

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.08.023
文章编号: 1005-8982(2020)08-0119-05

新生儿缺氧缺血性脑病血清高迁移率族蛋白 B1 水平及与炎症反应和神经损伤的相关性

王洪蓉¹, 汤晶晶²

(宁波市鄞州人民医院 儿科 浙江 宁波 315000; 2. 宁波大学医学院附属医院
儿科 浙江 宁波 315020)

摘要: 目的 研究新生儿缺氧缺血性脑病(HIE)血清高迁移率族蛋白B1(HMGB1)水平及其与炎症因子和神经损伤的关系,探讨HMGB1在HIE中的临床意义。**方法** 选取2008年1月—2018年12月宁波市鄞州人民医院和宁波大学医学院附属医院儿科收治的HIE新生儿120例作为HIE组,同期该院健康新生儿120例作为对照组。HIE新生儿根据严重程度分为轻度61例,中度39例,重度20例。测定血清HMGB1、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、S100B水平。**结果** HIE组血清HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B水平高于对照组($P < 0.05$)。不同严重程度HIE患儿血清HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),中度和重度HIE患儿血清HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B水平高于轻度($P < 0.05$),重度HIE患儿血清HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B水平高于中度($P < 0.05$)。HIE患儿血清HMGB1与IL-6、TNF- α 、NSE、S100B呈正相关($r = 0.523, 0.602, 0.497$ 和 $0.525, P < 0.05$)。**结论** HIE新生儿血清HMGB1水平升高,血清HMGB1水平与病情严重程度、炎症因子水平和神经损伤关系密切。

关键词: 缺氧缺血性脑病/缺氧缺血,脑;新生儿学;HMGB1蛋白;白细胞介素6;肿瘤坏死因子 α ;神经元特异性烯醇化酶/磷酸丙酮酸水合酶;S100B/蛋白

中图分类号: R722.1

文献标识码: A

Serum high mobility group box-1 protein level in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy and its relationship with inflammatory response and nerve injury

Hong-rong Wang¹, Jing-jing Tang²

(1. Department of Pediatrics, Ningbo Yinzhou People's Hospital, Ningbo, Zhejiang 315000, China;
2. Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Ningbo University Medical School,
Ningbo, Zhejiang 315020, China)

Abstract: Objective To investigate the serum high mobility group box 1 (HMGB1) level and its relationship with inflammatory factors and nerve damage in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy (HIE) in order to explore the clinical significance of HMGB1 in HIE. **Methods** From January 2008 to December 2018, 120 HIE newborns were selected as HIE group and 120 healthy newborns were selected as control

group in the Department of Pediatrics of Ningbo Yinzhou People's Hospital and Affiliated Hospital of Ningbo University medical school. HIE newborns were classified into mild 61 cases, moderate 39 cases and severe 20 cases accorded to their severity. The serum HMGB1, interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), neuron-specific enolase (NSE) and S100B levels were measured. **Results** The levels of serum HMGB1, IL-6, TNF- α , NSE and S100B in HIE group were higher than those in control group ($P < 0.05$). The levels of serum HMGB1, IL-6, TNF- α , NSE and S100B in patients with different severity of HIE were statistically significant ($P < 0.05$), the levels of serum HMGB1, IL-6, TNF- α , NSE and S100B in patients with moderate and severe HIE were higher than those of mild patients ($P < 0.05$), and the serum HMGB1, IL-6, TNF- α , NSE and S100B levels in patients with severe HIE were higher than those of moderate patients ($P < 0.05$). The serum HMGB1 in patients with HIE were positively correlated with IL-6 ($r = 0.523$), TNF- α ($r = 0.602$), NSE ($r = 0.497$) and S100B ($r = 0.525$) (all $P < 0.05$). **Conclusion** The serum HMGB1 level is elevated in HIE neonates, and serum HMGB1 level is closely related to severity of disease, inflammatory factor levels and nerve damage.

Keywords: hypoxic-ischemic encephalopathy/hypoxic-ischemic, brain; neonatology; hmgb1 protein; interleukin-6; tumor necrosis factor alpha; neuron specific enolase/phosphopyruvate hydratase; s100b/proteins

新生儿缺氧缺血性脑病 (neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE) 主要由围生期窒息缺氧引起, 可导致新生儿神经系统功能障碍, 严重者可导致患儿死亡, 给社会和家庭带来沉重负担。免疫炎症反应在 HIE 的发生、发展中发挥重要作用, 炎症细胞因子由免疫细胞和炎症细胞产生, 具有调节细胞功能的作用。研究发现在 HIE 中, 炎症细胞因子白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等可启动或扩大炎症反应, 促进 HIE 缺血缺氧导致的神经损伤^[1-2]。高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group protein B1, HMGB1) 为一种重要的炎症介质, 在多种炎症免疫反应中发挥重要作用^[3-4]。但 HMGB1 在 HIE 炎症反应中的作用尚不清楚, 本文研究 HIE 新生儿血清 HMGB1 水平及其与炎症细胞因子 (IL-6、TNF- α) 及反映脑损伤程度指标 [神经元特异性烯醇化酶 (neuron-specific enolase, NSE)、S100B 蛋白] 的相关性, 探讨 HMGB1 在 HIE 中的临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2008 年 1 月—2018 年 12 月宁波市鄞州人民医院和宁波大学医学院附属医院儿科收治的 120 例 HIE 新生儿作为 HIE 组, 另取同期本院健康新生儿 120 例作为对照组。HIE 新生儿根据严重程度分为轻度 61 例, 中度 39 例, 重度 20 例。本研究经宁波市鄞

州人民医院伦理委员会审批通过。

诊断标准: HIE 诊断和分度依据 2005 中华医学会儿科学分会新生儿学组制定的《新生儿缺氧缺血性脑病诊断标准》^[5]。

纳入标准: 母亲孕前身体健康, 新生儿体重 2 500~4 000 g, 胎龄 37~41 周, 资料完整, 家属均签署知情同意书。

排除标准: 排除妊娠期高血压疾病、妊娠期糖尿病、妊娠期感染性疾病等可能影响新生儿 HMGB1 水平的母亲产科疾病者, 先天性心脏病者, 中枢神经系统发育畸形者, 新生儿呼吸系统疾病者, 新生儿寒冷损伤综合征者, 遗传代谢性疾病者, 新生儿感染性疾病者。

1.2 研究方法

采集 HIE 新生儿入院当日 (出生后 0~3 d) 及对照组新生儿 (0~3 d) 股静脉血 2 ml, 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 测定血清 HMGB1、IL-6、TNF- α 及 S100B 水平 [试剂盒购自奥林巴斯 (中国) 有限公司、上海科顺生物科技有限公司], 采用电化学发光免疫法测定 NSE 水平 [试剂盒购自奥林巴斯 (中国) 有限公司、上海沪震实业有限公司]。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验或方差分析, 进一步两两比较用 LSD- t 检验; 相关分析用 Pearson

法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较

对照组和HIE组新生儿性别、出生体重、日龄、胎龄比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表1。

2.2 两组血清 HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 水平比较

两组血清 HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 水平比较, 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), HIE 组高于对照组。见表2。

2.3 不同严重程度 HIE 患儿血清 HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 水平比较

不同严重程度 HIE 患儿血清 HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。中度和重度 HIE 患儿血清 HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 水平高于轻度 ($P < 0.05$), 重度 HIE 患儿血清 HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 水平高于中度 ($P < 0.05$)。见表3。

2.4 HIE 患儿血清 HMGB1 与 IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 的相关性

HIE 患儿血清 HMGB1 与 IL-6、TNF- α 、NSE 及 S100B 呈正相关 ($P < 0.05$)。见图1和表4。

表1 两组临床资料比较 ($n=120$)

组别	男/女/例	出生体重/(kg, $\bar{x} \pm s$)	日龄/(d, $\bar{x} \pm s$)	胎龄/(周, $\bar{x} \pm s$)
对照组	63/57	3.36 \pm 0.61	10.24 \pm 4.51	39.01 \pm 1.32
HIE组	65/55	3.32 \pm 0.58	10.68 \pm 4.36	38.75 \pm 1.27
χ^2/t 值	0.067	0.521	0.768	1.555
P 值	0.796	0.603	0.443	0.121

表2 两组血清 HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 水平比较 ($n=120, \bar{x} \pm s$)

组别	HMGB1/(ng/ml)	IL-6/(ng/L)	TNF- α /(ng/L)	NSE/(μ g/L)	S100B/(μ g/L)
对照组	11.35 \pm 0.24	52.12 \pm 11.17	117.49 \pm 23.61	9.46 \pm 2.53	0.28 \pm 0.07
HIE组	14.87 \pm 0.32	73.68 \pm 13.13	168.67 \pm 24.45	28.49 \pm 2.74	0.75 \pm 0.12
t 值	96.399	13.701	16.495	55.897	37.060
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表3 不同严重程度 HIE 患儿血清 HMGB1、IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HMGB1/(ng/ml)	IL-6/(ng/L)	TNF- α /(ng/L)	NSE/(μ g/L)	S100B/(μ g/L)
轻度	61	13.02 \pm 0.31	63.48 \pm 12.35	144.16 \pm 25.62	21.35 \pm 2.36	0.53 \pm 0.10
中度	39	15.13 \pm 0.28 ^①	75.64 \pm 13.67 ^①	166.19 \pm 22.37 ^①	29.73 \pm 2.82 ^①	0.77 \pm 0.13 ^①
重度	20	17.94 \pm 0.36 ^{①②}	86.18 \pm 11.06 ^{①②}	181.06 \pm 26.49 ^{①②}	34.76 \pm 3.02 ^{①②}	0.91 \pm 0.15 ^{①②}
F 值		2013.154	28.003	20.308	244.57	95.908
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: ①与轻度组比较, $P < 0.05$; ②与中度组比较, $P < 0.05$ 。

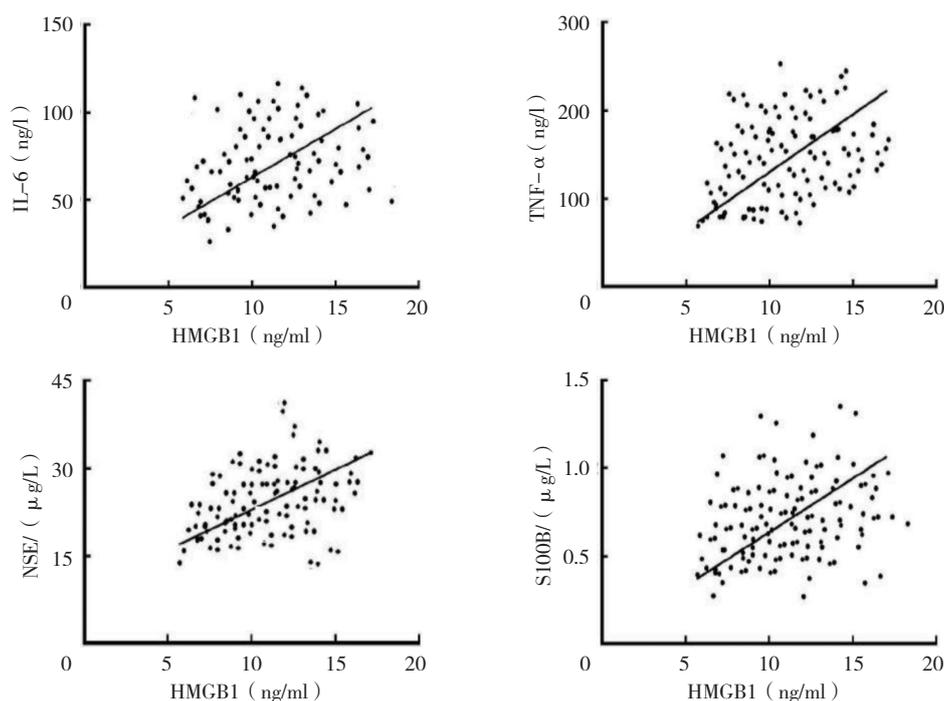


图 1 HIE 患儿血清 HMGB1 与 IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 的相关性

表 4 HIE 患儿血清 HMGB1 与 IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 的相关性

指标	r 值	P 值
IL-6	0.523	0.000
TNF- α	0.602	0.000
NSE	0.497	0.000
S100B	0.555	0.000

3 讨论

HIE 新生儿血脑屏障通透性增加, 导致血清中炎症细胞因子水平升高, 检测 HIE 新生儿血清炎症细胞因子水平可用于评估患儿脑损伤程度。IL-6、TNF- α 为常用的炎症细胞因子, 在 HIE 新生儿病情评估中具有重要意义。IL-6 具有调节机体免疫应答和抗损伤的作用, 在维持脑细胞正常生理功能中发挥重要作用^[6]; IL-6 在正常新生儿脑组织中含量较低, 当脑组织发生缺血缺氧损伤时, IL-6 升高, 且和其他炎症细胞因子协同作用, 共同参与缺血缺氧性脑损伤的病理过程, 加重脑组织炎症反应^[7-8]。TNF- α 由星型细胞和小胶质细胞合成^[9], 星型细胞和小胶质细胞均为重要的神经胶质细胞, 在脑组织免疫调节中发挥重要作用。这 2 种细胞未受外来刺激时处于静止状态, 当脑组织受到损伤时这 2 种胶质细胞体积增大, 转化

为有活性的胶质细胞; 当脑组织受缺血缺氧损伤后可刺激胶质细胞增加 TNF- α 的合成和释放; TNF- α 可诱导合成急性期反应蛋白, 促进炎症细胞产生, 造成脑组织损伤^[10-11]。

HMGB1 为一种炎症介质, 可在细胞核和细胞质之间穿梭, 细胞核中的 HMGB1 参与维持染色体的稳定, 参与 DNA 修复、重组、复制、基因转录的调节^[12-13]。细胞核中乙酰化 HMGB1 转移到细胞质后, 可促进血小板活化、促进神经轴突生长, 还可调节机体固有免疫功能^[14]。HMGB1 在多种炎症性疾病的发病过程中发挥促炎因子作用, 在炎症性疾病中, 中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞等免疫细胞均可分泌 HMGB1, HMGB1 通过招募相关的炎症因子启动机体免疫炎症反应^[15-17]。HMGB1 在 HIE 新生儿血清中的水平及与其他炎症细胞因子水平、脑损伤的关系尚不清楚。本文对其进行研究, 发现 HIE 新生儿血清 HMGB1 水平升高, 随着 HIE 病情严重程度的增加, 血清 HMGB1 呈升高趋势; 血清 HMGB1 与 IL-6、TNF- α 、NSE、S100B 呈正相关。IL-6、TNF- α 为 HIE 常用的炎症细胞因子, 可反映机体炎症反应状态。本研究中 HMGB1 水平升高, 与 IL-6、TNF- α 呈正相关, 表明 HMGB1 可能通过与 IL-6、TNF- α 相互作用, 参与 HIE 的发生、发展过程。分析在 HIE 发病过程中, 脑组织受缺血缺氧损伤后可刺激胶质细胞

增加 IL-6、TNF- α 等炎症细胞因子的分泌和释放, 导致 IL-6、TNF- α 等炎症细胞因子水平升高; 同时炎症细胞也分泌 HMGB1, 导致 HMGB1 水平升高, IL-6、TNF- α 和 HMGB1 相互作用造成脑组织损伤。检测血清 HMGB1 水平可反映 HIE 新生儿机体炎症反应程度和病情严重程度。NSE、S100B 为常用的脑损伤指标, 可反映脑损伤的严重程度^[18-19], HMGB1 与 NSE、S100B 呈正相关表明检测血清 HMGB1 水平可反映 HIE 新生儿脑损伤的严重程度。HMGB1 作为促炎因子, 在 HIE 发病中促进炎症反应的发生, 炎症反应可导致脑损伤, 炎症反应程度越重对脑损伤的影响越大, HMGB1 水平越高表示炎症反应程度越高, 对脑组织的损害越大。

综上所述, HIE 新生儿血清 HMGB1 水平升高, 检测血清 HMGB1 水平在评估病情严重程度、炎症反应程度、脑损伤严重程度方面具有一定价值。

参 考 文 献:

- [1] SAITO J, SHIBASAKI J, SHIMOKAZE T, et al. Temporal relationship between serum levels of interleukin-6 and C-reactive protein in therapeutic hypothermia for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Am J Perinatol*, 2016, 33(14): 1401-1406.
- [2] YANG L, LI D, CHEN S. Hydrogen water reduces NSE, IL-6, and TNF- α levels in hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Open Med (Wars)*, 2016, 11(1): 399-406.
- [3] MORI H, MURAKAMI M, TSUDA T, et al. Reduced-HMGB1 suppresses poly (I:C) induced inflammation in keratinocytes[J]. *J Dermatol Sci*, 2018, 90(2): 154-165.
- [4] DENG M, TANG Y, LI W, et al. The endotoxin delivery protein HMGB1 mediates Caspase-11 dependent lethality in sepsis[J]. *Immunity*, 2018, 49(4): 740-753.
- [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): 584-584.
- [6] ŠUMANOVIĆ-GLAMUZINA D, ČULO F, ČULO M I, et al. A comparison of blood and cerebrospinal fluid cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α) in neonates with perinatal hypoxia[J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2017, 17(3): 203-210.
- [7] CHAPARRO-HUERTA V, FLORES-SOTO M E, MERIN SIGALA M E, et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns[J]. *Pediatr Neonatol*, 2017, 58(1): 70-76.
- [8] WU W, WEI W, LU M, et al. Neuroprotective effect of chitosan oligosaccharide on hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats[J]. *Neurochem Res*, 2017, 42(11): 3186-3198.
- [9] GAO Y, FU R, WANG J, et al. Resveratrol mitigates the oxidative stress mediated by hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats via Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Pharm Biol*, 2018, 56(1): 440-449.
- [10] AL MAMUN A, YU H, ROMANA S, et al. Inflammatory responses are sex specific in chronic hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Cell Transplant*, 2018, 27(9): 1328-1339.
- [11] REVUELTA M, ARTEAGA O, ALVAREZ A, et al. Characterization of gene expression in the rat brainstem after neonatal hypoxic-ischemic injury and antioxidant treatment[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(2): 1129-1143.
- [12] ANDERSSON U, YANG H, HARRIS H. Extracellular HMGB1 as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(3): 263-277.
- [13] LIU Y, GAO Y, YANG J, et al. MicroRNA-381 reduces inflammation and infiltration of macrophages in polymyositis via downregulating HMGB1[J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(3): 1332-1342.
- [14] LÜ Y H, LI Y L, ZHANG D D, et al. HMGB1-induced asthmatic airway inflammation through GRP75-mediated enhancement of ER-mitochondrial Ca²⁺ transfer and ROS increased[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(5): 4205-4215.
- [15] TANG Z Z, ZANG N, FU Y X, et al. HMGB1 mediates HAdV-7 infection-induced pulmonary inflammation in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501(1): 1-8.
- [16] LI R T, WANG J, LI R F, et al. ATP/P2X7-NLRP3 axis of dendritic cells participates in the regulation of airway inflammation and hyper-responsiveness in asthma by mediating HMGB1 expression and secretion[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 366(1): 1-15.
- [17] HORIUCHI T, SAKATA N, NARUMI Y, et al. Metformin directly binds the alarmin HMGB1 and inhibits its proinflammatory activity[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(20): 8436-8446.
- [18] 刘晓欢, 呼格吉乐, 高乃康, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病辅助检查和治疗手段的研究进展 [J]. *内蒙古医学杂志*, 2018, 50(7): 788-790.
- [19] 徐小静, 武文艳, 张二清, 等. GFAP、APN、血液指标与缺血缺氧性脑病新生儿脑损伤程度的关系 [J]. *医学临床研究*, 2018, 35(10): 1956-1958.

(唐勇 编辑)

本文引用格式: 王洪蓉, 汤晶晶. 新生儿缺氧缺血性脑病血清高迁移率族蛋白 B1 水平及与炎症反应和神经损伤的相关性 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(8): 119-123.