

- 13 李华斌,程雷. 慢性鼻-鼻窦炎的 研究在争议中进展[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2009, 23(2): 49-51
- 14 李文生,沈康. 儿童慢性鼻-鼻窦炎的细菌谱特征及治疗[J]. 浙江临床医学, 2012, 14(8): 936-937
- 15 陆晓和. 实用临床用药监护[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 42-43
- 16 邵姗,王洪田. 大环内酯类抗生素的分类及在慢性鼻-鼻窦炎中的应用[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2010, 24(17): 814-816
- 17 Ragab SM, Lund VJ, Scadding G. Evaluation of the medical and surgical treatment of chronic rhino-sinusitis: a prospective, randomized, trial[J]. Laryngoscope, 2004, 114(5): 923-930
- 18 邱荣敏,邓碧凡,廖敏,等. 大环内酯类并糖皮质激素治疗慢性鼻-鼻窦炎效果分析[J]. 浙江临床医学, 2014 16(7): 1082-1083
- 19 诸葛盼,尤慧华,徐瑞,等. 克拉霉素对细菌生物膜阳性慢性鼻-鼻窦炎患者术后疗效的影响[J]. 中华临床感染病杂志, 2012, 5(5): 274-277

(收稿日期: 2014-11-12)

(修回日期: 2014-12-02)

KLF2 在急性脑梗死患者外周血单个核细胞中的表达及临床意义

邹成林 陈维钧 孙晓顺 方 璟 涂 军 赵亚洲

摘 要 目的 研究 Küppel 样转录因子 KLF2 在急性脑梗死患者外周血单个核细胞中的表达及与血清 TNF- α 、IL-6 浓度的相关性,初步探讨 KLF2 在急性脑梗死损伤中的可能作用。**方法** 分别应用半定量反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)、双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定 45 例急性脑梗死患者及 45 例健康体检者的外周血单个核细胞 KLF2 mRNA 表达及血清 TNF- α 、IL-6 浓度,按不同发病时间分为急性期(1~3 天)和恢复期组(10~14 天),按梗死面积分为腔隙性梗死组(20 例)、小面积梗死组(15 例)、大面积梗死组(10 例)。对各组与对照组之间 KLF2 mRNA 表达水平及血清 TNF- α 、IL-6 的浓度进行比较。**结果** 正常对照组 KLF2 mRNA 呈高表达,急性期及恢复期组低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),急性期 KLF2 mRNA 表达水平低于恢复期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。急性期 TNF- α 、IL-6 含量均较恢复期增高,恢复期较对照组增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。脑梗死面积越大, KLF2 mRNA 表达水平越低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 脑梗死后 KLF2 mRNA 表达水平降低,且与血清 TNF- α 、IL-6 的浓度存在相关性,其可能通过介导急性脑梗死的炎性反应在脑梗死发病中有一定的作用。

关键词 脑梗死 KLF2 TNF- α IL-6 RT-PCR

中图分类号 R74 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.05.039

Expression and Clinical Significance of KLF2 in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Patients with Acute Cerebral Infarction Zou Chenglin, Chen Weijun, Sun Xiaoshun, et al. Department of Internal Medicine, The Second People's Hospital of Jingzhou, Hubei 434000, China

Abstract Objective To investigate the expression of KLF2 mRNA in peripheral blood mononuclear cells, and its correlation with concentration of TNF- α and IL-6 in patients with acute cerebral infarction, to primarily discuss the role of KLF2 in ischemic injury of acute cerebral infarction. **Methods** The expression of KLF2 mRNA in peripheral blood mononuclear cells in 45 cases of acute cerebral infarction were examined by real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The concentration of TNF- α and IL-6 in serum were examined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). They were divided into two groups by different periods (1-3 days and 10-14 days) and divided into lacunar CI group (20 cases), small size group (15 cases) and large size group (10 cases). Forty-five cases of health people were regard as control group. Each group was compared with control group between KLF2 mRNA, TNF- α and IL-6. **Results** The expression of KLF2 mRNA in control group was higher than acute phase group and recovery phase group. The expression of KLF2 mRNA in recovery phase group was higher than acute phase group, and the difference was significant ($P < 0.05$). The serum levels of TNF- α and IL-6 in acute phase group were higher than recovery phase group, and they in recovery group were also higher than control group, and the difference was significant ($P < 0.05$). The more cerebral infarct size, the lower KLF2 mRNA

作者单位: 434000 湖北省荆州市第二人民医院

通讯作者: 邹成林, 电子信箱: 38716711@qq.com

expression level. **Conclusion** The expression of KLF2 mRNA decreases. There was negative correlation between with the concentration of TNF - α and IL - 6. It possibly plays a role in the pathogenesis of acute cerebral infarction through exerting inflammation injury.

Key words Cerebral infarction;KLF2;Tumor necrosis factor - α ;Interleukin - 6;RT - PCR

急性脑梗死 (acute cerebral infarction, ACI) 是由于血管壁局部病变导致血管痉挛、狭窄或闭塞引起的局部脑组织缺血、缺氧而引起的细胞死亡,其常见原因是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS), 目前认为动脉粥样硬化是一种炎性疾病,近年研究发现 KLF2 具有抗炎、稳定血管内皮、防止血栓形成等方面作用,在抗 AS 性疾病方面具有重要的调节作用^[1]。Das 等^[2]研究发现,冠心病患者的外周血单核细胞中 KLF2 mRNA 的含量比正常人显著减少,促炎因子 AP - 1 和 NF - κ B 表达增加,对炎症的抑制作用减弱。KLF2 在急性脑梗死患者中是否也参与炎症反应过程,目前文献报道较少。本研究应用 RT - PCR 检测 ACI 患者外周血单个核细胞 KLF2 mRNA 的表达,应用 ELISA 检测血清中 TNF - α 、IL - 6 的浓度,初步探讨 KLF2 在 ACI 发病过程中的作用。

对象与方法

1. 对象:选取 2012 年 12 月 ~ 2013 年 12 月在笔者医院神经内科住院的急性脑梗死患者 45 例,均为发病 24h 内首发急性脑梗死患者,符合全国第四届脑血管病学术会议制定的缺血性脑血管病诊断标准,入选者全部经头颅 CT 或 MRI 检查证实^[3]。脑梗死患者中男性 25 例,女性 20 例,年龄 40 ~ 75 (61.2 $\pm$ 11.3) 岁,排除合并高血压及糖尿病患者,对照组为健康体检者 45 例,其中男性 24 例,女性 21 例,患者年龄 44 ~ 75 (62.6 $\pm$ 10.7) 岁,均无高血压、糖尿病、肝肾、血液和代谢性疾病。排除感染、恶性肿瘤、创伤等影响检测指标的患者。所有患者按照头部 CT 或 MRI 扫描及报告病灶大小,应用计算机自动计算根据 CT 或 MRI 显示与症状相对应的最大病灶面积为梗死面积。参照 Adama 分类法将所有病例分为 3 组^[4]: ①大面积梗死组:10 例,梗死灶面积 > 3cm²; ②小面积梗死组:15 例,脑梗死灶面积 1.5 ~ 3.0cm²; ③腔隙性脑梗死组:20 例,脑梗死灶面积 < 1.5cm²。两组年龄、性别、血脂、血糖间差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。两组一般临床资料见表 1。

表 1 对照组与脑梗死组一般临床资料比较($\bar{x} \pm s$)			
项目	对照组	脑梗死组	P
男性/女性(n)	24/21	25/20	0.832
年龄(岁)	62.6 $\pm$ 10.7	61.2 $\pm$ 11.3	0.523
空腹血糖(mmol/L)	4.86 $\pm$ 0.63	4.75 $\pm$ 0.54	0.514
TC(mmol/L)	4.61 $\pm$ 0.23	4.70 $\pm$ 0.30	0.347
TG(mmol/L)	1.51 $\pm$ 0.03	1.52 $\pm$ 0.07	0.687
LDL - C(mmol/L)	2.21 $\pm$ 0.42	2.51 $\pm$ 0.72	0.632
HDL - C(mmol/L)	1.40 $\pm$ 0.32	1.25 $\pm$ 0.24	0.724

2. 方法:(1)主要试剂及仪器:淋巴细胞分离液(中国科学院血液学研究所),全血 RNA 提取试剂盒(美国 Omega 公司),TRIzol RNA 试剂(Tiagen),反转录试剂盒(Promega 公司),东胜 PCR 仪,2000 型凝胶成像分析系统,ELISA 检测试剂盒(深圳晶美生物工程有限公司)。引物由上海英骏生物技术有限公司合成。KLF2 引物系列:上游 5' - GCACACTTG-CAGCTACAC - 3',下游 5' - AGGCTTCTCACCCTGTGTG - 3',预期目的片段 141bp。GAPDH 上游 5' - GCACCGTCAAGGCT-GAGAAC - 3',下游 5' - TGGTGAAGACGCCAGTGGA - 3'。预期目的片段 87bp。(2)标本采集:脑梗死组急性期(1 ~ 3 天)及恢复期(10 ~ 14 天)分别抽血 7ml,其中 2ml 置于 EDTA - K2 抗凝管中,余 5ml 用淋巴细胞分离液分离出单个核细胞,置于 - 70℃ 冰箱保存备用。(3)血清 IL - 6、TNF - α 浓度测定:用 ELISA 法,严格按照操作说明书进行操作。用 MultiskanAscentV2.6 型酶标仪检测各份样本吸光度,并绘制成多项式曲线, R^2 值 0.999 以上,测定的样本吸光度均以此标准曲线计算。(4)KLF2 mRNA 测定:用淋巴细胞分离液提取外周血液中的单个核细胞,用 TRIzol RNA 分离液一步提取总 RNA,OD260/280 应为 1.8 ~ 2.0,取一部分 RNA 于 42℃ 下用反转录试剂盒制备 cDNA,然后加入 KLF2 及 GAPDH 引物进行 PCR,热循环条件为 94℃ 预变性 5min,94℃ 热变性 30s,60℃ 退火 30s,72℃ 延伸 1min,共 30 个循环,72℃ 延伸 5min。取 5 μ l PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳,用 2000 型凝胶成像分析系统进行分析,以目的条带与 GAPDH 条带 OD 值的比值(ODR 值)表示 KLF2 mRNA 的相对表达量。

3. 统计学方法:使用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本 t 检验,相关分析采用 Pearson 直线相关分析,计数资料采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 脑梗死急性期组、恢复期组与对照组 KLF2 mRNA、IL - 6、TNF - α 检测结果比较:正常对照组 KLF2 mRNA 呈高表达,脑梗死急性期及恢复期组低于对照组,脑梗死急性期、恢复期 KLF2 mRNA 表达水平与对照组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);脑梗死急性期 KLF2 mRNA 表达水平低于恢复期,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。脑梗死急性期组 TNF - α 、IL - 6 含量均较恢复期组增高,恢复期组较对照组增高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 2)。各组 KLF2 mRNA 的 RT - PCR 结果见

图 1。

表 2 各组 KLF2 mRNA 表达水平及 IL-6、TNF-α 血清浓度的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	KLF2 mRNA	IL-6(μg/L)	TNF-α(μg/L)
对照组	45	0.78 ± 0.08	1.44 ± 0.16	2.03 ± 0.23
脑梗死急性期组	45	0.26 ± 0.05 *▲	3.75 ± 0.22 *▲	3.64 ± 0.23 *▲
脑梗死恢复期组	45	0.45 ± 0.06 *	2.81 ± 0.14 *	2.97 ± 0.18 *

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与恢复期组比较, ▲ $P < 0.05$

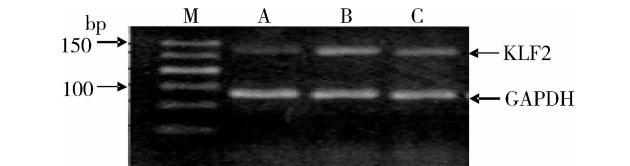


图 1 各组 KLF2 mRNA 的 RT-PCR 结果
M. Marker; A. 脑梗死急性期组; B. 对照组; C. 脑梗死恢复期组

2. 急性期不同梗死面积脑梗死患者 KLF2 mRNA 表达水平比较:梗死面积越大,KLF2 mRNA 表达水平越低,血清炎性因子 TNF-α、IL-6 浓度越高,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 3)。

表 3 急性期不同梗死面积脑梗死患者 KLF2 mRNA 表达水平及 IL-6、TNF-α 血清浓度的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	KLF2 mRNA	IL-6(μg/L)	TNF-α(μg/L)
腔隙性脑梗死组	20	0.32 ± 0.03	3.55 ± 0.11	3.42 ± 0.09
小面积梗死组	15	0.25 ± 0.01 *	3.83 ± 0.07 *	3.72 ± 0.08 *
大面积梗死组	10	0.21 ± 0.03▲	4.04 ± 0.04▲	3.94 ± 0.07▲

与腔隙性梗死组比较, * $P < 0.05$; 与小面积梗死组比较, ▲ $P < 0.05$

3. 相关分析:脑梗死急性期及恢复期外周血单个核细胞 KLF2 mRNA 表达水平与血清 IL-6、TNF-α 浓度之间呈负相关(r 值分别为 -0.612、-0.594, $P < 0.05$)。

讨 论

Kruppel 样转录因子(KLF)是一类具有锌指结构域的核转录因子,它们对不同基因启动子的 GT 盒具有不同的亲和力,作为转录激活子或转录抑制子调控特定基因的表达。KLF2 为 Küppel 样转录因子家族中的成员,其与动脉粥样硬化密切相关,在粥样硬化病变的多种细胞中参与转录调控各种因子。急性脑梗死是一个极其复杂的病理生理过程,主要病因为动脉粥样硬化(AS),炎症在动脉粥样硬化的所有阶段

发挥作用,目前认为炎症反应参与了急性缺血性脑梗死的病理生理过程^[5]。在动脉粥样硬化小鼠模型中,当 KLF2 被敲除后其动脉粥样硬化程度加重,斑块面积增大,提示 KLF2 在动脉粥样硬化中具有保护作用^[6]。本研究发现,在对照组 KLF2 mRNA 呈高表达,而脑梗死患者表达水平降低,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),且脑梗死急性期 KLF2 mRNA 表达水平低于恢复期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。说明 KLF2 在脑梗死发病过程中发挥一定的作用,但具体通过何种途径发挥作用尚不清楚。

动物实验研究发现,KLF2 通过调节血脑屏障发挥脑保护作用^[7]。本研究发现,急性期脑梗死患者 TNF-α、IL-6 含量均较恢复期患者增高,恢复期患者较对照组增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。且脑梗死急性期及恢复期外周血单个核细胞 KLF2 mRNA 表达水平与血清 IL-6、TNF-α 浓度之间呈负相关。考虑脑梗死后炎性因子 IL-6、TNF-α 的产生可能与 KLF2 的表达存在密切联系,KLF2 可能参与脑缺血病理过程中对炎性因子的调控。Fledderus 等^[8]研究发现 KLF2 可以抑制活化转录因子 2(ATF2)的核内活性,从而抑制促炎性基因的表达,表明 KLF2 具有重要的抗炎作用。Mahabeleshwar 等^[9]研究发现 KLF2 通过抑制核转录因子 κB(NF-κB)及低氧诱导因子-1α(HIF-1α)的表达,从而抑制炎症及氧化应激对细胞的损害。

本研究结果还显示,大面积脑梗死患者 KLF2 mRNA 水平比小面积脑梗死、腔隙性脑梗死患者降低(P 均 < 0.05)。提示脑梗死急性期 KLF2 mRNA 降低程度与梗死面积有一定程度相关,脑梗死面积大,KLF2 mRNA 水平降低越明显。并且梗死面积越大,血清炎性因子 TNF-α、IL-6 浓度越高。急性缺血性脑血管病发病后,存在缺血-再灌注损伤,导致炎性介质表达,大量炎性细胞因子渗出,导致机体处于炎性状态。研究显示 TNF-α 在脑梗死患者血清中表达水平升高,对疾病进展有促进作用^[10]。IL-6 作为一种重要的炎性因子,在脑梗死区及缺血半暗带的高表达,其可能参与缺血所致神经组织的继发损伤^[11]。研究发现,在体外和小鼠肺炎模型中,肺炎双球菌引起 KLF2 表达增加,提示炎症能引起 KLF2 的表达增加^[12]。笔者研究发现急性期血清 TNF-α、IL-6 浓度升高,但 KLF2 mRNA 表达水平降低,考虑可能是急性期内皮细胞损伤产生较多的炎性介质,消

耗血液中的 KLF2。内皮细胞中 KLF2 能抑制 IL - 1 β 、TNF - α 刺激引起的内皮细胞活化^[13]。而脑梗死恢复期炎症程度减轻,炎性因子释放减少,对 KLF2 的抑制作用减弱,KLF2 mRNA 表达水平升高。研究表明在内皮细胞中炎性因子 TNF - α 通过 NF - κ B 抑制 KLF2 转录激活剂细胞增强因子 2 (MEF2) 可下调 KLF2 的表达^[14]。而恢复期 KLF2 mRNA 表达水平未完全恢复正常,可能与其在发病前就存在异常有关。

综上所述,脑梗死后 KLF2 mRNA 表达水平降低,且与血清 TNF - α 、IL - 6 的浓度存在相关性,其可能通过介导急性脑梗死的炎性反应在脑梗死发病中有一定的作用,但其具体机制有待于进一步研究。

参考文献

- 1 Atkins GB, Jain MK. Role of kruppel - like transcription factors in endothelial biology [J]. *Circ Res*, 2007, 100(2): 1686 - 1695
- 2 Das H, Kumar A, Lin Z, *et al.* Kruppel - like factor2 (KLF2) regulates proinflammatory activation of monocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(17): 6653 - 6658
- 3 中华医学会第四次脑血管病学术会议. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. *中华神经科杂志*, 1996, 29(6): 379 - 380
- 4 Adams HP Jr, Bendixen BH, Kapelle LT, *et al.* Classification of subtype of acute ischemic stroke[J]. *Stroke*, 1993, 24(1): 35 - 41
- 5 Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(2): 115 - 126
- 6 Atkins GB, Wang Y, Mahabeleshwar GH, *et al.* Hemizygous deficiency of Kruppel - like factor 2 augments experimental atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2008, 103(7): 690 - 693

- 7 Shi H, Sheng B, Zhang F, *et al.* Kruppel - like factor 2 protects against ischemic stroke by regulating endothelial blood brain barrier function [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013, 304(6): H796 - 805
- 8 Flederud JO, Van TJ, Boon RA, *et al.* Prolonged shear stress and KLF2 suppress constitutive proinflammatory transcription through inhibition of ATF2 [J]. *Blood*, 2007, 109(10): 4249 - 4257
- 9 Mahabeleshwar GH, Kawanami D, Sharma N, *et al.* The myeloid transcription factor KLF2 regulates the host response to polymicrobial infection and endotoxic shock [J]. *Immunity*, 2011, 34(5): 715 - 728
- 10 Watters O, O' Connor JJ. A role for tumor necrosis factor - α in ischemia and ischemic preconditioning [J]. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 87
- 11 Spalletta G, Cravello L, Imperiale F, *et al.* Neuropsychiatric symptoms and interleukin - 6 serum levels in acute stroke [J]. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2013, 25(4): 255 - 263
- 12 Zahlten J, Steinicke R, Opitz B, *et al.* TLR2 and nucleotide binding oligomerization domain 2 - dependent Kruppel - like factor 2 expression down regulates NF - κ B - related gene expression[J]. *J Immunol*, 2010, 185(1): 597 - 604
- 13 Parmar KM, Larman HB, Dai G, *et al.* Integration of flow - dependent endothelial phenotypes by Kruppel - like factor 2 [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(1): 49 - 58
- 14 Kumar A, Lin Z, SenBanerjee S, *et al.* Tumor necrosis factor alpha - mediated reduction of KLF2 is due to inhibition of MEF2 by NF - κ B and histone deacetylases [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(14): 5893 - 5903

(收稿日期: 2014 - 08 - 26)

(修回日期: 2014 - 10 - 22)

奥氮平联合托烷司琼、地塞米松预防高致吐风险药物化疗引起恶心、呕吐的疗效分析

丁笑笑 丁新华

摘要 目的 观察奥氮平联合托烷司琼、地塞米松预防高致吐风险药物化疗引起恶心、呕吐的临床疗效和不良反应。**方法** 采用含高致吐风险药物化疗的 78 例患者随机分为观察组(奥氮平联合托烷司琼、地塞米松)和对照组(托烷司琼联合地塞米松),观察各组化疗后恶心、呕吐等不良反应的发生情况。**结果** 观察组与对照组防治急性呕吐的有效率分别为 87.5% 和 81.6%,观察组与对照组防治急性恶心的有效率分别为 65.0% 和 57.9%,差异均无统计学意义($P > 0.05$);观察组与对照组防治迟发性呕吐的有效率分别是 75.0% 和 52.6%,观察组与对照组防治迟发性恶心的有效率分别为 32.5% 和 13.2%,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两组间不良反应发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 奥氮平联合托烷司琼、地塞米松预防高致吐风险药物化疗所致迟发性恶心、呕吐疗效显著,不良反应轻。

作者单位: 318000 浙江省台州市中心医院(丁笑笑); 318000 浙江省台州市立医院(丁新华)

通讯作者: 丁新华, 电子信箱: dingxinhua5@sohu.com