

TNF- α 受体后效应在脑囊虫病中的作用

吴立克¹, 王晓娟^{2*}, 王铭维¹, 余华峰²

(1. 河北医科大学第一医院 神经科, 河北 石家庄 050031; 2. 首都医科大学北京同仁医院 神经科, 北京 100730)

摘要:目的 探讨脑囊虫病患者各期脑脊液中 TNF- α 、NO、MDA 和 SOD 的变化规律及它们在脑囊虫病中的作用机制。方法 49 例明确诊断并依据 MRI 分期, 单发脑实质内囊虫的脑囊虫病患者和 20 名对照者, 分别用 ELISA 法检测脑脊液中 TNF- α 水平, 用分光光度计法检测脑脊液中 NO、MDA 和 SOD 水平。结果 发现于 早期 TNF- α 、MDA 水平先于 NO 升高而 NO 水平却有所降低, 于 中期、后期(整个退变死亡期)除 SOD 外各因子水平均升高, 后期除 MDA 仍显著增高外余恢复正常。TNF- α 与 NO、MDA 存在高度正相关关系。TNF- α 、NO 和 MDA 均与 SOD 有负相关关系。SOD 在 早期接近正常, 其余各期含量持续显著降低。结论 在单发脑实质内囊虫病中 TNF- α 受体后效应(氮自由基、氧自由基)可能与杀伤脑囊尾蚴有密切的关系, 其免疫调节与杀虫机制存在着动态平衡, 参与感染控制。

关键词:脑囊虫; 肿瘤坏死因子; 一氧化氮; 丙二醛; 超氧化物歧化酶

中图分类号: R383.3⁺4 文献标识码: A

近年来脑囊虫病研究中提出免疫杀虫和免疫损伤学说, 但这些研究均局限于某个时期, 且对存在的免疫、神经、内分泌现象的认识有所不同, 如有学者认为脑囊虫病使组织免疫升高而导致高颅压, 甚至出现应激性溃疡^[1,2], 也有学者认为脑囊虫病患者其免疫降低, 存在免疫豁免^[3]。免疫神经-内分泌网络学说指明, 三系统的作用有着密切的相互联系。对脑囊虫在脑组织中发育情况: 小囊泡状、小囊泡胶样化阶段、颗粒结节型和结节钙化型所引起的各阶段组织病理改变, 影像学上可有相应的反映。从以上领域出发, 本文旨在动态分析免疫系统对囊尾蚴及中枢神经系统的作用, 讨论脑囊虫病天然免疫与脑损伤的机制, 为进一步寻求治疗时机和方法提供基础依据。

1 材料和方法

1.1 临床资料

根据 1986 年全国囊虫病会议诊断标准, 选取 49 例临床确诊为单发脑实质内囊虫 (小于 3 个) 的脑囊虫病患者 (未经治疗), 依据影像学 MRI 表

现分为 4 期^[4,5]: 生存期 (早期)、退变死亡前期 (中期)、退变死亡后期 (后期)、静止期 (后期)。采集脑脊液标本, 检测肿瘤坏死因子 (TNF- α)、一氧化氮 (NO)、丙二醛 (MDA) 及超氧化物歧化酶 (SOD) 水平。20 名头痛患者 (除外器质性疾病且脑脊液各项检查均正常), 年龄、性别与病人组相匹配为对照组 (表 1)。

1.2 实验方法

1.2.1 标本处理: 取脑囊虫患者及对照组脑脊液 4 mL, -20℃ 冻存。检测前将标本室温溶化后经 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液待检。

1.2.2 TNF- α 、NO、MDA 及 SOD 的测定: 试剂盒购自深圳晶美生物工程公司和南京建成生物工程研究所, TNF- α 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定, NO 采用分光光度计法测定, 操作方法严格按照说明书进行。

1.2.3 统计学处理: 采用 SPSS 10.0 统计软件在微机上进行。组间比较用单因素方差分析, 并对四项观察变量做两两相关分析。

收稿日期: 2004-07-06 修回日期: 2004-12-21

* 通讯作者: 010-89652571; wxjlangfang@sohu.com

表1 受检各组一般资料分布

Table 1 Clinical and laboratory feature distribution of patients with cerebral cysticercosis and controls ($\bar{x} \pm s$)

	n	age	WBC($\times 10^6/L$)	cerebrospinal fluid protein(g/L)	antibody-positive control
group	20	30.2 \pm 2.5	5.1 \pm 2.2	0.43 \pm 0.10	0
patient group					
stage	11	25.4 \pm 3.4	12.3 \pm 3.7	0.56 \pm 0.22	3
stage	14	33.2 \pm 4.5	34.9 \pm 7.3	0.86 \pm 0.26	12
stage	10	35.3 \pm 5.3	24.4 \pm 4.2	0.64 \pm 0.18	8
stage	14	38.1 \pm 2.5	7.4 \pm 3.6	0.48 \pm 0.20	11

2 结果

2.1 各组脑脊液中 TNF- α 、NO 水平的变化

对照组与脑囊虫各期患者比较除 期外,均有显著性差异,NO 在脑囊虫病人各分期中有先降低后升高再降低的趋势。TNF- α 在脑囊虫病人各分期中有先升高达峰再降至基线的趋势(表2)。

2.2 各组脑脊液中 MDA、SOD 水平的变化

对照组与各分期脑囊虫患者组比较 MDA 均有显著性差异,有先升高后达峰再降低至基线的趋势,各期均高于对照组。SOD 在脑囊虫病人各分期中有先下降后回升至基线的趋势,各期均低于对照组(表2)。

2.3 各组脑脊液中 TNF- α 、NO、MDA、SOD 的相关性

脑脊液中 TNF- α 、NO 与 MDA 水平呈高度正相关关系,三者均与 SOD 存在负相关关系($P < 0.01$)。

3 讨论

免疫神经-内分泌网络学说提示:在脑囊虫患者的大脑中,免疫炎症因子 NO、活性氧与具有细胞毒

作用及分泌功能的 TNF- α 之间存在着一定联系^[6],它们是否参与脑囊尾蚴杀伤及组织免疫损伤过程,这是本研究的中心内容。期囊液抗原激活巨噬细胞(M)产生 TNF- α 使其升高早于 NO。TNF- α 、MDA 显著升高可能是人体早期抵抗囊尾蚴感染的免疫机制之一。期随着寄生虫循环抗原增多 TNF- α 表达呈高峰状态,TNF- α 作用于 M 使之产生 iNOS 而使患者脑脊液中 NO 水平升高,并与脑内多种受体结合出现免疫炎症反应而使氧自由基($O_2^{\cdot-}$)水平增高达峰,所以我们认为 NO 和 $O_2^{\cdot-}$ 在脑囊虫病患者中参与囊尾蚴杀虫过程及组织损伤过程。有学者观察到,肿瘤细胞表面的 TNF- α 受体是介导细胞毒性作用的重要大分子,但是仅 TNF- α 受体存在并不能保证 TNF- α 产生细胞毒作用,因为已发现部分肿瘤细胞表面虽然有足够的 TNF- α 受体却对 TNF- α 呈现明显的抗性^[7]。

为证实这一过程,在本实验室的另一项研究中,我们采用对 TNF- α 细胞毒作用敏感细胞成纤维细胞株(L929)发现,将 L929 与用囊液抗原活化的 M 共同培养可检测到少量 TNF- α 并且 NO 反应复合物及 MDA 水平升高,同时 L929 被杀伤。L929 单独培养

表2 各组脑脊液中 TNF- α 、NO $_2^-$ /NO $_3^-$ 、MDA、SOD 水平Table 2 Comparison of TNF- α , NO $_2^-$ /NO $_3^-$, MDA and SOD in cerebrospinal fluid from different groups ($\bar{x} \pm s$)

	n	TNF- α (pg/L)	MDA(nmol/mL)	SOD(U/mL)	NO $_2^-$ /NO $_3^-$ (μ mol/L)
control group	20	0.14 \pm 0.06	51.36 \pm 3.60	10.03 \pm 0.28	48.80 \pm 4.45
patient group					
stage	11	0.28 \pm 0.09 **	61.83 \pm 3.56 **	7.78 \pm 0.88 **	43.98 \pm 5.39 *
stage	14	0.68 \pm 0.10 **	79.50 \pm 4.21 **	5.64 \pm 0.51 **	77.43 \pm 8.08 **
stage	10	0.37 \pm 0.09 **	68.07 \pm 4.26 **	7.04 \pm 0.57 **	64.59 \pm 5.22 **
stage	14	0.17 \pm 0.07	54.19 \pm 3.87 *	9.82 \pm 0.70	56.90 \pm 13.50

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control group

不能检出 $\text{TNF-}\alpha$ 。分别在 iNOS 抑制剂或 SOD 存在下 L929 与激活的 M 共同培养时,可检测到少量 $\text{TNF-}\alpha$,但不能检出 NO 反应复合物及 MDA 水平升高,而且成纤维细胞没有受到损伤。说明杀伤成纤维细胞的是 NO 及 O_2^- 的联合作用。以上实验提示,天然的杀伤脑囊尾蚴的机制与造成组织损伤的机制之一是 $\text{TNF-}\alpha$ 激活 M 释放 NO,NO 通过与氧自由基的作用来完成的。我们认为这是 TNF 受体后效应的结果,是氮自由基和氧自由基直接介导的杀

伤作用。针对 $\text{TNF-}\alpha$ 受体后效应是否可以保护脑组织,如皮质类固醇等可抑制免疫炎症反应,一方面可使 $\text{TNF-}\alpha$ 高表达而自由基水平下降,这样就刺激了星形胶质细胞和神经干细胞的增生并分泌多种生长因子修复脑损伤,但另一方面由于免疫抑制,是否可引发 CNS 网状内皮系统的多潜能干细胞增殖而引发诸如原发性中枢神经系统淋巴瘤这类疾病的发生,国外曾有个案报道^[8]。我们将在今后的研究中进一步探讨这些问题。

参考文献:

- [1] Carpio A. Neurocysticercosis: an update[J]. Lancet Infect Dis, 2002, 2:751 - 762.
- [2] 张宪忠,陈兵,李杰,等.脑囊尾蚴病急性期症状与一氧化氮免疫机制的临床初探[J].中国急救医学,1998,18:36 - 37.
- [3] Del Brutto OH, Dolezal M, Castillo PR. Neurocysticercosis and oncogenesis[J]. Arch Med Res, 2000, 31:151 - 155.
- [4] Castillo M. Imaging of neurocysticercosis [J]. Semin Roentgenol, 2004, 39:465 - 473.
- [5] 李文方,马力公. MRI对脑囊虫病分型及分期诊断的临床意义[J].实用放射杂志,1999,15:217 - 219.
- [6] 王晓娟,吴立克,李春岩.脑囊虫患者脑脊液中 NO、TNF 水平研究[J].中国神经精神疾病杂志,2004,30:255 - 257.
- [7] Tanaka S, Nagashima T, Hori T. *In vitro* inhibition of binding of tumor necrosis factor (TNF)-alpha by monoclonal antibody to TNF receptor on glioma cell and monocyte [J]. Neuro Med Chir, 1998, 38:812 - 818.
- [8] Martinez AJ. The neuropathology of organ transplantation: comparison and contrast in 500 patients [J]. Pathol Res Pract, 1998, 194:473 - 486.

Effect of $\text{TNF-}\alpha$ post-receptor reaction on cerebral cysticercosis

WU Li-ke¹, WANG Xiao-juan^{2*}, WANG Ming-wei¹, YU Hua-feng²

(1. Department of Neurology, First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031; 2. Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100730, China)

Abstract : Objective To measure the level of $\text{TNF-}\alpha$, NO, MDA and SOD in cerebrospinal fluid from patients with cysticercosis in different stages and to investigate their effects on this disease. **Methods** Forty-nine patients with a single cysticercus in cerebral parenchyma and twenty normal controls participated in the study. According to the magnetic resonance imaging (MRI) results, patients were divided into four stages. The level of $\text{TNF-}\alpha$ in CSF was tested by Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and NO, MDA and SOD in CSF were tested by spectrophotography. **Results** The results showed that in the first stage the level of $\text{TNF-}\alpha$ and MDA were both increased while the amount of NO was decreased. In the second and third stages the level of $\text{TNF-}\alpha$, NO and MDA were all increased, and then went back to the normal level in the last stage except MDA. There were positive correlations between $\text{TNF-}\alpha$, NO and MDA. $\text{TNF-}\alpha$, NO and MDA were negatively related to SOD. The amount of SOD was significantly decreased in all stages except the fourth stage. **Conclusion** These findings suggested that free radicals (including oxygenic and nitric free radicals), as post-receptor reaction of $\text{TNF-}\alpha$, may be parasiticidal in the development of cerebral cysticercosis. there was a dynamic balance between the immune regulation and anti-cysticercus, which may play a role in the control of the infection.

Key words: cerebral cysticercosis; tumor necrosis factor ($\text{TNF-}\alpha$); nitric oxide (NO); malondialdehyde (MDA); superoxide dismutase (SOD)

* corresponding author: 086 - 010 - 89652571; wxjlangfang@sohu.com