

论著

文章编号:1000-5404(2012)12-1234-03

血清和脑脊液中 IL-6 含量变化在儿童难治性癫痫发作中的意义

尹清¹, 树海峰², 刘宏亮¹, 杨辉² (400038 重庆, 第三军医大学西南医院康复科¹; 400037 重庆, 第三军医大学新桥医院神经外科, 全军癫痫病诊治中心²)

[摘要] 目的 探讨白细胞介素-6 (IL-6)与小儿难治性癫痫发病机制之间的潜在关系。方法 采用酶联免疫吸附法检测48例小儿难治性癫痫患者癫痫发作后血清和脑脊液中IL-6的含量变化。结果 癫痫发作1、6 h后,癫痫组患者血清IL-6水平分别为(8.23±0.58)、(11.63±1.35) pg/ml,与正常对照组(0.75±0.48) pg/ml相比有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);癫痫发作1、6 h后,脑脊液中IL-6水平亦逐渐升高,分别为(10.35±3.06)、(19.55±2.32) pg/ml,显著高于正常对照组[(1.27±0.65) pg/ml, $P < 0.01$];而发作后12 h,癫痫组患者血清和脑脊液中的IL-6含量趋于正常[分别为(1.05±0.66)、(3.54±1.31) pg/ml],与正常对照组相比无显著差异($P > 0.05$)。结论 癫痫发作可诱导血清和脑脊液中IL-6表达水平的上调,这可能促进炎性损伤的进一步加重,可能与小儿难治性癫痫的病情进展密切相关。

[关键词] 小儿;难治性癫痫;癫痫发作;白细胞介素-6

[中图分类号] R392.32;R446.1;R749.17

[文献标志码] A

Significance of interleukin-6 levels in serum and cerebrospinal fluid for pediatric intractable epilepsy

Yin Qing¹, Shu Haifeng², Liu Hongliang¹, Yang Hui² (¹Department of Rehabilitation, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; ²Department of Neurosurgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[Abstract] **Objective** To explore the potential relationship between the level of IL-6 in the serum and cerebrospinal fluid (CSF) and epileptogenesis of pediatric intractable epilepsy. **Methods** Using the ELISA method to detect the changes of IL-6 content in 48 cases of pediatric intractable epilepsy seizures in the serum and cerebrospinal fluid. **Results** The IL-6 level in serum was 8.23±0.58 pg/ml and 11.63±1.35 pg/ml in 1 h and 6 h after seizure, respectively, which was significantly different with controls (0.75±0.48 pg/ml, 1 h; $P < 0.05$; 6 h; $P < 0.01$). In addition, The IL-6 level in serum was 10.35±3.06 pg/ml and 19.55±2.32 pg/ml in 1 h and 6 h after seizure, respectively, which was also significantly increased compared with controls (1.27±0.65 pg/ml, $P < 0.01$). However, the IL-6 levels in serum and CSF 12 h after seizure were tendency towards the baseline. **Conclusion** The seizure induced an increase of IL-6 levels in serum and CSF, which may exacerbate the injury caused by inflammation, would be involved in the epileptogenesis of pediatric intractable epilepsy.

[Key words] pediatric; intractable epilepsy; seizure; IL-6

Supported by the General Program of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2009BB5156). Corresponding author: Yin Qing, Tel:86-23-68765361, E-mail: qingyin646891@yahoo.com

小儿难治性癫痫是严重危害我国儿童健康水平的常见病症之一。婴幼儿时期反复的癫痫发作极大地影响了儿童大脑的正常发育,造成不可逆转的智力障碍和认知功能、语言功能、运动功能等损害,给家庭和社会带来沉重的负担。然而,其癫痫发生的机制尚未完

全阐明。近来的研究发现,促炎性细胞因子可能与癫痫的发生、发展过程密切相关^[1-2]。白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)是主要的促炎性细胞因子之一,广泛参与中枢神经系统(central nervous system, CNS)内的免疫调节,可直接或间接影响神经元的分化、发育与功能^[3-5]。动物实验研究发现,海人酸诱导的大鼠痫样发作后,在大鼠的海马、皮层、杏仁核以及脑膜内均可以检测到IL-6的表达增高^[6]。我们的前期研

[基金项目] 重庆市科委自然科学基金面上项目(CSTC2009BB5156)

[通信作者] 尹清,电话:(023)68765361, E-mail: qingyin646891@yahoo.com

究显示,IL-6在皮质发育障碍脑组织中表达上调,且特异性表达于与癫痫发作程度密切相关的异构神经元上^[7]。上述证据提示,IL-6可能与癫痫的发生、发展密切相关^[8]。然而,关于IL-6在小儿难治性癫痫脑脊液(CSF)和血清中的表达及潜在的作用,鲜见相关报道。本研究通过检测小儿难治性癫痫患者癫痫发作后血清和CSF中IL-6的含量变化及分析其与癫痫发作的相关性,初步探讨IL-6参与小儿难治性癫痫发作的免疫学发病机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料

癫痫组:共48例,所有患者为2007年1月至2010年9月在第三军医大学新桥医院神经外科住院的难治性癫痫患儿,其中男性22例,女性26例,年龄 (4.5 ± 3.5) 岁,病程为 (3.0 ± 2.5) 年。按照国际抗癫痫协会提出的癫痫及癫痫综合征分类标准进行诊断,发作类型包括:复杂部分性发作、全身强直阵挛发作和婴儿痉挛。病因明确者36例,其中皮质发育不良20例,结节性硬化8例,中枢神经系统感染4例,围产期缺氧2例,脑积水2例。对照组:共40例,均为同期门诊患者,男女各20例,年龄 (5.5 ± 2.5) 岁,无癫痫、感染、外伤等神经系统疾病病史,近未服用中枢神经系统药物。

1.2 检测方法

1.2.1 样本采集 血清样本:分别于患者癫痫发作后1、6、12h取静脉血2ml,室温静置60min,离心 $3\ 000\ r/min$ 15min,取上层血清,每EP管100 μ l分装,保存于 $-80\ ^\circ C$ 备用,避免反复冻融,半年内检测。CSF样本:部分患者在癫痫发作后,行腰穿留取CSF,保存于 $-80\ ^\circ C$ 备用。正常对照组样本采集方法同癫痫组。

1.2.2 试剂和仪器 ELISA试剂盒(上海西唐生物科技公司),酶标仪(美国Molecular Devices公司)。

1.2.3 ELISA检测 所有标本的测定采用同一批试剂,采用双抗夹心酶联免疫吸附试验(ABC-ELISA法)进行测定。用抗人IL-6多抗包被于酶标板上,标准品和样品中的IL-6与多抗结合,加入生物素化的抗人IL-6,形成免疫复合物连接在板上,辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素与生物素结合,加入酶底物OPD,出现黄色,加终止液硫酸,颜色变深,在450nm波长处测定 $D(450)$ 值,IL-6浓度与 $D(450)$ 值成正比,可通过绘制标准曲线求出标本中的IL-6浓度。

1.3 统计学分析

采用SPSS 10.0统计软件,所测数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异用单因素方差分析。

2 结果

ELISA检测标本血清和CSF中IL-6的含量,结果显示:癫痫发作1、6h以及12h后,癫痫组血清和CSF中的IL-6含量均有不同程度上调,尤其以发作后6h的增幅最为显著。癫痫发作1、6h后,癫痫组患者血清IL-6水平分别为 (8.23 ± 0.58) 、 (11.63 ± 1.35) pg/ml,与正常对照组 (0.75 ± 0.48) pg/ml相比

差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);癫痫发作1、6h后,脑脊液中IL-6水平亦逐渐升高,分别为 (10.35 ± 3.06) 、 (19.55 ± 2.32) pg/ml,显著高于正常对照组 $[(1.27 \pm 0.65)$ pg/ml, $P < 0.01$];而癫痫发作后12h,癫痫组患者血清中的IL-6含量为 (1.05 ± 0.66) pg/ml,略高于正常对照组;脑脊液中IL-6含量为 (3.54 ± 1.31) pg/ml,也高于正常对照组,但差异均没有统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

IL-6是重要的促炎性细胞因子之一,在外周主要由单核-巨噬细胞分泌,具有广泛的生物学功能,除了介导炎症反应调节免疫功能外,还参与多种组织细胞(如造血细胞、T/B淋巴细胞、肝脏细胞、破骨和成骨细胞、心肌细胞、神经细胞等)的生长、分化和功能调节等过程^[9-10]。在外周,机体内的许多细胞可分泌IL-6,但单核细胞和巨噬细胞是血液中IL-6的主要来源,在机体遭受感染时,最早产生IL-6。除单核细胞和巨噬细胞外,T细胞、B细胞以及成纤维细胞也可自发的产生IL-6^[11]。在CNS内,无论在生理条件还是一些神经系统疾病的病理条件下,都可以检测到一定量IL-6的存在。CNS中的IL-6主要由胶质细胞、小胶质细胞、血管内皮细胞和神经元产生^[12]。

近年来的研究显示,IL-6除了具有促炎性作用外,还是一种重要的神经调质,参与调节神经细胞的功能。Sallmann等^[13]首次证实,神经元细胞膜的去极化或者神经元的动作电位活动可以诱导神经元分泌IL-6,这提示IL-6可能与神经系统兴奋性的产生和维持有密切的关系。在本研究中,我们发现在小儿难治性癫痫患者中,癫痫发作导致其血清和脑脊液中IL-6的含量显著上调,尤其以脑脊液中IL-6的水平变化更为显著,这提示增多的IL-6主要来自脑内细胞的分泌。我们推测,癫痫发作过程中神经元的异常放电导致包括神经元在内的神经细胞大量分泌IL-6。另一方面,研究发现,CNS中IL-6过表达的转基因小鼠表现出高频自发性癫痫发作行为,更易发生癫痫,这提示IL-6水平上调可加剧癫痫的发生发展^[1,7]。据此,我们认为,癫痫发作后引起的血清和CSF中IL-6含量上调在一定程度上加剧了癫痫的反复发作。

综合上述,癫痫发作可诱导血清和脑脊液中IL-6表达水平的上调,这可能促进炎性损伤的进一步加重,可能与小儿难治性癫痫的病情进展密切相关。

参考文献:

- [1] Vezzani A, French J, Bartfai T, et al. The role of inflammation in epilepsy [J]. Nat Rev Neurol, 2011, 7(1): 31-40.
- [2] Friedman A, Dingledine R. Molecular cascades that mediate the influence of inflammation on epilepsy [J]. Epilepsia, 2011, 52 Suppl 3: 33-39.

- [3] Wei H, Zou H, Sheikh A M, *et al.* IL-6 is increased in the cerebellum of autistic brain and alters neural cell adhesion, migration and synaptic formation[J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 52.
- [4] McPherson C A, Aoyama M, Harry G J. Interleukin (IL)-1 and IL-6 regulation of neural progenitor cell proliferation with hippocampal injury: differential regulatory pathways in the subgranular zone (SGZ) of the adolescent and mature mouse brain [J]. *Brain Behav Immun*, 2011, 25(5): 850-862.
- [5] O'Reilly S, Ciechomska M, Cant R, *et al.* Interleukin-6, its role in fibrosing conditions [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2012 May 4. [Epub ahead of print].
- [6] Boulanger M J, Chow D C, Brevnova E E, *et al.* Hexameric structure and assembly of the interleukin-6/IL-6 alpha-receptor/gp130 complex [J]. *Science*, 2003, 300(5628): 2101-2104.
- [7] Shu H F, Zhang C Q, Yin Q, *et al.* Expression of the interleukin 6 system in cortical lesions from patients with tuberous sclerosis complex and focal cortical dysplasia type II b [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2010, 69(8): 838-849.
- [8] Vezzani A, Friedman A. Brain inflammation as a biomarker in epilepsy [J]. *Biomark Med*, 2011, 5(5): 607-614.
- [9] 赵永亮,余佩武,雷晓,等. JAK2/STAT3 途径在 IL-6 抑制 LPS 诱导的树突状细胞分化成熟中的作用 [J]. *第三军医大学学报*, 2009, 31(11): 1063-1065.
- [10] Anton K, Banerjee D, Glod J. Macrophage-associated mesenchymal stem cells assume an activated, migratory, pro-inflammatory phenotype with increased IL-6 and CXCL10 secretion [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35036.
- [11] Drucker C, Gewiese J, Malchow S, *et al.* Impact of interleukin-6 classic- and trans-signaling on liver damage and regeneration [J]. *J Autoimmun*, 2010, 34(1): 29-37.
- [12] Spooen A, Kolmus K, Laureys G, *et al.* Interleukin-6, a mental cytokine [J]. *Brain Res Rev*, 2011, 67(1/2): 157-183.
- [13] Sallmann S, Juttler E, Prinz S, *et al.* Induction of interleukin-6 by depolarization of neurons [J]. *J Neurosci*, 2000, 20(23): 8637-8642.
- (收稿:2012-03-26;修回:2012-05-12)
(编辑 王小寒)

(上接 1233 页)

1.4 疗效标准

痞满证疗效依据《中药新药临床研究指导原则》。治愈:痞满症状完全消失,X线钡透胃固体排空障碍(-);显效:痞满症状下降2个等级,X线钡透胃固体排空障碍下降2个等级;有效:痞满症状下降1个等级,X线钡透胃固体排空障碍下降1个等级;无效:痞满症状无改善甚或加重以及痞满症状下降不及1个等级,X线钡透胃固体排空障碍无好转。

1.5 统计学方法

计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 13.0 统计软件,行 *t* 检验和 χ^2 检验。

2 结果

治疗组临床治愈 12 例,显效 8 例,有效 8 例,无效 2 例,有效率 93.3%;对照组临床治愈 8 例,显效 4 例,有效 14 例,无效 4 例,有效率 86.7%;治疗组有效率较对照组有明显提高 ($P < 0.05$)。两组治疗前血清生长抑素水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),治疗后两组血清生长抑素水平比较有统计学差异 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 2 组血清生长抑素比较 (pg/ml, n=30, $\bar{x} \pm s$)

组别	治疗前	治疗后
治疗组	51.3 ± 12.1	23.6 ± 8.7 ^a
对照组	49.2 ± 13.6	46.3 ± 8.1

a: $P < 0.05$, 与对照组比较

3 讨论

随着 DM 的发病率逐年升高,DGP 的发生也随之上升,目前认为 DGP 的发病与自主神经功能障碍、胃肠激素分泌异常、高血糖、平滑肌损害以及微血管病变等因素有关^[3]。本试验观

察到联合应用中药 + 针灸对 DGP 具有很好的治疗作用。其治疗及改善机制可能于改善 DGP 患者的胃肠动力,降低生长抑素的分泌有关。中药以健脾导滞,降逆和中为治则,其中枳实、炒白术配伍具有消积健脾,行气消痞的作用;柴胡辛凉透达,疏利肝胆,半夏化痰开结降逆止呕,二药合用具有一升一降调理气机的作用;大腹皮、厚朴据有宽中理气降逆止呕的作用,与枳实配伍具有通下积滞,消痞散结的功效;砂仁、丹参具有芳香化湿,止呕活血的功效。针灸以健运脾胃为治则,其中足三里为足阳明胃经的合穴,在《针灸甲乙经》中有足三里穴主“消中”,足三里穴具有促进胃肠蠕动,增加胃液及消化酶分泌的作用;中脘是中焦的主治穴位,与脾俞、胃俞相配为俞募配伍,可以增强胃肠运动。莫沙必利是强效选择性 5-羟色胺 (5-HT₄) 受体激动剂,通过兴奋胃肠道肌间神经丛的 5-HT₄ 受体,刺激乙酰胆碱释放,从而增强胃肠运动^[4],此外,莫沙必利与心脑血管组织中的多巴胺 5-HT₄ 受体无亲和力,因而无心血管不良反应和锥体外系反应^[5],但临床发现部分患者应用莫沙必利效果不佳。本试验观察到针药结合能够在短期内改善 DGP 的临床症状,提高 DM 患者的生活质量,具有很好的推广价值。

参考文献:

- [1] 刘莲叶,赵润年. 糖尿病性胃轻瘫的治疗现状[J]. *实用糖尿病杂志*, 2010, 6(1): 5-6.
- [2] 贝政平. 内科学疾病诊断标准 [M]. 北京: 科学出版社, 2001: 1267.
- [3] 王琼,严祥,李维辛,等. 早期 2 型糖尿病大鼠胃动力变化与胃血管病变的关系[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(1): 62-65.
- [4] Chandrasekharan B, Srinivasan S. Diabetes and the enteric nervous system[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2007, 19(12): 951-960.
- [5] 郭万峰,许先进. 糖尿病胃轻瘫的临床诊治进展[J]. *中国现代医生*, 2010, 48(28): 6-8, 14.

(收稿:2012-02-17;修回:2012-04-30)

(编辑 王小寒)