

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.21.020

氟西汀对卒中后抑郁大鼠脑组织及血清中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 表达的影响*

赵立波¹,徐 露^{2△},车科珂³,覃 彬⁴

(1. 重庆市第三人民医院神经科 400014;2. 重庆医科大学生化与分子药理学重点实验室 400016;
3. 重庆市第三人民医院药剂科 400014;4. 重庆医科大学附属第一医院神经内科 400016)

摘 要:**目的** 观察氟西汀对卒中后抑郁(PSD)大鼠脑组织及血清中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平变化的影响。**方法** 选取健康 SD 大鼠 60 只,分为假手术组、抑郁组、卒中组、PSD 组及 PSD 氟西汀治疗组(治疗组),每组 12 只。ELISA 法分析脑组织及血清中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平。**结果** 抑郁组、卒中组、PSD 组脑组织及血清中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平显著高于假手术组和治疗组($P<0.05$);治疗组脑组织及血清中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平与假手术组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 氟西汀能显著抑制 PSD 大鼠脑组织及血清中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平,对 PSD 的治疗可能起一定作用。

关键词:白细胞介素 2;白细胞介素 6;肿瘤坏死因子 α;氟西汀;卒中后抑郁
中图分类号:R741.05 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-8348(2014)21-2747-02

Influence of fluoxetine on level of IL-2, IL-6 and TNF-α in brain tissue and serum of rats with post-stroke depression*

Zhao Libo¹, Xu Lu^{2△}, Che Keke³, Qin Bin⁴

(1. Department of Neurology, the Third People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400014, China; 2. Chongqing Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Pharmacology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;
3. Department of Pharmacy, the Third People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400014, China;
4. Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract:**Objective** To explore the influence of fluoxetine on level of IL-2, IL-6 and TNF-α in brain tissue and serum of rats with post-stroke depression(PSD). **Methods** 60 rats were divided into sham operation group, depression group, stroke group, PSD group and fluoxetine group, 12 cases in each group. ELISA was used to detect the level of IL-2, IL-6 and TNF-α in brain tissue and serum. **Results** The level of IL-2, IL-6 and TNF-α in depression group, stroke group and PSD group were significantly increased and higher than that in sham operation group and fluoxetine group($P<0.05$). There was no significant difference between sham operation group and fluoxetine group($P>0.05$). **Conclusion** Fluoxetine could significantly decrease the level of IL-2, IL-6 and TNF-α and play an important role in therapy of PSD.

Key words: interleukin-2; interleukin-6; tumor necrosis factor-alpha; fluoxetine; post-stroke depression

卒中后抑郁(post-stroke depression, PSD)严重影响着患者的生活治疗,增加脑血管病死率。细胞因子作为神经-内分泌-免疫网络中重要的神经递质,在抑郁症与脑卒中的发病过程中起重要作用。因此,本实验将建立 PSD 大鼠模型,观察 PSD 大鼠脑组织和血清中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平变化,探索氟西汀对 PSD 的治疗效果及机制。

1 材料与方 法

1.1 材料 成年 SD 雄性大鼠 60 只,体质量(220±20)g,由重庆医科大学动物中心提供[动物合格证号:XCXK(渝)20020001]。进口分装试剂盒购自晶美生物工程有限公司(批号:20121216A),操作严格按照说明书进行。

1.2 方 法

1.2.1 动物分组 将 60 只大鼠分为 5 组。假手术组 12 只:予假手术处理作为对照;抑郁组 12 只:慢性不可预见性温和应激刺激(CUMS)结合孤养法致慢性应激抑郁模型。将余下的 36 只大鼠于大脑中动脉栓塞(MCAO)术后符合功能评分再分

为 3 组,其中卒中组 12 只;PSD 组 12 只;MCAO 术后第 2 天加以 CMUS 结合孤养法;PSD 氟西汀治疗组(治疗组)12 只:每日给予 10 mg/kg 氟西汀腹腔注射 PSD 大鼠干预。

1.2.2 建立 PSD 模型 (1)MCAO 模型建立:参考罗勇等^[1]的方法,采用插线法局灶性脑缺血/再灌注模型。(2)CUMS 模型建立:参考 Willner 等^[2]的方法,实验动物进行为期 21 d 的慢性应激试验,第 1 天禁水,第 2 天夹尾,第 3 天冰水游泳,第 4 天振荡,第 5 天昼夜颠倒,第 6 天禁食,第 7 天热烘,第 8 天禁水,第 9 天热烘,第 10 天禁食,第 11 天昼夜颠倒,第 12 天冰水游泳,第 13 天振荡,第 14 天夹尾,第 15 天禁水,第 16 天冰水游泳,第 17 天夹尾,第 18 天热烘,第 19 天昼夜颠倒,第 20 天禁食,第 21 天振荡。(3)孤养法:将抑郁组和 PSD 组大鼠单笼饲养。

1.2.3 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平检测 各组于 21 d 后处死大鼠,断头取血,血样品于 0℃放置 2 h,得到上层血清;断头取血的同时迅速取出大脑组织,置入 10 mL 玻璃组织匀浆器中,加

* 基金项目:重庆市卫生局 2011 年医学科研计划项目(2011-3-323);重庆市第六届“步长杯”脑血管病科学研究基金面上项目(BCB2012010)。
作者简介:赵立波(1971—),副主任医师,博士,主要从事神经病学方向研究。 △ 通讯作者,E-mail:neurodoctor1971@aliyun.com。

入预冷的 0.1%高氯酸 400 mL,在冰浴中上下转动 8 min,充分研磨使组织匀浆后,将组织匀浆液倒入离心管内,置离心机内以(4 ℃)10 000×g 离心 15 min,吸取上清液,用 0.1%高氯酸溶液定容至 0.5 mL。脑组织及血清中的 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平检测按照试剂盒说明书进行。所用仪器为 Bio-Tek 公司 ELX800 酶标仪。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用方差分析,两两比较采用 q 检验,以 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠脑组织内 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平比较 抑郁组、卒中组、PSD 组大鼠在脑组织中的 IL-2、IL-6 及 TNF-α 的水平显著高于假手术组、治疗组 ($P < 0.05$);治疗组 IL-2、IL-6 及 TNF-α 的表达与假手术组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠脑组织中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平比较($\bar{x} \pm s$,ng/mL)				
组别	<i>n</i>	IL-2	IL-6	TNF-α
假手术组	12	2.124±0.226	0.145±0.031	1.368±0.241
抑郁组	12	5.339±0.572 ^b	0.272±0.039 ^a	2.579±0.315 ^b
卒中组	12	5.208±0.531 ^b	0.244±0.032 ^a	2.325±0.298 ^b
PSD 组	12	6.873±0.790 ^b	0.376±0.045 ^b	3.106±0.404 ^b
治疗组	12	3.215±0.308	0.187±0.040	1.653±0.297

^a: $P < 0.01$,^b: $P < 0.05$,与假手术组及治疗组比较。

2.2 各组大鼠血清中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平比较 抑郁组、卒中组、PSD 组在血清中的 IL-2、IL-6 及 TNF-α 的表达显著高于假手术组、治疗组 ($P < 0.05$);治疗组 IL-2、IL-6 及 TNF-α 的表达与假手术组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠血清中 IL-2、IL-6 及 TNF-α 水平比较($\bar{x} \pm s$,ng/mL)				
组别	<i>n</i>	IL-2	IL-6	TNF-α
假手术组	12	2.005±0.308	0.145±0.031	1.368±0.241
抑郁组	12	3.026±0.572 ^a	0.272±0.039 ^a	2.579±0.315 ^b
卒中组	12	5.208±0.531 ^b	0.244±0.032 ^a	2.325±0.298 ^b
PSD 组	12	6.873±0.790 ^b	0.376±0.045 ^b	3.106±0.404 ^b
治疗组	12	3.215±0.308	0.187±0.040	1.653±0.297

^a: $P < 0.05$,^b: $P < 0.01$,与假手术组及治疗组比较。

3 讨 论

IL-2 具有较强的炎症及免疫应答功能和较多的生物活性,为调控免疫应答的重要因子^[3]。IL-6 是一种典型的具有多种生物学作用的促炎细胞因子^[4],主要由 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、单核细胞、内皮细胞产生,IL-6 参与了机体多种组织细胞的生长、分化和功能调节^[3],在免疫和炎症反应中发挥重要作用,是机体免疫-神经-内分泌网络调节的主要因子。TNF-α 是一种主要由单核-吞噬细胞产生的单核因子,尚可刺激急性期蛋白分泌,增加血管内皮细胞通透性,诱导表面黏附分子和其他炎症介质及生长因子表达^[4]。

作为重要的炎症因子,IL-2、IL-6 和 TNF-α 参与了急性缺血性脑血管病的发病过程^[5],并加重缺血再灌注后脑组织的损伤,增加梗死面积,加重神经元损伤^[6]。有研究表明,脑卒中后大量炎症细胞浸润和激活,引起强烈的免疫应答,同时激活小神经细胞、星形细胞、白细胞、巨噬细胞、单核细胞和内皮细胞,产生 IL-2、IL-6 和 TNF-α,参与脑卒中的发病机制^[7-10]。

已有文献报道抑郁症患者中,血清细胞因子水平显著增加,特别是 IL-2、IL-6 和 TNF-α 明显升高,提示三者与非器质性抑郁症的相关性非常显著^[11-13],说明细胞因子可能在抑郁状态的发病机制中起重要作用。有报道提示抑郁症患者的血清 IL-2、IL-6 水平升高^[14],据此又提出了单核细胞-T 细胞-淋巴细胞假说,认为抑郁症存在细胞介导的免疫激活^[15]。

本研究结果显示,卒中组、抑郁组和 PSD 组大鼠的脑组织和血清 IL-2、IL-6 和 TNF-α 水平显著高于假手术组和治疗组 ($P < 0.05$)。提示氟西汀可降低 PSD 大鼠脑组织和血清中 IL-2、IL-6 和 TNF-α 水平,减轻 PSD 大鼠炎症反应,具有神经保护作用。

参考文献:

[1] 罗勇,董为伟. Wistar 大鼠插线法局灶性脑缺血/再灌注模型的实验研究[J]. 重庆医科大学学报,2002,27(1):1-4.

[2] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic mild unpredictable stress and its restoration by a tricyclic antidepressant[J]. Psychopharmacology, 1987, 93(4): 358-364.

[3] 董少军, 吴承志, 刘培明, 等. 亚低温对急性脑卒中患者血清 IL-2、IL-6、TNF-α 水平的影响和临床意义[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2006, 13(4): 238-239, 252.

[4] 上官稳. 进展性缺血性脑卒中患者血清 IL-6 和 C-反应蛋白水平的变化及临床意义[J]. 中国临床新医学, 2012, 5(5): 427-430.

[5] Duma AJ, Swiergiel AH, de Beaurepaire R. Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2005, 29(4/5): 891-909.

[6] Sultana S, Kolla VK, Jeedigunta Y, et al. Tumour necrosis factor alpha and interleukin 10 gene polymorphisms and the risk of ischemic stroke in South Indian population[J]. J Genet, 2011, 90(2): 361-364.

[7] Elmas E, Lang S, Dempfle CE, et al. High plasma levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) and interleukin-8 (IL-8) characterize patients prone to ventricular fibrillation complicating myocardial infarction[J]. Clin Chem Lab Med, 2007, 45(10): 1360-1365.

[8] Huston JP, Schulz D, Topic B. Toward an animal model of extinction-induced despair: focus on aging and physiological indices[J]. J Neural Trans, 2009, 116(8): 1029-1036

[9] Lee S, Jeong J, Kwak Y, et al. Depression research: where are we now[J]. Mol Brain, 2010, 3(1): 8.

[10] Deng W, Aimone JB, Gage FH. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory[J]. Nat Rev(下转第 2752 页)

成员。其中编码 JNK 的基因有 JNK1、JNK2、JNK3,相应地编码产物 JNK1/JNK2 在各种组织中广泛表达,JNK 可被多种因素如细胞因子、生长因子、应激(如热休克、氧化损伤、电离辐射等)等激活,激活的 JNK 信号通路在细胞分化、细胞凋亡、炎症反应等发生发展过程中起到至关重要的调节作用。JNK 参与了如胚胎发育、免疫反应和细胞分化等重要的生理过程,在糖尿病、心脏肥大中也有涉及^[11],其过度活化被证实与多种肿瘤的发生发展密切相关^[12-13]。本实验中发现高氧肺损伤激活了 JNK2 信号蛋白。

研究表明 SP 在修复细胞的增殖、迁移、分化方面有重要作用^[14],在气道损伤、烧伤修复的患者血浆 SP 均明显升高。在无血清培养基中加入 SP,培养的肌细胞进入 S 期的数量明显增加。SP 对角质细胞、平滑肌细胞、成骨细胞、血管内皮细胞均有明显的促增殖分化作用^[15-16]。本研究发现,外源性 SP 干预后通过抑制 JNK2 的表达,肺组织病理学形态有一定程度的改善,炎症细胞浸润减少,水肿减轻,且肺 W/D 值均较高氧暴露 SD 大鼠显著下降。本研究为探讨高氧肺损伤的药物防治提供了新的依据。

参考文献:

- [1] Brueckl C, Kaestle S, Kerem A, et al. Hyperoxia-induced reactive Oxygen species formation in pulmonary capillary endothelial cells in situ[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2006,34(4):453-463.
- [2] Kallet RH, Matthay MA. Hyperoxic acute lung injury [J]. *Respir Care*, 2013,58(1):123-141.
- [3] Sharek PJ, Baker R, Litman F, et al. Evaluation and development of potentially better practices to prevent chronic lung disease and reduce lung injury in neonates[J]. *Pediatrics*, 2003,111(4 Pt 2):e426-431.
- [4] Faller S, Spassov SG, Zimmermann KK, et al. Hydrogen sulfide prevents hyperoxia-induced lung injury by down-regulating reactive Oxygen species formation and angiotensin-2 release[J]. *Curr Pharm Des*, 2013,19(15):2715-2721.
- [5] Gordo-Vidal F, Calvo-Herranz E, Abella-Alvarez A. Hyperoxia induced pulmonary toxicity[J]. *Med Intensiva*, 2010,34(2):134-138.
- [6] Bhandari V. Molecular mechanisms of hyperoxia-induced acute lung injury[J]. *Front Biosci*, 2008,13:6653-6661.

- [7] Konsavage WM, Umstead TM, Wu Y, et al. Hyperoxia-induced alterations in the pulmonary proteome of juvenile rats[J]. *Exp Lung Res*, 2013,39(2):107-117.
- [8] Tarhan OR, Ceylan BG, Kapucuoglu N, et al. Activated protein C and normal saline infusion might prevent deleterious effects of remote acute lung injury caused by intestinal ischemia-reperfusion: an experimental study in the rat model[J]. *J Surg Res*, 2011,168(1):e81-86.
- [9] Starr ME, Ueda J, Yamamoto S, et al. The effects of aging on pulmonary oxidative damage, protein nitration, and extracellular superoxide dismutase down-regulation during systemic inflammation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011,50(2):371-380.
- [10] Chen Y, Nie YC, Luo YL, et al. Protective effects of naringin against paraquat-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis in mice[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013,58:133-140.
- [11] Hotamisligil GS. Role of endoplasmic reticulum stress and c-Jun NH2-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes[J]. *Diabetes*, 2005,54(Suppl 2):S73-78.
- [12] Mueller H, Fhry N, Eppenberger-Castori S, et al. Mitogen-activated protein kinase cascade in breast Cancer[J]. *Ontology*, 1999,57(Suppl 2):37-44.
- [13] Wagner EF, Nebreda AR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in Cancer development[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009,9(8):537-549.
- [14] Carthew HL, Ziebell JM, Vink R. Substance P-induced changes in cell genesis following diffuse traumatic brain injury[J]. *Neuroscience*, 2012,12(214):78-83.
- [15] Ito T, Ogura T, Ogawa N, et al. Modulation of pulmonary neuroendocrine cells in idiopathic interstitial pneumonia [J]. *Histol Histopathol*, 2002,17(4):1121-1127.
- [16] Stathis M, Pietra C, Rojas C, et al. Inhibition of substance P-mediated responses in NG108-15 cells by netupitant and palonosetron exhibit synergistic effects [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012,689(1/3):25-30.

(收稿日期:2014-01-08 修回日期:2014-03-09)

(上接第 2748 页)

- Neurosci*, 2010,11(5):339-350.
- [11] Yang L, Zhang Z, Sun D, et al. Low serum BDNF may indicate the development of PSD in patients with acute ischemic stroke[J]. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2011,26(5):495-502.
- [12] Snaphaan L, van der Werf S, Kanselaar K, et al. Post-stroke depressive symptoms are associated with post-stroke characteristics [J]. *Cerebrovascular Dis*, 2009,28(6):551-557.
- [13] Mineur YS, Picciotto MR. Nicotine receptors and depres-

sion: revisiting and revising the cholinergic hypothesis [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2010,31(12):580-586.

- [14] Chung YC, Kim SR, Park JY, et al. Fluoxetine prevents MPTP-induced loss of dopaminergic neurons by inhibiting microglial activation[J]. *Neuropharmacology*, 2011,60(6):963-974.
- [15] Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression[J]. *Nature*, 2008,455(7215):894-902.

(收稿日期:2014-02-25 修回日期:2014-04-10)