

脑血管疾病基础 与临床研究进展

ADVANCE IN CEREBRAL VASCULAR DISEASE
ON BASIC AND CLINICAL STUDY

主 编 周华东
副主编 李敬诚

重庆大学出版社

5743
3412

脑血管疾病基础与临床研究进展

主 编 周华东
副主编 李敬诚
主 审 陈曼娥
编 者 (按姓氏笔划排列)

王 强	王政伟	王 敏
王景周	汪青松	吕受卿
李敬诚	李光勤	张莉莉
张微微	张 猛	陈康宁
罗 勇	高长越	周华东
周海鹰	蒋晓江	夏一鲁
陶先明		



5743



A0292504

重庆大学出版社

脑血管疾病基础与临床研究进展

主 编 周华东

副 主 编 李敬诚

责任编辑 刘茂林

*

重庆大学出版社出版发行

新 华 书 店 经 销

四川外语学院印刷厂印刷

*

开本:850×1168 1/32 印张:10 字数:265 千

1998 年 12 月第一版 1998 年 12 月第一次印刷

印数:1-2 500

ISBN 7-5624-1828-4/R·132 定价:16.80 元

序 言

脑血管疾病已成为当今世界的常见病、多发病,其发病率、患病率、致残率和死亡率均列各类疾病的首位。随着我国社会经济水平的提高,脑血管疾病在老年人群疾病谱中所占位置日益突出,并有年轻化趋势。因此,开展对脑血管疾病的基础与临床研究具有重要的社会意义。

90年代以来,随着细胞生物学、分子生物学、分子病理学等学科的迅猛发展,以及一些与脑血管疾病诊断密切相关的新技术如CT、MRI、MRA、DSA、SPECT、PET等的普及和应用,脑血管疾病在基础与临床研究方面都有很大的进展。我很欣慰地看到一批中青年神经科工作者能了解和掌握当前关于脑血管疾病基础与临床方面的研究动态并处在研究的前沿。

本书将90年代以来脑血管疾病研究的一些重要进展作了较深入的介绍,部分内容反映了编著者们近年来在该领域的研究成果,相信这将对脑血管病的临床诊治水平提高有所裨益。全书共分基础、临床及新药应用等三个方面,反映了当前脑血管疾病的最新理论和研究成果,对神经内科、神经外科及一般临床医师均有很大的参考价值。谨以为序。

董为伟

1998年12月16日

目 录

第一篇 脑血管疾病的基础研究

一、脑缺血再灌注损伤白细胞与内皮细胞的粘附	3
二、IL-1、IL-2、IL-6 和 TNF- α 与缺血性脑损伤	11
三、脑缺血细胞凋亡及其基因研究	18
四、红细胞变形性与缺血性脑血管病	33
五、白细胞与脑血管病	41
六、脑缺血半影区概念的发展	51
七、蛛网膜下腔出血脑血管痉挛的研究	60
八、脑缺血神经元 DNA 的损伤与修复	71
九、钙离子和蛋白激酶 C 与缺血性神经元损伤	84
十、多磷酸肌醇磷脂转换与缺血性脑血管病	96

第二篇 脑血管疾病的临床研究

一、急性脑血管病的重症监护	107
二、脑血管疾病的影像学检查	124
三、血管性痴呆	132
四、脑出血	144
五、蛛网膜下腔出血	155
六、急性脑血管病并发内脏损害	167
七、脑血管疾病的细胞保护	188
八、脑血栓形成凝血-纤溶变化及其干预	196
九、脑血管病的高压氧治疗	209
十、脑血管病的中医中药治疗	221

第三篇 治疗脑血管疾病的最新药物

一、普恩复——抗凝溶栓去纤,预防脑梗塞的最佳选择	235
二、舒安灵——改善红细胞变形性,抑制血小板聚集	243
三、降纤酶——治疗缺血性脑血管疾病的首选药物	251
四、科素亚——最新一代的抗高血压药	259
五、醒脑静——具有醒脑作用的有效药物	266
六、金钠多——清除自由基、抑制 PAF 的新药	273
七、葛根素——脑循环改善剂	280
八、脑通——脑功能促进剂	287
九、丽珠赛乐——脑代谢活化剂	294
十、GM-1——具有脑细胞损伤修复功能的新药	303

第一篇 脑血管疾病 的基础研究

一、脑缺血再灌注损伤白细胞 与内皮细胞的粘附

近年来随着分子生物学和分子免疫学的发展,粘附分子的研究日益受到关注。实验和临床研究表明,缺血再灌注损伤时白细胞大量浸润到缺血脑组织。白细胞内皮细胞粘附与血管损伤、动脉粥样硬化、血栓形成及免疫反应等密切相关,深入研究白细胞与内皮细胞粘附在脑缺血再灌注损伤中的作用,对防治缺血性脑损伤具有十分重要的意义。

1. 粘附分子的结构和分布

(1) 整合素(integrin)超家族:整合素是由 α 、 β 两个亚基以非共价键结合的异二聚体, α 亚基可分为三个亚群: α_1 、 α_2 和 α_3 亚群。 β 亚其中与脑缺血有关的主要为 β_2 亚群。整合素是白细胞表面的一种跨膜糖蛋白,其成员为CD11/CD18复合物抗原系统:CD11a/CD18(LFA-1),CD11b/CD18(Mac-1)和CD11c/CD18(GP150.95),它们由不同的 α 亚基与共同的 β_2 亚基组成二聚体。 α 亚基分子量分别为180,165,150kD,它们之间36%~63%氨基酸序列具有同源性; β_2 亚基分子量为95kD。人类两亚基分别由16号和21号染色体基因编码,且均有一较长的胞外区、跨膜区和较短的胞内区。胞外区为N末端,与细胞外基质、配体结合;胞内段为C末端,与细胞骨架相连,与信息传递有关。在二价离子存在下,整合素与iC3b,纤维蛋白原,凝血因子X,胶原,多糖,IgSF中的ICAM-1,2,3等配体结合,介导细胞与基质,细胞与细胞间的粘附。配体

与整合素不是一一对应的,很多配体可与整合素结合,而某种整合素也可与多种配体结合。

(2) 免疫球蛋白超家族(IgSF): IgSF 成员众多,在内皮细胞表达与缺血再灌注损伤有关的 IgSF 主要包括:细胞间粘附分子(ICAM)-1,2,3,血管内皮细胞粘附分子(VCAM)-1,血小板内皮细胞粘附分子(PECAM)-1。ICAM-1(CD54):分子量为 95kD,其配体为 LFA-1、Mac-1,介导白细胞与内皮细胞粘附及白细胞穿出血管壁。静止的内皮细胞表达 ICAM-1 水平低,且粘附性弱,但在某些炎性因子(如 IL-1, TNF- α , IFN- γ 等)刺激下表达上调。ICAM-2:分子量为 60kD,生理条件下内皮细胞处于稳定高表达,且不受炎性因子的调控,与配体 LFA-1 结合,促使白细胞通过内皮细胞进行迁移。VCAM-1:分子量为 100、110kD, IL-1, IL-4, TNF 可诱导内皮细胞表达 VCAM-1,与配体 VLA-4(极迟抗原 4,属整合素超家族 β_1 亚群)结合,促进单核细胞穿过血管壁向缺血组织聚集。PECAM-1:分子量为 130~135kD,除内皮细胞表达外,血小板和白细胞亦表达,其本身互为配体,两个细胞通过各自的 PECAM-1 连接,主要介导内皮细胞间的粘附,促进单核细胞和中性粒细胞(PMNs)穿越内皮。IgSF 为单链糖蛋白,亦分胞外区、跨膜区和胞内区,由一个或多个 Ig 同源单位组成,均含有 Ig 的 V 区和 C 区。IgSF 分子中每个同源单位含 90~110 个氨基酸,中间横跨一个二硫键。

(3) 选择素(selectin)超家族:共有 P, E, L-选择素(CD62P, CD62E, CD62L)三个成员。人类均由 1 号染色体(q21~24)基因编码。P-选择素(GMP140):分子量 140kD,贮存于巨核细胞,内皮细胞的 Weible-Palade 小体和血小板的 α 颗粒中。当内皮细胞、血小板受到凝血酶、组织胺激活时, P-选择素很快从内皮细胞或血小板转移到其表面的胞膜上,主要介导血小板、内皮细胞与 PMNs、单核细胞的粘附。E-选择素(ELAM-1):分子量 115kD,静止的内

皮细胞不表达,当内皮细胞受到 IL-1、TNF- α 、内毒素等刺激时表达上调,主要介导 PMNs 与活化的内皮细胞粘附。L-选择素(LAM-1,LEAM-1):分子量 90kD,所有循环的白细胞均表达为淋巴细胞归巢受体,介导白细胞与内皮细胞的粘附。选择素也是一族细胞表面的单链跨膜糖蛋白,亦有胞外区,跨膜区和胞内区之分。胞外区同源性高,其 N 末端为依赖 Ca^{2+} 的凝集素功能区,为配体结合单位;中间为表皮生长因子样功能区,维持选择素分子构型;近膜区为补体结合蛋白重复序列。跨膜区和胞内区无同源性,胞内区与细胞骨架相连。其配体主要为唾液酸酰化的路易斯寡糖或类似结构的分子。

(4) 钙依赖粘附分子超家族(cadherin superfamily):是一类严格依赖 Ca^{2+} 的单链糖蛋白,目前已鉴定出 20 种此类分子,重要成员有 E-Cadherin, N-Cadherin 和 P-Cadherin,参与细胞间粘附,主要在生长发育过程中的细胞选择性聚集发挥作用。

2. 脑缺血损伤时白细胞与内皮细胞粘附的变化

(1) 脑缺血损伤时白细胞和内皮细胞活化:生理条件下,机体循环的白细胞(主要为 PMNs)存在少量活化,它们可粘附于血管内皮细胞,当白细胞或/和内皮细胞受到体内外某些因子刺激时,粘附于内皮细胞的白细胞明显增多,并向内皮下移行。ELneihouin 等用 ELISA 法测定代表白细胞活性的血浆中的炎性介质(NGAL, NP4 等),发现 72 例缺血性中风、48 例 TIA 病人炎性介质明显升高,证实脑缺血时白细胞活性增加,活化白细胞及其分泌的炎性介质参与急性脑缺血发生和发展。Frijns 等研究显示缺血性中风、TIA 患者血浆中可溶性 P-选择素、E-选择素升高,提示急性脑缺血时内皮细胞活化。

(2) 白细胞与内皮细胞的粘附过程:选择素介导白细胞在激活的内皮细胞上滚动:脑缺血时局部生成的 TNF、IL-1 等激活血

管内皮细胞使其表达 E-选择素、ICAM-1, E-选择素与白细胞表达的 L-选择素相互作用使白细胞沿血管壁滚动。组织胺等使贮存于内皮细胞的 Weible-Palade 小体中的 P-选择素在数分钟内转移到内皮细胞表面,并在白细胞的滚动中发挥作用。在大多数血管中,组织损伤数分钟内白细胞开始滚动,20~40min 达高峰,持续约 2h。

白细胞与内皮细胞的牢固粘附:在 TNF, IL-1, IFN- γ 等作用下,白细胞表达 CD11/CD18 增强,亲和力增加,CD11/CD18 与 ICAM 形成牢固结合。在此过程中,IL-8 能增强 CD11/CD18 的活性,改变 CD11/CD18 的构型,与在白细胞粘附和滚动中起作用的 L-选择素形成牢固粘附。

白细胞透过内皮细胞迁移至缺血区:PECAM-1 参与单核细胞和 PMNs 穿过内皮。PECAM 作为同种亲和性的粘附因子,通过建立接触性趋化梯度促使白细胞以不同方式穿过内皮细胞间连接,此外 PECAM 可能通过 CD11/CD18 的激活作用,借细胞信号使内皮细胞连接骨架重组促使白细胞通过。白细胞在趋化因子等作用下释放自由基和蛋白水解酶,使内皮通透增加,并损伤内皮细胞。

(3) 脑缺血损伤时白细胞浸润:用^{99m}Tc-HMPAO 标记白细胞作 SPECT 脑显像,发现急性脑缺血性中风病人脑灌注不足区均可见 PMNs 浸润,持续不少于 5 周,高度 PMNs 浸润者预后不良。与慢性缺血性中风者比较,发病后第一周不对称指数有显著差异。Akopov 等观察 88 例急性脑梗塞发病 3~6h PMNs 开始在梗塞半球聚集,12~24h 达高峰,持续时间 6~9d,28~30d 下降,90d 基本恢复正常,且 PMNs 升高早、持续时间长者脑损害范围大,神经功能缺损恢复差。

3. 脑缺血再灌注损伤时粘附分子表达及意义

(1) 动物实验研究: 狒狒局部缺血 2h 再灌注 1h 后, 缺血区 ICAM-1, P-选择素表达明显增加。再灌注 4h 时, ICAM-1 恢复到缺血前水平, 而 P-选择素高表达则长达 20h。缺血 3h 再灌注 4h E-选择素表达低, 但再灌注 24h 时缺血区表达明显增加, 主要分布小于 $7.5 \sim 30\mu\text{m}$ 微血管腔的内皮细胞。DNA 印迹杂交及定量 RT-PCR 研究亦显示鼠局部脑缺血 3~6h E-选择素、ICAM-1 在缺血区表达开始升高, 6~12h 达高峰, 持续 2~5d, 粘附分子表达与 PMNs 浸润时间显著平行, 且与 ICAM-1 表达时相、炎症细胞因子(如 $\text{TNF}-\alpha$, $\text{IL}-1$) 显著相关。

(2) 临床研究: 急性缺血性中风病人脑组织免疫组化发现缺血区 ICAM-1 表达明显增多, 主要分布于 $7.5\mu\text{m}$ 的毛细血管及 $7.5 \sim 30\mu\text{m}$ 的微血管, 与上述实验研究结果一致。Kim 等用免疫荧光及流式细胞仪研究缺血性中风和 TIA 病人周围血中 CD11a, 发现发病 3d 后 CD11a 明显升高, 7d 后下降, 但仍高于正常。Fassbender 等研究可溶性粘附分子表明, 缺血性中风病人 sELAM-1, sVCAM-1 明显增高, 持续 1~5d。Frijns 等研究缺血性中风及伴颈内动脉狭窄的 TIA 患者, 显示 sGMP-140、sELAM-1 升高, 但 sICAM-1、sVCAM-1 水平与对照组比较无显著差异。

脑缺血时, 血管内皮细胞和白细胞被炎性因子等激活, 粘附分子表达上调, 粘附于内皮细胞的白细胞形成微栓子, 导致微循环障碍, 引发血管痉挛和内皮损伤, 影响组织血供; 白细胞释放蛋白水解酶和氧自由基等毒性产物, 损伤局部血管及组织; 活化的白细胞还可通过前凝血物质和前凝血效应激活其他白细胞、血小板和某些凝血因子, 使血小板聚集增强, 促进和加重血栓形成; PMNs 移出血管并浸润到缺血组织后, 还可直接导致细胞损伤。

4. 抗白细胞和内皮细胞粘附治疗研究

鉴于粘附分子介导的白细胞、内皮细胞粘附与白细胞活化、浸润密切相关,许多学者试图通过不同的途径干预粘附分子作用,减轻缺血性脑损伤。

(1) 干预细胞因子减轻缺血性脑损伤:许多细胞因子(如 IL-1, IL-6, IL-8, TNF, PAF, TGF- β , NO 等)影响粘附的作用。Yamasaki 等在鼠 MCA 缺血 1h 时脑室注入抗 IL-1 抗体或 IL-1 阻滞剂原卟啉锌,再灌注 24h 后发现缺血区水肿较对照组减轻,梗塞灶减小,缺血区 PMNs 浸润减少。TGF- β 能抑制 PMNs-内皮细胞粘附,防止缺血再灌注损伤,对急性脑缺血具有潜在保护作用。Gross 等在兔自体血凝块栓塞颈内动脉前应用 TGF- β (10 μ g 或 50 μ g) 后发现,栓塞后 2h 10 μ g 组 rCBF 恢复至缺血阈值以上,且梗塞灶较对照组小;栓塞后应用 TGF- β 使外周血中性粒细胞计数迅速、选择性降低,应用 30min 内中性粒细胞聚集性升高,梗塞灶与对照组比较无显著差异。TGF- β 的神经保护作用可能与其中抑制星形胶质细胞和白细胞功能、使 TNF 产生减少、对抗 IL-1、TNF 对 PMNs 迁移作用等有关。

(2) 抗粘附分子单克隆抗体的作用:Matsuo 等在鼠 MCA 缺血前 15min 腹腔分别注射抗 CD11a、抗 CD18、抗 ICAM-1 单抗 (5mg/kg),缺血 1h 再灌注 24h 发现梗塞区水肿程度减轻,梗塞面积减少,PMNs 浸润减少。Chopp 等亦证实鼠 MCA 缺血再灌注后静注抗 Mac-1 单抗可使病灶缩小,PMNs 浸润减少。Zhang 等研究显示抗 ICAM-1 单抗对持久的缺血损伤无效,在缺血再灌注时显著减少损伤范围。Rosenbturn 等在小鼠脑动脉内皮轻度损伤模型中,在体应用抗 PECAM 单抗可使血小板粘附/聚集潜伏期延长。Bowes 等在兔局部栓塞性中风后 5min 静注抗 CD18 单抗可明显减轻神经功能缺损,栓塞后 15min 和 30min 用抗 CD18 或抗 ICAM-1

单抗则无效。然而,也有研究显示应用抗粘附分子单抗不能减轻缺血性脑损伤,这可能与动物模型的差异,应用单抗的时间、剂量、途径不同及白细胞与内皮细胞粘附不是由单一粘附分子介导有关。

(3) 抗粘附分子药物的作用:Yanaka 等在鼠脑局灶性缺血 1h,再灌注 24h 模型中应用肝素表明,肝素能减轻缺血再灌注损伤,其抗白细胞粘附作用比抗凝作用更为显著。肝素 2.67 ~ 4mg/kg 均能减少 PMNs 浸润,缩小损伤范围,减轻神经功能缺损,尤以缺血后 4h 应用 4mg/kg 疗效最佳。此外,糖皮质激素,非甾体类药物能通过抑制炎性介质而影响多种细胞因子,间接抑制白细胞粘附。己酮可可碱可下调 CD18 表达,抑制白细胞粘附。

(4) 其他:Morikawa 等在鼠脑缺血模型中静注 E-选择素凝集素区合成寡肽(2mg 或 10mg/kg),对持久的脑缺血无效,但在脑缺血再灌注时,10mg/kg 组可明显缩小损伤范围,使 rCBF 显著增加。Yanaka 等在鼠缺血 1h 再灌注 24h 模型中应用合成纤粘连蛋白肽(fibronectin peptides,整合素配体),可明显减少 PMNs 浸润,缩小梗塞范围,减轻神经功缺损。

总之,急性脑缺血时粘附分子在局部多种代谢产物调节下表达上调,粘附分子表达增多,对白细胞与内皮细胞粘附,脑缺血再灌注损伤的发生起重要作用,抑制粘附分子的表达或阻断粘附分子的毒性作用有助于减轻缺血性脑损伤,有望成为缺血性脑血管病新的治疗途径。

(第三军医大学大坪医院 吕受卿 周华东 陈曼娥)

参考文献

- [1] Jagels MA, Chambers JD, Arfors KE, et al. C5a and tumor necrosis factor -

- alpha induced leukocytosis occurs independently of beta 2 integrins and L-selectin: defferential effects on nertrophil adhesion molecule expression in vivo. *Blood* , 1995;85:2900 - 2909
- [2] Carlos TM, Harian JM. Leukocyte - endothelial adhesion molecules . *Blood*, 1994;84:2068 - 2101
- [3] Elneihoum AM , Falke P, Axeisson L, et al. Leukocyte activation detected by increased plasma levels of inflammatory mediators in patients with ischemic cerebral vascular diseases. *Stroke*, 1996;27:1734 - 1738
- [4] Frijns CJM, Kappelle LJ, Gijn J, et al. Soluble adhesion molecules reflect endothelial cell activation in ischemic stroke and in carotid atherosclerosis. *Stroke*, 1997;28:2214 - 2218
- [5] Butcher EC. Specificity of leukocyte - endothelial interactions and making process. *Immunol Res* , 1993;144:690 - 695
- [6] Ayalon O, Sabanai H, Lampugnani MG , et al. Spatial and temporal relationships between cadherins and PECAM - 1 in cell - cell junctions of human endothelial cells. *J Cell Biol* , 1994;126:247 - 258
- [7] Berman ME, Muller WA. Ligation of plarelet/endothelial cell adhision molecule 1 (PECAM/CD31) on monocytes and neutrophils increases vinding capacity of leukocyte CR3(CD11b/CD18) . *J Immunol*, 1995;154:299 - 307
- [8] Wang PY, Kao CH, Mui MY ,et al. Leukocyte infiltration in acute hemispheric ischemic stroke. *Stroke* , 1993;24:236 - 240
- [9] 周华东.急性脑梗塞血清可溶性血管细胞粘附分子的变化及意义. *中华内科杂志*. 1997;36(11):78
- [10] Wang XK, Yue TL, Barone FC, et al. Demonstration of increased endothelia l - leukocyte adhesion molecule - 1 mRNA expression in rat ischemic cortex. *Stroke*, 1995;26:1665 - 1669

二、IL-1、IL-6、IL-8 和 TNF- α 与缺血性损伤

细胞因子是指由活化的免疫细胞(淋巴细胞和非淋巴细胞)和某些基质细胞分泌的介导和调节免疫应答及炎症反应的小分子多肽类因子,它们是除免疫球蛋白和补体之外的另一类非特异性免疫效应物质。近 10 年来,由于基因工程和细胞工程的迅猛发展,使得人们能够从分子水平上来认识细胞因子网络的形成在机体免疫调节及炎症反应中的重要作用,从而对临床某些疾病的诊治提供帮助。随着近年临床和实验研究的进展,已经证明多种细胞因子在缺血性脑损伤的发病过程中起了十分重要的作用。研究发现,在脑微循环局部缺血的病生过程与 IL-1、IL-6、IL-8 和 TNF- α 密切相关。本文将就上述四种因子在缺血性脑损伤中的作用作一概述。

1. IL-1、IL-6、IL-8 和 TNF- α 的一般特性

按照细胞因子的功能来分,IL-1、IL-6、IL-8 及 TNF- α 均属于介导天然免疫的细胞因子。它们各自具有独特的理化性质和生物学特性,但又有许多共同特征:①处于正常休止状态的细胞需经刺激和活化后才能合成和分泌,其过程是自限的;②具有很强的生物学活性;③多是通过旁分泌,即作用于邻近细胞,或自分泌作用于产生细胞的方式在局部发挥作用等等。

(1) IL-1

IL-1 主要是由单核-巨噬细胞产生,体内还有多种细胞亦