

[文章编号] 1671-587X(2025)01-0124-09

DOI:10.13481/j.1671-587X.20250115

## 急性缺血性脑卒中患者脑梗死面积与细胞因子和免疫状态的 关联性分析

苏醒麒, 赵灵敏, 马迪, 尤久琳, 陈盈, 冯良枢, 王晶, 冯加纯, 王川  
(吉林大学第一医院神经内科, 吉林 长春 130021)

**[摘要]** **目的:** 探讨急性缺血性脑卒中患者的脑梗死面积与细胞因子和免疫状态的关联性, 为不同程度脑梗死患者的免疫治疗提供理论依据。**方法:** 根据纳入标准和排除标准选取发病72 h内的67例急性缺血性脑卒中患者作为研究对象, 根据磁共振弥散加权成像(DWI)序列的最大梗死层面面积将患者分为大面积脑梗死组( $n=34$ )和非大面积脑梗死组( $n=33$ )。收集2组患者的性别、年龄和既往病史等临床基线资料, 采用流式细胞术检测2组患者血清中白细胞介素(IL)-2、IL-6、IL-10、IL-17A、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和干扰素 $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )水平, 计算2组患者外周血中淋巴细胞绝对值(LYM#)、淋巴细胞百分比(LYM%)和中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR), 同时计算IFN- $\gamma$ /IL-4比值、TNF- $\alpha$ /IL-4比值和TNF- $\alpha$ /IL-10比值; 并依据临床神经专科查体体征评价2组患者美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分; 采用秩相关分析检验2组患者脑梗死面积与NIHSS评分、细胞因子和免疫状态之间的相关性。**结果:** 与非大面积脑梗死组比较, 大面积脑梗死组患者血清中IL-2、IL-6、IL-10、IL-17A、TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 水平以及外周血中NLR均明显升高( $P<0.01$ ), LYM#、LYM%和TNF- $\alpha$ /IL-4比值明显降低( $P<0.01$ )。秩相关分析, 大面积脑梗死组患者脑梗死面积与患者NIHSS评分呈正相关关系( $r_s=0.521$ ,  $P<0.05$ ), 非大面积脑梗死组患者脑梗死面积与患者NIHSS评分呈明显正相关关系( $r_s=0.721$ ,  $P<0.001$ )。2组患者的NIHSS评分与血清中IL-6( $r_s=0.306$ ,  $P=0.005$ )、IL-4( $r_s=0.252$ ,  $P<0.001$ )、IL-2( $r_s=0.109$ ,  $P=0.025$ )、IL-17A( $r_s=0.405$ ,  $P<0.001$ )和IFN- $\gamma$ ( $r_s=0.146$ ,  $P<0.001$ )水平均呈正相关关系; NIHSS评分与TNF- $\alpha$ ( $r_s=0.039$ ,  $P=0.726$ )和IL-10( $r_s=0.121$ ,  $P=0.192$ )水平无相关性。2组患者的NIHSS评分与血清中LYM#( $r_s=-0.026$ ,  $P=0.036$ )和LYM%( $r_s=-0.008$ ,  $P=0.002$ )呈负相关关系, 与NLR呈正相关关系( $r_s=0.315$ ,  $P=0.009$ )。**结论:** 急性脑梗死患者的梗死面积与NIHSS评分、炎症反应、适应性免疫损伤程度和免疫状态具有相关性, 细胞因子和免疫指标也与梗死面积总体呈正相关关系; 与非大面积脑梗死患者比较, 大面积脑梗死患者更易发生免疫抑制。

**[关键词]** 急性脑梗死; 免疫; 炎症; 细胞因子; 炎症细胞; 梗死面积; 美国国立卫生研究院卒中量表评分

**[中图分类号]** R781.42 **[文献标志码]** A

**[收稿日期]** 2024-03-13 **[录用日期]** 2024-05-08

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(82071289); 吉林省科技厅自然科学基金项目(YDZJ202201ZYTS037)

**[作者简介]** 苏醒麒(1996—), 女, 内蒙古自治区巴彦淖尔市人, 在读硕士研究生, 主要从事神经病学基础与临床方面的研究。

**[通信作者]** 马迪, 副教授, 硕士研究生导师(E-mail: madi2017@jlu.edu.cn);  
王川, 主治医师(E-mail: wangchuan39@126.com)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

## Analysis on correlation of cerebral infarct area with cytokines and immune status in patients with acute ischemic stroke

SU Xingqi, ZHAO Lingmin, MA Di, YOU Jiulin, CHEN Ying, FENG Liangshu, WANG Jing,  
FENG Jiachun, WANG Chuan

(Department of Neurology, First Hospital, Jilin University, Changchun, 130021, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore the correlations between the cerebral infarction area and cytokines and immune status in patients with acute ischemic stroke, and to provide the theoretical basis for immunotherapy of the patients with different degrees of cerebral infarction. **Methods:** Sixty-seven patients with acute ischemic stroke within 72 h of the onset were randomly selected according to the inclusion and exclusion criteria, and were divided into large-area cerebral infarction group ( $n=34$ ) and non-large-area cerebral infarction group ( $n=33$ ) on the basis of the biggest infarction area in the sequences of magnetic resonance diffusion-weighted imaging(CDWI). Clinical baseline characteristics such as gender, age, and medical history were collected from the patients in two groups, the serum levels of interleukin (IL)-2, IL-6, IL-10, and IL-17A, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) were measured using flow cytometry; the absolute values of lymphocytes (LYM#), lymphocyte percentages (LYM%), and neutrophil/lymphocyte ratios(NLR) in peripheral blood of the patients calculated, and the ratios of IFN- $\gamma$ /IL-4, TNF- $\alpha$ /IL-4, and TNF- $\alpha$ /IL-10 ratios were also calculated. The values of National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) scores of the patients were evaluated on the basis of the assessment of clinical neurological signs. The correlations of the cerebral infarction area and NIHSS score, cytokines and immune status groups of the patients in two were tested by rank correlation analysis. **Results:** Compared with non-large-area cerebral infarction group, the serum levels of IL-2, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- $\alpha$ , and IFN- $\gamma$  as well as the NLR in the peripheral blood of the patients in large-area cerebral infarction group were significantly increased ( $P<0.01$ ), while the LYM#, LYM% and TNF- $\alpha$ /IL-4 were significantly decreased ( $P<0.01$ ). There was a positive correlation between cerebral infarction area and NIHSS score in the patients in large-area cerebral infarction group ( $r_s=0.521, P<0.05$ ), and there was a significantly positive correlation between cerebral infarct area and NIHSS score in the patients in non-large-area cerebral infarction group ( $r_s=0.721, P<0.001$ ). The NIHSS scores were positively correlated with serum IL-6 ( $r_s=0.306, P=0.005$ ), IL-4 ( $r_s=0.252, P<0.001$ ), IL-2 ( $r_s=0.109, P=0.025$ ), IL-17A ( $r_s=0.405, P<0.001$ ), and IFN- $\gamma$  ( $r_s=0.146, P<0.001$ ) levels in two groups; no correlations were found between NIHSS scores and TNF- $\alpha$  ( $r_s=0.039, P=0.726$ ) and IL-10 ( $r_s=0.121, P=0.192$ ) levels. NIHSS scores of the patients in two groups had negative correlatious with the serum level of LYM# ( $r_s=-0.026, P=0.036$ ) and LYM% ( $r_s=-0.008, P=0.002$ ), and had positive correlated with NLR ( $r_s=0.315, P=0.009$ ). **Conclusion:** The infarction area of the patients with acute cerebral infarction is correlated with the NIHSS score, the inflammatory response, the degree of adaptive immune injury, and the immune status. The have positive correlation with cytokines and immune markers and the overall size of the infarction area. Compared with the patients with non-large-acea cerebral infarction, the immunosuppression of the patients with large-area infarcted areas is more likely to occur.

**KEYWORDS** Acute cerebral infarction; Immunity; inflammation; Cytokines; Inflammatory cells; Infarct size; National Institutes of Health Stroke Scale score

中风在世界范围内是人类第二大死亡原因<sup>[1]</sup>, 缺血性脑卒中可能导致颅内严重水肿, 并发颅内高压并且因其高致残率给社会带来沉重的负担。大面积压后的致死率高达80%<sup>[2]</sup>。美国国立卫生研究院

中风量表(National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)是评估患者急性卒中严重程度的定量指标,评分的高低反映受评患者的神经损伤程度。免疫反应在缺血性脑卒中的发生、发展和结局中至关重要。缺血性脑卒中发生后会激活大脑和全身免疫系统中的多个炎症级联反应,损伤后产生的神经炎症反应表现出免疫应答的双重性质,会在发病后持续数月,在缺血性脑卒中的发病机制中不仅具有保护脑细胞的作用,还会加重组织损伤<sup>[3]</sup>。免疫反应参与脑梗死的发病机制并影响患者的预后<sup>[4-5]</sup>,外周发生免疫抑制反应会增加卒中后感染的发生率,并且此过程伴随着局部和全身系统的免疫状态改变。在急性缺血性脑卒中发展过程中,缺血部位的星形胶质细胞和小胶质细胞被迅速激活并释放细胞因子和趋化因子<sup>[6]</sup>,外周循环中的免疫细胞被吸引到缺血区域参与脑组织的炎症反应。同时,交感神经系统和下丘脑-垂体-肾上腺轴会导致急性脑梗死患者卒中后免疫抑制,即淋巴细胞减少,中性粒细胞/淋巴细胞比例增加,抗炎介质表达水平升高,抗体水平降低<sup>[7]</sup>。卒中后的免疫抑制是卒中患者死亡的重要原因之一。在慢性脑梗死的恢复期,脑组织缺血区域的免疫状态可以调节神经纤维和血管的生成,因此免疫调节在脑梗死的长期预后中发挥至关重要的作用<sup>[8]</sup>。综上,深入探究急性缺血性脑卒中患者的免疫调节机制有助于发现新的临床治疗靶点。脑梗死面积也是影响缺血性脑卒中治疗和预后的重要因素之一<sup>[9]</sup>。本研究通过综合比较大面积脑梗死与非大面积脑梗死患者的血清中细胞因子、淋巴细胞占比和免疫状态指标以及分析脑梗死面积与NIHSS评分的关系,阐明脑梗死面积对NIHSS评分以及细胞因子和免疫状态影响,探讨脑梗死面积对外周免疫平衡的影响;相较于非大面积脑梗死患者,大面积脑梗死患者的NIHSS评分较高且更易发生免疫抑制<sup>[10]</sup>,以上结果为临床医生在选择免疫治疗方法时做出合理的决策和通过考虑不同的梗死大小来优化患者的预后提供帮助。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象** 选择2017年10月—2019年10月于本院神经内科发病时间在72 h内的67例急性缺血性卒中患者作为研究对象,根据临床常规磁共振扫描影像学图像和临床症状表现,将34例患者纳入大面积脑梗死组,包括前循环梗死和后循环梗

死。其中前循环梗死患者( $n=25$ )梗死灶最大直径为 $>3$  cm;后循环梗死患者( $n=9$ )梗死最大截面大于脑干1/3。将其余的33例患者纳入非大面积脑梗死组,包括前循环梗死和后循环梗死患者。前循环梗死患者( $n=27$ )梗死灶最大直径为 $<3$  cm;后循环梗死患者( $n=6$ )梗死最大截面小于脑干1/3。所有入组患者均已签署知情同意书。本研究经吉林大学第一医院伦理委员会审核批准,伦理批准号:AF-IRB-032-02。纳入标准:①2017年10月—2019年10月于吉林大学第一医院神经内科就诊的患者;②发病时间在72 h内;③自愿参与研究并签署知情同意书的患者;④患者年龄在18~80岁,不论性别;⑤接受常规临床磁共振扫描获得磁共振弥散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)及对应的表观弥散系数图(apparent diffusion coefficient, ADC)。排除标准:①颅内动脉夹层、动脉瘤、血管炎症性疾病、血管畸形和其他神经系统疾病;②接受过溶栓或取栓术的患者;③疑似存在脑栓塞的患者;④肝肾功能异常(谷草转氨酶或谷丙转氨酶大于正常值上限3倍,肌酐清除率 $<0.6$  mL $\cdot$ s $^{-1}$ ,血肌酐水平 $>265$   $\mu$ mol $\cdot$ L $^{-1}$ );⑤存在自身免疫性疾病、已经接受免疫治疗或恶性肿瘤的患者;⑥有严重创伤或最近接受过大手术的患者。

**1.2 试剂和主要仪器** BD™细胞珠阵微量样本多指标流式蛋白定量技术(cytometric bead array, CBA)人辅助性T细胞(helper T cell, Th) 1/Th2/Th17试剂盒和BD™细胞珠阵(CBA)人可溶性蛋白主缓冲试剂盒(美国BD公司)。BD FACS Calibur流式细胞仪(美国BD公司),低温高速离心机(德国赫利乌斯塞帕伊公司), $-20$  °C低温冰箱(青岛海尔公司), $-80$  °C超低温冰箱(美国Thermo Fisher公司),漩涡混合器(江苏天翎仪器有限公司),微量移液器(德国STARLAB公司),移液器吸头和12 mm $\times$ 75 mm流式管(美国Thermo Fisher公司),15 mL离心管(美国NEST公司)。

**1.3 CBA法检测各组患者血清样本中的白细胞介素(interleukin, IL)-2、IL-6、IL-4、IL-10、IL-17A、干扰素 $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )和肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )水平** 入院后立即使用凝血采集管采集患者的外周血(2~3 mL)。4 °C、3 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心5 min后,收集上清液(血

清样品), 并在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冷冻保存。使用BD™细胞珠阵列 (CBA) 人 Th1/Th2/Th17 试剂盒, 根据制造商的说明书检测每个血清样本中的细胞因子 (IL-2、IL-6、IL-4、IL-10、IL-17A、IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$ ) 的水平。细胞因子标准品是通过含有冻干的人 Th1/Th2/Th17 和测定稀释剂的连续稀释制备的。随后将捕获珠添加到每个试管中, 包括样品、标准品和阴性对照, 然后在无光的室温下孵育 30 min。流式细胞仪检测前使用细胞仪设置珠进行校准。

**1.4 核磁共振序列测量 2 组患者的急性脑梗死面积** 常规磁共振扫描采集患者 DWI 和 ADC。典型成像参数:  $b=1\ 000\ \text{S}\cdot\text{mm}^{-2}$ ,  $\text{TR}/\text{TE}\approx 2\ 900/89\ \text{ms}$ , 矩阵 $=142\times 142$ , 基分辨率 $=226$ , 其中 TR 表示重复时间, TE 表示回波时间。根据 DWI 上缺血最大梗死层面计算梗死面积, 脑梗死面积计算公式: 脑梗死面积=长度 $\times$ 宽度, 病变面积以  $\text{cm}^2$  表示。

**1.5 NIHSS 评分量表记录 2 组患者的脑梗死后神经功能损伤程度** 在入院后 12 h 内进行评估, 包括患者意识、语言、感觉、共济失调、运动功能、视野和眼球运动的评估。采用 0~42 分的评分系统量化神经损伤的严重程度; 得分越高, 表明损伤越明显。NIHSS 评分 $<5$  分表示疾病表现轻微, NIHSS 评分 5~15 分表示病情中度, NIHSS 评分 $\geq 16$  分表示病情严重。

**1.6 统计学分析** 采用 SPSS 25.0 统计软件进行

统计学分析。2 组患者的年龄、同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy)、空腹血糖、低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 和 NIHSS 评分等数值变量经夏皮洛-威尔克检验均符合正态分布, 以  $\bar{x}\pm s$  表示, 2 组间样本均数比较采用两独立样本  $t$  检验。2 组患者的性别、高血压史、糖尿病史和吸烟史为分类变量, 以例数 (百分率) [ $n$  (%)] 表示, 2 组间百分率的比较采用  $\chi^2$  检验。2 组患者的脑梗死面积、细胞因子 (IL-6、IL-4、IL-2、IL-17A、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-10)、免疫指标 [淋巴细胞绝对值 (LYM#)、淋巴细胞百分比 (LYM%) 和中性粒细胞/淋巴细胞比值 (neutrophil/lymphocyte ratio, NLR)] 和免疫状态指标 (TNF- $\alpha$ /IL-4 比值、TNF- $\alpha$ /IL-10 比值和 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值) 中至少 1 组数据不符合正态分布, 以中位数 (四分位数) [ $M$  ( $P_{25}$ ,  $P_{75}$ )] 表示, 2 组间比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验。采用秩相关分析检验 2 组患者脑梗死面积与 NIHSS 评分、细胞因子和免疫指标的相关性。显著性阈值设为双侧, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 2 组患者的基线数据** 2 组患者性别、年龄、糖尿病史、高血压病史、吸烟史、LDL 水平、Hcy 水平和空腹血糖水平组间比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 大面积脑梗死组患者 NIHSS 评分高于非大面积脑梗死组 ( $P<0.01$ )。见表 1。

表 1 2 组患者的基线数据  
Tab. 1 Baseline data of patients in two groups

Group	Large-area cerebral infarction ( $n=34$ )	Non-large-area cerebral infarction ( $n=33$ )	$\chi^2/t/Z$	$P$
Gender [ $n/(\eta/\%)$ ]				
Male	19 (55.88)	24 (72.70)	2.670	0.150
Female	15 (44.12)	9 (27.30)		
Age ( $\bar{x}\pm s$ , year)	62.70 $\pm$ 9.36	61.74 $\pm$ 9.02	0.430	0.670
Diabetes ( $\eta/\%$ )	10 (29.42)	10 (30.30)	0.010	0.936
Hypertension ( $\eta/\%$ )	23 (67.65)	26 (78.79)	1.050	0.304
Smoking history ( $\eta/\%$ )	14 (41.17)	13 (39.39)	0.020	0.882
LDL ( $\bar{x}\pm s$ , $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	3.48 $\pm$ 1.05	3.03 $\pm$ 0.90	1.850	0.310
Hcy ( $\bar{x}\pm s$ , $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	17.77 $\pm$ 13.46	19.25 $\pm$ 12.28	0.470	0.760
Fasting glucose ( $\bar{x}\pm s$ , $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	7.24 $\pm$ 3.47	6.34 $\pm$ 3.09	1.050	0.600
NIHSS score ( $\bar{x}\pm s$ )	13.03 $\pm$ 3.82	5.06 $\pm$ 3.14	9.310	0.001

LDL: low-density lipoprotein; Hcy: homocysteine; NIHSS: National Institutes of Health Stroke Scale.

**2.2 2组患者血清样本中的细胞因子和免疫状态指标** 大面积脑梗死组患者血清样本中IL-6、IL-4、IL-2、IL-17A、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-10水平均明显高于非大面积脑梗死组 ( $P < 0.01$ )。见表2。

**2.3 2组患者血清样本中LYM#、LYM%和NLR值** 大面积脑梗死组患者血清样本中LYM#和LYM%明显低于非大面积脑梗死组 ( $P < 0.01$ )，NLR

值明显高于非大面积脑梗死组 ( $P < 0.01$ )。见表3。

**2.4 2组患者血清样本中TNF- $\alpha$ /IL-4、TNF- $\alpha$ /IL-10和IFN- $\gamma$ /IL-4比值** 大面积梗死组患者的TNF- $\alpha$ /IL-4比值明显低于非大面积梗死组 ( $P < 0.01$ )。大面积梗死组患者的TNF- $\alpha$ /IL-10和IFN- $\gamma$ /IL-4比值与非大面积梗死组相比均呈下降趋势，但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表4。

表2 2组患者血清中IL-6、IL-4、IL-2、IL-17A、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-10水平

Tab. 2 Levels of IL-6, IL-4, IL-2, IL-17A, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , and IL-10 in serum of patients in two groups

Indicator	n	Cytokine level [ $\rho_B / (\text{ng} \cdot \text{L}^{-1})$ ]						
		IL-6	IL-4	IL-2	IL-17A	IFN- $\gamma$	TNF- $\alpha$	IL-10
Non-large-area cerebral infarction	33	9.81 (3.09, 28.60)	0.74 (0.31, 0.80)	0.55 (0.32, 0.98)	3.25 (1.37, 5.08)	0.61 (0.22, 0.95)	1.71 (0.80, 2.82)	1.31 (0.89, 2.46)
Large-area cerebral infarction	34	32.35 (9.69, 56.60)	4.02 (3.45, 4.76)	1.96 (1.75, 2.19)	8.15 (6.30, 9.66)	2.58 (2.30, 2.99)	2.63 (2.23, 3.15)	3.43 (2.66, 4.52)
Z		3.020	6.700	6.000	5.260	6.870	3.470	4.910
P		0.003	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001

表3 2组患者血清中LYM#、LYM%和NLR值

Tab. 3 LYM#, LYM% and NLR values in serum of patients in two groups

$M[P_{25}, P_{75}]$

Group	n	LYM#	LYM%	NLR
Non-large-area cerebral infarction	33	1.76(1.43, 2.35)	0.26(0.21, 0.33)	2.61(1.73, 3.36)
Large-area cerebral infarction	34	1.41(1.05, 1.79)	0.14(0.08, 0.22)	5.27(3.26, 10.79)
Z		3.000	4.360	4.480
P		0.003	<0.001	<0.001

表4 2组患者血清中TNF- $\alpha$ /IL-4、TNF- $\alpha$ /IL-10和IFN- $\gamma$ /IL-4比值

Tab. 4 Serum TNF- $\alpha$ /IL-4, TNF- $\alpha$ /IL-10, and IFN- $\gamma$ /IL-4 ratios of patients in two groups

$M[P_{25}, P_{75}]$

Group	n	TNF- $\alpha$ /IL-4	TNF- $\alpha$ /IL-10	IFN- $\gamma$ /IL-4
Non-large-area cerebral infarction	33	2.50 (1.62, 5.99)	1.05 (0.53, 3.06)	1.07(0.40, 2.06)
Large-area cerebral infarction	34	0.69 (0.54, 0.83)	0.80 (0.53, 1.12)	0.66(0.52, 0.82)
Z		5.320	1.460	1.690
P		<0.001	0.150	0.090

**2.5 2组患者脑梗死面积和NIHSS评分的相关性** 大面积梗死组患者脑梗死面积 [11.92 (3.04, 16.53)  $\text{cm}^3$ ] 明显大于非大面积梗死组 [1.50 (1.00, 2.00)  $\text{cm}^3$ ] ( $Z=2.619$ ,  $P=0.009$ )。非大面积脑梗死组和大面积脑梗死组患者脑梗死面积与NIHSS评分均呈正相关关系 ( $r_s=0.721$ ,  $P < 0.001$ ;  $r_s=0.521$ ,  $P=0.013$ )。

**2.6 典型病例** 患者1, 女性, 62岁, 入院21h突发右肢无力伴构音障碍, 右侧鼻唇沟略浅, 有饮水呛咳症状。入院24h内完善头部磁共振成像

(magnetic resonance imaging, MRI) 显示双侧额顶叶、中央半叶区、基底节区、放射冠区和室旁区的DWI信号强度较高, ADC信号较低。梗死面积:  $2.036 \text{ cm} \times 1.557 \text{ cm} = 3.170 \text{ cm}^2$ 。见图1。

患者2, 男性, 77岁, 入院前8h突发双肢无力, 入院后嗜睡, 完全混合性失语, 左上肢肌力3级, 双下肢肌力为0级, 病理征阳性。入院24h内完善头部MRI显示左侧基底节、侧脑室前足区双侧放射冠区、左侧额颞顶叶区和岛叶等各区域的DWI高信号斑片影, ADC显示低信号强度。梗死面积:

9.433 cm×4.918 cm=46.3915 cm<sup>2</sup>。见图2。

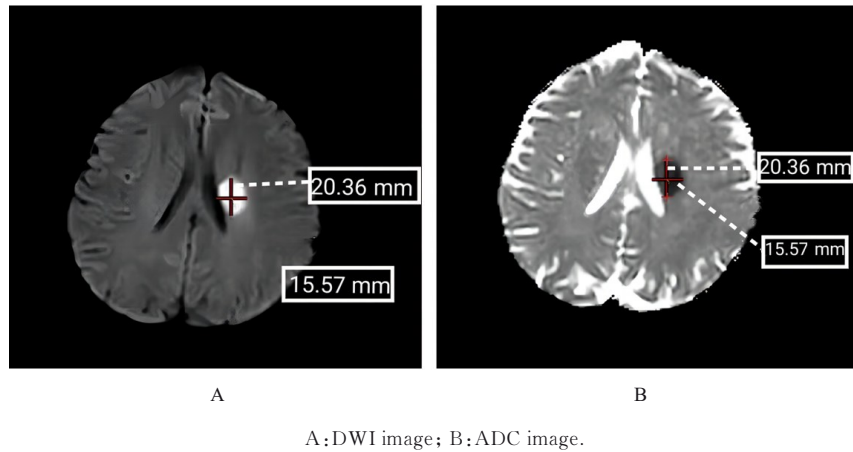


图1 非大面积脑梗死患者核磁轴DWI序列图像

Fig. 1 Nuclear magnetic axis DWI sequence images of patient with non-large-area cerebral infarction

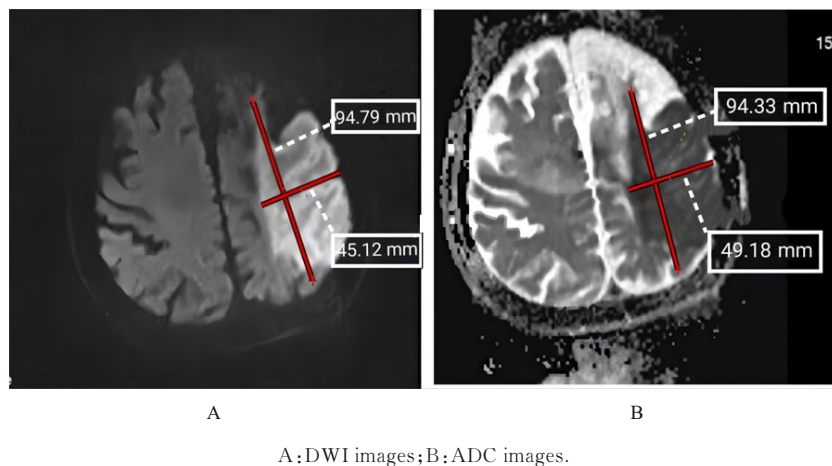


图2 大面积脑梗死患者核磁轴DWI序列图像

Fig. 2 Nuclear magnetic axis DWI sequence images of patient with large-area cerebral infarction

**2.7 NIHSS评分与血清中细胞因子之间的相关性** 2组患者血清中IL-6、IL-4、IL-2、IL-17A和IFN- $\gamma$ 水平与NIHSS评分均呈正相关关系 ( $r_s=0.306$ ,  $P=0.005$ ;  $r_s=0.252$ ,  $P<0.001$ ;  $r_s=0.109$ ,  $P=0.025$ ;  $r_s=0.405$ ,  $P<0.001$ ;  $r_s=0.146$ ,  $P<0.001$ ); TNF- $\alpha$  ( $r_s=0.039$ ,  $P=0.726$ )和IL-10水平 ( $r_s=0.121$ ,  $P=0.192$ )与NIHSS评分无相关性。

**2.8 2组患者血清中LYM#、LYM%和NLR值以及TNF- $\alpha$ /IL-4、IFN- $\gamma$ /IL-4和TNF- $\alpha$ /IL-10比值与NIHSS评分的相关性** 2组患者血清中LYM# ( $r_s=-0.026$ ,  $P=0.036$ )和LYM% ( $r_s=-0.008$ ,  $P=0.002$ )与NIHSS评分呈负相关关系, NLR值与NIHSS评分呈正相关关系 ( $r_s=0.315$ ,  $P=$

0.036)。2组患者的TNF- $\alpha$ /IL-4比值 ( $r_s=-0.408$ ,  $P<0.001$ )、IFN- $\gamma$ /IL-4比值 ( $r_s=-0.065$ ,  $P=0.023$ )和TNF- $\alpha$ /IL-10比值 ( $r_s=-0.223$ ,  $P=0.012$ )与NIHSS评分均呈负相关关系。

### 3 讨论

缺血性卒中是一种常见的脑血管疾病,会导致不可逆的脑组织损伤,其发生发展的病理机制较为复杂,包括兴奋性谷氨酸毒性、钙超载、氧化应激和炎症损伤等。NIHSS评分量表是一种广泛应用于临床评估卒中后脑损伤的指标。炎症反应是引起梗死后脑组织损伤的关键因素<sup>[11]</sup>。脑缺血涉及先天性免疫和适应性免疫,免疫反应在损伤的急性阶段和慢性阶段均起着关键作用。缺血性卒中急性期

炎症反应会加重脑组织局部损伤;但晚期的炎症反应也对局部脑组织起到保护作用,促进坏死细胞的清除,防止进一步的脑损伤<sup>[12]</sup>。中枢神经系统的炎症反应与外周免疫系统存在密切关联,缺血性卒中后免疫细胞的快速激活在血脑屏障破坏中起关键作用,外周免疫细胞会侵袭脑组织,渗透的中性粒细胞、单核细胞和T淋巴细胞会增加血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)通透性,分泌炎症相关分子,引起BBB受损,而BBB破坏可导致恶性脑水肿和出血性转化<sup>[13]</sup>。侵入中枢神经系统的Th细胞分泌多种细胞因子<sup>[14]</sup>,并与小胶质细胞相互作用,启动小胶质细胞极化,在中风的早期阶段快速反应,参与抗原呈递和炎症因子的产生<sup>[15]</sup>,从而影响局部脑组织损伤的程度和结局<sup>[16]</sup>。

现有研究<sup>[17-19]</sup>发现急性缺血性脑卒中后会出现外周淋巴细胞减少以及辅助T细胞1型与2型比例的变化,提示发生了免疫抑制,但其潜在的机制尚未完全阐明。卒中后免疫抑制虽然是抑制中枢性炎症的自我保护机制,但其改变了外周免疫状态,从而进一步影响急性脑梗死患者的预后<sup>[20-21]</sup>。目前对脑梗死免疫机制的研究逐渐成为热点,外周循环中各种细胞因子水平的波动可以反映急性缺血性卒中后外周免疫的改变,且因人体免疫系统受多种因素的影响,部分相关因素可被人为控制,因此相关免疫机制的调节可能是潜在的临床治疗靶点。

本研究评估不同梗死面积的急性脑梗死患者血清样本中IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-10和IL-17A的水平,并计算了INF- $\gamma$ /IL-4、TNF- $\alpha$ /IL-4和TNF- $\alpha$ /IL-10比值。其中IFN- $\gamma$ /IL-4比值一定程度上可反映辅助性T细胞亚群间的平衡<sup>[22]</sup>,IFN- $\gamma$ 是Th1型细胞分泌的必需促炎细胞因子,而IL-4是Th2型细胞中相对特异性的细胞因子,具有抗炎作用,因此,IFN- $\gamma$ /IL-4比值也对反映炎症状态具有重要意义<sup>[23]</sup>,提示了组织免疫状态的变化趋势。单核巨噬细胞可分为M1型和M2型,并受Th1/Th2免疫状态的调控<sup>[24]</sup>。促炎M1型巨噬细胞通过与脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)或Th1型细胞因子(IFN- $\gamma$ )结合而极化,产生包括IL-1 $\beta$ 、IL-2和TNF- $\alpha$ 等促炎因子;抗炎M2巨噬细胞被Th2相关细胞因子(IL-4)极化而分泌抗炎细胞因子(IL-10),促进组织愈合和炎症消退<sup>[25]</sup>。因此,可以通过TNF- $\alpha$ /IL-4比值和TNF- $\alpha$ /IL-10比值来评估M1/M2型免疫应答。IL-2、IL-6和IL-

17A也是常见的促炎因子,中性粒细胞在先天免疫起到至关重要的作用<sup>[26]</sup>,NLR反映了免疫紊乱的程度。NLR越高,适应性免疫损伤程度的影响越大<sup>[21, 27]</sup>。

目前的一些研究<sup>[28]</sup>主要集中在梗死面积对适应性免疫功能损伤的影响,而本研究通过收集急性脑梗死患者病史、实验室检测结果和影像学数据,发现急性脑梗死患者的各种细胞因子和免疫状态水平受梗死面积的影响。本研究结果显示:大面积脑梗死组患者的细胞因子(IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL10和IL-17A)水平明显高于非大面积脑梗死组,但各细胞因子的升高程度不同,其中IL-6和IL-17A的水平升高较高,提示大面积脑梗死组患者相较于非大面积脑梗死组,促进Th17细胞产生并分泌IL-17A,导致IL-17A和IL-6水平的升高,提示了免疫应答的增加和组织的进一步损伤<sup>[13]</sup>。上调的促炎细胞因子中IL-6和TNF- $\alpha$ 是卒中诱导的BBB破坏的关键介质,其表达水平升高与梗死面积呈正相关关系。研究<sup>[17]</sup>显示:促炎细胞因子TNF- $\alpha$ 和IL-6的循环水平在急性脑梗死后的前12h内显著升高,血清样本中细胞因子水平也与卒中严重程度和不良预后呈正相关关系。与非大面积脑梗死组比较,大面积脑梗死患者血清样本中的LYM#和LYM%明显降低,而NLR值明显升高,表明大面积脑梗死患者有更多的适应性免疫功能受损,并且细胞因子的相对水平也会影响适应性免疫状态<sup>[29]</sup>。大面积脑梗死组患者血清样本中TNF- $\alpha$ /IL-4比值明显低于非大面积脑梗死组,表明在大面积脑梗死患者的血清样本中,M2极化的巨噬细胞高于M1极化的巨噬细胞,提示大面积脑梗死患者可能表现出免疫抑制倾向。IFN- $\gamma$ /IL-4和TNF- $\alpha$ /IL-10比值降低,大面积脑梗死患者外周的细胞因子向抗炎反应转变。

NIHSS评分可作为评估脑梗死患者神经功能损伤的可靠指标。本研究分析了NIHSS评分与急性脑梗死患者血清炎症因子和免疫状态指标的相关性,结果显示:NIHSS评分与脑梗死面积呈明显正相关关系,而与血清中IL-2、IL-4、IL-6、IL-17A和IFN- $\gamma$ 水平呈正相关关系,血清中NLR值与NIHSS评分也呈正相关关系。上述结果表明:脑梗死面积与脑功能受损程度呈正相关关系,随着脑梗死面积的增加,脑组织神经结构受到的损伤程度也会增加,相应血清中细胞因子的表达水平也会改

变。急性脑梗死组患者血清 LYM# 和 LYM% 与 NIHSS 评分呈负相关关系, TNF- $\alpha$ /IL-4、TNF- $\alpha$ /IL-10 和 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值与 NIHSS 评分呈负相关关系。急性脑梗死后外周炎症因子和免疫状态指标的改变也与脑缺血损伤存在密切关联, 较高程度的适应性免疫损伤可能会引起较严重的大脑神经损伤, 脑梗死后的免疫抑制可加剧脑功能的进一步恶化<sup>[30]</sup>。

缺血性脑卒中发病后的病理机制复杂, 其中免疫反应参与整个疾病的发生发展过程, 在疾病转化过程中起着重要作用, 循环和脑免疫细胞形成复杂的炎症网络, 在缺血性脑卒中的不同发展时期发挥着不同作用, 因此, 调节免疫反应是改善神经功能预后的潜在靶点<sup>[31]</sup>。目前尚无关于急性缺血性脑卒中患者梗死面积影响外周血中细胞因子的系统研究, 缺乏免疫状态对急性脑梗死后临床不良事件影响的分析。脑梗死患者的功能预后也受急性脑梗死面积和外周免疫状态的影响。本研究为相关领域提供了有价值的临床数据, 使临床医生选择免疫治疗时可参考梗死面积大小来调整治疗方案, 进一步优化患者的预后。

#### 利益冲突声明:

作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

苏醒麒和赵灵敏参与数据收集、整理及统计学分析及论文撰写, 尤久琳、陈盈、冯良枢和王晶参与研究选题及统计学分析, 马迪、冯加纯和王川参与研究选题、论文修改及审校。

#### [参考文献]

- [1] PAN J R, Li X P, PENG Y. Remote ischemic conditioning for acute ischemic stroke: dawn in the darkness[J]. *Rev Neurosci*, 2016, 27(5): 501-510.
- [2] NOBRE M C, MONTEIRO M, DE ALBUQUERQUE A C, et al. [Decompressive craniectomy for treatment of intracranial hypertension secondary to large ischemic cerebral infarction: analysis of 34 cases][J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2007, 65(1): 107-113.
- [3] VELTKAMP R, GILL D. Clinical trials of immunomodulation in ischemic stroke [J]. *Neurotherapeutics*, 2016, 13(4): 791-800.
- [4] 彭斐斐, 陈梅玲. 自身免疫性疾病引起脑梗死的发病机制的研究进展[J]. *中国当代医药*, 2018, 25(4): 25-28.
- [5] YANG K L, ZENG L T, GE A Q, et al. A systematic review of the research progress of non-coding RNA in neuroinflammation and immune regulation in cerebral infarction/ischemia-reperfusion injury [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 930171.
- [6] WANG S W, ZHANG H, XU Y. Crosstalk between microglia and T cells contributes to brain damage and recovery after ischemic stroke[J]. *Neurol Res*, 2016, 38(6): 495-503.
- [7] BONDOC E N, MARINESCU D, MARINESCU I, et al. Current understanding of psycho-neurobiology in depressive disorders with suicidal thoughts - translational models[J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2019, 60(2): 389-402.
- [8] HENEIN M Y, VANCHERI S, LONGO G, et al. The role of inflammation in cardiovascular disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21): 12906.
- [9] CHEN P J, PAN Y Y, WANG J K, et al. The value of computed tomography perfusion deficit volumes in acute isolated brainstem infarction [J]. *Front Neurol*, 2023, 14: 1233784.
- [10] YUAN M, HAN B, XIA Y P, et al. Augmentation of peripheral lymphocyte-derived cholinergic activity in patients with acute ischemic stroke [J]. *BMC Neurol*, 2019, 19(1): 236.
- [11] YI X Y, ZHU L, SUI G, et al. Inflammation and endothelial function relevant genetic polymorphisms and carotid plaque in Chinese population [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2020, 27(9): 978-994.
- [12] IADECOLA C, BUCKWALTER M S, ANRATHER J. Immune responses to stroke: mechanisms, modulation, and therapeutic potential [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(6): 2777-2788.
- [13] QIU Y M, ZHANG C L, CHEN A Q, et al. Immune cells in the BBB disruption after acute ischemic stroke: targets for immune therapy? [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 678744.
- [14] PAKZAD B, RAJAE E, SHAHRABI S, et al. T-Cell molecular modulation responses in atherosclerosis anergy [J]. *Lab Med*, 2020, 51(6): 557-565.
- [15] JIN W N, GONZALES R, FENG Y, et al. Brain ischemia induces diversified neuroantigen-specific T-Cell responses that exacerbate brain injury [J]. *Stroke*, 2018, 49(6): 1471-1478.
- [16] KORN T, KALLIES A. T cell responses in the central nervous system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(3): 179-194.
- [17] SIMATS A, LIESZ A. Systemic inflammation after

- stroke: implications for post-stroke comorbidities [J]. *EMBO Mol Med*, 2022, 14(9): e16269.
- [18] WANG S W, ZHANG H, XU Y. Crosstalk between microglia and T cells contributes to brain damage and recovery after ischemic stroke[J]. *Neurol Res*, 2016, 38(6): 495-503.
- [19] CRAMER J V, BENAKIS C, LIESZ A. T cells in the post-ischemic brain: Troopers or paramedics?[J]. *J Neuroimmunol*, 2019, 326: 33-37.
- [20] REN H, LIU X, WANG L, et al. Lymphocyte-to-monocyte ratio: a novel predictor of the prognosis of acute ischemic stroke [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26(11): 2595-2602.
- [21] NAM K W, KIM T J, LEE J S, et al. High neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts stroke-associated pneumonia[J]. *Stroke*, 2018, 49(8): 1886-1892.
- [22] ADILIS M, KARLA D, FRAGOSO P, et al. Morita-baylis-hillman adduct 2-(3-hydroxy-1-methyl-2-oxoindolin-3-yl) acrylonitrile (CISACN) ameliorates the pulmonary allergic inflammation in CARAS model by increasing IFN- $\gamma$ /IL-4 ratio towards the Th1 immune response[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 130: 111737.
- [23] BUTOVSKY O, ZIV Y, SCHWARTZ A, et al. Microglia activated by IL-4 or IFN-gamma differentially induce neurogenesis and oligodendrogenesis from adult stem/progenitor cells[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2006, 31(1): 149-160.
- [24] WANG Y J, ZHANG J H, SHENG J F, et al. Immunoreactive cells after cerebral ischemia [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2781.
- [25] SHAPOURI-MOGHADDAM A, MOHAMMADIAN S, VAZINI H, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9): 6425-6440.
- [26] YUAN M, HAN B, XIA Y P, et al. Augmentation of peripheral lymphocyte-derived cholinergic activity in patients with acute ischemic stroke [J]. *BMC Neurol*, 2019, 19(1): 236.
- [27] REN H, LIU X, WANG L, et al. Lymphocyte-to-monocyte ratio: A novel predictor of the prognosis of acute ischemic stroke [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26(11): 2595-2602.
- [28] BECKER K J, KALIL A J, TANZI P, et al. Autoimmune responses to the brain after stroke are associated with worse outcome [J]. *Stroke*, 2011, 42(10): 2763-2769.
- [29] JICKLING G C, LIU D Z, ANDER B P, et al. Targeting neutrophils in ischemic stroke: translational insights from experimental studies [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(6): 888-901.
- [30] WESTENDORP W F, DAMES C, NEDERKOORN P J, et al. Immunodepression, infections, and functional outcome in ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2022, 53(5): 1438-1448.
- [31] JIAN Z H, LIU R, ZHU X Q, et al. The involvement and therapy target of immune cells after ischemic stroke[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2167.