

· 临床研究 ·

新生儿缺氧缺血性脑病血清 caspase-1 和 IL-18 水平变化的研究

王礼周¹, 赵东菊¹, 王宏伟², 李树军¹, 张贺¹, 石太新¹, 张国林¹

(1. 新乡医学院第一附属医院小儿内科, 河南 卫辉 453100;

2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院小儿内科, 湖北 武汉 430030)

[摘要] 目的 研究新生儿缺氧缺血性脑病(HIE)时血清半胱氨酸-1(caspase-1)和白细胞介素-18(IL-18)的变化及其临床意义。方法 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测70例HIE患儿及22例正常足月新生儿第3天血清caspase-1和IL-18的水平。结果 ①新生儿HIE组血清caspase-1和IL-18明显高于对照组,两组比较差异均有显著性($P < 0.05$);②与对照组比较,轻、中、重度HIE组血清caspase-1水平明显增高($P < 0.05$, < 0.01 , < 0.01)。HIE组间两两比较,中度与轻度组比较差异有显著性($P < 0.01$);重度组与其他两组比较血清caspase-1水平均明显升高($P < 0.01$);③轻、中、重度HIE组血清IL-18与对照组比较,中、重度HIE组血清IL-18水平明显增高($P < 0.01$);HIE组间血清IL-18两两比较,中度与轻度组比较差异有显著性($P < 0.05$);重度组与其他两组比较均明显升高($P < 0.01$);④血清caspase-1与IL-18呈正相关($\gamma = 0.6677$, $P = 0.0013$)。结论 血清caspase-1水平与HIE临床分度基本一致,可作为辅助诊断HIE及协助其临床分度的可靠指标;急性期HIE血清IL-18水平的测定是早期辅助诊断HIE及判断病情严重程度的重要指标。 [中国当代儿科杂志, 2005, 7(4): 315-317]

[关键词] 缺氧缺血, 脑; 半胱氨酸蛋白酶-1; 白细胞介素-18; 婴儿, 新生

[中图分类号] R722 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2005)04-0315-03

Changes of serum caspase-1 and IL-18 concentrations in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy

Li-Zhou WANG, Dong-Ju ZHAO, Hong-Wei WANG, Shu-Jun LI, He ZHANG, Tai-Xin SHI, et al. Department of Pediatrics, First Hospital Affiliated to Xinxiang Medical College, Weihui, Henan 453100, China (Email: wlzhfl@tom.com)

Abstract: Objective To study the changes of serum concentrations of caspase-1 and IL-18 in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) and to study the correlation between caspase-1 and IL-18 and the severity of HIE. **Methods** Serum concentrations of caspase-1 and IL-18 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in 70 newborns with HIE and 22 normal control subjects. **Results** Serum concentrations of caspase-1 and IL-18 in infants with HIE were significantly higher than those in control subjects ($P < 0.05$). Both serum caspase-1 and IL-18 concentrations were associated with the severity of HIE. Severe HIE neonates had the highest serum caspase-1 and IL-18 levels, followed by moderate HIE neonates. There was a significantly positive correlation between serum caspase-1 and IL-18 levels ($\gamma = 0.6677$, $P = 0.0013$). **Conclusions** Caspase-1 and IL-18 may be useful markers for the early diagnosis of HIE and also for the evaluation of the severity of HIE.

[Chin J Contemp Pediatr, 2005, 7(4): 315-317]

Key words: Hypoxia-ischemia, brain; Caspase-1; IL-18; Infant, newborn

新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)是围产期最常见的新生儿脑损伤^[1],死亡率和致残率极高,早期诊断、正确评估脑损伤的严重程度具有重要意义。目前,临床主要根据病史、临床表现并结合影像学检查来诊断HIE及判断脑损伤程度,但往往受到一些条件的限制。研

究表明^[2],白细胞介素18(IL-18)在缺氧缺血性脑损伤(HIBD)的发病机制中起重要作用,半胱氨酸蛋白酶-1(caspase-1)通过促进IL-18的成熟而参与HIE的发病机制。Caspase-3在HIE的发病过程中也起着重要作用^[3],但需要被具有长链原结构域的caspase裂解激活再发挥作用;caspase-1具有长链原

[收稿日期]2005-02-26; [修回日期]2005-05-03

[作者简介]王礼周(1964-),男,硕士,副主任医师,副教授。主攻方向:新生儿疾病。

结构域,能够自我催化裂解活化,并启动下一步的 caspase 信号,最终激活 caspase-3^[4]。可见,在 HIE 的发病机制中 caspase-1 起着较 caspase-3 更重要的作用。鉴于有关 Caspase-1 和 IL-18 与 HIE 关系的临床研究不多,本文检测 70 例 HIE 血清 caspase-1 及 IL-18 的变化,为 HIE 的诊断及临床分度提供参数依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

HIE 组:70 例 HIE 患儿,男 39 例,女 31 例,为我院 2003 年 1 月至 2004 年 6 月新生儿病室收治的患儿。其中轻度 HIE 26 例,中度 HIE 24 例,重度 HIE 20 例,均符合 2004 年 11 月于长沙修订的新生儿 HIE 诊断标准^[5],均为足月儿,平均胎龄 39.3 周,平均体重 3.26 kg,平均日龄 58.2 h。对照组:同期分娩的正常足月新生儿,均无窒息、感染、出血及神经系统疾病等病史,共 22 例,男 13 例,女 9 例。平均胎龄 38.9 周,平均体重 3.05 kg,平均日龄 60.0 h,与 HIE 组比较差异均无显著性($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 血清样本采集 入院后 HIE 组及对照组的新生儿,在日龄 48~72 h,股静脉穿刺采血 3 mL,放入无热原和内毒素的试管内,室温下放置 1 h,1 200 r/min 离心 10 min。随即分离血清,分装于不同的 Ep 管内,−70℃ 保存备用。

1.2.2 血清 caspase-1 和 IL-18 的检测 均采用双抗体夹心 ELISA 法(caspase-1 试剂盒由瑞典 CanAg 公司提供,IL-18 试剂盒为美国 R&D 公司产品),操作严格按说明书进行。

1.3 统计学方法

采用 SPSS10.0 统计软件包建立数据库,两组间连续变量比较用 t 检验,多组间连续变量比较用方差分析。指标间作直线相关分析。所有数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清 caspase-1 和 IL-18 比较

HIE 组血清 caspase-1 和 IL-18 浓度明显高于对照组,两组比较差异均有显著性意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 HIE 组与对照组血清 caspase-1 和 IL-18 比较

分组	例数	caspase-1 (ng/mL)	IL-18 (pg/mL)
对照组	22	6.8 $\pm$ 1.8	93.7 $\pm$ 12.1
HIE 组	70	14.2 $\pm$ 2.7	138.1 $\pm$ 18.3
t		14.7583	13.1276
P		<0.05	<0.05

2.2 HIE 各组间及与对照组血清 caspase-1 和 IL-18 比较

①与对照组比较,轻、中、重度 HIE 组血清 caspase-1 水平明显增高(分别 $P < 0.05$, < 0.01 , < 0.01)。HIE 组间两两比较,中度与轻度组比较差异有显著性($P < 0.01$);重度组与其他各组比较血清 caspase-1 水平均明显升高(均 $P < 0.01$)。②与对照组比较,中、重度 HIE 组血清 IL-18 水平明显增高(均 $P < 0.01$);HIE 组间两两比较,中度与轻度组比较差异有显著性($P < 0.05$);重度组与其他两组比较均明显升高(均 $P < 0.01$),见表 2。

表 2 HIE 各组间及与对照组血清 caspase-1 及 IL-18 比较

分组	例数	caspase-1 (ng/mL)	IL-18 (pg/mL)
对照组	22	6.8 $\pm$ 1.8	93.7 $\pm$ 12.1
轻度 HIE	26	9.4 $\pm$ 2.2	106.4 $\pm$ 18.2
中度 HIE	24	13.2 $\pm$ 2.9	122.6 $\pm$ 20.7
重度 HIE	20	20.1 $\pm$ 5.9	185.3 $\pm$ 33.8
F		59.48	70.67
P		0.001	0.001

2.3 血清 caspase-1 水平与 IL-18 的相关性

以血清 caspase-1 为应变量,与 IL-18 进行直线相关分析, $\gamma = 0.6677$, $P = 0.0013$ 。结果表明,血清 caspase-1 与 IL-18 呈正相关。

3 讨论

Caspase-1 属半胱氨酸酶类,能够在特定的天冬氨酸残基位点裂解靶蛋白,对 IL-18 的成熟起着非常重要的作用。Caspase-1 以无活性的酶原形式合成,经过两个连续的蛋白水解加工过程成为活性的 Caspase-1^[6]。国外对新生鼠 HIBD 模型的研究表明,aspase-1mRNA 和蛋白的表达在 HIBD 后 1 d 开始增多,14 d 达到高峰^[2],而应用广谱 caspase 抑制剂明显减少了大鼠海马 caspase-1 的表达和死亡神经元的数目^[7]。国内研究也证明新生大鼠 HIBD 可诱导 caspase-1 mRNA 的表达^[8]。这些均表明 caspase-1 在 HIBD 进展恶化过程中发挥着极其重要

的作用。本研究显示:HIE组血清 caspase-1 升高,间接证明 caspase-1 参与了 HIBD 的发病。Caspase-1 主要由脑组织中星型胶质细胞和小胶质细胞表达并分泌,缺氧缺血刺激患儿脑胶质细胞合成分泌 caspase-1 增加^[4,9]。HIE 病情越重,脑组织中炎症反应越剧烈,诱导胶质细胞合成并释放 caspase-1 则越多,以致于大量 caspase-1 进入脑脊液。血脑屏障遭受破坏后,caspase-1 可进入血液,使血清 caspase-1 升高。从本研究结果可以看出,血清 caspase-1 的变化与 HIE 临床分度基本一致,即脑损伤越重,血清 caspase-1 水平越高。因此,作者认为血清 caspase-1 水平可作为早期辅助诊断 HIE 的可靠指标,对协助 HIE 临床分度具有重要价值。

研究发现,HIBD 均伴发炎症反应,而 IL-18 具有多种功能,是炎性致病机制的决定因子,在 HIBD 过程中起主导作用。脑组织内产生 IL-18 的细胞可能主要是小胶质细胞和星形胶质细胞^[2,10]。Caspase-1 基因缺陷鼠中没有活性 IL-18 的合成,caspase-1 表达的时间和分布模式与 IL-18 也完全一致,提示 caspase-1 是 IL-18 的活化裂解过程所必需的^[6]。IL-18 介导了 caspase-1 的致炎效应,caspase-1 主要是通过调节 IL-18 的生成而在脑缺氧缺血时发挥其致炎促损伤作用^[2]。本文结果显示,血清 caspase-1 与 IL-18 呈正相关,间接支持上述观点。动物实验发现,损伤侧脑组织 IL-18 mRNA 和蛋白的表达在再灌注后 1~14 d 逐渐增多^[2]。IL-18 可以诱导某些趋化因子和粘附分子的表达,从而吸引、粘附、激活中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞等参与缺氧缺血后脑组织的破坏;IL-18 还可以刺激 IL-1 β 、肿瘤坏死因子及 IL-8 等其他炎性细胞因子的生成,促使炎性细胞向炎性区域聚集,共同促进缺血后脑组织中的过度炎症反应^[11,12]。

IL-18 在缺氧缺血后分泌增加,是机体对缺氧缺血损伤产生免疫反应的结果^[13]。本研究结果表明,轻度 HIE 血清 IL-18 呈升高趋势,但与对照组相比差异无显著性;中、重度 HIE 组血清 IL-18 明显升高。这是因为轻度 HIE 脑损伤不严重,脑组织炎症反应不明显,故血清 IL-18 升高不明显;中、重度 HIE 脑损伤严重,脑组织炎症反应明显,胶质细胞分泌的 IL-18 通过血脑屏障大量进入血液循环,导致血清

IL-18 明显升高。由此可见,急性期 HIE 进行血清 IL-18 水平的测定是早期辅助诊断 HIE 及判断病情严重程度的重要指标。统计分析表明,HIE 患儿血清 caspase-1 与 IL-18 呈正相关。因此,联合测定 HIE 患儿血清 caspase-1 及 IL-18 的水平有助于 HIE 的早期诊断和临床分度。

[参 考 文 献]

- [1] 张家骧,魏克伦,薛辛东. 新生儿急救[M]. 北京:人民卫生出版社,2000,614.
- [2] Hedtjarn M, Leverin AL, Eriksson K, Blomgren K, Mallard C, Hagberg H. Interleukin-18 involvement in hypoxic-ischemic brain injury [J]. J Neurosci, 2002,22(14): 5910-5919.
- [3] 汤亚南,赵凤临. Caspase-3 与围产期缺氧缺血性脑损伤[J]. 中国当代儿科杂志,2002,4(1): 75-78.
- [4] Harrison DC, Davis RP, Bond BC, Campbell CA, James MF, Parsons AA, et al. Caspase mRNA expression in a rat model of focal cerebral ischemia [J]. Brain Res Mol Brain Res, 2001, 89 (1-2): 133-146.
- [5] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 新生儿缺血缺氧性脑病诊断标准[J]. 中国当代儿科杂志,2005,7(2): 97-98.
- [6] Wang J, Lenardo MJ. Roles of caspases in apoptosis, development, and cytokine maturation revealed by homozygous gene deficiencies[J]. J Cell Sci, 2000, 113 (Pt5): 753-757.
- [7] Katz LM, Lotocki G, Wang Y, Kraydieh S, Dietrich WD, Keane RW. Regulation of caspases and XIAP in the brain after asphyxial cardiac arrest in rats [J]. Neuroreport, 2001, 12 (17): 3751-3754.
- [8] 初桂兰,常丽. 新生大鼠缺氧缺血性脑损伤 caspase-1mRNA 的表达[J]. 小儿急救医学, 2004,11(1): 24-26.
- [9] Kim NG, Lee H, Son E, Kwon OY, Park JY, Park JH, et al. Hypoxic induction of caspase-11/ caspase-1/interleukin-1 β in brain microglia [J]. Brain Res Mol Brain Res, 2003,114(2): 107-114.
- [10] Schielke GP, Yang GY, Shivers BD, Betz AL. Reduced ischemic brain injury in interleukin-1 β converting enzyme-deficient mice [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1998,18(2): 180-185.
- [11] Dinarello CA, Novick D, Puren AJ, Fantuzzi G, Shapiro L, Muhl H, et al. Overview of interleukin-18: more than an interferon-gamma inducing factor [J]. J Leukoc Biol, 1998, 63 (6): 658-664.
- [12] Puren AJ, Fantuzzi G, Gu Y, Su MS, Dinarello CA. Interleukin-18 (IFN γ -inducing factor) induces IL-8 and IL-1 β via TNF α production from non-CD14 + human blood mononuclear cells [J]. J Clin Invest, 1998,101(3): 711-721.
- [13] Janders S, Schroeter M, Stoll G. Interleukin-18 expression after focal ischemia of the rat brain: association with the late-stage inflammatory response [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2002, 22 (1): 62-70.

(本文编辑:吉耕中)