

TNF- α 在痉挛型脑瘫中的异常表达

李雪明 吴建贤

摘要 选取痉挛型脑瘫患儿及正常儿童共 82 例,其中小龄[1~3(1.9 \pm 0.6)岁]患儿和大龄[3~12(5.5 \pm 1.9)岁]患儿各 27 例(观察组),小龄[1~3(2.2 \pm 0.6)岁]和大龄[3~12(6.9 \pm 2.7)岁]正常儿童各 14 例(对照组)。采用 ELISA 法检测血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平。结果显示小龄及大龄痉挛型脑瘫儿童血清 TNF- α 水平均较相应年龄正常儿童升高($P < 0.01$);小龄痉挛型脑瘫儿童血清 TNF- α 水平较大龄痉挛型脑瘫儿童血清 TNF- α 水平升高($P < 0.01$),而对照组内正常儿童的不同年龄段的血清 TNF- α 水平无明显差异;痉挛型脑性瘫痪患儿血清 TNF- α 水平较正常儿童增高($P < 0.01$);TNF- α 在痉挛型脑性瘫痪患儿体内持续过度表达,参与脑性瘫痪的后续脑损伤。

关键词 脑性瘫痪;免疫因子;肿瘤坏死因子 α

中图分类号 R 742.3;R 392

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)05-0692-03

脑性瘫痪是自受孕开始至婴儿期非进行性脑损伤和发育缺陷所导致的综合征,主要表现为运动障碍及姿势异常^[1],是造成儿童残疾的重要原因之一。但近年来,有研究^[2]提示脑瘫患儿体内存在免疫功能异常,并指出脑瘫患儿的脑损伤并非静止,其脑组织内的异常炎症反应可持续存在,并影响大脑功能重建。该研究通过观察不同年龄组痉挛型脑性瘫痪患儿及相应年龄组的正常儿童血清中肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的含量,探讨痉挛型脑性瘫痪儿童脑组织内炎症因子是否持续表达。

1 材料与方法

1.1 病例资料

1.1.1 观察组纳入标准 诊断标准符合以下条件:2006年在长沙召开的我国第二届全国儿童康复、第九届中国小儿脑瘫康复学术会议讨论通过的脑性瘫

痪的定义、分型及诊断条件;痉挛型脑性瘫痪;1岁<年龄<12岁;生命体征稳定;患儿家长均签署知情同意书。

1.1.2 观察组排除标准 凡合并有以下任何一项者,则不能成为本研究对象:非脑瘫疾病引起的运动发育迟缓,如进行性肌萎缩症、脑脊髓炎、重症营养不良、重症肌无力、听觉/视觉、癫痫、严重的小儿科其他疾患;近2个月内有发烧病史;有其他内分泌、代谢性、自身免疫性及遗传性疾病。

1.1.3 对照组纳入标准 无脑瘫病史;发育及运动功能正常;无异常肌张力;近2个月内无发烧病史。

1.1.4 对照组排除标准 符合观察组的纳入标准患儿;有内分泌、自身免疫性、代谢性及遗传性疾病。

1.2 一般资料

1.2.1 观察组 选择2012年12月~2013年8月在安徽医科大学第二附属医院康复科及安徽医科大学附属省立儿童医院康复科住院治疗的54例痉挛型脑瘫患儿为观察组,其中1~3(1.9 \pm 0.6)岁脑瘫患儿27例,男17例,女10例,作为小龄观察组;3~12(5.5 \pm 1.9)岁脑瘫患儿27例,男15例,女12例,作为大龄观察组。

1.2.2 对照组 选择同时期体检正常儿童28例作为对照组,其中1~3(2.2 \pm 0.6)岁14例,男7例,女7例,为小龄对照组;3~12(6.9 \pm 2.7)岁14例,男8例,女6例,为大龄对照组。对各组受试者之间年龄、体重、身高及性别等临床资料进行统计分析,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,表1。

表1 观察组与对照组一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	性别		年龄(岁)	身高(cm)	体重(kg)
		男	女			
大龄观察	27	15	12	5.5 \pm 1.9	110.61 \pm 11.87	19.73 \pm 5.49
大龄对照	14	8	6	6.9 \pm 2.7	119.83 \pm 17.05	24.31 \pm 8.61
小龄观察	27	17	10	1.9 \pm 0.6	84.73 \pm 10.17	12.56 \pm 2.75
小龄对照	14	7	7	2.2 \pm 0.6	90.74 \pm 8.97	14.06 \pm 2.89

1.3 标本采集与检测 用肝素钠抗凝采血管采集观察组及对照组儿童静脉血3ml,以3000 r/min离心5 min。离心后取血清,按1次用量分装,于-30 $^{\circ}$ C保存备测,避免反复冻融。使用ELISA法检测血

2014-02-24 接收

基金项目:安徽省高校省级自然科学基金项目(编号:KJ2010A194);
安徽省卫生厅中医药科学研究项目(编号:2012zy57)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院康复医学科,合肥 230601

作者简介:李雪明,女,硕士研究生;

吴建贤,女,主任医师,副教授,硕士生导师,责任作者,

E-mail:ay2fyjianxianwu@126.com

清 TNF- α 浓度,试剂盒购自德国 bender 公司,操作由专人并严格按照说明书进行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行方差齐性检验,各组数据比较采用 t 检验。

2 结果

由表 2 显示:①大龄及小龄观察组血清 TNF- α 明显高于相应对照组 ($P < 0.01$);②观察组内小龄脑瘫儿童血清 TNF- α 较大龄儿童血清 TNF- α 水平升高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),而正常儿童的不同年龄段的血清 TNF- α 水平无明显差异。③观察组全组即脑性瘫痪患儿血清 TNF- α 水平较对照组全组正常儿童增高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 2 观察组和对照组组间及组内 TNF- α 水平比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

项目	<i>n</i>	观察组	对照组
大龄组	54	17.83 \pm 5.18	11.03 \pm 4.94**
小龄组	28	24.99 \pm 4.91 Δ	11.39 \pm 3.36**
全组 ^c	82	21.42 \pm 6.17	11.21 \pm 4.11**

与观察组比较:** $P < 0.01$;与大龄观察组比较: $\Delta P < 0.05$;全组^c表示观察组全组或者对照组全组

3 讨论

在初次脑损伤后脑瘫患儿体内可能存在一种异常的持续激活机制,导致少突胶质细胞成熟障碍、神经元及轴突再生受限、神经突触形成受损等病理变化,从而阻碍大脑功能重建^[3]。研究^[2,4]表明脑瘫患儿血清 TNF- α 水平高于健康儿童,但也有学者^[5]指出新生儿脐血炎症因子中 TNF- α 对脑瘫发生的预测没有意义。本研究显示观察组全组血清 TNF- α 水平高于对照组全组,表示痉挛型脑瘫体内存在异常免疫。TNF- α 增高可能与外周单核细胞分泌增多有关,而单核细胞在此前已被证实参与神经系统疾病如脑白质软化症及自闭症的病理变化^[6-7]。但本试验中脑瘫患儿血清 TNF- α 水平偏低,因本研究在设计阶段考虑到 TNF- α 缺乏特异性,故在选择患儿时严格控制入选标准,如 2 个月内无畏寒发热、无癫痫等神经系统疾病及其他炎症性疾病,可能是导致本研究 TNF- α 检测水平偏低的原因之一。

研究^[8-9]显示中枢神经系统损伤过程产生的 TNF- α 通过作用于血管内皮细胞而致血管通透性增加或者脑血管内皮细胞的凋亡。不仅如此,TNF- α 过量表达引起血脑屏障功能紊乱以及脑水肿的研究

也有报道^[10]。有研究^[11]显示 TNF- α 可抑制少突胶质细胞前体细胞的分化,从而产生脑白质损伤。围生期及产后出现的神经系统炎症可改变大脑的可塑性,但是新生儿时期的炎症反应是否在脑瘫体内长期存在仍未有定论。该研究显示观察组组内小龄观察组血清 TNF- α 水平高于大龄观察组,且两组 TNF- α 水平均高于相应对照组,支持脑性瘫痪患儿的免疫异常持续存在,也间接反映 TNF- α 对脑瘫儿童的脑损伤并没有在短时间内消失。故脑瘫儿童免疫异常的治疗可能是脑瘫的防治新方向。该研究中最大的脑瘫患儿为 12 岁,提示这种脑损伤至少持续 12 年。

该研究显示小龄痉挛型脑性瘫痪患儿血清 TNF- α 水平较大龄痉挛型脑瘫患儿 TNF- α 水平明显升高,表明随着年龄升高,血清中 TNF- α 水平逐渐降低。这种现象提示脑瘫儿童体内的免疫异常可能随着年龄的增长逐渐减弱,表明患儿的免疫治疗具有时限性,具体的治疗窗有待进一步研究。在临床过程中脑性瘫痪患儿的功能障碍会随着时间的延长而愈发严重,这提示愈早期的免疫治疗可能会对脑性瘫痪患儿的功能改善愈有益,并与临床中脑瘫儿童康复介入越早效果越好的原则一致。

该研究中仅对不同年龄组的痉挛型患儿血清 TNF- α 进行对比分析,如能对小龄痉挛型脑瘫患儿进行长期随访研究,则将更有利于了解脑瘫患儿体内 TNF- α 的动态变化,进一步明确脑瘫患儿体内的持续激活机制。另一方面,早期对脑瘫患儿运用相应药物进行免疫治疗是否对脑损伤有帮助仍需要深入的研究,为脑瘫的早期治疗及预防提供临床指导。

参考文献

- [1] 陈秀洁. 小儿脑性瘫痪的定义、分型和诊断条件[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29(5): 309.
- [2] Lin C Y, Chang Y C, Wang S T, et al. Altered inflammatory responses in preterm children with cerebral palsy [J]. Ann Neurol, 2010, 68(2): 204-12.
- [3] Favrais G, Van De Looij Y, Fleiss B, et al. Systemic inflammation disrupts the developmental program of white matter [J]. Ann Neurol, 2011, 70(4): 550-65.
- [4] 袁记霞. 高压氧治疗对脑性瘫痪儿童血清白介素 6 和肿瘤坏死因子水平的影响[J]. 中国中西医结合儿科学, 2011, 3(6): 536-7.
- [5] Kaukola T, Kallankari H, Tuimala J, et al. Perinatal immunoproteins predict the risk of cerebral palsy in preterm children [J]. Ann Med, 2013, 45(1): 57-65.

(下转第 697 页)

- [21] Semaan A , Qazi A M , Seward S , et al. MicroRNA-101 inhibits growth of epithelial ovarian cancer by relieving chromatin-mediated transcriptional repression of p21^(waf1/cip1) [J]. *Pharm Res* , 2011 , 28 (12) :3079 - 90.
- [22] Li J , Liang S , Jin H , et al. Tiam1 , negatively regulated by miR-22 , miR-183 and miR-31 , is involved in migration , invasion and viability of ovarian cancer cells [J]. *Oncol Rep* , 2012 , 27 (6) : 1835 - 42.
- [23] Chung Y W , Bae H S , Song J Y , et al. Detection of MicroRNA as novel biomarkers of epithelial ovarian cancer from the serum of ovarian cancer patient [J]. *Int J Gynecol Cancer* , 2013 , 23 (4) : 673 - 9.
- [24] Bendoraitė A , Knouf E C , Garg K S , et al. Regulation of miR-200 family microRNAs and ZEB transcription factors in ovarian cancer: evidence supporting a mesothelial-to-epithelial transition [J]. *Gynecol Oncol* , 2010 , 116(1) :117 - 25.
- [25] Nam E J , Yoon H , Kim S W , et al. MicroRNA expression profiles in serous ovarian carcinoma [J]. *Clin Cancer Res* , 2008 , 14(9) : 2690 - 5.
- [26] Mateescu B , Batista L , Cardon M , et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response [J]. *Nat Med* , 2011 , 17 (12) :1627 - 35.
- [27] Hu X , Macdonald D M , Huettner P C , et al. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol* , 2009 , 114(3) :457 - 64.
- [28] Cochrane D R , Spoelstra N S , Howe E N , et al. MicroRNA-200c mitigates invasiveness and restores sensitivity to microtubule-targeting chemotherapeutic agents [J]. *Mol Cancer Ther* , 2009 , 8 (5) :1055 - 66.
- [29] Leskelä S , Leandro-García L J , Mendiola M , et al. The miR-200 family controls beta-tubulin III expression and is associated with paclitaxel-based treatment response and progression-free survival in ovarian cancer patients [J]. *Endocr Relat Cancer* , 2011 , 18 (1) : 85 - 95.
- [30] Cittelly D M , Dimitrova I , Howe E N , et al. Restoration of miR-200c to ovarian cancer reduces tumor burden and increases sensitivity to paclitaxel [J]. *Mol Cancer Ther* , 2012 , 11(12) :2556 - 65.

(上接第 693 页)

- [6] Jyonouchi H , Geng L , Streck D L , et al. Immunological characterization and transcription profiling of peripheral blood (PB) monocytes in children with autism spectrum disorders (ASD) and specific polysaccharide antibody deficiency (SPAD): case study [J]. *J Neuroinflammation* , 2012 , 9:4.
- [7] Kapitanović Vidak H , Catela Ivković T , Jokić M , et al. The association between proinflammatory cytokine polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants [J]. *Cytokine* , 2012 , 58 (1) : 57 - 64.
- [8] Welser J V , Li L , Milner R. Microglial activation state exerts a biphasic influence on brain endothelial cell proliferation by regulating the balance of TNF and TGF- β 1 [J]. *J Neuroinflammation* , 2010 , 7: 89.
- [9] 刘琳. 肿瘤坏死因子- α 对神经血管单元影响的研究进展 [J]. *卒中与神经疾病* , 2012 , 19 (5) :320 - 2.
- [10] Nishioku T , Matsumoto J , Dohgu S , et al. Tumor necrosis factor- α mediates the blood-brain barrier dysfunction induced by activated microglia in mouse brain microvascular endothelial cells [J]. *J Pharmacol Sci* , 2010 , 112(2) :251 - 4.
- [11] Falahati S , Breu M , Waackman A T , et al. Ischemia-induced neuroinflammation is associated with disrupted development of oligodendrocyte progenitors in a model of periventricular leukomalacia [J]. *Dev Neurosci* , 2013 , 35 (2 - 3) : 182 - 96.

The dysregulated expression of TNF- α for spastic cerebral palsy

Lin Xueming , Wu Jianxian

(Dept of Rehabilitation , The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230601)

Abstract 82 spastic cerebral palsy and normal children were selected , including 27 younger and 27 older spastic cerebral palsy (observation group) and 14 younger and older normal children (control group). The tumor necrosis factor α (TNF- α) levels were measured in the serum with ELISA. The TNF- α levels in the serum of the younger and older spastic CP groups were higher than those of the control groups ($P < 0.01$). In observation groups , the TNF- α levels of younger spastic cerebral palsy were higher than those of the older ($P < 0.01$). On the contrary , the normal children in the control group of different ages had no difference of TNF- α . TNF- α expression was significantly higher in the serum of the spastic CP group than that in the control group ($P < 0.01$). TNF- α expressed continuously *in vivo* of children with spastic cerebral palsy involve subsequent brain injury.

Key words cerebral palsy; immune factor; tumor necrosis factor- α