文章编号:1000-5404(2013)19-2005-05

论著

TMP线性二联体多肽的筛选及其对辐射损伤小鼠血小板减少症的救治作用

张 舟,陈 芳,曾东风,许 杨,王 崧,申明强,陈 默,陈石磊,粟永萍,王军平 (400038 重庆,第三军医大学军事预防医学院全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室)

[摘要] **目的** 筛选具有显著促进巨核细胞增殖、分化和血小板生成活性的血小板生成素模拟肽(TMP)二联体线性多肽,并观察其对血小板减少症的救治作用。**方法** 设计合成系列TMP二联体线性多肽,其中两个头尾串联的TMP之间设置不同长度的连接肽,CCK-8法检测并筛选促巨核细胞增殖活性最强的TMP二联体多肽,Western blot分析TMP二联体多肽激活STAT5和ERK1/2磷酸化情况,流式细胞术分析小鼠骨髓来源Sca^+-Ⅰ细胞经TMP二联体多肽处理后巨核细胞标志分子CD41、CD61的表达变化。BALB/c小鼠用5 Gy γ射线全身一次性照射后皮下注射TMP二联体多肽,每天1次,连续用药7 d,分析外周血血小板水平变化和骨髓造血组织病理改变。**结果** 连接肽长度和氨基酸组成可显著影响TMP二联体多肽的促巨核细胞增殖活性,其中由1个脯氨酸(P)和8个甘氨酸(G_8)连接的TMP二联体活性较为突出。TMP-PG_8-TMP多肽处理能够显著促进巨核细胞中STAT5和ERK1/2的磷酸化,该多肽连续作用14 d能够较IL-3对照组显著上调Sca^+-Ⅰ细胞CD41、CD61的双阳性表达率[(83.26±5.38)% *vs* (15.70±2.12)%,$P<0.01$]。此外,体内应用该多肽能够较辐照对照显著提高急性辐射损伤小鼠外周血血小板最低值水平(164.8×10^9/L *vs* 53.0×10^9/L),并使血小板水平提前4 d恢复。**结论** 通过筛选连接肽最终获得具有显著促巨核细胞增殖和血小板生成活性的TMP二联体线性多肽。

[关键词] TMP二联体;多肽;巨核细胞;血小板;辐射损伤
[中图法分类号] R341; R394-33; R558.205 [文献标志码] A

Screening for dimmer of thrombopoietin mimetic peptide with potent thrombocytopoietic effect and its effect on radiation-induced thrombocytopenia in mice

Zhang Zhou, Chen Fang, Zeng Dongfeng, Xu Yang, Wang Song, Shen Mingqiang, Chen Mo, Chen Shilei, Su Yongping, Wang Junping (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To screen the dimmer of thrombopoietin mimetic peptide (dTMP) with potent thrombocytopoietic effect on the promotion of thrombopoiesis and the proliferation and differentiation of megakaryocyte. **Methods** A series of linear peptides containing two TMP joined by peptide linkers at different lengthes were designed and synthesized. The promoting activity of the dTMP on megakaryocyte proliferation was determined by cell counting kit-8 (CCK-8) assay. The ability of dTMP to phosphorylate ERK1/2 and STAT5 signal pathways was measured by Western blotting. The expression level of CD41/CD61 was analyzed by flow cytometry to reveal the ability of dTMP peptide to promote murine marrow Sca^+-Ⅰ cells to differentiate into megakaryocytes. Finally, dTMP was administered to BALB/c mice with thrombocytopenia induced by 5 Gy total body irradiation through subcutaneous injection, in order to investigate the effect of dTMP on platelet recovery *in vivo*. **Results** The length of peptide linkers significantly influenced the promoting activity of dTMP peptides on megakaryocyte proliferation. The dTMP peptide with a linker composed by a proline and eight glycine (TMP-PG_8-TMP) displayed a remarkable effect on megakaryocyte proliferation. Western blot assay demonstrated that TMP-PG_8-TMP had the ability to activate the phosphorylation of ERK1/2 and STAT5. The expression level of CD41/CD61 in the cells derived from Sca^+-Ⅰ marrow cells treated with TMP-PG_8-TMP was much higher than that of IL-3 control group [(83.26±5.38)% *vs* (15.70±2.12)%, $P<0.01$]. Meanwhile, dTMP-treated mice were about 4 d earlier in the platelet recovery than that of saline control, demonstrating that this peptide

[基金项目] 国家自然科学基金(31071025);全军"十二"后勤科研重点项目(BWS11J009);创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室专项基金(SKLZZ201115)
[通信作者] 王军平,电话:(023)68752283,E-mail:wangjunping@tmmu.edu.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130726.1058.012.html (2013-07-26)

was able to be used for the treatment of thrombocytopenia. **Conclusion** A dTMP peptide with potent thrombocytopoietic activity is finally obtained by peptide linker screening.

[**Key words**] dimer of thrombopoietin mimetic peptide; megakaryocyte; radiation injury; platelet

Supported by the National Natural Science Foundation of China(31071025), the Key Project of Logistic Scientific Research of "Twelfth Five-year Plan" of PLA (BWS11J009) and the Special Fund of State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury(SKLZZ201115). Corresponding author: Wang Junping, Tel:86-23-68752283, E-mail: wangjunping@tmmu.edu.cn

急性辐射损伤和恶性肿瘤放化疗等可引起骨髓多系造血功能障碍,导致机体免疫功能低下,易并发感染和出血,其中血小板数量严重减少是出血和感染发生的一个主要原因。但目前临床上针对血小板减少症的有效救治方法较为缺乏,因此,近年来人们一直在致力寻找和研制新型促血小板生成药物。

骨髓巨核细胞是生成血小板的前体细胞,因此促进巨核细胞的增殖与分化可有效促进血小板生成[1]。血小板生成素模拟肽(thrombopoitinmimetic peptide, TMP)是一种具有血小板生成素(thrombopoietin, TPO)生物学活性而又与TPO无序列同源性的短肽,由14个氨基酸残基组成。TMP与TPO受体c-Mpl有很高的亲和力,并能刺激TPO依赖细胞株的增殖与分化[2-3]。研究发现,只有配对的两个c-Mpl分子同时与配基结合才能有效激活胞内相应的信号通路,如ERK1/2、STAT5等,从而促进巨核细胞的增殖与分化[4]。正因如此,单个TMP的促增殖、分化活性比较微弱,而呈分支形状的TMP二价体则显示出很高的促进巨核细胞增殖、分化和血小板生成活性[5-6],但这种TMP二价体的制备方法工序复杂,不易进行推广与应用。如果将两个TMP分子串联成一个单链多肽,通过在两个TMP之间设置合适长度和氨基酸组成的连接肽,则有可能使TMP分子同时有效结合TPO受体,从而提高其促血小板生成活性。为此,本研究通过设计、筛选合适的连接肽,以期获得具有突出升血小板活性的TMP二联体线性多肽,并进一步观察其对急性辐射损伤小鼠血小板减少症的救治作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 试剂 Stempro-34无血清完全培养基、1640培养基、胎牛血清均购自Gibco公司;Sca^+-Ⅰ EasySep positive selection试剂盒由STEMCELL公司提供; CD41-FITC、CD61-647抗体购自eBioscience公司;CCK-8细胞凋亡检测试剂盒为碧云天公司产品;兔抗人phospho-p42/44MAPK多克隆抗体购自Cell Signaling公司;鼠抗人p-STAT5多克隆抗体、辣根酶标记二抗购自BD公司;ECL化学发光试剂盒来源于碧云天公司。

1.1.2 实验动物及来源 健康雄性BALB/c小鼠70只,6~8周龄,体质量18~22 g;雄性C57小鼠10只,4~6周龄,体质量17~22 g,均购自第三军医大学实验动物中心。在标准条件下培养6 d后即用于实验。

1.1.3 MO7e细胞株 本室从中国协和医科大学细胞库引进MO7e细胞株,该细胞株具有典型的巨核祖细胞特性,是TPO、IL-11等促巨核祖细胞增殖、分化和血小板生成药物体外活性评价的常用细胞株,通常情况下依赖粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)生长。

1.1.4 多肽 委托生工生物工程(上海)有限公司合成,TMP多肽序列、TMP二联肽编号及连接肽组成如下:TMP, IEGPTLRQWLAARA;1号肽,两个头尾串联TMP之间无连接肽;2~7号肽,分别为两个串联TMP之间设置1个G、2个G(G_2)、G_4、G_8、$(G_4S)_3$、PG_8,其中G、P、S分别代表甘氨酸、脯氨酸和苏氨酸。

1.2 实验方法

1.2.1 MO7e细胞培养 常规方法复苏MO7e细胞,采用Gibco1640培养基+10%胎牛血清,在5% CO_2、100%湿度、37 ℃条件下进行培养。

1.2.2 CCK-8法多肽体外促MO7e细胞增殖实验 将1%血清饥饿过夜的细胞,以4×10^4/(100 μL·孔)接种于96孔板中,加入等物质的量浓度的各组多肽,空白对照组加入等体积培养基,并设置等物质的量浓度TPO作为阳性对照,在标准条件下培养72 h后每孔加入10 μL CCK-8试剂,酶标仪检测450 nm波长下每孔光密度值[D(450)],与空白对照组比较从而得出多肽促增殖能力。

1.2.3 Western blot分析MO7e细胞磷酸化ERK、STAT5蛋白水平的表达变化 二联肽作用1、30 min,1 h和4 h收取细胞,提取细胞总蛋白。SDS-PAGE电泳后电转印至PVDF膜,37 ℃封闭1 h,p-p42/44MAPK(1∶1 000)、p-STAT5(1∶1 000)一抗4 ℃孵育过夜, PBST(0.01 mol/L PBS,0.1% Tween)洗膜15 min×3次,辣根酶标记二抗(1∶1 000)37 ℃孵育1 h,洗膜,ECL显色;Bio-Rad成像系统采集发光信号,Image Lab软件分析。

1.2.4 小鼠Sca^+-Ⅰ细胞分选及巨核细胞原代培养 C57小鼠脱颈处死后,无菌条件下分离双侧股骨,收集骨髓细胞,按试剂盒操作说明,分选获得纯度>90%的Sca^+-Ⅰ细胞,3×10^5/mL接种于StemSpan™ SFEM培养体系,分为IL-3对照组、TMP二联肽(100 ng/mL)处理组,培养第14天收集2组细胞,流式细胞仪分析CD41、CD61表达变化。

1.2.5 实验动物分组与处理 按完全随机法将BALB/c小鼠分为3组,其中TMP二联肽处理组、辐照对照组给予5 Gy Co^{60}γ射线全身一次性均匀辐照(在第三军医大学辐照中心进行),给药方案:TMP二联肽处理组(n=30),TMP二联肽100 μg/kg,皮下注射,每天1次,连续给药7 d;辐照对照组(n=30),连续7 d皮下注射等量生理盐水;正常未辐照组(n=10),皮下注射等量生理盐水,连续注射7 d。各组第1次给药均在辐照后立即实施。

1.2.6 血常规检测 各组小鼠分别于第0、3、7、10、14、17、21天尾静脉取血,用血球细胞计数仪检测血常规。

1.2.7 骨髓病理切片 每组小鼠按照简单随机抽样法分别

取3只于辐照后第14天时处死,分离股骨和胫骨并立即置于4%多聚甲醛液中固定,常规HE染色,倒置显微镜下选取相同位置的3个视野计数各组巨核细胞数量。

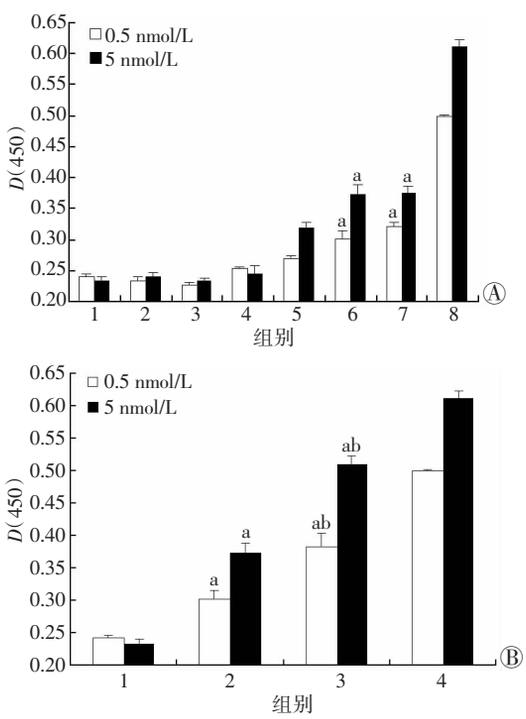
1.3 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用SPSS 17.0统计软件,均数间比较采用单因素方差分析或独立样本 t 检验。

2 结果

2.1 连接肽对TMP二联体促MO7e细胞增殖作用的影响

在M07e细胞培养体系中加入等物质的量浓度(0.5、5 nmol/L)含有不同长度连接肽的TMP二联体多肽,培养3 d后进行CCK-8检测,结果显示,由0、1、2个G组成连接肽的TMP二联体无明显促巨核细胞增殖活性,连接肽为4个G时TMP二联体多肽的活性显著增强,而以8个G作为连接肽的TMP二联肽促MO7e细胞增殖作用最突出($P<0.01$),此后再增加连接肽的长度并不能进一步提升TMP二联体多肽的活性(图1A)。随后发现在G_8连接肽的N端加入1个脯氨酸可大幅增加TMP二联体多肽的促巨核细胞增殖活性($P<0.01$,图1B)。最终,选择连接肽为PG_8的TMP二联体作为优选肽进行深入研究。

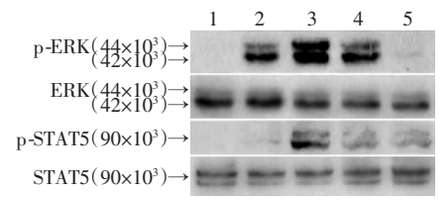


a:$P<0.01$,与空白对照组比较;b:$P<0.01$,与TMP-G_8-TMP比较
A:连接肽的长度对TMP二联肽活性的影响 1:空白对照组;2:TMP-TMP;3:TMP-G-TMP;4:TMP-G_2-TMP;5:TMP-G_4-TMP;6:TMP-G_8-TMP;7:TMP-$(G_4S)_3$-TMP;8:TPO;B:连接肽中加入脯氨酸对TMP二联肽活性的影响 1:空白对照组;2:TMP-G_8-TMP;3:TMP-PG_8-TMP;4:TPO

图1 几种TMP二联肽对MO7e细胞的体外促增殖作用

2.2 TMP-PG_8-TMP诱导MO7e细胞内磷酸化ERK1/2、STAT5水平的变化

TMP-PG_8-TMP多肽作用不同时间后Western blot检测MO7e细胞内ERK1/2、STAT5蛋白的磷酸化水平,结果显示:TMP-PG_8-TMP多肽作用10 min即可迅速激活ERK1/2、STAT5的磷酸化,30 min时信号最强(图2),提示该二联肽能够显著激活胞内有关增殖、分化的信号通路。



1:空白对照组;2~5:TMP-PG_8-TMP处理组分别作用10、30 min和1、4 h

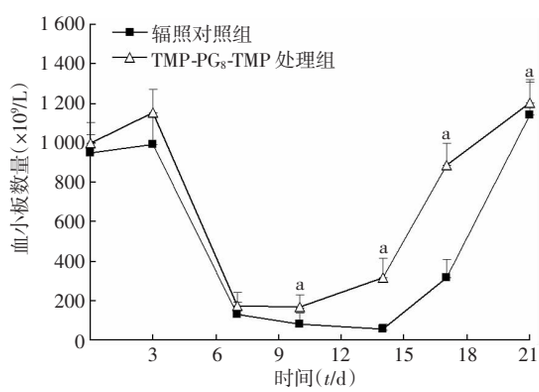
图2 Western blot检测TMP-PG_8-TMP多肽作用不同时间后MO7e细胞中磷酸化ERK、STAT5蛋白的表达

2.3 TMP-PG_8-TMP处理对小鼠Sca^+-Ⅰ细胞向巨核细胞的促分化作用

经TMP-PG_8-TMP处理培养14 d,小鼠Sca^+-Ⅰ细胞表面CD41、CD61双阳性表达率为(83.26±5.38)%,相比IL-3对照组[(15.70±2.12)%]显著增高($P<0.01$),提示该二联肽能够促进Sca^+-Ⅰ细胞向巨核细胞分化。

2.4 TMP-PG_8-TMP处理对辐射损伤小鼠外周血血小板水平变化的影响

辐照第3天后两组小鼠血小板迅速减少,从第10天开始,TMP-PG_8-TMP处理组小鼠的血小板数量明显增加,与辐照对照组比较,二联肽能够显著改善血小板最低值水平(164.8×10^9/L *vs* 53.0×10^9/L),并使血小板恢复时间提前4 d左右,具有统计学差异($P<0.05$,图3),提示TMP-PG_8-TMP能促进辐射损伤小鼠血小板水平的恢复。

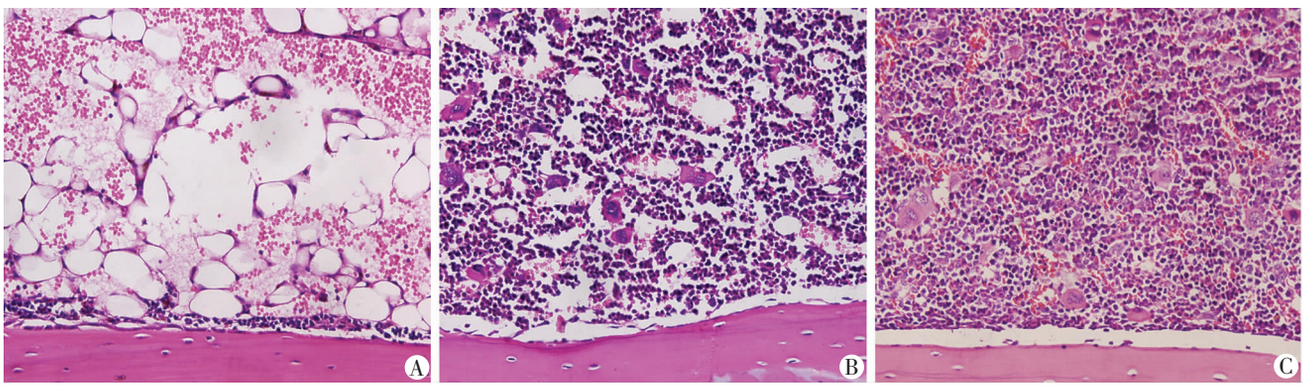


a:$P<0.05$,与辐照对照组比较

图3 各组辐射损伤小鼠血小板变化情况

2.5 TMP-PG_8-TMP处理辐射损伤小鼠骨髓组织病理改变

骨髓组织病理切片显示:辐照对照组骨髓有核细胞明显减少,仅有少数造血细胞呈散在性分布。TMP-PG_8-TMP处理组骨髓有核细胞则显著增多,并呈片状分布,其中可见不同发育时期的巨核细胞(图4)。3组病理切片在倒置显微镜下巨核细胞计数(×200):TMP-PG_8-TMP处理组为(19.59±2.60),正常未辐照组为(36.43±5.45),显著高于辐照对照组(2.33±1.14)具有统计学差异($P<0.01$),提示TMP-PG_8-TMP可以促进辐射损伤小鼠骨髓巨核细胞及多系造血细胞的恢复。



A:辐照对照组;B:TMP-PG_8-TMP处理组;C:正常未辐照组

图4 各组小鼠骨髓腔病理学观察 (HE ×400)

3 讨论

美国学者Cwirla等[2]通过噬菌体表面展示技术筛选到了一种仅由14个氨基酸残基组成,与天然TPO的生物活性相似的短肽,称之为TPO模拟肽,其虽与TPO无同源性,但与TPO受体c-Mpl却有很高的亲和力,且不会诱发机体产生中和性抗体,对促进巨核细胞增殖、分化具有一定作用。

文献[7]报道:促红细胞生成素(erythropoietin,EPO)模拟肽EMP1的同源肽EMP33同样可以与EPO受体结合,但是并不能激活EPOR下游JAK-STAT信号通路,原因是EMP1和EPOR结合体与EMP33突变体多肽和EPOR的结合体的旋转角度不同(相差15°),提示EMP1二聚体与EPOR结合时需要处于一个最佳位置或角度。我们由此得到启发,通过设计合适的连接肽调节两个TMP之间的角度以提高TMP二聚体与TPO受体的结合活性。

甘氨酸属于柔性氨基酸,常作为嵌合蛋白结构中的连接肽。所以我们考虑先以不同数量的甘氨酸作为连接肽筛选范围,通过体外实验筛选出连接肽为8个G的二联肽对MO7e细胞具有显著体外促增殖作用,而在G_8基础上继续增加甘氨酸数量对二联肽的促增殖活性无显著提高,且序列较短的二联肽更容易合成和表达制备,由此认为G_8优于G_{12}。另外,长度超过8个相同氨基酸的肽链合成难度大,所以我们设计加入丝氨酸以提高合成质量;由于脯氨酸是唯一一个环状的亚氨基氨基酸,其分子侧链(R)中无NH,不能与周围氨基酸形成氢键,所以不适合形成α螺旋和β折叠,而易形成180°的转角(cis-pro turn);文献[8]报道富含脯氨酸的Linker具有刚性伸曲,表现出一种"肘弯"(elbow bending)或铰链状弯曲(hinge bending);所以我们考虑在连接肽中加入脯氨酸进行再筛选,结果证实连接肽起始端加入脯氨酸后的TMP-PG_8-TMP作用相比TMP-G_8-TMP明显增强。

现已证实细胞外信号调节激酶(ERK1/2 or p44/p42)以及STAT5的激活与巨核细胞增殖、分化密切相关[9-11]。本实验中我们观察到TMP-PG_8-TMP刺激作用细胞30 min可显著上调ERK1/2与STAT5磷酸化水平;连续7 d给药对受辐射损伤小鼠升血小板的救治作用以及骨髓病理切片结果,进一步提示该二联肽具有促进骨髓巨核细胞生成和升血小板的作用。

本研究通过体内外实验筛选到连接肽为PG_8的TMP-PG_8-TMP具有显著促巨核细胞增殖、分化和血小板生成的作用,提示连接肽的长度和氨基酸组成与TMP二联体多肽的促巨核细胞增殖活性密切相关,我们猜测原因可能在于连接肽使两条TMP单链之间形成一定的空间构象(角度、跨度等),与TPO受体在胞膜表面的分布或结合位点具有一定程度的相适应性[4,12-13];而且如此小的短肽也容易进入骨髓腔发挥效应。在今后研究中将通过X射线晶体衍射等结构分析技术加以验证。此外,由于该多肽分子量较小,在体内降解速率快,所以还可尝试与其他功能蛋白结合[14-15]以延长血浆半衰期。总之,此类TMP二联肽对巨核细胞突出的促增殖、分化作用,为辐射损伤及肿瘤放化疗引起的血小板减少等疾病的治疗和相关新药研发提供了新思路,值得进一步研究。

参考文献:

[1] Deutsch V R, Tomer A. Megakaryocyte development and platelet production[J]. Br J Haematol, 2006, 134(5): 453-466.

[2] Cwirla S E, Balasubramanian P, Duffin D J, *et al*. Peptide agonist of the thrombopoietin receptor as potent as the natural cytokine[J]. Science, 1997, 276(5319): 1696-1699.

[3] Siegal D, Crowther M, Cuker A. Thrombopoietin receptor agonists in primary immune thrombocytopenia[J]. Semin Hematol, 2013, 50(Suppl 1): S18-S21.

[4] Feese M D, Tamada T, Kato Y, *et al*. Structure of the receptor-binding domain of human thrombopoietin determined by complexation with a neutralizing antibody fragment[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(7): 1816-1821.

[5] de-Serres M, Yeager R L, Dillberger J E, *et al*. Pharmacokinetics and hematological effects of the PEGylated thrombopoietin peptide mimetic

GW395058 in rats and monkeys after intravenous or subcutaneous administration[J]. Stem Cells, 1999, 17(6): 316-326.
[6] Deuson R, Danese M, Mathias S D, *et al*. The burden of immune thrombocytopenia in adults: evaluation of the thrombopoietin receptor agonist romiplostim[J]. J Med Econ, 2012, 15(5): 956-976.
[7] Livnah O, Johnson D L, Stura E A, *et al*. An antagonist peptide-EPO receptor complex suggests that receptor dimerization is not sufficient for activation[J]. Nat Struct Biol, 1998, 5(11): 993-1004.
[8] George R A, Heringa J. An analysis of protein domain linkers: their classification and role in protein folding[J]. Protein Eng, 2002, 15(11): 871-879.
[9] Rouyez M C, Boucheron C, Gisselbrecht S, *et al*. Control of thrombopoietin-induced megakaryocytic differentiation by the mitogen-activated protein kinase pathway[J]. Mol Cell Biol, 1997, 17(9): 4991-5000.
[10] Matsumura I, Kanakura Y. Molecular control of megakaryopoiesis and thrombopoiesis[J]. Int J Hematol, 2002, 75(5): 473-483.
[11] Kawaguchi T, Hatano R, Yamaguchi K, *et al*. Fibronectin promotes proplatelet formation in the human megakaryocytic cell line UT-7/TPO[J]. Cell Biol Int, 2012, 36(1): 39-45.
[12] Lee T S, Kantarjian H, Ma W, *et al*. Effects of clinically relevant MPL mutations in the transmembrane domain revealed at the atomic level through computational modeling[J]. PLoS One, 2011, 6(8): e23396.
[13] Tarasova A, Haylock D N, Meagher L, *et al*. Potent agonists of a hematopoietic stem cell cytokine receptor, c-Mpl[J]. ChemMedChem, 2013, 8(5): 763-771.
[14] 许杨, 王军平, 赵景宏, 等. 重组融合蛋白rTMP-GH对体外培养巨核细胞增殖的影响[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(1): 1-4.
[15] Wang S, Shen M, Xu Y, *et al*. Rational and efficient preparation of a chimeric protein containing a tandem dimer of thrombopoietin mimetic peptide fused to human growth hormone in *Escherichia coli*[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2013, 97(7): 2885-2894.

(**收稿**:2013-06-17;**修回**:2013-07-07)
(编辑 吴培红)

文章编号:1000-5404(2013)19-2009-01

个案与短篇

Fahr病合并高同型半胱氨酸4例

李 凤[1],马勋泰[1],陈 明[2],谭 华[1],李小刚[1],袁 平[1],何晓英[1] (646000 四川 泸州,泸州医学院附属医院:神经内科[1],放射科[2])

[**关键词**] Fahr病;高同型半胱氨酸;相关
[**中图法分类号**] R745.7 [**文献标志码**] B

Fahr病是一种原因不明的神经系统退行性疾病,以基底节及基底节外区域特征性钙化为特征,伴随神经、精神及认知方面的损害[1]。临床上主要表现为运动障碍、精神障碍、癫痫发作等。本病具有家族性或散发性(特发性)特点。家族性多为常染色体显性遗传,也有常染色体隐性遗传和性染色体遗传的报道。现将收治的4例Fahr病合并高同型半胱氨酸(hHcy)的患者资料报告如下。

1 临床资料

收集我院2011年1月至2013年2月收治的Fahr病4例,男性3例,女性1例,年龄11~60岁,平均年龄29.5岁。病程3~40 d,2例以精神行为异常入院,其中1例先以头昏头痛为首发症状,之后出现精神异常,言语不清,1例以运动障碍起病,1例因父母发现其计算力下降为主要表现就诊。既往均无外伤史、毒物接触史、寄生虫感染史及发热、皮疹史等,无特殊疾病服药史,无高血压、糖尿病史及家族遗传病史。查体:3例反应迟钝,时间地点人物定向力差,不能计算,腱反射活跃。1例四肢静止性震颤,四肢肌张力偏高,腱反射活跃,病理反射未引出。实验室检查4例患者血、尿常规正常,血钙、血磷及FT_3、FT_4、TSH及甲状旁腺激素均正常,血生化检查示Hcy均升高15.08~20.01 μmol/L(正常值0~14.0 μmmol/L)。头颅CT检查示4例患者均可见双侧尾状核头、壳核、内囊、丘脑对称性钙化灶,2例还可见额叶对称性钙化灶(图1)。全部病例临床综合诊断为Fahr病,确诊后在扩张血管、脑保护及改善脑代谢等治疗的基础上,给予补充大剂量叶酸、维生素B_6及维生素B_{12}、营养神经等对症支持治疗。患者症状均好转后出院。

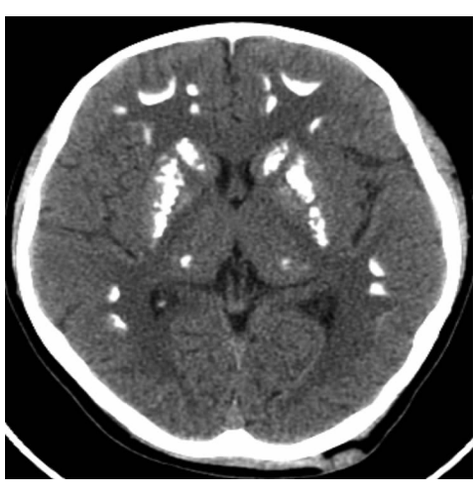


图1 Fahr病合并高同型半胱氨酸患者头颅CT表现

2 讨论

Fahr病临床少见,1855年Bamberger首先报道,1930年Fahr首次描述该病,1983年蒋雨平等在国内首次报道。该病临

(下转2023页)

[**通信作者**] 李小刚,E-mail: lixg5948@163.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130905.1010.002.html(2013-09-05)