

EV71脑炎患儿血清和脑脊液IL-1 β 、IL-1 α 的变化及临床意义

陈秀丽，周朱瑛，李光乾，王海萍
杭州市儿童医院，浙江 杭州 310014

摘要： **目的** 探讨 EV71 脑炎患儿血清和脑脊液中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和 IL-1 α 水平的变化及其临床意义。**方法** 根据临床表现将患儿分为普通病例组、重症病例组（再分为重症病例重型组和重症病例危重型组）。并设立对照组。应用双抗体夹心 ELISA 法分别检测各组患儿不同时期血清、脑脊液中 IL-1 β 和 IL-1 α 的水平。**结果** 重症病例组血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1 α 水平均高于普通病例组和对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；重症病例危重型组血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1 α 水平均高于重症病例重型组和对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；重症病例重型组 CSF 中 IL-1 α 的水平高于对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)；重症病例组急性期血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1 α 含量均高于恢复期和对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** IL-1 β 和 IL-1 α 可能参与 EV71 脑炎的发病机制，对 EV71 脑炎的病情严重性评估及预后判断有一定意义。

关键词： EV71 脑炎；白细胞介素-1 β ；白细胞介素-1 α ；儿童

The significance of interleukin-1 β and interleukin-1 α levels in serum and CSF of children with EV71 encephalitis.

CHEN Xiu-li, ZHOU Zhu-ying, LI Guang-qian, WANG Hai-ping.

Department of Pediatric neurology, Hangzhou children's hospital, Hangzhou 310014, china.

Abstract: Objective To explore the change and its clinical significance of serum and cerebrospinal fluid (CSF) interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-1 α (IL-1 α) in Children with EV71 encephalitis. **Methods** According to the clinical manifestations patients were divided the ordinary patient group, severe cases group (subdivided into severe type group of severe cases and critical type group of severe cases), and the establishment of a control group. The concentration of IL-1 β and IL-1 α in serum and CSF of each group were detected by double antibody sandwich ELISA method. **Results** Serum and CSF IL-1 β , IL-1 α levels of severe cases group in the acute phase were significantly higher than those of the ordinary cases group and control group respectively ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Serum and CSF levels of IL-1 β and IL-1 α in critical type group of severe cases were elevated compared with severe type group of

通讯作者：李光乾，Email: lgqwz@aliyun.com

Corresponding Author: Li Guangqian, Email: lgqwz@aliyun.com

基金项目：浙江省医药卫生科技计划项目 (2010KYA162)

Detection of the two parameters may be helpful to the evaluation of the severity and prognosis of EV71 encephalitis

severe cases ($P<0.05$ or $P<0.01$) . Serum and CSF IL-1 β and IL-1 α levels of severe cases group in the acute phase were significantly higher than those of the recovery period of severe cases group and the control group ($P<0.05$ or $P<0.01$) . **Conclusions** IL-1 β and IL-1 α may participate in the pathogenesis of EV71 encephalitis.

Key words: EV71 encephalitis; IL-1 β ; IL-1 α ; children

重症手足口病 (Hand, Foot and Mouth Disease, HFMD) 常由肠道病毒71型 (EV71) 感染所致, 多合并脑炎等神经系统并发症, 部分病例留有后遗症^[1], 甚至危及生命。中枢神经系统感染致脑损伤的机制尚未明确。近年来的研究显示免疫系统参与了多种形式的脑损伤^[2]。白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1) 是神经兴奋性损伤的重要介导者, 其中IL-1 β 和IL-1 α 的作用尤为引人注意。为探讨IL-1 β 和IL-1 α 在EV71脑炎发病中的作用, 以及其对EV71脑炎病情严重性及预后判断的价值, 我们应用ELISA方法检测了EV71脑炎患儿血清和脑脊液中IL-1 β 和IL-1 α 的水平, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 受检对象与分组: 所有病例来自于2012年3月~2013年10月在我院住院的患儿, 并选择病原检测确定为EV71阳性的患儿为研究对象。依据卫生部《手足口病诊疗指南 (2010年版)》^[3]和《肠道病毒71型 (EV71) 感染重症病例临床救治专家共识》^[4]的诊断标准, 将患儿分为普通病例组、重症病例组 (再分为重症病例重型组和重症病例危重型组)。并设立对照组。①普通病例组: 24例。男13例, 女11例; 年龄7个月至4岁9个月, 平均 1.93 ± 1.08 岁。平均病程8d (7~10d)。患儿入院后 (入院前疑为手足口病并发中枢神经系统损害) 经CSF常规、生化检查无异常, 脑电图以及影像学检查正常, 排除了中枢神经系统损害。而且EV71病原检测中血清EV71 IgM抗体、咽拭子EV71 RNA或粪便EV71 RNA至少有一项阳性结果。②重症病例组: 49例。男33例, 女16例; 年龄10个月至11岁7月, 平均 2.84 ± 1.74 岁。平均病程12d (6~15d)。脑脊液常规和生化检测结果: 49例中46例患儿脑脊液白细胞计数升高, 蛋白含量正常或升高; 3例脑脊液白细胞计数正常, 蛋白含量正常。49例患儿EV71病原检测中血清EV71

IgM抗体、咽拭子EV71 RNA、粪便EV71 RNA或脑脊液EV71 IgM抗体至少有一项阳性结果。最后诊断EV71脑炎。其中重症病例重型组32例，重症病例危重型组17例。③对照组：21例。男例11，女例10；年龄12月~4岁10月，平均2.29±0.91岁。选择儿外科同期住院的非神经系统疾病手术患儿。各组患儿在入院时性别、年龄、病程对比，差异无统计学意义。

1.2 标本的采集与测定方法：各组病例于入院 24 小时内抽取静脉血 3~4ml 和 CSF 2ml（对照组于手术当日行腰麻时抽取 CSF），CSF 标本另送检常规，生化及细菌培养（对照组只做 CSF 常规和生化）。重症病例组患儿于 10~14d 进行了第 2 次静脉血和 CSF 采集，每一相对应的静脉血和 CSF 标本的采集时间相差不超过 1d；将静脉血低温离心取上清液，将血清及 CSF 存于-70℃冰箱中待检。剔除溶血标本。剔除溶血标本。采用双抗体夹心 ELISA 法检测血清及脑脊液中 IL-1β 和 IL-1ra 的含量，检测试剂均采用美国 MARKETINC 公司产品（批号：IL-1β 0224202，IL-1ra 0224203），EV71 型 IgM 检测方法为捕获 ELISA 法，采用北京万泰生物药业股份有限公司生产的 EV71-IgM 快速检测试剂盒（国食药监械（准）字 2010 第 3400526 号，京药监械生产许 20040097 号），实验步骤及计算按照试剂说明完成。

1.3 统计学方法：所有数据均采用 SPSS17.0 软件进行统计分析。计量资料以均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示。计量资料组间比较进行方差齐性检验， $p > 0.1$ 认为方差齐，对多组均数采用单因素方差分析（one-way ANOVA），两组之间进一步比较用 LSD 检验；比较结果以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。若计量资料方差不齐或时间资料，对多个样本比较采用非参数 Kruskal-Wallis H 检验。计数资料以百分率表示，采用 χ^2 检验；比较结果也以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义；采用 spearman 检验分析数据的相关性， $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 重症病例组、普通病例组、对照组血清和脑脊液中 IL-1β、IL-1ra 的含量比较。（见表 1）

表1 重症病例组、普通病例组、对照组血清和脑脊液中IL-1ra、IL-1β的含量比较

组 别	n	血清		脑脊液	
		IL-1β	IL-1ra	IL-1β	IL-1ra
重症病例组	49	39.15±17.92 ^a	54.53±17.87 ^a	37.45±14.82 ^a	54.33±15.68 ^b
普通病例组	24	29.72±12.07 ^c	42.16±18.20 ^d	30.40±11.65 ^c	40.45±14.57 ^d

对照组	21	29.94±11.88	43.04±17.41	29.09±10.51	41.43±15.16
F		4.302	5.277	4.000	9.067
P		0.016	0.007	0.022	0.000

注：与对照组比较，^a*P*<0.05，^b*P*<0.01；与重症病例组比较，^c*P*<0.05，^d*P*<0.01

表 1 显示，重症病例组血清和 CSF 中 IL-1β、IL-1ra 水平均高于普通病例组和对照组，差异有统计学意义（*P*<0.05 或 *P*<0.01）；普通病例组血清和 CSF 中 IL-1β、IL-1ra 水平与对照组无显著性差异（均 *P*>0.05）。

2.2 重症病例重型组、重症病例危重型组、对照组血清和脑脊液中IL-1β、IL-1ra的含量比较。（见表2）

表2 重症病例重型组、重症病例危重型组、对照组血清和脑脊液中IL-1ra、IL-1β的含量比较

组别	n	血清		脑脊液	
		IL-1β	IL-1ra	IL-1β	IL-1ra
重症病例重型组	3 2	35.65±16.31 ^c	50.90±15.17 ^c	32.84±11.85 ^d	50.41±13.71 ^{ac}
重症病例危重型组	1 7	45.74±19.43 ^b	61.37±20.87 ^b	46.12±16.26 ^b	61.71±16.87 ^b
对照组	2 1	29.94±11.88	43.04±17.41	29.09±10.51	41.43±15.16
F		4.656	5.249	8.025	8.643
P		0.013	0.008	0.001	0.000

注：与对照组比，^a*P*<0.05，^b*P*<0.01；与重症病例危重型组比，^c*P*<0.05，^d*P*<0.01

从表 2 中得知，重症病例危重型组血清和 CSF 中 IL-1β、IL-1ra 水平均高于重症病例重型组和对照组，差异有统计学意义（*P*<0.05 或 *P*<0.01）；重症病例重型组 CSF 中 IL-1ra 的水平高于对照组，差异有统计学意义（*P*<0.05），重症病例重型组血清和 CSF 中 IL-1β 水平及血清 IL-1ra 的水平与对照组比较差异无统计学意义（均 *P*>0.05）。

2.3 重症病例组急性期、恢复期血清和脑脊液中各指标（IL-1β、IL-1ra）与对照组比较。

（见表3）

表3 重症病例组急性期、恢复期与对照组血清和脑脊液中IL-1ra、IL-1β的含量比较

组别	n	血清		脑脊液	
		IL-1β	IL-1ra	IL-1β	IL-1ra
重症病例组急性期	49	39.15±17.92 ^a _d	54.53±17.87 ^b _d	37.45±14.82 ^{ad} _d	54.33±15.68 ^b _d
重症病例组恢复期	49	25.57±12.81	38.25±13.55	24.73±12.68	37.64±13.13
对照组	21	29.94±11.88	43.04±17.41	29.09±10.51	41.43±15.16
F		10.252	12.851	11.415	16.886
P		0.000	0.000	0.000	0.000

注：与对照组比^a $P<0.05$ ，^b $P<0.01$ ；与恢复期比，^d $P<0.01$

表 3 显示，重症病例组急性期血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1ra 含量均高于恢复期和对照组，差异有统计学意义（ $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ），但恢复期血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1ra 含量与对照组无显著性差异（均 $P>0.05$ ）。

3 讨论

大多数 HFMD 病例经抗病毒及对症、支持治疗后预后良好，但重症病人（特别是 EV71 感染者）可并发脑膜炎、脑炎、脑干脑炎、急性弛缓性瘫痪等疾病。据报道重症病例中 70% 为并发病毒性脑炎^[5]。Wong 等^[6]发现中枢神经系统内主要病变部位在脑桥组织，头颅 MRI 和尸体解剖研究结果显示，EV71 感染患者中枢神经系统存在广泛炎症反应，尤其脑干和脊髓病变明显，可见弥漫的管周围炎性细胞浸润和神经元变性坏死。近年来的研究显示免疫系统参与了多种形式的脑损伤。IL-1 是神经兴奋性损伤的重要介导者，在体内主要以三种形式存在：IL-1 α 、IL-1 β 及内源性 IL-1ra，其中 IL-1 β 是主要分泌形式，也是在中枢神经系统中存在的主要形式；IL-1ra 是一种内源性 IL-1 受体拮抗剂，通过竞争性地与 IL-1R 结合而阻断 IL-1 β 的作用。IL-1 β 可促进缺血缺氧所致的神经兴奋毒性损伤^[7]，而 IL-1ra 抑制神经兴奋毒性损伤。研究表明脑缺血、惊厥性脑损伤、脑外伤、出血性脑损害等病变有 IL-1 β 和 IL-1ra 的参与^[8]。本课题组也曾发现流行性乙型脑炎患儿脑脊液 IL-1 β 、IL-1ra 与病情严重程度密切相关^[9]。EV71 具有高度的嗜神经毒性，脑干是最易被其感染的部位。EV71 感染后，激活的单核细胞和巨噬细胞释放炎性细胞因子，包括 IL-1 β ，TNF- α 和 IL-10，机体进行抗感染免疫反应，并随之发生复杂的免疫功能改变^[10]。虽然在感染性疾病早期会产生大量的前炎性细胞因子（如 IL-1 β ，TNF- α ），且其水平与疾病的严重程度有相关，并引起全身炎症反应综合征（systemic inflammatory response syndrome, SIRS）。但随着疾病的进展，过量的炎性刺激也会引起特异性的细胞因子中和分子，如抗炎性细胞因子 IL-1ra、TNF- α 受体大量产生，机体处于代偿性抗炎反应综合征（compensatory antiinflammatory response syndrome, CARS）^[11]。

本研究观察结果发现，重症病例组血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1ra 水平均高于普通病例组和对照组，提示血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1ra 含量变化可能在 EV71 脑炎的发病中起重要作用。重症病例危重型组血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1ra 水平均高于重症病例重型组和对照组，提示 IL-1 β 、IL-1ra 含量变化与病情轻重相关；重症病例组急性期血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1ra 含量均高于恢复期，其中 5 例病人病情重，意识障碍持续时间达一周之久，2 周后复查血清和 CSF 中 IL-1 β 、IL-1ra 水平仍明显升高，提示 IL-1 β 、IL-

1ra 含量变化对 EV71 脑炎的预后判断有一定价值；与 Griffiths^[12]等报道一致。本研究同时发现，重症病例组血清和脑脊液中 IL-1 β 与 IL-1ra 的含量均呈正相关（ $r=0.706$ ， $P<0.01$ ； $r=0.746$ ， $P<0.01$ ），表明不仅 EV71 感染不仅诱发促进脑损伤的 IL-1 β 表达，而且诱发抗脑损伤的 IL-1ra 表达；作者认为 IL-1ra 表达是对 IL-1 β 表达的平衡反应，是机体抗损伤的保护反应。由此推测，EV71 脑炎所致的脑损伤过程中，IL-1 β /IL-1ra 比值的改变是决定脑损伤程度的重要因素，故如何调节 IL-1 β /IL-1ra 比值是预防和治疗 EV71 脑炎的脑损伤的关键问题之一。此外，重症病例组血清与脑脊液中 IL-1 β 、IL-1ra 也均呈正相关，提示可通过检测血液中反应炎症程度的指标来间接判断中枢神经系统炎症状况。

参考文献

- [1] Ooi MH, Wong SC, Lewthwaite P, et al. Clinical features, diagnosis, and management of enterovirus 71[J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9 (11) : 1097-1105.
- [2] Wang SM, Lei HY, Liu CC. Cytokine Immunopathogenesis of Enterovirus 71 Brain Stem Encephalitis[J]. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012, Article ID 876241, 8 pages doi: 10.1155/2012/876241.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 手足口病诊疗指南（2010年版）. 国际呼吸杂志, 2010, 30 (24) : 1473-1475.
- [4] 卫生部手足口病临床专家组. 肠道病毒71型（EV71）感染重症病例临床救治专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2011, 49 (9) : 675-678.
- [5] 照日格图. 近年来新出现的重症病毒性疾病的诊治进展[J]. 小儿急救医学, 2005, 12 (5) : 356-359.
- [6] Wong KT. Emerging and re-emerging epidemic encephalitis: a tale of two viruses[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2000, 26 (4) : 313-318.
- [7] Girard S, Kadhim H, Larouche A, et al. Pro-inflammatory disequilibrium of the IL-1 beta/IL-1ra ratio in an experimental model of perinatal brain damages induced by lipopolysaccharide and hypoxia-ischemia[J]. *Cytokine*, 2008, 43 (1) : 54-62.
- [8] Hailer NP, Vogt C, Korf HW, et al. Interleukin-1beta exacerbates and interleukin-1 receptor antagonist attenuates neuronal injury and microglial activation after excitotoxic damage in organotypic hippocampal slice cultures[J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 21 (9) : 2347-2360.
- [9] 李伟, 石海矾, 汪洪姣, 等. 流行性乙型脑炎患儿脑脊液 IL-1 β 和 IL-1ra 动态变化的研究. 中华临床感染病杂志, 2009, 2 (5) : 277-280.
- [10] Wang SM, Lei HY, Yu CK, et al. Acute chemokine response in the blood and cerebrospinal fluid of children with enterovirus 71-associated brainstem encephalitis[J]. *J Infect Dis*, 2008, 198 (7) : 1002-1006.
- [11] 付丹, 李成荣, 何颜霞, 等. 肠道病毒 71 型感染患儿免疫功能探讨[J]. 中华儿科杂志, 2009,

47 (11) : 829-834.

- [12] Griffiths MJ, Ooi MH, Wong SC, et al. In enterovirus 71 encephalitis with cardio-respiratory compromise, elevated interleukin 1 β , interleukin 1 receptor antagonist, and granulocyte colony-stimulating factor levels are markers of poor prognosis. *J Infect Dis*, 2012, 206 (6) : 881-892.