

脑脊液中 TGF- β 1、PICP、PIIINP、HA、LN 在蛛网膜下腔出血后脑积水发生中的意义

吴恒浩¹, 申娟茹², 张万宏¹, 郑光明¹, 孙建中¹

1. 河南省开封市中心医院神经外科, 河南 开封 475000

2. 开封大学医学部, 河南 开封 475000

摘要: **目的** 探讨蛛网膜下腔出血后转化生长因子 β 1 (Transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、I 型前胶原前肽 (procollagen I C-propeptide, PICP)、III 型前胶原前肽 (procollagen III N-propeptide, P III NP)、透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 及层黏蛋白 (laminin, LN) 在脑积水形成的过程中的作用。 **方法** 收集我院颅脑损伤及自发性颅内出血 (波及到蛛网膜下腔及脑室系统) 的患者, 入院时不同时间点检查患者脑脊液中 TGF- β 1、PICP、P III NP、HA、LN 的水平, 同时随访上述患者在半年内发生脑积水的情况, 比较出现与未出现脑积水患者脑脊液中 TGF- β 1、PICP、P III NP、HA、LN 水平的差异。分析患者脑脊液中 TGF- β 1 分别与 PICP、P III NP、HA、LN 表达的相关性及其时间-浓度关系。 **结果** 收集病例 83 例, 随访半年, 53 例未出现脑积水 (A 组), 30 例出现脑积水 (B 组), 结果显示, 出现脑积水的患者在脑脊液各个时间点的 TGF- β 1、PICP、HA、LN 水平均显著高于未出现脑积水的患者。83 例患者脑脊液中 TGF- β 1 与 PICP、P III NP、HA、LN 的表达呈正相关, 相关系数分别为 0.8248、0.7951、0.9078、0.7572。脑脊液中 TGF- β 1 在 7 天时达到高峰期, 之后逐渐下降, 而 PICP、P III NP、HA、LN 在脑脊液中的表达是在 TGF- β 1 达到高峰后快速上升, 后缓慢下降。 **结论** 脑脊液中 TGF- β 1、PICP、P III NP、HA、LN 与脑脊液系统出血后慢性脑积水的发生过程中发挥着重要作用。TGF- β 1 在脑脊液系统出血后的表达可能促进了 PICP、P III NP、HA、LN 的表达。

关键词: 脑积水; 转化生长因子 β 1; I 型前胶原前肽; III 型前胶原前肽; 透明质酸; 层黏蛋白

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2017.01.004

Roles of transforming growth factor-beta 1, procollagen I C-terminal propeptide, N-terminal procollagen III propeptide, hyaluronic acid, and laminin in cerebrospinal fluid in the development of hydrocephalus after hemorrhage

WU Heng-hao¹, SHEN Juan-ru², ZHANG Wan-hong¹, ZHENG Guang-ming¹, SUN Jian-zhong¹; 1Department of neurosurgery, Kaifeng central hospital, 475000, Henan, China. 2 Kaifeng university health science center, 475000, Henan, China.

Abstract: **Objective** To investigate the roles of transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1), procollagen I C-terminal propeptide (PICP), N-terminal procollagen III propeptide (PIIINP), hyaluronic acid (HA), and laminin (LN) in the development of hydrocephalus after hemorrhage in the cerebrospinal fluid system. **Methods** The patients with traumatic brain injury and spontaneous intracranial hemorrhage (involving the subarachnoid space and the ventricular system) who were treated in our hospital were enrolled, and the levels of TGF- β 1, PICP, PIIINP, HA, and LN in cerebrospinal fluid were measured at different time points after admission. The patients were followed up to observe the development of hydrocephalus within half a year, and the levels of TGF- β 1, PICP, PIIINP, HA, and LN in cerebrospinal fluid were compared between the patients with hydrocephalus and those without hydrocephalus. The correlation of TGF- β 1 with PICP, PIIINP, HA, and LN expression and their time-concentration relationship were analyzed. **Results** A total of 83 patients were enrolled, and after the follow-up for half a year, 53 patients did not have hydrocephalus (group A) and 30 had

基金项目: 开封市科技发展计划项目, 项目编号: 140306

收稿日期: 2016-12-12; **修回日期:** 2017-02-03

作者简介: 吴恒浩 (1981-), 男, 硕士, 主治医师, 主要研究方向: 颅脑损伤、脑血管疾病的诊断、手术、重症治疗等。

通信作者: 张万宏 (1969-), 男, 硕士, 主任医师, 开封市中心医院神经外科。主要研究方向: 颅脑损伤、脑血管疾病, 神经系统肿瘤治疗等。

hydrocephalus (group B). Group B had significantly higher levels of TGF- β 1, PICP, HA, and LN in cerebrospinal fluid than group A at all time points. In all patients, TGF- β 1 was positively correlated with PICP, PIIINP, HA and LN ($r=0.8248, 0.7951, 0.9078$, and 0.7572). TGF- β 1 in cerebrospinal fluid reached the highest level on day 7 and then gradually decreased, while the expression of PICP, PIIINP, HA, and LN started to increase rapidly when TGF- β 1 reached the highest level and then slowly decreased. **Conclusions**

TGF- β 1, PICP, PIIINP, HA, and LN in cerebrospinal fluid play important roles in the development of chronic hydrocephalus after hemorrhage in the cerebrospinal fluid system, and TGF- β 1 may promote the expression of PICP, PIIINP, HA, and LN.

Key words: Hydrocephalus; Transforming growth factor-beta 1; Procollagen I C-terminal propeptide; N-terminal procollagen III propeptide; Hyaluronic acid; Laminin

1 病例资料

收集我院 2013 年 12 月 - 2015 年 12 月收治的患者 83 例, 上述患者符合本研究的纳入标准, 其中男性, 56 例, 年龄 47 ± 8.9 岁, 27 例, 女性, 年龄 48 ± 7.8 岁。颅脑损伤的 43 例, 其中男性 25 例, 年龄 46 ± 6.9 岁, 女性 19 例, 年龄 49 ± 8.6 岁; 脑血管疾病 40 例, 其中男性 25 例, 年龄 48 ± 5.9 岁, 女性 15 例, 年龄 44 ± 9.5 岁。

2 方法

2.1 病例纳入标准

① 脑血管疾病及颅脑损伤所致的颅内出血, 且出血进入了蛛网膜下腔及脑室; ② 所有纳入患者都因病情需要行开颅手术; ③ 入院时 GCS 评分 ≤ 8 分。

2.2 病例排除标准

① 存在颅内出血, 但出血未进入蛛网膜下腔及脑室。② 存在颅内出血, 出血进入蛛网膜下腔及脑室, 但 GCS 评分 ≥ 8 分和未行开颅手术的。③ 排除梗阻性脑积水的患者。④ 排除颅内感染的患者。

2.3 实验指标检测

2.3.1 TGF- β 1 检测 用 ELISA 法检测脑脊液中 TGF- β 1 浓度, 人脑脊液 TGF- β 1 试剂盒均购于武汉博士德生物公司, 具体操作按照说明书严格进行, 在 BD-492 酶标仪上测定样本 570 ~ 630 nm 处吸光度值, 按照标准曲线查找相应值。

2.3.2 PICP、P III NP 的检测 PICP、P III NP 试剂盒为美国 ADL 公司产品。PICP、P III NP 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定, 按照试剂盒说明书进行操作。

2.3.3 HA、LN 检测 脑脊液的 HA、LN 含量测定均采用放射免疫分析法 (RIA), 操作严格按照试剂盒说明书进行。

2.3.4 随访与分组 对研究对象随访 6 个月, 观察是否出现脑积水。未出现脑积水的是 A 组 (53

例), 出现脑积水的是 B 组 (30 例)。

2.3.5 脑脊液的采集的时间点 检测患者入院后第 1、3、7、14、21、28 天 6 个时间点脑脊液送检。

2.4 TGF- β 1、PICP、P III NP、HA、LN 时间 - 浓度关系

研究 83 例蛛网膜下腔出血患者发病后第 1、3、7、14、21、28 天 6 个时间点脑脊液中 TGF- β 1 与 PICP、P III NP、HA、LN 的平均浓度, 并绘制出脑脊液中 TGF- β 1、PICP、P III NP、HA、LN 时间 - 浓度关系曲线。

2.5 统计分析方法

数据采用 SPSS 15.0 统计软件进行录入并分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述, 组间差异的显著性检验用方差分析, 统计方法采用两样本均数比较的 t 检验。相关分析采用 Spearman 相关分析, $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 两组不同时间点脑脊液中 TGF- β 1、PICP、P III NP、HA、LN 的平均浓度的比较

研究患者发病后第 1、3、7、14、21、28 天 6 个时间点脑脊液中 TGF- β 1 与 PICP、P III NP、HA、LN 的两组平均浓度, 结果 $p < 0.05$, 两组患者脑脊液中 TGF- β 1、PICP、P III NP、HA、LN 存在上述时间存在显著性差异。(表 1)

3.2 脑脊液中 TGF- β 1 与 PICP、P III NP、HA、LN 时间 - 浓度曲线

分析本组 83 例蛛网膜下腔出血患者发病后第 1、3、7、14、21、28 天 6 个时间点脑脊液中 TGF- β 1 与 PICP、P III NP、HA、LN 的平均浓度, 并绘制出脑脊液中 TGF- β 1、PICP、P III NP、HA、LN 时间 - 浓度关系曲线。由图 1 可见脑脊液中 TGF- β 1 在大约 7 天时达到高峰期, 此后逐渐下呈缓慢下降趋势, 而 PICP、P III NP、HA、LN 在脑脊液中的表达是在 TGF- β 1 达到高峰以后快速上升在 14 天达到高峰。

表 1 两组不同时间点脑脊液 TGF-β1、PICP、PⅢNP、HA、LN 平均浓度的比较 (ug/L, $\bar{x} \pm s$)

时间点	组别	TGF-β1	PICP	PⅢNP	HA	LN
第 1 天	A 组	18.3 ± 3.16	28.7 ± 4.29	65.9 ± 9.23	21.7 ± 8.54	109.8 ± 9.04
	B 组	25.1 ± 4.09	62.8 ± 3.93	97.4 ± 7.65	54.7 ± 6.98	163.8 ± 8.51
第 3 天	A 组	23.9 ± 2.16	56.9 ± 4.25	80.1 ± 6.43	38.9 ± 7.45	136.9 ± 8.23
	B 组	30.6 ± 3.65	69.0 ± 7.43	94.7 ± 4.02	50.5 ± 5.54	163.6 ± 10.32
第 7 天	A 组	56.8 ± 9.16	93.8 ± 7.65	119.6 ± 10.05	70.6 ± 6.43	158.9 ± 11.6
	B 组	78.9 ± 3.54	119.6 ± 11.5	134 ± 7.06	90.5 ± 8.23	200.3 ± 18.5
第 14 天	A 组	58.5 ± 8.54	200.6 ± 10.5	245.8 ± 4.78	107.9 ± 5.13	305.8 ± 9.58
	B 组	79.0 ± 7.45	230.4 ± 11.9	250.6 ± 5.23	120.4 ± 4.89	320.5 ± 4.19
第 21 天	A 组	60.2 ± 3.16	189 ± 11.51	230.5 ± 6.45	100.9 ± 7.52	293.7 ± 7.32
	B 组	71.2 ± 5.50	200.5 ± 11.59	250.7 ± 5.56	120.5 ± 5.61	301.5 ± 6.29
第 28 天	A 组	55.8 ± 6.16	189.6 ± 7.25	221.0 ± 9.45	89.9 ± 11.4	286.7 ± 6.56
	B 组	70.3 ± 4.50	210.4 ± 8.90	246.7 ± 6.65	116.8 ± 6.76	302.5 ± 4.63

注: $p < 0.05$, 不同时间点两组患者脑脊液中在 TGF-β1、PICP、PⅢNP、HA、LN 存在显著性差异。

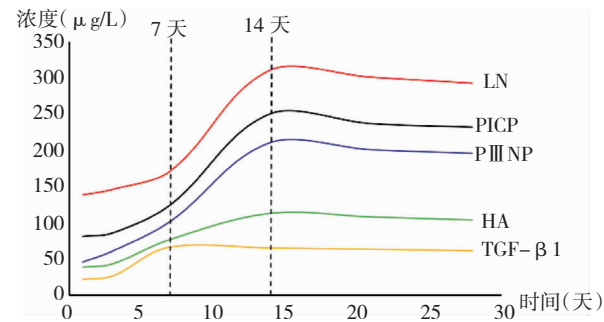


图 1 脑脊液中 TGF-β1 与 PICP、PⅢNP、HA、LN 时间-浓度曲线

3.3 脑脊液中 TGF-β1 与 PICP、PⅢNP、HA、LN 的相关性

绘制本组 83 例患者上述 6 个时间点脑脊液中 TGF-β1 分别与 PICP、PⅢNP、HA、LN 平均浓度的散点图 (图 2), 并经过 Spearman 相关分析, $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义, 提示脑脊液中 TGF-β1 与 PICP、PⅢNP、HA、LN 的表达存在明显正相关性, 相关系数分别为 0.8248、0.7951、0.9078、0.7572。结合图 1 结论, 提示 TGF-β1 在蛛网膜下腔出血后的表达可能促进了 PICP、PⅢNP、HA、LN 的表达。

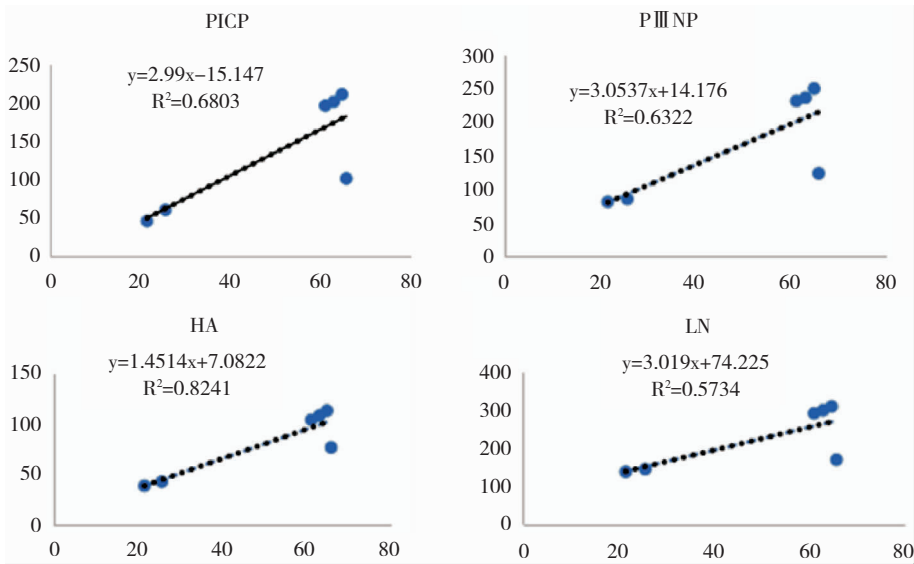


图 2 脑脊液中 TGF-β1 分别与 PICP、PⅢNP、HA、LN 的表达的散点图 (ug/L, $\bar{x} \pm s$)

4 讨论

脑脊液系统包括脑室系统及蛛网膜下腔, 颅脑损伤、脑出血破入脑室系统、蛛网膜下腔出血等情况都可导致血性脑脊液。研究显示^[1], 开放性颅脑损伤、硬膜下或脑内血肿、SAH 等因素是患者并发脑积水的危险因素。在蛛网膜下腔出血后脑积水的神经内镜手术中^[2], 发现患者脑室内有较多胶冻样或絮状沉积物, 推测蛛网膜下腔的纤维化可能在慢性脑积水的发生过程中发挥了重要作用。因此检测脑脊液中组织纤维化指标 PICP、PⅢ NP、HA、LN 的水平可能有效揭示脑脊液系统出血后脑积水的形成机制。

研究显示蛛网膜下腔出血后的血性脑脊液可改变正常脑脊液中的某些物质成份, 这些物质作用于蛛网膜颗粒等结构, 进而使之纤维化或者其他微观变化, 最终导致患者脑脊液循环平衡出现障碍, 形成脑积水^[2]。脑脊液系统出血包括颅脑损伤、脑血管疾病等多种原因引起的出血进入脑脊液, 可引发后天性的交通性脑积水。转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), 广泛存在于正常细胞及转化细胞中, 以骨组织和血小板中最为丰富。在中枢神经系统中, 小胶质细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞等均可产生 TGF- β 。TGF- $\beta 1$ 是与组织纤维化密切相关的细胞因子。大量研究提示^[3-7], 脑脊液系统因各种原因出血后脑积水发生的过程中, 脑脊液中 TGF- $\beta 1$ 含量呈明显的升高, 研究提示 TGF- $\beta 1$ 参与并通过相关机制促使脑积水的形成。血小板中含有大量的 TGF- $\beta 1$, 出血进入脑脊液后, 血小板崩解, TGF- $\beta 1$ 被释放到脑脊液中, 通过复杂的机制, 导致蛛网膜颗粒纤维化, 降低其脑脊液回吸收的能力, 影响脑脊液循环平衡, 形成交通性脑积水。另外, TGF- $\beta 1$ 能够通过改变血管细胞外基质环境、促进出血等在脑积水形成中发挥作用^[8]。

本研究提示脑脊液中 TGF- $\beta 1$ 在大约 7 天时达到高峰期, 此后逐渐下呈缓慢下降趋势, 而 PICP、PⅢ NP、HA、LN 在脑脊液中的表达是在 TGF- $\beta 1$ 达到高峰以后快速上升, 同是患者脑脊液中 TGF- $\beta 1$ 与 PICP、PⅢ NP、HA、LN 的表达存在明显正相关, 提示 TGF- $\beta 1$ 在蛛网膜下腔出血后的表达促进了 PICP、PⅢ NP、HA、LN 的表达。TGF- $\beta 1$ 以骨组织和血小板中最为丰富, 因此我们考虑蛛网膜下腔出血后, 血小板中的 TGF- $\beta 1$ 释放到脑脊液中, 是脑脊液中其浓度升高, TGF- $\beta 1$ 促进蛛网膜及蛛网膜

颗粒纤维化, 进而使 PICP、PⅢ NP、HA、LN 的表达快速上升。因此, 临床上蛛网膜下腔出血后采用脑室及腰大池外引流血性脑脊液的方法能降低后期脑积水的发生^[9]。虽然两者都能降低脑积水的发生, 但有研究提示持续腰大池脑脊液外引流可能比脑室外引流更能预防脑积水的发生^[10]。另一方面, 有学者研究采用 TGF- $\beta 1$ 的拮抗剂来延缓脑积水的发生发展^[11]。I 型前胶原前肽 (procollagen I Cpropeptide, P I CP)、Ⅲ型前胶原前肽 (procollagen Ⅲ N-propeptide, PⅢ NP)、透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 及层黏蛋白 (laminin, LN) 等蛋白是组织纤维化的标志物^[12]。研究结果表明, 颅脑创伤后慢性脑积水脑脊液中 PICP、PⅢ NP、HA、LN 的含量均显著高于对照组, 提示患者蛛网膜下腔及蛛网膜颗粒有明显的纤维化形成, 这可能是颅脑创伤后慢性脑积水形成的病理学基础。

在本课题研究中, 我们的研究显示两组患者脑脊液中 TGF- $\beta 1$ 、PICP、PⅢ NP、HA、LN 的水平存在显著性差异, 脑积水发生的患者中明显高于未发生脑积水的患者, 本组 83 例患者脑脊液中 TGF- $\beta 1$ 与 PICP、PⅢ NP、HA、LN 的表达存在明显正相关性, 相关系数分别为 0.8248、0.7951、0.9078、0.7572, 提示 TGF- $\beta 1$ 在蛛网膜下腔出血后的表达可能促进了 PICP、PⅢ NP、HA、LN 的表达, 对于本组病例无论是脑积水发生组还是未发生脑积水组, 患者的蛛网膜下腔都存在出血, 但为什么有的患者在随访半年后发生的了脑积水, 有患者没有发生, 我们考虑可能与患者蛛网膜下腔出血的程度有关, 甚至可能与患者的个体差异有关, 这一问题有待进一步深入的研究。同时蛛网膜下腔出血后脑积水的形成是个复杂的机制, 这一过程的阐明, 虽然目前有一定的研究积累, 但仍有很多问题没有解决, 需要进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] 欧洋, 宋宝新. 重型颅脑损伤患者术后脑积水的相关因素多元回归分析[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2015, (02): 148-151.
- [2] 孟辉, 张礼均, 李飞, 等. I、Ⅲ型前胶原、透明质酸及层粘蛋白在颅脑创伤后脑积水中的意义[J]. 创伤外科杂志, 2006, 8(4): 337-339.
- [3] Kaestner S, Dimitriou I. TGF beta1 and TGF beta2 and their role in posthemorrhagic hydrocephalus following SAH and IVH [J]. J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg, 2013, 74(5):

- 279-84.
- [4] Lee JH, Park DH, Back DB, et al. Comparison of cerebrospinal fluid biomarkers between idiopathic normal pressure hydrocephalus and subarachnoid hemorrhage-induced chronic hydrocephalus: a pilot study [J]. *Med Sci Monit*, 2012, 18 (12):19-25.
 - [5] Li X, Miyajima M, Jiang C, et al. Expression of TGF- β 1 and TGF- β 2 type II receptor in cerebrospinal fluid of patients with idiopathic normal pressure hydrocephalus [J]. *Neurosci Lett*, 2007, 413 (2):141-144.
 - [6] Douglas MR, Daniel M, Lagord C. High CSF transforming growth factor β levels after subarachnoid haemorrhage association with chronic communicating hydrocephalus [J]. *J Neurol Neurosurg Ps*, 2009, 80 (5):545-550.
 - [7] Moinuddin SM, Tada T. Study of cerebrospinal fluid flow dynamics in TGF- β 1 induced chronic hydrocephalic mice [J]. *Neurol Res*, 2000, 22 (2):215-222.
 - [8] Crews L, Wyss-Coray T, Masliah E. Insights into the pathogenesis of hydrocephalus from transgenic and experimental animal models [J]. *Brain Pathol*, 2004, 14 (3):312-316.
 - [9] Kanat A, Turkmenoglu O, Aydin MD, et al. Toward changing of the pathophysiologic basis of acute hydrocephalus after subarachnoid hemorrhage: a preliminary experimental study [J]. *World Neurosurg*, 2013, 80 (3/4):390-395.
 - [10] 栗向军, 张鹏远, 夏熙双, 等. 创伤性蛛网膜下腔出血并发脑积水危险因素分析 [J]. *中国全科医学*, 2016, 19 (20):2419-2422.
 - [11] Liao F, Li G, Yuan W, et al. LSKL peptide alleviates subarachnoid fibrosis and hydrocephalus by inhibiting TSP1-mediated TGF- β 1 signaling activity following subarachnoid hemorrhage in rats [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12 (4):2537-2543.
 - [12] Xu H, Wang Z, Zhang S, et al. Procollagen Type I C-terminal propeptide, procollagen Type III N-terminal propeptide hyaluronic acid, and laminin in the cerebrospinal fluid of rats with communicating hydrocephalus [J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2013, 11 (6):692-696.

《国际神经病学神经外科学杂志》征稿、征订启事

《国际神经病学神经外科学杂志》创刊于 1974 年,由教育部主管,中南大学主办,中南大学湘雅医院承办。是目前国内唯一一本同时涵盖神经病学和神经外科学两个相联学科的专业学术期刊。本刊被收录为“北京大学图书馆中文核心期刊”和“中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)”。

《国际神经病学神经外科学杂志》现主要栏目有论著、临床经验交流、疑难病例讨论、病例报道、专家论坛和综述等。杂志立足于国内神经病学、神经外科学领域的前沿研究,及时报道国内外神经科学领域最新的学术动态和信息。促进国内外学术的双向交流,为中国神经科学走向世界搭建新的平台。

我们热忱欢迎国内外神经科学工作者踊跃来稿,通过本刊介绍自己的研究成果和临床经验。对于论著、临床经验交流、疑难病例讨论、病例报道等类型的文章将优先发表。

《国际神经病学神经外科学杂志》刊号为 CN 43-1456/R,ISSN 1673-2642,邮发代号 42-11,全国公开发行。读者对象主要为国内外从事神经病学、神经外科专业及相关专业的医务人员。杂志为双月刊,每期定价 13 元,全年定价 78 元。欢迎各级医师到当地邮局订购。杂志社也可办理邮购。

为更好地筹集办刊资金,保证刊物的健康发展,本刊将竭诚为药品厂商、医疗器械厂商和广告公司提供优质服务,并长期向各级医疗单位征集协办单位,具体事宜请与本刊编辑部联系。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号(中南大学湘雅医院内)《国际神经病学神经外科学杂志》编辑部,邮编:410008,电话/传真:0731-84327401,E-mail 地址:jinn@vip.163.com,网址:http://www.jinn.org.cn/。