

# 新生儿缺氧缺血性脑病患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平的表达及与新生儿神经行为评分的相关性

张蕾, 贾秋平, 黄长缨, 徐云飞  
张家港澳洋医院, 江苏 张家港 215600

**摘要:** 目的 探讨新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic ischemic encephalopathy, HIE)血清白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecules-1, ICAM-1)水平的表达情况及与新生儿神经行为(neonatal behavioral neurological assessment, NBNA)评分的相关性。方法 选择 2016 年 7 月-2018 年 1 月间张家港澳洋医院收治的 HIE 患儿 96 例作为研究组,另选择同期于该院分娩的足月健康新生儿 51 例作为对照组。对比健康新生儿与 HIE 患儿血清中 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平和 NBNA 评分,同时比较不同程度和不同患病时期 HIE 患儿血清中 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平和 NBNA 评分,并分析 HIE 患儿血清中 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平之间的相关性,及其与 NBNA 评分的相关性。结果 研究组患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平分别为(16.29 $\pm$ 3.17) pg/L、(129.05 $\pm$ 28.26) pg/L、(145.09 $\pm$ 24.37) pg/ml,高于对照组的(12.01 $\pm$ 2.85) pg/L、(105.39 $\pm$ 23.18) pg/L、(88.18 $\pm$ 7.32) pg/ml,研究组 NBNA 评分为(34.85 $\pm$ 1.52)分,低于对照组的(38.65 $\pm$ 0.83)分(均  $P < 0.05$ );随着 HIE 病情的加重,患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平均明显升高,而 NBNA 评分显著下降( $P < 0.05$ );急性期 HIE 患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平分别为(18.82 $\pm$ 4.23) pg/L、(142.21 $\pm$ 31.02) pg/L、(191.68 $\pm$ 35.19) pg/ml,高于恢复期 HIE 患儿的(14.24 $\pm$ 3.02) pg/L、(118.37 $\pm$ 26.07) pg/L、(107.29 $\pm$ 20.83) pg/ml,急性期 HIE 患儿 NBNA 评分为(31.43 $\pm$ 1.76)分,低于恢复期 HIE 患儿的(37.62 $\pm$ 1.53)分( $P < 0.05$ );HIE 患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 与 NBNA 评分呈负相关( $r = -0.415$ 、 $-0.522$ 、 $-0.428$ ,  $P < 0.05$ )。结论 血清 IL-8、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 参与 HIE 患儿脑损伤过程,且与 NBNA 评分密切相关,可以辅助用于临床诊断 HIE 的发生及发展过程。

**关键词:** 新生儿; 缺氧缺血性脑病; 白细胞介素-8; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 细胞间黏附分子-1; 神经行为评分

**中图分类号:** R722.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2018)12-1476-04 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2018.12.019

缺氧缺血性脑病(hypoxic ischemic encephalopathy, HIE)是新生儿常见疾病,其发病率约为 10%,占新生儿窒息患病的 1/3<sup>[1]</sup>。HIE 患儿的主要临床表现有意识障碍、昏迷及激惹等,严重者将出现中枢性呼吸衰竭和呼吸节律不齐。HIE 患儿可由多种诱因引发缺血缺氧,进而导致其大脑出现部分或完全损伤,是致使新生儿死亡和神经系统后遗症的重要原因之一,及时准确的评估和治疗 HIE,是提高患儿生存质量的关键<sup>[2-3]</sup>。目前临床主要通过神经系统功能,并结合实验室相关项目对 HIE 患儿进行检查,然而检查耗时且经济负担重,因此建立快速可靠的筛查方案十分必要。近年来相关研究发现炎症反应在 HIE 的发生、发展过程中发挥重要作用,炎性因子如白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecules-1, ICAM-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )均参与了 HIE 的发病过程<sup>[4]</sup>。本研究通过检测 HIE 患儿血清 IL-8、TNF-

- $\alpha$ 、ICAM-1 水平,分析其与新生儿神经行为(neonatal behavioral neurological assessment, NBNA)的关系,探索新的防治靶点,旨在为改善 HIE 患儿的生存质量,现报道如下。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 选择 2016 年 7 月-2018 年 1 月间张家港澳洋医院收治的 96 例 HIE 患儿作为研究组。纳入标准:(1)所有患儿的诊断标准参考中华医学会儿科分会新生儿学组制订的《新生儿缺氧缺血性脑病诊断标准》<sup>[5]</sup>;(2)均为足月出生的新生儿;(3)患儿的临床资料完整;(4)患儿家属签署知情同意书。排除标准:(1)合并心、肝、肾等重大脏器病变或代谢疾病的患儿;(2)由电解质紊乱和产伤造成的抽搐及功能感染患儿;(3)合并神经系统疾病的患儿;(4)产妇有免疫性疾病或免疫性药物治疗史。入组患儿中男 56 例,女 40 例;胎龄 37~41 周,平均(39.26 $\pm$ 1.08)周;出生体重 2.73~3.68 kg,平均(3.14 $\pm$ 0.25) kg;按照 HIE 的分级标准<sup>[6]</sup>:轻度 30 例,中度 38 例,重度 28 例;发病时间:出生后 24 h 内(急性期)43 例和出生后 7 d(恢复期)

**基金项目:**江苏省青年科技人才专项基金项目(BK20141367)

**作者简介:**张蕾(1975-),女,硕士,副主任医师,主要从事儿科学方面的研究工作。

53 例。另选择同期于张家港澳洋医院分娩的足月健康新生儿 51 例作为对照组,其中男 31 例,女 20 例;胎龄 37~41 周,平均(39.18±1.12)周;出生体重 2.66~3.71 kg,平均(3.09±0.22)kg。所有受试者各项基本资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),均衡可比。研究符合张家港澳洋医院医学伦理委员会的相关规定。

1.2 HIE 诊断及分级标准<sup>[5]</sup> HIE 诊断标准:(1)胎心音先变快,且有规则,继而变慢及无规则,羊水呈草绿色,胎动异常活跃;(2)出生时伴随重度窒息,1 min Apgar 评分不高于 3 分,5 min Apgar 评分不高于 5 分,和/或脐动脉血气 pH 值低于 7.0;(3)出生后出现神经系统症状超过 24 h,包括肌张力改变、意识改变、原始反射异常、脑干征和前囟张力增高等。

HIE 分级标准:轻度:兴奋和抑制交替发生,肌张力稍高,拥抱反射活跃,瞳孔正常或者轻微放大,无中枢性呼吸衰竭;中度:患儿嗜睡,吸吮反射、拥抱反射能力、肌张力下降,出现中枢性呼吸衰竭;重度:患儿出现昏迷状态,肌肉松软,无拥抱反射和吸吮反射,瞳孔放大,出现持续性惊厥现象和明显的中枢性呼吸衰竭。

1.3 方法 所有受试者均于入院后次日清晨抽取股静脉血 3 ml,置于未涂有肝素钠的采血管中,静置 20 min,以 3 500 r/min 的速度离心 10 min,离心半径为 3 cm,分离上清液。采用酶联免疫吸附测定法(试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司)检测血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平。另外,取血前由经过培训的专业医护人员采用鲍秀兰等<sup>[6]</sup>制定的 20 项 NBNA 评分标准对患儿的神经行为进行评估。

1.4 NBNA 评价方法<sup>[6]</sup> NBNA 评分中包括 20 项内容,分别为行为能力、主动肌张力、被动肌张力(4 项)、原始反射和一般估计,每项以 0 分、1 分、2 分进行计分,总 40 分,正常: $>36$  分;临界异常:35~36 分;异常: $<35$  分。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 19.0 进行统计分析,血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平和 NBNA 评分用均值±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,数据均符合方差齐性和正态分布,两组间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析,总体有差异进一步用 LSD- $t$  检验进行两两比较;性别比例等计数资料用百分数表示,采用 $\chi^2$  检验;采用 Pearson 相关性分析方法分析 HIE 患儿血清中 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平之间及其与 NBNA 评分之间的相关性,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 HIE 患儿与健康新生儿血清炎症因子和 NBNA

评分比较 与对照组相比,研究组血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平均升高,而 NBNA 评分均降低( $P<0.05$ ),见表 1。96 例 HIE 患儿中 NBNA 评分正常 37 例,临界异常 27 例,异常 32 例。

表 1 HIE 患儿与健康新生儿血清炎症因子和 NBNA 评分比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	IL-8(pg/L)	TNF- $\alpha$ (pg/L)	ICAM-1(pg/ml)	NBNA 评分(分)
对照组	51	12.01±2.85	105.39±23.18	88.18±7.32	38.65±0.83
研究组	96	16.29±3.17	129.05±28.26	145.09±24.37	34.85±1.52
$t$ 值		8.063	5.130	16.268	19.604
$P$ 值		0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 不同程度 HIE 患儿血清炎症因子和 NBNA 评分比较 不同程度 HIE 患儿血清炎症因子和 NBNA 评分之间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与轻度 HIE 患儿相比,中度和重度患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平均明显升高,而 NBNA 评分显著下降,同时重度患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平均明显高于中度患儿,而 NBNA 评分显著低于中度患儿( $P<0.05$ ),见表 2。

表 2 不同程度 HIE 患儿血清炎症因子和 NBNA 评分比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	IL-8(pg/L)	TNF- $\alpha$ (pg/L)	ICAM-1(pg/ml)	NBNA 评分(分)
轻度	30	13.16±2.09	108.52±24.23	93.28±8.41	38.45±1.06
中度	38	14.88±3.03 *	115.98±25.09 *	143.17±26.34 *	35.69±2.22 *
重度	28	21.56±3.25 * #	168.78±27.15 * #	203.21±30.17 * #	29.86±1.22 * #
$F$ 值		71.312	49.345	153.219	190.829
$P$ 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与轻度相比,\* $P<0.05$ ;与中度相比,# $P<0.05$ 。

2.3 急性期和恢复期 HIE 患儿血清炎症因子和 NBNA 评分比较 急性期 HIE 患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平均明显高于恢复期,而 NBNA 评分显著低于恢复期( $P<0.05$ ),见表 3。

表 3 急性期和恢复期 HIE 患儿血清炎症因子和 NBNA 评分比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	IL-8(pg/L)	TNF- $\alpha$ (pg/L)	ICAM-1(pg/ml)	NBNA 评分(分)
恢复期	53	14.24±3.02	118.37±26.07	107.29±20.83	37.62±1.53
急性期	43	18.82±4.23	142.21±31.02	191.68±35.19	31.43±1.76
$t$ 值		6.180	4.092	14.598	18.426
$P$ 值		0.000	0.000	0.000	0.000

2.4 HIE 患儿血清炎症因子与 NBNA 评分的相关性 HIE 患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 之间均为正相关,并且与 NBNA 评分呈负相关( $P<0.05$ ),见表 4。

表 4 分析 HIE 患儿血清炎症因子之间及与 NBNA 评分的相关性

指标	IL-8		TNF- $\alpha$		ICAM-1	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
IL-8	-	-	-	-	-	-
TNF- $\alpha$	0.404	0.034	-	-	-	-
ICAM-1	0.398	0.037	0.319	0.029	-	-
NBNA 评分	-0.415	0.030	-0.522	0.028	-0.428	0.026

### 3 讨论

持续的氧气能够维持哺乳动物基本生命活动,大脑作为机体的神经中枢,虽然脑组织占机体总重量的 2% 左右,但是耗氧量超过机体的 20%,因此,其在氧气缺失的情况下,最先受到损伤<sup>[7]</sup>。HIE 患儿血脑脊液屏障受损后,大量炎症因子释放入血,随着循环系统进入各组织器官,造成脏器损伤<sup>[8]</sup>。随着围产期医学技术的发展,新生儿 HIE 的病死率明显下降,但是存活的患儿致残率依然居高不下,严重危害新生儿的生存质量<sup>[9]</sup>。导致新生儿 HIE 发生的原因众多,如羊水异常、脐带绕颈及分娩过程及出生后的窒息等。HIE 的发病机制尚未完全明确,已知的发病机制包括氧自由基损伤、脑细胞能量代谢衰竭、兴奋性氨基酸含量下降及血管调节异常等<sup>[10]</sup>。HIE 发生后新生儿即出现先天性免疫应答,神经细胞合成并分泌炎症因子促进白细胞聚集,同时诱导黏附因子合成,进而引发一系列的炎症反应,其在新生儿 HIE 的发病过程中起着重要作用<sup>[11]</sup>。新生儿行为神经测定是近年来临床检测 HIE 患儿脑功能及预后的常用方法,具有高敏感性和特异性。

IL-8 是一种趋化因子,主要由单核细胞和血管内皮细胞分泌,具有广泛的生物学活性。TNF- $\alpha$  作为前炎症细胞因子,位于中枢神经的神经细胞中<sup>[12]</sup>。TNF- $\alpha$  作为激活细胞因子级联反应的启动因子,是缺氧缺血组织损伤中的主要介质,高浓度的 TNF- $\alpha$  诱导局部的炎症反应。ICAM-1 是一种单链跨膜糖蛋白,分子量为 76 114 kDa,正常状态下内皮细胞中 ICAM-1 水平低<sup>[13]</sup>。本研究中 HIE 患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平高于对照组,而 NBNA 评分低于对照组,这与 Liu F 等<sup>[4]</sup>的研究结果一致,提示血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平可能作为诊断 HIE 的参考指标,并且 HIE 患儿的神经功能受到损伤。HIE 患儿发病过程中,免疫系统受到损伤,从而引发一系列免疫炎症反应,进而上调多种炎症因子水平,同时 HIE 患儿的脑部由于缺血和缺氧,致使脑部损伤,导致神经和智力障碍。HIE 患儿的病理过程为缺血缺氧及再灌注损伤,在这个过程中会产生大量的炎症介质,如 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 等,激发并放大炎症反应。随着 HIE 病情的加重,患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平均明显升高,而 NBNA 评分显著下降,说明血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平和 NBNA 评分可以用于评价 HIE 的发展进程,HIE 患儿病情越重,炎症反应越激烈,免疫系统受损越严重。此外与恢复期 HIE 患儿相比,急性期 HIE 患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平均明显升

高,而 NBNA 评分显著降低,说明血清中 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 水平可以检测病程变化。另外,相关性分析结果中,HIE 患儿血清 IL-8、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 之间均为正相关,并且与 NBNA 评分呈负相关。HIE 发生时神经系统和免疫系统的调节功能异常,多种免疫细胞因子通过影响神经-内分泌-免疫系统而上调多种细胞毒性物质的释放量,从而损伤神经细胞。出现上述结果均与三种炎症因子的作用机制相关,IL-8 活化中性粒细胞,诱发中性粒细胞形态发生变化,间接释放炎症介质,从而参与炎症反应,增加血脑屏障和血管内皮细胞的通透性,同时 IL-8 吸引中性粒细胞至病灶部位,加速血管内血栓形成,上调 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的神经毒性作用,介导脑缺血再灌注的发生。TNF- $\alpha$  可以诱导细胞凋亡,HIE 患儿脑损伤后,破坏胶质细胞,TNF- $\alpha$  通过破损的血脑屏障侵袭脑组织,并在脑部释放 TNF- $\alpha$ ,增加上皮细胞的穿透性,上调中性粒细胞和淋巴细胞的黏附能力,并诱导产生急性反应期蛋白,导致组织损伤,同时激活星形细胞进而提高生长因子的释放量<sup>[14]</sup>。脑细胞一旦缺血缺氧,激活星形胶质细胞,促进 TNF- $\alpha$  等炎症因子的表达水平,从而促进 ICAM-1 的表达,ICAM-1 通过与相应配体结合,加速炎症细胞的聚集,启动炎症反应,而炎症细胞通过释放多种酶和活性氧激活补体,破坏细胞膜的结构性和完整功能,加剧脑损伤。

综上所述,HIE 患儿均伴随发生炎症反应,血清 IL-8、TNF- $\alpha$  和 ICAM-1 水平可以作为辅助诊断 HIE 患儿的生物学指标,用于筛查 HIE,三种炎症指标共同构成炎症因子网络影响 HIE 的病情发展及病程,为临床治疗 HIE 提供新的思路。

### 参考文献

- [1] Douglas-Escobar M, Weiss MD. Hypoxic-ischemic encephalopathy: a review for the clinician[J]. *Jama Pediatr*, 2015, 169(4): 397-403.
- [2] 李彩英,李雅秋,孟宪萍,等. 早期干预对缺血缺氧脑病患儿神经生长因子水平及 NBNA 评分的影响[J]. *实用预防医学*, 2014, 21(1): 87-88.
- [3] 王文翔,姚宝珍,姚金,等. 脑电图检查对新生儿缺氧缺血性脑病的早期诊断及预后判断价值[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(27): 5258-5261.
- [4] Liu F, McCullough LD. Inflammatory responses in hypoxic ischemic encephalopathy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34(9): 1121-1130.
- [5] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 新生儿缺氧缺血性脑病诊断标准[J]. *中华儿科杂志*, 2005, 43(8): 584-586.
- [6] 鲍秀兰. 新生儿行为和 0-3 岁教育[M]. 北京:中国少年儿童出版社, 1995: 120-135, 139-141.
- [7] 邹蓉,唐军,鲍珊,等. 氢质子磁共振波谱在新生儿缺氧缺血性脑病中的应用现状分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2018, 20(6): 449-455.