

# 化痰通络颗粒对脑梗死患者外周血细胞因子信号转导抑制因子-3及肿瘤坏死因子- $\alpha$ 的影响

方美凤 谭峰 张忻 刘晓林 王学文

**摘要** **目的** 观察化痰通络颗粒对风痰瘀阻型急性脑梗死 (ACI) 患者外周血细胞因子信号转导抑制因子-3 (SOCS-3) 及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 表达的影响。**方法** 66例发病72 h内的风痰瘀阻型ACI患者随机分为两组, 治疗组34例口服化痰通络颗粒加基础治疗, 对照组32例仅基础治疗; 用酶联免疫分析法 (ELISA) 测定两组ACI患者治疗前及治疗后第3、7天血清SOCS-3水平, 用化学发光法检测两组治疗前及治疗后第7天血清TNF- $\alpha$ 水平, 并与20名健康人作比较, 同时用Barthel指数、NIHSS评分法评价两组治疗前及治疗后第7、14、21天神经功能缺损程度的变化。**结果** 两组患者治疗前及治疗后第3、7天血清SOCS-3、治疗前及治疗后第7天TNF- $\alpha$ 水平均显著高于健康人组 ( $P<0.05$ )。治疗第7天时治疗组SOCS-3水平 (ng/L,  $360.98 \pm 123.31$ ) 高于对照组 ( $281.87 \pm 133.66$ ,  $P<0.05$ ), TNF- $\alpha$ 水平 (ng/L,  $35.72 \pm 19.94$ ) 低于对照组 ( $49.86 \pm 34.79$ ,  $P<0.05$ ); 治疗第7、14天时治疗组NIHSS评分低于对照组 ( $P<0.05$ ), Barthel指数评分治疗组治疗后第14、21天高于对照组 ( $P<0.05$ )。**结论** 化痰通络颗粒促进风痰瘀阻型ACI患者神经功能恢复的作用可能与上调炎症抑制因子SOCS-3与下调促炎因子TNF- $\alpha$ 水平, 减轻脑缺血继发的炎症损伤等机制密切相关。

**关键词** 急性脑梗死; 风痰瘀阻型; 外周血细胞因子信号转导抑制因子-3; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 化痰通络颗粒

**Effects of Huatan Tongluo Granule on SOCS-3 and TNF- $\alpha$  Expressions in Patients with Acute Cerebral Infarction** FANG Mei-feng, TAN Feng, ZHANG Xin, et al *Neurology Department, Foshan Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangdong (528000)*

**ABSTRACT** **Objective** To observe the effect of Huatan Tongluo Granule (HTG) on the expression of suppressors of cytokine signaling-3 (SOCS-3) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) in patients with acute cerebral infarction (ACI) of phlegm-wind-stasis obstruction (PWSO) syndrome type. **Methods** Sixty-six ACI patients of PWSO type admitted within 72 h were randomized into the treatment group (34 cases) and the control group (32 cases), they were treated with foundational therapeutics, but HTG was given additionally to patients in the treatment group. SOCS-3 expression was detected by ELISA before treatment (d0) and on the 3rd (d3) and 7th day (d7) of treatment; TNF- $\alpha$  expression was detected by chemiluminescence at d0 and d7. Data were compared with the respective parameters obtained from 20 healthy persons as normal control. Meantime, the degree of neuro-deficit in the two groups was evaluated by NIH Stroke scale and Barthel index on d0, d7, d14 and d21. **Results** SOCS-3 expression at d0, d3, d7; and TNF- $\alpha$  expression at d0, d7 were higher in the two patients' groups significantly than in normal controls ( $P<0.05$ ). As compared with the control group, on d7, SOCS-3 expression was higher ( $360.98 \pm 123.31$  ng/L vs.  $281.87 \pm 133.66$  ng/L) and TNF- $\alpha$  expression was lower ( $35.72 \pm 19.94$  ng/L vs.  $49.86 \pm 34.79$  ng/L), while the NIHSS score on d7 and d14, as well as the Barthel index on d14 and d21 were lower in the treatment group (all  $P<0.05$ ). **Conclusions** The acting mechanism of HTG for promoting nerve function recovery of ACI patients is possibly and closely related with the up-regulation of the inflammation suppressive factor SOCS-3, the down-regulation of the inflammation promoting factor TNF- $\alpha$ , and the elimination of secondary inflammatory injury after cerebral ischemia.

**KEYWORDS** acute cerebral infarction; phlegm-wind-stasis obstruction type; suppressors of cytokine signaling-3; tumor necrosis factor-alpha; Huatan Tongluo Granule

基金项目: 广东省卫生厅基金资助项目 (No.01JJY2037); 国家重点基础研究发展计划分项目 (No.2003CB517102)

作者单位: 广州中医药大学附属医院佛山市中医院神经内科 (广东 528000)

通讯作者: 谭峰, Tel: 0757-82028678, E-mail: tanfeng8208@163.com

细胞因子信号转导抑制因子-3 (suppressors of cytokine signaling-3, SOCS-3) 作为新的神经保护标志物, 与脑缺血后炎性损伤的关系是近些年来研究的热点<sup>[1]</sup>。新近研究表明, 急性脑梗死 (acute cerebral infarction, ACI) 炎症反应不仅与肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor-alpha, TNF- $\alpha$ ) 等促炎症反应因子有关, 而且还与炎症负性调控因子SOCS-3的影响密切相关<sup>[1]</sup>。化痰通络颗粒由法半夏、天麻、白术、三七粉、丹参、香附、酒大黄等中药研制而成, 具有祛风化痰、活血通络功能, 治疗风痰瘀阻型中风患者收效较著<sup>[2]</sup>, 但其作用机制尚未阐明。本研究采用酶联免疫、化学发光等方法观察化痰通络颗粒对风痰瘀阻型ACI患者SOCS-3及TNF- $\alpha$ 水平及神经缺损程度的影响, 旨在为化痰祛瘀通络颗粒治疗ACI的临床应用提供科学依据。

资料与方法

1 一般资料 ACI的诊断按照1995年第四届全国脑血管学术会议修订的统一标准<sup>[3]</sup>, 风痰瘀阻型中风的中医诊断参照1994年全国中医脑病急症科研协作组制定的中风病辨证诊断标准<sup>[4]</sup>。选择2008年6月-2009年3月入住我院神经内科初次发病72 h内的风痰瘀阻型ACI患者66例, 男34例, 女32例, 年龄40~80岁, 平均(65.67±11.12)岁; 全部病例经头颅CT或MRI扫描证实, 均属ACI按牛津郡社区卒中计划(Oxfordshire Community Stroke Project, OCSP)分型中的前循环梗死; 入院时患者美国国立健康研究所制定的急性脑卒中评定表(NIH Stroke Scale, NIHSS)分值5~22分; 按入院时间顺序采用完全随机数字表法将入选病例分为治疗组(34例)和对照组(32例)。所有病例发病前2周内无炎性病变史、入院时无发生感染性疾病(如严重的上呼吸道感染、肺炎、高热等), 未服用抗炎药物(如非类固醇消炎镇痛药和类固醇)或免疫抑制剂; 无认知功能障碍, 除外急性心肌梗死、血液病、肿瘤、严重糖尿病、周围血管栓塞疾病、活动性肺结核、自身免疫疾病、严重的肝肾功能不全、出现上消化道大出血者; 脑梗死灶体积按Pullicino公式<sup>[5]</sup>(长×宽×CT或MRI扫描阳性层数/2)计算, 根据计算结果分为大体积梗死灶(>10 cm<sup>3</sup>)、中体积梗死灶(5~10 cm<sup>3</sup>)、小体积梗死灶(<5 cm<sup>3</sup>)3型。另选同期健康体检者20名作为正常对照, 其中男11名, 女9名; 年龄40~74岁, 平均(59.00±5.80)岁, 均无心、脑、肝、肾、肺、高血压、糖尿病等疾患。治疗组和对照组的基线比较(见表1), 两组间比较差异无统计学意义。

表1 两组ACI患者一般资料比较

组别	例数	男(例)	女(例)	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	梗死灶大小(例)		
					大	中	小
治疗	34	19	15	63.36±10.63	6	14	14
对照	32	15	17	65.67±11.11	7	12	13

2 治疗方法 对照组采用内科基础治疗, 口服拜阿司匹林100 mg/次, 每日1次。注射用盐酸川芎嗪(粉针剂, 每支40 mg, 哈尔滨三联药业有限公司生产, 生产批号080622)120 mg加入5%葡萄糖注射液或0.9%氯化钠注射液250 mL中, 每日1次静脉滴注, 共14天。其他有控制血压、颅内压管理、调控血糖、调节水电解质平衡等一般治疗。

治疗组在内科基础治疗上加化痰通络颗粒[广东三九医药有限公司生产, 由法半夏1 g(相当于饮片6 g)、天麻2 g(相当于饮片12 g)、白术2 g(相当于饮片12 g)、三七粉4 g(相当于饮片3 g)、丹参4.5 g(相当于饮片30 g)、香附1 g(相当于饮片10 g)、酒大黄1 g(相当于饮片3 g)组成, 每袋剂量13.5 g, 含生药量76 g, 批号0811031]治疗, 每日口服2次, 每次半袋, 温开水冲服。两组疗程均为21天, 均观察1个疗程。健康人只测参考值。

3 指标监测

3.1 神经功能评分 采用盲法在治疗前和治疗后第14、21天, 由同一医师根据修订的Barthel指数(modified barthel Index, MBI)方法<sup>[6]</sup>, 对所有入选患者的日常生活活动能力(ADL)进行评定, 100分正常, 75~95分为轻度功能缺陷, 50~70分为中度功能缺陷, 25~45分为严重功能缺陷, 0~20分为极严重功能缺陷。根据1989年美国国立健康研究所制定的NIHSS评分表, 采用盲法, 由同一医师在治疗前、治疗后第7、14、21天对卒中患者神经功能进行评估。NIHSS评分≤1分为正常受试者, 轻型(1~4分)、中型(5~20分)、重型(>20分)。

3.2 SOCS-3与TNF- $\alpha$ 的测定 两组患者均于治疗前及治疗后第3、7天清晨空腹抽静脉血5 mL注入2%乙二胺四乙酸(EDTA, 1:9)抗凝管中, 室温下静置0.5~1 h后离心后取血清2份, 取1份采用酶联免疫吸附法(ELISA)法对血清SOCS-3浓度进行测定。试剂盒由深圳晶美生物工程公司提供。严格按照操作说明书进行检测。另外1份血清标本用美国DPC化学发光自动分析仪测定入选患者治疗前及治疗后第7天TNF- $\alpha$ 含量, 发光试剂盒由美国DPC化学公司提供。健康人组同期空腹抽静脉血1次, 方法同上。

4 统计学方法 统计分析用SPSS 13.0 软件包处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较用t检验, 多组

表2 两组患者血清SOCS-3及TNF-α水平比较 (ng/L,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	SOCS-3			TNF-α	
		治疗前	治疗后第3天	治疗后第7天	治疗前	治疗后第7天
治疗	34	318.95 ± 138.06	477.86 ± 237.94*	360.98 ± 123.31* <sup>△▲</sup>	30.98 ± 8.78	35.72 ± 19.94 <sup>▲</sup>
对照	32	343.13 ± 125.85	444.50 ± 210.23*	281.87 ± 133.66* <sup>△</sup>	29.38 ± 15.87	49.86 ± 34.79*

注: 与本组治疗前比较, \*P<0.05; 与本组3天比较<sup>△</sup>P<0.05; 与对照组同期比较, <sup>▲</sup>P<0.05

间比较用单因素方差分析; 计数资料用 $\chi^2$ 检验。检验水准取 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。

### 结 果

1 两组患者治疗前后SOCS-3与TNF-α水平比较 (表2) 健康人组血清SOCS-3与TNF-α的测定值分别为(176.81 ± 77.88) ng/L、(8.71 ± 3.28) ng/L。两组患者治疗前、治疗后第3、7天时SOCS-3水平及治疗前、治疗后第7天TNF-α水平均明显高于健康人组 ( $P < 0.05$ )。治疗组治疗后第3天时SOCS-3水平虽高于对照组, 但差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ ); 第7天时SOCS-3水平较对照组显著增高 ( $P < 0.05$ ), TNF-α水平较对照组明显减低 ( $P < 0.05$ )。

2 两组患者治疗前后NIHSS评分及Barthel指数比较 (表3, 4) 两组治疗前NIHSS评分及Barthel指数比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 治疗后第7、14天, 治疗组NIHSS评分较对照组明显减低 ( $P < 0.05$ ); 治疗后第14、21天治疗组Barthel指数评分明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。

表3 两组患者治疗前后NIHSS评分比较 (分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	治疗前	治疗后第7天	治疗后第14天	治疗后第21天
治疗	34	8.07 ± 2.09	5.60 ± 1.99*	3.73 ± 1.49*	3.07 ± 1.86
对照	32	7.40 ± 2.23	6.67 ± 2.19	5.67 ± 2.72	4.00 ± 2.14

注: 与对照组同期比较, \*P<0.05

表4 两组患者治疗前后的Barthel指数评分比较 (分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	治疗前	治疗后第14天	治疗后第21天
治疗	34	57.22 ± 11.34	83.61 ± 19.24*	86.43 ± 20.89*
对照	32	60.31 ± 12.54	72.64 ± 18.82	73.08 ± 24.88

注: 与对照组同期比较, \*P<0.05

### 讨 论

细胞因子介导的炎症反应是ACI后脑缺血及再灌注损伤的重要环节<sup>[7]</sup>。目前, 针对ACI继发的炎症与免疫反应性脑损伤, 主要集中在如何降低促炎症反应因子的表达及减轻其对中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 神经毒性作用等方面, 而对炎症抑制因子表达的报道较少。SOCS-3是脑缺血后炎症反应的一个内源性抑制因子, 能负性调控包括IL-6、TNF-α等在内的多种促炎症反应因子的信号传导。研究表明, 脑动脉闭塞后SOCS-3的表达明显增高, 参与了脑缺血后

继发的炎症反应的调节<sup>[8-10]</sup>, SOCS-3表达增高可以提高机体对脑缺血状态的耐受<sup>[8, 11-12]</sup>。BateS等<sup>[9]</sup>发现一侧大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 12 h时, 脑梗塞半球SOCS-3水平呈高度表达, 24 h时仍高于对照组。Raghavendra等<sup>[8]</sup>的研究表明, 反义减少脑缺血诱导的SOCS-3蛋白的表达, 则明显增加脑梗塞体积, 加重神经功能缺损。给予腺病毒载体过度表达的SOCS-3, 可明显减少脑缺血模型梗塞体积<sup>[13]</sup>。黄帆等<sup>[14]</sup>发现, 脑梗死患者发病后1~6天外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) 中SOCS-3 mRNA表达明显高于正常对照组, 其蛋白质的表达在发病后第2~3天升高并达到高峰, 至第7天仍高于正常水平, 第14天降至正常水平。本研究结果显示, ACI后血清中SOCS-3的表达首先升高, 而后渐降低, 7天时仍高于健康人水平 ( $P < 0.05$ ), 说明SOCS-3参与了抑制脑缺血后炎症反应的病理过程。此与文献报道相符<sup>[14]</sup>。

TNF-α等促炎症因子通过激活胶质细胞和趋化白细胞渗透至脑缺血灶, 参与炎症反应, 是构成缺血性损伤向炎症性损伤转变的核心基础。本实验结果显示, ACI患者TNF-α表达显著增高, 治疗后第7天时仍高于健康人组, 提示ACI早期存在较强的炎症反应和免疫应答, TNF-α表达的增加是造成脑缺血过程中神经细胞损伤、变性、凋亡的重要病理机制。

研究表明, ACI早期以风痰瘀血痹阻络证为主, 法当化痰通络。资料显示, 化痰通络颗粒是治疗风痰瘀阻型ACI的有效方剂<sup>[2]</sup>。且风痰瘀阻证与炎症反应之间存在一定关系<sup>[15]</sup>。基于此, 从炎症抑制因子和促炎因子的新角度, 探讨化痰通络颗粒治疗ACI的作用机制有着非常重要的临床意义。本研究表明, 治疗组治疗后第7、14天的NIHSS评分明显低于同期对照组 ( $P < 0.05$ ) 治疗后第14、21天的Barthel指数评分明显高于同期对照组 ( $P < 0.05$ ), 提示化痰通络颗粒可改善风痰瘀阻型ACI患者神经功能学评分, 促进神经功能恢复, 并可促进炎症负性调控因子SOCS-3的表达、阻遏促炎症反应因子TNF-α表达递增, 从而减轻脑缺血后的炎症反应。此可能是化痰通络汤促进ACI患者神经功能恢复、临床疗效良好的重要机制之一。

参 考 文 献

[1] 方美凤, 谭峰. 细胞因子信号转导抑制因子-3与缺血性脑损伤[J]. 中华神经医学杂志, 2009, 8 (5): 532-534.  
Fang MF, Tan F. Suppressors of cytokine signaling-3 and ischemic brain injury[J]. Chin J Neuromed, 2009, 8 (5): 532-534.

[2] 张云玲, 王永炎, 齐治家. 运用化痰通络汤、化痰通腑汤治疗中风中经证的临床及实验研究[J]. 中国中医急症, 1995, 4 (2): 55-57.  
Zhang YL, Wang YY, Qi ZJ. The clinical and experiment study on using Huatan Tongluo Decoction and Huatan Tongfu Decoction to treat the meridional and collateral apoplexy of apoplexy[J]. J Emerg Syndr Tradit Chin Med, 1995, 4 (2): 55-57.

[3] 中华神经科学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29 (6): 379-380.  
Chinese Neuroscience Society. Various key points of cerebrovascular disease diagnosis[J]. Chin J Neurol, 1996, 29 (6): 379-380.

[4] 国家中医药管理局脑病急症科组. 中风病辨证诊断标准(试行)[J]. 北京中医药大学学报, 1991, 17 (3): 64-66.  
Cerebral Diseases and Emergencies Research Group, State Administration of Traditional Chinese Medicine. Diagnostic criteria of "apoplexy" by syndrome differentiation (trial)[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med. 1991, 17 (3): 64-66.

[5] Pullicino P, Nelson RF, Kendall BE, et al. Small deep infarcts diagnosed on computed tomography[J]. Neurology, 1980, 30 (10): 1090-1096.

[6] 李奎成, 唐丹, 刘晓艳, 等. 国内Barthel指数和改良Barthel指数应用的回顾性研究[J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24 (8): 737-739  
Li KC, Tang D, Liu XY, et al. Review of the application of Barthel index and modified Barthel index in China[J]. Chin J Rehabil Med, 2009, 24 (8): 737-739.

[7] 谭峰, 顾卫, 万赛英, 等. 不同亚型脑梗死患者hs-CRP与CD3+/HLA-DR+变化的意义[J]. 中国医师杂志, 2007, 9 (1): 12-14  
Tan F, Gu W, Wan SY, et al. Clinical study and significance of hs-

CRP and CD3+/HLA-DR+ in patients with different acute cerebral infarction subtypes[J]. J Chin Physician, 2007, 9 (1): 12-14.

[8] Raghavendra Rao VL, Bowen KK, Dhodda VK, et al. Gene expression analysis of spontaneously hypertensive rat cerebral cortex following transient focal cerebral ischemia[J]. J Neurochem, 2002, 83 (5): 1072-1086.

[9] Bates S, Read SJ, Harrison DC, et al. Characterisation of gene expression changes following permanent MCAO in the rat using subtractive hybridisation[J]. Brain Res Mol Brain Res, 2001, 93 (1): 70-80.

[10] Choi J, Shin Y, Cha J, et al. Induction of suppressor of cytokine signaling-3 in astrocytes of the rat hippocampus following transient forebrain ischemia[J]. Neurosci Lett, 2008, 441 (3): 323-327.

[11] Carmichael ST. Gene expression changes after focal stroke, traumatic brain and spinal cord injuries[J]. Curr Opin Neurol, 2003, 16 (6): 699-704.

[12] Lu A, Tang Y, Ran R, et al. Genomics of the periinfarction cortex after focal cerebral ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23 (7): 786-810.

[13] Satriotomo I, Bowen KK, Vemuganti R. JAK2 and STAT3 activation contributes to neuronal damage following transient focal cerebral ischemia[J]. J Neurochem, 2006, 98 (5): 1353-1368.

[14] 黄帆, 杨静, 仲飞, 等. 脑梗死患者外周血单个核细胞SOCS-3动态变化及临床意义[J]. 中华神经医学杂志. 2008, 7 (1): 46-50.  
Huang F, Yang J, Zhong F, et al. Dynamic changes and clinical significance of SOCS-3 in peripheral blood mononuclear cell of patients with cerebral infarction[J]. Chin J Neuromed, 2008, 7 (1): 46-50.

[15] 祝美珍. 缺血性中风病证本质的客观化研究与探讨[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2006, 4 (9): 775-776.  
Zhu MZ. The objective study and research on the essence of ischemia blood-stroke [J]. Chin J Integr Med Cardio-/cerebrovas Dis, 2006, (9): 775-776.

(收稿: 2010-02-12 修回: 2010-06-04)

欢迎订阅2011年《中国中西医结合急救杂志》

《中国中西医结合急救杂志》(ISSN 1008-9691; CN12-1312/R), 是中国科学技术协会主管, 中国中西医结合学会主办的中文核心期刊和中国科技论文统计源(科技核心)期刊, 是我国中西医结合急救医学学术期刊, 连续3年被评为“中国科协精品科技期刊工程项目资助期刊”。期刊现已进入美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、WHO西太平洋地区医学索引(WPRIMW)国际著名检索系统, 并被国内所有检索系统收录。近年来, 期刊的学术指标不断升高, 影响因子连续7年位于中国医学、中医中药类前3位。

期刊设有述评、专题讨论、论著、名老中医经验谈、研究报告、经验交流、病例报告、博士园地、治则.方剂.针灸、临床病理(病例)讨论、基层园地、消息、读者·作者·编者等栏目, 真诚欢迎各界医务工作者踊跃投稿。期刊为双月刊, 国内外公开发行, 单月28日出版, 64页, 国际通用16开, 正文采用80g双胶纸印刷, 适合各种病理图片印刷。定价: 每期10.00元, 全年60.00元, 邮发代号: 6-93, 欢迎广大读者到当地邮局办理订阅手续。过刊和散刊可在杂志社发行部购买。订阅本刊的读者如遇有本刊装订错误, 请将刊物寄回本刊社调换, 将免费为您邮寄新刊。

地址: 天津市和平区睦南道122号《中国中西医结合急救杂志》杂志社; 邮政编码: 300050; 电话: 022-23306917, 23042150; E-mail: cccm@em120.com