

# 缺氧缺血性脑损伤新生大鼠 IL-16 的表达及意义

张文辉, 赵茜叶, 王军

(徐州医学院附属医院儿科, 江苏 徐州 221002)

**摘要:**目的 观察缺氧缺血性脑损伤(HIBD)新生大鼠白细胞介素-16(IL-16)表达的变化。方法 建立新生大鼠缺氧缺血(HI)模型,实验分为假手术组、HIBD组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测假手术组手术后和HIBD组缺氧缺血后3 h、12 h、24 h、3 d、7 d、14 d、28 d脑组织匀浆中IL-16的水平。结果 IL-16在HIBD组3 h开始上升,24 h达高峰,3 d开始下降,28 d基本恢复正常。与假手术组相比,HIBD组的IL-16水平在缺氧缺血后3 h、12 h、24 h、3 d、7 d、14 d均明显升高( $P < 0.01$ ),而28 d无明显差异( $P > 0.05$ )。结论 HIBD新生大鼠IL-16蛋白表达的增加出现早、持续时间长,表明IL-16参与HIBD的发病过程。

**关键词:**缺氧缺血性脑损伤;白细胞介素-16;新生大鼠

**中图分类号:** R722 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2065(2009)09-0579-02

## Interleukin-16 expression and significance in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage

ZHANG Wenhui ZHAO Qianye WANG Jun

(Department of Pediatrics Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College Xuzhou Jiangsu 221002, China)

**Abstract:** Objective To observe the variations in the expression levels of interleukin-16 (IL-16) protein in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage (HIBD). Methods Healthy 7-day-old Sprague-Dawley (SD) rats were randomized into two groups: sham group and HIBD group. The two groups were subdivided into groups according to the time points: 3 h, 12 h, 24 h, 3 d, 7 d, 14 d and 28 d after HI insult. Level of IL-16 in brain homogenates of HIBD was determined by ELISA. Results Compared with sham group, the increasing expression of IL-16 in left brain homogenates in HIBD group was observed 3 h after HI insult, peaked at 24 h, then gradually declined at 7 d and restored to normal at 28 d. The expression of IL-16 in HIBD group at 3 h, 12 h, 24 h, 3 d, 7 d, 14 d was significantly higher than that of sham group after HI insult ( $P < 0.01$ ), while the level of IL-16 in HIBD group had no obvious difference compared with sham group at 28 d ( $P > 0.05$ ). Conclusion The early increase and sustained duration of IL-16 protein expression level in neonatal rats with HIBD indicated that IL-16 was involved in HIBD.

**Key words:** hypoxic-ischemic brain damage; interleukin-16; neonatal rats

近年来,炎性细胞因子在缺氧缺血性脑损伤(HIBD)中的表达及作用日益受到重视。白细胞介素-16(IL-16)作为前炎症细胞因子,与缺血的发病密切相关。HIBD是否出现IL-16表达的变化,目前尚鲜见报道。我们通过制备新生大鼠HIBD模型,观察IL-16表达的变化,从分子水平探讨HIBD的发病机制。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 新生7日龄SD大鼠,体重12~16 g,雌雄不拘,由徐州医学院实验动物中心提供。8% O<sub>2</sub>/92% N<sub>2</sub>(上海特种气体厂);IL-16进口分装试剂盒(美国RB公司);常压缺氧舱(上海市儿科研究所);磷酸盐缓冲液(自制)。

**1.2 模型的制作** 新生7日龄SD大鼠无水乙醚吸入麻醉,颈正中做纵向切口,分离并永久性结扎左侧颈总动脉,然后入37℃常压密闭缺氧舱中吸入8% O<sub>2</sub>、92% N<sub>2</sub>的混合气体,气流量为2 L/min,持续缺氧2 h。模型制作完毕后回窝饲养。假手术组仅分离左侧颈总动脉,不结扎不缺氧。

**1.3 动物分组** 新生大鼠随机分为假手术组、HIBD组。每组按术后观察的时间点的不同进一步分为3 h、12 h、24 h、3 d、7 d、14 d、28 d 7个亚组。

**1.4 实验方法** 各组动物在处死时间点用乙醚麻醉后开胸暴露心脏,主动脉插管,先用冷生理盐水20 ml/kg快速清洗血液,然后取脑。立即切取大脑额顶叶小块脑组织及下丘脑约50 mg左右,手工制作成组织匀浆,低温低速离心(4℃,3 000 r/min)10~15 min。

留取上清液, -70℃保存备检。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 IL-16。经酶标仪在 450 nm 处读取光密度值,并在标准曲线上查出每一样品的浓度值。

1.5 统计学处理 所有数据采用 SPSS 13.0 软件分析处理。结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用 t 检

验。

### 2 结果

缺氧缺血后不同时间点 2 组大鼠脑匀浆中 IL-16 水平见表 1。

表 1 缺氧缺血后不同时间点 2 组大鼠脑匀浆中 IL-16 水平 (n=8,  $\bar{x} \pm s$  ng/L)

组别	3 h	12 h	24 h	3 d	7 d	14 d	28 d
假手术组	0.87±0.11	0.80±0.11	0.78±0.06	0.80±0.07	0.80±0.05	0.82±0.11	0.78±0.11
HIBD 组	2.04±0.17	2.50±0.11	3.41±0.36	2.82±0.28	2.10±0.27	1.26±0.12	0.69±0.06
t	16.63	30.96	24.06	20.09	13.32	7.93	2.09
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05

### 3 讨论

成熟的 IL-16 最初被称为淋巴细胞趋化因子,它是一种多效的细胞因子,能引发淋巴细胞迁移,IL-16 也能诱导前炎性细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 的释放,对于免疫反应和炎症、凋亡均具有调节作用。神经元 IL-16 前体也被鉴定。神经元 IL-16 仅见于大脑及海马的神经元中。神经元 IL-16 在神经系统既是一个分泌型信号分子,又可作为骨架蛋白<sup>[1]</sup>。目前已经在多种中枢神经系统疾病中发现有 IL-16 的表达<sup>[2-3]</sup>,提示 IL-16 在中枢神经系统疾病中可能具有重要的促炎作用。Zhang 等<sup>[2]</sup>在大鼠脑外伤模型中发现活化的小胶质细胞、巨噬细胞、神经元细胞、中性粒细胞均可分泌 IL-16。大约 85% 活化的小胶质细胞分泌 IL-16,因此 IL-16 也成为了小胶质细胞活化的标志。Guo 等<sup>[4]</sup>在鼠自身免疫性、感染性、退行性中枢神经系统损伤中也得到同样的结论。而小胶质细胞作为中枢神经系统固有的免疫细胞,对早期缺血、缺氧极为敏感,能够对缺血刺激作出快速反应<sup>[5]</sup>。已有研究表明缺血后坏死和凋亡混合区域有粒细胞、淋巴细胞和小胶质细胞、巨噬细胞表达 IL-16,IL-16 引起缺血后的炎症反应促成了继发性缺血性脑损伤<sup>[6]</sup>。

IL-16 参与成人脑缺血的发病过程,而 IL-16 是否参与 HIBD 的发病过程,目前尚鲜见报道。本实验检测到的 IL-16 随缺氧缺血后时间点的不同而变化,在缺氧缺血后 3 h 开始上升,24 h 达高峰,以后逐渐减少,持续到 2 周后才恢复到缺氧缺血前水平。与假手术组比较,HIBD 组 IL-16 蛋白的表达明显升高,表明 IL-16 参与新生大鼠 HIBD 的发病过程,并且参与 HIBD 早期及迟发性损伤的病理形成。在局灶性脑梗死的成年患者脑组织中发现坏

死区及其周边区 IL-16 在脑梗死 1~2 天开始增加,3~4 天达高峰,在梗死区血管周围 IL-16 的阳性细胞也在 3~4 天达到高峰,几周后降至正常<sup>[6]</sup>。这与本实验结果不同,考虑与模型和实验条件不同有关。新生大鼠 IL-16 表达的时间点更早一些,可能与新生大鼠血脑屏障及神经系统发育不完善有关。IL-16 在新生大鼠 HIBD 机制中的作用仍不清楚,值得进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Kurschner C, Yuzaki M. Neuronal interleukin-16 (NIL-16): a dual function PDZ domain protein [J]. *J Neurosci* 1999, 19 (18): 7770-7780.
- [2] Zhang Z, Fauser U, Schliesener HJ. Early attenuation of lesional interleukin-16 up-regulation by dexamethasone and FTY720 in experimental traumatic brain injury [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2008, 34(3): 330-339.
- [3] Liebrich M, Guo LH, Schliesener HJ, et al. Expression of interleukin-16 by tumor-associated macrophages/activated microglia in high-grade astrocytic brain tumors [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2007, 55(1): 41-47.
- [4] Guo LH, Mittelbronn M, Brabeck C, et al. Expression of interleukin-16 by microglial cells in inflammatory, autoimmune and degenerative lesions of the rat brain [J]. *J Neuroimmunol* 2004, 146(1-2): 39-45.
- [5] Soltys Z, Orzyłowska-Sliwńska O, Zaremba M, et al. Quantitative morphological study of microglial cells in the ischemic rat brain using principal component analysis [J]. *J Neurosci Methods* 2005, 146(1): 50-60.
- [6] Schwab JM, Nguyen TD, Meyermann R, et al. Human focal cerebral infarctions induce differential lesional interleukin-16 (IL-16) expression confined to infiltrating granulocytes, CD8<sup>+</sup> T-lymphocytes and activated microglia/macrophages [J]. *J Neuroimmunol* 2001, 114(1-2): 232-241.

收稿日期: 2009-08-03 修回日期: 2009-09-09

本文编辑: 李昕