

老年癫痫患者血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平及意义

杜雨欣, 刘波

摘要 **目的:**探讨老年癫痫患者血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-2(IL-2)及miR-21水平及意义。**方法:**选取老年癫痫患者97例为观察组,及健康体检者100例作为对照组,检测血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平。**结果:**观察组发作后1 h血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平分别为(5.50 $\pm$ 0.90)ng/mL、(8.72 $\pm$ 1.32)ng/mL和(1.91 $\pm$ 0.35),明显高于对照组($P<0.05$);观察组脑电图异常患者发作后1 h血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平分别为(5.65 $\pm$ 0.97)ng/mL、(8.93 $\pm$ 1.22)ng/mL和(1.94 $\pm$ 0.37),明显高于脑电图正常患者($P<0.05$);观察组不同发作类别患者发作后1 h血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);血清TNF- α 、IL-2与miR-21呈正相关($r=0.343$ 和 0.376 , $P<0.05$),血清TNF- α 和IL-2呈正相关($r=0.302$, $P<0.05$)。**结论:**老年癫痫患者血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平升高,尤其脑电图异常患者明显升高,三者间存在正相关关系。

关键词 老年;癫痫;肿瘤坏死因子- α ;白细胞介素-2;miR-21

中图分类号 R741;R742.1 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20200395

本文引用格式:杜雨欣, 刘波. 老年癫痫患者血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平及意义[J]. 神经损伤与功能重建, 2021, 16(3): 165-166, 169.

作者单位

绵阳市第三人民医院
神经内科

四川 绵阳 621000

收稿日期

2020-04-16

通讯作者

刘波

aomwean@163.

com

老年癫痫的发生导致患者生活质量显著下降,并能增加老年癫痫患者的肇事率^[1,2]。病情持续性进展,还能增加老年患者的致残率和病死率,导致老年癫痫患者整体临床结局恶化。在研究癫痫的病情进展机制的过程中,较多研究认为基础分子生物学领域的相关改变,能通过影响神经元细胞的损伤凋亡,加剧神经元细胞鞘膜组织的损害,进而影响神经元细胞的异常放电过程。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)是炎性相关因子,能通过诱导氧化应激性损伤,诱导下游炎症信号因子的释放,最终导致神经元鞘膜完整性的破坏^[3];微小RNA21(micro RNA 21, miR-21)能通过加剧下游效应因子的转录翻译异常,干预神经元细胞的修复过程^[4]。为了揭示TNF- α 、IL-2及miR-21的表达与老年癫痫患者的病情关系,本研究选取老年癫痫患者97例,探讨TNF- α 、IL-2及miR-21的表达情况。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年1月至2019年12月在我院治疗的老年癫痫患者97例为观察组,纳入标准:诊断符合中华医学会专家协作组制定的原发性癫痫标准^[5];年龄 ≥ 60 岁;患者及家属知情同意。排除标准:合并恶性肿瘤、血液系统疾病、颅内感染、免疫系统疾病、内分泌疾病等;有酒精、药物成瘾史;继发性癫痫。男59例,女38例;平均(70.03 $\pm$ 7.20)岁。同时选取同期我院健康体检者100例为对照组,男66例,女34例;平均(71.18 $\pm$ 8.11)岁。2组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究经本院伦理委员会批准,所有受试者签署知情同意书。

1.2 方法

抽取受试者的肘静脉血5 mL,1 000 r/min离心10 min,取上清液待测。采用ELISA法检测TNF- α 、IL-2, BioTek酶标仪购自美国伯腾仪器有限公司;收集的上清液检测品中加入0.3 mL氯仿,室温下震荡30 s,放置30 min,取上层清亮液体移入另一EP管,加入等体积的异丙酮溶液,室温放置30 min,1 000 r/min离心10 min,取沉淀物为RNA,加入75%乙醇溶液1 mL,溶解后1 000 r/min离心10 min,取上清液,加入20 μ L DEPC水计算RNA浓度。采用SuperScript IV逆转录试剂盒(Invitrogen SuperScript IV反转录酶,购自赛默飞公司)进行cDNA合成,采用金斯瑞oligo进行引物合成和设计, β -actin作为内参。miR-21引物上游:CTTTGAGGTGCGTGTTT,下游:CAGTGCTCGCTTAGTGTC, CISILE2018高通量PCR仪器购自常州福生生物技术有限公司。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料以(均数 $\pm$ 标准差)表示,组间差异比较使用独立样本 t 检验,计数资料比较使用 χ^2 检验,相关性采用Pearson相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组发作后1 h和对照组血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平比较

观察组发作后1 h血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平明显高于对照组($P<0.01$),见表1。

2.2 观察组脑电图正常和异常患者血清TNF- α 、IL-2及miR-21水平比较

观察组脑电图异常患者发作后1h血清TNF- α 、

IL-2及miR-21水平明显高于脑电图正常患者($P<0.05$),见表2。

表1 观察组发作后1 h和对照组血清TNF-α、IL-2及miR-21水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	TNF-α/ (ng/mL)	IL-2/ (ng/mL)	miR-21 相对表达量
对照组	100	1.43±0.60	4.20±1.15	0.89±0.11
观察组	97	5.50±0.90	8.72±1.32	1.91±0.35
t值		37.451	25.648	27.765
P值		0.000	0.000	0.000

表2 观察组脑电图正常和异常患者血清TNF-α、IL-2及miR-21水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	TNF-α/ (ng/mL)	IL-2/ (ng/mL)	miR-21 相对表达量
脑电图正常患者	11	4.32±1.00	7.10±1.12	1.67±0.40
脑电图异常患者	86	5.65±0.97	8.93±1.22	1.94±0.37
t值		-4.268	-4.724	-2.259
P值		0.000	0.000	0.026

2.3 观察组不同发作类别患者血清TNF-α、IL-2及miR-21水平比较

观察组不同发作类别患者发作后1 h血清TNF-α、IL-2及miR-21水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表3。

表3 观察组不同发作类型患者血清TNF-α、IL-2及miR-21水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	TNF-α/ (ng/mL)	IL-2/ (ng/mL)	miR-21 相对表达量
单纯部分 新发患者	50	5.53±1.03	8.79±1.06	1.93±0.44
复杂部分性 发作者	28	5.44±1.02	8.58±1.10	1.87±0.39
部分继发 全面性发作者	19	5.50±1.00	8.60±1.05	1.90±0.33
F值		1.032	1.102	0.982
P值		0.578	0.512	0.672

2.4 相关性分析

Pearson相关性分析结果显示,观察组的血清TNF-α、IL-2与miR-21呈正相关($r=0.343$ 和 0.376 , $P<0.05$),血清TNF-α和IL-2呈正相关($r=0.302$, $P<0.05$)。

3 讨论

老年癫痫患者的发病较隐匿,药物疗效较差,远期发生癫痫大发作或者部分发作的风险较高,其致残率或恶性临床结局的风险也较高^[6]。临床观察和随访研究发现,老年癫痫患者短期内病情进展的风险可超过15%以上,同时其远期其他精神系统并发症的发生率也明显上升^[7,8]。现阶段缺乏对于老年癫痫病情评估的指标,虽然脑电图能在老年癫痫的病情评估中发挥作用,但脑电图检测的假阴性率仍然较高,其对于癫痫患者异常脑

电活动检测的阳性率不足。神经特异性烯醇化酶等指标能在老年癫痫的病情评估过程中发挥作用,但其可靠性较低,指标检测的稳定性不足。本研究通过对于老年癫痫发病过程中TNF-α、IL-2与miR-21的表达分析,一方面能深入揭示炎症反应对于老年癫痫患者病情的影响,另一方面还能能为临床上老年癫痫患者病情的评估提供血清量化的参考指标。

TNF-α是肿瘤坏死因子家族成员,其能通过直接诱导炎症性损害,加剧炎症性因子对于神经元鞘膜组织的损害。IL-2不仅能参与炎症反应过程,影响炎症因子的激活,同时还能够加剧中性粒细胞或者单核细胞的激活,影响到神经元膜电荷的稳定性。miR-21是微小RNA相关家族成员,其对于下游氧化应激损伤相关蛋白的转录调控作用,能影响多种病理生理机制的激活,影响癫痫病情的进展。有部分研究认为TNF-α的表达浓度的上升能显著促进癫痫病情的进展^[9-11],但对于IL-2与miR-21的分析研究较少。

本研究发现老年癫痫患者中,血清TNF-α、IL-2与miR-21的表达浓度明显高于正常老年人群,可能是因为老年癫痫患者体内存在明显的炎症反应。miR-21的表达上升,主要由于癫痫患者神经元细胞脱髓鞘导致的局部氧化应激反应的激活,促进了膜内外病理性信号通路的激活,加剧了微小RNA的异常激活和合成。有其他相似的研究发现,在癫痫患者中,miR-21的表达浓度的上升可随着癫痫患者脑电活动的异常而显著上升,特别是合并癫痫大发作的患者,miR-21的表达浓度的改变越显著^[12]。脑电图是评估癫痫患者脑电活动的指标,在脑电图异常的患者中,TNF-α、IL-2与miR-21的表达浓度明显上升,高于脑电图正常的患者,表明TNF-α、IL-2与miR-21的高表达能够影响到脑电患者的神经元电生理活动。这主要是由于TNF-α、IL-2与miR-21的高表达,能影响局部神经元细胞膜内外侧离子泵的活性,导致钠离子和钾离子内流的增加,促进了神经元细胞膜的异常电活动^[13-15]。颞叶和非颞叶癫痫患者发作后1 h血清TNF-α、IL-2及miR-21水平比较差异无统计学意义,表明TNF-α、IL-2与miR-21并不会影响到癫痫的发病部位。相关性研究发现,TNF-α、IL-2与miR-21相互之间存在一定的正相关关系,提示TNF-α、IL-2与miR-21在影响老年癫痫患者病情进展过程中可能发挥相互协同刺激的作用。寄望后续的研究能够深入研究TNF-α、IL-2与miR-21与癫痫患者治疗预后的关系。

参考文献

[1] Vega YH, Smith A, Cockerill H, et al. Risk factors for reading disability in families with rolandic epilepsy[J]. Epilepsy Behav, 2015, 53: 174-179.

[2] Ryu HU, Hong JP, Han S, et al. Seizure Frequencies and Number of Anti-epileptic Drugs as Risk Factors for Sudden Unexpected Death in Epilepsy[J]. J Korean Med Sci, 2015, 30: 788-792.

[3] 刘丹丹, 孙美珍, 赵俊萍. 血清及脑脊液中白介素-1β、白介素-6及肿瘤坏死因子-α水平与病毒性脑炎急性期伴癫痫发作的关系[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2017, 11: 2120-2124.

[4] 亓雪婷, 朱雨岚. MicroRNA与癫痫关系的研究进展[J]. 神经疾病与精神卫生, 2016, 26: 111-113.

[5] 成人癫痫患者长程管理共识专家协作组. 关于成人癫痫患者长程管理的专家共识[J]. 中华神经科杂志, 2013, 23: 496-499.

AQP4-IgG 浓度显著降低,且在停药 9 月内抗体浓度未出现反弹,提示患者可较长时间处于免疫低活跃状态。同时国外研究发现 NMOSD 患者体内 AQP4-IgG 浓度常处于低水平状态时与其低复发率呈正相关^[17],这可能也是雷公藤多苷和醋酸泼尼松降低 NMOSD 患者复发频次的原因之一。

EDSS 是临床应用最普遍的 NMOSD 的评估量表,也是临床试验中广泛采用的评价指标,不仅能较准确地反映 NMOSD 患者的残疾程度,还可用于预测 NMOSD 患者的生活质量^[18]。本研究发现醋酸泼尼松、雷公藤多苷和联合治疗均能在治疗 12 月后使患者 EDSS 评分较治疗前显著降低。但目前上述两种药物并未证实具有神经修复作用^[9],考虑其改善 EDSS 评分的原因之一为两种药物通过降低 NMOSD 复发频次,继而使患者神经功能受损程度减轻,同时使受到创伤的神经网络有足够的时间得以重建及自我修复^[19],最终表现为神经功能逐渐好转和 EDSS 评分降低。

醋酸泼尼松和雷公藤多苷均为临床上治疗自身免疫性疾病的常用药物,虽然本研究发现部分患者出现肝功能异常、胃肠道反应、月经紊乱、贫血、白细胞减少、脱发及感染等不良反应,但均不严重,且停药后上述不良反应均逐渐恢复;同时发现醋酸泼尼松和雷公藤多苷联合使用时患者的不良反应无明显增多^[14,20]。

综上所述,对于缓解期 NMOSD 患者的治疗来说,醋酸泼尼松和雷公藤多苷联合使用的方法安全,并有着较好的疗效,因此,值得在临床上进行推广应用。

参考文献

[1] 中国免疫学会神经免疫学分会,中华医学会神经病学分会神经免疫学组,中国医师协会神经内科学分会神经免疫专业委员会. 中国视神经脊髓炎谱系疾病诊断与治疗指南[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2016, 23: 155-166.
[2] Simaniv TO, Vasiliev AV, Askarova LS, et al. Neuromyelitis optica and neuromyelitis optica spectrum disorders [J]. Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova, 2019, 119: 35-48.
[3] Wu Y, Zhong L, Geng J. Neuromyelitis optica spectrum disorder: Pathogenesis, treatment, and experimental models [J]. Mult Scler Relat Disord, 2019, 27: 412-418.
[4] Poupart J, Giovannelli J, Deschamps R, et al. Evaluation of efficacy and tolerability of first-line therapies in NMOSD [J]. Neurology, 2020, 94:

1-12.
[5] 刘素晓, 闫凤娜, 王幼平. 雷公藤多苷的抗炎作用与临床应用进展 [J]. 中医临床研究, 2017, 9: 131-134.
[6] 王志强, 宫彩霞, 张晓刚, 等. 雷公藤多苷不同时间给药联合甲氨蝶呤治疗难治性类风湿关节炎疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29: 11-14, 54.
[7] 焦林娟, 陈庆云, 石帅, 等. 雷公藤多苷片对难治性肾病综合征患者尿蛋白、炎症因子及免疫功能的影响[J]. 临床研究, 2020, 28: 137-139.
[8] 叶君, 王锐, 张宝华, 等. 雷公藤多苷联合白芍总苷与单用雷公藤多苷在干燥综合症治疗疗效观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6: 140-141.
[9] Holroyd K, Vogel A, Lynch K, et al. Neuromyelitis optica testing and treatment: Availability and affordability in 60 countries[J]. Mult Scler Relat Disord, 2019, 33: 44-50.
[10] Jurewicz A, Selmaj K. Relapse of neuromyelitis optica during pregnancy—Treatment options and literature review[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2015, 130: 159-161.
[11] Huang W, Wang L, Zhang B, et al. Effectiveness and tolerability of immunosuppressants and monoclonal antibodies in preventive treatment of neuromyelitis optica spectrum disorders: A systematic review and network meta-analysis [J]. Mult Scler Relat Disord, 2019, 35: 246-252.
[12] Xu Y, Wang Q, Ren HT, et al. Comparison of efficacy and tolerability of azathioprine, mycophenolate mofetil, and cyclophosphamide among patients with neuromyelitis optica spectrum disorder: A prospective cohort study[J]. J Neurol Sci, 2016, 370: 224-228.
[13] 李昕颀, 周安娜, 周衡, 等. 环孢素 A 与硫唑嘌呤治疗视神经脊髓炎谱系疾病的疗效及安全性比较[J]. 中国新药杂志, 2018, 27: 329-333.
[14] 李燕青, 郭春连, 卢家洪, 等. 甲氨蝶呤联合雷公藤多苷片治疗类风湿性关节炎患者的疗效及不良反应分析[J]. 内科, 2019, 14: 424-426.
[15] Woo J, Kim JE, Im JJ, et al. Astrocytic water channel aquaporin-4 modulates brain plasticity in both mice and humans: a potential gliogenetic mechanism underlying language-associated learning [J]. Mol Psychiatry, 2018, 23: 1021-1030.
[16] Kunchok A, Malpas C, Nytrova P, et al. Clinical and therapeutic predictors of disease outcomes in AQP4-IgG + neuromyelitis optica spectrum disorder [J]. Mult Scler Relat Disord, 2019, 38: 101868.
[17] Höftberger R, Sepulveda M, Armangue T, et al. Antibodies to MOG and AQP4 in adults with neuromyelitis optica and suspected limited forms of the disease [J]. Mult Scler, 2014, 28: 1-9.
[18] Hoffmann F, Kraft A, Heigl F, et al. Tryptophan-Immunadsorption bei Multipler Sklerose und Neuromyelitis optica [J]. Der Nervenarzt, 2015, 86: 179-186.
[19] Smyk DS, Alexander AK, Walker M, et al. Acute disseminated encephalomyelitis progressing to multiple sclerosis: Are infectious triggers involved?[J]. Immunol Res, 2014, 60: 16-22.
[20] 付晓春, 沈小莉, 蒋平, 等. 雷公藤多苷肝毒性研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28: 4102-4104.

(本文编辑:王晶)

(上接第 166 页)

[6] Romoli M, Siliquini S, Corbelli I, et al. O064. Antiepileptic drugs in migraine and epilepsy disorders: who is at increased risk of adverse events? [J]. J Headache Pain, 2015, 16: 45-48.
[7] Chang K, Hsu Y, Chang M, et al. A Large-Scale Study Indicates Increase in the Risk of Epilepsy in Patients With Different Risk Factors, Including Rheumatoid Arthritis[J]. Medicine, 2015, 94: 1485-1489.
[8] Lamberts RJ, Blom MT, Wassenaar M, et al. Sudden cardiac arrest in people with epilepsy in the community[J]. Neurology, 2015, 85: 212-218.
[9] 杜瑞兵. 肿瘤细胞坏死因子α和 C 反应蛋白在大面积脑梗死性癫痫中的动态观察[J]. 中国卫生标准管理, 2016, 7: 145-146.
[10] 裴裴, 卫汭. 癫痫患儿血清神经肽 Y、S100B、肿瘤坏死因子-α水平变

化及意义[J]. 中国临床医生杂志, 2018, 46: 872-874.
[11] 傅勇, 李希芝, 郭玉洁, 等. 癫痫发作患者近期 IL-1β、TNF-α 水平与脑电图异常的关系[J]. 山东医药, 2017, 57: 90-92.
[12] 李兰. 癫痫患者脑脊液和血清中 miRNAs 含量检测及其对相关细胞因子的调控作用[J]. 海南医学院学报, 2016, 22: 611-613.
[13] 李欣, 曹祥, 汪麟, 等. 老年癫痫患者脑电图检查与血清细胞因子水平的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35: 3055-3056.
[14] 郑艳, 陈岚, 余倩. 癫痫患者血清白细胞介素-1β及肿瘤坏死因子-α表达及其与脑电图的关系[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37: 1217-1219.
[15] 桂兰, 康靖, 吕丽英. 癫痫患儿血清 HMGB1、IL-2、INF-γ 水平变化及其意义[J]. 山东医药, 2017, 57: 60-62.

(本文编辑:王晶)