文章编号:1000-5404(2013)19-2019-05

论著

植物雌激素通过缺氧诱导因子-1α与核因子-κB下调缺氧肺泡上皮细胞膜联蛋白A1的表达

杨 娟[1],李晓栩[2],陈 建[2],官立彬[2],黄 珹[2],白志川[1] (400716 重庆,西南大学园艺园林学院[1];400038 重庆,第三军医大学高原军事医学系高原生理学教研室,高原医学教育部重点实验室,全军高原医学重点实验室[2])

[摘要] **目的** 从人肺泡上皮细胞甲酰肽受体激动剂——膜联蛋白A1(Annexin A1,AnxA1)的表达变化,探讨植物雌激素影响缺氧肺部炎症浸润的机制。**方法** 人肺泡Ⅱ型上皮细胞(A549)接种于60 mm培养皿中常规培养,待培养皿中细胞长满约70%,根据是否用药分为:对照组(溶剂DMSO对照)、染料木黄酮(genistein,Gen)组、大豆苷元(daidzein,DD)组,每组细胞再根据是否缺氧再分为常氧组(N)、缺氧组(H)。Gen组、DD组于缺氧处理前分别加入Gen及DD,终浓度均为15 μmol/L。缺氧组细胞置于缺氧培养箱(1% O_2)24 h。取细胞培养上清及细胞裂解离心上清,结合甲酰肽受体特异性抑制剂tBoc2,通过趋化实验,检测其甲酰肽受体激动活性。用Western blot分析AnxA1、缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)、核因子-κB(NF-κB)在蛋白水平的变化,用RT^2-PCR法分析其mRNA水平的变化。**结果** 缺氧后的细胞冻融上清及培养上清趋化活性显著高于常氧组($P<0.05$),而植物雌激素处理后,两种上清的趋化活性均显著高于对照组($P<0.05$)。Western blot与RT^2-PCR检测结果显示,缺氧组AnxA1在蛋白水平和mRNA水平均高于常氧组($P<0.05$),两种植物雌激素不同程度地削弱了缺氧对AnxA1的上调效果,同时对HIF-1α、NF-κB的蛋白水平也产生同样的影响。**结论** 植物雌激素削弱了缺氧对AnxA1基因表达的上调效应,其机制与HIF-1α、NF-κB信号途径有关。

[关键词] 缺氧;肺泡上皮细胞;植物雌激素;膜联蛋白A1
[中图法分类号] R722.35; R394.3; R977.12 [文献标志码] A

Phytoestrogen attenuates hypoxia-induced expression of annexin A1 in alveolar epithelial cells through down-regulating NF-κB and HIF-1α

Yang Juan[1], Li Xiaoxu[2], Chen Jian[2], Guan Libing[2], Huang Jian[2], Bai Zhichuan[1] ([1]College of Horticulture and Landscape Agriculture, Southwest University, Chongqing, 400716; [2]Department of High Altitude Physiology, Key Laboratory of High Altitude Medicine of Ministry of Education, Key Laboratory of High Altitude Medicine of PLA, College of High Altitude Military Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effects of phytoestrogen on the expression of formyl peptide receptor (FPR) and Annexin A1 (AnxA1) in human alveolar epithelial cells under hypoxia exposure. **Methods** Human alveolar type Ⅱ epithelial cells (A549) were cultured and divided into normoxia (5% CO_2 and 95% O_2) and hypoxia (1% O_2, 5% CO_2, and 94% N_2 for 24 h) groups. Each group was further divided into the control, genistein treatment group (15 μmol/L before hypoxia) and daidzein treatment group (15 μmol/L before hypoxia). Chemotaxis assay was used to detect the activity of FPR agonists in the supernatants of culture media and lysates of the treated cells in presence or absence of FPR specific inhibitor tBoc2. The protein levels of AnxA1, hypoxia inducible factor 1α (HIF-1α) and nuclear factor κB (NF-κB) were detected by Western blotting. The mRNA level of AnxA1 was assayed by RT^2-PCR. **Results** Hypoxia induced both cultural supernatants and lysate supernatants had significantly higher chemotactic activity than normoxia ($P<0.05$). Phytoestrogen treatment also induced higher chemotactic activity than the control groups ($P<0.05$). Western blotting and RT^2-PCR indicated that hypoxia up-regulated the expression of AnxA1 significantly at the levels of protein and mRNA ($P<0.05$). The elevation was inhibited in the presence of phytoestrogen so as well NF-κB

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划,2012CB518201);国家自然科学基金(30973446,81370150)
[通信作者] 白志川,电话:(023)68250755,E-mail:1429494747@qq.com
黄 珹,电话:(023)68752359,E-mail:hj3red@gmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130726.1059.020.html(2013-07-26)

and HIF-1α. **Conclusion** Phytoestrogen attenuates hypoxia-induced up-regulated expression of AnxA1 through NF-κB and HIF-1α signal pathways.

[**Key words**] hypoxia; human pulmonary alveolar epithelial cells; phytoestrogen; genistein, daidzein; Annexin A1

Supported by the National Basic Key Program of China (973 Program, 2012CB518201) and the National Natural Science Foundation of China (30973446, 81370150). Corresponding author: Bai Zhichuan, Tel: 86-23-68250755, E-mail: 1429494747@qq.com; Huang Jian, Tel: 86-23-68752359, E-mail: hj3red@gmail.com

在高原病、器官移植、心血管疾病以及糖尿病等多种疾病中,缺氧是其发生、发展的共同环节。机体暴露于高原低氧外环境,可引起肺血管改建,导致缺氧性肺动脉高压,炎症反应在其中发挥关键作用[1-2]。植物雌激素(phytoestrogen)——染料木黄酮(genistein, Gen)及大豆苷元(daidzein, DD)是大豆异常黄酮中的主要活性成分,具有抗氧化、抗炎作用[3]。前期研究显示,植物雌激素可明显减轻缺氧引起的肺血管壁增厚,减轻缺氧性肺动脉高压[4-5],但是其机制尚未完全清楚。

膜联蛋白A1(Annexin A1, AnxA1)是一个重要的炎症调控蛋白,多种细胞表达分泌此种蛋白,分泌于细胞外的AnxA1可通过作用于甲酰肽受体(formyl peptide receptor, FPR)在炎症中发挥重要作用[6]。缺氧时,呼吸道上皮细胞产生多种介质在缺氧性肺血管调节中发挥重要作用[7-9]。本研究探讨了植物雌激素对缺氧肺泡上皮细胞AnxA1表达的影响,并从核因子-κB(nuclear factor κB, NF-κB)及缺氧诱导因子-1α(hypoxic inducible factor 1α, HIF-1α)途径探讨其机制,旨在揭示植物雌激素的作用机制,为进一步开发植物雌激素的临床用途提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

改良型RPMI1640培养基(HyClone),胎牛血清(Gibco),Gen(Sigma),DD(Sigma),小鼠抗AnxA1多克隆抗体、抗NF-κB单抗、抗HIF-1α单抗(BD),小鼠抗β-actin多克隆抗体(Santa Cruz),辣根过氧化物山羊抗小鼠IgG(中杉金桥)。总RNA提取试剂盒(天根),PrimeScript RT reagent Kit (TaKaRa),2×*Taq* PCR Master Mix (天根),苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(碧云天)。

1.2 肺泡上皮细胞培养及缺氧处理

人肺泡Ⅱ型上皮细胞(A549, ATCC公司)接种于60 mm培养皿中常规培养,待培养皿中细胞长满约70%,根据是否用药分为:对照组(溶剂DMSO对照)、Gen组、DD组,每组细胞再根据是否缺氧再分为常氧组、缺氧组。Gen组、DD组于缺氧处理前分别加入Gen及DD,终浓度均为15 μmol/L(根据预实验)。常氧组细胞置常规培养箱内(95%空气,5% CO_2,37 ℃)培养24 h,缺氧组细胞置低氧培养箱内(1% O_2,5% CO_2,37 ℃)培养24 h。趋化实验时,提前4 h更换新鲜无药物培养液。

1.3 趋化实验检测细胞的功能水平

A549细胞经过缺氧和(或)植物雌激素处理后,取细胞培养上清或细胞经过反复冻融裂解离心后的上清28 μL作为趋化剂,置于趋化板(48孔趋化板)下室,U87细胞(1×10^6/mL) 50 μL添加到趋化上室。FPR特异性抑制剂tBoc2在趋化上室与下室中的浓度均为10 μmol/L。每孔作3个复孔,5% CO_2、37 ℃趋化2 h取下膜后刮去上室面细胞,对下室面细胞进行HE染色,显微镜下计数(10×40),每孔随机选择3个视野,取平均数[10]。将tBoc2组的趋化细胞数减去未使用tBoc2组的细胞数,再除以未使用tBoc2组的细胞数,得到tBoc2对趋化活性的抑制率,即"FPR激动剂趋化活性指数(chemotaxis index of FPR agonist, CIFA)"。将缺氧组CIFA除以常氧组CIFA所得比值进行统计学比较。

1.4 Western blot检测AnxA1蛋白的表达水平

细胞经IP裂解液(碧云天)裂解提取细胞总蛋白,4 ℃,12 000 r/min离心5 min取上清,BCA蛋白浓度测定试剂盒(碧云天)测定蛋白浓度,蛋白上样量为30 μg/20 μL,95 ℃、10 min变性后,取20 μL经10%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳,转移到PVDF膜上,5%脱脂奶粉室温封闭1 h。加入AnxA1、NF-κB、HIF-1α或β-actin的一抗,4 ℃过夜,TBST洗涤3次×10 min,加入二抗(辣根过氧化物标记的山羊抗小鼠)室温1 h,TBST洗涤3次×10 min,加入ECL显影液(碧云天),凝胶成像图像分析仪成像,目的蛋白条带灰度值除以相应的β-actin条带灰度值得到目的条带的相对灰度值。缺氧对AnxA1蛋白水平的影响用各目的条带的相对灰度值除以相应常氧组的相对灰度值表示,并进行统计学分析。

1.5 RT^2-PCR检测AnxA1 mRNA水平

Trizol法提取总RNA,将mRNA逆转录为cDNA。按RT^2-PCR试剂盒说明书构建PCR引物体系:AnxA1上游5′-GCAGGCCTGGTTTATAGAAA-3′,下游5′-GCTGTGCATTGTTTCGCTTA-3′;内参GAPDH上游5′-CCACCCATGGCAAATTCCATGGCA-3′,下游5′-TCTAGACGGCAGGTCAGGTCCACC-3′。RT^2-PCR反应条件为:预变性95 ℃、10 s,变性95 ℃、5 s,退火58 ℃、30 s,延伸72 ℃、30 s,34个循环再72 ℃延伸5 min,反应体系为20 μL。

1.6 统计学分析

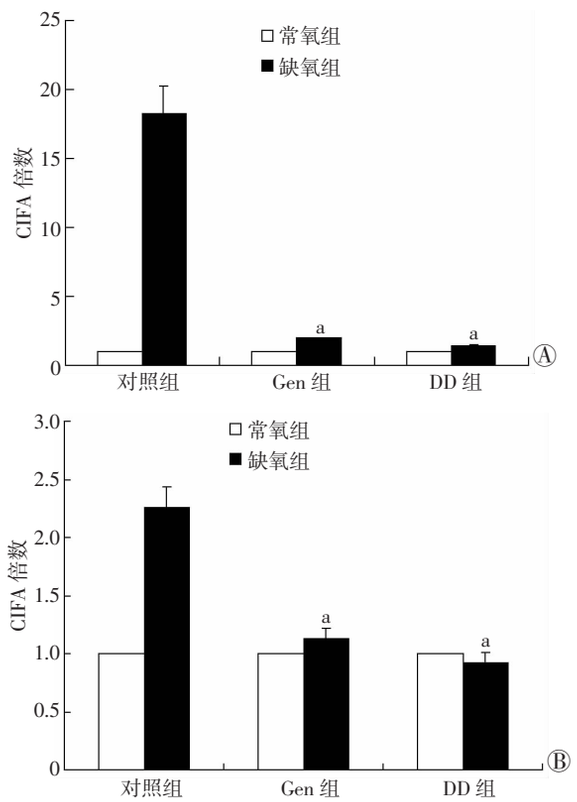
采用SPSS 13.0统计软件,均数之间两两比较行t检验。

2 结果

2.1 植物雌激素削弱了缺氧细胞培养上清与冻融上清中FPR激动剂的趋化活性

细胞趋化实验结果显示,对照组中缺氧后肺泡上皮细胞培

养上清中通过 FPR 介导的趋化活性是常氧组的 18 倍(图 1A),当加入染料木黄酮、大豆异黄酮时,缺氧上清中通过 FPR 介导的趋化活性显著降低($P<0.05$),分别只有常氧组的 1.9、1.5 倍。另外,细胞匀浆冻融上清中,缺氧组通过 FPR 介导的趋化活性是常氧组的 2.3 倍(图 1B),当加入染料木黄酮、大豆异黄酮时,此趋化活性显著降低($P<0.05$),分别是常氧组的 1.1、0.9 倍。结果提示,缺氧显著增加肺泡上皮细胞 FPR 激动剂的产生释放,植物雌激素染料木黄酮、大豆异黄酮可削弱此反应。



A:培养上清;B:冻融上清 a:$P<0.05$,与对照组比较

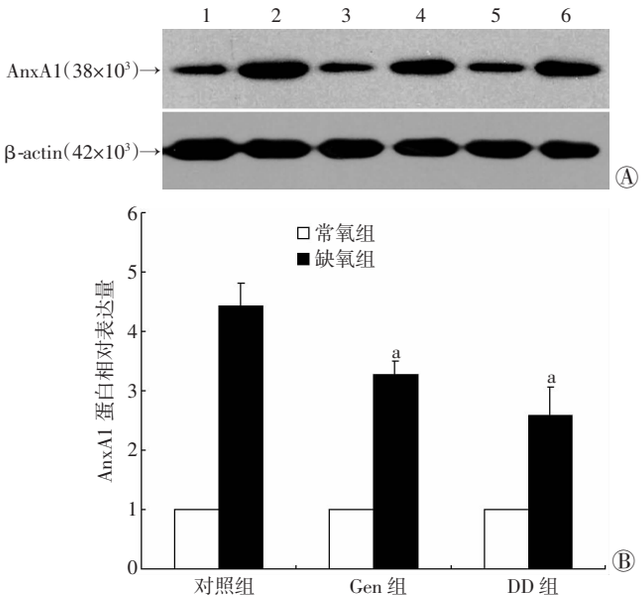
图 1 植物雌激素对缺氧时细胞培养上清及冻融上清中 FPR 激动剂趋化活性的影响

2.2 植物雌激素削弱了缺氧引起的肺泡上皮细胞 AnxA1 蛋白水平上调

Western blot 结果显示,对照组中缺氧后的肺泡上皮细胞 AnxA1 显著高于常氧组,是常氧组的 4.42 倍,当加入染料木黄酮、大豆异黄酮时,缺氧组 AnxA1 的蛋白水平分别降至常氧组的 3.26、2.57 倍,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结果提示,缺氧显著增加肺泡上皮细胞 FPR 激动剂 AnxA1 蛋白水平,染料木黄酮、大豆异黄酮可明显抑制此反应。见图 2。

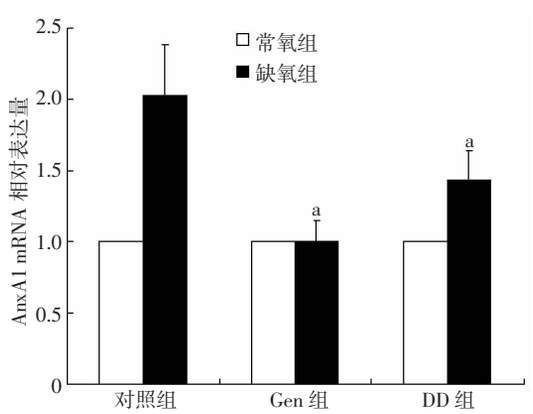
2.3 植物雌激素削弱了缺氧引起的肺泡上皮细胞 AnxA1 转录水平

用 RT^2-PCR 检测 AnxA1 的 mRNA 水平的变化,结果显示,对照组缺氧后的肺泡上皮细胞 AnxA1 的 mRNA 水平显著高于常氧组,是常氧组的 2.0 倍,当存在染料木黄酮、大豆异黄酮时,缺氧组 AnxA1 的 mRNA 水平显著低于对照组($P<0.05$),分别只有常氧组的 1.0、1.4 倍。结果提示,缺氧显著增加肺泡上皮细胞 FPR 激动剂 AnxA1 的 mRNA 水平,植物雌激素染料木黄酮、大豆异黄酮可削弱此反应。见图 3。



A:Western blot 检测结果 1、3、5:常氧组;2、4、6:缺氧组;1、2:对照组;3、4:Gen 组;5、6:DD 组;B:灰度分析结果 a:$P<0.05$,与对照组比较

图 2 植物雌激素对缺氧肺泡上皮细胞 AnxA1 蛋白水平的影响

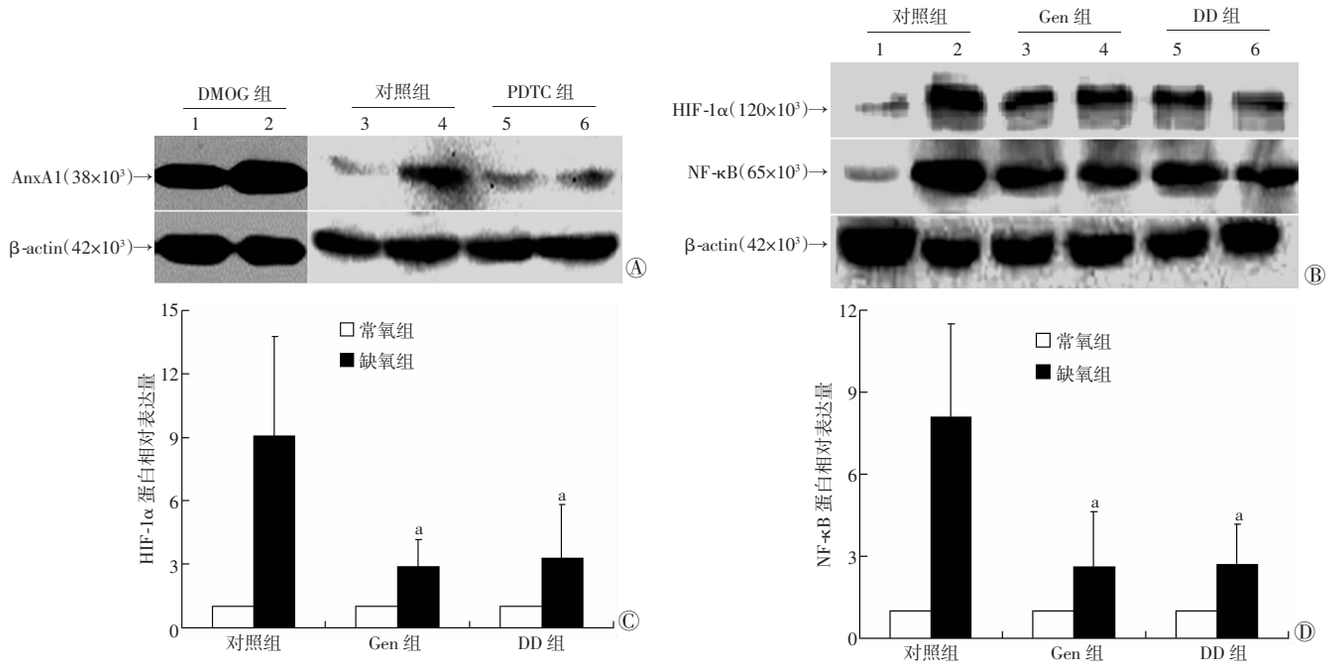


a:$P<0.05$,与对照组比较

图 3 植物雌激素对缺氧肺泡上皮细胞 AnxA1 mRNA 水平的影响

2.4 植物雌激素抑制缺氧引起的 HIF-1α、NF-κB 上调反应

通过使用脯氨酸羟化酶抑制剂(DMOG)发现,其可上调 AnxA1 的表达,可见 AnxA1 的表达受到 HIF-1α 的调控。用 NF-κB 的抑制剂二硫代氨基甲酸吡咯烷(PDTC)可显著削弱缺氧对 AnxA1 表达的上调作用,说明 AnxA1 表达也受到 NF-κB 的调控。缺氧组两种转录因子水平均显著高于常氧组,说明缺氧时两种转录因子参与了 AnxA1 表达调控。而染料木黄酮与大豆异黄酮均可削弱缺氧对两种转录因子的上调,提示两种植物雌激素可通过作用于这两种转录因子,进而调控 AnxA1 在缺氧时表达。见图 4。



A:Western blot 检测 DMOG 和 PDTC 对 AnxA1 蛋白表达的影响;B:Western blot 检测各组 HIF-1α、NF-κB 蛋白的表达 1、3、5:常氧组;2、4、6:缺氧组;C:HIF-1α 灰度分析结果;D:NF-κB 灰度分析结果 a: $P<0.05$,与对照组比较

图4 植物雌激素对缺氧肺泡上皮细胞 HIF-1α、NF-κB 的影响

3 讨论

缺氧是多种疾病发展过程中的重要环节。无论外环境缺氧,还是由于血管栓塞、受压,均引起组织、细胞微环境缺氧。呼吸道上皮细胞是最先感受外环境氧分压变化的。本研究结果表明,肺泡上皮细胞在缺氧的直接刺激下,细胞表达释放甲酰肽受体激动剂 AnxA1。AnxA1 在炎症细胞趋化、粘附等过程中发挥重要作用。细胞氧感受信号系统是其反应于缺氧的重要途径[11]。当细胞外环境氧浓度降低时,细胞内氧感受蛋白——脯氨酸羟化酶活性受到抑制,引起其对 HIF-1α 的羟化减弱,HIF-1α 的羟化是其进一步降解的关键环节。因此,缺氧导致脯氨酸羟化酶受抑,HIF-1α 水平上调。HIF-1α 与 HIF-1β 两个亚基形成二聚体,启动细胞内多种蛋白的表达,从而调节细胞代谢,同时产生多种细胞因子,作用于其他细胞,如募集炎症细胞,进行组织重塑,对抗缺氧。本研究表明,缺氧时 HIF-1α 水平升高,植物雌激素可削弱此反应,说明植物雌激素对氧感受信号具有调制作用。

另外, NF-κB 途径也是细胞反应于缺氧的另一重要信号途径。NF-κB 与 HIF-1 信号途径相互作用,共同调控细胞的低氧反应。NF-κB 是炎症反应的重要参与因子[12],对参与炎症级联效应的多种酶的基因表达有重要的调控作用,抑制 NF-κB 的活性可以阻断炎症的关键起始步骤及其次级炎症反应。植物雌激素可抑制 NF-κB 活化,从而可以降低 TNF-α、IL -6 和 ICMA-l 等的生成,进而减轻炎症反应[13]。本研究结果显示,植物雌激素可明显削弱缺氧时 NF-κB 的上调反应,用 NF-κB 抑制剂可降低缺氧引起 AnxA1 基因表达。可见,植物雌激素可通过抑制 NF-κB 而下调缺氧肺泡上皮细胞 AnxA1 的表达。

氧分子进入细胞后绝大部分进入线粒体,在呼吸链末端接收电子,因此,缺氧时,呼吸链电子传递受阻,呼吸链中的电子形成自由基,使细胞内自由基水平上升。另外,缺氧时能量代谢受影响,细胞膜通透性增加,Ca^{2+} 内流增强,Ca^{2+} 依赖性蛋白激酶的活性促进氧自由基生成。自由基水平影响细胞内氧化还原状态,多种酶或蛋白质的活性受到细胞内氧化还原状态的影响。植物雌激素可以通过作用于细胞内自由基,影响细胞内各种信号传导途径,包括 NF-κB 与 HIF-1α 途径。

综上所述,植物雌激素可能通过 HIF-1α、NF-κB 途径对缺氧肺泡上皮细胞 AnxA1 的表达产生影响。植物雌激素可明显改善缺氧性肺动脉高压[4-5]。缺氧性肺动脉高压的主要病特点,即为肺血管壁增厚,此种病理学特点是在大量炎细胞的参与下通过血管改建完成的,而炎症细胞被募集到肺部是在多种趋化因子的作用下完成的。AnxA1 就是作用于经典的趋化受体——甲酰肽受体,引起炎症细胞强烈趋化的一种趋化因子。当肺泡上皮细胞受到缺氧刺激后,其表达释放大量 AnxA1,不仅在炎症细胞趋化募集中发挥十分重要的作用,而且在细胞增殖、分化、分泌等反应中也发挥作用。AnxA1 在炎症反应中的作用是双重的,既可促进炎症反应,亦可防止过度炎症反应。本研究发现,植物雌激素能抑制缺氧时肺泡上皮细胞 AnxA1 表

达,进而调控炎细胞在肺血管周周浸润,改善缺氧性肺动脉高压。本研究提出了植物雌激素抗缺氧作用的一条新机制。用植物雌激素等作用于AnxA1,进而调控炎症反应,抵抗损伤,改善组织修复,是缺氧肺损伤防治的新策略。

参考文献:

[1] Burke D L, Frid M G, Kunrath C L, *et al*. Sustained hypoxia promotes the development of a pulmonary artery-specific chronic inflammatory microenvironment[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009, 297(2): L238-L250.
[2] Price L C, Wort S J, Perros F, *et al*. Inflammation in pulmonary arterial hypertension[J]. Chest, 2012, 141(1): 210-221.
[3] Atteritano M, Marini H, Minutoli L, *et al*. Effects of the phytoestrogen genistein on some predictors of cardiovascular risk in osteopenic, postmenopausal women: a two-year randomized, double-blind, placebo-controlled study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(8): 3068-3075.
[4] 李晓莉, 高钰琪, 刘福玉, 等. 植物雌激素对大鼠慢性缺氧性肺动脉高压的预防作用[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(8): 897-900.
[5] 李晓莉, 高钰琪, 刘福玉, 等. 染料木黄酮对慢性缺氧性肺血管结构改建的干预作用[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(11): 1257-1261.
[6] Lim L H, Pervaiz S. Annexin 1: the new face of an old molecule[J]. FASEB J, 2007, 21(4): 968-975.
[7] Pham I, Uchida T, Planes C, *et al*. Hypoxia upregulates VEGF expression in alveolar epithelial cells *in vitro* and *in vivo*[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002, 283(5): L1133-L1142.
[8] Tong Q, Zheng L, Lin L, *et al*. VEGF is upregulated by hypoxia-induced mitogenic factor *via* the PI-3K/Akt-NF-kappaB signaling pathway[J]. Respir Res, 2006, 7: 37.
[9] Meyer S, Z'Graggen B R, Blumenthal S, *et al*. Hypoxia attenuates effector-target cell interaction in the airway and pulmonary vascular compartment[J]. Clin Exp Immunol, 2007, 150(2): 358-367.
[10] Cui Y, Hou X, Chen J, *et al*. Sesamin inhibits bacterial formylpeptide-induced inflammatory responses in a murine air-pouch model and in THP-1 human monocytes[J]. J Nutr, 2010, 140(2): 377-381.
[11] Frohlich S, Boylan J, McLoughlin P. Hypoxia-induced inflammation in the lung: a potential therapeutic target in acute lung injury? [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2013, 48(3): 271-279.
[12] Inoue J, Gohda J, Akiyama T, *et al*. NF-kappaB activation in development and progression of cancer[J]. Cancer Sci, 2007, 98(3): 268-274.
[13] Alsharnoubi J M, Odland H H, Saugstad O D. Nicotine does not influence NF-kappaB activity in neonatal mice reoxygenated with room-air or 100% oxygen[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2012, 25(10): 2102-2105.

(**收稿**:2013-04-23;**修回**:2013-06-08)
(编辑 黄 超)

(上接2009页)

床表现多样,多数患者的症状与钙化的部位、数目有关,多表现为运动障碍、认知功能缺损及精神症状等,其他还可表现为癫痫发作、头晕头痛、失眠等。影像学上头颅CT检查在显示基底节钙化等方面具有极高的敏感性,基底节区钙化是最常见部位。本组资料2例有精神异常,1例出现运动障碍,1例智力下降,CT检查均提示基底节区钙化灶。目前该病发病机制不详,除遗传因素外,血管功能的改变,血脑屏障的破坏,神经元钙磷代谢紊乱等均可能参与了该病的发生。

4例患者起病形式不同,但血生化检查示Hcy均升高,在之前的病例报告中比较罕见,排除其他原因之后考虑为hHcy导致相应解剖部位钙盐沉着所致。hHcy促进动脉硬化已被证实,而动脉硬化时的玻璃样变性可促成钙质沉着,形成钙化灶。hHcy可通过以下几方面导致钙化灶发生。(1)血管病变,血脑屏障破坏:①Hcy含活泼的自由巯基,可以自身氧化生成活性氧,直接攻击毛细血管内皮细胞,破坏血脑屏障。Rhodehouse等[2]的研究也证实hHcy首先引起微血管病理改变,产生伴随血脑屏障破坏的脑小血管疾病,最后可发展到认知功能损害。本组中有3例出现认知功能障碍;②Hcy可导致血管活性物质如NO分泌异常,与活性氧形成过氧亚硝基(ONOO),启动脂质过氧化作用,脂质过氧化可破坏细胞膜结构,改变离子运输。以上因素使血管内膜及管壁变性或坏死,细胞膜破坏,血脑屏障受损,通透性增加,钙盐等无机盐容易析出并沉积,当钙盐沉积严重时,小血管阻塞使病变区脑缺血产生相应的临床症状[3]。(2)神经元钙磷代谢紊乱:Hcy激活NMDA受体活性,上调e-myb、e-fosmRNA及蛋白表达,介导兴奋性神经毒性作用,促进神经细胞凋亡。国外研究发现Hcy能增加凋亡酶蛋白Caspase与Bax的表达,抑制抗凋亡蛋白Bcl-2的表达,激活凋亡程序,诱导神经元的凋亡[4-5]。神经元细胞不能维持细胞内钙水平,促使细胞外液钙离子增加,可引起或加重钙盐沉积。血管壁的异常及神经元钙磷代谢紊乱引发钙化,可解释这4例Fahr病患者在影像学上表现为颅内广泛钙化灶的现象。

Fahr病目前尚无根治方法,以对症治疗为主,包括镇静、营养神经及调节免疫等治疗,可使用抗帕金森药物和治疗手足徐动症药物,有精神异常者可使用抗精神病药物。本组资料中Fahr病由hHcy引起,hHcy可经过补充叶酸、维生素B_6及维生素B_{12}得到纠正。本组资料中显示给予患者补充大剂量叶酸、维生素B_6、维生素B_{12}及镇静、抗精神治疗后,效果明显。随着该病确诊率的明显提高,进一步探讨其与同型半胱氨酸的关系将具有非常深远的临床意义。

参考文献:

[1] Lazar M, Ion D A, Streinu-Cercel A, *et al*. Fahr's syndrome: diagnosis issues in patients with unknown family history of disease[J]. Rom J Morphol Embryol, 2009, 50(3): 425-428.
[2] Rhodehouse B C, Mayo J N, Beard R S Jr, *et al*. Opening of the blood-brain barrier before cerebral pathology in mild hyperhomocysteinemia[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e63951.
[3] Hagiwara N, Ooboshi H, Ishibashi M, *et al*. Elevated cerebrospinal fluid lactate levels and the pathomechanism of calcification in Fahr's disease[J]. Eur J Neurol, 2006, 13(5): 539-543.
[4] Linnebank M, Lutz H, Jarre E, *et al*. Binding of copper is a mechanism of homocysteine toxicity leading to COX deficiency and apoptosis in primary neurons, PC12 and SHSY-5Y cells[J]. Neurobiol Dis, 2006, 23(3): 725-730.
[5] Baydas G, Reiter R J, Akbulut M, *et al*. Melatonin inhibits neural apoptosis induced by homocysteine in hippocampus of rats *via* inhibition of cytochrome c translocation and caspase-3 activation and by regulating pro- and anti-apoptotic protein levels[J]. Neuroscience, 2005, 135(3): 879-886.

(**收稿**:2013-06-06;**修回**:2013-07-15)
(编辑 王小寒)