文章编号:1000-5404(2010)23-2519-05

论著

儿童过敏性紫癜发病中NF-κB对树突状细胞的调控与T辅助细胞分化失衡的关系

陶 红,李 秋,王莉佳,张高福,王 莉,李翠萃,阳海平 (400014 重庆,重庆医科大学附属儿童医院肾脏免疫科)

【摘要】 目的 了解儿童过敏性紫癜发病中NF-κB对树突状细胞的调控与T辅助细胞分化失衡的关系。方法 收集我院2008年6月至2009年3月肾脏免疫科收治的过敏性紫癜(henoch-schonlein purpura,HSP)患儿36例和过敏性紫癜肾炎(henoch-schonlein purpura nephritis,HSPN)患儿32例,以及门诊体检的健康儿童27例,抽取外周血,诱导培养树突状细胞(dendritic cells, DC),于第5天分别抽取7例以上3组外周血诱导培养的DC加入NF-κB抑制剂5 μg,分别采用ELISA、流式细胞技术、RT-PCR和细胞免疫化学方法,检测患儿血浆IL-4、INF-γ和DC培养上清IL-12、IL-10水平;DC表面CD_{86}、CD_{80}、CD_{83}、CD-209的表达;DC内NF-κB亚型p50、p65 mRNA表达量和NF-κB活化情况。结果 与对照组比较,HSP组和HSPN组血浆中Th2类细胞因子IL-4升高($P<0.05$),Th1类细胞因子INF-γ降低($P<0.05$);DC培养上清中IL-10升高($P<0.05$),IL-12降低($P<0.05$);CD_{86}、CD_{83}升高($P<0.05$),CD_{80}降低($P<0.05$);细胞内NF-κB p50、p65 mRNA表达量也升高($P<0.05$);NF-κB活化表达数量增多。但HSP组与HSPN组以上检测指标2组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。加入NF-κB抑制剂后以上各项异常指标可逆转,且逆转后与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 HSP发病与DC异常调控Th1/Th2细胞失衡密切相关,NF-κB是DC免疫功能的关键性调控基因,抑制NF-κB的活化是阻断DC功能和依赖于T细胞免疫反应的一个有效靶点。

【关键词】 树突状细胞;NF-κB;T淋巴细胞;过敏性紫癜;紫癜性肾炎
【中图法分类号】 R554.602;R392.11;R392.3 【文献标志码】 A

Correlation between regulation of dendritic cells by nuclear transcription factor-κB and imbalance of T helper cell differentiation in pathogenesis of henoch-schonlein purpura during childhood

Tao Hong, Li Qiu, Wang Lijia, Zhang Gaofu, Wang Li, Li Cuicui, Yang Haiping (Department of Kidney Immunity, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400014, China)

【Abstract】 **Objective** To study the correlation between regulation of dendritic cells (DC) by nuclear transcription factor-κB and imbalance of T helper cell differentiation in pathogenesis of henoch-schonlein purpura (HSP) during childhood. **Methods** Thirty-six children with HSP and 32 children with henoch-schonlein purpura nephritis (HSPN) admitted to our hospital in June 2008 to March 2009 and 27 healthy children enrolled in this study, served as HSP group, HSPN group and control group, respectively. Peripheral blood was drawn from 7 children in each group on day 5 to culture DC, into which 5 μg of NF-κB inhibitors was added. The levels of IL-4, INF-γ in plasma and IL-12, IL-10 in supernatant of cultured DC were measured by ELISA, flow cytometry, RT-PCR and cellular immunochemistry, respectively. Expressions of CD_{86}, CD_{80}, CD_{83}, CD-209, NF-κB isoforms p50 and p65 mRNA as well as activation of NF-κB in DC were also detected by ELISA, flow cytometry, RT-PCR and cellular immunochemistry, respectively. **Results** The IL-4 level was higher and the INF-γ level was lower in HSP and HSPN groups than in control group ($P<0.05$). The IL-10 level in supernatant of cultured DC and the IL-4 level in plasma were significantly higher in HSP and HSPN groups than in control group ($P<0.05$). The expression level of CD_{86} and CD_{83} was significantly higher while that of CD_{80} was significantly lower in HSP and HSPN groups than in control group ($P<0.05$). The expression level of NF-κB p50 and p65 mRNA was also higher in HSP and HSPN groups than in control group ($P<0.05$). No significant difference was observed in activation of NF-κB between HSP and HSPN groups. The above abnormal parameters could return to normal when NF-κB inhibitors were added into the cultured DC, with no difference among the three groups. **Conclusion** The pathogenesis of HSP is closely related with the abnormal regulation of

【基金项目】 重庆市卫生局医学科学研究重点项目(2009-1-34)
【通信作者】 李 秋,电话:(023)63603929,E-mail:Liqiu809@hotmail.com

DC and imbalance of Th1/ Th2 cells. NF-κB is a key regulatory gene of DC immune function, thus inhibiting the activation of NF-κB is a valid target to block DC function depending on T-cell immune response.

[Key words] dendritic cell; nuclear factor-kappa B; T lymphocyte; henoch-schonlein purpura; henoch-schonlein purpura nephritis

Supported by the Key Projects of Medical Science by Chongqing Municipal Health Bureau (2009-1-34). Corresponding author: Li Qiu, Tel: 86-23-63603929, E-mail: Liqiu809@hotmail.com

过敏性紫癜(henoch-schonlein purpura,HSP)是儿童最常见的全身小血管变态反应性疾病。其中肾型即过敏性紫癜肾炎(henoch-schonlein purpura nephritis,HSPN)病情最为严重,是儿童期常见的继发性肾炎及影响儿童生命质量的重要原因之一[1],但其发病机制及肾脏损害机制还不明确。既往研究证实该病的发生与Th1/Th2失衡分化有关[2]。树突状细胞(dendritic cells,DC)是唯一能激活初始T淋巴细胞产生免疫应答的专职抗原递呈细胞,可调控Th细胞分化或极化。有研究显示DC内在表达NF-κB是启动T辅助细胞分化和参与肾脏损害的重要因素[3,4],阻断NF-κB的活化能阻断Th细胞因子的偏向性分化和早期干预肾脏损害的发生[5]。本研究拟探讨DC成熟过程中,胞内NF-κB的信号对T辅助细胞分化的调控在HSP及HSPN发病中的作用,为寻求新的HSP治疗靶点和预防HSPN提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 临床资料及分组

对照组27例为我院门诊体检的健康儿童,其中男性:女性=12:15,年龄6~13岁,平均7.4岁。HSP组患儿36例,男性:女性=20:16,年龄3~16岁,平均7.1岁;HSPN组患儿32例,男性:女性=19:13,年龄5~12岁,平均6.8岁,均为2008年6月至2009年3月我院肾脏免疫科住院患儿,以上3组中性别及年龄无统计学差异($P>0.05$)。HSP和HSPN组入选条件:均为急性期患儿,具有明确的病史和体征,采血前4周未使用过激素和免疫抑制剂,根据中华医学会儿科肾脏学组2000年诊断标准,小便常规未发现隐血和尿蛋白者归入HSP组,其余为HSPN组。对照组、HSP组和HSPN组分别诱导培养DC,另外从3组中各抽取7例,诱导DC的第5天加入NF-κB抑制剂BAY-11-7082 5 μg,分别为对照+NF-κB抑制剂组、HSP+NF-κB抑制剂组和HSPN+NF-κB抑制剂组。

1.2 主要试剂

rhGM-CSF(215-GM-010)、rhIL-4(204-IL-010)、rhTNF-α(210-TA-010)购自美国R&D公司。IL-10、IL-12、IL-4、INF-γ ELISA检测试剂盒购自晶美物工程有限公司(进口分装)。PE标记的鼠抗人CD_{83}(12-0839-73,鼠PE-IgG1抗体为阴性对照)、PE标记的鼠抗人CD_{86}(12-0869-73,鼠PE-IgG2b抗体为阴性对照)、FITC标记的鼠抗人CD_{80}(11-0809-73,鼠FITC-IgG1抗体为阴性对照)及FITC标记的鼠抗人CD-209(11-2099-73,鼠FITC-IgG2a为阴性对照)单克隆抗体购自美国eBioscience公司。兔NF-κB p50(ab60936)多克隆抗体购自美国公司,辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG(ZB-2305)购自北京中杉金桥公司,逆转录试剂盒(DCY501)、热启动酶(DR007A)购自日本TaKaRa公司,NF-κB抑制剂BAY-11-7082(B5556)购自德国Sigma公司。

1.3 方法

1.3.1 DC的诱导和培养 参照文献[6],取抗凝外周血5 ml(经患者及家属同意并经过伦理委员会批准),20 ℃ 1 500 r/min离心5 min,留取上清1 ml,常规分离PBMC,用含10%特级胎牛血清的RPMI1640培养液重悬细胞,细胞终浓度为2×10^6/ml。加入6孔培养板,每孔3 ml。放入37 ℃,5% CO_2的孵箱内培养3 h后,轻柔洗板1次,洗去未贴壁的细胞。按rhGM-CSF 1 000 U/ml、rhIL-4 500 U/ml终浓度加入细胞因子,隔日半量换液。培养过程中通过倒置显微镜观察细胞的生长情况。第5天加入rhTNF-α 200 U/ml,诱导其成熟,另外从对照组、HSP组和HSPN组中各抽取7例加入rhTNF-α 200 U/ml和NF-κB抑制剂5 μg。第7天DC培养成熟,收集上清液300 μl于-80 ℃保存以备测。余细胞用于形态学鉴定、流式细胞仪分析等。

1.3.2 EIISA检测血浆IL-4、INF-γ及DC培养上清IL-10、IL-12 用留取的血浆检测IL-4、INF-γ,DC培养的上清检测IL-10、IL-12水平,操作方法按试剂盒说明书进行。

1.3.3 流式细胞仪分析DC 培养第7天的DC用0.1%磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后,调整终浓度为1×10^5/ml的细胞悬液。各取100 μl细胞悬液加入流式细胞仪测定管,分别加入20 μl PE标记鼠抗人CD_{83}、CD_{86}和FITC标记的鼠抗人CD_{80}、CD-209单克隆抗体,混匀,4 ℃孵育30 min。用预冷PBS洗涤2次,重新悬浮细胞后,用流式细胞仪分析。

1.3.4 RT-PCR检测DC内NF-κB p50、p65 mRNA的表达量 引物由重庆百瑞公司合成。引物设计如下:p50正义链5′-CTCTGGCGCAGAAATTAGGTC-3′,反义链5′-TAGGGCTTTG-GTTTACACGGT-3′,扩增长度为447 bp;p65正义链5′-ATA-GAAGAGCAGCGTGGGACT-3′,反义链5′-CGTTTCTCCT-CAATCCGGTGAC-3′,扩增长度为473 bp;β-actin正义链5′-TGCTATCCCTGTACGCCTCT-3′,反义链5′-AGTACTTGCGCT-CAGGAGGA-3′,扩增长度为597 bp。收集培养第7天的DC,总RNA提取按Trizol试剂说明书进行。应用RT试剂盒cDNA第1链合成,Olig(dT)为引物,RNA样品3 μl,总体积10 μl。PCR反应体系为:10×RT Buffer 2.5 μl,mix dNTP(25 mmol/L)0.7 μl,各引物(10 mmol/L)0.5 μl,cDNA 4 μl,Ex *Taq*酶0.5 μl,总体积25 μl。反应条件为:94 ℃预变性4 min,94 ℃变性40 s,58 ℃复性30 s,72 ℃延伸1 min,35个循环,然后72 ℃终末延伸5 min。扩增产物行2%琼脂糖凝胶电泳,Coldenview紫外透射仪下观察,计算机图像分析系统扫描,以β-actin为参照分析

p50、p65 mRNA 表达量。

1.3.5 细胞免疫化学检测 DC 内 NF-κB 的表达 用RPMI 1640 培养液重新悬浮细胞,计数并进行细胞离心涂片。用 4% 多聚甲醛固定细胞 90 min,3% 的 H_2O_2 室温孵育 30 min,以消除内源性过氧化物酶,0.2% Triton X-100 室温处理20 min;滴加 1∶160 稀释的一抗工作液即兔 NF-κB p50 多克隆抗体,4 ℃ 过夜,次日室温恢复 30 min 后,滴加山羊抗兔 IgG 抗体-HRP 多聚体室温反应 45 min;DAB 显色 40 s,自来水冲洗 5 min,苏木精复染 20 s,蒸馏水浸泡 5 min,吹干,树胶封片。阴性对照采用 PBS 代替一抗,余处理相同。400 倍显微镜视野下观看并摄像。

1.4 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,通过 SPSS 11.5 统计软件进行 t 检验,两变量间相关分析采用直线相关分析法。

2 结果

2.1 DC 表面特异性标志 CD-209 的结果

用流式细胞仪检测 DC 表面的特异性表面标志 CD-209,对照组(35.67 ± 6.89)、HSP 组(34.72 ± 5.54)、HSPN 组(36.74 ± 6.45)、对照 + NF-κB 抑制剂组(35.53 ± 6.65)、HSP + NF-κB 抑制剂组(34.85 ± 5.01)、HSPN + NF-κB 抑制剂组(37.40 ± 7.93)DC 表面特异性标志 CD-209 差异均无统计学意义($P > 0.05$),即 6 组培养的 DC 细胞数量无明显差别。

2.2 HSP 组和 HSPN 组患儿血浆产生 Th1、Th2 细胞因子情况

HSP 组和 HSPN 组患儿产生 Th1 类细胞因子 INF-γ 水平显著低于对照组($P < 0.05$),Th2 类细胞因子 IL-4 水平显著高于对照组($P < 0.05$)。以上指标 HSP 组和 HSPN 组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

表 1 EILSA 检测各组外周血血浆 IL-4、INF-γ 的水平(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-4	INF-γ
对照组	27	5.69 ± 2.77	34.60 ± 10.94
HSP 组	36	12.78 ± 2.98[a]	19.70 ± 6.07[a]
HSPN 组	32	11.04 ± 4.11[a]	14.49 ± 5.74[a]

a:$P < 0.05$,与对照组比较

2.3 HSP 组和 HSPN 组 DC 培养上清 IL-10、IL-12 的检测

HSP 组和 HSPN 组 DC 培养上清中 IL-10 水平显著高于对照组($P < 0.05$),IL-12 水平显著低于对照组($P < 0.05$)。以上指标 HSP 组和 HSPN 组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 2)。

表 2 EILSA 检测各组 DC 培养上清中 IL-10、IL-12 的水平(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-10	IL-12
对照组	20	13.90 ± 2.52	14.03 ± 3.92
HSP 组	29	39.23 ± 15.92[a]	4.99 ± 0.77[a]
HSPN 组	25	49.26 ± 13.58[a]	5.87 ± 2.41[a]
对照 + NF-κB 抑制剂组	7	20.83 ± 8.63	13.67 ± 2.89
HSP + NF-κB 抑制剂组	7	22.72 ± 5.32	11.55 ± 2.58
HSPN + NF-κB 抑制剂组	7	21.73 ± 3.61	9.48 ± 4.01

a:$P < 0.05$,与对照组比较

2.4 HSP 组和 HSPN 组 DC 表面标志 CD_{86}、CD_{80}、CD_{83} 的表达

HSP 和 HSPN 组患儿 DC 表面标志 CD_{86}、CD_{83} 显著高于对照组($P < 0.05$),CD_{80} 显著低于对照组($P < 0.05$);以上指标 HSP 组和 HSPN 组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 3)。

表 3 流式细胞仪分析各组 DC 表面抗原 CD_{86}、CD_{80}、CD_{83} 的表达(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD_{86}	CD_{80}	CD_{83}
对照组	20	58.30 ± 7.71	32.10 ± 4.13	19.96 ± 2.82
HSP 组	29	87.86 ± 5.74[a]	26.03 ± 6.11[a]	43.43 ± 8.75[a]
HSPN 组	25	79.97 ± 2.21[a]	26.33 ± 6.37[a]	50.12 ± 0.83[a]
对照 + NF-κB 抑制剂组	7	56.73 ± 5.05	33.47 ± 4.18	18.26 ± 1.52
HSP + NF-κB 抑制剂组	7	56.13 ± 4.99	31.15 ± 3.38	17.09 ± 3.10
HSPN + NF-κB 抑制剂组	7	55.12 ± 4.16	1.87 ± 2.95	17.11 ± 3.34

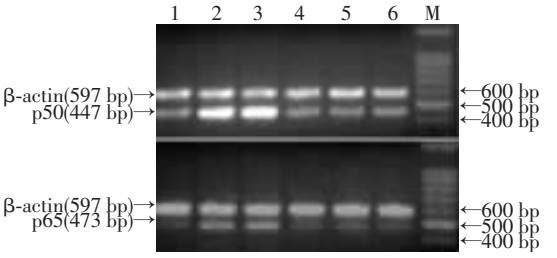
a:$P < 0.05$,与对照组比较

2.5 HSP、HSPN 组 DC 培养上清中 IL-12、IL-10 水平与表面标志 CD_{86}、CD_{80}、CD_{83} 表达及血浆 IL-4、INF-γ 相关性分析

HSP、HSPN 组 DC 培养上清中 IL-10 分别与血浆 IL-4 呈正相关($r = 0.54$, $P < 0.05$; $r = 0.61$, $P < 0.05$),IL-12 分别与血浆 INF-γ 呈正相关($r = 0.44$, $P < 0.05$; $r = 0.49$, $P < 0.05$)。HSP、HSPN 组 DC 表面 CD_{86} 与血浆 IL-4 呈正相关($r = 0.46$, 0.59, $P < 0.05$),CD_{80} 分别与 INF-γ 呈正相关($r = 0.71$, $P < 0.01$; $r = 0.69$, $P < 0.05$)。

2.6 HSP 组和 HSPN 组 DC 内 NF-κB p50、p65 mRNA 表达量的情况

HSP 组和 HSPN 组 p50、p65 mRNA 表达量明显高于对照组($P < 0.05$),以上指标 HSP 组和 HSPN 组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$,图 1、表 4)。



1:对照组 2:HSP 组 3:HSPN 组 4:对照 + NF-κB 抑制剂组 5:HSP + NF-κB 抑制剂组 6:HSPN + NF-κB 抑制剂组 M:Marker

图 1 RT-PCR 检测各组 DC 内 NF-κB p50、p65 mRNA 的表达

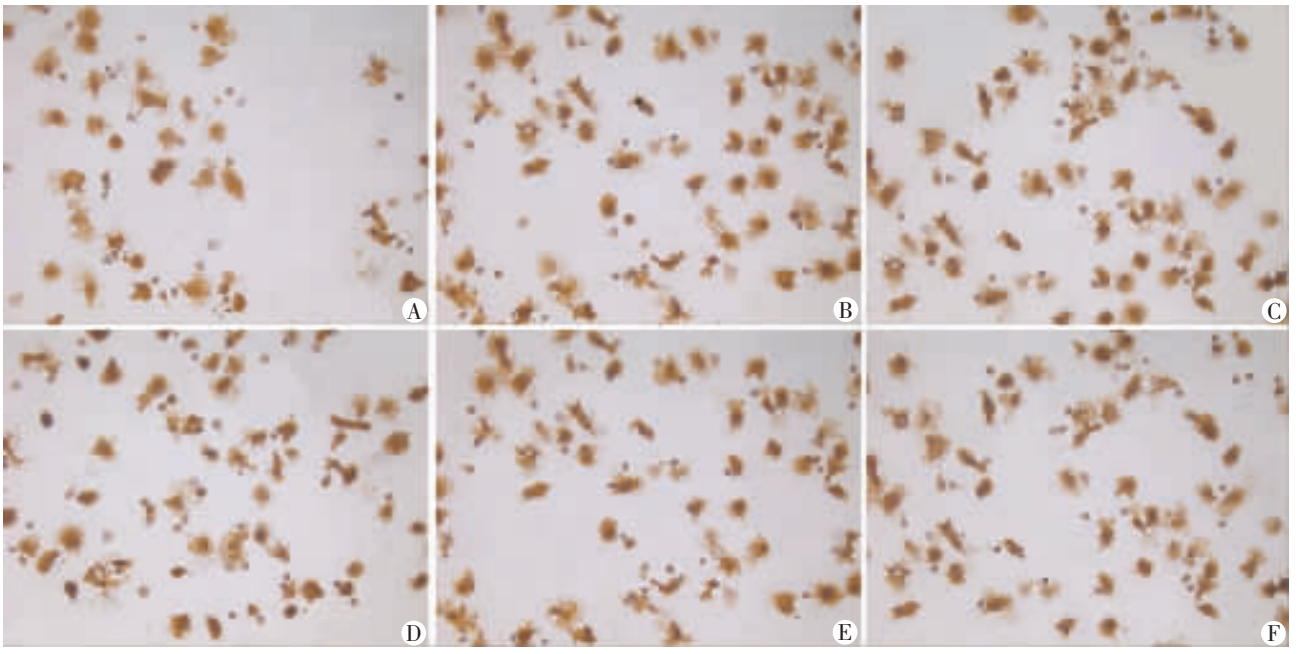
表 4 各组 DC 内 NF-κB p50、p65 mRNA 的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	n	p50/β-actin	p65/β-actin
对照组	20	0.78 ± 0.19	0.11 ± 0.02
HSP 组	29	1.21 ± 0.17[a]	0.54 ± 0.11[a]
HSPN 组	25	1.35 ± 0.14[a]	0.60 ± 0.16[a]
对照 + NF-κB 抑制剂组	7	0.79 ± 0.12	0.10 ± 0.03
HSP + NF-κB 抑制剂组	7	0.82 ± 0.13	0.11 ± 0.01
HSPN + NF-κB 抑制剂组	7	0.85 ± 0.10	0.10 ± 0.04

a:$P < 0.05$,与对照组比较

2.7 HSP 组和 HSPN 组 DC 中 NF-κB 活化表达

细胞免疫化学显示,在对照组中 DC 内没有 NF-κB 的活化(图 2A),而在 HSP 组和 HSPN 组中有大量 NF-κB 活化(图 2B、C)。



A:对照组;B:HSP组;C:HSPN组;D:对照+NF-κB抑制剂组;E:HSP+NF-κB抑制剂组;F:HSPN+NF-κB抑制剂组

图2 免疫组化检测各组DC内NF-κB的表达 (SABC ×400)

2.8 NF-κB抑制剂对DC功能的调控

当加入NF-κB抑制剂后与对照组相比,HSP+NF-κB抑制剂组和HSPN+NF-κB抑制剂组DC培养上清中IL-10降低,IL-12升高(表2);DC表面标志CD_{86}、CD_{83}表达降低,CD_{80}表达升高(表3);NF-κB p50、p65 mRNA表达量降低(图1,表4),活化数量显著减少(图2D~F)。

3 讨论

近年来过敏性紫癜发病机制一直是探讨的热点,有研究提出链球菌的感染与其发生可能有关[7]。我们既往的研究提出HSP患儿急性期体内存在明显Th1/Th2细胞免疫应答失衡,即Th1细胞功能降低,Th2细胞优势活化,但目前尚无上游机制的研究报道[2]。本研究结果再次证实HSP及HSPN较对照组的Th1型细胞因子INF-γ明显降低,Th2型细胞因子IL-4明显升高,支持上述观点。

生理状况下,Th细胞分化由上游的抗原递呈细胞DC所调控。DC通过抗原特异性信号(HLA-DR)、协同刺激信号(CD_{86}、CD_{80})和分化或极化信号(DC分泌的IL-12、IL-10等)[8]3条信号途径调控Th细胞,对Th1/Th2平衡分化起重要的作用。3条信号途径中,如果仅有第1信号刺激,则不能引起T细胞充分活化及分化,反而诱导免疫耐受或低应答状态,而第2、3条途径是T细胞活化及分化的充分必要条件[9]。有研究显示CD_{86}、IL-10主要调控Th0细胞向Th2细胞分化;CD_{80}、IL-12则主要调控Th0细胞向Th1细胞分化[10,11]。本研究结果中HSP和HSPN患者的DC表面标志CD_{86}表达和DC分泌IL-10均较对照组显著升高,均与血浆Th2型细胞因子IL-4呈正相关;而CD_{80}的表达和IL-12的分泌明显减少,二者与Th1型细胞因子INF-γ呈正相关,提示DC的异常是导致HSP患者Th1/Th2失衡,Th2优势活化,免疫失衡的重要因素[6]。

NF-κB是细胞内的一种重要的核转录因子,DC内的NF-κB可调节DC自身的发育、成熟、抗原提呈及刺激T细胞发生免疫应答功能等[12,13]。在生理情况下,NF-κB与其抑制因子IκB结合形成无活性的异源三聚体p50-p65-IκB滞留在细胞质中,受到外来刺激时,IκB发生磷酸化和泛素化而迅速从三聚体中解离出来,暴露出p50亚基的易位信号和p65亚基上的DNA结合位点,从而表现NF-κB活性,并从细胞质移位到核中,与其特定的κB序列结合,发挥转录调控作用,促使DC成熟,启动免疫应答。在本研究中HSP及HSPN组较对照组NF-κB p50和p65 mRNA表达和活化数量均增加,同时DC表达CD_{83}(成熟DC的标志)、CD_{86}及分泌IL-10增加,但表达CD_{80}和分泌IL-12明显减少,加入NF-κB抑制剂后以上异常信号均被逆转,逆转后的各项指标与对照组比较均无显著差异。表明在HSP和HSPN发病机制中,由于NF-κB活化表达促使DC成熟,使其表面的信号分子和分泌的分化或极化信号发生改变,产生异常免疫应答。

本研究还发现,HSP及HSPN在Th1、Th2细胞因子的量,DC调控Th分化相关信号的表达及细胞因子的分泌,NF-κB p50、p65 mRNA的表达水平等方面差异均无统计学意义。提示DC信号途径的异常可能仅

在 HSP 早期发病中起重要的作用,与 HSP 是否发生肾脏损害无关。其次,NF-κB 有 5 种亚型且调节免疫的作用不同[14-16],如要进一步明确 NF-κB 与 HSP 发生肾脏损害的相关性尚需进行其他亚型的相关研究。本研究利用的是体外诱导培养的 DC 细胞,其理化性质等可能与体内 DC 的免疫应答反应有所差别,可进一步直接用流式细胞仪筛选体内的 DC 进行验证。

综上所述,HSP 及 HSPN 发病与 DC 异常调控 Th1/Th2 细胞失衡密切相关,胞内 NF-κB 的信号异常是 DC 免疫功能异常的关键性调控基因,抑制 NF-κB 的活化是阻断 DC 功能和依赖于 T 细胞免疫反应的一个有效靶点,将成为早期治疗 HSP 的一条有效途径。

参考文献:

[1] Lau K K, Suzuki H, Novak J, *et al*. Pathogenesis of Henoch-Schonlein purpura nephritis[J]. Pediatr Nephrol, 2010, 25(1): 19-26.
[2] 李秋,杨锡强,李永柏,等. 过敏性紫癜 T 淋巴细胞功能状态的研究[J]. 中华儿科杂志, 2001, 39(3): 157-159.
[3] Artis D, Kane C M, Fiore J, *et al*. Dendritic cell-intrinsic expression of NF-kappa B1 is required to promote optimal Th2 cell differentiation [J]. J Immunol, 2005, 174(11): 7154-7159.
[4] 陈楠. 树突状细胞:肾脏疾病干预调节的新靶标[J]. 中华肾脏病杂志,2006,22(10): 587-588.
[5] Das J, Chen C H, Yang L, *et al*. A critical role for NF-kappa B in GATA3 expression and TH2 differentiation in allergic airway inflammation[J]. Nat Immunol, 2001, 2(1): 45-50.
[6] 陶红,李秋,王莉,等. 过敏性紫癜发病中树突状细胞与 T 辅助细胞分化失衡的关系[J]. 第三军医大学学报,2010,32(7): 677-679.
[7] 黄洪荣. 链球菌感染与过敏性紫癜发病的关系[J]. 中国医药导报,2009, 6(36): 158, 161.
[8] Kalinski P, Hilkens C M, Wierenga E A, *et al*. T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal [J]. Immunol Today, 1999, 20(12): 561-567.
[9] Saas P, Tiberghien P. Dendritic cells: to where do they lead? [J]. Translantation, 2002 , 73(1 Suppl): S12- S15.
[10] Kuchroo V K, Das M P, Brown J A, *et al*. B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially the Th1/Th2 developmental pathways: application to autoimmune disease therapy[J]. Cell, 1995, 80(5): 707-718.
[11] 孙大庆,张秋业,董增义,等. 过敏性紫癜病儿树突细胞分泌白细胞介素-12 水平与 TH1/TH2 的变化[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(4): 307-310.
[12] Chung F. Anti-inflammatory cytokines in asthma and allergy: interleukin-10, interleukin-12, interferon-gamma [J]. Mediators Inflamm, 2001, 10(2): 51-59.
[13] Tas S W, de Jong E C, Hajji N, *et al*. Selective inhibition of NF-kappaB in dendritic cells by the NEMO-binding domain peptide blocks maturation and prevents T cell proliferation and polarization [J]. Eur J Immunol, 2005, 35(4): 1164-1174.
[14] Zhou L F, Zhang M S, Yin K S, *et al*. Effects of adenoviral gene transfer of mutated IkappaBalpha, a novel inhibitor of NF-kappaB, on human monocyte-derived dendritic cells [J]. Acta Pharmacol Sin, 2006, 27(5): 609-616.
[15] Hayden M S, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling [J]. Cell, 2008, 132 (3): 344-362.
[16] Wang J, Wang X, Hussain S, *et al*. Distinct roles of different NF-kappa B subunits in regulating inflammatory and T cell stimulatory gene expression in dendritic cells[J]. J Immunol, 2007, 178(11): 6777-6788.

(收稿 2010-06-27 修回 2010-09-19)
(编辑 栾 嘉)

(上接 2518 页)

动单位电位发放(CMUA),肌注地西泮 10 mg,约 5 min 后 EMG 异常有所减少,双上肢肌群未见异常。给予支持营养、营养神经治疗,并给予地西泮片 10 mg,3 次/d 口服,间断肌注地西泮,严密观察生命体征,患者症状逐渐减轻,病情明显好转出院。出院后继续服氯硝西泮半个月,症状明显改善,生活能部分自理,随访半年无复发。临床诊断:僵人综合征。

2 讨论

SPS 的病因迄今仍不清楚,目前研究认为 SPS 与自身免疫反应有关。临床上以躯体中轴部位的肌肉组织进行性、波动性强直和痛性痉挛致使关节活动受限为特征[2]。从发病及症候而言,本例有以下特点:本例患者表现为颈项、脊柱及双下肢肌肉持续性僵硬,伴阵发性痛性肌痉挛,露宿街头一夜诱发痛性肌痉挛。病变主要累及了轴性肌肉和双下肢,呈进行性发展。累及肢体近端,特别是有突然的情感刺激后可诱发下肢近端肌群严重痛性痉挛发作,甚至双下肢关节和颈部关节也僵硬不适,不能屈曲,转颈受限,缓解缓慢,发作时剧烈疼痛,出汗、呼吸急促等。睡眠后肌肉僵硬消失。患者被迫缓慢移动肢体、行动迟缓、自主活动受限、疼痛及痉挛甚至会累及肢体远端。腰脊柱过度前屈伴腹肌收缩,日常生活不能自理。患者智力正常。EMG 出现 CMUA、GAD 抗体(+)。经地西泮治疗症状有所改善。根据患者临床表现和地西泮治疗效果支持此病,本例确诊为僵人综合征(中期)。SPS 因临床罕见,容易误诊,极易与破伤风、强直性脊柱炎、神经性肌强直等神经系统疾病相混淆,应予鉴别。

SPS 可能与感染后免疫异常有关。诊断主要靠临床表现,EMG 是诊断该病的重要手段。该病均具有典型的 EMG 改变(即 CMUA)。GAD 抗体检测如为(-)不能除外 SMS,如为(+)则强烈支持本病,特异性达 99%。通过治疗本例 SPS 患者,我们的体会亦是地西泮片可改善症状,剂量需逐渐增加,达到有效控制症状、疗效理想为止。治疗原则是最大限度地控制僵硬和痉挛,提高患者的生活自理能力,避免过度镇静和其他不良反应的发生,防止并发症,降低致残发生率和病死率。

参考文献:

[1] 郁文博,陈光辉. 对僵人综合征的新认识[J]. 医学研究生学报, 2007, 20(10): 1098-1103.
[2] 许贤豪. 神经免疫学[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993: 161-165.

(收稿 2010-08-01 修回 2010-09-02)
(编辑 王 红)