

· 临床研究 ·

癫痫患儿外周血单个核细胞 NF-κB 活化的变化

王建平¹, 曹亚芹², 苏怡凡¹

(1. 甘肃省人民医院儿科; 2. 兰州大学临床医学院, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] **目的** 探讨癫痫患儿外周血单个核细胞中核因子 κB (nuclear factor-kappa B, NF-κB) 活化的变化及其临床意义。**方法** 采用流式细胞学方法检测 84 例癫痫患儿治疗前后及 32 例正常儿的外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化情况。**结果** 各实验癫痫组患儿外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化均明显高于健康对照组 ($P < 0.05$, 或 < 0.01), 差异具有显著性意义; 全身发作组和分类不明组的癫痫患儿外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化明显高于部分发作组 ($P < 0.01$), 且全身发作组高于分类不明组 ($P < 0.05$)。癫痫患儿部分发作组、全身发作组及分类不明组在治疗后外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化明显降低 ($P < 0.01$), 差异具有极其显著性意义。**结论** 癫痫发作患儿外周血单个核细胞 NF-κB 的激活是增加的, 与发作的严重程度呈正相关。

[中国当代儿科杂志, 2009, 11 (1): 44-46]

[关键词] 癫痫; 核因子 κB; 单个核细胞; 流式细胞学; 儿童

[中图分类号] R742.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830 (2009) 01-0044-03

NF-kappa B activation in peripheral blood mononuclear cells of children with epilepsy

WANG Jian-Ping, CAO Ya-Qin, SU Yi-Fan. Department of Pediatrics, People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, China (Email: wjpshengyiok@126.com)

Abstract: **Objective** To study the changes and significance of NF-kappa B activation in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of children with epilepsy. **Methods** NF-kappa B activation in PBMC was assayed by the flow cytometry in 32 healthy children and 64 children with epilepsy before and after treatment. The 64 epileptic children were subdivided into three groups: systemic seizure, partial seizure and unknown classification. **Results** NF-kappa B activation in PBMC in three epilepsy subgroups were significantly higher than that in healthy controls. The systemic seizure group showed significantly increased NF-kappa B activation in PBMC compared with the partial seizure group ($P < 0.01$) and the unknown classification group ($P < 0.05$). After treatment NF-kappa B activation in PBMC in three epilepsy subgroups was significantly reduced ($P < 0.01$). **Conclusions** NF-kappa B activation in PBMC increased in children with epilepsy, and it was positively correlated with the severity of seizures. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (1): 44-46]

Key words: Epilepsy; NF-kappa B; Mononuclear cell; Flow cytometry; Child

癫痫是小儿时期最常见的神经系统发作性疾病之一,其患病率大约为 3‰~6‰。已有临床研究证实小儿癫痫患病率约为成人的 10~15 倍,其发病机制迄今尚未完全明确,近年来研究认为神经-免疫-内分泌调节网络的失衡是癫痫反复发作的病理基础,其中在癫痫发病中 NF-κB 作为转录因子参与了急性炎症过程,作为细胞因子参与了神经兴奋和/或神经胶质疤痕的形成。有研究已证明了癫痫患者血中的细胞因子表达有变化^[1,2],NF-κB 是多种细胞因子的上游调控因子,因此选择了这一研究指标。本实验采用流式细胞学方法,即选取 NF-κB 亚单位 p65 的核定位作为外周血单个核细胞激活的主要特

征,以探讨癫痫患儿及其治疗前后外周血单个核细胞 NF-κB 活化的变化,以期明确其在癫痫发作中的作用及为小儿癫痫的临床防治提供一个重要的临床依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

84 例癫痫患儿为 2005 年 1 月至 2007 年 6 月我院小儿科住院的患儿,结合临床资料、脑电图及 CT 检查确诊,且在住院前均未接受抗癫痫治疗。根据我国小儿神经组 1983 年四川自贡专题讨论会议“关

[收稿日期] 2008-05-16; [修回日期] 2008-06-17
[基金项目] 甘肃省自然科学基金项目 (3ZS051-A25-087)。
[作者简介] 王建平,女,大学,副主任医师。主攻方向:小儿神经系统疾病。

于小儿癫痫临床分类和治疗的建议”进行分类:全面发作组 36 例,男 21 例,女 15 例,年龄 8 个月至 13 岁,平均 5.2 岁;局限发作组(简单、复杂或由部分演变成全身性)28 例,男 17 例,女 11 例,年龄 6 个月至 12 岁,平均 4.8 岁;分类不明组 20 例,男 9 例,女 11 例,年龄 11 月至 14 岁,平均 6.3 岁;健康对照组 32 例,男 19 例,女 13 例,年龄 7 个月至 13 岁,平均 5.6 岁。所有研究对象均排除脑外伤、脑肿瘤、脑血管疾病、感染性、免疫性、呼吸系统、消化系统及其他系统疾病,各组具有可比性。

1.2 研究方法

癫痫患儿在用药前及病情稳定后一个月清晨空腹抽取静脉血 2 mL,对照组于晨起空腹抽取静脉血 2 mL,置于抗凝管中,经固定透膜(Caltag Laboratories 公司)处理后,使用通过美国 Backman Coulter 公司生产的 Epics-XL 型流式细胞仪测定血液单个核细胞 NF-κB 的表达,NF-κB p65 试剂盒购于联科生物有限公司。

1.3 统计学处理

采用 SPSS11.5 统计学软件包处理。计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多样本资料采用 *F* 检验,两两比较采用 *q* 检验;配对样本均数比较采用 Pair-Sample T Test 方法,以 *P* < 0.05 为检验水准。

2 结果

不同发作类型癫痫患儿外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化比较见表 1。各实验癫痫组均明显高于健康对照组(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),差异具有显著性意义;全身发作组和分类不明组的癫痫患儿外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化明显高于部分发作组(*P* < 0.01),且全身发作组高于分类不明组(*P* < 0.05)。癫痫患儿部分发作组、全身发作组及分类不明组在治疗后外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化明显降低(*P* < 0.01),差异具有极显著性意义(表 2)。

表 1 不同发作类型癫痫患儿外周血单个核细胞中 NF-κB 活化改变的比较

组别	例数	NF-κB(%)	<i>q</i>	<i>P</i>
健康对照组	32	0.44 ± 0.25		
局限发作组	28	4.78 ± 1.54 ^a	8.63	< 0.05
全面发作组	36	22.23 ± 5.31 ^b	87.35	< 0.01
分类不明组	20	18.36 ± 4.83	68.26	< 0.01
<i>F</i>		96.31		
<i>P</i>		< 0.05		

a:与全面发作组和分类不明组比较, *P* < 0.01; b:与分类不明组比较, *P* < 0.05

表 2 不同发作类型癫痫患儿治疗前后外周血单个核细胞中 NF-κB 活化改变的比较

组别	例数	NF-κB(%)			
		治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
局限发作组	28	4.78 ± 1.54	1.87 ± 0.82	4.69	< 0.01
全面发作组	36	22.23 ± 5.31	13.46 ± 3.58	6.37	< 0.01
分类不明组	20	18.36 ± 4.83	10.71 ± 3.15	5.64	< 0.01

3 讨论

NF-κB 是一种可快速对外界刺激作出反应的核转录因子。其为 Sen 和 Baltimore 于 1986 年首先从 B 淋巴细胞核提取物中检测到一种能与免疫球蛋白 κ 轻链基因增强子出序列(GCGACTTTC)特异结合的核蛋白,此后发现它能与某些基因的增强子上 B 位点结合,从而启动及促进相应基因转录,故把这类蛋白分子统称为 NF-κB^[3]。在静息的细胞中,NF-κB 常与其抑制性蛋白(IκB)结合存在于胞浆内,一旦各种刺激引起 IκB 磷酸化并被降解,NF-κB 被激活,通常以 p65/p50 异二聚体的形式结合至 DNA 上的相应位点,调控下游靶基因的转录表达^[4]。我们通过检测 p65 的表达来代表 NF-κB 的活性。核转录因子 NF-κB 广泛存在于各种细胞,参与炎症反应、免疫细胞激活、细胞增殖和细胞凋亡等多种生理、病理过程。激活的 NF-κB 通过与靶基因启动因子的 κB 位点结合,激活相关基因而影响相应的转录和翻译,导致其表达增强,参与调节炎症反应、细胞及组织的分化和发育、免疫应答反应^[5]。

本实验结果显示,不同发作类型癫痫患儿外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化比较,各实验癫痫组均明显高于健康对照组,全身发作组和分类不明组的癫痫患儿外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化明显高于部分发作组,且全身发作组高于分类不明组。这说明癫痫发作时,患儿外周血单个核细胞中 NF-κB 的活化是增加的,且癫痫的发作程度越重,外周血单个核细胞中 NF-κB 的表达越多,而本实验关于 NF-κB 的激活与癫痫的因果关系仍有待进一步研究。鉴于 NF-κB 活化在癫痫发病机制中的作用,Blondeau 等^[6]研究认为 NF-κB 活化是癫痫发病机制一个关键步骤,国内外有关实验研究发现在癫痫发病中 NF-κB 作为转录因子参与了急性炎症过程,作为细胞因子参与了神经兴奋和/或神经胶质疤痕的形成^[7,8]、神经元的调亡^[9]、突触可塑性^[10]。本课题实验结果还提示,癫痫患儿部分发作组、全身发作组及分类不明组在治疗后外周血单个核细胞中

NF- κ B 的表达均明显降低。结果表明,通过积极有效的治疗,不同发作类型的癫痫患儿在控制了癫痫发作的同时,还降低了外周血单个核细胞中 NF- κ B 的活化。据此,可为研究特异性阻断靶细胞 NF- κ B 活性的药物提供依据,从而为寻求小儿癫痫的有效防治开辟新的前景^[11,12]。

综上所述,通过检测不同发作类型的癫痫患儿外周血单个核细胞 NF- κ B 的水平发现,癫痫患儿外周血单个核细胞中 NF- κ B 激活增加,且与癫痫发作的严重程度相关,而 NF- κ B 被激活与癫痫之间的因果关系还远不清楚。

[参 考 文 献]

[1] 彭建霞,庞保东,徐应军,曹丽华,董琰,刘寅. 原发性癫痫患儿治疗前后血清细胞因子水平的变化及意义[J]. 实用医学杂志,2007,23(8):1157-1158.

[2] 张茜,白洁,张琳娜,彭彦洪. 氧化苦参碱对青霉素致痫大鼠血清中细胞因子的影响[J]. 宁夏医学院学报,2006,28(3):202-206.

[3] Mattson MP, Meffert MK. Roles for NF-kappaB in nerve cell survival, plasticity, and disease[J]. Cell Death Differ, 2006, 13(5):852-860.

[4] Heckscher ES, Fetter RD, Marek KW, Albin SD, Davis GW. NF-kappaB, IkappaB, and IRAK control glutamate receptor densi-

ty at the Drosophila NMJ[J]. Neuron, 2007, 55(6):859-873.

[5] Aya K, Alhawagrim M, Hagen-Stapleton A, Kitaura H, Kanaqawa O, Novack DV. NF-(kappa)B-inducing kinase controls lymphocyte and osteoclast activities in inflammatory arthritis[J]. J Clin Invest, 2005, 115(7):1848-1854.

[6] Blondeau N, Widmann C, Lazdunski M, Heurteaux C. Activation of the nuclear factor-kappa B is a key event in brain tolerance[J]. J Neurosci, 2001, 21(13):4668-4677.

[7] Voutsinos-Porche B, Koning E, Kaplan H, Ferrandon A, Gueunoun M, Nehlig A, et al. Temporal patterns of the cerebral inflammatory response in the rat lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy[J]. Neurobiol Dis, 2004, 17(3):385-402.

[8] Crespel A, Coubes P, Rouaset MC, Brana C, Rougier A, Rondouin G, et al. Inflammatory reactions in human medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis[J]. Brain Res, 2002, 952(2):159-169.

[9] 黄亚玲,孙丹,刘亚黎. 戊四氮反复点燃致不同发育期大鼠海马损伤的病理改变[J]. 中华儿科杂志, 2005, 43(12):930-934.

[10] 李卫华,唐荣华,张宇红. 戊四氮及 NF- κ B 圈套结构对神经元样细胞突触素表达的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版),2006,35(4):429-432.

[11] 余春涛,刘智胜,董宗祈,肖诗豹. 热性惊厥患儿血清细胞因子水平的变化及临床意义[J]. 中国当代儿科杂志,1999,1(2):84-86.

[12] 刘智胜,王芳琳,杨立志,王慧燕. 年龄依赖性癫痫性脑病患儿的血清细胞因子变化[J]. 中国当代儿科杂志,2000,2(5):308-310.

(本文编辑:吉耕中)

· 消息 ·

新生儿颅脑 B 型超声诊断学习班通知

为提高对围生期脑损伤及其他中枢神经系统疾病的诊断水平,充分利用已有的医疗资源,推广颅脑超声检查诊断技术,北京大学第一医院儿科按计划于 2009 年 3 月下旬举办为期 5 天的新生儿颅脑超声学习班。本班属国家级教育项目,授课教师为本科及北京市著名专家教授。学习结束授予 10 学分。主要授课内容包括:中枢神经系统解剖;不同疾病颅脑超声诊断;不同影像学检查方法比较与选择;超声见习。招收学员对象:儿科、新生儿科专业医师,超声专业医师及技师。学费:950 元。欲参加者请与我们联系:北京大学第一医院儿科(邮编 100034)王红梅,周丛乐。电话:010-66551122 转 3461 或 3213。Email:xsexxb1122@126.com。如果需要,我们将寄去正式通知。

北京大学第一医院儿科
2008 年 11 月