to induce cerebral infarction in rabbits. *Stroke* 1986;17:506—509.
7. Liu T, Clark R, Yong PR. Tumor necrosis factor in ischemic neurons. *Stroke* 1994;25:1481—1488.
8. Siven AL, Liu Y, Feuerstein G, et al. Increased release of tumor necrosis factor- α into the cerebrospinal fluid and peripheral circulation of aged rats. *Stroke* 1993;24:880—888.
9. Feuerstein G, Wang X, Barone FC. Cytokines in brain ischemia: the role of TNF- α . *Cell Mol Neurobiol* 1998;18(6):695—701.
10. Lavine SD, Hofman FM, Zlokovic BV. Circulating antibody against tumor necrosis factor- α protects rat brain from reperfusion injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18(1):52—58.
11. Betz AL. Alterations in cerebral endothelial cell function in ischemia. *Adv Neurol* 1996;71:301—311.
12. 王毅,朱佩芳,王正国,等.黄芩甙对内皮细胞保护作用及其生化机理.中国中医急症 1994;3(6):260—263.

(收稿:1999-07-26 修回:1999-11-01)