

· 实验研究 ·

IL-6 和 VEGF 在慢性硬膜下血肿中的检测及意义

江敦清 宋熙文 陈世文

【摘要】目的 探讨慢性硬膜下血肿(CSDH)患者白介素-6(IL-6)和血管内皮生长因子(VEGF)表达及意义。**方法** 选取 CSDH 患者 20 例,均行钻孔引流术治疗,术中在骨孔内全层切取硬膜和血肿外膜,采用 HE 染色和免疫组化染色检查 VEGF 表达。选取同期健康体检者 10 例作为对照。采集 CSDH 患者血肿液和外周血以及对照组外周血,应用酶联免疫吸附法检测 IL-6 和 VEGF 浓度。**结果** CSDH 患者血肿外膜可见嗜酸性粒细胞、毛细血管增生及大量红细胞渗出;血肿外膜 VEGF 表达呈强阳性。CSDH 血肿液和外周血 IL-6 和 VEGF 浓度均明显高于对照组($P<0.01$),而且,CSDH 患者血肿液 IL-6 和 VEGF 浓度明显高于其外周血浓度($P<0.01$)。**结论** CSDH 患者血肿腔 IL-6 与 VEGF 含量增高,提示 IL-6 与 VEGF 可能相互促进,共同参与 CSDH 的形成。

【关键词】 慢性硬膜下血肿;白介素-6;血管内皮生长因子;病理发生

【文章编号】 1009-153X(2015)05-0287-03 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 739.41; R 73-35*4

Detection of IL-6 and VEGF levels in chronic subdural hematomas and their meanings

JIANG Dun-qing¹, SONG Xi-wen¹, CHEN Shi-wen². 1. Department of Neurosurgery, Fengcheng Branch, Affiliated Ninth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201411, China; 2. Department of Neurosurgery, Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

【Abstract】 Objective To explore the role of interleukin-6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the development of chronic subdural hematomas (CSDH) and its mechanism. **Methods** The levels of IL-6 and VEGF in outer membrane of CSDH, hematomas fluid and the serum of peripheral venous blood were detected respectively by enzyme-labelled immunosorbent assay and immunohistochemical technique in 20 patients with CSDH including 18 males and 2 females, who received the operation of burr hole and drainage (observed group) and the serum levels of IL-6 and VEGF in 10 healthy volunteers including 9 males and 1 female, who served as control group. **Results** ① There were a number of Eosinophile granulocytes and red blood cells in CSDH and the many capillaries proliferated in the outer membrane of CSDH. The high expression of VEGF was observed in the outer membrane of CSDH. ② There were insignificant difference in the serum levels of VEGF and IL-6 between both the groups ($P>0.05$). The levels of VEGF and IL-6 were significantly higher in CSDH fluid than those in the serum of the control group ($P<0.01$). **Conclusions** They are suggested that IL-6 may take part in the local inflammatory response of CSDH, VEGF may be an important factor in the formation of new vessels growth and IL-6 and VEGF may play an important role in the development of CSDH.

【Key words】 Chronic subdural hematoma; Interleukin-6; Vascular endothelial growth factor; Pathogenesis

慢性硬膜下血肿(chronic subdural hematoma, CSDH)好发于老年人,占有颅内血肿的 10%^[1],多有外伤史。其总体治疗效果较好,但仍有一定的复发率及死亡率。据报道,CSDH 术后复发率 9.2%~26.5%^[2],死亡率 1.5%~8%^[3]。CSDH 的发生机制仍不清楚。多数学者认为创伤、脑脊液和/或血液积聚于硬膜下腔引起局部炎症反应,在炎症的刺激作用下,纤维蛋白在局部沉积机化,硬膜边缘假膜以及新生毛细血管形成并增殖,反复出血,加上血肿腔内凝血

机制障碍相互作用,逐渐形成 CSDH^[4,5]。白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)是一个非常重要的炎症介质,而血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是重要促血管生长因子。本研究检测 CSDH 患者血肿外膜、血肿液以及外周血中 IL-6、VEGF 的表达,探讨它们在 CSDH 形成过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2013 年 9 月至 2014 年 3 月收治的 CSDH 患者 20 例,其中男 18 例,女 2 例;年龄 47~85 岁,平均(70±10.6)岁。有明确外伤史 17 例。头颅 CT 或 MRI 检查证实为 CSDH。2 月内无急性慢性感染性疾病史;术前未使用影响凝血、纤溶的药物;术

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2015.05.010

作者单位:201411 上海,上海交通大学附属第九人民医院奉城分院神经外科(江敦清,宋熙文);200233 上海,上海交通大学附属第六人民医院神经外科(陈世文)

前凝血功能正常。对照组 10 例,系同期门诊体检健康志愿者,2 月内无感染性疾病,其中男 9 例,女 1 例;年龄 45~81 岁,平均(63±10.8)岁。

1.2 标本采集 所有 CSDH 病例均在局麻下行颅骨钻孔冲洗引流术,术中在骨孔内全层切取硬膜和血肿外膜(约 3 mm×2 mm),置于福尔马林浸泡,同时抽取血肿液和静脉血各 3 ml。10 名志愿者各抽取外周血 3 ml,置于 3.2%枸橼酸钠抗凝(1:9)真空采血管,3 000 转/min 离心 10 min,分别取上清液及血清各 1 ml,-80 ℃冰箱低温保存待测。

1.3 检测方法 所取硬膜及血肿外膜标本石蜡包埋、切片,行 HE 染色和免疫组化染色。免疫组化染色具体过程如下:滴加一抗(抗 VEGF 兔多抗,1:100;美国 Sigma 公司),湿盒内孵育 4 ℃ 过夜,再加二抗(生物素标记的二抗,1:500),于湿盒内室温孵育 1 h;滴加试剂 C(卵白素与生物素化辣根酶各按 1:100 稀释于 PBS 中,放置 30 min 后使用)于组织切片上,湿盒内室温孵育 1 h。DAB 显色,苏木素复染,透明、封片后置于光镜下观察。血肿液及外周血 IL-6 和 VEGF 含量采用酶联免疫吸附法检测。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;采用 *t* 检验;*P*<0.05 为差异显著。

2 结果

2.1 HE 染色结果 硬膜中可见数量不等的纤维细胞及少量毛细血管;血肿外膜可见嗜酸性粒细胞,毛细血管明显增生及大量红细胞渗出。见图 1。

2.2 VEGF 免疫组化结果 硬膜中较难见到 VEGF,血肿外膜 VEGF 表达呈强阳性。见图 2。

2.3 CSDH 血肿液和外周血 IL-6 和 VEGF 含量变化详表 1、2。

3 讨论

CSDH 的发生与扩大的原因,目前存在许多争论。近年来,Stanisic 等^[6]发现 CSDH 血肿腔内炎症因子的水平呈现一种紊乱的状态,甚至存在不协调的非特异性免疫反应,使得炎症不断发展,进入恶性循环。本研究发现 CSDH 患者血肿外膜中富集嗜酸性粒细胞等炎症细胞,且毛细血管明显增生及大量红细胞渗出,血肿液 IL-6 浓度明显升高,提示 CSDH 患者存在局部炎症活跃,局部炎性反应可能推动 CSDH 的发生、发展。

本实验同时发现,血肿外膜 VEGF 呈强阳性表达,血肿液 VEGF 浓度明显高于外周血浓度,说明

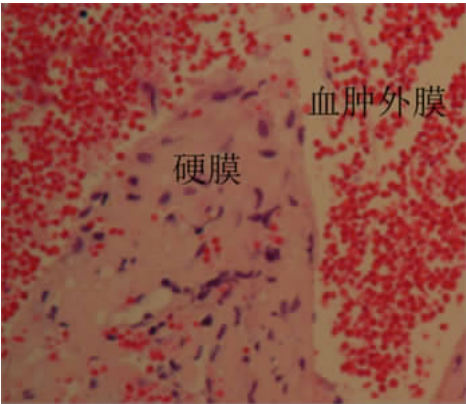


图 1 慢性硬膜下血肿硬膜和外膜 HE 染色图(×200)

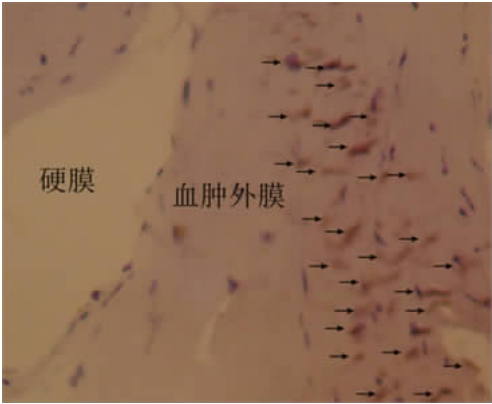


图 2 慢性硬膜下血肿患者硬膜和血肿外膜血管内皮生长因子免疫组化染色图(×200)

表 1 CSDH 患者血肿液和外周血 IL-6 浓度变化(pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数(例)	IL-6 浓度
CSDH 血肿液	20	984.5±455.9 ^{*#}
CSDH 外周血	20	36.2±21.1 [*]
对照组外周血	10	34.1±18.6

注:与对照组外周血相应值比,**P*<0.01;与 CSDH 外周血相应值比,#*P*<0.01;CSDH:慢性硬膜下血肿

表 2 CSDH 患者血肿液和外周血 VEGF 浓度变化(pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数(例)	VEGF 浓度
CSDH 血肿液	20	5 264.9±2 380.6 ^{*#}
CSDH 外周血	20	30.8±21.8 [*]
对照组外周血	10	15.4±6.8

注:与对照组外周血相应值比,**P*<0.01;与 CSDH 外周血相应值比,#*P*<0.01;CSDH:慢性硬膜下血肿

CSDH局部组织 VEGF 表达增强。VEGF 作为一类重要的血管生成因子,可特异地作用于血管内皮细胞,对其有强烈的促分裂及趋化作用,能够促进血管生成并增加微血管通透性。VEGF 可与外膜血管内皮细胞两种特异性受体结合^[7],促进新生血管形成;还可以作用于血管生成素及其受体,促进新生血管形成,增大新生血管通透性。VEGF 能提高内皮细胞组织型纤溶酶原激活物的浓度^[2],激活纤溶系统,导致纤溶亢进,加重出血,促进 CSDH 形成。我们推测,随着 CSDH 血肿腔 VEGF 浓度升高,新生血管形成、血管通透性增大及纤溶亢进,加上脑搏动导致血管不稳定出现持续渗漏,使 CSDH 形成并逐渐扩大。

综上所述,CSDH 患者血肿腔 IL-6 与 VEGF 含量增高,IL-6 参与炎症反应,炎症细胞释放 VEGF 参与假膜血管生成,VEGF、IL-6 等能增加新生不成熟血管的通透性,使其反复出血。提示 IL-6 与 VEGF 可能相互促进,共同参与 CSDH 的形成。

【参考文献】

[1] 王忠城. 神经外科学[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社,

(上接第 286 页)

而 D-二聚体是评价纤维蛋白溶解功能的指标,在发生脑梗死时水平增高^[10]。我们认为 D-二聚体增高与动脉性脑梗死和静脉性脑梗死并无直接联系,仅是脑梗死恶化的体现。

综上所述,影响颅脑损伤后动脉性脑梗死和静脉性脑梗死发生的因素并不一致,而其中低血压和瞳孔散大是导致动脉性脑梗死发生的独立危险因素,大脑浅静脉损伤是静脉性脑梗死发生的独立危险因素,在颅脑损伤后脑梗死的防治中应加强干预。

【参考文献】

[1] 刘企源,许文辉. 颅脑损伤患者开颅术后颅内再出血的相关因素分析[J]. 中华神经外科杂志, 2013, 29(2): 134-137.
[2] 徐震,黄李法,吕晓皓,等. 大骨瓣减压对不同年龄重型颅脑损伤患者脑血流量及脑代谢的影响[J]. 中华神经外科杂志, 2011, 27(1): 62-64.
[3] 龙连圣,辛志成,王伟明,等. 中、重型颅脑损伤并发创伤性脑梗死的多因素分析[J]. 中华创伤杂志, 2011, 27(10): 881-885.

2005. 442-444.
[2] Katano H, Kamiya K, Mase M, *et al.* Tissue plasminogen activator in chronic subdural hematomas as a predictor of recurrence [J]. J Neurosurg, 2006, 104(1): 79-84.
[3] Ernestus RI, Beldzinski E, Lanferl Tlann H, *et al.* Chronic subdural hematoma: surgical treatment and outcome in 104 patients [J]. Surg Neurol, 1997, 48(3): 220-225.
[4] Suzuki M, Endo S, Inada K, *et al.* Inflammatory cytokines locally elevated in chronic subdural haematoma [J]. Acta Neurochir (Wien), 1998, 140(1): 51-55.
[5] 余定庸,唐文国,席晓平,等. 慢性硬膜下血肿术后复发因素探讨[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2004, 3(4): 362-363.
[6] Stanisic M, Lyngsstadass SP, Pripp AH, *et al.* Chemokines as markers of local inflammation and angiogenesis in patients with chronic subdural hematoma: a prospective study [J]. Acta Neurochir (Wien), 2012, 154(1): 113-120.
[7] Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M, *et al.* Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium [J]. Nature, 1995, 376(6535): 66-70.

(2014-12-31 收稿, 2015-02-07 修回)

[4] 兰红琳,孙慧苗. 静脉性脑梗死的磁共振成像诊断[J]. 中国药物与临床, 2011, 11(1): 17-18.
[5] 徐有学,孙立华,林秋全,等. 手术时间窗对外伤性脑疝术后脑梗死发病率的影响[J]. 贵阳医学院学报, 2012, 34(4): 98-100.
[6] 陈磊,王玉海,蔡学见,等. 重型、特重型颅脑外伤性脑梗死相关危险因素分析[J]. 中华神经外科杂志, 2011, 27(4): 387-390.
[7] 林秋全,王洪峰,刘同义,等. 多层螺旋 CT 在脑疝术后脑梗死中的诊断价值[J]. 贵阳医学院学报, 2012, 34(4): 58-59.
[8] 施栋良,董吉荣,蔡学见,等. 术中颅内压监测在治疗重型颅脑损伤中的应用[J]. 中华神经外科杂志, 2012, 28(2): 116-118.
[9] 张赛,涂悦,赵明亮,等. 大骨瓣减压术治疗颅脑损伤后顽固性高血压[J]. 中华神经外科杂志, 2011, 27(2): 169-173.
[10] 惠纪元,龚如,梁玉敏,等. 中国颅脑损伤数据库: 短期预后因素分析[J]. 中华神经外科杂志, 2014, 30(1): 56-58.

(2014-11-25 收稿, 2015-02-02 修回)